

Funktionelle Charakterisierung des antifungalen Potentials
von Wurzelextrakten aus *Rheum rhabarbarum* L. 'The Sutton'

Dissertation
zur Erlangung des
Doktorgrades der Agrarwissenschaften (Dr. agr.)

der

Naturwissenschaftlichen Fakultät III
Agrar- und Ernährungswissenschaften,
Geowissenschaften und Informatik
der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

vorgelegt von

Frau M.Sc. Marit Gillmeister
geb. am 26. Juni 1981 in Berlin

Gutachter:

Herr Prof. Dr. Holger B. Deising
Herr Prof. Dr. Karl-Heinz Kogel
Herr Prof. Dr. Ingo Schellenberg

Verteidigt am 09.12.2019

**„Auch das kleinste Ding hat seine Wurzel in der Unendlichkeit,
ist also nicht völlig zu ergründen.“**

Wilhelm Busch

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von 2013 bis 2017, vorrangig während der Laufzeit des vom BMBF im Rahmen des Programms „Innovative regionale Wachstumskerne – WK Potenzial“ geförderten Projekts „Technologieentwicklung zur Herstellung antifungaler Wirkstoffe für den biologischen Pflanzenschutz“ (FKZ: 03WKP32A; 01.02.2013 bis 31.01.2015), unter der Leitung von Prof. Dr. rer. nat. Ingo Schellenberg und der Betreuung von PD Dr. rer. nat. Helmut Baltruschat in der Arbeitsgruppe „Institute of Bioanalytical Sciences (IBAS)“ des Center of Life Sciences (Direktor: Prof. Schellenberg) der Hochschule Anhalt (Bernburg) angefertigt (Fachbereich Landwirtschaft, Ökotoxikologie und Landschaftsentwicklung).

Danksagung

Mein größter Dank gilt Herrn Prof. Ingo Schellenberg, dem Institutsleiter der AG IBAS, meinem Gutachter von der MLU Halle-Wittenberg Herrn Prof. Holger B. Deising und meinem Betreuer Herrn PD Dr. Helmut Baltruschat (AG IBAS).

Prof. Schellenberg danke ich ganz herzlich für das anvertraute Thema, seine vertrauensvolle Unterstützung im Allgemeinen und auch besonders für das angenehme Arbeitsklima sowie die Förderung in der AG IBAS.

Prof. Deising gilt mein besonderer Dank für seine umfassende Unterstützung bei der Anfertigung der gemeinsamen Veröffentlichung, das stetige Interesse und seine zahlreichen produktiven Ratschläge. Ein ebensolcher Dank gilt dem Engagement von Frau Dr. Anja Raschke (MLU Halle-Wittenberg), auch für die Einführung in die Methodik der SDS-PAGE und des Western Blots.

Dr. Baltruschat danke ich ganz herzlich und in besonderem Maße für seine fachliche Betreuung, die Hilfestellung bei der Etablierung der Methoden und seine Recherche- und Diskussionsanregungen wie auch für die Einführung in das begeisternde Thema der Phytopathologie.

Gleichermaßen bin ich allen, auch den ehemaligen MitarbeiterInnen der AG IBAS für das kollegiale Miteinander und ihre Hilfsbereitschaft dankbar. Durch die unterstützende Durchführung von Analysen und Experimenten sowie ihr stets offenes Ohr bei der Lösung von Problemen wäre diese Arbeit so nicht praktikierbar gewesen. Mein Dank richtet sich neben Dr. Baltruschat bzgl. der Blattsegmenttests insbesondere an Gabriele Berlett (Extraktion, Photometrie), Silvia Ballert (Fraktionierung, LC-MS-Analytik), Jessica Zwanzig und Dr. Jörg Geistlinger (qRT-PCR, Einführung in die Molekularbiologie, Korrekturlesen), Johanna Hummel (biologische Tests und Vieles mehr), Mario Scharmer und Marc Schöler (technische Hilfestellungen aller Art) und Frau Dr. Kathrin Kabrodt (Interdisziplinäres, Korrekturlesen). Dieser Dank gilt auch Georg Meissner für seine Bachelorarbeit, Dr. Nathalie Wojtalewicz für die Etablierung der MPK3-Immundetektion und ihre wertvollen Tipps in zahlreichen anregenden Gesprächen sowie Loreen Sommermann, deren präzise Masterarbeit maßgeblich zur Ableitbarkeit von Struktur-Wirkungs-Beziehungen beitrug.

Herrn Stefan Gille und Herrn Joachim Schröder sowie dem gesamten Team „Feldbau“ danke ich für die Durchführung der Freilandversuche. Extern möchte ich mich ganz besonders bei Dr. Jafargholi Imani und Frau Elke Stein von der JLU Gießen für die wiederholte Bereitstellung des Mehltaus und bei Herrn Jörg Steinbach (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Jena) für die freundliche Zurverfügungstellung des Stemi 508 Stereomikroskops bedanken.

Abschließend soll ein ganz lieber Dank der Geduld meiner Freunde und der emotionalen Unterstützung meiner Familie gewidmet sein. Meinen Eltern danke ich ganz herzlich für ihr bedingungsloses Verständnis und dafür, dass ich immer auf ihren Rückhalt zählen kann. Ein besonders lieber Dank gilt Ben, der mich in jeder Hinsicht geduldig unterstützt hat und immer für mich da war und ist.

INHALTSVERZEICHNIS

Abkürzungsverzeichnis	V
Abbildungsverzeichnis	VIII
Tabellenverzeichnis	XI
	Seite
1 Einleitung und Zielstellung	1
1.1 Einleitung.....	1
1.2 Zielstellung	3
2 Theoretische Grundlagen	5
2.1 Agrarökonomisch relevante phytopathogene Pilze und Oomyceten	5
2.1.1 Echter Mehltau	6
2.1.2 Falscher Mehltau	8
2.1.3 Rostkrankheiten.....	9
2.2 Sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe und Polyphenole	10
2.2.1 Gerbstoffe.....	11
2.2.1.1 Catechingerbstoffe und Flavonoide.....	12
2.2.1.2 Eigenschaften und Wirkungen von Gerbstoffen	13
2.2.2 Stilbene und ihre Wirkungen.....	15
2.3 Rhabarber	16
2.4 Befall durch Phytopathogene und Abwehrmechanismen von Pflanzen.....	18
2.4.1 Kompatible Interaktion am Beispiel des Getreidemehltaus	19
2.4.2 Basisresistenz und inkompatible Wirt-Pathogen-Interaktionen.....	20
2.4.2.1 Reaktive Sauerstoffspezies und das antioxidative Schutzsystem von Pflanzen	22
2.4.2.2 „Oxidative burst“, Papillen und Hypersensitivitätsreaktion	24
2.4.2.3 Salicylsäure, Jasmonsäure und Ethylen.....	26
2.4.2.4 Pathogenese-zugehörige Proteine und Phytoalexine	28
2.4.2.5 Resistenzformen	28
3 Material und Methoden	30
3.1 Material.....	30
3.1.1 Rhabarbersortiment.....	30
3.1.2 Lösungs-, Hilfsmittel und Geräte für die Wurzelaufbereitung, Extraktion und Fraktionierung.....	31
3.1.3 Lösungsmittel, Geräte und Standards für die LC-MS-Analytik	32
3.1.4 Saatgut, Phytopathogene und Material für die Kultivierung.....	33
3.1.5 Versuchsmaterial für die Pflanzenbehandlungen	35
3.1.6 Versuchsspezifisches Material.....	35
3.1.6.1 Material für die Mycelwachstums- und Blattsegmenttests	35
3.1.6.2 Material für die histochemischen Studien	35
3.1.6.3 Material für die Aktivitätsbestimmungen von Antioxidantien	36
3.1.6.4 Material für das Mutantenscreening	37
3.1.6.5 Material für die Transkriptabundanzanalysen.....	38

3.1.6.6	Material für die Detektion phosphorylierter Mitogen-aktivierter Proteinkinase 3	39
3.1.6.7	Material für die Freilandversuche	40
3.2	Methoden	41
3.2.1	Ernte und Aufbereitung des Wurzelmaterials sowie Extraktion und Fraktionierung der Wurzelinhaltsstoffe	41
3.2.1.1	Ernte und Aufbereitung	41
3.2.1.2	Extraktionsverfahren	41
3.2.1.3	Fraktionierung	42
3.2.2	LC-MS-Analytik.....	43
3.2.2.1	LC-DAD- und LC-MS-Methode	43
3.2.2.2	LC-MS-Quantifizierungsmethode	44
3.2.3	<i>In vitro</i> Mycelwachstumstests	45
3.2.4	<i>In vivo</i> Versuche im Pathosystem <i>Hordeum vulgare</i> – <i>Blumeria graminis</i> f.sp. <i>hordei</i>	46
3.2.4.1	Blattsegmenttests	47
3.2.4.2	Histochemische Studien.....	48
3.2.4.2.1	Probenvorbereitung.....	49
3.2.4.2.2	Mikroskopische Quantifizierung.....	49
3.2.4.3	Aktivitätsbestimmungen von Antioxidantien	50
3.2.4.3.1	Extraktion der Antioxidantien.....	50
3.2.4.3.2	Aktivitätsbestimmungen der enzymatischen Antioxidantien	51
3.2.4.3.3	Aktivitätsbestimmungen der nicht-enzymatischen Antioxidantien	51
3.2.4.3.4	Berechnung der Aktivitäten und Gehalte	52
3.2.5	<i>In vivo</i> Versuche im Modellsystem <i>Arabidopsis thaliana</i>	52
3.2.5.1	Mutantenscreening	53
3.2.5.2	Transkriptabundanzanalysen	54
3.2.5.2.1	DNA-Microarrays	54
3.2.5.2.2	qRT-PCR-Analysen.....	54
3.2.5.3	Detektion phosphorylierter Mitogen-aktivierter Proteinkinase 3	55
3.2.5.3.1	Proteinextraktion und Proteinbestimmung nach Bradford	55
3.2.5.3.2	SDS-PAGE und Western Blot	56
3.2.5.3.3	Immundetektion	56
3.2.6	Freilandversuche	57
3.2.7	Statistische Auswertung der Versuche	58
4	Ergebnisse.....	60
4.1	Ernte-, Extraktions- und Fraktionierungsdaten	60
4.2	Analytische Inhaltsstoffcharakterisierung	61
4.2.1	LC-MS-Analytik der Gesamtextrakte.....	61
4.2.1.1	Quantitative Bestimmung von Polyphenolen	61
4.2.1.2	Semiquantitative Bestimmung der Inhaltsstoffe.....	63
4.2.1.2.1	Flavan-3-ole und Stilbene	63
4.2.1.2.2	Weitere identifizierte Verbindungen.....	65
4.2.2	LC-MS-Analytik von Fraktionen aus <i>Rheum rhabarbarum</i> 'The Sutton'	65

4.2.2.1	Quantitative Bestimmung von Polyphenolen	65
4.2.2.2	Semiquantitative Bestimmung der Inhaltsstoffe.....	67
4.2.2.2.1	Flavan-3-ole, Phenolsäurederivate und Stilbene	67
4.2.2.2.2	Weitere identifizierte Verbindungen.....	68
4.3	Antifungale Wirksamkeit der Gesamtextrakte <i>in vitro</i> (Mycelwachstumstests)	69
4.4	Antifungale Wirksamkeit von Extrakten und Polyphenolstandards in Blattsegmenttests mit Getreidemehltau.....	74
4.4.1	Blattsegmenttests mit Gesamtextrakten.....	74
4.4.2	Blattsegmenttests mit Extraktfraktionen.....	75
4.4.3	Blattsegmenttests mit Standardsubstanzen	77
4.5	Histochemische Studien zur Wirksamkeit von <i>Rheum rhabarbarum</i> 'The Sutton'-Extrakten im Pathosystem Gerste – Gerstenmehltau.....	79
4.5.1	Nachweis direkter antifungaler Effekte.....	79
4.5.2	Nachweis induzierter Abwehrreaktionen	81
4.5.3	Vergleichsuntersuchungen mit dem Gesamtextrakt aus <i>Rheum officinale</i> „Genotyp 02“	83
4.6	Einfluss von <i>Rheum rhabarbarum</i> 'The Sutton'-Extrakten auf den antioxidativen Status von Gerste.....	83
4.6.1	Aktivitäten der enzymatischen Antioxidantien	83
4.6.2	Gehalte der nicht-enzymatischen Antioxidantien	85
4.6.3	Vergleichsuntersuchungen mit dem Gesamtextrakt aus <i>Rheum officinale</i> „Genotyp 02“	87
4.7	Ableitung resistenzinduzierender Effekte von <i>Rheum rhabarbarum</i> 'The Sutton'-Extrakten im Pathosystem <i>Arabidopsis thaliana</i> – <i>Erysiphe cruciferarum</i> (Mutantenscreening).....	88
4.7.1	Screening Phytoalexin-defizienter Mutanten.....	89
4.7.2	Screening Ethylen-defizienter Mutanten	91
4.7.3	Screening Jasmonsäure-defizienter Mutanten	91
4.7.4	Screening Salicylsäure-defizienter Mutanten	93
4.8	Einfluss des Gesamtextraktes aus <i>Rheum rhabarbarum</i> 'The Sutton' auf die Transkriptabundanz abwehrrelevanter Gene im Modellsystem <i>Arabidopsis thaliana</i>	97
4.8.1	Postapplikative Transkriptabundanzanalysen	97
4.8.1.1	Transkripte der Kategorie „oxidative burst“	99
4.8.1.2	Transkripte der Kategorie „SAR“	100
4.8.1.3	Transkripte der Kategorien Signaltransduktion, MAP-Kinase-Weg und Phenylpropanoidmetabolismus	100
4.8.1.4	Transkriptabundanzanalyse der Pathogenese- zugehörigen Gene <i>PR1</i> , <i>PR2</i> und <i>PR5</i>	101
4.8.2	Postinfektionelle Transkriptabundanzanalysen der Pathogenese- zugehörigen Gene <i>PR1</i> , <i>PR2</i> und <i>PR5</i>	102
4.9	Einfluss des Gesamtextraktes aus <i>Rheum rhabarbarum</i> 'The Sutton' auf die postapplikative MPK3-Aktivierung im Modellsystem <i>Arabidopsis thaliana</i>	104
4.10	Antifungale Wirksamkeit von Extrakten im Freiland	106
4.10.1	Freilandversuche mit dem Rohextrakt aus <i>Rheum officinale</i> „Genotyp 02“	106
4.10.2	Freilandversuche mit dem Rohextrakt aus <i>Rheum rhabarbarum</i> 'The Sutton'	107

4.10.3 Freilandversuche mit dem formulierten Extrakt aus <i>Rheum rhabarbarum</i> 'The Sutton'	108
5 Diskussion	112
5.1 Ernte, Extraktion und Fraktionierung	113
5.2 Antifungale Wirksamkeit der Extrakte in den Mycelwachstumstests und Gersten-Blattsegmenttests	114
5.2.1 Mycelwachstumstests	115
5.2.2 Gersten-Blattsegmenttests	118
5.3 Histochemische Studien zur Wirksamkeit von <i>Rheum rhabarbarum</i> 'The Sutton'-Extrakten im Pathosystem Gerste – Gerstenmehltau.....	122
5.4 Einfluss von <i>Rheum rhabarbarum</i> 'The Sutton'-Extrakten auf den antioxidativen Status von Gerste	123
5.5 Resistenzinduzierende Effekte von <i>Rheum rhabarbarum</i> 'The Sutton'-Extrakten im Pathosystem <i>Arabidopsis thaliana</i> – <i>Erysiphe cruciferarum</i>	126
5.6 Einfluss des Gesamtextraktes aus <i>Rheum rhabarbarum</i> 'The Sutton' auf die Transkriptabundanz abwehrrelevanter Gene im Modellsystem <i>Arabidopsis thaliana</i>	129
5.6.1 Postapplikative Transkriptabundanzen	129
5.6.2 Postinfektionelle Transkriptabundanzen der Pathogenese- zugehörigen Gene <i>PR1</i> , <i>PR2</i> und <i>PR5</i>	131
5.7 Einfluss des Gesamtextraktes aus <i>Rheum rhabarbarum</i> 'The Sutton' auf die postapplikative MPK3-Aktivierung im Modellsystem <i>Arabidopsis thaliana</i>	132
5.8 Antifungale Wirksamkeit von Extrakten im Freiland	133
6 Zusammenfassung und Ausblick	136
6.1 Zusammenfassung	136
6.2 Ausblick	138
7 Summary	141
7.1 Background	141
7.2 Monitoring strategy and Results.....	141
7.3 Conclusion.....	142
 Literaturverzeichnis	 XII
Anlagen	XXXIII

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

AcOH	Essigsäure
ANOVA	analysis of variance (Varianzanalyse)
APX	Ascorbatperoxidase
AsA	Ascorbat, reduziert
Bf	Blattfläche
<i>Bgh</i>	<i>Blumeria graminis</i> f.sp. <i>hordei</i>
<i>Bgt</i>	<i>Blumeria graminis</i> f.sp. <i>tritici</i>
BSA	bovines Serumalbumin
BST	Blattsegmenttest
B-T® S 240	BREAK-THRU® S 240
BTH	Benzothiadiazol
CAT	Katalase
DAB	3,3'-Diaminobenzidin
DAI	days after inoculation/infection (Tage nach der Inokulation/Infektion)
DAsA	Ascorbat, oxidiert
DAT	days after treatment (Tage nach der Behandlung)
DC30	30 %ig formuliertes Dispersionskonzentrat des GT10 E12 (EtOAc-Phase)
DHA	Dehydroascorbinsäure (siehe auch DAsA)
DHAR	Dehydroascorbatreduktase
DMF	N,N-Dimethylformamid
DRHA	Desoxyrhaponticin
E	Erntejahr
<i>E.c.</i>	<i>Erysiphe cruciferarum</i>
ECG	Epicatechingallat
EPI	„enhanced product ion“
ER	endoplasmatisches Retikulum
ES	Entwicklungsstadium
ESH	elongierte sekundäre Hyphe
ET	Ethylen
ETI	effector-triggered immunity (Effektor-getriggerte Immunität)
EtOAc	Ethylacetat
F	Fahnenblatt; z.B. F-1 = 1. Blatt unter F
f.sp.	forma specialis (Singular); formae speciales (Plural)
FM	Frischmasse
FOL race 2	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i>
Frk	Fraktion
GR	Glutathionreduktase
GSH	Glutathion, reduziert
GSSG	Glutathion, oxidiert
GT	Genotyp
H ₂ O	Wasser
H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid
HAI	hours after inoculation/infection (Stunden nach der Inokulation/Infektion)

HAT	hours after treatment (Stunden nach der Applikation/Behandlung)
HPLC	high performance liquid chromatography (Hochleistungsflüssigchromatographie)
HR	Hypersensitivitätsreaktion / hypersensitive Reaktion
IDA	„information dependent acquisition“
iGS	Indol-Glucosinolat
INA	2,6-dichloroisonicotinic acid (2,6-Dichlorisonikotinsäure)
IR	induzierte Resistenz
ISR	induced systemic resistance (induzierte systemische Resistenz)
JA	jasmonic acid (Jasmonsäure)
LLE	liquid liquid extraction (Flüssig-Flüssig-Extraktion)
LRR	„leucine-rich repeat“
<i>M</i>	mean (Mittelwert)
MAPK/MPK	Mitogen-aktivierte Proteinkinase
MDHAR	Monodehydroascorbatreduktase
MeOH	Methanol
MRM	„multiple reaction monitoring“
MS	mass spectrometry (Massenspektrometrie)
MWT	Mycelwachstumstest
<i>n</i>	Stichprobenumfang
NaN ₃	Natriumazid
NAP	Nationaler Aktionsplan Pflanzenschutz
NBS	„nucleotide-binding site“
NBT	Nitroblautetrazoliumchlorid
O ₂	molekularer Sauerstoff
O ₂ ⁻	Superoxid
OH	Hydroxyl(-Gruppe)
<i>P</i>	Signifikanzwert
PAL	Phenylalaninammoniumlyase
PAMP	pathogen-associated molecular pattern (Pathogen-assoziierte molekulare Muster)
PAU	peak area units (Peakflächeneinheiten)
PhEur	Pharmacopoea Europaea
ppm	parts per million (Anteile pro Million)
PR	pathogenesis-related (Pathogenese-zugehörig)
PRO	Procyanidin
PSM	Pflanzenschutzmittel
PTI	PAMP-triggered immunity (PAMP-getriggerte Immunität)
qRT-PCR	quantitative Reverse-Transkriptase-PCR; PCR = polymerase chain reaction (Polymerasekettenreaktion)
RES	Resveratrol
rF	relative Luftfeuchtigkeit
RHA	Rhaponticin
ROS	reactive oxygen species (reaktive Sauerstoffspezies)
RQ	relative Quantifizierung
RT	Raumtemperatur

SA	salicylic acid (Salicylsäure)
SAR	systemic acquired resistance (systemisch erworbene Resistenz)
SD	standard deviation (Standardabweichung)
SDS-PAGE	sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (Natriumdodecylsulfat-Polyacrylamidgelelektrophorese)
SEM	standard error of the mean (Standardfehler)
SG	Sommergerste
spp.	Spezies (Plural)
TCA	trichloroacetic acid (Trichloressigsäure)
THSG	3,4',5-Trihydroxystilben-3-O- β -D-glucosid/-glucopyranosid (Piceid)
TIR	„toll interleukin 1 receptor“
TKG	Tausendkorngewicht
vs.	versus
WT	Wildtyp
WW	Winterweizen
ϵ	molarer Extinktionskoeffizient

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abb. 1: Systematik der im Rahmen der Labor- und Gewächshausversuche verwendeten bzw. im Freiland aufgetretenen Phytopathogene.	6
Abb. 2: Mit Echtem Mehltau befallene Blätter von Gerste und <i>Arabidopsis</i>	8
Abb. 3: Kohlenstoffgrundgerüst des Phenols mit Hydroxylgruppe.	11
Abb. 4: Strukturformeln der Flavan-3-ole Catechin, Epicatechin, Epigallocatechin, Epicatechingallat und Epigallocatechingallat.	12
Abb. 5: Strukturformel von Procyanidin B2.	13
Abb. 6: Strukturformeln der Stilbene Piceid, Piceatannol, Rhaponticin und Resveratrol.	15
Abb. 7: Blütenstand und Teil des Wurzelstocks mit Nebenwurzeln von <i>Rheum officinale</i>	17
Abb. 8: Haustorium, ungekeimte Konidien, gekeimte Konidien und elongierte sekundäre Hyphen von <i>Blumeria graminis</i> f.sp. <i>hordei</i>	20
Abb. 9: Antioxidative Mechanismen im Rahmen der pflanzlichen Abwehr reaktiver Sauerstoffspezies.	24
Abb. 10: Papillenformationen sowie Hypersensitivitätsreaktion in von <i>Blumeria graminis</i> f.sp. <i>hordei</i> attackierter Sommergerste.	25
Abb. 11: Beispiel eines großen Wurzelknospenpflanzstücks zur vegetativen Reproduktion und Rhabarberanbaufläche nach etwa vierjähriger Kultivierung.	30
Abb. 12: Schematische Darstellung des Laborextraktionsverfahrens nach RICHTER (2000). ..	42
Abb. 13: Boniturschema für den Blattsegmenttest im Pathosystem <i>Hordeum vulgare</i> – <i>Blumeria graminis</i> f.sp. <i>hordei</i>	48
Abb. 14: Beispielhafte Platten des Blattsegmenttests im Pathosystem <i>Arabidopsis thaliana</i> – <i>Erysiphe cruciferarum</i>	53
Abb. 15: Detektierte Blattkrankheiten auf Weizenblättern von Freilandversuchen.	58
Abb. 16: Blattetagen im Wachstumsstadium 43 am Beispiel Weizen.	58
Abb. 17: Boniturstufen bei der Bonitierung auf Braunrostbefall in Weizen.	58
Abb. 18: Geerntete Wurzel von <i>Rheum rhabarbarum</i> L. 'The Sutton' (Genotyp 10) nach einer Kultivierungsdauer von vier Jahren, zerkleinerte Wurzelstückchen vor der Trocknung sowie Ethylacetat- und Wasser-Phase des Genotyps 10 Erntejahr 2014.	61
Abb. 19: LC-MS-Analysen von Polyphenolen in den <i>Rheum/Rumex</i> -Wurzelextrakten (Quantifizierung) und repräsentative MS-Spektren.	62
Abb. 20: Peakflächeneinheiten identifizierter Stilbene in den analysierten <i>Rheum/Rumex</i> -Wurzelextrakten.	64
Abb. 21: Peakflächeneinheiten weiterer identifizierter Inhaltsstoffe in den analysierten <i>Rheum/Rumex</i> -Wurzelextrakten.	65
Abb. 22: Chromatogramm der mittels präparativer HPLC in 10 Fraktionen separierten Ethylacetat-Phase des Genotyps 10 Erntejahr 2014.	66
Abb. 23: Quantifizierung von Procyanidinen und Catechinen sowie Stilbenen und Phenolsäuren in Fraktionen der Ethylacetat-Phase des Genotyps 10 Erntejahr 2014.	66
Abb. 24: Peakflächeneinheiten identifizierter Stilbene in Fraktionen der Ethylacetat-Phase des Genotyps 10 Erntejahr 2014.	68

Abb. 25: Mycelwachstum des <i>Phytophthora capsici</i> -Isolats LT1534 im Mycelwachstumstest mit den Ethylacetat-Phasen der Genotypen 29 und 35.....	71
Abb. 26: Mycelwachstum von <i>Magnaporthe oryzae</i> im Mycelwachstumstest mit der Ethylacetat-Phase des Genotyps 23.....	71
Abb. 27: Mycelwachstum von <i>Venturia inaequalis</i> im Mycelwachstumstest mit den Ethylacetat-Phasen der Genotyp 10 Erntejahr 2012- und Erntejahr 2014-Extrakte.....	72
Abb. 28: Relatives Wachstum nekrotropher und hemibiotropher Pilze und Oomyceten im Mycelwachstumstest mit den <i>Rheum/Rumex</i> -Wurzelextrakten der Genotypen (GTs) 02 Erntejahr 2012 (E12), GT05 E09, GT10 E12 und GT30 E12.....	73
Abb. 29: Gersten-Blattsegmenttests mit Gesamtextrakten.....	74
Abb. 30: Gerstenmehltau-Befall von Gerstenblättern ('Lawina') im Blattsegmenttest mit der präinfektionell applizierten Ethylacetat-Phase des Genotyps 35 gegenüber der Kontrolle (dest. Wasser).	75
Abb. 31: Weizen-Blattsegmenttests mit Gesamtextrakten.....	75
Abb. 32: Gersten-Blattsegmenttests mit Extraktfraktionen.	76
Abb. 33: Gersten-Blattsegmenttests mit Polyphenolstandards in Einzelanwendung.	77
Abb. 34: Gersten-Blattsegmenttests mit Polyphenolstandards in Kombinationsanwendung..	78
Abb. 35: Antifungale Effekte des Genotyp 10-Extraktes auf die Konidienkeim- und Haustorienformationsrate von Mehltau in Gerstenpflanzen.....	79
Abb. 36: Antifungale Effekte von Genotyp 10-Fractionen und Polyphenolstandards auf die Konidienkeim- und Haustorienformationsrate von Mehltau in Gerstenpflanzen.....	81
Abb. 37: Effekte von Genotyp 10-Fractionen und Polyphenolstandards auf die Papillenformationsrate in Mehltau-infizierten Gerstenpflanzen.....	82
Abb. 38: Ineffektive Papillen in einem repräsentativen, präinfektionell Genotyp 10 Erntejahr 2014 Ethylacetat-Phase-Fraktion 5-behandelten (250 ppm) Gersten- blatt der anfälligen Sorte 'Lawina' 72 h nach der Infektion mit Gerstenmehltau.....	82
Abb. 39: Effekte von Genotyp 10-Extrakten auf die Aktivität enzymatischer Antioxidantien.	84
Abb. 40: Effekte von Genotyp 10-Extrakten auf den Gehalt nicht-enzymatischer Antioxidantien.....	86
Abb. 41: Wasserbehandelte und extraktbehandelte (Genotyp 10) <i>Arabidopsis</i> -Blätter des Wildtyps Col-8 nach der Infektion mit <i>Erysiphe cruciferarum</i>	89
Abb. 42: Effekte des Genotyp 10-Extraktes auf den Mehltaubefall der Camalexin-defizienten <i>Arabidopsis</i> -Mutante <i>pad2-1</i>	89
Abb. 43: Effekte von Genotyp 10-Fractionen und Polyphenolstandards auf den Mehltaubefall der Camalexin-defizienten <i>Arabidopsis</i> -Mutante <i>pad2-1</i>	90
Abb. 44: Effekte von Genotyp 10-Fractionen und Polyphenolstandards auf den Mehltaubefall der Jasmonsäure-defizienten <i>Arabidopsis</i> -Mutante <i>eds8</i>	93
Abb. 45: Effekte des Genotyp 10-Extraktes auf den Mehltaubefall der Salicylsäure-defizienten <i>Arabidopsis</i> -Mutante <i>eds5-1</i>	95
Abb. 46: Effekte von Genotyp 10-Fractionen und Polyphenolstandards auf den Mehltaubefall der Salicylsäure-defizienten <i>Arabidopsis</i> -Mutante <i>eds5-1</i>	96
Abb. 47: Effekte von Genotyp 10-Extrakten und Polyphenolstandards auf den Mehltaubefall der Salicylsäure-defizienten <i>Arabidopsis</i> -Mutante <i>eds5-1</i> (Bildmaterial).	97

Abb. 48: Postapplikative Effekte des Genotyp 10-Extraktes auf die Transkriptabundanz abwehrrelevanter Gene in <i>Arabidopsis</i> (DNA-Microarray-Analysen).....	99
Abb. 49: Postapplikative Effekte des Genotyp 10-Extraktes auf die Transkriptabundanz von <i>PR1</i> , <i>PR2</i> und <i>PR5</i> in <i>Arabidopsis</i> (qRT-PCR-Analyse).....	102
Abb. 50: Postinfektionelle Effekte des Genotyp 10-Extraktes auf die Transkriptabundanz von <i>PR1</i> , <i>PR2</i> und <i>PR5</i> in <i>Arabidopsis</i> (qRT-PCR-Analysen).....	103
Abb. 51: Immundetektion der MPK3-Aktivierung in Genotyp 10-behandelten <i>Arabidopsis</i> -Blättern (Verifizierung).	104
Abb. 52: Immundetektion der MPK3-Aktivierung in Genotyp 10-behandelten <i>Arabidopsis</i> -Blättern (Analysen).....	105
Abb. 53: Freilandversuche mit dem Rohextrakt aus <i>Rheum officinale</i> „Genotyp 02“	107
Abb. 54: Freilandversuch mit dem Rohextrakt aus <i>Rheum rhabarbarum</i> ‘The Sutton’.....	108
Abb. 55: Freilandversuche mit dem formulierten Extrakt aus <i>Rheum rhabarbarum</i> ‘The Sutton’ in Winterweizen.	110
Abb. 56: Freilandversuch mit dem formulierten Extrakt aus <i>Rheum rhabarbarum</i> ‘The Sutton’ in Sommergerste.....	111

TABELLENVERZEICHNIS

Tab. 1: Wichtige enzymatische und nicht-enzymatische Antioxidantien des pflanzlichen antioxidativen Schutzsystems.....	23
Tab. 2: Charakteristika der systemisch erworbenen Resistenz SAR und der induzierten systemischen Resistenz ISR von Pflanzen.....	29
Tab. 3: Ausgewählte <i>Rheum/Rumex</i> -Spezies des Rumiceae-Sortiments in Zuordnung zur Genbank des IPK Gatersleben.....	30
Tab. 4: Lösungs-/Hilfsmittel und Geräte der Wurzelaufbereitung, Extraktion und Fraktionierung.....	32
Tab. 5: Polyphenolstandards.....	32
Tab. 6: Saatgut, Phytopathogene und Material für die Kultivierung.....	33
Tab. 7: Versuchsmaterial der Mycelwachstums- und Blattsegmenttests.....	35
Tab. 8: Chemikalien, Lösungen und Geräte der histochemischen Studien.....	36
Tab. 9: Ausgewähltes Material der Aktivitätsbestimmungen der Antioxidantien.....	37
Tab. 10: <i>Arabidopsis</i> -Mutanten-Informationen.....	37
Tab. 11: Versuchsmaterial der Transkriptabundanzanalysen.....	38
Tab. 12: Versuchsmaterial der Phosphoproteinbestimmungen.....	39
Tab. 13: Adjuvantien und Fungizide der Freilandversuche.....	40
Tab. 14: Tabellarische und grafische Parameter der Gradientenelution zur Fraktionierung von Gesamtextrakten.....	43
Tab. 15: Parameter der LC-MS Full-Scan-Methode.....	44
Tab. 16: Extraktionsdaten des Wurzelmaterials der verwendeten <i>Rheum/Rumex</i> -Genotypen.....	60
Tab. 17: Peakflächeneinheiten identifizierter Flavan-3-ole und Phenolsäurederivate in Fraktion 1 der Ethylacetat-Phase des Genotyps 10 Erntejahr 2014.....	67
Tab. 18: Relatives Wachstum nekrotropher und hemibiotropher Pilze und Oomyceten im Mycelwachstumstest mit <i>Rheum/Rumex</i> -Wurzelextrakten.....	70
Tab. 19: In den Gersten-Blattsegmenttests mit den Polyphenolstandards Epicatechingallat und Resveratrol in Kombinationsanwendung beobachtete und nach der Colby-Formel berechnete Wirkungsgrade gegenüber Gerstenmehltau....	78
Tab. 20: Befallsbonitur- und Konidienauszählungs-bezogene Daten des Screenings der Jasmonsäure-defizienten <i>Arabidopsis</i> -Mutanten <i>jar1-1</i> und <i>eds8</i>	92
Tab. 21: Befallsbonitur- und Konidienauszählungs-bezogene Daten des Screenings der Salicylsäure-defizienten <i>Arabidopsis</i> -Mutanten <i>npr1-1</i> , <i>npr1-3</i> sowie <i>eds5-1</i> ...	94
Tab. 22: Postapplikative Effekte des Genotyp 10-Extraktes auf die Transkriptabundanz von <i>PR1</i> , <i>PR2</i> und <i>PR5</i> in <i>Arabidopsis</i> (DNA-Microarray-Analysen).....	100
Tab. 23: Statistikdaten der postinfektionellen Transkriptabundanzanalysen.....	103

1 Einleitung und Zielstellung

1.1 Einleitung

Seit den Anfängen der Landwirtschaft bis hin zur Gegenwart verursachen Pflanzenkrankheiten große Schäden an Kulturpflanzen (OERKE, 2006; KLENKE und SCHOLLER, 2015). Wissenschaftler beschäftigen sich seither mit den Ursachen und der Regulierung von Pflanzenkrankheiten im Pflanzenbau (SCHLÖSSER, 1997; HALLMANN et al., 2007; BEBBER und GURR, 2015). Durch Pilze oder Oomyceten verursachte Pflanzenkrankheiten haben in der Vergangenheit große Ernteverluste und damit zusammenhängende Hungersnöte sowie Migrationswellen nach sich gezogen (HALLMANN et al., 2007; BEBBER und GURR, 2015). Ein Beispiel hierfür ist die Kraut- und Knollenfäule der Kartoffel, die nach ihrem Auftreten in Europa um 1840 von Berkeley als *Phytophthora infestans* beschrieben wurde (SCHLÖSSER, 1997). Ein weiteres Beispiel ist die Hungersnot, die 1943 in Bengalen für geschätzte zwei Millionen Menschen den Tod bedeutete, da der Pilz *Helminthosporium oryzae* die vorjährige Reisernte gravierend reduzierte (PADMANABHAN, 1973). Die seit über 100 Jahren stark anwachsende Weltbevölkerung bedarf u.a. aufgrund begrenzter Anbauflächen deshalb auch heute einer angepassten Ertrags- und Produktivitätssteigerung (OERKE et al., 1994; SCHLÖSSER, 1997; KÜCK et al., 2009).

Durch die Einführung von ertragsreicheren Sorten, den Einsatz von effektiven Kulturtechniken und nicht zuletzt durch die Verwendung von Agrochemikalien zur Kontrolle der Schadfaktoren gelang es, die Erträge vieler Nutzpflanzen kontinuierlich zu steigern. Gleichzeitig konnte auf globaler Ebene jedoch auch ein Anstieg bei den Ertragseinbußen festgestellt werden, dessen Hauptgrund in vielen Regionen der Erde in ungeeigneten Bewirtschaftungsweisen und unangemessenen Maßnahmen zum Pflanzenschutz vermutet wird (OERKE et al., 1994; SCHLÖSSER, 1997; OERKE, 2006). Die intensive Kultivierung der Nutzpflanzen und die Notwendigkeit des Pflanzenschutzes sind so miteinander verbunden und verlangen nach immer neuen, nachhaltigeren Lösungen (OERKE, 2006). Die Aufgabe ist es daher u.a., maßnahmenbeeinflusste Wirt-Pathogen-Interaktionen zu erforschen und die von der Öffentlichkeit geforderte Einsparung an chemischen Pestiziden mit umweltverträglichen Alternativen zu kompensieren (integrierter Pflanzenschutz) (SCHLÖSSER, 1997; BÖRNER, 2009). EU-weit finden sich höchstgehaltüberschreitende Rückstände an chemischen Pflanzenschutzmitteln in Gewässern und Lebensmitteln, welche auch Bienen sowie Wirbeltiere schädigen (BMEL, 2017). Die zunehmende Nachfrage nach ökologisch und sozioökonomisch vertretbaren Alternativen für chemische Fungizide hat die Forschung nach innovativen biobasierten Pflanzenschutzstrategien intensiviert. Dieser Bedarf wird insbesondere vom Resistenzmanagement und Zulassungshürden angetrieben. Ein ernsthaftes Problem und damit eines der zentralen Themen ist die Fungizidresistenz von Pathogenpopulationen, die mit einem engen Wirkungsspektrum und dem großangelegten Einsatz von synthetischen Fungiziden einhergeht. Dies schließt auch Kreuzresistenzen gegenüber Wirkstoffen, die den gleichen Wirkmechanismus oder eine ähnliche chemische Struktur aufweisen, mit ein (HALLMANN et al., 2007; KÜCK et al., 2009; AZNAR et al., 2015; HOLLOMON, 2015). Der Fungizidmarkt wird von Substanzklassen dominiert, welche über nur wenige Wirkmechanismen verfügen. Die vor etwa 50 Jahren begonnene Einführung bindungsspezifischer Fungizide revolutionierte den chemischen Pflanzenschutz, da sie zur Kontrolle der pilzlichen Erkrankungen hoch effiziente Produkte mit gering toxischen Komponenten bot. Bald stellte sich jedoch heraus, dass sich phytopathogene Pilze an die antifungalen Behandlungen bzw. deren Wirkweisen über Mutationen anpassen und Resistenzen erwerben können, in deren Folge die Effizienz der Mittel abnahm (HAHN, 2014).

Ein Beispiel hierfür sind Strobilurin-basierte Fungizide (Hemmstoffe der mitochondrialen Atmungskette am Komplex III). Eine einzelne G143A-Punktmutation im mitochondrialen Cytochrom b-Zielgen von pathogenen Pilzen wie *Pyricularia grisea* führte zu einer vollständigen Strobilurinresistenz (SIEROTZKI et al., 2000; KIM et al., 2003; LESEMANN et al., 2006; HALLMANN et al., 2007). Neben der wirkortspezifischen Resistenz erwarben Pathogene wie *Botrytis fragariae* zudem effluxbasierte Resistenz- und andere Detoxifizierungsmechanismen (PEDRAS und AHIAHONU, 2005; AMMAR et al., 2013; RUPP et al., 2017; YANG et al., 2018). Entsprechend sind hinsichtlich der Resistenzproblematik etwa 70 % der global eingesetzten Fungizide als hoch bis mittel riskant einzustufen (LEADBEATER und GISI, 2010; LEADBEATER, 2015), was für die Nachhaltigkeit der Produkte eine ungünstige Ausgangslage darstellt. Aufgrund veränderter gesetzlicher Pflanzenschutzregelungen besteht ein weiteres Problem dadurch, dass die Auswahl kommerziell erhältlicher, synthetischer Fungizide mit dem Auslaufen ihrer Zulassungen abnimmt (THOMPSON et al., 2008; CHAPMAN, 2014; KING, 2014; DEISING et al., 2017).

Neben der Züchtung von Sorten, die Krankheitserregern gegenüber resistent sind, bieten sich auf Grund ihrer strukturellen Vielfalt insbesondere Naturstoffe als nahezu unbegrenztes Reservoir für eine nachhaltige Pflanzenproduktion an (SIDDHURAJU und BECKER, 2003; YOON et al., 2013). Hinsichtlich der Kontrolle von Phytopathogenen mit primärer agrarwirtschaftlicher Relevanz, wie z.B. Echte Mehltaupilze, wurden alternative phytosanitäre Maßnahmen, u.a. in Form von Wirkstoffen aus Pflanzenextrakten, bereits entwickelt (COPPING und MENN, 2000; CHEN und DAI, 2014). Wurzelextrakte aus *Rumex crispus* reduzierten die Befalls-symptome von Echem Mehltau in *Hordeum vulgare* (Gerste) und *Cucumis sativus* (Gurken) ebenso effektiv wie das synthetische Fungizid Fenarimol (KIM et al., 2004). Drei aus den Wurzeln von *R. crispus* isolierte Substanzen, welche eine antifungale Aktivität gegenüber *Blumeria graminis* f.sp. *hordei* zeigten, wurden als Chrysophanol, Parietin und Nepodin identifiziert (CHOI et al., 2004). Ein Blattextrakt aus *Reynoutria sachalinensis* wurde aufgrund seiner Wirksamkeit gegenüber dem Echten Mehltau in Gurken unter dem Namen Milsana® kommerzialisiert. Letztere Studien zeigten, dass die aktiven Inhaltsstoffe in *R. sachalinensis* (hauptsächlich das Anthrachinon Physcion) nicht vorrangig antifungale Eigenschaften aufweisen, sondern vielmehr Resistenzmechanismen in den Wirtspflanzen induzieren (HERGER und KLINGAUF, 1990; KONSTANTINIDOU-DOLTSINIS und SCHMITT, 1998).

Die Mechanismen zur Aktivierung der sogenannten systemisch erworbenen Resistenz (engl. systemic acquired resistance [SAR]) sind in Gurken, *Nicotiana tabacum* (Tabak) und *Arabidopsis thaliana* auf biochemischer und molekularbiologischer Ebene detailliert untersucht (WARD et al., 1991; LAWTON et al., 1993; SHINE et al., 2018). Die Relevanz neuartiger SAR-aktivierender Wirksubstanzen in der Entwicklung von Pflanzenschutzstrategien wurde umfangreich beschrieben (RYALS et al., 1996; GOZZO und FAORO, 2013). Untersuchungen auf dem Gebiet resistenter Sorten durch Mutationen von Genen, die in die pflanzliche Abwehr von Schaderregern eingebunden sind, schlossen auch Schlüsselsubstanzen in abwehrbezogenen Signalwegen ein (DONG, 1998). Damit einhergehend wurde eine große Anzahl natürlich vorkommender wie auch synthetischer Substanzen im Hinblick auf ihre Fähigkeit zur Resistenz-induktion in Pflanzen evaluiert (KESSMANN et al., 1994; BECKHOVE, 2001). Durch direkte und indirekte Wirkmechanismen können auch Fungizide als Priming-Agenzien wirken (HERMS et al., 2002). GÖRLACH et al. (1996) konnten SAR-induzierende Effekte des synthetischen Benzothiadiazols (BTH) in Mehltau-infiziertem *Triticum aestivum* (Weizen) nachweisen. Resistenz und Geninduktion wurden dabei stärker induziert als die Effekte der endogenen SAR-Signalsubstanz Salicylsäure (engl. salicylic acid [SA]) oder SA-imitierenden 2,6-Dichlorisonikotinsäure (KAUSS et al., 1992; GÖRLACH et al., 1996).

Unter den chemischen Derivaten, welche die resistenzinduzierende Aktivität von SA imitieren, wurde BTH als Pflanzenschutzagens in Form des Pflanzenaktivators Bion® auf den Markt gebracht (MALAMY und KLESSIG, 1992; MORRIS et al., 1998; HAMMERSCHMIDT et al., 2001). Die optimale Wirkung chemischer Resistenzinduktoren setzt eine Vorbehandlung voraus, um der Pflanze ein Zeitfenster für die Aktivierung entsprechender Abwehrmechanismen zu ermöglichen. Da milde Winter jedoch einen latenten Mehltaubefall begünstigen, konnte sich Bion® gegenüber kurativ wirkenden Fungiziden kommerziell nicht durchsetzen und sein extensiver Gebrauch blieb aus (CONRATH et al., 2015). Das Hauptziel für erfolgreiche antifungaler Pflanzenschutzstrategien muss daher sein, Mittel mit geringem Resistenzrisiko hervorzubringen (eine direkte antifungale Aktivität und eine Priming-Funktion in der Pflanze), welche neben ihrer nachhaltigen Effizienz zudem eine hohe Breitenwirksamkeit, geringe Toxizität und Sicherheit für Anwender, Tiere, Wirtspflanzen sowie den Naturhaushalt vereinen (BECKERS und CONRATH, 2007; BEBBER und GURR, 2015; CHOLLET et al., 2014).

Durch ihr breites Spektrum an polyphenolischen Verbindungen, welche als sekundäre Phytochemikalien vor Krankheiten schützen oder als Farbstoffe und Wachstumsregulatoren dienen (TEUSCHER, 1990 zitiert in WATZL und LEITZMANN, 1999), könnten die Wurzeln verschiedenster Arten der Gattung *Rheum* (Rhabarber) eine vielversprechende Quelle für antifungale Verbindungen zur Entwicklung alternativer Bioprodukte für die Landwirtschaft darstellen (KABRODT, 2006). In *Rheum*-Wurzeln sind bioaktive polyphenolische Verbindungen wie Stilbene, Catechine (Flavonoide) und Anthrachinone identifiziert worden (GONG et al., 2005; YE et al., 2007). Medizinische wie auch antimikrobielle Effekte wurden anhand von verschiedenen Studien bereits demonstriert (SURESH BABU et al., 2003; DINGERMANN et al., 2004; KABRODT, 2006). Flavonoide und verwandte Polyphenole sind dafür bekannt, die Sporenkeimung pilzlicher Phytopathogene zu inhibieren. Beispielhaft ist das Isoflavonoid Maackiain in *Cicer bijugum* (wilder Verwandter der Kichererbse) gegenüber *Botrytis cinerea* (STEVENSON und HAWARE, 1999; HARBORNE und WILLIAMS, 2000). Bekannt ist auch, dass sie Immunsystemzellen aktivieren und Signaltransduktionswege wie Mitogen-aktivierte Proteinkinase sowie die zelluläre Proteinphosphorylierung beeinflussen (STICHER, 1999; STICHER, 2010). Die Relevanz des Stilbens Resveratrol (RES) als Phytoalexin in der pflanzlichen Abwehr ist ebenfalls gut beschrieben (LANGCAKE und PRYCE, 1976; ADRIAN et al., 1997; GONZALEZ UREÑA et al., 2003; PEZET et al., 2004a, b; HEß, 2008; POICIECHA et al., 2014; GAMBINI et al., 2015). Es wurde auch nachgewiesen, dass Stilbene die Sporenkeimung und das Mycelwachstum von phytopathogenen Pilzen und Oomyceten hemmen können (KUMAR und NAMBIAN, 2014).

Die erläuterten Grundlagen führten zu der folgenden Zielstellung dieser Arbeit.

1.2 Zielstellung

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, Wurzelextrakte aus *Rheum* und daraus isolierte Fraktionen (Frks) auf ihre antifungale Wirksamkeit gegen ein repräsentatives Spektrum an agrarökonomisch relevanten Phytopathogenen zu testen. Der Fokus lag hierbei auf dem Echten Mehltau. Genauer galt es, die Eignung der Rhabarberwurzelextrakte bzw. ihrer aktiven Inhaltsstoffe als Komponenten für eine potenzielle Pflanzenschutzstrategie funktionell zu prüfen. Auf Basis der dem Extraktionsverfahren folgenden analytisch-chemischen Aufklärung und Charakterisierung ihrer polyphenolischen Sekundärmetabolite mittels kombinierter HPLC-MS einschließlich der Fraktionierung mittels präparativer HPLC sollten zudem Struktur-Wirkungs-Beziehungen abgeleitet werden. Den Hintergrund bildete der vorab beschriebene Bedarf des landwirtschaftlichen Sektors an innovativen, effektiven und vorzugsweise biologischen Wirkstoffen mit multiplen Wirkmechanismen.

Das diesbezüglich zu etablierende Monitoring war in ein Primär-, Sekundär- sowie Tertiärscreening unterteilt – Screeningstufen, welche als Labor-, Gewächshaus- und Feldversuche strategisch aufeinander aufbauten und sich gegenseitig bedingten.

Die Methoden des Primärscreenings bildeten der *in vitro* Mycelwachstumstest (MWT) und der *in vivo* Blattsegmenttest (BST). Ersterer sollte mit Gesamtextrakten (Wasser- und Ethylacetat [EtOAc]-Phasen) aus den Wurzeln verschiedener *Rheum*- (und *Rumex*-) Spezies an nekrotrophen und hemibiotrophen Phytopathogenen durchgeführt werden. Der MWT diene einer basalen Beurteilung direkter antifungaler, wachstumsinhibierender Effekte der Extrakte auf pflanzenpathogene Pilze und Oomyceten unterschiedlicher Besiedlungsstrategien, Entwicklungszyklen oder Ernährungsformen. Die BSTs ermöglichten die Evaluierung des antifungalen Potentials gegenüber obligat biotrophen pilzlichen Pathogenen im vornehmlichen Modellsystem *H. vulgare* 'Lawina' versus *B. graminis* f.sp. *hordei* (Gerstenmehltau). Durch die Testung von Gesamtextrakten, isolierten Frks und *Rheum*-typischen Reinstverbindungen mittels BST sollten synergistische Effekte und die Wirksamkeit bestimmter Polyphenolgruppen oder polyphenolischer Einzelkomponenten ermittelt werden.

Ziel des Sekundärscreenings war es, die Wirkmechanismen ausgewählter Extraktproben, welche sich im Primärscreening als besonders effektiv erwiesen, anhand spezieller Testsysteme detailliert zu untersuchen. Selektiertes Untersuchungsmaterial war der Wurzelextrakt (Erntejahr 2014 [E14], EtOAc-Phase) des *Rheum rhabarbarum* 'The Sutton' (Genotyp [GT] 10) und daraus gewonnene Frks (zwei vorrangig Flavan-3-ol- bzw. Stilben-haltige Frks) sowie die Referenzverbindungen Epicatechingallat und RES. Vergleichsuntersuchungen erfolgten, wenn durchgeführt, mit der EtOAc-Phase des GT02 E12 (*Rheum officinale*). Zum Sekundärscreening gehörten mikroskopisch quantifizierende Zellstudien (histochemische Studien) von Pilz-Pflanze-Interaktionstypen sowie die photometrische Vermessung der Aktivität enzymatischer und nicht-enzymatischer Antioxidantien im genannten Pathosystem. Studien zu induzierter Resistenz erfolgten v.a. mit der Modellpflanze *Arabidopsis thaliana*, welche in Teilen der Versuche mit *Erysiphe cruciferarum* (Echter Mehltau) infiziert wurde. Ein differenziertes Mutantenscreening mit Salicylat-, Jasmonat- oder andersartig defizienten *Arabidopsis*-Mutanten (BST, Konidienauszählung) und Transkriptabundanzanalysen mit Col-8 (*Arabidopsis*-Wildtyp) dienten der Aufklärung der Fragestellung, ob ein Wurzelextrakt aus *Rheum* Resistenz induzieren kann und, wenn gegeben, welche Schlüsselsubstanzen in der Pflanze an der Resistenzinduktion beteiligt sind. Die Transkriptabundanzanalysen wurden im Hinblick auf die Pathogenese-zugehörigen Protein-kodierenden Gene *PR1*, *PR2* und *PR5* mittels qRT-PCR durchgeführt. Hinsichtlich des gesamten *Arabidopsis*-Transkriptomts erfolgten DNA-Microarrays (differentielle Transkription abwehrrelevanter Gene, Priming-Effekt). Den diesbezüglichen Abschluss bildeten Western Blot-Experimente zur Detektion phosphorylierter Mitogen-aktivierter Proteinkinase 3.

Zielindikationen im Rahmen des Tertiärscreenings waren Mehltau- wie auch Rosterkrankungen in Sommergerste und Winterweizen (*Triticum aestivum*). Die hierfür angelegten Kleinparzellenversuche im Freiland wurden mit den Rohextrakten des GT02 E12 und des GT10 E12 sowie einem formulierten Extrakt des GT10 E12 durchgeführt.

Mit dem in der AG IBAS zu etablierenden, breit aufgestellten Monitoring-System auf Funktionalität sollte das antifungale Potential von *Rheum*-Wurzelextrakten und deren polyphenolischer Inhaltsstoffe hinreichend evaluiert werden.

2 Theoretische Grundlagen

2.1 Agrarökonomisch relevante phytopathogene Pilze und Oomyceten

Landwirtschaftliche Schäden an Kulturpflanzen werden biotisch durch phytopathogene Viren (auch Viroide), Bakterien, Nematoden und Pilze verursacht (SCHLÖSSER, 1997; HALLMANN et al., 2007; HEß, 2008). Laut SCHLÖSSER (1997) sind von geschätzten 100.000 Pilzarten etwa 5 % in der Lage, Pflanzen zu besiedeln und zu schädigen. Bei einem dieser Phytopathogene handelt es sich um Mehltau, welcher bereits im Alten Testament beschrieben wurde und neben anderen Schadpilzen gefürchtet wird, seit der Mensch sein Nomadendasein aufgab. Ein weiteres Beispiel ist der Rost, der bereits in einem Bericht des römischen Dichters Ovid über den Rostpilzgott Robigus benannt wurde. Opfergaben seitens der Landwirte am 25. April jedes Jahres sollten dessen Wohlwollen bewirken. Trotz zahlreicher bewährter Bekämpfungsmaßnahmen sind diese Pilze auch heute noch agrarökonomisch relevant (BEBBER und GURR, 2015; KLENKE und SCHOLLER, 2015).

Pilze sind aufgrund ihres Zellkerns mit Zellmembran Eukaryoten sowie durch das Fehlen von Chloroplasten C-heterotroph. Saprophytisch, parasitär oder pathogen lebend treten sie sowohl im Wasser als auch auf dem Land auf (SCHLÖSSER, 1997; HALLMANN et al., 2007). Da Pilze komplexe pflanzliche Polymere abzubauen vermögen, zählen sie zu den am besten an pflanzliches Substrat angepassten Organismen (HALLMANN et al., 2007). Phytopathogene Pilze durchlaufen während der Krankheitsentwicklung verschiedene Phasen (Lebenszyklus) (SCHLÖSSER, 1997), wobei ihre Entwicklung in mindestens einem Stadium ausschließlich auf lebenden Pflanzen stattfindet (KLENKE und SCHOLLER, 2015). Je nach parasitärem Verhältnis zu ihrer Wirtspflanze kann eine Einteilung der Pathogene in obligate (Ernährungsform: biotroph), von lebendem Substrat abhängige (Echte Mehltaupilze, viele Rostpilze etc.) und nicht obligate Erreger erfolgen. Hintergrund für die Biotrophie von Gerstenmehltau (*Bgh*) ist das Unvermögen, selbst Purine zu synthetisieren. Die nicht obligaten Erreger lassen sich nochmals in fakultative Saprophyten, wie *Venturia inaequalis*, und fakultative Pathogene unterscheiden. Erstere benötigen zur Vollendung ihres Lebenszyklus zwar den Wirt, können jedoch phasenweise auch von bereits abgestorbenem Material leben (Ernährungsform: hemibiotroph/perthotroph). Die fakultativen Pathogene sind zur Vollendung ihres Lebenszyklus auch auf nicht durch sie selbst abgestorbenem, totem Substrat befähigt (Ernährungsform: nekrotroph) (SCHLÖSSER, 1997; HOFFMANN und SCHMUTTERER, 1999; HALLMANN et al., 2007; KÜCK et al., 2009; DODDS und RATHJEN, 2010; BOWEN et al., 2011). Nekrotrophe Pilze nutzen für das Abtöten ihrer Wirtspflanze oftmals wirtsspezifische oder unspezifische Toxine (HALLMANN et al., 2007). Der durch phytopathogene Pilze hervorgerufene Schaden an Getreidepflanzen ist allgemein betrachtet im Entzug der pflanzlich assimilierten Kohlenhydrate seitens des pilzlichen Parasiten begründet. Wirtschaftlich äußert sich dies z.B. in einer verringerten Kornzahl pro Ähre bei gleichzeitig kleinerem Korngewicht (PRIGGE et al., 2004).

Die Verbreitungseinheiten der Pilze sind Sporen (Konidio-/Uredo-, Sporangio-, Zoo-, Clamydo- oder z.B. Asco-/Basidiosporen), welche sexuell oder asexuell gebildet werden können. „Man unterscheidet die Hauptfruchtform (Teleomorph) mit sexueller Sporenbildung in speziell differenzierten Sporokarprien, die meist der Überdauerung und Erhaltung dienen, von der Nebenfruchtform (Anamorph) mit asexuell gebildeten Sporen (Konidien) für die Massenvermehrung und Verbreitung“ (HALLMANN et al., 2007). Die Fortpflanzungsart in der Hauptfruchtform ist eine Grundlage für die Klassifizierung der Pilze (HALLMANN et al., 2007).

Zu den Eukaryoten-Reichen mit phytopathogenen „Pilzen“ zählen v.a. Chromista und Fungi (das Reich, dem die meisten Pilze angehören). Zum Reich Chromista zählt der Stamm der Oomycota, welchem sogenannte Pseudofungi zugeordnet werden können (frühere Bezeichnung: Oomycetes/Phycomycetes). Bei diesen handelt es sich um den Algen nahestehende Organismen. Im Gegensatz zu den Echten Pilzen des Reiches Fungi (Zellwand chitinisiert, bei Dauerstadien melanisiert) sind in den Zellwänden der Pseudofungi hauptsächlich Glucane, Cellulose sowie Hemicellulosen und nicht Chitin enthalten. Das im Reich der Pflanzen ebenso als Gerüstsubstanz dienende Chitin stellt nach der Cellulose das zweithäufigste Polysaccharid dar und macht den Hauptbestandteil der pilzlichen Zellwand aus. Stämme des Reiches Fungi sind die der Chytridiomycota, Zygomycota (Jochpilze) sowie Ascomycota (Schlauchpilze) und Basidiomycota (Ständerpilze) (SCHLÖSSER, 1997; FRANZ und ALBAN, 1999; HALLMANN et al., 2007; BLASCHEK, 2010). In Abb. 1 sind alle in der vorliegenden Arbeit berücksichtigten Phytopathogene entsprechend klassifiziert.

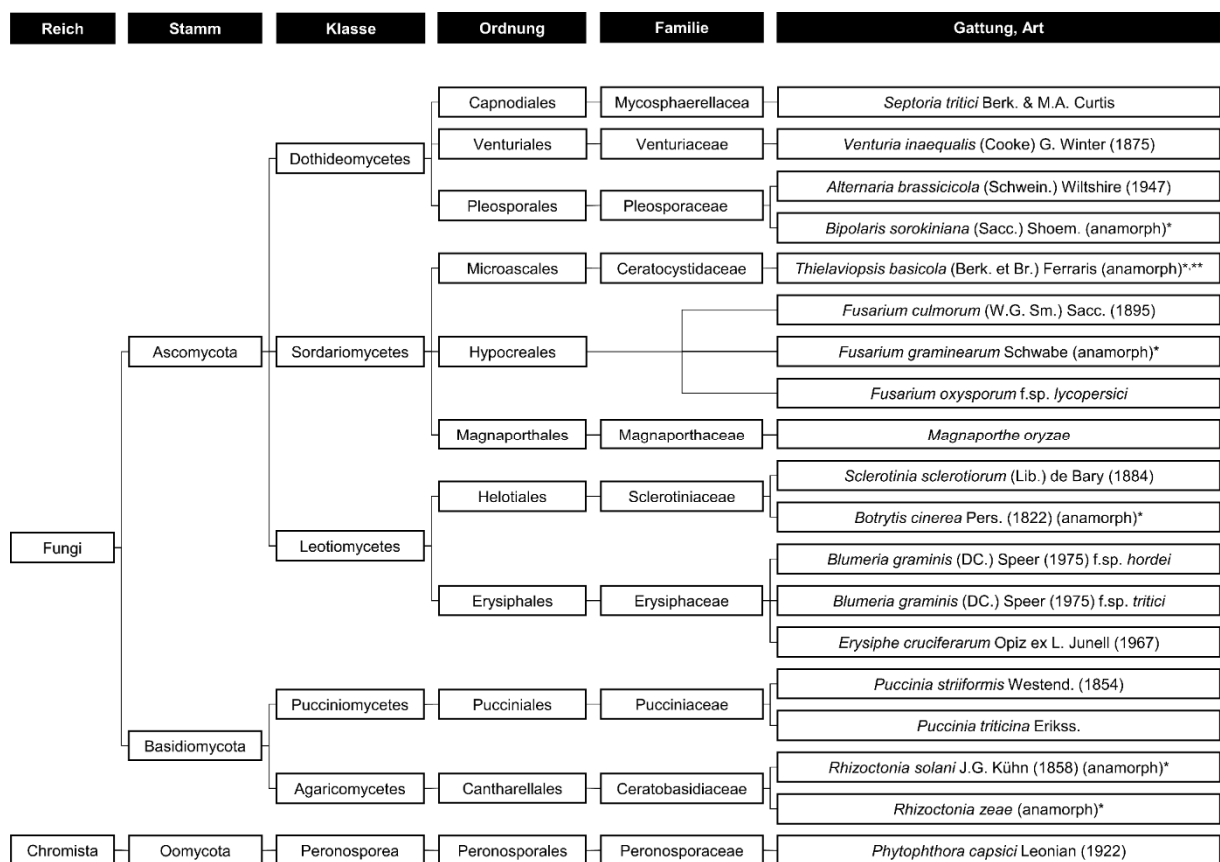


Abb. 1: Systematik der im Rahmen der Labor- und Gewächshausversuche verwendeten bzw. im Freiland aufgetretenen Phytopathogene (Quelle: eigene Darstellung [BRANDS, 1989-heute, basierend auf KIRK et al., 2008; *HOFFMANN und SCHMUTTERER, 1999; RIDOUT, 2009; **IMA, 2016]).

2.1.1 Echter Mehltau

Zu den Echten Mehltapilzen zählen gebietsbezogen (Deutschland, Österreich, Schweiz und Südtirol) 202 Arten (global bekannt sind 769 Arten) verschiedener Gattungen, darunter die Gattungen *Blumeria* und *Erysiphe* (HOFFMANN und SCHMUTTERER, 1999; RIDOUT, 2009; KLENKE und SCHOLLER, 2015). Für diese Pilze typisch ist ihr an Blättern und sonstigen grünen Pflanzenteilen (alle Assimilationsorgane) auftretendes, meist weißliches Mycel mit etwa 5 mm großen, mehligem Pusteln. Am oberflächlichen Mycel werden unverzweigte Konidienträger ausgebildet, welche bei *Blumeria* an der Basis zwiebförmig geschwollen sind und endseitig einzellige Konidien abschnüren (Anamorph). Bei der geschlechtlichen Form (Teleomorph) kommt es im Stadium der Reife zum Zerreißen der

Fruchtkörperwandung und zur Freilassung von Asci mit einzelligen Ascosporen. Während die Echten Mehltaupilze vorrangig zweikeimblättrige Gehölze und Kräuter (bedecktsamige Blütenpflanzen) befallen, nutzt mit *Blumeria graminis* nur eine Art die Wirtspflanzenfamilie der Süßgräser (inkl. Getreide) (HOFFMANN und SCHMUTTERER, 1999; RIDOUT, 2009; KLENKE und SCHOLLER, 2015). Taxonomisch gibt es immer wieder Änderungen in der Zuordnung oder Namensgebung einzelner Pilze. *Erysiphe graminis* wird deshalb heute auch als *Blumeria graminis* betitelt (SCHLÖSSER, 1997). *B. graminis* gilt als ein durch Rassenbildung hoch wirtsspezialisierter (Getreidearten, Getreidesorten), obligat biotropher Ektoparasit (HALLMANN et al., 2007). Diese Spezifität bildet die Grundlage der Unterscheidung von *formae speciales* (f.sp.) wie z.B. f.sp. *tritici* oder *hordei* (HOFFMANN und SCHMUTTERER, 1999; HALLMANN et al., 2007; RIDOUT, 2009).

Weizen- und Gerstenmehltau: Zur Überdauerung der sommerlichen Vegetationsruhe bilden der Weizenmehltau (*B. graminis* f.sp. *tritici*) sowie der Gerstenmehltau (*B. graminis* f.sp. *hordei* [*Bgh*]) auf älterem Blattmaterial oder Stoppelresten Kleistothezien aus, deren Ascosporen Auflaufgetreide und herbstliche Frühsaaten befallen können. Im Unterschied zu anderen *Blumeria*- bzw. *Erysiphe*-Arten weist *B. graminis* große Kleistothezien mit großen sowie zahlreichen Asci auf. Mit Mehltaupusteln befallenes Auflaufgetreide („Grüne Brücke“) ist durch windverbreitete Sporen (Infektionseinheiten = Konidien) eine weitere, bedeutendere Inokulumquelle neuer Saaten (HOFFMANN und SCHMUTTERER, 1999; PRIGGE et al., 2004). Nachdem die Überwinterung an befallenen Pflanzen in Mycelform erfolgt ist (Ruheform), dient diese asexuelle Sporenform der Infektion im Frühjahr. Das weißliche bis hellgraue, später graubraune, pelzige Mycel (mehlartige Pusteln) des Weizenmehltaus wird, wie auch das Mycel des Gerstenmehltaus, ektoparasitisch auf assimilationsfähigem Pflanzengewebe ausgebildet, wobei die Ernährung über in den Epidermiszellen gebildete Haustorien erfolgt (Nährstoffentzug). Der Gerstenmehltau äußert sich durch ein oberflächlich weißes, flauschiges Pilzgeflecht auf Blättern, Halmen und Ähren sowie bei starkem Befall durch vorzeitig vergilbte Blätter (HOFFMANN und SCHMUTTERER, 1999; PRIGGE et al., 2004; RIDOUT, 2009; BASF SE, 2018a). Für die witterungsabhängige Konidienproduktion sind eine Temperatur von unter 20 °C und eine trockenheitsfolgende, möglichst hohe Luftfeuchte (95 %) optimal (Regennässe → Quellung → Aufreißen der Fruchtkörper → Ausschleudern der Ascosporen). Hohe Saatstärken bzw. höhere Triebdichten bedingen daher ein für den Krankheitserreger förderliches Mikroklima (HOFFMANN und SCHMUTTERER, 1999; PRIGGE et al., 2004). Die Verbreitung der Konidien wird durch hohe Temperaturen (bis zu 28 °C) bei geringer relativer Feuchte sowie starke Windverhältnisse begünstigt. Je nach befallener Getreideart, je nachdem, ob die Wirtspflanzen frühzeitig oder eher spät infiziert werden und je nach Sortenanfälligkeit, reduzieren die Erreger das Wurzelwachstum, die Dichte des Bestands, die Kornzahl je Ähre (Sommer [SG]- und Wintergerste) und das Tausendkorngewicht (TKG; Weizen) mit Ertragsverlusten von über 25 % bzw. 30 %. Dies wiederum hat seine Ursache in geringeren Photosyntheseleistungen und einer reduzierten assimilationsfähigen Blattfläche (Fixierung des assimilierten Kohlenstoffs in den Blättern und Transfer von Nährstoffen zum Befallsort → Verschiebung der „sink-source“-Verhältnisse) (HOFFMANN und SCHMUTTERER, 1999; PRIGGE et al., 2004; RIDOUT, 2009). Die Verluste sind aufgrund des intensiveren Weizenanbaus in Mitteleuropa wirtschaftlich zunehmend bedeutend (HOFFMANN und SCHMUTTERER, 1999). In Gerste werden durch *Bgh* ebenfalls große Ernteverluste verursacht (RIDOUT, 2009; DEAN et al., 2012). Vorbeugende Maßnahmen zur Bekämpfung umfassen u.a. den Einsatz resistenter Sorten oder von Sortenmischungen mit variablen Resistenzgenen, frühzeitige Bestandskontrollen (mind. 30 Einzelpflanzen), mäßige Stickstoffgaben von ≤ 120 kg/ha (anderenfalls Minderung natürlicher Abwehrkräfte) und das die Bodenbearbeitung begleitende Einarbeiten der Ernterückstände (HOFFMANN und

SCHMUTTERER, 1999; PRIGGE et al., 2004; HALLMANN et al., 2007; RIDOUT, 2009; BASF SE, 2018a).

Eine weitere pflanzenbauliche Maßnahme betrifft die Saatgutbeizung mit systemischen Präparatkomponenten wie Nuarimol (HOFFMANN und SCHMUTTERER, 1999). Werden Fungizide verwendet, sollten diese rechtzeitig ausgebracht werden, d.h. ab etwa 1 % Befallsstärke auf 60 % bis 80 % befallenen Pflanzen (Weizenmehltau) bzw. auf Blattetage F-4 (4. Blatt unter Fahnenblatt [F]), ab Entwicklungsstadium (ES) 31 (1-Knoten-Stadium) oder zu Beginn des Schossens (Gerstenmehltau, insbesondere in SG). Bei einer Befallshäufigkeit von 60 % auf F-3 ist eine zweite Spritzung erforderlich (HOFFMANN und SCHMUTTERER, 1999; PRIGGE et al., 2004).

Mehltau an Cruciferen: Der weltweit verbreitete Echte Mehltau an Kreuzblütlern (*Erysiphe cruciferarum*) ähnelt dem Mehltau in Getreide durch sein spinnwebartiges, weißliches Mycel symptomatisch sehr. Auch hier stirbt das Blattgewebe unter gelbbrauner Verfärbung letztlich ab (HOFFMANN und SCHMUTTERER, 1999). Die Abb. 2 zeigt eine mit *E. cruciferarum* befallene *Arabidopsis thaliana*-Pflanze des Wildtyps (WT) Col-8 (rechts) im Vergleich zu Gerstenblättern der anfälligen SG-Sorte 'Lawina', welche mit *Bgh* infiziert sind (links).



Abb. 2: Mit Echtem Mehltau befallene Blätter von Gerste (l.) und *Arabidopsis* (r.) (Quelle: eigenes Bildmaterial).

2.1.2 Falscher Mehltau

Den Falschen Mehltaupilzen gehören in Deutschland, Österreich, der Schweiz und Südtirol 292 Arten an (KLENKE und SCHOLLER, 2015). Der pilzliche Thallus setzt sich bei den Reichen Chromista und Fungi aus fadenförmigen Hyphen zusammen, die in ihrer Gesamtheit als Mycel bezeichnet werden (SCHLÖSSER, 1997). Falsche Mehltaupilze können bei intensivem Befall Ähnlichkeit zu den Echten Mehltaupilzen aufweisen, zeigen jedoch durch z.T. noch begeißelten Stadien ihre Verbindung zum Wasser und sind phylogenetisch von phagotrophen Einzellern abzuleiten (keine Zugehörigkeit zu den Echten Pilzen [Fungi]). Ihr Mycel zeigt ein intrazelluläres Wachstum, wobei die Vermehrung vegetativ über an verzweigten Trägern gebildete, abgefallene Konidiosporangien erfolgt, welche wiederum mit Hyphen oder Zoosporen (sexuell: Oosporen) keimen. Bei den Wirtspflanzen der Falschen Mehltaupilze handelt es sich im Wesentlichen um ein- sowie zweikeimblättrige Kräuter und Gräser (oft einjährige Pflanzen). Wichtige Gattungen der Falschen Mehltaupilze sind, u.a., die der *Perenospora* (Keimung mit Hyphe) und die der *Plasmopara* (Keimung mit Zoospore) (KLENKE und SCHOLLER, 2015). Bei einer der verheerendsten Krankheiten in Reben handelt es sich um den durch *Plasmopara viticola* verursachten Falschen Mehltau der Weinrebe (DAGOSTIN et al., 2011). *P. viticola* ist, wie andere Vertreter auch, durch eine zeitnahe Resistenzbildung gegenüber systemischen Fungizidwirkstoffen gekennzeichnet (HALLMANN et al., 2007). Zu den *Phytophthora*-Spezies (spp.; griechisch „Pflanzenzerstörung“) gehören etliche unspezifische Wurzelfäuleerreger sowie wirtsspezifische, hemibiotrophe Sprosspathogene.

Der weltweit wichtigste phytopathogene Vertreter ist *Phytophthora infestans*, der Erreger der Kraut- und Knollenfäule der Kartoffel sowie der Blatt- und Fruchtfäule an Tomaten (HALLMANN et al., 2007; JUPE et al., 2013).

2.1.3 Rostkrankheiten

Rostpilze bilden im Pilzreich Fungi eine monophyletische Gruppe innerhalb der Basidiomycota, von welchen etliche (z.B. die Getreideroste) zu den Kulturpflanzenschädlingen zählen. Zu ihren Wirtspflanzen gehören im weitesten Sinne Gefäßpflanzen, die lokal (meist Blätter) aber auch systemisch befallen werden können. Namensgebend sind die rostfarbenen Sommersporenlager dieser Pilze. Entwicklungszyklisch können ein bis sieben Sporentypen ausgebildet werden, die sich morphologisch unterscheiden. Spermogonien dienen als Spermastien bildende Sporenlager der Dikaryotisierung. Aecien, auch Aecidien genannt, sind ein weiterer Sporenlagertyp, welcher sich aus Ketten von Aeciosporen zusammensetzt. Die der Vermehrung und Verbreitung dienenden Sommersporen werden, potentiell mehrmals pro Vegetationsperiode, in den Uredinien bzw. Uredosporenlagern gebildet, während dies im Hinblick auf die folgenden Teleutosporen in den Telien bzw. Teleutosporenlagern erfolgt. Die der Überdauerung dienenden Teleutosporen weisen eine meist gattungstypische Form sowie dunkelbraune bis schwarze Farbe auf. Den Teleutosporen folgen Basidien, die aus den Teleutosporen heraus keimen und durch Kurzlebigkeit sowie leichte Zusammenbrechbarkeit gekennzeichnet sind (KLENKE und SCHOLLER, 2015). Gemäß der Klassifizierung von KIRK et al. (2008) gehören den Rostpilzen in Deutschland, Österreich, der Schweiz und Südtirol 710 Arten an (weltweit bekannt sind über 8000 Arten). Etwa die Hälfte der Rostpilze wird dabei von der Gattung *Puccinia* gebildet (KLENKE und SCHOLLER, 2015).

Weizengelbrost: Der Weizengelbrost (*Puccinia striiformis*) ist durch seinen parallel zu den Blattadern verlaufenden, gelben Befall mit Uredosporenlagern charakterisiert. Es handelt sich um eine Pflanzenkrankheit, die lichtintensitätsabhängig bei feucht-kühler Witterung (9-11 °C) auftritt und weltweit v.a. in Weizen agrarwirtschaftlich bedeutend ist (Mindererträge von 40-50 %). In Norddeutschland kam es 1999 zu einem unerwartet starken Befall, der seine Ursache in einem Resistenzverlust der Winterweizensorte 'Ares' hatte. Betroffene Pflanzenorgane sind hauptsächlich die obersten Blätter sowie die Ähren mit der Folge eines reduzierten TKG. Die Uredosporenlager bilden die Überwinterungsform des Gelbrostes, der aber auch als Mycel an Ausfall- oder Wintergetreide überdauern kann. Die Befallsausbreitung erfolgt durch Windverteilung der Uredosporen, welche im Dunkeln sowie zwingend in tropfbarer Flüssigkeit bereits ab 3 °C keimen und selbst über geschlossene Spaltöffnungen in das Blattgewebe eindringen. Die infolge von Laufhyphen gebildeten Uredosporenlager brechen letztlich als streifenförmige, orangene bis zitronengelbe Rostpusteln aus der Epidermis hervor und fließen später zusammen. Ist der Befall fortgeschritten, schlitzten sich die Blätter auf und rollen sich ein. Neben der Verwendung von Sorten mit einem hohen Niveau an partieller Resistenz sollte Ausfallgetreide beseitigt und das Wintergetreide erst im Spätherbst ausgesät werden. Pflanzenbauliche Maßnahmen wie Leguminosen als Vorfrucht haben sich ebenfalls bewährt. Bei einem Gelbrostbefall mit nesterweisem Auftreten ab ES 31 sollten sofortig Fungizide (Azol-Wirkstoffe in Mischungen, Strobilurine) eingesetzt werden (HOFFMANN und SCHMUTTERER, 1999; PRIGGE et al., 2004; BASF SE, 2018b).

Weizenbraunrost: Der Weizenbraunrost (*Puccinia triticina*) hat infolge der zunehmenden Anbauintensität, einer Überdüngung mit Stickstoff und der Verwendung anfälliger, spätreifender Sorten in allen Ländern mit Weizenanbau an Bedeutung gewonnen (HOFFMANN und SCHMUTTERER, 1999; PRIGGE et al., 2004; BASF SE, 2018c). Sortenabhängig treten Ertragsverluste von bis zu 27 % auf (Nordwesteuropa) (HOFFMANN und SCHMUTTERER, 1999).

Milde bis warme klimatische Bedingungen (20-25 °C) fördern sein Auftreten (HOFFMANN und SCHMUTTERER, 1999; PRIGGE et al., 2004; BASF SE, 2018c).

Agrarwirtschaftlich wirkt sich ein Befall mit Braunrost auf den Ertrag (Kornzahl/Ähre, TKG) aber auch die Kornqualität aus (Eiweißgehalt) (PRIGGE et al., 2004; BASF SE, 2018c). Im Gegensatz zum Gelbrost treten die rostbraunen Uredosporenlager des Braunrostes unregelmäßig auf der Blattoberseite verteilt aus der Epidermis hervor. Diese sind häufig von einem hellen Hof, den sogenannten „Grünen Inseln“ umgeben (Nährstoffzufluss aus befallsfreiem Gewebe), während übriges Gewebe frühzeitig „altert“. Zu einem späteren Zeitpunkt kurz vor der Blüte treten blattunterseitig Teleutosporenlager aus schwarzbraunen Pusteln in Erscheinung. Die Überwinterung erfolgt als Mycel an Ausfallgetreide und Herbstsaaten, die Verbreitung der Sporen durch Wind (bei trockenem Wind mit über 0,5 m/sec). Die präventiven ackerbaulichen Maßnahmen entsprechen neben der Verwendung frühreifer Sorten und dem Vermeiden von Herbstinfektionen im Wesentlichen denen bei Mehltauerkrankungen in Weizen bzw. Gerste. Bei Verwendung feldresistenter Sorten konnte der Minderertrag (Korn) im Vergleich zu anfälligen Sorten um 10 % gesenkt werden. Bei intensivem Weizenanbau mit mitteleuropäischen Sorten sollten ab dem Ährenschieben Fungizidanwendungen mit Dauerwirkung in Betracht gezogen werden (Triazolfungizide), bei 30 % Befallshäufigkeit unmittelbar (HOFFMANN und SCHMUTTERER, 1999; PRIGGE et al., 2004; BASF SE, 2018c).

Da nicht auf alle in dieser Arbeit relevanten Phytopathogene gleichermaßen eingegangen werden kann, soll Anlage 1 einen kurzgefassten Überblick über die hier berücksichtigten hemibiotrophen und nekrotrophen Pilze und Oomyceten geben. Anlage 2 stellt das Mycelwachstum der in Anlage 1 beschriebenen Phytopathogene optisch dar.

2.2 Sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe und Polyphenole

Neben dem Primär- oder Grundstoffwechsel, welcher dem Lebenserhalt und der Reproduktion dient (universelle Wachstums-, Entwicklungsprozesse und -stoffe), liefert der Sekundärstoffwechsel der pflanzlichen Zelle sekundäre Naturstoffe, die ins Außenmilieu abgeschieden werden und wie folgt charakterisiert sind:

- überwiegend nicht essentiell,
- keine Bedeutung als Energiequelle,
- Bildung in nur ganz bestimmten Entwicklungsstadien,
- evolutionärer Selektionsvorteil (z.B. durch Lignin, ätherische Öle, Gerbstoffe) usw. (HÄNSEL, 1999; DINGERMANN et al., 2004; KREIS, 2010).

Sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe erfüllen wichtige Funktionen und sind z.B. als Phytohormone oder UV-Filter regulatorisch bedeutsam (DINGERMANN et al., 2004). Einige der Syntheseprodukte dienen als Duft- oder Farbstoffe der Anlockung bestäubender Insekten, aber auch als Wehrstoffe sowie Gifte (Fraß- und Infektionsschutz) (HÄNSEL, 1999; DINGERMANN et al., 2004; STEIN et al., 2006). Sie sind in der Zelle akkumulier- und speicherbar (hydrophile in der Zellvakuole, lipophile in Sekreträumen) (DINGERMANN et al., 2004; KREIS, 2010). Die Einlagerung unlöslicher Sekundärstoffe wie Lignin kann an Membranen erfolgen. Bekannt sind über 200.000 pflanzliche Verbindungen (DINGERMANN et al., 2004). Nur etwa 5 % der weltweit vorkommenden Pflanzen sind jedoch auf diese hin bisher näher untersucht worden (STEIN et al., 2006). Je nach Organismus kann es sich um Antibiotika, Vitamine wie B-Vitamine, Carotine oder Exotoxine handeln (DINGERMANN et al., 2004). Die Funktion des Sekundärmetabolismus, der genetisch streng kontrolliert ist (Selektionsdruck → Mutation), liegt demnach in der Interaktion zwischen dem Organismus und seiner Umwelt (HÄNSEL, 1999; DINGERMANN et al., 2004; KREIS, 2010). Die Einteilung der sekundären Pflanzeninhaltsstoffe

erfolgt nach ihrer chemischen Struktur oder Biosynthese und ihren funktionellen Eigenschaften (STEIN et al., 2006). Eine große Klasse sekundärer Pflanzenstoffe bilden die Polyphenole (ca. 10.000 Verbindungen), welche für Pflanzen z.T. lebenswichtig sind (HEß, 2008; DAI und MUMPER, 2010).

Polyphenole: Polyphenolische Verbindungen kommen in der Natur häufig, in struktureller Vielfalt und dabei funktionell bedeutend in jedem Pflanzenextrakt vor. Hierzu zählen (u.a.) lipophile (in ätherischen Ölen vorkommende) und glykosidische (in Ethylacetat lösliche) Polyphenole sowie wasserlösliche Salze (z.B. Anthocyanidine) (STICHER, 1999; DAI und MUMPER, 2010). Obwohl in allen Pflanzen auffindbar, sind nur wenige Polyphenole weit verbreitet, beispielsweise das Flavonoid Quercetin sowie die Hydroxyzimtsäuren Kaffee- und Ferulasäure (WATZL und LEITZMANN, 1999). Polyphenole und Polyphenolderivate (Ester, Glykoside) zeichnen sich durch ein aromatisches Ringsystem aus, welches über eine oder mehrere Hydroxyl (OH)-Gruppen verfügt (STICHER, 1999; HEß, 2008; DAI und MUMPER, 2010). Theoretische Muttersubstanz ist das Phenol (Abb. 3), wichtigster Syntheseweg in Pflanzen der Shikimisäure-Weg (Fortsetzung: Phenylalanin → Desaminierung über Phenylalanin-ammoniumlyase [PAL] → Zimtsäuren [Substitutionsunterschiede im Ringsystem] → weitere Phenole). In Monokotyledonen übernimmt Letzteres die Tyrosinammoniumlyase TAL (Tyrosin → Desaminierung über TAL → *p*-Cumarsäure) (WATZL und LEITZMANN, 1999; HEß, 2008; BUCHANAN et al., 2009).

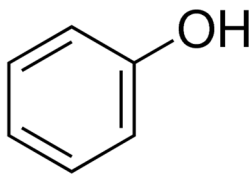


Abb. 3: Kohlenstoffgrundgerüst des Phenols mit Hydroxylgruppe (Quelle: Sigma-Aldrich, 2018a).

Wichtige Gruppen der Polyphenole bilden die Phenolcarbonsäuren (u.a. Gallussäure, Salicylsäure [engl. salicylic acid {SA}]), die Phenylpropane (u.a. Zimtsäuren, Lignine) und als größte Gruppe die Flavonoide (u.a. Flavonole, Anthocyane). Zimtsäuren sind in Pflanzen, als Glykoside oder Ester, meist an Zucker gebunden (Glucoside). Ein Depsid aus Kaffeesäure und Chinasäure ist die Chlorogensäure. Die hochpolymeren Lignine sind neben der Cellulose die wichtigste Gerüstsubstanz der Pflanzen (HEß, 2008; DAI und MUMPER, 2010). Die zu den bioaktivsten Sekundärmetaboliten zählenden Flavonoide treten im Pflanzenreich weit verbreitet sowie häufig in Blättern und Blüten auf, wobei sie in der pflanzlichen Vakuole für gewöhnlich als Glykoside akkumuliert werden (GILL und TUTEJA, 2010).

2.2.1 Gerbstoffe

Die zu den polyphenolischen Verbindungen zählenden Gerbstoffe der Samenpflanzen sind in sogenannte kondensierte Catechingerbstoffe (Proanthocyanidine), Lamiaceen-Gerbstoffe (phenolische Komponente: Kaffeesäure, z.B. als Ester mit Chinasäure [z.B. Chlorogensäure]) und hydrolysierbare Tanningerbstoffe unterteilt. Letztere stellen Ester und deren Spaltprodukte vorrangig Zucker (meist D-Glucose; Alkoholkomponente), Gallussäure (überwiegend Gallussäure liefernde Gerbstoffe: Gallotannine) oder Ellagsäure dar. Anders ausgedrückt sind sie aus der jeweiligen Phenolsäure (Säurekomponente) und der Zuckerkomponente aufgebaut (STICHER, 1999; WATZL und LEITZMANN, 1999; DINGERMANN et al., 2004; HEß, 2008; BUCHANAN et al., 2009). Die 1-O-Galloyl-β-D-Glucose kommt als einfachstes Gallotannin in den Wurzeln des Medizinalrhabarbers vor (STICHER, 1999;

DINGERMANN et al., 2004). Phenolcarbonsäuren (Phenolsäuren) umfassen die natürlich vorkommenden Hydroxyzimtsäuren sowie Hydroxybenzoesäuren (STICHER, 1999; WATZL und LEITZMANN, 1999). Sie entstehen durch Abspaltung der ersten beiden C-Atome der Seitenkette von Zimtsäuren (z.B. *p*-Cumarsäure → *p*-Hydroxybenzoesäure) (HEß, 2008). Gallussäure oder auch SA kommen als Hydroxybenzoesäuren in freier Form vor, als Drogeninhaltsstoffe jedoch meist nur in geringer Konzentration (wie auch die Chlorogensäure) (STICHER, 1999). Pflanzen enthalten die Phenolsäuren (wie auch die Flavonoide) vorrangig in den Randschichten wie der Schale der Kartoffel, was in ihrer Funktion als Antioxidans begründet liegt (WATZL und LEITZMANN, 1999). Ferulasäure steht für 4-Hydroxy-3-methoxyzimtsäure, welche u.a. als Konservierungsstoff für Lebensmittel geeignet sein soll (STICHER, 1999). *p*-Hydroxybenzoesäure, Protocatechu- und Gallussäure sind präinfektionelle Abwehrstoffe gegen Mikroorganismen. Die aus *p*-Cumarsäure oder Benzoesäure entstehende SA weist ebenfalls eine hemmende Wirkung gegen Mikroorganismen auf, induziert aber im Rahmen von Abwehrreaktionen insbesondere Genaktivitäten (HEß, 2008).

2.2.1.1 Catechingerbstoffe und Flavonoide

Die Catechingerbstoffe sind verknüpfte di- bis polymere Flavan-3-ole mit den Grundbausteinen Catechin/Gallocatechin oder Epicatechin/Epigallocatechin (Hydroxyderivate des Flavan-3-ols mit potentieller trans-/cis-Konfiguration jeder Variante) (STICHER, 1999; DINGERMANN et al., 2004) bzw. aus von den Flavonoiden abgeleiteten Flavan-3-olen (Catechine) und Flavan-3,4-diolen (Leukoanthocyanidine) aufgebaut (DINGERMANN et al., 2004). Die in der vorliegenden Arbeit relevanten Flavan-3-ole (Catechin, Epicatechin, Epigallocatechin, Epicatechingallat [ECG], Epigallocatechingallat) sind in Abb. 4 dargestellt.

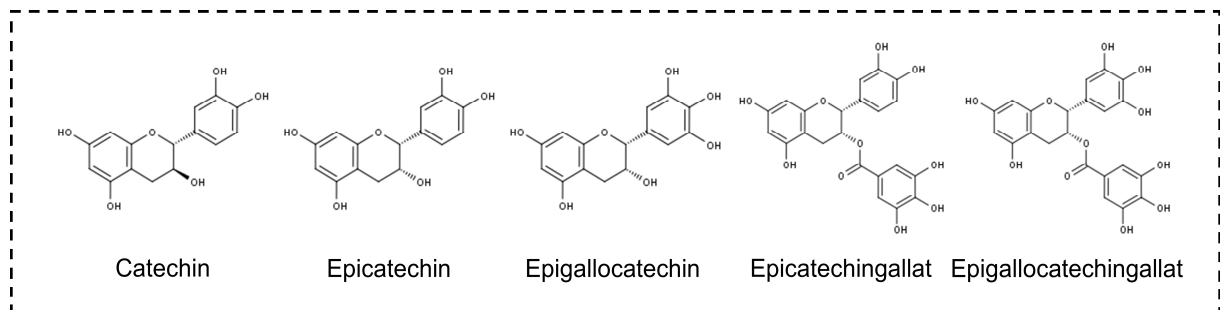


Abb. 4: Strukturformeln der Flavan-3-ole Catechin, Epicatechin, Epigallocatechin, Epicatechingallat und Epigallocatechingallat (Quelle: EXTRASYNTHESE, 2018a).

Bei den Flavonoiden handelt es sich um Derivate des Flavans, deren Name in der gelben Farbe mehrerer Vertreter (Flavonole) begründet ist (lat. flavus = gelb). In Arzneidrogen kommen Flavonoide größtenteils als an Zucker (vorrangig Monosaccharide wie D-Glucose) gebundene Glucoside vor (vorrangig an den OH-Gruppen der C-Atome C-3 und C-7 der Aglykone). Ihre Freisetzung hängt v.a. von der Zerkleinerung des Ausgangsmaterials sowie dessen Extraktionsbedingungen ab (STICHER, 1999; WATZL und LEITZMANN, 1999; DINGERMANN et al., 2004; STEIN et al., 2006; HEß, 2008). Grundkörper des C-Gerüsts ist bis auf die Ausnahme von Isoflavonoiden (Stammverbindung: 3-Phenylchroman) ein 1,3-Diphenylpropan ($C_6C_5-CH_2-CH_2-CH_2-C_6H_5$), bei welchem Ring A eine Hydroxygruppe in ortho-Stellung trägt, die nach Ringschluss mit dem γ -C-Atom des Propanzwischenstücks ein Flavan (= Stammkörper der Flavonoide; 2-Phenylchroman) ergibt (DINGERMANN et al., 2004). Die beiden, über eine C_3 -Brücke miteinander verknüpften, aromatische Ringe dienen als Orientierungsgrundlage für die Einteilung der Flavonoide in Unterklassen (STICHER, 1999). Etwa 80 % der über 5.000 bekannten Flavonoide machen die folgenden Untergruppen aus:

Flavanone, Flavone, Isoflavone, Flavanole, Catechine (Flavan-3-ole), Leucoanthocyanidine (Flavan-3,4-diole), Flavonole (Kämpferol, Quercetin), Anthocyane (rot-blaue Blütenfarbstoffe; Aglyca: Anthocyanidine) sowie Isoflavonoide. Ihre Verbindungen unterscheiden sich in der Substitution der Ringe (STICHER, 1999; WATZL und LEITZMANN, 1999; DINGERMANN et al., 2004; STEIN et al., 2006; HEß, 2008; BUCHANAN et al., 2009; DAI und MUMPER, 2010; GILL und TUTEJA, 2010).

Teils mit Alkylgruppen veretherte oder mit Zuckerresten glykosidierte OH-Gruppen bilden dabei die hauptsächlichen Substituenten (DINGERMANN et al., 2004; DAI und MUMPER, 2010). Die Ableitung der einzelnen Gruppen kann wie folgt charakterisiert werden (Biosynthese der Flavonoide, Veränderungen im Heterozyklus):

Chalkone (Muttersubstanzen) → Flavanone (1. →) Ableitung von Flavonen und Isoflavonen, (2. →) Dihydroflavonole → Flavonolsynthasen → Flavonole / Dihydroflavonolreduktasen → Flavan-3,4-diole → Anthocyanidinsynthasen → Anthocyanidine (HEß, 2008).

„Sofern als Flavan-Einheiten nur Catechin oder Epicatechin vorkommen, spricht man von Procyanidinen, der in der Natur am weitesten verbreiteten Gruppe der Proanthocyanidine“ (KAUL, 1996). Durch Kondensation, oxidative Verknüpfung (Dehydrierung mit Peroxidase) oder Polymerisation von mindestens zwei der oben aufgeführten Moleküle entstehen letztlich die eigentlichen Catechingerbstoffe. Das Kondensationsprodukt von Epicatechin und Leukocyanidin ist Procyanidin B2 (Abb. 5).

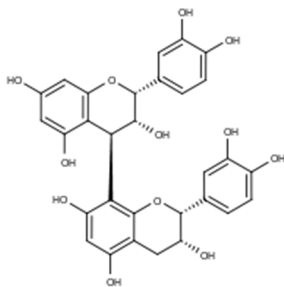


Abb. 5: Strukturformel von Procyanidin B2 (Quelle: EXTRASYNTHESE, 2018b).

In Gerbstoffdrogen findet sich zumeist ein Gemisch aus Catechingerbstoffen und den Gallotanninen, wobei ein Typ jedoch dominiert. Ein Beispiel hierfür ist das Galloyl-3-catechin in Schwarzem Tee (DINGERMANN et al., 2004).

2.2.1.2 Eigenschaften und Wirkungen von Gerbstoffen

Die Tatsache, dass Gerbstoffe mit Proteinen unlösliche Komplexe bilden, kann beim Gerben von Tierhäuten zu Leder genutzt werden, da sie mit wenig löslichen, unter Anwesenheit von Wasser aber quellbaren Proteinen, wie denen der Haut, unter dem Verlust der Quellfähigkeit der Proteine reagieren. Ökonomisch bedeutende Gerbstoffe liefernde Pflanzen sind z.B. Arten der Fabaceae, Myrtaceae oder auch Ericaceae (DINGERMANN et al., 2004). Arzneitechnisch können Gerbstoffe gegen Durchfallerkrankungen, Entzündungen des Mund- sowie Rachenraumes und Entzündungen des Genital- wie auch Analbereichs eingesetzt werden (adstringierende Wirkung auf Schleimhäute) (STICHER, 1999; DINGERMANN et al., 2004). Neben ihren adstringierenden Eigenschaften, die durch das Verfestigen des kolloidalen Gefüges von Gewebeschichten und Eiweißfällung die Membran vor bakteriellen Angriffen schützen, sind sie als zelltoxisch, enzyminaktivierend sowie als Resistenzfaktoren gegen Fäulniserreger beschrieben (DINGERMANN et al., 2004). Gemäß den Übersichten von SCHOLZ (1994) bzw.

HASLAM (1996) liegen zudem Hinweise auf antioxidative Eigenschaften, antivirale Wirkungen und antimikrobielle Effekte, wie solche auf gram-negative Bakterien, vor (STICHER, 1999).

Zahlreiche Wirkungen können insbesondere den in allen höheren Pflanzen vorkommenden Flavonoiden zugeschrieben werden. Hierzu gehören antiphlogistische, antihepatotoxische sowie antiallergische Aktivitäten, insbesondere hinsichtlich der Aktivierung von Zellen des Immunsystems und der Beeinflussung der zellulären Proteinphosphorylierung (STICHER, 1999; WATZL und LEITZMANN, 1999; DINGERMANN et al., 2004). Als Antioxidantien sowie in Abhängigkeit des Reduktions- und Bindungspotentials ihrer Radikale übertreffen die meisten Flavonoide selbst Radikalfänger wie Vitamin E oder Ascorbinsäure in ihrer Wirksamkeit (GILL und TUTEJA, 2010). Neben der Pigmentierungsfunktion und dem Schutz vor UV-Licht ist auch ihre Rolle in der Abwehr von Phytopathogenen beschrieben. In Wirt-Pathogen-Interaktionen agieren sie als Signalmoleküle (GILL und TUTEJA, 2010; OLSEN et al., 2010). Deutlich erhöhte Flavonoidkonzentrationen werden dann gefunden, wenn biotische oder abiotische (z.B. Verwundung, Trockenheit) Stressfaktoren zugrunde lagen (Induktion von Flavonoidbiosynthesegenen) (WINKEL-SHIRLEY, 2002; GILL und TUTEJA, 2010). Als Abwehrstoffe und Signalmoleküle gelten speziell auch die Isoflavonoide (BUCHANAN et al., 2009). Laut WATZL und LEITZMANN (1999) wirken v.a. die methylierten Flavonoide antimikrobiell. Epigallocatechin (Flavanol in Grünem Tee) und andere Polyphenole hemmen *in vitro* konzentrationsabhängig das Wachstum von *Porphyromonas gingivalis* auf Epithelzellen der menschlichen Mundschleimhaut (SAKANAKA et al., 1996; WATZL und LEITZMANN, 1999). Aufgrund der scheinbar geringen Bioverfügbarkeit der Flavonoide liegen deren Wirkungen jedoch nur in hohen Dosierungen vor (DINGERMANN et al., 2004).

Bei spezieller Betrachtung der in dieser Arbeit vorrangig berücksichtigten Polyphenolgruppen und ihren allgemeinen antibakteriellen und antifungalen Wirkungen können die folgenden kurz zusammengefasst werden (DAGLIA, 2012):

Flavan-3-ole (v.a. aus Tee):

- antibakterielle Aktivitäten von Catechin (z.B. gegenüber *Escherichia coli*), Gallocatechin-3-gallat, Epigallocatechin-3-gallat, Catechin-3-gallat und Epicatechin-3-gallat (z.B. gegenüber *Bacillus cereus* [meist aktiver als Antibiotika]) sowie Epigallocatechingallat (gegenüber *Helicobacter pylori*)
- antifungale Aktivitäten von Epigallocatechingallat (z.B. gegenüber *Candida albicans*)

Proanthocyanidine (Dimere bis Polymere der Catechine; aus Beeren):

- antibakterielle Aktivitäten von Epicatechintetrameren und -pentameren (z.B. gegenüber *E. coli*, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*)

Hydrolisierbare Gerbstoffe (Gallotannine und Ellagitannine):

- antibakterielle Aktivitäten von Ellagitanninen aus Himbeeren, Moltebeeren und Erdbeeren gegenüber selektierten gram-negativen Darmbakterien sowie von Galloylglucosen aus Mangokernen gegenüber Lebensmittelbakterien
- Aktivität der Gallotannine beruht auf ihrer Affinität für Eisen (Entzug [Chelation] von Substraten für das mikrobielle Wachstum) und der Inaktivierung membrangebundener Proteine
- antifungale Aktivitäten von Ellagitanninen aus *Ocotea odorifera* (Medizinalpflanze) gegenüber *Candida parapsilosis*

Nicht-Flavonoid-Komponenten:

- vergleichsweise schwächere antimikrobielle Aktivität

- antibakterielle Aktivitäten von Phenolsäuren (Ferulasäure, Gallussäure, Kaffeesäure) gegenüber gram-positiven und -negativen Bakterien wie *S. aureus* und *Pseudomonas aeruginosa*

2.2.2 Stilbene und ihre Wirkungen

Viele polyphenolische Pflanzeninhaltsstoffe sind als chemische Abwehrstoffe Produkte des Phenylpropanoid-/acetat-Stoffwechsels. Neben den Flavonoiden (Proanthocyanidine) zählen auch die Stilbene hierzu.

Stilbene entstehen aus Cinnamoyl-CoA- und Malonyl-CoA-Stoffwechselwegen und sind in Bryophyten, Farnpflanzen, Nacktsamern sowie Bedecktsamern gegeben. Mehr als 300 verschiedene Stilbenoide sind derzeit bekannt. Sie agieren in den Pflanzen als konstitutive und induzierbare Abwehrmechanismen (STEIN et al., 2006; BUCHANAN et al., 2009). Stilbene sind durch eine ungesättigte C₂-Kette charakterisiert, die zwei Benzenringe verknüpft (C₆-C₂-C₆-Grundstruktur). Diese liegen entweder als Aglykone (z.B. Rhapontigenin) oder in glucosylierter Form vor (z.B. Rhaponticin [RHA]). Charakteristisch ist die OH-Gruppe am C-5-Atom des A-Ringes, wobei der Hydroxylierungs- bzw. Methylierungsgrad eine Unterscheidung der Stilbenderivate ermöglicht. Bei Stilbenderivaten, welche in *Rheum* spp. bestimmt werden konnten und für diese Arbeit relevant sind (Abb. 6), handelt es sich u.a. um RHA, Desoxyrhaponticin (eine OH-Gruppe weniger als beim RHA, Glucosid des Desoxyrhapontigenins), Piceatannol (3,3',4',5-Tetrahydroxystilben), Resveratrol (RES) sowie 3,5,4'-Trihydroxystilben-3-O-β-D-glucosid (Piceid) (CSUPOR, 1970; RUPPRICH et al., 1980; KASHIWADA et al., 1984; ENGELSHOWE, 1985; KASHIWADA et al., 1988; KO, 2000; AAVIKSAAR et al., 2003).

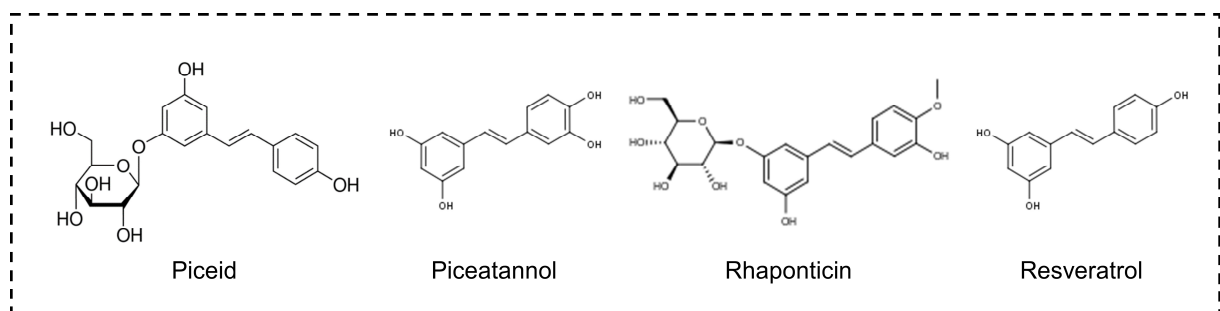


Abb. 6: Strukturformeln der Stilbene Piceid, Piceatannol, Rhaponticin und Resveratrol (Quelle: EXTRASYNTHESE, 2018a; Sigma-Aldrich, 2018b).

RHA wird unter dem Handelsnamen Phytoestrol[®] N therapeutisch als Phytoestrogen eingesetzt, z.B. gegen klimakterische Beschwerden (DINGERMANN et al., 2004). RES (Trans-3,4',5-trihydroxystilben) kommt als Phytoalexin und damit postinfektioneller Abwehrstoff (*in vitro* Nachweis) in Pflanzenarten wie der Rebe oder Erdnuss aber auch in verschiedenen Gräsern vor (GOLDBERG, 1996; SCHLÖSSER, 1997; WATZL und LEITZMANN, 1999; STEIN et al., 2006; HEß, 2008; ALBERT et al., 2011; GAMBINI et al., 2015). Entscheidend scheint hier die Stilbensynthese zu sein, welche 3 Malonyl-CoA und p-Cumaroyl-CoA zum RES zusammensetzt. Als Gene für die Stilbensynthese (*sts*) in Tabak transferiert wurden (*sts*-transgener Tabak), konnte eine gesteigerte Toleranz gegenüber phytopathogenen Pilzen (*Botrytis cinerea*) festgestellt werden (*in vivo* Nachweis) (HAIN et al., 1993), die durch das synthetisierte RES vermittelt wurde. Diese Übertragung erfolgte auch in Weizen und Gerste (LECKBAND und LÖRZ, 1998), wobei das RES in Weizen in glykosidierter Form akkumuliert wurde (FETTIG und HESS, 1999). Laut WOODWARD und PEARCE (1988) scheinen die Aglykone von Stilbenglykosiden jedoch eine höhere antifungale Kapazität aufzuweisen, was am Beispiel der Sitka-Fichte *Picea sitchensis* gegenüber dem Kiefern-Braunporling *Phaeolus schweinitzii*

nachgewiesen wurde. Das Vorkommen von RES in der Rebe und damit im Rotwein (bis zu 50 mg/l) erklärte die positive Beeinflussung der Gesundheit des Menschen, die v.a. bei Rotweinkonsumenten in Frankreich festgestellt werden konnte und auf der Aktivierung sogenannter „long-life“-Gene beruht (WATZL und LEITZMANN, 1999; WOOD et al., 2004; HEß, 2008; BUCHANAN et al., 2009; GAMBINI et al., 2015). Bei Mäusen, welche einer RES-Diät unterzogen wurden, ließ sich die Lebenszeit um 15 % verlängern (BAUR et al., 2006; HEß, 2008), was jedoch nach Hochrechnung aufgrund des übermäßigen Rotweinkonsums nicht auf den Menschen übertragbar ist. Auf RES basierende hochdosierte Nahrungsergänzungsmittel sind aber im Handel seit längerem erhältlich (HEß, 2008).

„Resveratrol beeinflusst Oxidationsvorgänge, Entzündungsprozesse, Blutgerinnung und wirkt antimutagen“ (WATZL und LEITZMANN, 1999). Den Stilbenen gemein sind ihre antibakteriellen (schwach) und antifungalen Schutzwirkungen (potent) gegenüber Pathogenen (Hemmung der pilzlichen Sporenkeimung und des Hyphenwachstums), ihre Funktion im Schutz vor Herbivorie sowie ihre hemmenden Effekte auf die Samenkeimung (BUCHANAN et al., 2009; ALBERT et al., 2011). KABRODT (2006) konnte anhand der in verschiedenen *Rheum* spp. (*R. rhaponticum*, *R. palmatum* und *Rheum*-Spezies [Landsorte Polen]) enthaltenen Stilbene sowie Gerbstoffe Struktur-Wirkungs-Beziehungen hinsichtlich antioxidativer, immunmodulatorischer und antiviraler Wirkungen ableiten.

2.3 Rhabarber

Die Gattung *Rheum* umfasst weltweit etwa 60 Arten (KRAFCZYK, 2008; KUHL und DEBOER, 2008), welche v.a. im gemäßigten sowie subtropischen Asien verteilt und in Höhenlagen von 2800 m bis 4000 m über Normalhöhennull zu finden sind (STICHER, 1999; KUHL und DEBOER, 2008). Die in Zentralasien (Hochgebirge Westchinas) beheimateten Medizinalrhabarberarten wachsen in Höhenlagen bis über 3000 m (ENGELSHOWE, 1985; STICHER, 1999; DINGERMANN et al., 2004). *Rheum palaestinum* ist selbst in den Wüsten Israels sowie Jordaniens heimisch und bietet dabei die effizientesten Wasserspeicherfähigkeiten, die in der Botanik bekannt sind (LEV-YADUN et al., 2009). Die zur Blütezeit 2 m bis 3 m hohen Stauden des Medizinalrhabarbers sind, z.B. als Zierstauden, auch unter europäischen Bedingungen kultivierbar, wobei ältere Pflanzen von mindestens fünf Jahren Standzeit zur Wurzelgewinnung herangezogen werden können (ENGELSHOWE, 1985; DINGERMANN et al., 2004). *Rheum rhabarbarum* L. wird in Europa seit dem 18. Jahrhundert als Zier- und Gemüsepflanze kultiviert (ENGELSHOWE, 1985; HÄNSEL et al., 1994). Gemäß HÄNSEL (1999) bzw. dem Europäischen Arzneibuch Pharmacopoea Europaea (PhEur) 1997 bilden *Rheum palmatum* L., *Rheum officinale* Baill. sowie Hybride dieser beiden Arten die Rhabarberwurzelstammpflanzen. Die Stammpflanzen sind als zur Familie der Polygonaceae gehörige (siehe auch DINGERMANN et al., 2004), ausdauernde, krautige Pflanzen mit 30 cm bis 40 cm großen, rundlich-herzförmigen, welligen und gelappten Blättern beschrieben. Die zahlreichen kleinen Blüten des erst nach über vier Jahren ausgebildeten Blüentriebs sind rispenartig angeordnet, gelblich-weiß oder rötlich (Abb. 7 links).



Abb. 7: Blütenstand (l.) und Teil des Wurzelstocks mit Nebenwurzeln (r.) von *Rheum officinale* (Quelle: eigenes Bildmaterial).

Der Wurzelstock ist kräftig, weit verzweigt und neigt zu rübenartiger Verdickung (Abb. 7 rechts). Rhabarberwurzel (Rhei radix PhEur Suppl 1998) wird gemäß dem Arzneibuch als die getrockneten unterirdischen Teile der genannten Arten oder deren Mischung definiert, welche mindestens 2,2 % (siehe auch DINGERMANN et al., 2004) und als Extrakt mindestens 4,0 % bis maximal 6,0 % (Deutsches Arzneibuch 1997) Hydroxyanthracenderivate enthalten (berechnet als nicht-glykosidisches Rhein [Anthrachinonderivat]). Bezogen auf die Droge muss RHA, gemäß der Pharmakopöeprüfung (Dünnschichtchromatographie), unterhalb der Nachweisgrenze liegen (ENGELSHOWE, 1985; STICHER, 1999).

Übrige *Rheum*-Arten (*R. rhaponticum* L., *R. rhabarbarum* L. [Speiserhabarber]) enthalten die in Medizinalrhabarber nur in Spuren erlaubten Stilbenderivate in nachweisbaren Mengen, v.a. RHA und/oder dessen Aglykon Rhapontigenin. Hydroxyanthracenderivate kommen in den Wurzeln dagegen nur geringfügig vor (DINGERMANN et al., 2004). Allgemein sind in der unterirdischen Biomasse v.a. Phenolcarbonsäuren und ihre Derivate, Flavanole (Gerbstoffe), Anthracenderivate, Stilbene, Naphtholglykoside, Chromone und Hydroxyzimtsäurederivate enthalten (ENGELSHOWE, 1985; KABRODT, 2006). Als Anthrachinonaglykone sind Aloeemodin, Chrysophanol, Physcion, Rhein und Rheinemodin in Rhabarber nachgewiesen worden (ENGELSHOWE, 1985). Je nach Herkunft und Sorte etc. variierende Inhaltsstoffe der Droge sind 3 % bis 12 % Anthranoide (vorrangig Anthrachinonglykoside), 5 % bis 10 % Gerbstoffe (vorrangig Gallotannine und mit Gallussäure veresterte Procyanidine), Flavonoide, Naphtholglykoside sowie Weitere. Im Rhizom von *R. officinale* einer bestimmten Herkunft und Sorte (Wanyuan, Sichuan, China) konnten mittels HPLC und aus Rhabarber isolierten Standardsubstanzen 30 verschiedene Komponenten identifiziert und quantifiziert werden, darunter Catechin und ECG (KOMATSU et al., 2006). Anwendung findet Rhabarberwurzel sowohl als laxierende wie auch adstringierend wirkende Droge (Laxans, Stomachicum). Alkoholische Extrakte werden auch bei Zahnfleischentzündungen und solchen der Mundschleimhaut eingesetzt. Ursächlich für die laxierende Eigenschaft sind die Anthranoide (Anthracengrundgerüst), unabhängig u.a. davon, ob diese in glykosidisch oder aglykonisch gebundener Form vorliegen (ENGELSHOWE, 1985; STICHER, 1999; DINGERMANN et al., 2004). Laut DINGERMANN et al. (2004) kommt die Arzneidroge Rhei radix (Rhabarberwurzel) in industriell gefertigten Laxanzien jedoch nicht mehr vor. Methanolische Extrakte aus *Rheum palmatum* zeigten in einer *in vivo* Studie von ALY und GUMGUMJEE (2011) moderate antimikrobielle Effekte. In einer Studie von KHAN et al. (2012) konnte mit *R. emodi*-Extrakt versetztes Wollgarn sehr gute Effekte gegenüber verschiedenen Bakterien- und Pilzarten erzielen.

Die Gattungen *Rheum* L. und *Rumex* L. haben gemeinsam, dass sie taxonomisch, unabhängig von Reich (Plantae), Stamm (Tracheophyta), Klasse (Spermatopsida) und Ordnung (Caryophyllales), derselben Familie (Polygonaceae) und dem übereinstimmenden Tribus Rumiceae (Rangstufe zwischen Unterfamilie und Gattung) angehören (BRANDS, 1989-heute).

2.4 Befall durch Phytopathogene und Abwehrmechanismen von Pflanzen

Zum Ausbruch einer Pflanzenkrankheit kommt es nur dann, wenn die folgenden Voraussetzungen erfüllt sind:

- Prädisposition (grundsätzliche, organspezifische / stadienspezifische / veränderte Anfälligkeit durch z.B. Stress oder Schockbehandlung),
- ausreichende Menge Inokulum (Überdauerung, Inokulumquellen),
- Koinzidenz (räumliches und zeitliches Zusammentreffen von Wirt und Erreger),
- Witterungseinflüsse (für die Konidienproduktion/-verbreitung günstige Feuchtigkeit, Temperatur),
- Wunden,
- Vektoren zur Penetration und Verbreitung (v.a. bei Viren durch Insekten),
- Wirt-Pathogen-Beziehungen (genetisch fixierte Aggressivität des Erregers).

Abiotische oder biotische Umweltfaktoren, wie zu hohe Stickstoffgaben, können die Prädisposition von Wirtspflanzen, wie die von Getreide, verändern (verstärken) und so, wie am Beispiel, den blattspezifischen Getreidemehltau fördern (veränderte Anfälligkeit). Bei anfälligen Pflanzen ist es dem Pathogen möglich, das pflanzliche Gewebe zu penetrieren und sich in diesem, mit der Folge entsprechender Symptome, zu vermehren. Hinsichtlich des Erregers *V. inaequalis* sind sowohl die jungen als auch die alten Entwicklungsstadien des Wirtes Apfel (Organ: Blatt, Frucht) prädisponiert. Sind die Witterungsbedingungen jedoch ungünstig, gelingt es auch den Konidien des betreffenden Erregers nicht, die Wirtspflanze zu befallen, da für die Keimung ein mehrstündiger Wasserfilm auf der Blatt- oder Fruchtoberfläche erforderlich ist. Ein weiteres Beispiel sind die Clamydosporen von *Fusarium* spp., welche im Boden mehrere Jahre überdauern können. Aufgrund dessen ist die Wahrscheinlichkeit eines (erneuten) Krankheitsausbruchs erhöht. Ähnlich verhält es sich bzgl. der Bodensklerotien von *Sclerotinia sclerotiorum*. Wunden erleichtern Erregern das Eindringen über die sonst schwerer bis nicht zu überwindenden mechanischen Barrieren der Wirtspflanzen (Epidermis, Rhizodermis und Rindenschicht). Hinsichtlich der Wirt-Pathogen-Interaktionen spielt zum einen die genetisch bedingte Resistenz der Pflanze und zum anderen die genetisch festgelegte Aggressivität des Erregers (Gewebeangriff durch Toxine und/oder Enzyme) eine Rolle. In diesem Zusammenhang wird von einer sogenannten inkompatiblen Interaktion dann gesprochen, wenn eine hohe Resistenz auf eine geringe Angriffsfähigkeit stößt (avirulenter Schaderreger, resistenter Wirt). Bei der kompatiblen Interaktion liegt der Fall umgekehrt (pathogener Mikroorganismus, anfälliger Wirt).

In beiden Fällen erkennt die Pflanze den Angriff seitens des Pathogens, ein Phänomen, welches auch als „recognition“ bezeichnet wird und in dessen Folge Abwehrreaktionen (*de novo* Synthesen) ausgelöst werden (SCHLÖSSER, 1997; HALLMANN et al., 2007). Die Erkennung von Fremdmolekülen/Elicitoren, sogenannten Mikroben-assoziierten molekularen Mustern (engl. microbe-associated molecular patterns [MAMPs]) bzw. Pathogen-assoziierten molekularen Mustern (engl. pathogen-associated molecular patterns [PAMPs]), seitens der Pflanze stellt das erste Glied im Rahmen ihrer genetisch bedingten Immunität dar (PAMP-getriggerte Immunität [engl. PAMP-triggered immunity {PTI}]). Diese wird durch Mustererkennungsrezeptoren (engl. pattern recognition receptors [PRRs]) wie LRR („leucine-rich repeat“)-Rezeptorkinasen ermöglicht, welche in den Erkennungsprozess von Bakterien, Pilzen und Oomyceten involviert sind. Bei Elicitoren der pflanzlichen Immunität kann es sich um spezifische pilzliche Zellwandkomponenten wie β -Glucan oder Chitin

(Oligosaccharide) handeln. Ein PAMP-verbundenes Defizit (ausbleibende Signaltransduktionskaskade) geht folglich mit einer erhöhten Krankheitsanfälligkeit der Pflanze einher (MIYA et al., 2007; ZIPFEL, 2008; BOLLER und FELIX, 2009; SILIPO et al., 2010; TSUDA und KATAGIRI, 2010; JACOBS, 2013).

2.4.1 Kompatible Interaktion am Beispiel des Getreidemehltaus

Die pilzliche Infektion der Wirtspflanze erfolgt phasenweise (HOFFMANN und SCHMUTTERER, 1999). Ihr Befall hängt dabei stark von den vorherrschenden Temperatur- und Feuchtebedingungen sowie ggf. auch von exogenen Nährstoffen (z.B. Blatt- und Wurzelabscheidungen) ab (HALLMANN et al., 2007). Zunächst bilden die Konidien des Pilzes einen primären Keimschlauch auf der attackierten Blattoberfläche aus. Sekretiertes adhäsives Material ermöglicht die Anheftung, der die Ausbildung eines adhäsiven Organs, dem Appressorium, folgt, welches nach etwa 12 h voll ausgebildet ist (HÜCKELHOVEN et al., 1999). Anschließend ist es dem Pilz möglich, die epidermale Pflanzenzelle über eine Penetrationshyphe und einen Penetrationskeil zu penetrieren. Dies erfolgt durch Eintrittspforten wie Wunden sowie Stomata oder (bei Pilzen mgl. und meist gegeben) direkt über die Zellwand. Während *Plasmopara viticola* die pflanzliche Zelle über natürliche Öffnungen penetriert, geschieht dies bei *Fusarium oxysporum* über Wunden. Nach der Formation eines Haustoriums, welches bei obligat biotrophen Pilzen deren Ernährung gewährleistet, kann sich das Phytopathogen im pflanzlichen Gewebe entwickeln und reproduzieren.

Die Phasen der Infektion mit *B. graminis* gestalten sich bei Optimalbedingungen wie folgt:

1. Keimung einer Spore (Konidie) mit primärem Keimschlauch (20-25 °C, 100 % rF) + Ausscheidung von Flüssigkeit mit Kutinaseaktivität zum enzymatischen Abbau der Kutikula und Zellwand (1-2 h nach der Infektion [hours after infection {HAI}])
2. Bildung eines appressorialen Keimschlauches und Reifung eines primären Appressoriums (0-4 HAI)
3. Austritt einer Infektionshyphe und deren Eindringen in die Epidermiszelle (ca. 10 HAI) (bei gescheiterter Penetration: Ausbildung einer zweiten Infektionshyphe usw.)
4. Bildung eines Haustoriums mit Zellkern, Mitochondrien, endoplasmatischem Retikulum (ER) und Vakuolen (16-36 HAI)
5. Sekundärhyphen-, Pustel- und Konidienbildung (10-20 °C, 3-5/7-10 d nach der Infektion [bei 20 °C], 100 % rF; bei 25-30 °C meist keine Pusteln, sondern chlorotische Flecken)
6. Freisetzung und Ausbreitung der Konidien (trockene Blattflächen, höhere Temperaturen, geringe rF, Windturbulenz).

Die in Aufzählungspunkt 4 genannten Haustorien werden unter Einstülpung des Wirtszellplasmalemmas als auf die Nährstoffaufnahme spezialisierte Organe gebildet und sind, wie in Abb. 8 zu sehen ist, beidseitig fingerartig verzweigt. Bei Echten Mehltaupilzen finden sie sich ausschließlich in der Epidermiszelle, bei allen anderen Pilzen hauptsächlich im Mesophyll.

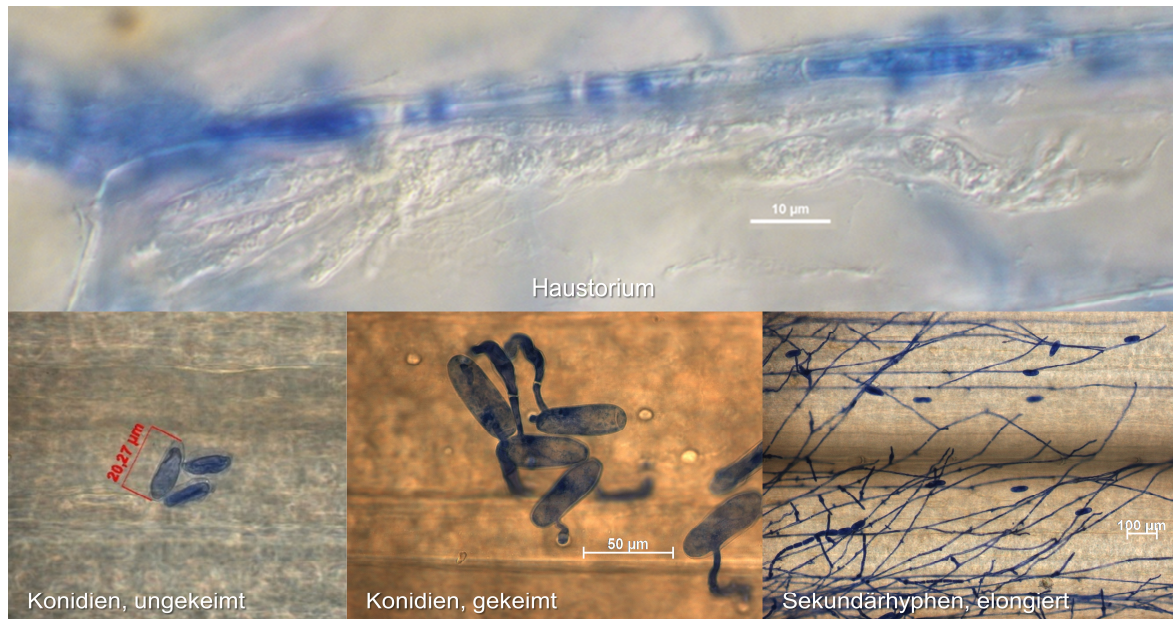


Abb. 8: Haustorium (72 h nach der Infektion [engl. hours after infection {HAI}], 1000-fache Vergrößerung), ungekeimte Konidien (24 HAI, 400-fache Vergrößerung), gekeimte Konidien (24 HAI, 1000-fache Vergrößerung) und elongierte sekundäre Hyphen (48 HAI, 200-fache Vergrößerung) von *Blumeria graminis* f.sp. *hordei* (Quelle: eigenes Bildmaterial).

An den Sporenträgern mit keuliger Basalzelle bilden sich Sporenketten aus ovalen Konidien (max. 30x15 µm), deren jeweilige Spitzenkonidie nach ihrer Reife abgetrennt und durch Luftturbulenz verbreitet wird (Aufzählungspunkte 5, 6; siehe Abb. 8) (AIST und BUSHNELL, 1991; HOFFMANN und SCHMUTTERER, 1999; HÜCKELHOVEN et al., 1999; HALLMANN et al., 2007; RIDOUT, 2009; DODDS und RATHJEN, 2010; KLENKE und SCHOLLER, 2015).

Sowohl für die Penetration als auch die weitere Ausbreitung werden seitens des Pilzes zellwandauflösende hydrolytische Exoenzyme ausgeschieden. Bei diesen kann es sich um Kutinasen, Pektinasen, Zellulasen, Hemizellulasen, Lignasen sowie Proteasen, Amylasen, Lipasen und Phospholipasen handeln, welche der Spaltung und Lösung der pflanzlichen Zellwandbestandteile wie auch der Zellinhaltsstoffe dienen. *Puccinia graminis* f.sp. *tritici* oder andere adaptierte Mikroorganismen sind dazu in der Lage, Suppressoren zu bilden, die durch Blockade der Rezeptoren für Elicitoren (z.B. Glykoproteinelicitor) pflanzliche Abwehrreaktionen (z.B. Aktivierung von PAL) unterdrücken (PTI ↓) (BENT und MACKEY, 2007; HALLMANN et al., 2007; BOLLER und FELIX, 2009). Pflanzen können diese Effektorproteine jedoch nach der Besiedlung der Wirtszelle über andere Rezeptoren, sogenannte R-Proteine, mit der Folge starker Abwehrmechanismen detektieren (Effektor-getriggerte Immunität [engl. effector-triggered immunity {ETI}]). Im Rahmen der Adaption ist es aber auch den Pilzen wiederum möglich, ihre Erkennungseffektoren abzuändern oder zu eliminieren (JONES und DANGL, 2006; BENT und MACKEY, 2007; TAMELING und TAKKEN, 2008; RIDOUT, 2009; DODDS und RATHJEN, 2010; TSUDA und KATAGIRI, 2010; JACOBS, 2013).

2.4.2 Basisresistenz und inkompatible Wirt-Pathogen-Interaktionen

Die Abwehr von Pathogenen erfolgt über präinfektionelle und postinfektionelle Abwehrmechanismen der Pflanze, wozu auch strukturelle Barrieren wie Behaarungs-, Wach- und Cutinüberzüge der Kutikula (wasserabweisend, keimhemmend), der Öffnungszustand der Stomata oder eine starke Lignifizierung der Zellwand zählen (→ Hemmung des Eindringens

und der Ausbreitung). Letztere gehören zu den konstitutiven (präinfektionell präformierten) Abwehrmechanismen, deren Funktionalität (z.B. sekundäre Pflanzenstoffe wie Saponine) jedoch nach der Pathogenattacke noch gesteigert werden kann. Zu den präinfektionellen biochemischen Abwehrmechanismen zählen u.a. toxische/inhibitorische Pflanzeninhaltsstoffe (z.B. polyphenolische Tannine, Flavonoide) sowie Enzyme und Enzyminhibitoren (z.B. Glucanasen, Chitinasen). Antimikrobielle Abwehrstoffe der Pflanze wie polyphenolische Verbindungen oder Saponine liegen vor dem Befall, meist als Glykosid, in inaktiver Form vor. Bei Verletzung oder Infektion werden sie durch Glykosidasen der Pflanze oder des Pathogens aktiviert.

Bei den postinfektionellen Mechanismen handelt es sich um induzierte biochemische Abwehrreaktionen, die infolge der Infektion ausgelöst werden. Nach der Penetration einer Wirtszelle seitens eines z.B. pilzlichen Pathogens werden von diesem Toxine, Enzyme und exogene Elicitoren (z.B. Oligochitine) freigesetzt. Elicitoren können aber auch in der Pflanzenzelle selbst entstehen (endogene Elicitoren, z.B. Oligogalacturonide infolge von Polygalakturonasen des Pilzes). Nach der Bindung der unspezifischen (z.B. Glykoproteine, Zellwandfragmente) oder spezifischen Elicitoren (z.B. Produkte von Genen für Avirulenz/Hypersensitivität) an spezifische Rezeptoren (Signalperzeption) müssen die exogenen Signale über die Phosphorylierung von Proteinen in endogene Signale (Botenstoffe als Kaskadenbestandteile) umgewandelt und nach deren Vermittlung innerhalb der Zelle zur Zielstruktur weitergeleitet werden (Signaltransduktion). Oftmals wird die Botschaft eines Signals von Transmembranrezeptoren im Plasmalemma aufgefangen und, einhergehend mit einer Signalpotenzierung (Kaskadeneffekt), über sekundäre Botenstoffe übertragen. Über Signalketten (Kaskaden multipler Abwehrvorgänge) erfolgt die Aktivierung von abwehrrelevanten Genen und die Synthese entsprechender Stoffwechselprodukte (toxische, wachstumshemmende Substanzen; i.d.R. unspezifische Abwehrreaktionen).

Die Botenstoffe (z.B. SA) wirken entweder lokal oder nach Translokation, wie im Falle der systemisch erworbenen Resistenz (engl. systemic acquired resistance [SAR]), in entfernt liegendem, noch unbefallenem Pflanzengewebe (dortige Aktivierung von Abwehrprozessen, z.B. Bildung von Pathogenese-zugehörigen [engl. pathogenesis-related {PR}] Proteinen) (SCHLÖSSER, 1997; HALLMANN et al., 2007; HEß, 2008; KLESSIG et al., 2018).

Mitogen-aktivierte Proteinkinasen: Häufige und zentrale Elemente der Signaltransduktion sind Proteinkinasen, v.a. die Mitogen-aktivierten Proteinkinasen (MAPKs), von welchen in *Arabidopsis* über 20 bekannt sind (HEß, 2008; DODDS und RATHJEN, 2010). Kinasekaskaden der MAPK-Gruppe spielen bei pflanzlichen Signalwegen, ausgelöst durch abiotische und biotische Stressfaktoren, eine wichtige Rolle (PITZSCHKE et al., 2009). Viele MAPK-Kaskaden können infolge einer Akkumulation von reaktiven Sauerstoffspezies (engl. reactive oxygen species [ROS]) aktiviert werden (z.B. Mitogen-aktivierte Proteinkinase 6 [MPK6]) (MITTLER et al., 2011). Die MAPK-Kaskaden-vermittelte Signaltransduktion inklusive entsprechender Abwehrreaktionen ist damit für die Resistenzetablierung essentiell (PITZSCHKE et al., 2009). Konsekutive MAPKs innerhalb einer MAPK-Kaskade werden durch sukzessive Phosphorylierungsprozesse aktiviert, die zur Phosphorylierung von Transkriptionsfaktoren und zur Transkription von abwehrrelevanten Genen führen (ASAI et al., 2002; MEHRABI et al., 2009; MAO et al., 2011). MAPKs phosphorylieren Serin, Threonin und Tyrosin in den Zielproteinen bzw. spezifische Transkriptionsfaktoren. Hierbei wird ein Transmembranrezeptor durch ein Signal aktiviert, welcher seinerseits mittels Phosphorylierung eine erste MAPKKK aktiviert. Dabei werden auf jeder Stufe nachfolgende MAPKs aktiviert (MAPKK, MAPK). Eine dieser Kinasen innerhalb der Kette phosphoryliert jeweils zahlreiche Moleküle der nachfolgenden Kinase (Kaskadeneffekt) (HEß, 2008; DODDS und

RATHJEN, 2010). Durch Abspaltung des Phosphatrestes bilden Phosphatasen ihre Gegenspieler (HEß, 2008; ANDERSON et al., 2011). Neben Elicitoren aus phytopathogenen Pilzen, SA und den klassischen Phytohormonen können MAPK-Kaskaden auch durch Verwundung, Kälte, hohe Salzkonzentration, Trockenheit oder Nährstoffmangel ausgelöst werden (HEß, 2008). Für den Transfer von Signalen abiotischer Stressoren und den abwehrbezogenen Signalweg gegenüber bakteriellen oder pilzlichen Pathogenen gelten speziell die MPKs 3 und 6 als essentielle Schlüsselregulatoren. Notwendig sind die MPKs 3 und 6 in diesem Zusammenhang auch in der Camalexin-Biosynthese (PITZSCHKE et al., 2009; MAO et al., 2011). BECKERS et al. (2009) zeigten zudem, dass die Enzyme MPK3 und MPK6 in stressexponierten, aber geprimten Pflanzen stärker aktiviert werden, als in nicht geprimten Pflanzen und für die vollständige Induktion von Abwehrmechanismen während der induzierten Resistenz (IR) in *Arabidopsis* erforderlich sind (latente Prästressdeposition der Signalkomponenten im Rahmen des Zell-Primings).

2.4.2.1 Reaktive Sauerstoffspezies und das antioxidative Schutzsystem von Pflanzen

Als erste pflanzliche Abwehrreaktion während früher Stadien vieler inkompatibler Interaktionen findet meist die Bildung von ROS statt (APEL und HIRT, 2004; BUCHANAN et al., 2009). ROS-Radikale werden als Nebenprodukte zahlreicher, in den Chloroplasten, Mitochondrien oder anderen Zellorganellen stattfindender Stoffwechselwege aus molekularem Sauerstoff (O_2) erzeugt. Bei O_2 handelt es sich aufgrund der zwei ungepaarte Elektronen um ein freies Radikal (ARORA et al., 2002; APEL und HIRT, 2004; BUCHANAN et al., 2009; GILL und TUTEJA, 2010; SHARMA et al., 2012). Im Rahmen der Photosynthese in den Chloroplasten entsteht aus dem hier gebildeten Sauerstoff das Hyperoxid- bzw. Superoxid-Anion ($O_2^{\cdot-}$) (FOYER und NOCTOR, 2005; BUCHANAN et al., 2009; GILL und TUTEJA, 2010). Über zahlreiche Reaktionswege führt $O_2^{\cdot-}$ zur Bildung von Wasserstoffperoxid (H_2O_2), $O_2^{\cdot-}$ und anderen ROS (Singulett-Sauerstoff [1O_2], $HO_2^{\cdot-}$, Hydroxyl-Radikal [OH^{\cdot}] etc.) (BUCHANAN et al., 2009; GILL und TUTEJA, 2010).

Für das Wachstum und die Entwicklung von Pflanzen ungünstige Umweltbedingungen (Temperaturextrema, Wasserverfügbarkeit, Trockenheit, Schwermetalle, Salzstress, biotische Stressfaktoren wie Pathogene usw.) induzieren eine zunehmende Produktion der ROS. Diese sind hoch reaktiv, toxisch, zeigen eine schädigende Wirkung auf Proteine, Lipide, Kohlenhydrate sowie DNA und führen letztlich zum Zelltod (oxidativer Stress) (ARORA et al., 2002; APEL und HIRT, 2004; BHATTACHARJEE, 2005; BUCHANAN et al., 2009; GILL und TUTEJA, 2010; SHARMA et al., 2012). Die stressbedingte ROS-Akkumulation ist weltweit ein Hauptgrund für verminderte Pflanzenproduktivität (GILL und TUTEJA, 2010).

Da ROS als regulatorische Schlüssel-moleküle für Zellen sowohl lebensnotwendig sind, bei stressinduziertem Überschuss aber zellschädigend wirken, weisen sie eine Doppelfunktion auf (APEL und HIRT, 2004; NAVROT et al., 2007).

Um sich selbst vor zelltoxischen Intermediaten zu schützen, verfügt die Pflanze über zelluläre antioxidative Abwehrmechanismen (ARORA et al., 2002; BUCHANAN et al., 2009; GILL und TUTEJA, 2010; SHARMA et al., 2012). Komponenten dieses Schutzsystems sind enzymatische und nicht-enzymatische Antioxidantien, deren Hauptvertreter in Tab. 1 zusammengefasst sind (MITTLER et al., 2004; BUCHANAN et al., 2009; GILL und TUTEJA, 2010; SHARMA et al., 2012).

Tab. 1: Wichtige enzymatische und nicht-enzymatische Antioxidantien des pflanzlichen antioxidativen Schutzsystems (BUCHANAN et al., 2009; GILL und TUTEJA, 2010; SHARMA et al., 2012).

Enzymatische Antioxidantien	Enzym-Code (EC)	Nicht-enzymatische Antioxidantien
Superoxiddismutase (SOD)	EC 1.15.1.1	Glutathion, reduziert (GSH)
Katalase (CAT)	EC 1.11.1.6	Ascorbat, reduziert (AsA)
Ascorbatperoxidase (APX)	EC 1.11.1.11	Carotinoide
Guaicolperoxidase (GPX)	EC 1.11.1.7	Tocopherole
Monodehydroascorbatreduktase (MDHAR)	EC 1.6.5.4	Flavonoide
Dehydroascorbatreduktase (DHAR)	EC 1.8.5.1	
Glutathionreduktase (GR)	EC 1.6.4.2	

Enzymatische Antioxidantien: Die Katalase (CAT) ist das bekannteste und auch zuerst entdeckte enzymatische Antioxidans (SCANDALIOS et al., 1997; SHARMA et al., 2012). Katalasen sind in der Lage, das toxische H_2O_2 aus z.B. dem Purinkatabolismus in Wasser und O_2 umzuwandeln (katalysierte Reaktion: $H_2O_2 \rightarrow H_2O + \frac{1}{2}O_2$). Dies ist auch aufgrund der vergleichsweise hohen Umsatzraten für die Detoxifizierung der stressinduzierten ROS unerlässlich (HEß, 2008; BUCHANAN et al., 2009; GILL und TUTEJA, 2010; SHARMA et al., 2012). Die Ascorbatperoxidase (APX) gilt als das für die ROS-Detoxifizierung in höheren Pflanzen essenziellste Schutzenzym. Dies kann durch die höhere Affinität zu H_2O_2 (μM -Bereich) als z.B. CAT (mM -Bereich) begründet sein. APX ist in den Abbau von H_2O_2 in H_2O und Dehydroascorbinsäure (DHA) involviert (katalysierte Reaktion: $H_2O_2 + \text{Ascorbat} \rightarrow 2H_2O + [M]DHA$). Ähnlich verhält es sich mit der H_2O_2 -abfangenden Monodehydroascorbatreduktase (MDHAR; katalysierte Reaktion: $MDHA + NADH \rightarrow \text{Ascorbat} + NAD^+$) (DEL RÍO et al., 2002; BUCHANAN et al., 2009; GILL und TUTEJA, 2010; SHARMA et al., 2012). Laut SAKIHAMA et al. (2000) ist die MDHAR das einzig bekannte Enzym, welches als Substrat ein organisches Radikal (MDA) nutzt (SHARMA et al., 2012). Die Dehydroascorbatreduktase (DHAR) katalysiert die Reaktion der Neubildung von Ascorbinsäure aus ihrer oxidierten Form (DHA) und reguliert den zellulären Ascorbatredoxstatus (katalysierte Reaktion: $DHA + 2GSH$ [reduziertes Glutathion] \rightarrow Ascorbat + oxidiertes Glutathion [GSSG]). Bekannt ist u.a., dass ein DHAR-Überschuss die Toleranz von *Arabidopsis* gegenüber Salzstress fördert (USHIMARU et al., 2006; BUCHANAN et al., 2009; GILL und TUTEJA, 2010; SHARMA et al., 2012).

Glutathionreduktase (GR) ist ein Enzym des Ascorbat-Glutathion-Zyklus und spielt, da es die reduzierte Form des Glutathions (GSH) als Pool aufrechterhält, eine ebenso tragende Rolle (katalysierte Reaktion: $GSSG + NADPH \rightarrow 2GSH + NADP^+$) (BUCHANAN et al., 2009). In Abb. 9 sind die antioxidativen Mechanismen der ROS-Abwehr dargestellt.

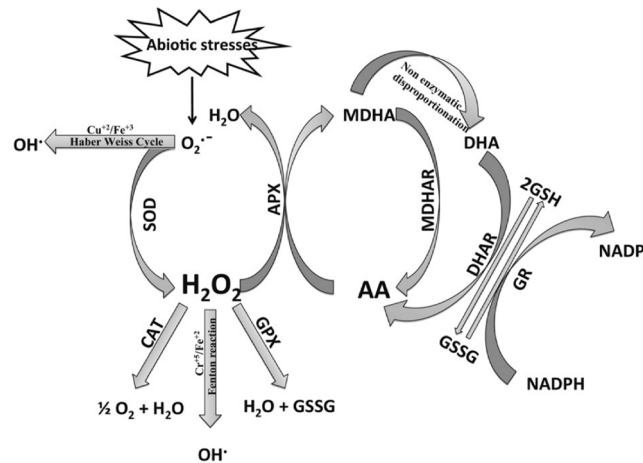


Abb. 9: Antioxidative Mechanismen im Rahmen der pflanzlichen Abwehr reaktiver Sauerstoffspezies (Quelle: GILL und TUTEJA, 2010).

Nicht-enzymatische Antioxidantien: Der maßgebliche antioxidative Mechanismus in Plastiden, in denen ROS im Rahmen normaler biochemischer Prozesse produziert werden, ist der Ascorbat-Glutathion-Zyklus (BUCHANAN et al., 2009). Dieser auch als „Halliwell-Asada pathway“ bezeichnete Zyklus kann als „Recycling“-Mechanismus der reduzierten Ascorbinsäure und des reduzierten Glutathions aufgefasst werden, welcher fortlaufende, von APX, MDHAR, DHAR sowie GR katalysierte Oxidations- und Reduktionsprozesse umfasst (SHARMA et al., 2012). Die Ascorbinsäure ist das am häufigsten vorkommende und effektivste Antioxidans im Rahmen des Glutathion-Ascorbat-Zyklus und der pflanzlichen ROS-Abwehr (Schadensvorbeugung und -minimierung durch Elektronenaufnahme in enzymatischen und nicht-enzymatischen Reaktionen) (SMIRNOFF, 2005; GILL und TUTEJA, 2010). Durch direktes Abfangen von $O_2^{\cdot-}$ - und OH^{\cdot} -Radikalen kann sie erheblich zum Membranschutz beitragen. Unter normalen physiologischen Bedingungen soll die Ascorbinsäure vorrangig in ihrer reduzierten Form verfügbar bleiben (SMIRNOFF, 2000; GILL und TUTEJA, 2010). Die Regenerierung der Ascorbinsäure ist deshalb so wichtig, weil vollständig oxidierte DHA eine kürzere Halbwertszeit hat und bei fehlender Rückreduzierung verloren geht (GILL und TUTEJA, 2010). Im Glutathion-abhängigen Teil des Zyklus werden Singulett-Sauerstoff und Hydroxylionen abgefangen (BUCHANAN et al., 2009). Glutathion ist im pflanzlichen Gewebe, vorrangig in reduzierter Form, in viele stoffwechselregulatorische sowie antioxidative Prozesse eingebunden (RAO und REDDY, 2008; GILL und TUTEJA, 2010). Zu den physiologischen Prozessen zählen u.a. die Signaltransduktion und die Expression von stressreaktiven Genen (MULLINEAUX und RAUSCH, 2005; GILL und TUTEJA, 2010). Eine wichtige Rolle spielt GSH zudem in diversen wachstums- und entwicklungsrelevanten Vorgängen (Zelldifferenzierung, Zelltod, Seneszenz, Pathogenresistenz, Enzymregulation) (GILL und TUTEJA, 2010). Neben Ascorbat und Glutathion sind als nicht-enzymatische Antioxidantien auch α -Tocopherole für ihre Radikalfängereigenschaften von z.B. Singulett-Sauerstoff bekannt (Schutz der Membranstabilität) (HOLLÄNDER-CZYTKO et al., 2005; BUCHANAN et al., 2009; GILL und TUTEJA, 2010). Die antioxidativen Wirkungen der Flavonoide wurden bereits beschrieben (siehe Kap. 2.2.1.2).

2.4.2.2 „Oxidative burst“, Papillen und Hypersensitivitätsreaktion

Der sogenannte „oxidative burst“ gehört neben oder im Zusammenhang mit der Quervernetzung von Zellwandproteinen (Kallosedeposition) und der Lignifizierung sowie der Zellkernvergrößerung und partikulären Verdichtung des Zytoplasmas zu den postinfektionellen biochemischen Abwehrmechanismen von Pflanzen. Auf hierzu ebenfalls zählende

PR Proteine und Phytoalexine wird an späterer Stelle eingegangen (HALLMANN et al., 2007; HEß, 2008; SCHLAEPPI et al., 2008).

„**Oxidative burst**“: Unter „oxidative burst“ versteht man:

- die Akkumulation und Freisetzung von toxischen ROS zur direkten Schädigung/Abtötung von Pathogenen,
- die Bereitstellung von H_2O_2 als Substrat für die Papillenbildung,
- die Auslösung einer hypersensitiven Reaktion (HR) infolge ihrer zellmembranschädigenden Wirkung und
- das Entstehen eines endogenen Signals für die IR (HÜCKELHOVEN et al., 2001; HÜCKELHOVEN und KOGEL, 2003; HALLMANN et al., 2007; HEß, 2008; BUCHANAN et al., 2009).

H_2O_2 hat eine direkte toxische Wirkung auf Pathogene und kann auch zur strukturellen Verstärkung der pflanzlichen Zellwand beitragen (Vernetzung von Glykoproteinen / erhöhte Ligninformationsrate). Dadurch erhält die Zellwand einen verstärkten Widerstand gegenüber der mikrobiellen Penetration sowie der enzymatischen Degradation. Zudem induziert H_2O_2 die Aktivität der Benzoessäure-2-Hydroxylase, welche für die Biosynthese von SA benötigt wird, und ist für die Induktion der Genexpression bestimmter Zellschutzmechanismen verantwortlich (LAMB und DIXON, 1997; HÜCKELHOVEN, 2007; BUCHANAN et al., 2009).

Papillen: Bei Einsatz der Appressorienbildung des Pathogens beginnt die Wirtspflanze Schichtmaterial an der inneren Epidermiswand abzulagern (Papillenformation) (HOFFMANN und SCHMUTTERER, 1999; RIDOUT, 2009). Papillen sind lokal verstärkte Zellwandstrukturen, die infolge der Kallosedeposition an der Zellwandinnenseite unterhalb der Penetrationshyphe gebildet werden (→ Penetration und Diffusion ↓) (SCHLÖSSER, 1997; HÜCKELHOVEN et al., 1999; HALLMANN et al., 2007; RIDOUT, 2009). Die Lignifizierung dieser Bereiche ist auf eine erhöhte Aktivität von z.B. Polyphenoloxidasen zurückzuführen, die polyphenolische Substanzen vermehrt zu ligninartigen Verbindungen polymerisieren (HALLMANN et al., 2007; HÜCKELHOVEN, 2007). Beispielhafte Papillenformationen, die durch Anfärbung der H_2O_2 -Akkumulationsorte mit 3,3'-Diaminobenzidin in Form von bräunlichen Strukturen sichtbar gemacht werden können, sind in Abb. 10 dargestellt. Sie zeichnen sich durch ihre Widerstandsfähigkeit gegenüber enzymatischer Auflösung aus (SCHLÖSSER, 1997; HÜCKELHOVEN et al., 1999; RIDOUT, 2009). Liegt eine inkompatible Interaktion vor, gelingt es einigen Pathogenen über sekretierte Exoenzyme auch diese Schutzbarriere zu penetrieren und selbst stabilste Abschlusschichten aufzulösen (HOFFMANN und SCHMUTTERER, 1999; HALLMANN et al., 2007; HÜCKELHOVEN, 2007).

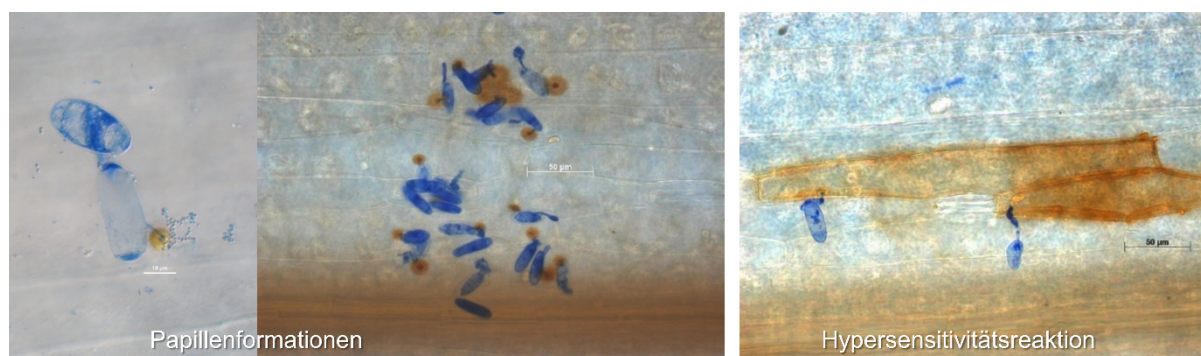


Abb. 10: Papillenformationen (72 h nach der Infektion [engl. hours after infection {HAI}], 1000/400-fache Vergrößerung) sowie Hypersensitivitätsreaktion (72 HAI, 400-fache Vergrößerung) in von *Blumeria graminis* f.sp. *hordei* attackierter Sommergerste (Quelle: eigenes Bildmaterial).

Hypersensitive Reaktion: Bei der HR handelt es sich um ein gezieltes Absterben pflanzlicher Zellen z.B. infolge eingedrungener Pilzhyphen (lokale Nekrotisierung = programmierter Zelltod; siehe Abb. 10). Diese Apoptose vollzieht sich in mehreren Phasen (Wanderung des Wirtszellkerns in Erregernähe → Granulierung des Cytoplasmas → Degeneration des Wirtszellkerns → Nekrotisierung der Zelle). Bei obligat biotrophen Parasiten wird ihre weitere Ausbreitung im pflanzlichen Gewebe aufgrund des Nährstoffmangels verhindert. Das Absterben der penetrierten Zellen erfolgt meist innerhalb von 24 HAI und ist mit der Induktion neuer Wirtsproteine sowie der Freisetzung von Polyphenolen zur Degeneration von Haustorien verbunden. Zusätzlich wird um das lokal nekrotisierte Gewebe und benachbarte Zellen eine mechanische Barriere aufgebaut (Veränderungen/Verstärkungen der Zellwände durch Bildung von Ligninen, Tanninen, Kallose, Suberin und Hydroxyprolin-reichen Zellwandproteinen) (SCHLÖSSER, 1997; HOFFMANN und SCHMUTTERER, 1999; PRIGGE et al., 2004; HEß, 2008; BUCHANAN et al., 2009). Die HR ist am Infektionsort eine übliche Folge der oben angegebenen ETI, der die Erkennung des Effektors seitens eines NBS-LRR-Proteins („nucleotide-binding site“- und „leucine-rich repeat“-Domänen) vorausgeht (JONES und DANGL, 2006; RIDOUT, 2009; DODDS und RATHJEN, 2010).

Die Widerstandsfähigkeit gegenüber z.B. Getreidemehltau unterliegt der Kontrolle von Resistenz- bzw. Virulenzgenen, die in frühen Stadien der Infektion als Regulatoren dienen. In Gerstenlinien eines hoch *Bgh*-anfälligen WT konnten durch Züchtung Resistenzgene etabliert werden, die derartige Abwehrreaktionen befördern. Hierbei handelt es sich u.a. um Allele des *Mla*-Locus sowie die *Mlg*- und *mlo*-Gene. Diese wirken sich im Falle der *mlo*-Resistenz auf alle Virulenzkombinationen im Stadium der Penetration und bzgl. der beiden anderen Resistenzen auf die Häufigkeit erfolgreicher Penetrationen aus (HOFFMANN und SCHMUTTERER, 1999; RIDOUT, 2009). Während das *mlo*-Gen die Papillenbildung über den Calciummetabolismus fördert, induziert das *Mlg*-Gen zudem die Apoptoseformation, meist als nachgeschaltete Immunantwort (JØRGENSEN, 1992; GÖRG et al., 1993; HÜCKELHOVEN und KOGEL, 1998; HOFFMANN und SCHMUTTERER, 1999; PRIGGE et al., 2004). Das *Mla*-Gen fördert die HR in attackierten Pflanzenzellen vorrangig in einer frühen Phase (FREIALDENHOVEN et al., 1994; HÜCKELHOVEN und KOGEL, 2003).

2.4.2.3 Salicylsäure, Jasmonsäure und Ethylen

Neben den als Phytohormone bekannten Auxinen, Gibberellinen, Cytokinen und der Abscisinsäure sind Ethylen (ET), Jasmonsäure (engl. jasmonic acid [JA]) und SA für ihre multiple Wirksamkeit während der Pathogenese charakteristisch (HEß, 2008; BARI und JONES, 2009).

Ethylen: ET wird in unterschiedlichsten Geweben v.a. unter Stress synthetisiert und durch Diffusion transportiert. Zu den physiologischen Funktionen zählen u.a. die Förderung der Fruchtreife, die Herbivorabwehr und die Förderung der Blattseneszenz. Im Rahmen der Signaltransduktion bindet ET an ET-Rezeptoren (z.B. „Ethylen Resistant 1“ [ETR1]) im ER (HEß, 2008). Mutationen an ETR1- und „ethylene-insensitive“ (EIN)-Allelen verursachen eine allgemeine Unempfindlichkeit gegenüber ET. Der Negativregulator der Ethylenreaktion CTR1 ist dem ETR1 nachgelagert und dem EIN2 vorgeschaltet (BUCHANAN et al., 2009). Für gewöhnlich wird ET, wie auch JA, mit der Abwehr von nekrotrophen Pathogenen assoziiert (BARI und JONES, 2009; BUCHANAN et al., 2009). Obwohl die SA- und ET- bzw. JA-vermittelten Abwehrwege antagonistisch sind, wurden auch Nachweise für synergistische Interaktionen gefunden (SCHENK et al., 2000; MUR et al., 2006; BARI und JONES, 2009). Zwischen ET und JA sind sogar vorrangig positive Interaktionen bekannt (KUNKEL und BROOKS, 2002). Beispielsweise wurde nachgewiesen, dass für die Expression des gegenüber *Alternaria brassicicola*

abwehrrelevanten Gens *PDF1.2* in *Arabidopsis* beide Signalwege notwendig sind (PENNINCKX et al., 1996). Im Pathosystem Tomate – *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* wiederum konnte eine positive Interaktion zwischen ET und SA nachgewiesen werden (O'DONNELL et al., 2001), da die postinfektionelle SA-Akkumulation von der ET-Synthese abhängig war (KUNKEL und BROOKS, 2002).

Jasmonsäure: JA und ihre Derivate sind als pflanzliche Signalmoleküle in diverse Prozesse wie Samenkeimung, Wurzelwachstum und Fruchtreife involviert (BERGER et al., 1996; DEVOTO und TURNER, 2003; BARI und JONES, 2009). JA wird in Reaktion auf Wassermangel, bei Verwundungen oder infolge pathogener Elicitoren gebildet und aktiviert zahlreiche Abwehrgene (auch MAPK-Kaskaden), ist aber v.a. ein Abwehrfaktor bei Herbivorie. Dass für Abwehrreaktionen teils sowohl JA als auch ET erforderlich sind, liegt vermutlich am Transkriptionsfaktor ERF1, welcher durch beide Substanzen aktiviert wird. JA induziert die Synthese von sekundären Pflanzenstoffen und ist in die sogenannte systemisch erworbene Wundantwort (engl. systemic acquired wound response [SAWR]) involviert (→ Bildung von PR Proteinen und Wundproteinen) (BERGER et al., 1996; DEVOTO und TURNER, 2003; HEß, 2008). JA-Akkumulationen infolge von Pathogen- oder Insektenangriffen treten sowohl lokal als auch systemisch auf (DEVOTO und TURNER, 2003; BUCHANAN et al., 2009). Durch JA und SA werden in *Arabidopsis* über 50 abwehrrelevante Gene ko-induziert (SCHENK et al., 2000; KUNKEL und BROOKS, 2002).

Salicylsäure: SA-vermittelte pflanzliche Abwehrreaktionen spielen sowohl bei der PTI als auch der ETI (R-Gen-vermittelte Abwehr) gegenüber biotrophen und hemibiotrophen Pathogenen eine Rolle. Bedeutung hat insbesondere die postinfektionelle Akkumulation von SA (TSUDA et al., 2008). Eine erhöhte Toleranz von Tabak gegen das Tabakmosaikvirus infolge einer Injektion von SA ist bereits seit 1979 bekannt (HEß, 2008). Zudem ist SA eine wichtige Schlüsselsubstanz der SAR. Dabei wird SA am Infektionsort gebildet, wonach ein mobiler Faktor im Phloem in jüngere, gesunde Pflanzenteile wandert und dort die Bildung von SA induziert (→ Synthese von PR Proteinen oder Phytoalexinen, Etablierung der HR) (LOAKE und GRANT, 2007; PARK et al., 2007; HEß, 2008; BARI und JONES, 2009; BUCHANAN et al., 2009). Mutanten, die in der Akkumulation von SA beeinträchtigt oder gegenüber SA insensitiv sind, zeigen gegenüber biotrophen und hemibiotrophen Pathogenen eine erhöhte Anfälligkeit (BARI und JONES, 2009). Die Akkumulation von SA kann in transgenen Pflanzen (*Arabidopsis* und Tabak) durch die Expression des *NahG* Gens der *Pseudomonas*-Art *P. putida*, welches für SA-Hydroxylase kodiert, verhindert werden. Dabei wird SA in SAR-inaktives Brenzcatechin metabolisiert, wodurch *NahG*-Pflanzen nicht zur postinfektionellen Akkumulation von SA befähigt sind. Damit einhergehend bleibt auch die Expression SAR-spezifischer Gene aus. Die *NahG*-Pflanzen bleiben anfällig (GAFFNEY et al., 1993; SCHLÖSSER, 1997; KOGEL et al., 1998). Eine der wichtigsten regulatorischen Komponenten des SA-Signalweges in Pflanzen ist der Faktor „non-expressor of *PR* genes“ (NPR1). Dieser Faktor interagiert mit TGA-Transkriptionsfaktoren, welche wiederum in die Aktivierung SA-responsiver *PR* Gene eingebunden sind (DONG, 2004; BARI und JONES, 2009). Die *Arabidopsis*-Mutante *npr1* ist hinsichtlich der SA-vermittelten Unterbindung der JA-responsiven Genexpression defizitär und wies nach, dass NPR1 eine wichtige Rolle im „cross-talk“ zwischen SA und JA einnimmt (SPOEL et al., 2007). NPR1 nachgelagert sind verschiedene WRKY-Transkriptionsfaktoren, die SA-abhängige Abwehrreaktionen regulieren (BARI und JONES, 2009). Zwischen JA und SA sind sowohl positive als auch negative Interaktionen bekannt, wobei nur wenige Beweise für positive Interaktionen vorliegen (KUNKEL und BROOKS, 2002). Der postinfektionelle „cross-talk“ zwischen JA und SA scheint hierbei speziell in *Arabidopsis* und Tabak konzentrationsabhängig zu sein (exogene Applikation von 10-100 µM → synergistische Verstärkung der

JA/SA-assoziierten Genexpression, bei höherer Konzentration → Antagonismus) (MUR et al., 2006). Letztlich wird angenommen, dass der „cross-talk“ zwischen den drei Signalmolekülen wichtig für das „fine tuning“ von Abwehrmechanismen gegenüber spezifischen Phytopathogenen wie nekrotrophen Erregern ist, da bei einem Befall mit diesen der SA-Signalweg durch die Förderung einer HR nicht induziert werden sollte (O'DONNELL et al., 2001; KUNKEL und BROOKS, 2002).

2.4.2.4 Pathogenese-zugehörige Proteine und Phytoalexine

Eine weitere Reaktion im Rahmen der IR ist die Bildung von PR Proteinen wie Glucanasen und Chitinasen, Schlüsselenzyme der Lignifizierung (PAL, CADs) sowie fungizide PR Proteine (z.B. Thaumatine). PR Proteine sind zwar konstitutiv vorhanden, erfahren nach dem Befall jedoch eine Aktivitätssteigerung (KAUFFMANN et al., 1987; LEGRAND et al., 1987; HEß, 2008; BUCHANAN et al., 2009). Sie akkumulieren in der Umgebung von HR-Läsionen (VAN LOON, 1985). Die meisten von ihnen werden durch die Signalmoleküle SA, JA oder ET induziert und sind antimikrobiell aktiv (VAN LOON et al., 2006). Von den 17 bisher nachgewiesenen Familien dienen beispielsweise Glucanasen wie PR-2 und Chitinasen wie PR-3 dem Abbau des Glucans und Chitins der pilzlichen Zellwand (VAN LOON und VAN STRIEN, 1999; VAN LOON et al., 2006; HALLMANN et al., 2007). Der Befall mit Mehltau führt in Getreide zur Aktivierung von β -1,3-Glucanase-Genen (HOFFMANN und SCHMUTTERER, 1999). Die PR-5-Familie wird als Thaumatin-ähnlich beschrieben (VAN LOON et al., 1994). Die Funktion und Wirkweise des PR-1 Proteins ist weitestgehend unbekannt. Es wird aber als genereller Marker für die SAR angesehen (SCHLÖSSER, 1997; VAN LOON und VAN STRIEN, 1999; BREEN et al., 2017). In *Vicia faba* cv. *con amore* (Ackerbohnen) induzierte die präinfektionelle Infiltration von SA oder 2,6-Dichlorisonikotinsäure (engl. 2,6-dichloroisonicotinic acid [INA]) in die Blätter die Synthese von PR-1 Proteinen und damit die Resistenz gegenüber dem Rostpilz *Uromyces fabae* (RAUSCHER et al., 1999). Hemmende Effekte von PR-1 Proteinen auf die Zoosporenkeimung und das Mycelwachstum von *Phytophthora infestans* sind ebenfalls beschrieben worden (NIDERMAN et al., 1995). *Arabidopsis* und Reis weisen 22 bzw. 39 Gene vom PR-1-Typ auf, von welchen jedoch nachweislich nur ein bzw. zwei durch Pathogene oder Insekten induziert werden (VAN LOON et al., 2006).

Neben der Bildung von PR Proteinen spielt, insbesondere bei der Abwehr von phytopathogenen Pilzen, auch die Bildung von Phytoalexinen eine Rolle (SCHLÖSSER, 1997; HEß, 2008; BUCHANAN et al., 2009). Ursächlich für die Bildung der phenolabgeleiteten Phytoalexine, mit ausschließlich lokaler unspezifischer antimikrobieller Wirksamkeit, ist eine erhöhte Aktivität der PAL (HALLMANN et al., 2007) (siehe Kap. 2.2). Die PAL ist ein Enzym, welches einen Schlüsselverzweigungspunkt im Phenylpropanoidbiosyntheseweg kontrolliert (BUCHANAN et al., 2009).

2.4.2.5 Resistenzformen

Die Resistenz von Pflanzen ist nicht mit der Toleranz gegenüber Schaderregern oder abiotischen Stressfaktoren zu verwechseln. Während tolerante Pflanzen einen stabilen Ertrag gewährleisten, weisen resistente Pflanzen eine vererbte Resistenzeigenschaft zur Verhinderung bzw. Begrenzung einer Infektion auf (SCHLÖSSER, 1997; HALLMANN et al., 2007). Bei dieser Resistenz kann zwischen der Nicht-Wirtsresistenz (Basisresistenz) und der Wirtsresistenz (Basiskompatibilität) unterschieden werden (HEATH, 1981). Basisresistenz bedeutet, dass Pflanzen durch präformierte physikalische oder chemische Faktoren, einhergehend mit der PTI, lediglich von wenigen, spezialisierten Erregern befallen werden können. Die Basiskompatibilität grenzt sich dahingehend ab, dass sie durch abiotische und biotische

Faktoren induziert werden kann sowie innerhalb von Stunden bis Tagen lokal oder systemisch wirkt (IR) (HEATH, 1981; JONES und DANGL, 2006; HALLMANN et al., 2007; BOLLER und FELIX, 2009; TSUDA und KATAGIRI, 2010).

„Nach Befall eines Pflanzenteils zeigen die übrigen befallsfreien Teile eine stark erhöhte Widerstandskraft (Resistenz) gegen nachfolgende Infektionen mit dem gleichen Erreger oder anderen Pathogenen“ (SCHLÖSSER, 1997). Bei gezieltem Einsatz resistenzinduzierender Faktoren kann es sich um eine Inokulation mit z.B. schwach virulentem *B. graminis*, die Inokulation mit pflanzenwachstumsfördernden Rhizobakterien (engl. plant growth promoting rhizobacteria [PGPRs]), die Vorbehandlung mit einem Pflanzenextrakt (z.B. *R. sachalinensis*) oder auch signalinduzierenden Substanzen (SA, INA, Benzothiadiazol) handeln. Einige chemische Resistenzinduktoren, wie der Extrakt aus *Reynoutria*, sind als Pflanzenstärkungsmittel zugelassen (HAMMERSCHMIDT, 1999; HALLMANN et al., 2007). Je nach Induktor und den nachfolgenden biochemischen Prozessen wird in Abgrenzung zur sogenannten lokal erworbenen Resistenz (engl. local acquired resistance [LAR]) zwischen der systemisch erworbenen Resistenz (engl. systemic acquired resistance [SAR]) und der induzierten systemischen Resistenz (engl. induced systemic resistance [ISR]) unterschieden (SCHLÖSSER, 1997; HAMMERSCHMIDT, 1999; HAMMERSCHMIDT et al., 2001; HALLMANN et al., 2007). Charakteristika dieser beiden Resistenzformen sind in Tab. 2 aufgeführt. Hier ist sowohl auf einen verbesserten Schutz der Pflanze gegen eine Folgeinfektion als auch auf die Translokation der Resistenz vom primären Infektionsort auf weiter entfernt liegende Pflanzenteile hinzuweisen (HAMMERSCHMIDT et al., 2001; HEß, 2008; BUCHANAN et al., 2009). Bei der SAR und der ISR wird die Aktivierung der pflanzlichen Abwehrmechanismen zentral über das Gen *npr1* gesteuert (DURRANT und DONG, 2004; HALLMANN et al., 2007). SAR-zugehörige Abwehrreaktionen der Wirtspflanze umfassen z.B. die Induktion von PR Protein-kodierenden Genen, die Bildung von ROS und die Kallose-deposition zur Verstärkung der Zellwand (SCHNEIDER et al., 1996; CONRATH, 2006).

Tab. 2: Charakteristika der systemisch erworbenen Resistenz SAR und der induzierten systemischen Resistenz ISR von Pflanzen (SCHLÖSSER, 1997; HAMMERSCHMIDT, 1999; DURRANT und DONG, 2004; VAN LOON et al., 2006; HALLMANN et al., 2007).

	SAR	ISR
Induktion	anorganische und biogene Aktivatoren, lokaler Pathogenbefall	Rhizobakterien (induzieren z.T. auch SAR)
Biochemische Mechanismen	entfernte Akkumulation von Pathogenese-zugehörigen Proteinen (z.B. PR-1, -2, -5), Sensibilisierung der Pflanze bzgl. einer nachfolgenden Attacke	Sensibilisierung der Pflanze bzgl. einer nachfolgenden Attacke, keine Akkumulation von Pathogenese-zugehörigen Proteinen
Signalmolekül/e	Salicylsäure (beeinflusst die Expression pfl. Resistenzgene)	Jasmonsäure und/oder Ethylen (wirken auch direkt auf den pfl. Stoffwechsel)

Der durch die IR gegebene Schutz wirkt nicht zu 100 %. Zudem weist sie eine nur begrenzte Wirkungsdauer auf (i.d.R. wenige Wochen), sodass in der Praxis wiederholte Applikationen mit Induktoren erforderlich sind (HALLMANN et al., 2007).

Liegt eine geringere Penetrationsrate vor, spricht man von quantitativer bzw. partieller Resistenz und bei z.B. konsistenterer Epidermiszellwand von Altersresistenz – beides rassen-unabhängige Reaktionen (HOFFMANN und SCHMUTTERER, 1999).

3 Material und Methoden

3.1 Material

3.1.1 Rhabarbersortiment

Die AG IBAS (Institute of Bioanalytical Sciences) verfügt über 34 verschiedene Rumiceae-Herkünfte, die z.T. derselben *Rheum/Rumex*-Spezies angehören und nach einer internen Nummerierung als „Genotypen“ (GTs) bezeichnet wurden. Ihren Ursprung hat die 2006 erfolgte Anpflanzung auf Anbauflächen der Hochschule Anhalt in Bernburg-Strenzfeld in der Genbank des Leibniz-Instituts für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung (IPK) Gatersleben. Klone einer vorherigen Anpflanzung wurden hierfür nach der Saatbettbereitung (Grunddüngung) auf einer neu bestimmten, windzugängigen Fläche (Südrand der Magdeburger Börde, nordöstlicher Regenschatten des Harzes; 51°82' N, 11°70' E) vegetativ über Wurzelteilung (10-20 cm große Wurzelknospentstücke) vermehrt und kultiviert (Abb. 11).



Abb. 11: Beispiel eines großen Wurzelknospentstückes zur vegetativen Reproduktion (l.) und Rhabarberanbaufläche nach etwa vierjähriger Kultivierung (r.) (Quelle: eigenes Bildmaterial).

Bodentyp dieser Region 80 m über Normalhöhennull ist Löß-Schwarzerde (60 % Lö₁, 20 % Lö₂; pH 7,0-7,4) mit einer Ackerzahl von 85 bis 96, Bodenart ist schluffiger Lehm (uL). Der Reihen- und Pflanzenabstand betrug jeweils 1,5 m. Auf den Einsatz von Herbiziden wurde gänzlich verzichtet. Das Entfernen auftretender Unkräuter erfolgte mittels Fräse oder, wie im Falle von Disteln und der Ackermelde, manuell. Im Sinne der EG-Wasserrahmenrichtlinie 2000/60/EG entsprach die Düngung, als grober Richtwert, dem Nährstoffentzug bzw. den Nährstoffansprüchen seitens der Pflanzen (LfL, 2010).

In Tab. 3 sind all jene *Rheum*-Herkünfte gelistet, die als Teil des Rhabarbersortiments für diese Arbeit beerntet wurden und bei denen die Extraktion des Wurzelmaterials erfolgte. Dies schließt auch Herkünfte des Stumpfblättrigen Ampfers (*Rumex obtusifolius*) mit ein, deren Wurzelextrakte zu Vergleichszwecken ebenfalls gescreent wurden.

Tab. 3: Ausgewählte *Rheum/Rumex*-Spezies des Rumiceae-Sortiments in Zuordnung zur Genbank des IPK Gatersleben (GBIS/I, 2006).

Genotyp (GT)	Botanischer Name	Herkunft
GT02	<i>Rheum officinale</i> Baill.	Akzessions-Nr.: RHEUM 39 Akzessions-Name: Viktoria Ursprungsland: unbekannt Donor: Botanischer Garten AdW Vácrátót (Ungarn): -
GT05	<i>Rheum officinale</i> Baill.	Akzessions-Nr.: RHEUM 18 Akzessions-Name: - Ursprungsland: Jugoslawien Donor: Institut Pharmakognosie Münster/Westf.: - Fundort: Dolomiten
GT10	<i>Rheum rhabarbarum</i> L. 'The Sutton'	kommerzielle Sorte (Speise-Rhabarber)

Fortsetzung Tab. 3.

Genotyp (GT)	Botanischer Name	Herkunft
GT11	<i>Rheum australe</i> D.Don	Akzessions-Nr.: RHEUM 53 Akzessions-Name: - Ursprungsland: unbekannt Donor: Botanisches Institut AdW St. Petersburg (Russland): - urspr. als <i>Rheum palamatum</i> L. f.sp. <i>flore rubro</i> Maxim. geführt
GT14	<i>Rheum rhabarbarum</i> L.	Akzessions-Nr.: RHEUM 22 Akzessions-Name: - Ursprungsland: unbekannt Donor: Botanischer Garten Universität Uppsala (Schweden): -
GT23	<i>Rheum rhabarbarum</i> L.	Akzessions-Nr.: RHEUM 19 Akzessions-Name: - Ursprungsland: China Sammelreise: China 1956: 579 (Sammelnr.) Fundort: Manchouli
GT24	<i>Rheum rhabarbarum</i> L.	Akzessions-Nr.: RHEUM 26 Akzessions-Name: - Ursprungsland: Koreanische DVR Sammelreise: Koreanische DVR 1987: 8 (Sammelnr.) Fundort: Rinsan, Spezialgenossenschaft für Arzneipflanzenanbau, North Hwanghae
GT29	<i>Rheum rhabarbarum</i> L.	Akzessions-Nr.: RHEUM 74 Akzessions-Name: - Ursprungsland: unbekannt Donor: Botanisches Institut AdW St. Petersburg: - urspr. als <i>Rheum emodi</i> Wall. geführt
GT30	<i>Rumex obtusifolius</i> L.	Akzessions-Nr.: RUM 48 Akzessions-Name: - Ursprungsland: unbekannt Donor: Heilpfl.-Gart. Wrocław (Polen): - urspr. als <i>Rheum leuconum</i> geführt
GT32	<i>Rumex obtusifolius</i> L.	Akzessions-Nr.: RUM 46 Akzessions-Name: - Ursprungsland: unbekannt Donor: Botanisches Institut AdW St. Petersburg: - urspr. als <i>Rheum maximowiczii</i> Losinsk. geführt
GT35	<i>Rheum altaicum</i> Losinsk.	Akzessions-Nr.: RHEUM 42 Akzessions-Name: - Ursprungsland: unbekannt Donor: Botanisches Institut AdW St. Petersburg: -
GT36	<i>Rheum altaicum</i> Losinsk.	Akzessions-Nr.: RHEUM 59 Akzessions-Name: - Ursprungsland: unbekannt Donor: Haupt-Botanischer Garten Moskau (Russland): -

Anmerkungen: Baill. = Henri Ernst Baillon, französischer Botaniker; L. = Carl von Linné, schwedischer Naturforscher, Arzt und Botaniker; D.Don = David Don, britischer Botaniker; Losinsk. = Agnia Sergejevna Losina-Losinskaja, russische Botanikerin

3.1.2 Lösungs-, Hilfsmittel und Geräte für die Wurzelaufbereitung, Extraktion und Fraktionierung

Die wichtigsten der genutzten Lösungsmittel, Hilfsmittel und eingesetzten Geräte für die Aufbereitung des Wurzelmaterials, das Laborextraktionsverfahren und die Fraktionierung von Gesamtextrakten sind in Tab. 4 aufgeführt.

Tab. 4: Lösungs-/Hilfsmittel und Geräte der Wurzelaufbereitung, Extraktion und Fraktionierung.

Material	Modell; Bezugsquelle / Hersteller
Wurzelaufbereitung:	
Trockenschrank	TS AR 100; IOB Industrieofenbau VEB, EgelN
Schneidmühle	GSL 180/120; AMIS Maschinen Vertriebs GmbH, Zuzenhausen (ZERMA)
Extraktion:	
Methanol (MeOH)	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe
Petrolether	VWR International GmbH, Darmstadt
Ethylacetat	VWR International GmbH, Darmstadt
Stickstoff (Reinheit 5.0)	AIR LIQUIDE Deutschland GmbH, Düsseldorf
ULTRA-TURRAX®	T 50; IKA®-Werke GmbH & CO. KG, Staufen
Zentrifuge	Megafuge 2.0; Heraeus Sepatech GmbH, Osterode
Vakuumrotationsverdampfer	Rotavapor R-220; BÜCHI Labortechnik GmbH, Essen
	Hei-VAP Precision; Heidolph Instruments GmbH & Co.KG, Schwabach
Gefriertrocknungsanlagen	Alpha 1-4 / 2-4; Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen GmbH, Osterode
Fraktionierung:	
MeOH (für die HPLC)	VWR International GmbH, Darmstadt
Essigsäure (ROTIPURAN® 100 %, analysenrein)	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe
Ultraschallbad	Transsonic T 310; Elma Schmidbauer GmbH, Singen
Zentrifuge	Multifuge 1L-R; Heraeus Holding GmbH, Hanau
HPLC-Anlage	Varian Pro/Prep Star; Agilent Technologies, Waldbronn
Trennsäule	ZORBAX Eclipse XDB-C18; Agilent Technologies, Waldbronn
Vorsäule	Prep Guard-C18; Agilent Technologies, Waldbronn

3.1.3 Lösungsmittel, Geräte und Standards für die LC-MS-Analytik

Im Rahmen der LC-MS-Analysen wurde Methanol (MeOH; für die LC-MS; Promochem GmbH, Wesel) als Lösungsmittel für die Probenvorbereitung und in Kombination mit Ameisensäure (für die LC-MS; Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen) als Laufmittel (mobile Phase) für die HPLC-Methode verwendet. Als HPLC-Anlage kam die 1100 Serie von Agilent Technologies (Waldbronn) mit einer Synergi™ Hydro-RP 80 Å-Trennsäule (Phenomenex Ltd., Aschaffenburg) zum Einsatz. Bei dem verwendeten Massenspektrometer handelte es sich um das 4000 QTRAP der Sciex GmbH (Darmstadt). Die für die externe Kalibrierung genutzten Standardsubstanzen (HPLC-rein) sind nebst ihrer in dieser Arbeit gebrauchten Abkürzung in Tab. 5 gelistet.

Tab. 5: Polyphenolstandards.

Standardsubstanz	Abkürzung	Summenformel	Molare Masse [g*mol ⁻¹]	Bezugsquelle
Polymere Flavan-3-ol-Standards (Procyanidine):				
Procyanidin B1	PRO B1	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	578,52	Extrasynthese, Genay, Frankreich
Procyanidin B2	PRO B2	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	578,52	Extrasynthese, Genay, Frankreich
Procyanidin C1	PRO C1	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₈	866,77	Extrasynthese, Genay, Frankreich
Monomere Flavan-3-ol-Standards (Catechine):				
Catechin	(C)	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	290,27	Extrasynthese, Genay, Frankreich
Epicatechin	(EC)	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	290,27	Extrasynthese, Genay, Frankreich
Epigallocatechin	(EGC)	C ₁₅ H ₁₄ O ₇	306,27	Extrasynthese, Genay, Frankreich
Epicatechingallat	ECG	C ₂₂ H ₁₈ O ₁₀	442,37	Extrasynthese, Genay, Frankreich (Ref. 0978 S)
Epigallocatechingallat	(EGCG)	C ₂₂ H ₁₈ O ₁₁	458,37	Extrasynthese, Genay, Frankreich

Fortsetzung Tab. 5.

Standardsubstanz	Abkürzung	Summenformel	Molare Masse [g*mol ⁻¹]	Bezugsquelle
Stilben-Standards:				
3,4',5-Trihydroxystilben-3-O-β-D-glucosid/-glucopyranosid (Piceid)	THSG	C ₂₀ H ₂₂ O ₈	390,38	Extrasynthese, Genay, Frankreich
Piceatannol	(PIC)	C ₁₄ H ₁₂ O ₄	244,24	BIOTREND Chemikalien GmbH, Wangen, Schweiz
Rhaponticin	RHA	C ₂₁ H ₂₄ O ₉	420,41	Extrasynthese, Genay, Frankreich
Reveratrol	RES	C ₁₄ H ₁₂ O ₃	228,24	Extrasynthese, Genay, Frankreich (Ref. 4964)
Desoxyrhaponticin (from rhubarb)	DRHA	C ₂₁ H ₂₄ O ₈	404,42	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen
Phenolsäure-Standards:				
p-Cumarsäure	-	C ₉ H ₈ O ₃	164,16	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe
Ferulasäure	-	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	194,19	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe
Chlorogensäure	-	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	354,32	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe

3.1.4 Saatgut, Phytopathogene und Material für die Kultivierung

In Tab. 6 sind die für die *in vitro* Mycelwachstumstests (MWTs) ausgewählten phytopathogenen Pilze und Oomyceten einschließlich der Nährmedien und Geräte für ihre Kultivierung aufgeführt. Darüber hinaus sind das Saatgut, die Phytopathogene und das Anzucht- bzw. Kultivierungsmaterial der *in vivo* Versuche (inkl. Freilandversuche) gelistet.

Tab. 6: Saatgut, Phytopathogene und Material für die Kultivierung.

Material	Modell; Bezugsquelle / Hersteller
In vitro Versuche:	
Phytopathogene	
<i>Alternaria brassicicola</i> (Schwein.) Wiltshire	Fachhochschule Südwestfalen, Prof. V. H. Paul, FH-SWF Standort Soest, Fachbereich Agrarwirtschaft
<i>Bipolaris sorokiniana</i> (Sacc.) Shoem.	Justus-Liebig-Universität Gießen, Dr. J. Imani, Institut für Phytopathologie
<i>Botrytis cinerea</i> Pers.	Hochschule Geisenheim, Prof. B. Berkemann-Löhnertz, Arbeitsgruppe Phytopathologie im Weinbau
<i>Fusarium culmorum</i> (Wm.G. Sm.) Sacc.	Justus-Liebig-Universität Gießen, Dr. J. Imani, Institut für Phytopathologie
<i>Fusarium graminearum</i> Schwabe	Justus-Liebig-Universität Gießen, Dr. J. Imani, Institut für Phytopathologie
<i>Fusarium oxysporum</i> Schltdl.:Fr. f.sp. <i>lycopersici</i> (Sacc.) W.C. Snyder & H.N. Hansen 007 (FOL race 2)	Justus-Liebig-Universität Gießen, Dr. J. Imani, Institut für Phytopathologie
<i>Magnaporthe oryzae</i> B.C. Couch (IPP 0681)	Georg-August-Universität Göttingen, Fachgebiet für Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz, Department für Nutzpflanzenwissenschaften (DNPW)
<i>Phytophthora capsici</i> Leonian-Isolate (LT1534 ¹ , LT263 ² , LT123 ²)	¹ The James Hutton Institute (JHI), Division of plant sciences, Dundee, Schottland ² Wageningen University, Lab. of Phytopathology, Wageningen, Niederlande
<i>Rhizoctonia solani</i> J.G. Kühn (AG[-]J2*, AG-8) *bzgl. Genotyp 10 Erntejahr 2014	Justus-Liebig-Universität Gießen, Dr. J. Imani, Institut für Phytopathologie (AG[-]J2) Leibniz-Institut für Gemüse- und Zierpflanzenbau (IGZ), Großbeeren (AG-8)
<i>Rhizoctonia zeae</i>	Plant Protection Institute, Centre for Agricultural Research, Hungarian Academy of Sciences, Budapest, Ungarn

Fortsetzung Tab. 6.

Material	Modell; Bezugsquelle / Hersteller
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (Lib.) de Bary	Justus-Liebig-Universität Gießen, Dr. J. Imani, Institut für Phytopathologie
<i>Thielaviopsis basicola</i> (Berk. Et Br.) Ferraris	DSM 63050, Aktivkultur, Risikogruppe 1; Leibnitz-Institut DSMZ GmbH, Braunschweig
<i>Venturia inaequalis</i> (Cooke) G. Winter	DSM 1002, Aktivkultur, Risikogruppe 1; Leibnitz-Institut DSMZ GmbH, Braunschweig
Material für die Kultivierung	
V-8 Saft-Agar	200 ml/l Campbell Gemüsesaft V8; Gourmondo Food GmbH, München 2 g/l Calciumcarbonat; Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe 15 g/l Agar-Agar, Kobe I; Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe (Rezeptur in Anlehnung an Auskunft Dr. E. Huitema, Dundee, Schottland)
Malzextrakt-Glucose-Agar	0,004 M K ₂ HPO ₄ ; Merck KGaA, Darmstadt 0,002 M MgSO ₄ ; Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen 0,0375 M NH ₄ NO ₃ ; Riedel-de Haën, Seelze 4 % (w/v) C ₆ H ₁₂ O ₆ ; Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe 2 ppm MnSO ₄ ; Merck KGaA, Darmstadt 2 ppm ZnSO ₄ ; Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen 15 g/l Malzextrakt-Agar; Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe 5 g/l Agar-Agar, Kobe I; Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe 0,4 µg/ml Biotin (Sigma-Aldrich), 2 µg/ml Folsäure (Carl Roth), 200 µg/ml Thiamin (Sigma-Aldrich), 1200 µg/ml Pyridoxin (Sigma-Aldrich), 600 µg/ml Nicotinsäure (Sigma-Aldrich), 200 µg/ml Riboflavin (SERVA Electrophoresis GmbH, Heidelberg), 16 µg/ml Ascorbinsäure (Sigma-Aldrich)
Kartoffelextrakt-Glucose-Agar	26,5 g/l Kartoffelextrakt-Glucose-Bouillon; Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe 15 g/l Agar-Agar, Kobe I; Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe
Brutschrank	INB500; Memmert GmbH + Co. KG, Schwabach
In vivo Versuche:	
Saatgut	
<i>Hordeum vulgare</i> L. 'Lawina'	ungebeizt; Getreidezüchtungsforschung Darzau Hof, Neu Darchau
<i>Triticum aestivum</i> L. 'Sokrates'	Saatzucht Streng-Engelen GmbH & Co. KG, Uffenheim
<i>Hordeum vulgare</i> L. 'Ingrid'	Wildtyp (WT) Mlo, Mutanten <i>mlo5</i> (I22), <i>Mla12</i> , <i>Mlg21</i> ; Justus-Liebig-Universität Gießen, Dr. J. Imani, Institut für Phytopathologie
<i>Arabidopsis thaliana</i> (L.) Heynh.	WT Col-8 (Columbia, NASC ID N60000, Background Col-0 [Columbia]); The Nottingham Arabidopsis Stock Centre, Loughborough, UK (Prof. S. May, University of Nottingham)
	<i>Arabidopsis</i> -Mutanten (Näheres siehe Tab. 10, Background Col [MYB51 Col-4 {N933}]); The Nottingham Arabidopsis Stock Centre, Loughborough, UK (Prof. S. May, University of Nottingham)
Freilandversuche:	
<i>Hordeum vulgare</i> L. 'Steffi'	Ackermann Saatzaucht GmbH & Co.KG, Irlbach
<i>Triticum aestivum</i> L. 'Pamier'	Syngenta Agro GmbH, Maintal
<i>Triticum aestivum</i> L. 'Julie E'	Universität Brünn, Tschechien
Phytopathogene	
<i>Blumeria graminis</i> (DC.) Speer f.sp. <i>hordei</i> (Bgh)	Rasse A6; Justus-Liebig-Universität Gießen, Dr. J. Imani, Institut für Phytopathologie
<i>Blumeria graminis</i> (DC.) Speer f.sp. <i>tritici</i> (Bgt)	Justus-Liebig-Universität Gießen, Dr. J. Imani, Institut für Phytopathologie
<i>Erysiphe cruciferarum</i> Opiz ex L. Junell (E.c.)	Justus-Liebig-Universität Gießen, Dr. J. Imani, Institut für Phytopathologie (urspr. erhalten von Prof. R. Hüchelhoven, TU München)

Fortsetzung Tab. 6.

Material	Modell; Bezugsquelle / Hersteller
Anzucht- / Kultivierungsmaterial	
Topferde	Fruhstorfer Typ T (feine Struktur); Hawita-Group, Vechta (Vulkanton, Torf und Rindenhumus)
Pflanztöpfe	Göttinger 7x7x8 cm; Hermann Meyer KG, Rellingen
	Ø 6 cm; Samenhaus Müller GmbH, Wildeck-Bosserode
ARASYSTEM Starter Kit 360	LEHLE SEEDS, Texas, USA
NPK-Düngerlösung	Lebosol-Nutriplant® 12-4-6 (mit Spurennährstoffen); Lebosol® Dünger GmbH, Elmstein
Klima-/Kühlzelle	Viessmann Werke GmbH & Co. KG, Allendorf (Eder)
Kühl-Brutschrank (<i>Bgh</i>)	RUMED® Typ 3201; Rubarth Apparate GmbH, Laatzen
„Plant growth“-Schrank (<i>E.c.</i>)	PERCIVAL Scientific Modell E-36HO; CLF PlantClimatics GmbH, Wertingen
Datenlogger	LOG100/110/CRYO; Dostmann electronic GmbH, Wertheim-Reicholzheim
Multimesegerät Beleuchtung	BAPPU classic; ELK GmbH, Krefeld

3.1.5 Versuchsmaterial für die Pflanzenbehandlungen

Für die Applikation der Versuchsmittel wurde eine Membran-Vakuumpumpe (Typ N022 AN.18; KNF Neuberger GmbH, Freiburg) inklusive Feinregulierkopf und Zerstäuber-Aufsätze der Hofmann Glastechnik GmbH (Staudt) verwendet. Das den Versuchsmitteln, wenn angegeben, zudosierte Adjuvans BREAK-THRU® S 240 (B-T® S 240; polyethermodifiziertes Polysiloxan) wurde von der Evonik Industries AG (Essen) bezogen.

3.1.6 Versuchsspezifisches Material

3.1.6.1 Material für die Mycelwachstums- und Blattsegmenttests

Das im Rahmen der MWTs und Blattsegmenttests (BSTs) eingesetzte Versuchsmaterial ist in Tab. 7 zusammengestellt. Im Übrigen sei auf Tab. 5 und Tab. 6 verwiesen.

Tab. 7: Versuchsmaterial der Mycelwachstums- (MWTs) und Blattsegmenttests (BSTs).

Material	Modell; Bezugsquelle / Hersteller
MWTs:	
Ethanol (absolut)	VWR International GmbH, Darmstadt
Spritzenvorsatzfilter	Minisart High-Flow, 0.2 µm; Sartorius Stedim Biotech GmbH, Göttingen
Petrischalen	94 x 16 mm; Diagonal GmbH & Co. KG, Münster
Ultraschallbad	Transsonic T 310; Elma Schmidbauer GmbH, Singen
Magnetrührer	RCT basic; IKA® / Windhaus-Labortechnik GmbH & Co. KG, Clausthal-Zellerfeld
BSTs:	
Wasser-Agar mit Benzimidazol	0,5 % (w/v) Agar-Agar, Kobe I; Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe 40 ppm Benzimidazol; Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen
Petrischalen	quadratisch; Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe

3.1.6.2 Material für die histochemischen Studien

In Tab. 8 sind die Chemikalien, Lösungen und Geräte der histochemischen Versuche aufgeführt. Im Übrigen sei auf Tab. 5 und Tab. 6 verwiesen.

Tab. 8: Chemikalien, Lösungen und Geräte der histochemischen Studien.

Chemikalie	Modell; Bezugsquelle / Hersteller
Tinte im Glas	Herlitz PBS AG, Berlin
Essigsäure (AcOH; 100 %)	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe
<u>Ansatz:</u>	25 % AcOH : Tinte 9:1 (v/v)
3,3'-Diaminobenzidin (DAB)	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen
<u>Ansatz:</u>	50 mg DAB / 50 ml dest. Wasser (H ₂ O) pH 3,8-4,0 (50 mg DAB / 30 ml dest. H ₂ O pH 3,0 [mit 1 N HCl einstellen] → abgedeckte Erwärmung auf 50 °C für 10 min auf einem Magnetrührer mit Heizfunktion → mit dest. H ₂ O auf 50 ml auffüllen und pH-Wert mit 1 N NaOH auf 3,8-4,0 einstellen)
Nitroblautetrazoliumchlorid (NBT)	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen
N,N-Dimethylformamid (DMF)	Merck KGaA, Darmstadt
Natriumazid (NaN ₃)	Merck KGaA, Darmstadt
Dikaliumhydrogenphosphat	Honeywell Specialty Chemicals Seelze GmbH, Seelze (Riedel-de Haën)
Kaliumdihydrogenphosphat	Merck KGaA, Darmstadt
<u>Ansatz:</u> 1. NBT-Stocklösung 2. NaN ₃ -Stocklösung 3. Kaliumphosphatpuffer 4. - Dikaliumhydrogenphosphat (A) 5. - Kaliumdihydrogenphosphat (B)	1. 100 mg NBT / ml 70 % wässrigem DMF 2. 10 mM 3. 10 mM pH 7,8 → A) K ₂ HPO ₄ (M = 174,18 g/mol), 10 mM = 1,742 g/l → B) KH ₂ PO ₄ (M = 136,10 g/mol), 10 mM = 1,361 g/l → A einstellen mit B für 50 ml Versuchslösung: 500 µl NBT-Stocklösung + 325 µl NaN ₃ -Stocklösung (10 %ig), mit Puffer auf 50 ml auffüllen = 0,1 % NBT in 10 mM Kaliumphosphatpuffer pH 7,8 und 10 mM NaN ₃ -Lösung
Einwegspritze (ca. 250 µl / Blattsegment)	Omnifix®-F (0,01ml-1ml); B. Braun Melsungen AG, Melsungen
Trichloressigsäure (engl. trichloroacetic acid [TCA])	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe
Ethanol (absolut)	VWR International GmbH, Darmstadt
Chloroform	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe
<u>Ansatz:</u>	0,15 % TCA (w/v) in Ethylalkohol:Chloroform 4:1 (v/v)
Glycerin (auch für Mikroskopierlösung)	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe
<u>Ansatz:</u>	50 % (v/v)
Gerät	Modell; Bezugsquelle / Hersteller
pH-Meter	WTW Inolab pH 720; Xylem Analytics Germany Sales GmbH & Co. KG, Weilheim
Mikroskopsysteme	Axioplan 2 imaging, Typ 2ie MOT (Mikroskop-Software: AxioVision); Carl Zeiss, Jena
	Nikon ECLIPSE E600 (Mikroskop-Software: NIS-Elements D 3.2); Martin-Luther-Universität Halle- Wittenberg
	KEYENCE BZ-X710 (Vorführmodell); KEYENCE Deutschland GmbH, Neu-Isenburg

3.1.6.3 Material für die Aktivitätsbestimmungen von Antioxidantien

Hilfsmittel und Geräte für die Aktivitätsbestimmungen der enzymatischen und nicht-enzymatischen Antioxidantien sind in Tab. 9 gelistet. Die eingesetzten Chemikalien und Lösungen sind aufgrund ihres Umfangs der Anlage 3 zu entnehmen. Im Übrigen sei auf Tab. 6 verwiesen.

Tab. 9: Ausgewähltes Material der Aktivitätsbestimmungen der Antioxidantien.

Material	Modell; Bezugsquelle / Hersteller
Flüssigstickstoff (Reinheit 2.2)	AIR LIQUIDE Deutschland GmbH, Düsseldorf
Vortex-Schüttelgerät	MS2 Minishaker; IKA® / Windhaus-Labortechnik GmbH & Co. KG, Clausthal-Zellerfeld
Zentrifugen	Tischkühlzentrifuge Z 383 K; Hermle Labortechnik GmbH, Wehingen
	Centrifuge 5402; Eppendorf AG, Hamburg
UV/VIS-Spektralphotometer	SPECORD 210; Analytik Jena AG, Jena
UV-/PMMA-Einmalküvetten*	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe Brand GmbH + Co. KG, Wertheim

Anmerkungen: *Je nach Wellenlänge und Füllmenge des Küvettenansatzes kamen UV- (Katalase, Ascorbatperoxidase, Dehydroascorbatreduktase) oder PMMA-Einmalküvetten (Glutathionreduktase, Monodehydroascorbatreduktase; Ascorbat, Glutathion) im Makro- oder Halbmikro-Maßstab zum Einsatz.

3.1.6.4 Material für das Mutantenscreening

Die Identifizierungscodes und weitere Beschreibungen der im Screening genutzten *Arabidopsis thaliana*-Mutanten (siehe Tab. 6) können Tab. 10 entnommen werden. Die Bonitur der *Arabidopsis*-BSTs wurde mit dem Stereomikroskop SZ61 der Olympus Deutschland GmbH (Hamburg) durchgeführt. Für die Photodokumentation diente zudem das Stemi 508-Stereomikroskop von Carl Zeiss (Jena). Zur Überprüfung der Inokulumdichte kamen Objektträger mit Vertiefung (Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe), Tween 20 (Merck Schuchardt OHG, Hohenbrunn) und Zählkammern (Neubauer „improved“, Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe) zum Einsatz, für die quantitative Bestätigung der Bonitur per Konidienauszählung zudem das in Tab. 9 angegebene Schüttelgerät und das in Tab. 8 aufgeführte Axioplan 2 imaging-Mikroskopsystem. Des Weiteren sei auf Tab. 5, Tab. 6 und Tab. 7 (1,3 % [w/v] Agar-Agar, 50 ppm Benzimidazol) verwiesen.

Tab. 10: *Arabidopsis*-Mutanten-Informationen.

<i>Arabidopsis</i> -Mutante („seed type“)	NASC ID	Allel	Locus	AGI Code	Kurzbeschreibung
eds5-1	N3735	<i>eds5-1</i>	eds5	At4g39030	SA-defizient (Induktion)
enhanced disease susceptibility	N3800	<i>eds8</i>	EDS8	-	ISR-beeinträchtigt („non-responsive to induction of resistance by methyl jasmonate“) (TON et al., 2002)
ethylene insensitive	N3071	<i>ein2-1</i>	ein2	At5g03280	ET-defizient („ethylene insensitive“)
jasmonate resistant (Single marker)	N8072	<i>jar1-1</i>	jar1	At2g46370	JA-defizient („jasmonate resistant“)
SM_3_706 (En/Spm Sequence tagged)	N56602	-	MYB51	At1g18570	iGS-verbunden (WANG Y et al., 2013)
npr1-1	N3726	<i>npr1-1</i>	NPR1	AT1G64280	SAR-beeinträchtigt
non-expression of PR genes	N3802	<i>npr1-3</i>	NPR1	At1g64280	„little expression of PR genes“ (CAO et al., 1997)
phytoalexin deficient	N3804	<i>pad2-1</i>	PAD2	At4g23100	Phytoalexin-defizient
phytoalexin deficient	N3806	<i>pad4-1</i>	PAD4	At3g52430	Phytoalexin-defizient

Anmerkungen: Weitere Informationen können über die „Germplasm Search Page of The European Arabidopsis Stock Centre“ unter den angegebenen NASC IDs eingesehen werden (SA = engl. salicylic acid [Salicylsäure], ISR = engl. induced systemic resistance [induzierte systemische Resistenz], ET = Ethylen, JA = engl. jasmonic acid [Jasmonsäure], iGS = Indol-Glucosinolat, SAR = engl. systemic acquired resistance [systemisch erworbene Resistenz]).

3.1.6.5 Material für die Transkriptabundanzanalysen

Die Tab. 11 beinhaltet eine Übersicht des Versuchsmaterials für die Transkriptabundanzanalysen (DNA-Microarray- und qRT-PCR-Analysen). Bei den in den qRT-PCR-Analysen untersuchten Pflanzen kamen als Positivkontrollen Salicylsäure (engl. salicylic acid [SA]; Merck Schuchardt OHG, Hohenbrunn), 2,6-Dichloroisoinikotinsäure (engl. 2,6-dichloroisonicotinic acid [INA]; 2,6-Dichloropyridine-4-carboxylic acid; Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen) und Bion® (50 % Acibenzolar-S-methyl / Benzothiadiazol [BTH]; CIBA-GEIGY GmbH, Frankfurt [Prof. K.-H. Kogel, JLU Gießen]) zum Einsatz.

Tab. 11: Versuchsmaterial der Transkriptabundanzanalysen.

Material	Bezugsquelle / Hersteller	Einsatzgebiet
DNA-Microarray:		
RNeasy Plant Mini Kit (auch in den qRT-PCR-Analysen)	QIAGEN GmbH, Hilden	mRNA-Isolation
Affymetrix GeneChip® (AraGene 1.0 ST Array), Ambion® WT Expression Kit	Thermo Fisher Scientific, Darmstadt	mRNA-Prozessierung
qRT-PCR:		
Flüssigstickstoff (Reinheit 2.2)	AIR LIQUIDE Deutschland GmbH, Düsseldorf	Probenahme
91-PCS-CK14 Precellys Keramik-Kit-Reaktionsgefäße	PEQLAB Biotechnology GmbH, Erlangen	Zellaufschluss
FastPrep®-24	MP Biomedicals GmbH, Eschwege	Zellaufschluss
DNase I Digest Kit, peqGOLD (RNase-free DNase I und DNase I Digestion Buffer)	PEQLAB Biotechnologie GmbH, Erlangen	„On-column“-DNA-Entfernung während der RNA-Isolation
Thermomixer comfort	Eppendorf AG, Hamburg	Inkubation während der RNA-Isolation
1,2 %iges Agarose-Gel (50 ml / Gel), d.h. 0,6 g Agarose + 50 ml 1x TRIS-Acetat-EDTA (TAE)-Puffer	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe	RNA-Gel (Auftrag Marker = 6 µl, Auftrag Proben = 20 µl [15 µl Gelladepuffer + 5 µl RNA])
Roti-Safe GelStain (2,5 µl / 50 ml)	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe	Färbe-/Nachweisreagens für die Detektion von Nukleinsäuren in Agarosegelen
Roti®-Load RNA (1,3x konz.)	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe	RNase-freier Gelladepuffer für die RNA-Gelelektrophorese
RNA Ladder, High Range	Thermo Fisher Scientific (Fermentas)	für die qualitative und quantitative Analyse von RNA auf Agarosegelen (Marker)
Gelelektrophoresekammer + Power Pack P25	PEQLAB Biotechnologie GmbH, Erlangen; Biometra GmbH, Göttingen	RNA-Gelelektrophorese
GeneGenius Imaging System (Software: GeneSnap V 6.05)	Syngene, Cambridge, UK	Gel-Dokumentation und -Analyse
NanoDrop® ND-1000 Spectrophotometer (Software: ND-1000 V 3.2.1)	PEQLAB Biotechnologie GmbH, Erlangen	Bestimmung der RNA-Ausbeuten und -Reinheiten (Blank = Nuklease-freies Wasser, 2 µl, 230 nm)
SuperScript™ First-Strand Synthesis System	Thermo Fisher Scientific (Life Technologies GmbH), Darmstadt	cDNA-Synthese
Thermocycler: Labcycler, programmierbar	SensoQuest GmbH, Göttingen	cDNA-Synthese

Fortsetzung Tab. 11.

Material	Bezugsquelle / Hersteller	Einsatzgebiet
QuantiTect SYBR Green PCR Kit	QIAGEN GmbH, Hilden	qRT-PCR
PikoReal 96 Real-Time PCR System (Software: PikoReal 2.2 Rev. 1.0)	Thermo Fisher Scientific, Darmstadt	qRT-PCR (20 µl cDNA-Einsatz, 1:10- Verdünnung in Wasser = 2 + 18 µl)
Primerpaare: <i>At</i> = <i>A. thaliana</i> (f = „forward“, r = „reverse“)	Metabion International AG, Planegg/Steinkirchen (Synthese)	qRT-PCR (5 µl Wasser + 2 µl forward-Primer + 2 µl reverse-Primer)
<i>At</i> -PR1Bf, <i>At</i> -PR1Br	<i>At</i> -PR1Bf: 5'-GTGCCAAAGTGAGGTGTAACAA-3' <i>At</i> -PR1Br: 5'-CGTGTGTATGCATGATCACATC-3' (LINDERMAYR et al., 2010)	
<i>At</i> -PR-2f, <i>At</i> -PR-2r	<i>At</i> -PR-2f: 5'-GTCTGAATCAAGGAGCTTAGCC-3' <i>At</i> -PR-2r: 5'-GATGGACTTGGCAAGGTATCG-3' (LINDERMAYR et al., 2010)	
<i>At</i> -PR-5f, <i>At</i> -PR-5r	<i>At</i> -PR-5f: 5'-ATGTGAGCCTCGTAGATGGTTAC-3' <i>At</i> -PR-5r: 5'-GATCCATGACCTTAAGCATGTCG-3' (LINDERMAYR et al., 2010)	
(<i>At</i> -Act1f, <i>At</i> -Act1r)	<i>At</i> -Act1f: 5'-CGATGAAGCTCAATCCAAACGA-3' <i>At</i> -Act1r: 5'-CAGAGTCGAGCACAATACCG-3' (HERMANN et al., 2013)	
<i>At</i> -ubi-f, <i>At</i> -ubi-r	<i>At</i> -Ubi-f: 5'-AGGCCTCAACTGGTTGCTGT-3' <i>At</i> -Ubi-r: 5'-ACCGGCAAGACCATCACTCT-3' (SHI et al., 2013)	

Anmerkungen: PCR (= engl. polymerase chain reaction [Polymerasekettenreaktion])-Programm (siehe auch HALLMANN et al., 2007; HER, 2008):
95 °C 15 min (Aktivierung der DNA-Polymerase)
95 °C 30 sec (Denaturierung der Template-DNA-Doppelstränge in Einzelstränge)
60 °C 30 sec (Hybridisierung: Primer-Anlagerung an die DNA-Einzelstränge)
72 °C 30 sec (Elongation: *Taq*-Polymerase-Angriff → Gegenstrangsynthese/Strangverlängerung
72 °C 30 sec [Doppelstrangkomplettierung])
72 °C: Zykluswiederholung und Doppelstrang-bezogene Fluoreszenzmessung,
welche auf der Einlagerung von SYBR Green in dsDNA basiert
72 °C: (Amplifizierung eines cDNA-Moleküls → Mengenverdopplung an dsDNA
[Fluoreszenzemission/-intensität korreliert direkt mit der Menge an doppelsträngiger DNA])
Gesamtdauer = 1 h + 45 min

3.1.6.6 Material für die Detektion phosphorylierter Mitogen-aktivierter Proteinkinase 3

Das für die Detektion phosphorylierter Mitogen-aktivierter Proteinkinase 3 (MPK3) mittels SDS-PAGE und Western Blot benötigte Material ist in Tab. 12 zusammengefasst. Als Positivkontrolle kam Bion® (50 % Acibenzolar-S-methyl / BTH; Syngenta AG, Basel, CH [Prof. K.-H. Kogel, JLU Gießen]) zum Einsatz.

Tab. 12: Versuchsmaterial der Phosphoproteinbestimmungen.

Material	Modell; Bezugsquelle / Hersteller
Probenahme:	
Flüssigstickstoff (Reinheit 2.2)	AIR LIQUIDE Deutschland GmbH, Düsseldorf
Proteinextraktion und -quantifizierung:	
2-(4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinyl)-ethansulfonsäure (HEPES)	Ferak Laborat GmbH, Berlin
Glycerin	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe
Magnesiumchlorid (anhydrisch)	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen
DL-Dithiothreitol	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen
Protease Inhibitor Cocktail, Phosphatase Inhibitor Cocktail 1 und 2	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen
Thermomixer	comfort; Eppendorf AG, Hamburg
Zentrifuge	Centrifuge 5415 R; Eppendorf AG, Hamburg

Fortsetzung Tab. 12.

Material	Modell; Bezugsquelle / Hersteller
Küvetten	PMMA Halbmikro; BRAND GMBH + CO KG, Wertheim
Bradfordreagenz	AppliChem GmbH, Darmstadt
UV/VIS-Spektralphotometer	SPECORD 210; Analytik Jena AG, Jena
Bovines Serumalbumin (BSA)	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen
Phosphatase	basisch, aus Rinderdarmschleimhaut; Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen
SDS-PAGE, Western Blot und Immundetektion:	
Gelelektrophoresekammer	Tetra Cell; Bio-Rad Laboratories GmbH, München
Polyacrylamid-Fertiggele	Any kD™ Mini-PROTEAN® TGX Stain-Free™; Bio-Rad Laboratories GmbH, München
Laufpuffer	Bio-Rad Laboratories GmbH, München (10x 25 mM TRIS / 192 mM Glycin / 0,1 % SDS pH 8,3; Verdünnung mit bidest. Wasser → 1x TGS)
Ladepuffer	4x Laemmli Sample Buffer; Bio-Rad Laboratories GmbH, München
Proteinmarker	Precision Plus Protein™ WesternC™ Standard; Bio-Rad Laboratories GmbH, München
ChemiDoc MP System und ImageLab-Software	Bio-Rad Laboratories GmbH, München
Trans-Blot® Turbo™ Transfer System inkl. Polyvinylidenfluorid (PVDF)-Membranen, 5x Transferpuffer, Whatmannpapiere	Bio-Rad Laboratories GmbH, München
Ethanol (absolut)	VWR International GmbH, Darmstadt
TRIS	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe
NaCl	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe
Taumelschüttler	Orbital Shaker DRS-12; LTF Labortechnik GmbH & Co. KG, Wasserburg
Erstantikörper	Anti-MAP Kinase, Activated [Diphosphorylated ERK-1&2] antibody, Mouse monoclonal; Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen
Tween 20	Bio-Rad Laboratories GmbH, München
Zweitantikörper	Goat anti Mouse IgG (H/L):DyLight®649; Bio-Rad Laboratories GmbH, München

3.1.6.7 Material für die Freilandversuche

In Tab. 13 sind die in den Freilandversuchen eingesetzten Adjuvantien und Fungizide aufgeführt. Im Übrigen sei auf Tab. 6 verwiesen.

Tab. 13: Adjuvantien und Fungizide der Freilandversuche.

Produkt	Anbieter
Adjuvans PREV-AM®	Biofa AG, Münsingen (Agent: 60 g/l kalt gepresstes Orangenöl)
Adjuvans HASTEN™	BASF Chemische Industrie, Auckland, Neuseeland (Ethyl- und Methylester pflanzlichen [Raps-]Öls)
Adjuvans BREAK-THRU® Union	Evonik Industries AG, Essen
Adjuvans BREAK-THRU® S 240	Evonik Industries AG, Essen
Fungizide Corbel®, Flexity®, Amistar® und Capalo®; Property 180 SC (Suspensionskonzentrat)	BASF SE, Ludwigshafen; ISK Biosciences Europe N.V.

3.2 Methoden

3.2.1 Ernte und Aufbereitung des Wurzelmaterials sowie Extraktion und Fraktionierung der Wurzelinhaltsstoffe

3.2.1.1 Ernte und Aufbereitung

Die Ernte des Wurzelmaterials erfolgte nach einer Kultivierungsdauer von etwa drei bis acht Jahren. Nach der Ernte wurden die Wurzeln von anhaftender Erde mit Leitungswasser bereinigt, zerkleinert (2-3 cm Stücklänge) und i.d.R. bei 60 °C getrocknet. Eine Trockenschranktemperatur von 45 °C führte erfahrungsgemäß zur Schimmelbildung. Die Vermahlung des getrockneten Materials erfolgte mittels einer Schneidmühle auf eine Partikelgröße von $\leq 0,4$ cm.

3.2.1.2 Extraktionsverfahren

Die Extraktion des Mahlgutes folgte einem von RICHTER (2000) etablierten, 5-stufigen Laborverfahren aus Fest-Flüssig- und Flüssig-Flüssig-Extraktionsschritten (engl. liquid liquid extraction [LLE]) mittels unterschiedlicher, polarer Lösungsmittel (MeOH, Ethylacetat [EtOAc]) (BALTRUSCHAT et al., 2013). Ziel des Verfahrens war es, die hydrophilen polyphenolischen Inhaltsstoffe (v.a. Flavan-3-ole, Stilbene) aus den Rhabarberwurzeln zu extrahieren. Pro Extraktion kamen zu Beginn etwa 1000 g Wurzelmahlgut zum Einsatz.

Im Rahmen der Fest-Flüssig-Extraktion mit MeOH (Stufe 1) wurde mittels Ultra-Turrax (Wirbelextraktion), abgedunkelt unter Eiskühlung, Stickstoffüberschichtung und in fünf-facher Wiederholung mit je 2,0 l bis 1,5 l MeOH (variierend), ein mit löslichen Komponenten angereicherter Auszug des Extraktionsguts gewonnen. Nach Filtration, einer Einengung im Vakuumrotationsverdampfer sowie Aufnahme in 500 ml bidest. Wasser (H₂O) konnte dieser in Stufe 2 einer Kältefällung ausgesetzt werden (5 °C, über Nacht). Die Kältefällung diente der Abtrennung lipophiler Bestandteile. Am Folgetag schlossen sich an die Zentrifugation des methanolischen Extraktes die LLE-Schritte an. Hierbei kam als Lösungsmittel zunächst Petrolether zum Einsatz (Stufe 3), wobei die Lösung dreifach und möglichst erschöpfend in einem Scheidetrichter ausgeschüttelt wurde. Das Mischungsverhältnis betrug je etwa 1:1 (v/v) (z.B. 450 ml Extrakt- und Petrolethermenge). Mit diesem Schritt sollten weitere lipophile Begleitstoffe, insbesondere Anthrachinonderivate, aus der wässrigen Phase entfernt werden. In Stufe 4 diente EtOAc als Lösungsmittel, welches in vierfacher Wiederholung eingesetzt wurde (1:1,5 [v/v], z.B. je 450 ml Extrakt- und 675 ml EtOAc-Menge). Nach erneuter Rotationsverdampfung und einer Zwischenfrierung bei -20 °C konnten die Extrakte der Gefriertrocknung zugeführt werden (Stufe 5). Im Anschluss an die Lyophilisation (hier 2-8 d) standen zu Prozessende je eine H₂O- und EtOAc-Phase zur Verfügung. In Abb. 12 ist das Laborextraktionsverfahren schematisch dargestellt.

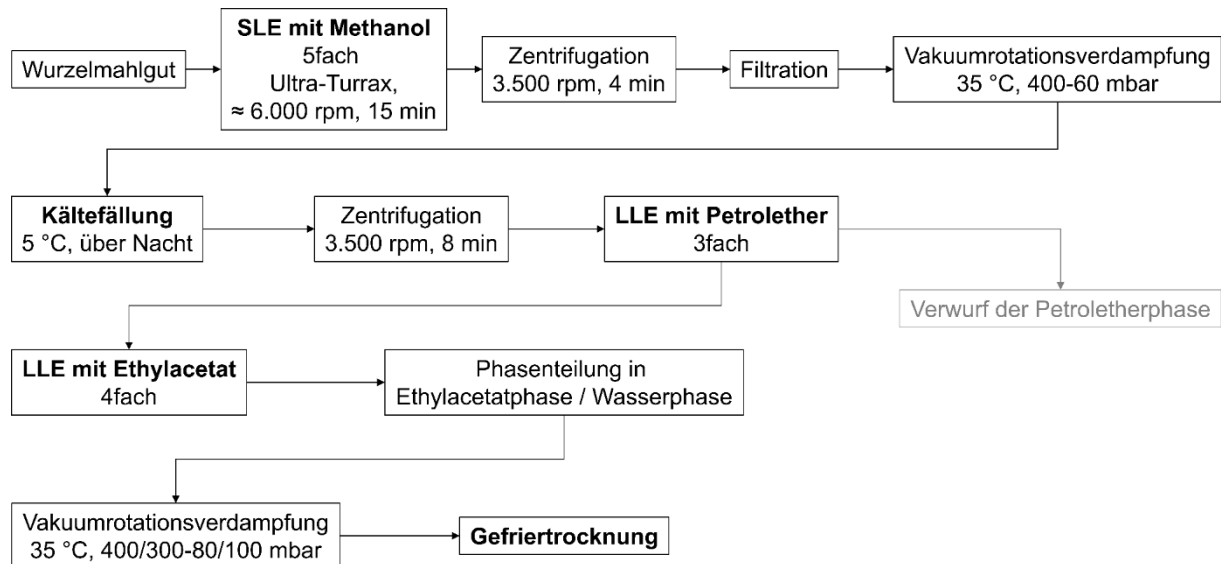


Abb. 12: Schematische Darstellung des Laborextraktionsverfahrens nach RICHTER (2000) (SLE = engl. solid liquid extraction [Fest-Flüssig-Extraktion], LLE = engl. liquid liquid extraction [Flüssig-Flüssig-Extraktion]) (Quelle: eigene Darstellung).

Zum Teil aufgetretene löslichkeitsabhängige Störungen (aprentas, 2017), wie die Bildung von Mischphasen während der LLE-Stufen, wurden durch längere Standzeiten zur Phasentrennung im Scheidetrichter oder zusätzliche Unterstufen weitestgehend behoben. Verworfenene LLE-Mischphasen fanden in den Ausbeuteberechnungen Berücksichtigung.

Wurden mit dem Wurzelmahlgut eines GT mehrere, aufeinanderfolgende Extraktionen durchgeführt, erfolgte eine Vereinigung der H₂O- bzw. EtOAc-Phasen zu je einer Mischphase. Für die LC-MS-Analysen und in allen Experimenten wurden pro *Rheum/Rumex*-Wurzelextrakt Aliquote dieser beiden Phasen verwendet (im Folgenden auch als Gesamtextrakte bezeichnet). Die Lagerung der einzelnen Phasen erfolgte hermetisch verschlossen in Braunglas bei -20 °C.

Da die aktiven Polyphenole in der EtOAc-Phase aufkonzentriert waren und sich die H₂O-Phasen im Primärscreening als größtenteils unzureichend erwiesen, wurden lediglich die EtOAc-Phasen für die näheren Untersuchungen herangezogen. Ein für spätere Freilandversuche von der HELM AG (Hamburg) im April 2014 formulierter GT10-Extrakt des Erntejahrs 2012 (E12) basierte auf einer EtOAc-Mischphase. Das betreffende 30 %ig (w/w) formulierte Dispersionskonzentrat der EtOAc-Phase des GT10 E12 (300 g/kg Extraktgehalt) wird im Folgenden als DC30 bezeichnet. Das zu diesem Zweck eingesetzte organische Lösungsmittel (+ H₂O) ist Firmengeheimnis der HELM AG.

3.2.1.3 Fraktionierung

Um Struktur-Wirkungs-Beziehungen ableiten zu können, wurde der Gesamtextrakt des GT10 E14 (EtOAc-Phase) fraktioniert.

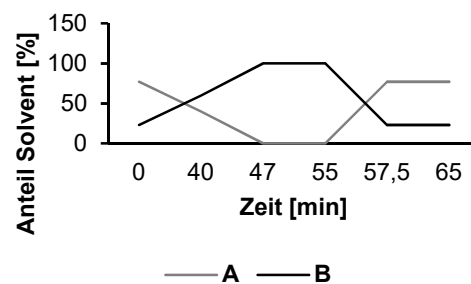
Probenvorbereitend wurden jeweils 4 g des Gesamtextraktes in 2 ml MeOH angelöst, mit 6 ml 0,5 %iger (v/v) Essigsäure (AcOH) vermischt und zur vollständigen Lösung für 15 min im Ultraschallbad behandelt. Anschließend erfolgte ein 8 minütiger Zentrifugierschritt bei 10.000 rpm, wonach der Überstand abpipettiert und das Pellet für dieselben, bisher beschriebenen Schritte erneut eingesetzt wurde. Beide Überstände wurden kombiniert und mittels Glasfaser- sowie vorgeseztem 0,45 µm-Membranfilter (Spritzenvorsatzfilter) filtriert.

Die Fraktionierung erfolgte mittels einer HPLC-Anlage im präparativen Maßstab, wofür eine ZORBAX Eclipse XDB-C18 Trennsäule (30.0 x 250 mm, 5 µm) mit einer Prep Guard-C18 Säule (21.2 mm, 10 µm) als Vorsäule zum Einsatz kamen.

Die mobile Phase setzte sich aus 0,5 %iger (v/v) AcOH (Solvent A) und MeOH (Solvent B) zusammen. Die Parameter der Gradientenelution sind in Tab. 14 aufgeführt (Laufzeit = 65 min). Die Flussrate wurde auf 34 ml/min, die Säulenofentemperatur auf 30 °C und die UV/VIS-Detektorwellenlänge auf 280 nm eingestellt. Pro Lauf war ein Injektionsvolumen von $\geq 7,5$ ml erforderlich (Methodik modifiziert nach BALLERT, 2014). Dieses entsprach nach Rückwaage etwa 1400 mg bis 1500 mg. Pro Fraktion (Frk; insg. 10) wurden die Volumina von 54 identischen HPLC-Läufen gesammelt, mittels Rotationsverdampfer eingengt, lyophilisiert und per Mörser und Pistill homogenisiert (vgl. Kap. 3.2.1.2) sowie entsprechend der Gesamtextrakte gelagert.

Tab. 14: Tabellarische (l.) und grafische (r.) Parameter der Gradientenelution zur Fraktionierung von Gesamtextrakten.

Zeit [min]	Solvent A [%]	Solvent B [%]
0	77	23
40	40	60
47	0	100
55	0	100
57,5	77	23
65	77	23



3.2.2 LC-MS-Analytik

Die Identifikation sowie Quantifizierung von in den Gesamtextrakten (vorrangig EtOAc-Phasen) und ihren Frks enthaltenen Substanzen erfolgte mittels kombinierter Hochleistungsflüssigchromatographie-Massenspektrometrie (engl. high performance liquid chromatography – mass spectrometry [HPLC-MS]).

Hierfür wurde das jeweilige Lyophilisat probenvorbereitend zu 1 mg/ml in MeOH:H₂O 75:25 (v/v) gelöst, für die MS-Methoden zusätzlich in einem Verhältnis von 1:10 (v/v) verdünnt sowie generell unter Nutzung eines Membranfilters filtriert.

Für die qualitative und quantitative Inhaltsstoffbestimmung kamen drei Analysemethoden zum Einsatz:

1. eine LC-DAD-Methode
2. eine LC-MS-Methode (Full-Scan) für die Generierung von Massenspektren
3. eine LC-MS-Quantifizierungsmethode mit MRM-IDA-EPI und Library-Matching (Datenbank für EPI-Spektren von Standardsubstanzen)

3.2.2.1 LC-DAD- und LC-MS-Methode

Die Methoden 1 und 2 dienten dabei zur semiquantitativen Analytik mittels Peakflächenintegration und damit der Evaluierung identifizierbarer, aber nicht als Standardsubstanz verfügbarer Komponenten. Die Peakflächen ggf. aufgetretener Isomere wurden summiert (KABRODT, 2006).

Für die HPLC-Methode wurde eine Synergi™ Hydro-RP 80 Å Trennsäule (250 x 2.0 mm, 4 µm) als stationäre Phase genutzt. Die mobile Phase setzte sich aus A: 0,1 % (v/v) Ameisensäure in H₂O und B: 100 % MeOH zusammen, wobei eine Gradientenelution Anwendung fand (von 0 auf 10 % MeOH in den ersten 5 min, auf 100 % nach 57,6 min,

100 % für weitere 7,4 min; Laufzeit = 80,1 min). Die Flussrate wurde auf 0,25 ml/min, die Autosampler- sowie Säulenofentemperatur auf 4 °C bzw. 40 °C eingestellt. Das Detektionsspektrum des Diodenarray-Detektors umfasste, über die gesamte Laufzeit, einen Bereich von 190 nm bis 950 nm (UV/VIS, „step width“ 2 nm, „slit width“ 4 mm). Das Injektionsvolumen betrug 10 µl pro Standard oder Probe.

Parallel zu eben beschriebener Analyseverfahren wurde die LC-MS Full-Scan-Methode (Quadrupol Q1-Scan-Methode) gefahren, bei welcher das auch für die Quantifizierungsmethode genutzte 4000 QTRAP Massenspektrometer zum Einsatz kam (LC/MS/MS System; Hybrid Triple Quadrupol / Linear Ion Trap Massenspektrometer; Tandem-MS). Die wesentlichen Parameter des Full-Scans sind in Tab. 15 aufgeführt.

Tab. 15: Parameter der LC-MS Full-Scan-Methode.

Scan-Typ:	Q1-Scan		
Quelle:	Elektrospray-Ionisation (ESI)		
Polarität:	negativ		
„Source/Gas“:		„Compound“:	
CUR („curtain gas“):	20 psi	EP („entrance potential“):	- 10 V
IS („ion spray voltage“):	- 4250 V	DP („declustering potential“):	- 95 V
Temp.:	450 °C		
Gas 1:	55 psi		
Gas 2:	65 psi		
Zeit:	3 sec / Zyklus		
Dauer:	80,083 min (entsprechend der HPLC-Methode)		
Full-Scan-Bereich:	100-1300 Da (zur Erfassung auch höher polymerisierter Substanzen)		
→ Lieferung eines Totalionenstroms			

Für die qualitative Bestimmung (Identifikation) einer Substanz wurde das Massenspektrum des zugehörigen Peaks aus dem Full-Scan generiert und das Masse-zu-Ladungs-Verhältnis (m/z) des Quasimoleküliions ($[M-H]^+$) und gegebenenfalls dessen Fragmenten mit Literaturdaten von *Rheum*-typischen Inhaltsstoffen abgeglichen.

3.2.2.2 LC-MS-Quantifizierungsmethode

Die quantitative Analyse erfolgte mittels MRM-IDA-EPI (Scan-Typ), wobei der MRM („multiple reaction monitoring“)-Lauf als Survey-Scan und zur Quantifizierung diente (je ein MRM-Übergang pro Referenzsubstanz). Für die externe Kalibrierung (immer linear) wurden 16 *Rheum*-typische Standardsubstanzen in 11 bis 16 Konzentrationsleveln von 5 ng/ml bis max. 1000 ng/ml eingesetzt (Korrelationskoeffizient $[r^2] > 0,99$). Wichtige Kenndaten der externen Kalibrierung sind der Anlage 4 zu entnehmen. Die für den MRM spezifischen Compound-Parameter können der Anlage 5 entnommen werden.

Das IDA („information dependent acquisition“)-Kriterium wurde zum Triggern/Aufnehmen des EPI („enhanced product ion“)-Scans programmiert bzw. gab die Bedingungen zum Triggern des EPI (Scan-Rate: 1000 Da/s; Funktion der linearen Ionenfalle) vor. Die spezifischen Compound-Parameter für den EPI waren wie folgt:

- EP („entrance potential“): - 10 V
- DP („declustering potential“): - 95 V
- CE („collision energy“): - 35 eV
- CES („collision energy spread“): ± 20 eV

Wurde bei der Probenanalyse im Survey-Scan eine im IDA festgelegte Intensität überschritten, wurde ein EPI ausgelöst. Nur wenn ein EPI vorhanden war und die „Purity“ einen Wert von 80 % überschritt (bei matrixbelasteten Proben ggf. etwas < 80 %), wurde der Substanzpeak quantifiziert. Der EPI diente der qualitativen Bestätigung der Substanz über den Vergleich mit einer Library, die die EPI-MS-Spektren der verwendeten Standardsubstanzen enthielt.

Um die Massen der Standardsubstanzen und ihre möglichen Fragmente erfassen zu können, wurde der Parameterbereich auf 80 Da bis 870 Da festgelegt (Abdeckung aller Precursor-Ionen und daraus resultierender Töchter vom kleinsten Fragment bis zum größten Precursor-Ion). Quelle, Polarität und die Source/Gas-Einstellungen entsprachen denen des Full-Scans (zzgl. CAD [„collision activation dissociation“]: Medium) und galten damit für alle Scans (MRM + EPI) für die gesamte Zeit (80,037 min).

Alle Proben sowie die Standards innerhalb der Kalibrierung (2 Messungen / Level) wurden in Doppelbestimmung analysiert, um instrumentell bedingte Fehler ausschließen zu können. Voruntersuchungen ergaben, dass die Peakflächeneinheiten bei wiederholten Injektionen derselben Probe nicht signifikant abweichen, sodass mehr als zwei Analyseläufe nicht erforderlich waren.

3.2.3 *In vitro* Mycelwachstumstests

Der den Agardiffusionstests zugeordnete MWT ist ein gängiges immunologisches Testverfahren zur Empfindlichkeitsprüfung von Erregern. Im Unterschied zum üblicherweise praktizierten Agardiffusionstest als Scheibchentest erfolgt beim MWT die Applikation der Prüfsubstanz im Nähragar. Das anschließende Mycelwachstum dient als Maß für die fungizide, direkte antifungale Extraktwirkung (SAUERMOST und FREUDIG, 1999; BLAESER et al., 2002; SCHWARZ et al., 2003 zitiert in KRONTHALER, 2009).

MWTs konnten mit Pilzen und Oomyceten durchgeführt werden, die *in vitro* auf Nähragarplatten kultiviert werden können. Hierzu gehören hemibiotrophe sowie nekrotrophe Phytopathogene, die aufgrund ihres Entwicklungszyklus und ihrer Ernährungsform nicht, wie z.B. der obligat biotrophe Echte Mehltau, auf lebendes Pflanzengewebe angewiesen sind. Die für diesen Part des Primärscreenings genutzten Pathogene sind in Kap. 3.1.4 aufgeführt. Gegen Jene getestet wurden sowohl die H₂O- als auch die EtOAc-Phase der *Rheum/Rumex*-Wurzelextrakte.

Kultivierung: Basis eines jeden MWT war die Anlage einer Masterplatte des betreffenden Pathogens, welche bis zur Testanlage im Brutschrank inkubiert wurde (22 °C, i.d.R. 7 d). Da *Bipolaris sorokiniana*, *Magnaporthe oryzae* und *Venturia inaequalis* ein vergleichsweise langsames Wachstum zeigten, betrug die Inkubationsdauer dieser Pilze 14 d bis 21 d.

Die *Phytophthora capsici*-Isolate sowie *Thielaviopsis basicola* wurden auf V-8 Saft-Agar kultiviert, *V. inaequalis* auf einem speziell für diesen Pilz geeigneten Nährmedium (Malzextrakt-Glucose-Agar). Die Kultivierung der übrigen Pilze erfolgte auf Kartoffelextrakt-Glucose-Agar.

Testung: Für den eigentlichen MWT wurde die Extraktphase zu 0,1 g in 10 ml 5 % (v/v) EtOH gelöst (Primärscreening 1. Stufe: 1000 ppm Endkonzentration). Die Lösung erfolgte mittels Ultraschall- (5 min) und anschließender Magnetrührerbehandlung (50 °C, 6/min, 5 min). Vor ihrer letztlichen Verwendung wurden die Extrakt- sowie Kontrolllösungen (5 %ige EtOH-Lösung) sterilfiltriert. Die 2. Stufe des MWT-Primärscreenings umfasste die Verdünnungsstufen 500, 250 und 125 ppm, welche nur dann getestet wurden, wenn die Startdosierung von 1000 ppm ein relatives Mycelwachstum von ≤ 50 % im Vergleich zur

Kontrolle erzielen konnte. Dieses Ausschlusskriterium wurde als Schwellenwert für ausreichend bis sehr gut zu bewertende Ergebnisse intern festgelegt. Erfüllte auch die 125 ppm-Dosierung die genannte Anforderung, folgte die Testung von 62,5 sowie 31,25 ppm-Konzentrationen. Im MWT wurde die Extraktlösung mit Nährmedium (50-60 °C [BLAESER et al., 2002]) vermischt und in eine Petrischale ausgegossen (2,5 ml Extraktlösung / 25 ml Nährmedium). Durch dieses Mischungsverhältnis war die Endkonzentration in der Agarplatte gegeben.

Für die Kontrollplatte wurde dem Nährmedium dasselbe Volumen an Lösungsmittel (5 % [v/v] EtOH) zugesetzt. Die Animpfung der Testplatten erfolgte durch mittiges Aufsetzen eines Ø 0,6 cm messenden Mycelstücks (0,28 cm²), welches unter Nutzung eines Korkbohrers zuvor aus der Masterplatte ausgestochen wurde. Die anschließende Inkubationsdauer betrug erneut 7 d und richtete sich im Folgenden nach dem individuellen Wachstumsverhalten der Pathogene (wöchentlich). Da es bei *M. oryzae* sowie *V. inaequalis* aufgrund ihres verlangsamten Wachstums zu Verhältnisverschiebungen über die Zeit kam, wurden hier die Werte nach 14 d bzw. 21 d herangezogen. Das relative Mycelwachstum wurde nach den folgenden Formeln bestimmt und verrechnet:

$$\varnothing \text{ Myceldurchmesser [cm]} = \frac{d1 \text{ [cm]} + d2 \text{ [cm]}}{2} - 0,6 \text{ [cm]}$$

mit:

d1 = gemessener Myceldurchmesser 1

d2 = gemessener Myceldurchmesser 2

0,6 = Durchmesser des Impfstücks

$$\text{Mycelwachstum geg. Kontrolle [\%]} = \frac{\varnothing \text{ Myceldurchmesser der Testplatte [cm]} * 100}{\varnothing \text{ Myceldurchmesser der Kontrollplatte [cm]}}$$

Hinsichtlich des GT10 E14-Extraktes, der besondere Berücksichtigung fand, erfolgte die Weiterbeobachtung der Testplatten bis zu einem rel. Mycelwachstum von > 50 % (max. 42 d). Für Ergebnisse ≤ 50 % erfolgten Doppel-, für solche von Ø ≤ 25 % Vierfachbestimmungen.

3.2.4 *In vivo* Versuche im Pathosystem *Hordeum vulgare* – *Blumeria graminis* f.sp. *hordei*

In vivo Versuche im Pathosystem *H. vulgare* – *B. graminis* f.sp. *hordei* (Bgh) umfassten BSTs, histochemische Studien und Aktivitätsmessungen von Antioxidantien.

Anzucht: Als Versuchsgerste wurde, wenn nicht anders angegeben, die anfällige Sommergersten (SG)-Sorte 'Lawina' genutzt (unbehandelt). Die Gerste wurde in Frühstorfer Topferde unter Gewächshausbedingungen (Ø 19,5 °C und 51,8 % rF) etwa zwei bis drei Wochen lang, bzgl. der Aktivitätsmessungen mindestens bis zum 3. bis 4. Blattstadium angezogen. Für die BSTs wurden min. drei Samen, für die histochemischen Studien 10 bis 12 Samen und für die Aktivitätsmessungen 15 Samen pro Pflanztopf verwendet. Es erfolgte eine min. wöchentliche Düngung mit 0,5 % NPK-Düngerlösung.

Behandlung: Die Behandlung der Pflanzen mit den Probelösungen erfolgte für alle Versuche im Sprühverfahren unter Nutzung einer Membran-Vakuumpumpe mit Zerstäuberaufsatz bei einem Druck von 1 bar. Die Sprühapplikation wurde dabei präinfektionell 48 h vor der Inokulation mit dem Pathogen durchgeführt. Die Einsatzkonzentrationen der Versuchsmittel (dest. H₂O-basierte Lösungen) variierten in Abhängigkeit vom Testsystem, wobei jede Behandlungsgruppe mit demselben Sprühvolumen behandelt wurde. Um eine gleichmäßige

Benetzung auch der Blattunterseite und eine zügige Aufnahme ins Blattgewebe zu gewährleisten, wurde als Adjuvans B-T[®] S 240 zudosiert (0,1 % [v/v]). Alle Kontrollpflanzen wurden mit einer 0,1 %igen B-T[®] S 240-Lösung behandelt.

Pathogenkultivierung: Die Kultivierung des Phytopathogens *Bgh* (Rasse A6) erfolgte durch eine sukzessive, wöchentliche Infektion von Gerstenpflanzen, die in einem Kühl-Brutschrank gehalten wurden (12h/12h-Hell/Dunkel-Rhythmus, 7000 ± 6 % Lux Beleuchtungsstärke, 82 ± 10 % rF, 20°C/18°C-Tag/Nacht-Temperatur [Wechsel zwischen 5 und 6 Uhr sowie 18 und 19 Uhr]).

3.2.4.1 Blattsegmenttests

Beim BST werden abgetrennte Pflanzenteile inokuliert und über einen definierten Zeitraum gehalten, bis Krankheitssymptome sichtbar werden und der Test evaluiert werden kann. In Abhängigkeit von der Resistenz der Pflanzensorte können die Blätter empfindlicher auf den Erreger reagieren, als bei Versuchen an ganzen Pflanzen. Anwendung findet der Platz und Material sparende BST u.a. im Fungizidscreening, in Pathogenitätstests und in der Kultivierung obligat biotropher Phytopathogene (SINCLAIR und DHINGRA, 1995).

Die BSTs bildeten den zweiten Part des Primärscreenings. Sie ermöglichten die Testung selektierter Gesamtextrakte (vorrangig EtOAc-Phasen) gegen obligat biotrophe pilzliche Pathogene, wobei der Fokus auf *Bgh* lag. Neben den Extraktlösungen variierender Anwendungskonzentrationen wurden in zwei unabhängigen Versuchen zudem Frks des GT10 E14 (EtOAc-Phase) sowie kommerziell erhältliche, *Rheum*-typische Reinstverbindungen getestet, welche als Standardsubstanzen Quantifizierungsbasis in der MS-Analytik waren (siehe Kap. 3.1.3). Die BSTs mit Gesamtextrakten (GT02 E09 + E12, GT05, GT10 E12 + E14, GT24, GT29, GT30 [hier auch die H₂O-Phase], GT35) erfolgten in acht unabhängigen Versuchen. Synergismustudien mit Reinsubstanzen in Kombination erfolgten in den Varianten Epicatechingallat (ECG) und Resveratrol (RES) sowie Rhaponticin und Procyanidin B2 (je ein Flavan-3-ol + Stilben) unter Nutzung verschiedener Mischungsverhältnisse (1:1, 2:1, 1:2, 4:1 und 1:4). Neben BSTs mit *Bgh* in SG erfolgten auch solche mit *Blumeria graminis* f.sp. *tritici* (*Bgt*) in Winterweizen (WW; *Triticum aestivum* 'Sokrates'), wobei ausschließlich die EtOAc-Phasen des GT02 beider Erntejahre getestet wurden. Zum Inokulationstermin wurden 10 cm lange Blattsegmente der jüngsten sowie zweitjüngsten Blätter beginnend von der Halm-basis abgeschnitten und zu je 15 Stück auf Benzimidazol-haltige Wasseragarplatten ausgelegt (zum Grünerhalt der Blattsegmente; ≥ 15 biologische Replikate). Anschließend wurden die Blattproben mittels Mehltauturm (Eigenkonstruktion) durch Rieselverteilung mit den pilzlichen Konidien infiziert ($\emptyset 1,1$ Konidien / mm² Blattfläche) (HÜCKELHOVEN et al., 1999). Die Evaluierung bzw. Bonitur umfasste eine visuelle Abschätzung des Befalls (prozentuale Anzahl von *Bgh/Bgt*-Pusteln pro Blattsegment auf 7 cm Blattlänge) und wurde i.d.R. nach einer Inkubationsdauer von ein bis drei Wochen durchgeführt. Ein beispielhaftes Boniturschema ist in Abb. 13 dargestellt.

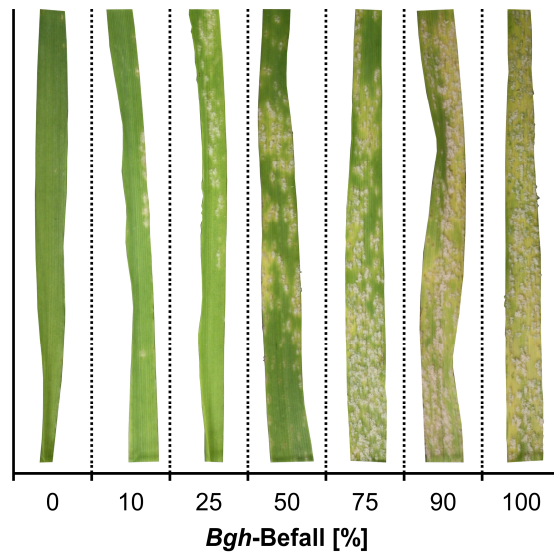


Abb. 13: Boniturschema für den Blattsegmenttest im Pathosystem *Hordeum vulgare* – *Blumeria graminis* f.sp. *hordei* (*Bgh*) (Quelle: eigene Darstellung).

Synergistische Effekte wurden gemäß COLBY (1967) berechnet. Nach COLBY (1967) werden die beobachteten Wirkungsgrade (in % der unbehandelten Kontrolle) den wie folgt berechneten zu erwartenden Wirkungsgraden gegenübergestellt:

$$E = (X + Y) - \left(\frac{X * Y}{100} \right)$$

mit:

E = Wirkungsgrad beim Einsatz der Wirkstoffe A und B in Aufwandmengen von m und n [g/ha]

X = Wirkungsgrad beim Einsatz des Wirkstoffs A in einer Aufwandmenge von m [g/ha]

Y = Wirkungsgrad beim Einsatz des Wirkstoffs B in einer Aufwandmenge von n [g/ha]

Eine synergistische Wirkung liegt dann vor, wenn der beobachtete Wirkungsgrad den berechneten bzw. erwarteten Wirkungsgrad übersteigt oder anders ausgedrückt, die antifungale Wirkung der Wirkstoffkombination größer als die Summe der Effekte der einzeln applizierten Aktivsubstanzen ist.

3.2.4.2 Histochemische Studien

Die histochemischen Studien waren als Methodik in die Rubrik des Sekundärscreenings eingegliedert und wurden gemäß der Studien von HÜCKELHOVEN und KOGEL (1998), HÜCKELHOVEN et al. (1999) und ACHATZ (2006) sowie in Anlehnung an eine bereits an der JLU Gießen (Institut für Phytopathologie, Prof. K.-H. Kogel) etablierte Methodik durchgeführt.

Ausgangspunkt war ein im Primärscreening als bzgl. seiner antifungalen Wirksamkeit vielversprechend eingestuftes *Rheum*-Wurzelextrakt. Bei diesem handelte es sich um die EtOAc-Phase des GT10, die aufgrund der ursprünglich überzeugenden Effekte des GT10 E12 im Jahr 2014 in einem größeren Maßstab erneut produziert wurde (GT10 E14; 500, 250, 125 ppm). Um die Struktur-Wirkungs-Beziehungen aufklären zu können, kamen neben dem Gesamtextrakt zudem ausgewählte Frks des GT10 E14 sowie dazu passende Reinstsubstanzen (Standards) zum Einsatz. Aufgrund ihrer Bestwirkungen in den BSTs fiel die Entscheidung auf die Frks 2 und 5 (250 ppm) und ihre jeweiligen Hauptkomponenten ECG bzw. RES in Form der Standardsubstanzen (125 ppm).

In Vergleichsuntersuchungen wurde mit GT02 E12-Extrakt (EtOAc-Phase) gearbeitet (500, 250, 125 ppm). Ziel war es, durch den präinfektionell applizierten Extrakt gegebenenfalls beeinflusste Entwicklungsstadien des phytopathogenen Pilzes oder auch durch diesen induzierte pflanzeigene Abwehrmechanismen zu detektieren. Als Positivkontrolle (48 h nach der Inokulation [engl. hours after inoculation {HAI}]) kamen Mutanten der resistenten SG-Linie 'Ingrid' zum Einsatz, die gegen ihren anfälligen Wildtyp (WT) *Mlo* getestet wurden. Bei den drei genutzten Mutanten handelte es sich um die Folgenden: (siehe auch Kap. 2.4.2.2)

- *mlo5* (I22): Mutation im *mlo*-Gen → Penetrationsresistenz
- *Mla12*: Mutation des *Mla12*-Allels des Resistenzgens → Apoptoseresistenz
- *Mlg21*: Mutation im *Mlg*-Gen, monoallelische Resistenz gegenüber bestimmten *Bgh*-Rassen (A6) → Penetrations- und Apoptoseresistenz (Papillenbildung + Hypersensitivitätsreaktion [HR] der attackierten Epidermiszelle)

Die angezogenen Pflanzen der Linie Ingrid wie auch die jeweiligen Kontrollpflanzen blieben unbehandelt (ausschließlich dest. H₂O mit 0,1 % B-T[®] S 240). Zum Inokulationstermin wurden die Versuchspflanzen mit *Bgh*-Sporen von etwa 10 d zuvor infizierten Gerstenpflanzen inokuliert.

3.2.4.2.1 Probenvorbereitung

24, 48 und 72 HAI wurde pro Individualpflanze das zweitjüngste Blatt entnommen und in 0,15 % (w/v) Trichloressigsäure in EtOH:Chloroform 4:1 (v/v) überführt. Durch den Transfer des infizierten Blattmaterials in die Entfärbelösung wurden das Wachstum des Pilzes sowie der Pflanze gestoppt und die Blätter durch Chlorophyllentzug entfärbt (2 x 24 h) (BECKHOVE, 2001). Die Lagerung des Blattmaterials erfolgte in 50 % Glycerin (v/v).

Um die Interaktionstypen detektieren zu können, erfolgten Behandlungen mit Färbereagenzien. Hierfür kam zum einen 3,3'-Diaminobenzidin (DAB) zum Einsatz, wobei die Blätter nach dem Abschneiden für etwa 3,5 h in DAB-Lösung eingelegt und erst nach der unter-Licht-Inkubation entfärbt wurden. DAB ließ braune Strukturen infolge der Akkumulation von Wasserstoffperoxid (H₂O₂) erkennen. Als zweiter Farbstoff kam Essigsäure Tinte zum Einsatz (25 % AcOH : Tinte 9:1 [v/v]), welche die Konidien Blau und damit gut identifizierbar anfärbte. In diese wurde das jeweilige Blatt direkt vor der Mikroskopie für 60 sec eingetaucht und im Anschluss in dest. H₂O gewaschen. Im Falle der Doppelfärbung (DAB+Tinte) wurden bereits in DAB-Lösung behandelte Blattproben für die Tintenanfärbung genutzt. Eine dritte Anfärbemethode war die mit Nitroblautetrazoliumchlorid 48 HAI. Hierfür wurde die Farbstofflösung mittels konstanter Druckinfiltration über eine stumpfe Einwegspritze ohne Nadelaufsatz in das links oder rechts der Mittelrippe gelegene Blattgewebe injiziert (SWANSON et al., 1988; PIETERSE et al., 1996). Nach der Entfärbung ohne zusätzliche Tintenanfärbung sollten dadurch Blaustrukturen von Superoxid-Akkumulationsorten meist nahe der Plasmamembran und des Penetrationsversuchs oder in der Peripherie des Haustoriums sichtbar gemacht werden (TRUJILLO et al., 2004).

3.2.4.2.2 Mikroskopische Quantifizierung

Die Evaluierung erfolgte mittels cytologisch mikroskopischer Quantifizierung der Pilz-Pflanze-Interaktionsphänotypen durch Auszählung von 100 Stellen pro Blattsegment (≥ 5 biologische Replikate). Um Zufallshäufungen ausschließen zu können, wurden 50 der 100 Stellen oberhalb und die übrigen 50 unterhalb der Mittelrippe berücksichtigt.

Im Rahmen der Vergleichsversuche mit der EtOAc-Phase des GT02 E12 handelte es sich um je (\geq) vier Blattsegmente sowie 50 ausgezählte Interaktionsphänotypen pro Blattsegment.

Quantifiziert wurden die

- nicht gekeimten und gekeimten Konidien,
- Haustorien (auch cytoplasmatische Verdichtungen als Vorstufe dieser),
- elongierte sekundäre Hyphen
sowie (hinsichtlich der doppelt gefärbten Proben)
- Papillenformationen (effektive / ineffektive Papillen) und
- Apoptoseformationen (HR = lokaler Zelltod).

Zudem wurde notiert, ob die Konidien, wenn denn erfolgreich, vorzugsweise direkt über die Zellwand, den Zellzwischenraum (antiklinisch) oder die Spaltöffnung eindringen. Gemäß KOGA et al. (1990) erfolgte eine Beschränkung der Detektion auf epidermale Kurzzellen und die Zellräume zwischen den Spaltöffnungen (stomatale [A] + interstomatale [B; nicht über Leitbündel] Zellen) auf der adaxialen Blattoberseite.

3.2.4.3 Aktivitätsbestimmungen von Antioxidantien

Die Methodik erfolgte in Anlehnung an NAKANO und ASADA (1981), RICHTER (2007) und unter Zuhilfenahme der artikelspezifischen sowie sonstiger Angaben (KNÖRZER et al., 1996; LEDERER, 2002). Ziel der Aktivitätsmessungen war es, den Einfluss des GT10 E14-Gesamtextraktes (EtOAc-Phase, 1000 und 500 ppm) und seiner stilbenhaltigen Frk 5 (500 ppm) auf die antioxidantienbezogene Akkumulation in bzw. das antioxidative Potential von Gerste nach der „Challenge“-Inokulation mit dem Gerstenmehltau zu untersuchen. In Vergleichsuntersuchungen wurde mit dem GT02 E12-Extrakt (EtOAc-Phase) gearbeitet (1000 ppm). Die Inokulation mit *Bgh* erfolgte nur auf einem Teil der Versuchspflanzen. Die spektrophotometrischen Messungen wurden 24 und 48 HAI sowie 7 d nach der Infektion unternommen.

3.2.4.3.1 Extraktion der Antioxidantien

Zur Extraktion der enzymatischen und nicht-enzymatischen Antioxidantien wurde das Blattmaterial (i.d.R. je 1.-3. jüngstes Blatt von zwei Pflanzen) in flüssigem Stickstoff gemörsert und zu je etwa 0,5 g abgewogen in vorgefrorene 15 ml-Reaktionsgefäße überführt. Die eingewogene Frischmasse (FM) des Blattmaterials fand in den Aktivitätsberechnungen Berücksichtigung. Die Ansätze wurden nach der Zugabe von je 2,5 ml kaltem Extraktionspuffer durchmischt (15/min, 15 sec) sowie zentrifugiert (4 °C, 10.000 g, 20 min). Der jeweilige Überstand wurde in ein 2 ml-Reaktionsgefäß pipettiert, nochmals zentrifugiert (7000 rpm, 3 min) und bis zur Vermessung weiterhin auf Eis gestellt. Die Messungen der nicht-enzymatischen Antioxidantien erfolgten nach einer Zwischenlagerung bei -80 °C zeitlich versetzt. Ein Verlust jedweder Art war dabei nicht zu erwarten (FOYER et al., 1983; KNÖRZER et al., 1996). Für die Extraktion der Enzyme kam ein TRIS-Puffer (0,1 M pH 7,8), für die Extraktion der nicht-enzymatischen Antioxidantien ein meta-Phosphorsäure-Puffer (5 % [w/v]) zum Einsatz.

Die Vermessung erfolgte mittels des UV/VIS-Spektralphotometers SPECORD 210 (Analytik Jena AG, Jena) mit der Spektralanalyse-Software WinASPECT®. Als Referenz wurde bidest. H₂O verwendet (automatische Verrechnung).

3.2.4.3.2 Aktivitätsbestimmungen der enzymatischen Antioxidantien

Bei den betrachteten Enzymen handelte es sich um Katalase (CAT), Glutathionreduktase (GR), Ascorbatperoxidase (APX), Dehydroascorbatreduktase (DHAR) und Monodehydroascorbatreduktase (MDHAR), deren Aktivitäten (Extinktionsänderungen) enzymkinetisch über einen Zeitraum von 3 min vermessen wurden.

Die spektrophotometrischen Messungen umfassten die Detektion des bei der jeweiligen Reaktion abgebauten Substrates bzw. gebildeten Reaktionsproduktes. Die Bestimmung der CAT-Aktivität beruhte auf der spektrophotometrischen Messung des Abbaus bzw. Verbrauchs von H_2O_2 bei 240 nm (Absorptionsabnahme; molarer Extinktionskoeffizient $[\epsilon] \text{H}_2\text{O}_2 = 0,0394 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ [RICHTER, 2007]). Der Abbau von H_2O_2 bzw. die enzymatische Oxidation von Ascorbinsäure bei 290 nm bildete die Grundlage der Aktivitätsbestimmung der APX (Absorptionsabnahme; $\epsilon_{\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6} = 2,8 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ [NAKANO und ASADA, 1981]). Die Aktivität der DHAR wurde auf Basis der Bildung reduzierter Ascorbinsäure bei 265 nm ermittelt (Absorptionssteigerung; $\epsilon_{\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_6} = 14 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ [KLAPHECK et al., 1990]). Die Ermittlung der Aktivitäten der GR und der MDHAR basierte auf dem entsprechenden Abbau von NADPH ($\epsilon_{\text{NADPH}} = 6,2 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ [KLAPHECK et al., 1990]) bzw. NADH ($\epsilon_{\text{NADH}} = 6,2 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ [HOSSAIN et al., 1984]) bei 340 nm. Die jeweiligen Belegungsschemata der Küvetten sind in Anlage 6 zusammengefasst.

3.2.4.3.3 Aktivitätsbestimmungen der nicht-enzymatischen Antioxidantien

Bei den betrachteten nicht-enzymatischen Antioxidantien handelte es sich um Ascorbat und Glutathion.

Der Ascorbatgehalt wurde in einem doppelten Testansatz (A und B) als reduziertes (AsA) und Gesamt-Ascorbat (AsA + DAsA) bei 525 nm vermessen (siehe Anlage 7), wonach die Konzentration an oxidiertem Ascorbat (DAsA) rechnerisch ermittelt wurde ($\text{DAsA} = [\text{AsA} + \text{DAsA}] - \text{AsA}$).

Bezüglich des Glutathions (siehe Anlage 8) wurde gleichermaßen (Gesamt-Glutathion [GSH + GSSG] und oxidiertes Glutathion [GSSG]), jedoch enzymkinetisch bei 412 nm verfahren (Absorptionssteigerung während der Bildung eines farbigen Anions (5-Thio-2-nitrobenzoat-Anion, TNB^- [RICHTER, 2007]). Die Ermittlung des reduzierten Glutathions (GSH) erfolgte rechnerisch ($\text{GSH} = [\text{GSH} + \text{GSSG}] - \text{GSSG}$).

Mit Ausnahme der CAT wurde bei allen Enzymen und nicht-enzymatischen Antioxidantien, je nach Küvettenchema pro Probe oder pro Messtag, eine Enzym-/Substrat- bzw. Extrakt-freie chemische Kontrolle (unspezifischer Umsatz) mitgeführt. Deren Absorptionsänderung (ΔE pro 3 min) wurde von der Probenabsorptionenänderung (ΔE pro 3 min) subtrahiert (= Netto-Extinktionsänderung).

3.2.4.3.4 Berechnung der Aktivitäten und Gehalte

Die Berechnung der Enzymaktivitäten erfolgte nach der folgenden Formel (Angabe in μmol Umsatz pro g Blattmaterial und 3 min):

$$U [\mu\text{mol}/g * 3 \text{ min}] = \frac{V_{\text{ges.}} [\text{ml}] * \Delta E [3 \text{ min}^{-1}] * V_{\text{Extr.-Puffer}} [\text{ml}]}{V_{\text{Extrakt}} [\text{ml}] * \epsilon [\mu\text{M}^{-1} * \text{ml} * \text{cm}^{-1}] * m_{\text{Pflanzenmaterial}} [\text{g}] * d [\text{cm}]}$$

mit:

U	= Enzymaktivität/Umsatz [$\mu\text{mol}/g \cdot 3\text{min}$]
$V_{\text{ges.}}$	= Gesamtvolumen im Testansatz [in ml]
ΔE	= Netto-Extinktionsänderung [pro 3 min]
$V_{\text{Extr.-Puffer}}$	= Volumen des Extraktionspuffers bei der Extraktion [in ml]
V_{Extrakt}	= Volumen des Extraktes im Messansatz [in ml]
ϵ	= molarer Extinktionskoeffizient der Messsubstanz [$\text{mM}^{-1} * \text{cm}^{-1}$]
$m_{\text{Pflanzenmaterial}}$	= Masse des eingesetzten Pflanzenmaterials bei der Extraktion [in g]
d	= Schichtdicke der Küvette (= 1 cm)

Um die Ascorbat- und Glutathion-Konzentrationen im Blattmaterial quantitativ bestimmen zu können, wurden Kalibrationskurven angelegt. Dies erfolgte unter Nutzung von L(+)-Ascorbinsäure in Konzentrationsstufen von 5 $\mu\text{mol}/\text{l}$ bis 500 $\mu\text{mol}/\text{l}$ (Stammlösung: 2 mM Ascorbinsäure in 5 %iger [w/v] meta-Phosphorsäure), welche in Vierfachbestimmungen vermessen wurden. Für das Glutathion wurden Standardkonzentrationen von 1 $\mu\text{mol}/\text{l}$ bis 100 $\mu\text{mol}/\text{l}$ angesetzt und enzymkinetisch vermessen (Stammlösung: 1 mM Glutathiondisulfid [GSSG] / GSH in 5 %iger [w/v] meta-Phosphorsäure). Die Gehalte der nicht-enzymatischen Antioxidantien wurden ausgehend von den Netto-Extinktionswerten bzw. -änderungen über die zugehörigen Kalibrierwerte und die Rückrechnung auf die eingesetzte Menge an Extraktionspuffer sowie Blattmaterial (FM) ermittelt (Angabe in μmol pro g FM).

Das Experiment wurde mit je vier Extraktionsreplikaten pro Behandlung und per Doppelbestimmung am Photometer zweifach ausgeführt (VANACKER et al., 1998).

3.2.5 *In vivo* Versuche im Modellsystem *Arabidopsis thaliana*

In vivo Versuche im Modellsystem *A. thaliana* umfassten das Mutantenscreening, Transkriptabundanzanalysen (DNA-Microarray, qRT-PCR) und Proteinbestimmungen mittels Western Blot (Studien zu induzierter Resistenz [IR]).

Anzucht: Hierfür wurde das *Arabidopsis*-Saatgut mittels ARASYSTEM Starter Kit 360 reproduziert. Neben dem WT Col-8 (in allen Versuchen) kamen insgesamt neun *Arabidopsis*-Mutanten mit unterschiedlichen abwehrbezogenen Defekten zum Einsatz (im Mutantenscreening). Die Versuchspflanzen wurden in einer Klima-/Kühlzelle (12h/12h-Hell/Dunkel-Zyklus, 2080 ± 6 % Lux Beleuchtungsstärke, $81 \pm 11,41$ % rF, $20 \pm 1,34$ °C) über etwa acht Wochen (i.d.R. ± 2 d) in 7x7x8 cm-Töpfen vorgezogen, in \varnothing 6 cm-Töpfe pikiert (Fruhstorfer Topferde) und wöchentlich mit 0,5 % NPK-Düngerlösung gedüngt.

Behandlung: Die Behandlung der Pflanzen erfolgte entsprechend der Angaben in Kap. 3.2.4. Bei den Transkriptabundanzanalysen und den Proteinbestimmungen wurde auf die Zudosierung des Adjuvans B-T[®] S 240 verzichtet, um dessen möglichen Einfluss auf die Transkript- und Proteinabundanz ausschließen zu können. In diesen Versuchen wurden die Kontrollpflanzen ausschließlich mit dest. H₂O behandelt.

Pathogenkultivierung: Parallel wurden *Arabidopsis*-Pflanzen (Col-8, *pad4-1*), um die Virulenz des Pathogens zu erhalten wechselseitig, 14 d (± 2 d) vor dem jeweiligen Experiment mit *Erysiphe cruciferarum* (*E.c.*; Echter Mehltau) infiziert, um transferables Material

(Mehltaukonidien) für die Testinokulation vorhalten zu können. Die Inkubation erfolgte bei 12h/12h-Hell/Dunkel-Rhythmus (Dimmfunktion in Stufen von 25-50 % in den ersten und letzten 15 min), 34.450 ± 6 % Lux Beleuchtungsstärke, 75 % rF und 20°C/18°C-Tag/Nacht-Temperatur.

3.2.5.1 Mutantenscreening

Das Mutantenscreening wurde durchgeführt, um zwischen direkten antifungalen und resistenzinduzierenden Effekten der *Rheum*-Polyphenole unterscheiden zu können (lokal / systemisch erworbene Resistenz). Die verwendeten *Arabidopsis*-Mutanten waren in der Akkumulation von bzw. der Reaktion auf bestimmte Schlüsselsubstanzen innerhalb der IR-Signalwege beeinträchtigt und ermöglichten so eine Differenzierung.

Im Screening mit den Mutanten (siehe Kap. 3.1.6.4) wurden 0,5 % (w/v) des GT10 E14-Gesamtextraktes (EtOAc-Phase), je 0,1 % (w/v) der zugehörigen Frks 2 und 5 sowie je 0,1 % (w/v) der Standardsubstanzen ECG und RES getestet (Frks und Standards nur in erweiterten Versuchen). Kontrollpflanzen wurden ausschließlich mit B-T[®] S 240-versetztem dest. H₂O besprüht (13-25 ml / Prüfglied). Jeder Versuch wurde mit vier Testpflanzen des WT bzw. der Mutante pro Behandlung (H₂O / Probe) durchgeführt sowie zweimal bis dreimal wiederholt (≥ 12 biologische Replikate).

Nach der zweitägigen Inkubationszeit wurden von jeder Testpflanze vier Blätter entnommen und auf einer Benzimidazol-haltigen Wasseragarplatte ausgelegt (Testsystem: BST; Abb. 14 links). Mittels Übertragung der Mehltaukonidien mit einem Pinsel erfolgte anschließend die Inokulation (JOHANSSON et al., 2014). Die Inokulumdichte (Konidien/Blattfläche) wurde in Anlehnung an VANACKER et al. (1998) und MOLITOR (2009) stichprobenartig durch die Nutzung von Objektträgern mit Vertiefung überprüft (Abb. 14 mittig), indem diese mit 0,01 % (v/v) Tween 20 (persönliche Auskunft E. Stein, JLU Gießen) aufgeschwemmt und die Konidien per Zählkammer in Doppelbestimmung ausgezählt wurden (\emptyset 1,2 Konidien / mm² Blattfläche).



Abb. 14: Beispielhafte Platten des Blattsegmenttests im Pathosystem *Arabidopsis thaliana* – *Erysiphe cruciferarum* (vor der Inokulation [l.], nach der Inokulation mit Objektträger zur Bestimmung der Inokulumdichte [m.] und 7 d nach der Infektion [r.]) (Quelle: eigenes Bildmaterial).

Die Bewertung der Befallsstärke (visuelle Abschätzung / Bonitur) wurde nach etwa 7 d (i.d.R. max. 9 d; Abb. 14 rechts) unter Zuhilfenahme eines Stereomikroskops durchgeführt. Die Bonitur erfolgte nicht auf die prozentual befallene Blattfläche, sondern auf die Intensität des Befalls mit *E.c.* und orientierte sich dabei an den folgenden drei Evaluierungspunkten: 1. Dichte des Pilzmycel, 2. Grünanteil des Blattes sowie 3. an der Blattschädigung (Nekrotisierung). Eine Boniturnote von 85 % Befallsintensität lag z.B. dann vor, wenn das Blatt trotz eines sichtbaren Grünanteils dicht mit aktivem Mycel bedeckt war.

Um die komplexe Bonitur auf Befallsintensität auch quantitativ bestätigen zu können, wurde diese Art der Evaluierung mit der Auszählung der Konidien pro definierter Blattfläche kombiniert. Hierfür wurde ein Blattausschnitt von 0,5 cm² mittels eines 0,8 cm-Korkbohrers ausgestanzt, in ein 2 ml-Reaktionsgefäß überführt und mit 50 µl 0,01 % (v/v) Tween 20 versetzt. Anschließend erfolgte ein 10 sekündiges Durchmischen (2000/min) zum Abtrag der Konidien. Die bereits für die Überprüfung der Inokulumdichte genutzte Zählkammer wurde nachfolgend mit der Suspension befüllt und mittels Mikroskop ausgewertet.

3.2.5.2 Transkriptabundanzanalysen

Die Transkriptabundanzanalysen dienen der Untersuchung des durch die Applikation der potenziellen Induktoren ausgelösten Priming-Effekts. Diese wurden mittels DNA-Microarray und quantitativer Reverse-Transkriptase (qRT)-Polymerasekettenreaktion (engl. polymerase chain reaction [PCR]) analysiert.

DNA-Microarrays (DNA-Chips) dienen dem Nachweis einer differentiellen Genaktivität durch die gleichzeitige Erfassung der Expression tausender Gene (HEß, 2008). Mit der qRT-PCR kann die Expression eines bestimmten Gens nachgewiesen werden (HEß, 2008). Hier wird mittels reversen Transkriptasen eine für die RNA komplementäre DNA (cDNA) erstellt und anschließend eine PCR durchgeführt (exponentielle Vermehrung definierter DNA-Abschnitte durch komplementäre Oligonukleotid-Primer). Bei der quantitativen Echtzeit-PCR (engl. real-time quantitative-PCR) kann die amplifizierte DNA-Menge kontinuierlich erfasst werden (HALLMANN et al., 2007; HEß, 2008).

Beide Versuchsreihen beschränkten sich auf eine Einsatzkonzentration des GT10 E14-Extraktes von 0,1 % (w/v; 1000 ppm). Die Kontrollpflanzen wurden ausschließlich mit dest. H₂O behandelt.

3.2.5.2.1 DNA-Microarrays

Unmittelbar nach der Gewinnung von unbehandeltem Col-8-Blattmaterial, wurden die Pflanzen mit der Extraktlösung besprüht und 3 h, 6 h sowie 9 h nach der Applikation (engl. hours after treatment [HAT]) jeweils weitere Blattproben entnommen (Mischprobe = drei Blätter von drei Individualpflanzen). Nach sofortiger mRNA-Isolation und der cDNA-Produktion erfolgte die Affymetrix Microarray Hybridisierung extern seitens des Kompetenzzentrums Fluoreszenz Bioanalytik (KFB; Universität Regensburg) unter Nutzung eines speziellen Processing-Kits (siehe Tab. 11). Die Untersuchungen betrafen dabei das gesamte *Arabidopsis*-Transkriptom (alle bis dahin bekannten Protein-kodierenden Gene). Der Test wurde zweifach durchgeführt (= 2 biologische Replikate). In einem separaten Test wurden 3-9 h-Vergleichsproben für die qRT-PCR gewonnen (≥ 3 technische Replikate).

3.2.5.2.2 qRT-PCR-Analysen

Die Fragestellung der zweiten Versuchsreihe nach der „Challenge“-Inokulation mit *E.c.* war die nach einer differentiellen Transkription der Pathogenese-zugehörigen (engl. pathogenesis-related [PR]) Gene *PR1*, *PR2* und *PR5* (PR Protein-kodierende Gene). Als Positivkontrolle wurde SA (200 ppm) eingesetzt. Bion® (Acibenzolar-S-methyl / BTH, 1000 ppm) und INA (100 µM; persönliche Auskunft Prof. U. Conrath, RWTH Aachen) erwiesen sich als ungeeignet. Die Blattmischproben wurden 48 HAT sowie 8, 12, 16, 20 und 24 HAI (Ø 3,4 Konidien / mm² Blattfläche) gesammelt, in 2 ml-Reaktionsgefäße überführt und mit flüssigem Stickstoff schockgefrostet. Ein Teil der Versuchspflanzen blieb uninfiziert, welche in derselben Art und Weise beprobt wurden. Die Zwischenlagerung erfolgte bei -80 °C.

Für die mRNA-Isolation kamen je etwa 100 mg des eingefrorenen Blattmaterials zum Einsatz. Dieses wurde in 91-PCS-CK14 Precellys Keramik-Kit Reaktionsgefäße eingewogen. Der Zellaufschluss erfolgte mittels FastPrep®-24 (dreimal 30 sec, 6.0 m/s). Nach Durchlaufen der Kit-spezifischen Arbeitsschritte erfolgte, ausgehend von der aufgereinigten mRNA, die reverse Transkription (cDNA-Synthese) mittels SuperScript™ First-Strand Synthesis System (inkl. Oligo(dT)₁₂₋₁₈ und katalysiert durch die SuperScript™ II Reverse Transcriptase). Die qRT-PCR mittels QuantiTect SYBR Green PCR Kit schloss sich an. Hierfür kamen die für die betreffenden Gene spezifischen Primer zum Einsatz. Als Housekeeping- bzw. Referenzgene zur anschließenden Normalisierung der Abundanzen der *PR* Transkripte wurden sowohl Actin als auch Ubiquitin geprüft. Dabei stellte sich heraus, dass bei *At*-Actin wiederholt nicht reproduzierbare c_t -Werte mit einer hohen Abweichung von über 0,5 c_t vorlagen. Aus diesem Grund wurde das Referenzgen *At*-Ubiquitin für die Normalisierung genutzt.

Die relativen Transkriptabundanzen (relative Quantifizierung [RQ]) wurden mittels $\Delta\Delta c_t$ -Methode quantifiziert (LIVAK und SCHMITTGEN, 2001):

$$\Delta c_t = c_t (Z) - c_t (R)$$

$$\Delta\Delta c_t = c_t (P) - c_t (K)$$

$$n\text{-fache Transkription (RQ)} = 2^{-\Delta\Delta c_t}$$

mit:

Z = Zielgen (*PR* Gen)

R = Referenzgen (Ubiquitin)

P = Probe (infizierte Probe)

K = Kalibrator (nicht infizierte Probe [48 HAT])

Die Testreihe wurde zweimal wiederholt (= 3 biologische Replikate, ≥ 6 technische Replikate).

3.2.5.3 Detektion phosphorylierter Mitogen-aktivierter Proteinkinase 3

Basierend auf den Transkriptabundanzanalysen des Kap. 3.2.5.2.1 (DNA-Microarrays) sollte mittels Gelelektrophorese (SDS-PAGE) und anschließendem Western Blot-Verfahren der Effekt von *Rheum*-Wurzelextrakten auf die Aktivierung von Phosphoproteinen am Beispiel der MPK3 untersucht werden (frühzeitige Kinase-Aktivitäten, „early response“).

Die Kultivierung der *Arabidopsis*-Pflanzen (Col-8) erfolgte entsprechend der Angaben in Kap. 3.2.5. Zum Applikationstermin wurden vorab Blattmischproben (Mischprobe = je drei Blätter von drei Individualpflanzen) unbehandelter Pflanzen entnommen und in 2 ml-Reaktionsgefäßen in flüssigem Stickstoff schockgefrostet. Anschließend erfolgten die Sprühbehandlungen (ohne Adjuvans; siehe Kap. 3.2.5) mit 0,1 % und 0,5 % (w/v) GT10 E14-Gesamtextrakt (EtOAc-Phase). 100 μ M BTH dienten als Positivkontrolle. Als Negativkontrolle wurde dest. H₂O verwendet. In jeder der Testreihen wurden Blattmischproben 2, 5, 15, 30, 60 sowie 120 min nach der Applikation entnommen und ebenfalls schockgefrostet (je drei biologische Replikate). Die Zwischenlagerung erfolgte bei -80 °C.

3.2.5.3.1 Proteinextraktion und Proteinbestimmung nach Bradford

Für die Proteinextraktion wurden etwa 300 mg bis 400 mg Probe unter Eiskühlung und Zugabe eines frisch hergestellten Lysepuffers (1:1 [w/v]) gemörsert. Der Puffer setzte sich aus den folgenden Chemikalien zusammen: 100 mM HEPES/NaOH (pH 8,0), 5 % Glycerin, 5 mM Magnesiumchlorid und 1 mM DL-Dithiothreitol. Um einen enzymatischen Proteinabbau durch Proteasen (Proteolyse) und eine Dephosphorylierung der Proteine durch

Phosphatasen zu verhindern, wurden dem Puffer kurz vor dem Zellaufschluss entsprechende Inhibitoren (je 0,1 % [v/v]) zugesetzt (MEIMOUN et al., 2007). Das homogenisierte Lysat wurde in einem 1,5 ml-Reaktionsgefäß mittels Thermomixer inkubiert (4 °C, 300 rpm, 30 min) und anschließend zentrifugiert (4 °C, 13.500 rpm, 10 min). Es wurde ein Aliquot für die anschließende Bradford-Proteinbestimmung abgenommen und der Rest der Probe bei -80 °C eingefroren. Die Verarbeitung der Proteinproben zur weiteren Analyse erfolgte grundsätzlich auf Eis, um den Proteinabbau zusätzlich zu verlangsamen.

Für die Proteinquantifizierung nach Bradford wurde mit jeder Probe eine Doppelbestimmung in PMMA Halbmikro-Küvetten durchgeführt. Es wurden 5 µl Probe mit 45 µl bidest. H₂O und 950 µl Bradfordreagenz versetzt, durchmischt und die Extinktion bei 595 nm bestimmt. Als Leerwert dienten 50 µl bidest. H₂O in 950 µl Bradfordreagenz. Zudem wurde mit fünf Kalibrierleveln von 5 µg/ml bis 25 µg/ml bovinem Serumalbumin (BSA) eine Eichkurve erstellt (siehe Anlage 9).

Da kein pflanzenspezifischer MPK3-Antikörper vorhanden war, wurden Aliquote signalintensiver Proben mit Phosphatase versetzt (1 Einheit / µg Protein) und anschließend bei 37 °C für 60 min inkubiert (Abcam plc, 2018). Der verwendete MPK3-Antikörper erkennt nur das doppelt phosphorylierte Protein, wodurch das Western Blot-Signal in den behandelten Proben verschwinden sollte. Als Kontrolle der Proteinqualität dienten unbehandelte Proben, die ebenfalls für 60 min bei 37 °C inkubiert wurden.

3.2.5.3.2 SDS-PAGE und Western Blot

Die Natriumdodecylsulfat-Polyacrylamidgelelektrophorese (engl. sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis [SDS-PAGE]) wurde mit Any kD™ Mini-PROTEAN® TGX Stain-Free™-Polyacrylamid-Fertiggelen und 1x TGS-Laufpuffer durchgeführt.

Bei der „Stain-Free“-Technologie werden fluoreszierende Trihalokomponenten an die Tryptophane im Protein gebunden. Dies ermöglicht eine Analyse der Proteine im Gel und auf dem Blot ohne die Verwendung von zeitintensiven Färbetechniken. Die Analyse der Signale erfolgte mit dem ChemiDoc MP System und der ImageLab-Software. 30 µg-Proteinproben wurden mit Ladepuffer versetzt und zur Denaturierung im Thermomixer erhitzt (95 °C, 300 rpm, 10 min). Als Proteinmarker wurden 2 µl Precision Plus Protein™ WesternC™ Standard verwendet. Nach der Beladung der Kammern (Tetra Cell) erfolgte die Gelelektrophorese bei 100 V und 25 °C für etwa 83 min (→ Auftrennung der Proteine nach ihrer Größe). Die Bandenqualität wurde vor dem Blotten im ChemiDoc-Analyser überprüft.

Um die Proteine mittels Antikörpern analysieren zu können, wurden sie mittels semi-dry-Verfahren (Trans-Blot® Turbo™ Transfer System) auf eine Polyvinylidenfluorid (PVDF)-Membran übertragen. Nach dem Aktivieren der Membran in EtOH wurde sie in 1x Blottingpuffer (20 % 5x Transferpuffer, 60 % bidest. H₂O, 20 % EtOH) äquilibriert (3 min). Der Blotaufbau bestand aus siebenlagigem, in Blottingpuffer getränkten Whatmannpapier, der Membran, dem Proteingel und noch einmal siebenlagigem, getränkten Whatmannpapier. Der Blot der Proteine erfolgte bei etwa 25 V für 30 min (Bio-Rad-internes Blotprogramm). Anschließend wurde die Transfereffizienz im ChemiDoc überprüft (siehe Anlage 10).

3.2.5.3.3 Immundetektion

Nach beendetem Transfer wurde die Membran mit 5 % BSA (w/v) in 1x TBS (20x 20 mM TRIS / 150 mM NaCl pH 7,6; Verdünnung mit bidest. H₂O → 1x TBS) blockiert (Raumtemperatur [RT], 30 rpm, 60 min). Dies dient dazu, noch freie Bindungsstellen auf der Membran zu blockieren und damit Hintergrundsignale zu minimieren. Bei der Untersuchung

von Phosphoproteinen sollte für die Blockierung kein Magermilchpulver verwendet werden, da das darin enthaltene Kasein selbst ein Phosphoprotein ist und somit Hintergrundrauschen erzeugen könnte. Für die Detektion wurde die Membran mit Anti-MAP Kinase-Antikörper (Activated [Diphosphorylated ERK-1&2] antibody, Mouse monoclonal) 1:2.000 (v/v) in 1x TBS mit 1 % BSA (w/v) auf einem Taumelschüttler inkubiert (4 °C, 30 rpm, über Nacht). Der Blot wurde anschließend dreimal mit 1x TBST (+ 0,05 % Tween 20) gewaschen (RT, 30 rpm, 10 min). Nach der Sekundärdetektion mit fluoreszenzmarkiertem Goat anti Mouse IgG (H/L):DyLight®649 (1:15.000 [v/v] in 1x TBS mit 1 % BSA [w/v], RT, 30 rpm, 60 min, im Dunkeln) wurde die Membran erneut dreimal gewaschen, die Fluoreszenzfarbstoffe anschließend im ChemiDoc-System angeregt und die Lichtsignale ausgelesen. Die Signalstärke ist proportional zur Proteinmenge, wodurch eine Semiquantifizierung möglich ist. Die Fluoreszenzbilder wurden per Multichannel-Funktion aufgenommen und die Signale über die Gesamtproteinmenge („stain-free“) normalisiert. Die Normalisierung über die gesamte Proteinmenge reduziert den Einfluss von Ungenauigkeiten in der Beladung des Gels sowie weiteren Faktoren wie der Transfereffizienz beim Blot.

3.2.6 Freilandversuche

Ein entscheidendes Kriterium für die Beurteilung des antifungalen Potentials von Pflanzenextrakten ist ihre Wirksamkeit im Freiland.

Im Rahmen des Tertiärscreenings wurden mit ausgewählten, z.T. formulierten *Rheum*-Wurzelextrakten, die sich im Primär- und Sekundärscreening bewiesen hatten, Kleinparzellen-Feldversuche durchgeführt. Diese erfolgten auf dem Versuchsstandort Bernburg-Strenzfeld der Hochschule Anhalt in den Vegetationsperioden der Jahre 2012 bis 2017 (Jahresmitteltemperatur: 9,4-11,0 °C, mittlere rF: 76-80 %) in SG und WW. SG-Sorte war erneut Lawina, in späteren Versuchen (2016, 2017) die Sorte 'Steffi'.

Für die Versuche in WW wurde die für Getreidemehltau anfällige Sorte 'Pamier' verwendet, in 2017 die Sorte 'Julie E' (Aussaatzstärke: 350 Körner/m²). Die randomisierte Blockanlage war aus Kleinparzellen (SG: 1,375 x 8 m; WW: 1,500 x 5/8 m) mit je vier Replikaten pro Behandlung aufgebaut.

Bei den getesteten Proben handelte es sich um die Rohextrakte (EtOAc-Phasen) des GT02 E12 und des GT10 E12. Ab 2014/2015 wurde das von der HELM AG (Hamburg) hergestellte DC30 eingesetzt, wobei dieses 2014 aufgrund des Produktionsabschlusses im April erst in der zweiten Spritzung genutzt werden konnte (WW). Die Extraktlösungen wurden, bezogen auf alle Freilandversuche, in Dosierungen von 250 g/ha bis 1000 g/ha (Rohextrakte) bzw. 200 g/ha bis 1000 g/ha (Formulierung) appliziert (Wasseraufwandmenge [2 % EtOH]: 200 l/ha). Im Feldversuch 2012 mit dem Extrakt des GT02 erfolgte eine Beimischung der Adjuvantien PREV-AM® oder HASTEN™ zur Spritzbrühe. In den übrigen Feldversuchen (neben HASTEN™ im Versuchsjahr 2013) wurden entweder BREAK-THRU® Union oder B-T® S 240 genutzt (50-800 ml/ha). Als Vergleichsmittel dienten die kommerziellen synthetischen Fungizide Corbel®, Flexity®, Amistar® und Capalo® (0,1-1,2 l/ha). Die (Negativ-)Kontrollparzellen blieben unbehandelt. Die Applikationen erfolgten über Flachstrahldüsen, in WW gewöhnlich zweifach (zwei Spritzungen) im Entwicklungsstadium (ES) 33-37 (3-Knoten-Stadium bis Fahnenblatt) und ES 51-61 (Beginn des Ährenschiebens bis Beginn der Blüte). In SG wurde nur eine Spritzung in ES 31-37/39-41 (1-Knoten-Stadium bis Fahnenblatt / Ligula-Stadium bis Fahnenblattblattscheidenverlängerung) durchgeführt.

Nach Sichtbarwerden von Befallssymptomen in den Kontrollparzellen (Infektion > 10 %) wurden die Bestände auf folgende Pflanzenkrankheiten hin evaluiert: Gersten- und Weizenmehltau, *Puccinia*-Spezies (Gelb- und Braunrost des Weizens) sowie, wenn aussagekräftig bonitierbar, *Septoria tritici*. In Abb. 15 sind einige der bonitierbaren Blattkrankheiten in WW exemplarisch dargestellt.

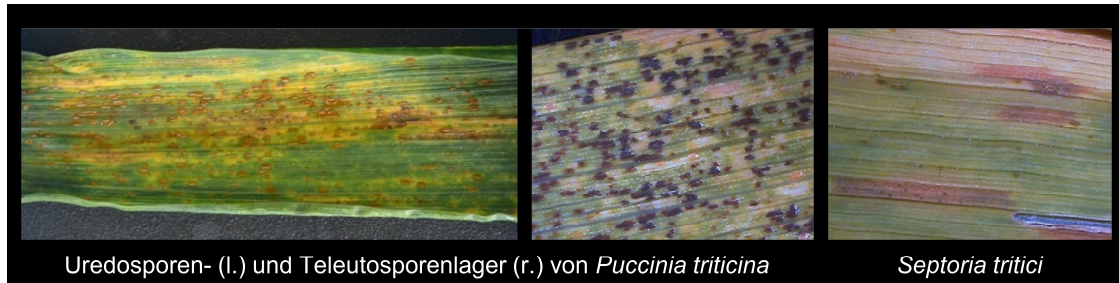
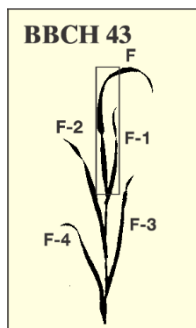


Abb. 15: Detektierte Blattkrankheiten auf Weizenblättern von Freilandversuchen (6,7-fache Vergrößerung) (Quelle: eigenes Bildmaterial).



Für die Evaluierung wurde pro Behandlungsschlag eine repräsentative Anzahl von Blättern ($n = 44-700$ / Prüfglied) aus unterschiedlichen Stellen und Bereichen des Bestandes entnommen (meist die Blattetagen Fahnenblatt [F] bis F-2 [2. Blatt unter F]; Abb. 16) und auf einer Skala von 0 % bis 100 % auf die genannten Krankheitssymptome bonitiert (Pusteln / Blattfläche; Abb. 17).

Abb. 16: Blattetagen im Wachstumsstadium 43 am Beispiel Weizen (Quelle: LfL, 2005).

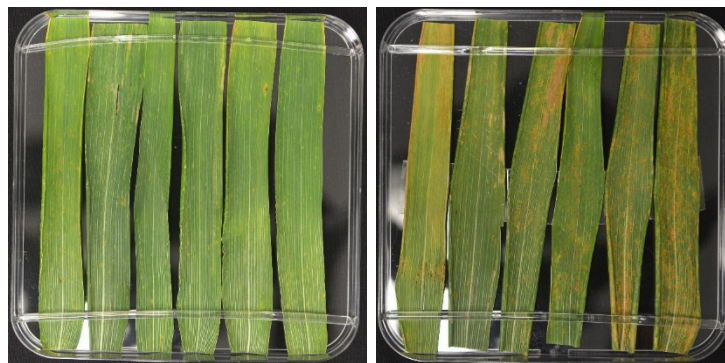


Abb. 17: Boniturstufen bei der Boniturierung auf Braunrostbefall in Weizen (l.: Boniturstufe 0 = 0 % Befall, r.: Boniturstufen 0-10-50-90-100 [von l. nach r.] = 0-100 % Befall) (Quelle: eigenes Bildmaterial).

Zur Ermittlung der Dauerwirkung wurde z.T. zu einem späteren Zeitpunkt eine zweite Bonitur durchgeführt. In Anlage 11 sind alle relevanten Daten der einzelnen Freilandversuche aufgeführt.

3.2.7 Statistische Auswertung der Versuche

Für die statistische Bewertung der Daten wurde die Statistiksoftware SigmaPlot (Version 13.0) genutzt (Systat Software, Inc., San José, Kalifornien, USA).

Der am häufigsten eingesetzte Analysetest zum Vergleich vieler Gruppen bzw. zur Bestimmung von Unterschieden zwischen mehreren Behandlungsgruppen (> 2) war die Einweg-Varianzanalyse (engl. One Way analysis of variance [ANOVA]). Wenn der Shapiro-Wilk-Test

auf Normalverteilung und der Brown-Forsythe-Test auf gleiche Varianz (SD) bestanden wurden ($P > 0,050$), erfolgte die Analyse auf Basis der Mittelwerte (SD , SEM ; → Ermittlung der Beeinflussung der Mittelwerte durch einen einzelnen Faktor [z.B. Wasser-/Extraktbehandlung]). Bei nicht normalverteilten Werten und/oder gescheitertem Brown-Forsythe-Test basierte die Analyse auf den entsprechenden Medianen (Kruskal-Wallis ANOVA an Rängen [25 %, 75 %]). Im Folgenden konnte, abhängig von den Beobachtungen und je nach Anforderung, zwischen verschiedenen Methoden gewählt werden (Post-hoc-Tests zur Ermittlung der spezifischen Unterschiede zwischen Gruppen). Sollten die Behandlungsgruppen ausschließlich mit ihrer Kontrollgruppe verglichen werden, wurde hierfür der Dunnett-Test (bei ≥ 6 Beobachtungen) oder ggf. der Dunn-Test genutzt (bei verschiedenen Probengrößen). Orientierte sich die Fragestellung an Unterschieden zwischen allen Gruppen, folgten paarweise Vergleichstests jeder Kombination der Gruppenpaare, wie der hierfür empfohlene Holm-Sidak-Test (Basis: Mittelwerte) oder der Tukey- bzw. Dunn-Test (Basis: Mediane).

Unterschiede in den Mittel- bzw. Medianwerten von $P < 0,050$ (vom Test berechneter P -Wert kleiner als eingestellter P -Wert) wurden als statistisch signifikant eingestuft (Wahrscheinlichkeit des falschen Schlusses eines signifikanten Unterschieds $< 5\%$). Das Ergebnis „Do Not Test“ in der Softwareanalyse entsprach dabei einem nicht signifikanten Resultat.

Sollten lediglich zwei experimentelle Behandlungen miteinander verglichen werden, erfolgte ein ungepaarter t-Test. Bei nicht normalverteilten Werten oder gescheitertem Brown-Forsythe-Test basierte die Analyse auf den entsprechenden Medianen (Mann-Whitney-Rangsummentest) (SigmaPlot, 2010).

Die Anzahl technischer und biologischer Replikate variierte in Abhängigkeit vom Testsystem (siehe Kap. 3.2).

4 Ergebnisse

4.1 Ernte-, Extraktions- und Fraktionierungsdaten

Im Rahmen der Ernte und Extraktion des Wurzelmaterials der einzelnen *Rheum/Rumex*-Genotypen (GTs) fiel auf, dass sich diese sowohl in der Wurzel- als auch, z.T. recht deutlich, in ihren Ausbeuten an polyphenolhaltigen Extrakten unterschieden. Die GTs 05, 11, 23, 29, 35 und 36 (u.a.) produzierten eine relativ geringe unterirdische Biomasse. Dies spiegelte sich bei GT05, GT11 sowie GT23 auch in der Ausbeute an Ethylacetat (EtOAc)-Phase wieder, bei den GTs 29 und 35 jedoch nicht. Die Extraktion des Wurzelmaterials aus GT36 lieferte bzgl. beider Erntetermine eine beinahe doppelt so hohe Ausbeute an Wasser (H₂O)-Phase. Die höchste Ausbeute an EtOAc-Phase lieferte die Extraktion der Wurzeln des GT02, die 2012 geerntet wurden (im Folgenden als Erntejahr 2012 [E12] angegeben). Die Ernte- und Extraktionsdaten der betreffenden GTs können der Anlage 12 sowie Tab. 16 entnommen werden. Auswirkungen der zeitlichen Abstände zwischen Ernte und Extraktion auf die Ausbeuten waren nicht zwingend feststellbar (Bsp.: GT02 E09 nach vier Jahren = 7,08 % EtOAc-Phase / GT36 E09 nach vier Jahren = 4,46 % EtOAc-Phase, GT10 E14 direkt = 8,75 % EtOAc-Phase / GT30 nach zwei Monaten = 5,67 % EtOAc-Phase).

Tab. 16: Extraktionsdaten des Wurzelmaterials der verwendeten *Rheum/Rumex*-Genotypen.

Genotyp (GT) Erntejahr (E)	Ethylacetat-Phase			Wasser-Phase	
	(Ø) Mahlgut / Extraktion	(Ø) Extrakt- menge	Ausbeute ¹	(Ø) Extrakt- menge	Ausbeute ¹
	[g]	[g]	[%]	[g]	[%]
GT02 E09	1.010	71,51	7,08	54,71	5,40
GT02 E12	1.128	157,18	13,94	86,82	7,70
GT05 E09	1.010	29,32	2,90	37,86	3,76
GT10 E12	1.015	50,10	4,94	32,57	3,20
GT10 E14	1.075	94,02	8,75	65,49	6,11
GT11 E12	1.064	36,14	3,40	76,23	7,16
GT14 E12	1.325	63,46	4,79	71,83	5,42
GT23 E12	762	32,58	4,28	43,41	5,70
GT24 E12	972	100,16	10,31	*	*
GT29 E12	1.117	138,29	12,39	65,42	5,86
GT30 E12	1.170	66,30	5,67	75,41	6,45
GT32 E12	784	66,24	8,45	66,52	8,48
GT35 E12	789	59,51	7,54	30,46	3,86
GT36 E09	896	39,85	4,46	64,14	7,19
GT36 E12	708	48,69	6,88	87,31	12,33

Anmerkungen: *Der wässrige Extrakt des GT24 ließ sich auch bei wiederholter Verdampfung des Lösungsmittels nicht einfrieren und musste aus diesem Grund verworfen werden.

$$^1\text{Ausbeute [\%]} = \frac{\text{Masse (m) Lyophilisat} \cdot 100}{\text{m Mahlgut}}$$

Hinsichtlich des GT10 E14 konnte aus 13 Wurzeln, die nach einer Kultivierungsdauer von acht Jahren gewonnen wurden, und etwa 18,24 kg wasserfreiem Mahlgut eine durchschnittliche Ausbeute von 8,75 % EtOAc-Phase erzielt werden. Das Erntegewicht betrug dabei in der Summe 104,54 kg (vor Reinigung inkl. Erdmaterial). Die Schnitzel-Frischmasse (FM) belief sich auf 87,56 kg (nach Reinigung inkl. Wasser), welche sich nach einer Trocknungsdauer von 3 d bis 6 d auf 18,28 kg Schnitzel-Trockenmasse reduzierte. Die Abb. 18 zeigt die erhaltenen Extrakt-Phasen exemplarisch.



Abb. 18: Geerntete Wurzel von *Rheum rhabarbarum* L. 'The Sutton' (Genotyp 10) nach einer Kultivierungsdauer von vier Jahren, zerkleinerte Wurzelstückchen vor der Trocknung sowie Ethylacetat (EtOAc)- und Wasser (H₂O)-Phase des Genotyps 10 Erntejahr 2014.

Die Fraktionierung der EtOAc-Phase des GT10 E14 erforderte in insgesamt 54 HPLC-Läufen einen Bedarf an Methanol von etwa 1.138 ml pro Lauf. Die Ausbeuten der einzelnen Fraktionen (Frks) variierten zwischen 4,93 % (Frk 10) und 15,51 % (Frk 4). Die höchsten Ausbeuten konnten dabei unter den zuerst eluierenden Verbindungen verzeichnet werden (Frks 1-4), in denen von allen hier relevanten Polyphenolgruppen mindestens ein Vertreter enthalten war (Näheres siehe Kap. 4.2.2).

4.2 Analytische Inhaltsstoffcharakterisierung

4.2.1 LC-MS-Analytik der Gesamtextrakte

4.2.1.1 Quantitative Bestimmung von Polyphenolen

In Abb. 19 sind die basierend auf der Kalibration der polyphenolischen Standardsubstanzen erfassten Procyanidine, Catechine, Stilbene und Phenolcarbonsäuren dargestellt, die in den EtOAc-Phasen der betrachteten *Rheum/Rumex*-Wurzelextrakte quantitativ bestimmt wurden. Die tabellarisch erfassten Gehalte in mg/g Extrakt können der Anlage 13 entnommen werden.

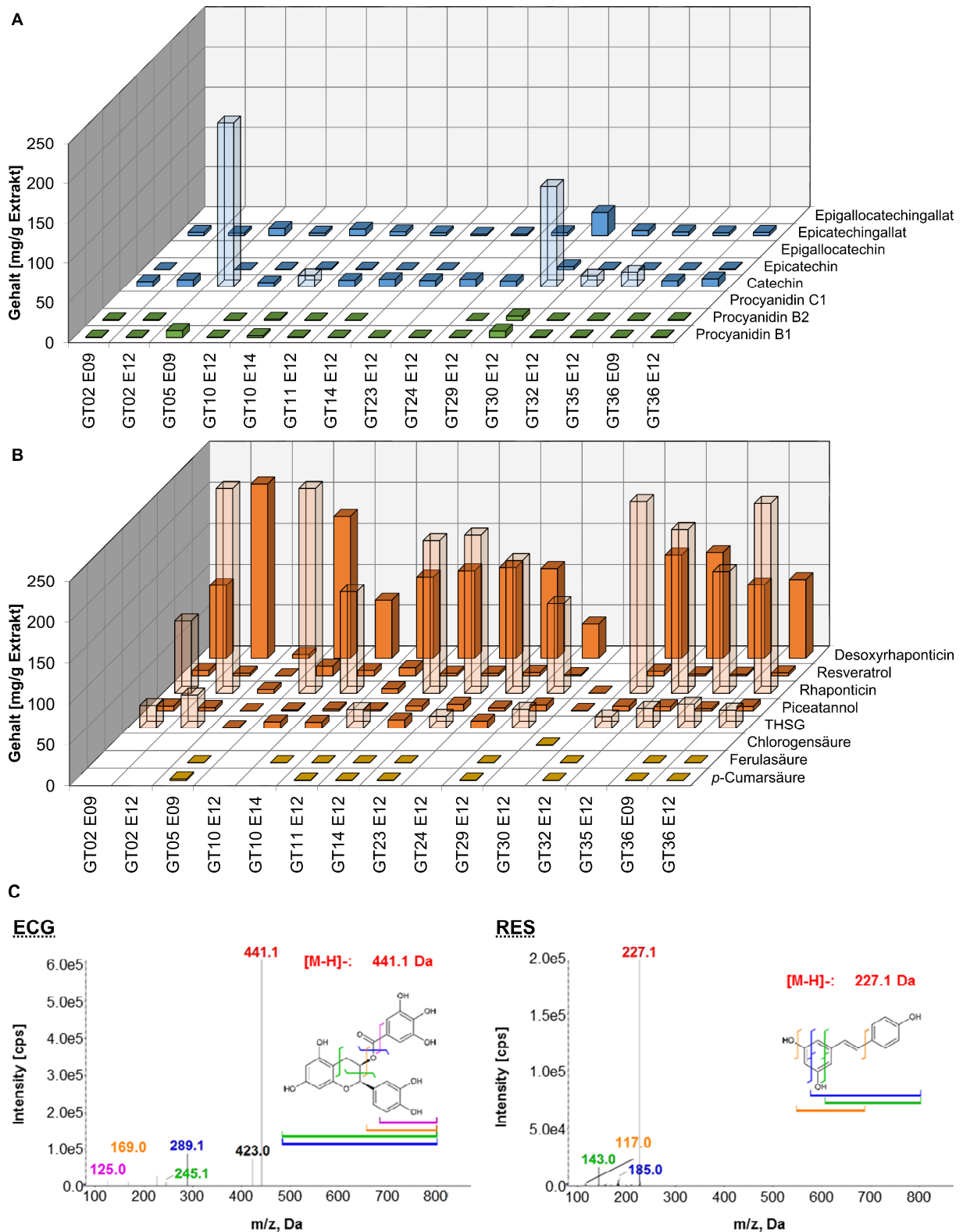


Abb. 19: LC-MS-Analysen von Polyphenolen in den *Rheum/Rumex*-Wurzelextrakten (Quantifizierung) und repräsentative MS-Spektren. A, B) Quantifizierung von Procyanidinen und Catechinen (A) sowie Stilbenen und Phenolsäuren (B) in den analysierten *Rheum/Rumex*-Wurzelextrakten (Ethylacetat-Phasen; n = 2; GT = Genotyp, E = Erntejahr, THSG = 3,4',5-Trihydroxystilben-3-O- β -D-glucosid/-glucopyranosid [Piceid]). C) Repräsentative MS-Spektren von Epicatechingallat (ECG) und Resveratrol (RES) (Identifikation anhand des Quasimoleküllions [(M-H)⁻; Rot markiert] und verschiedener Fragmente [koloriert]; cps = „counts per second“, m/z = Masse-zu-Ladungsverhältnis, Da = Dalton).

Gemessen an den aufsummierten Quantifizierungswerten wiesen die Extrakte des GT05 und des GT30 auffällig höhere Mengen an Procyanidinen (8,67 / 13,32 mg/g Extrakt) und Catechinen (215,01 / 158,28 mg/g Extrakt) als die übrigen Extrakte auf (Abb. 19 A). Hinsichtlich der Summen an Stilbenkomponenten (Abb. 19 B) lag der entgegengesetzte Fall vor (10,27 / 0,44 versus [vs.] ca. 139-526 mg/g Extrakt bzgl. der übrigen Extrakte). Die in den Extrakten nur z.T. und zudem in geringen Mengen (0,06-0,71 mg/g Extrakt) erfassten Phenolsäureverbindungen ließen außer eines mit 2,08 mg/g Extrakt leicht erhöhten Anteils im GT05 keine differenzierenden Aussagen zu.

Bei den Gesamtextrakten des GT02 E12, des GT05 und des GT10 E14 wurden auch die H₂O-Phasen analysiert (siehe Anlage 14). Da die polyphenolischen Inhaltsstoffe der Wurzeln in der EtOAc-Phase aufkonzentriert waren, fielen die Gehalte der quantitativ bestimmbaren Polyphenole vergleichsweise gering aus (0,06-2,38 mg/g Extrakt). Die einzige Ausnahme bildete die H₂O-Phase des GT10 E14 mit 41,01 mg/g Rhaponticin (RHA), welches jedoch in der EtOAc-Phase des betreffenden Extraktes mit 123,91 mg/g höher konzentriert vorlag.

Die Diagramme der Abb. 19 (A, B) zeigen, dass sich die Inhaltsstoffspektren der Extrakte (EtOAc-Phasen) der GTs 02 und 10 nur unwesentlich voneinander unterschieden. Ihr Kontrast gegenüber den Extrakten der GTs 05 sowie 30 äußerte sich v.a. durch deren hohen Gehalt an Catechin (GT05: 205,83 / GT30: 125,62 mg/g Extrakt) und Epicatechingallat (ECG; GT30: 28,94 mg/g Extrakt; Abb. 19 C). Epigallocatechin und Epigallocatechingallat wie auch das Procyanidin (PRO) C1 konnten in keinem der Extrakte nachgewiesen werden (quantitativ: < Bestimmungsgrenze / qualitativ: < Bestätigungsgrenze EPI [„enhanced product ion“]). Der Gehalt an PRO B1 wiederum lag in den Extrakten des GT05 sowie GT30 etwa sechs- bis neunmal höher als in den übrigen Extrakten. Berücksichtigt man die beiden Erntejahre des GT10-Wurzelmaterials, fällt auf, dass im Falle des später gewonnenen GT10 E14-Extraktes die Gehalte an Catechin und ECG beinahe zwei- bis dreimal höher ausfielen. Demgegenüber enthielt der Extrakt des GT10 E12 etwa doppelt so viel RHA, Resveratrol (RES; Abb. 19 C) sowie Desoxyrhaponticin (DRHA) – neben 3,4',5-Trihydroxystilben-3-O-β-D-glucosid/-glucopyranosid (THSG) bzw. Piceid die Hauptkomponenten beider Extrakte. Während die EtOAc-Phasen des GT05 und des GT30 wenig bzw. kein nachweisbares/erfassbares THSG aufzeigten, war dieser Inhaltsstoff in den Extrakten des GT02 und dem des GT36 E09 stärker präsent (27,74-40,51 mg/g Extrakt). Ähnliche Resultate lagen hinsichtlich der Hauptkomponenten RHA sowie DRHA vor. Während diese in den GT05- und GT30-Extrakten kaum gefunden werden konnten, lagen sie in den übrigen Proben vergleichsweise hoch konzentriert vor, oftmals im dreistelligen Bereich. RES war mit 11,74 mg/g bis 9,76 mg/g Extrakt vorrangig im GT10 E12- sowie im GT11-Extrakt enthalten. Mit 0,41 mg/g enthielt der Extrakt des GT30 als einziger nachweisbar bzw. erfassbar Chlorogensäure und der des GT05 eine im Vergleich höhere Menge an *p*-Cumarsäure (1,82 mg/g Extrakt).

4.2.1.2 Semiquantitative Bestimmung der Inhaltsstoffe

4.2.1.2.1 Flavan-3-ole und Stilbene

Semiquantitativ über die genutzten Standards hinaus identifizierbare Flavan-3-ol-Komponenten waren lediglich in den Extrakten der GTs 05 sowie 30 gegeben. Bei diesen handelte es sich, im Falle des GT05-Extraktes, um ein monogalloyliertes Procyanidin-Dimer (25.845 Peakflächeneinheiten [engl. peak area units {PAU}]) und ein Procyanidin-Trimer (35.895 PAU). Das monogalloylierte Procyanidin-Dimer war zu 39.343 PAU auch in der EtOAc-Phase des GT30 enthalten, welcher zudem Procyanidin- (53.833 PAU) und Epicatechingallat- (94.862 PAU) Dimere enthielt.

Hinsichtlich der Stilben-Komponenten in Abb. 20 (siehe auch Anlage 15) war auch hier das Verhältnis umgekehrt. Diese nahmen bei den übrigen Extrakten etwa 56 % bis 87 % der jeweiligen Gesamtpeakfläche ein.

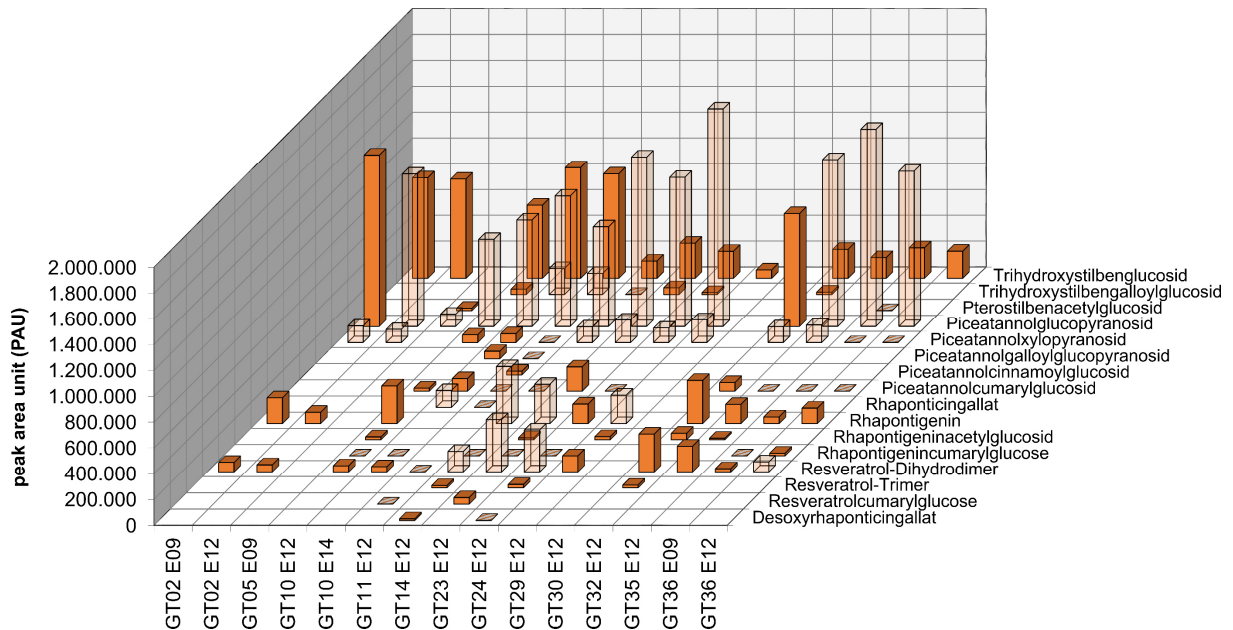


Abb. 20: Peakflächeneinheiten identifizierter Stilbene in den analysierten *Rheum/Rumex*-Wurzelextrakten (Ethylacetat-Phasen; n = 2; bezogen auf 1 mg Extrakt; PAU = engl. peak area units [Peakflächeneinheiten], GT = Genotyp, E = Erntejahr).

Während der Extrakt des GT30 keine weiteren Substanzen aus der Stilben-Gruppe enthielt, wies der des GT05 mit Pterostilbenacetylglucosid und Piceatannolglucopyranosid lediglich zwei weitere Stilben-Komponenten in geringeren Konzentrationen auf (ca. 18.000-98.000 PAU). Piceatannolglucopyranosid war in beiden GT10-Extrakten, ähnlich wie bei denen des GT14 sowie GT32, deutlich höher konzentriert (676.266 bzw. 826.835 PAU). Noch höher konzentriert lag dieser Inhaltsstoff jedoch in den GT02- wie auch GT36-Extrakten und den EtOAc-Phasen des GT11, GT23, GT24, GT35 sowie insbesondere des GT29 vor (1,0-1,7 Millionen PAU). Bei den Extraktproben des GT02, GT10, GT11 und GT36 bildete ein THSG den semiquantitativ an zweiter Stelle vorkommenden Inhaltsstoff, welcher nicht der verwendeten Standardsubstanz, sondern einem unmittelbar vorher eluierenden Isomer entsprach. In den Extrakten des GT14, GT29 und GT32 war Rhapontigenin der semiquantitativ an zweiter Stelle vorkommende Inhaltsstoff (440.746 / 219.393 / 332.978 PAU). In den Extrakten des GT23, GT24 und GT35 handelte es sich dabei um Resveratrol-Dihydrodimer (405.807 / 326.530 / 200.210 PAU). Piceatannolgalloylglucopyranosid (57.843 PAU) und Rhaponticingallat (129.991 PAU) lagen so nur in der EtOAc-Phase des GT10 E14 vor. Im Vergleich dieser mit der des GT10 E12 lagen die Werte des GT10 E14 bzgl. der in beiden Extrakten vorkommenden Verbindungen mit Ausnahme des Resveratrol-Dihydrodimers stets höher. Die im Diagramm der Abb. 20 angezeigten schraffierten Flächen symbolisieren die Detektion von Peaks ko-eluierender Verbindungen. Aufgrund der Peak-Überlagerungen war eine separate semiquantitative Auswertung hier nicht möglich. In Anlage 16 sind die mit den in Abb. 20 angegebenen ko-eluierenden Stilben-Komponenten aufgeschlüsselt.

4.2.1.2.2 Weitere identifizierte Verbindungen

Neben den in die Gruppen der Polyphenolstandards eingruppierbaren Substanzen konnten in den Extrakten (außer GT14 und GT32) weitere Inhaltsstoffe identifiziert werden (Abb. 21, siehe auch Anlage 17).

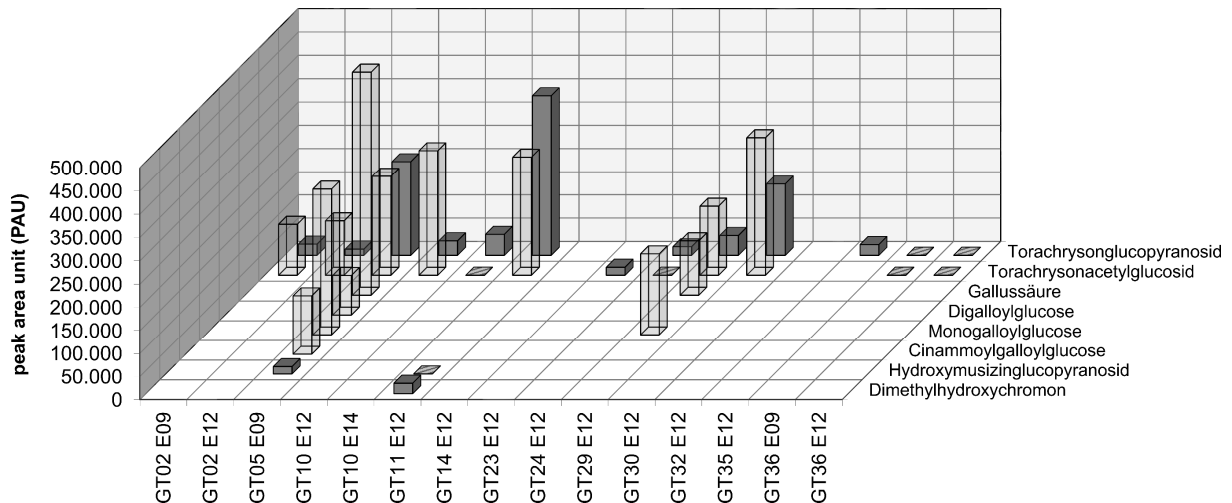


Abb. 21: Peakflächeneinheiten weiterer identifizierter Inhaltsstoffe in den analysierten *Rheum/Rumex*-Wurzelextrakten (Ethylacetat-Phasen; n = 2; bezogen auf 1 mg Extrakt; PAU = engl. peak area units [Peakflächeneinheiten], GT = Genotyp, E = Erntejahr).

Bei diesen Inhaltsstoffen handelte es sich insbesondere um Torachrysonacetylglucosid und Torachrysonglucopyranosid. Die EtOAc-Phase des GT05 verfügte darüber hinaus über fünf zusätzliche Inhaltsstoffe – v.a. Gallussäure (479.200 PAU) sowie Monogalloylglucose. Wie bereits bei den Stilben-Verbindungen traten auch hier Ko-Elutionen auf (siehe Anlage 18).

Obwohl durch das Laborextraktionsverfahren weitestgehend abgetrennt, enthielten die EtOAc-Phasen auch und meist glucosylierte Anthrachinone (siehe Anlage 19), mit der höchsten Peakflächensumme (924.095 PAU) v.a. die EtOAc-Phase des GT05. Gemessen an den Peakflächen aller analysierten Extrakte waren insbesondere Chrysophanol- und Emodinmonoglucosid stark vertreten. Allgemein machten die Anthrachinone jedoch im Mittel lediglich 16 % der jeweiligen Gesamtpeakfläche aus, mit 10 % bis 7 % den geringsten Anteil in den EtOAc-Phasen der GTs 02 E12, 23 sowie 30. In den Extrakten des GT10 E12 und GT10 E14 lagen die Werte bei 26 % (742.878 PAU) bzw. 15 % (465.260 PAU).

Bis auf den Extrakt des GT05 wiesen alle EtOAc-Phasen zudem ein bis vier unbekannte Massen auf (vier in GT30), welche vernachlässigt wurden (Anteil an Gesamtpeakfläche = Ø ca. 5 %, vorrangig wegen des mit 56 % hohen Anteils in GT30).

4.2.2 LC-MS-Analytik von Fraktionen aus *Rheum rhabarbarum* 'The Sutton'

4.2.2.1 Quantitative Bestimmung von Polyphenolen

In Abb. 22 ist das Chromatogramm der mittels präparativer HPLC in 10 Frks separierten EtOAc-Phase des GT10 E14 dargestellt. Wie sich anhand der LC-MS-Analytik ergab, enthielten die zu Beginn eluierenden Frks 1 und 2 v.a. Flavan-3-ole, die Frks 3 bis 8 vorrangig Stilbene, wobei Frk 8, wenn auch nur in Spuren, zudem Anthrachinone aufwies. Frk 9 und Frk 10 wiederum enthielten hauptsächlich Anthrachinone.

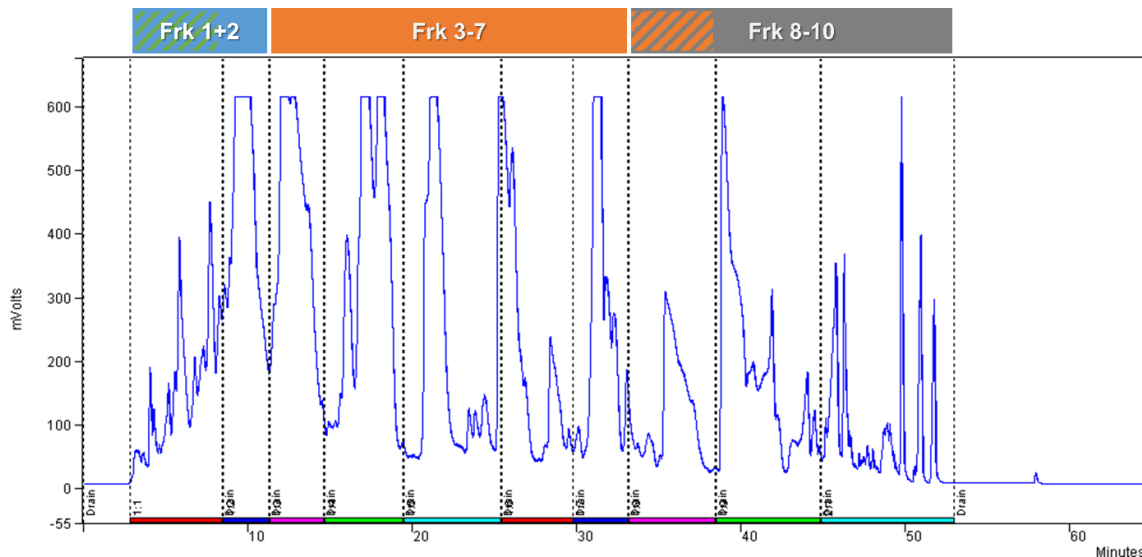


Abb. 22: Chromatogramm der mittels präparativer HPLC in 10 Fraktionen (Frks) separierten Ethylacetat-Phase des Genotyps 10 Erntejahr 2014.

Die Verteilung der quantitativ erfassten Komponenten in den Frks des GT10 E14-Extraktes ist in Abb. 23 dargestellt (siehe auch Anlage 20). Die Frk 7 erwies sich als diejenige Frk mit dem allgemein höchsten Anteil an Polyphenolen (ca. 927 mg/g Frk), während Frk 6 den diesbezüglich geringsten Anteil zeigte (1,95 mg/g Frk). Frk 1 und Frk 4 bildeten die nachweislich einzigen Frks mit Procyanidin- (30,67 mg/g Frk 1) bzw. Phenolsäure- (2,04 mg/g Frk 4) Anteilen. Die Frks 8 bis 10 enthielten keine der Standardsubstanzen.

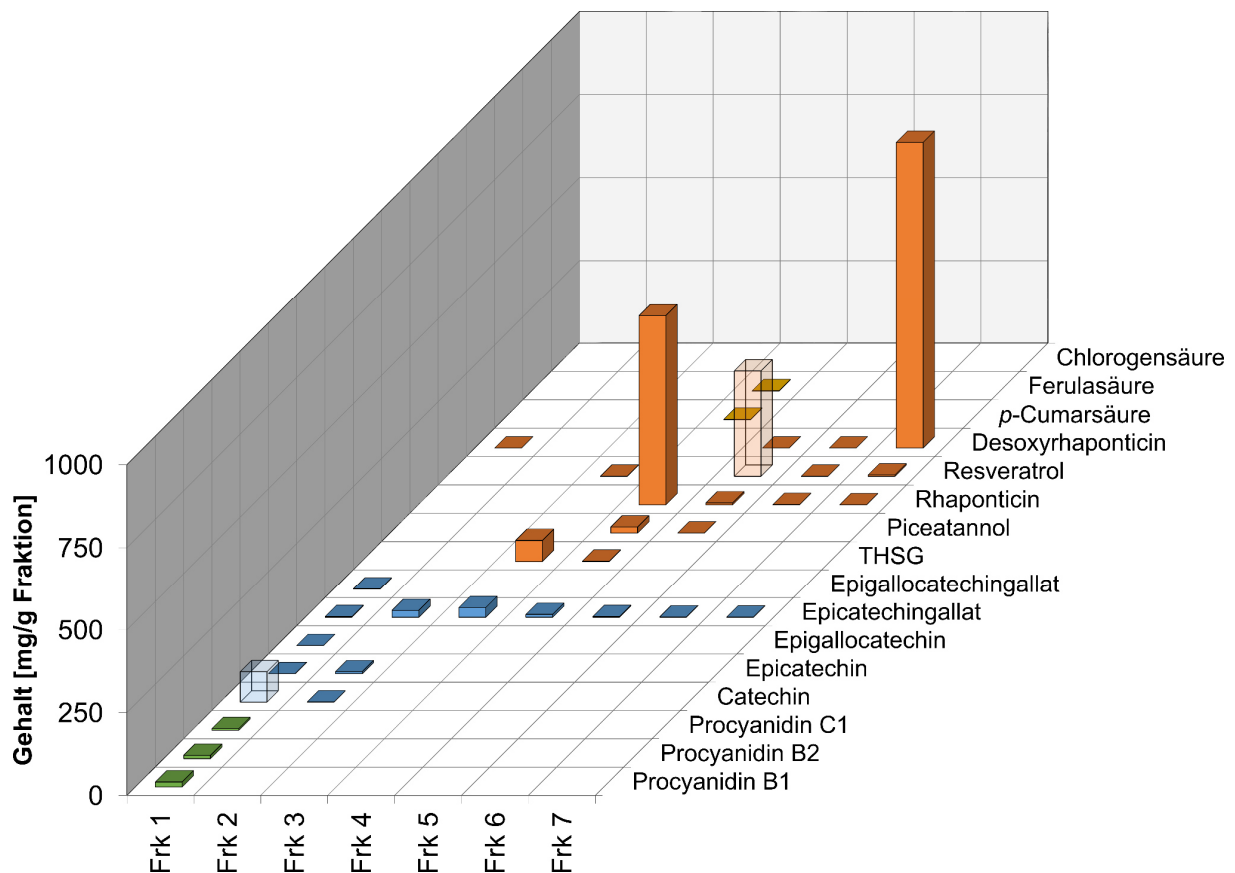


Abb. 23: Quantifizierung von Procyanidinen und Catechinen sowie Stilbenen und Phenolsäuren in Fraktionen (Frks) der Ethylacetat-Phase des Genotyps 10 Erntejahr 2014 (n = 2; THSG = 3,4',5-Trihydroxystilben-3-O- β -D-glucosid/-glucopyranosid [Piceid]).

In Frk 1 dominierte unter den hier bestimmten Flavan-3-olen mit 91,83 mg/g das Catechin. Das nachgewiesen einzig auftretende Stilben DRHA war nur gering konzentriert (0,10 mg/g Frk 1). ECG trat in allen in Abb. 23 berücksichtigten Frks auf, in höheren Gehalten v.a. in Frk 2 und Frk 3 (21,01 bzw. 29,55 mg/g Frk). In Frk 5 lag als Stilben das RES mit 317,15 mg/g recht hoch konzentriert vor. Hohe Gehalte an RHA und DRHA fanden sich in den Frk 4 (569,07 mg/g Frk) bzw. Frk 7 (922,28 mg/g Frk). Gehalte im zweistelligen Bereich waren in den Frk 3 sowie 4 durch das THSG (Frk 3: 63,09 mg/g) und Piceatannol (Frk 4: 18,31 mg/g) gegeben. Insgesamt betrachtet lagen die Stilbene (außer in den Frks 1, 2 und 6) in vergleichsweise größeren Mengen vor (vgl. Kap. 4.2.1.1).

4.2.2.2 Semiquantitative Bestimmung der Inhaltsstoffe

4.2.2.2.1 Flavan-3-ole, Phenolsäurederivate und Stilbene

Semiquantitativ über die genutzten Polyphenolstandards hinaus identifizierbare Flavan-3-ol-Verbindungen oder Phenolsäurederivate konnten mit Ausnahme von Cumaryl-galloylglucose in Frk 4 (70.685 PAU) nur in Frk 1 nachgewiesen werden, welche in Tab. 17 gelistet sind (vorrangig Epicatechingallat-Dimer, monogalloyliertes Procyanidin-Dimer und Di-O-galloylglucose).

Tab. 17: Peakflächeneinheiten identifizierter Flavan-3-ole und Phenolsäurederivate in Fraktion 1 der Ethylacetat-Phase des Genotyps 10 Erntejahr 2014.

	Peakflächensumme [PAU bezogen auf 1 mg Frk]	Peakflächen [PAU bezogen auf 1 mg Frk]
Procyanidin-Dimer	183.900	
Procyanidin-Trimer	143.565	37.115
		42.075
		64.375
Procyanidin-Pentamer	49.245	
Procyanidin-Dimer, monogalloyliert	524.050	348.350
		175.700
Catechinglucosid	71.415	
Epicatechingallat-Dimer	540.900	
Monogalloylglucose	123.090	66.210
		56.880
Di-O-galloylglucose*	243.635	165.350
		78.285
Gallussäure	64.595	

Anmerkungen: PAU = engl. peak area units (Peakflächeneinheiten), Frk = Fraktion;
 *zu 301.869 PAU auch in Frk 8 enthalten; n = 2;
 Procyanidin-Trimer, Procyanidin-Dimer (monogalloyliert), Monogalloylglucose und Di-O-galloylglucose waren mehrfach nachweisbar (Isomere).

Die Frk 1 und 2 wiesen lediglich drei weitere Stilben-Komponenten auf: ein oxidiertes Resveratrol-Dimer in Frk 1 (103.700 PAU) sowie Piceatannolglucopyranosid und einen mit über 2,7 Millionen PAU besonders hohen Gehalt an Trihydroxystilbenglucosid in Frk 2. In Abb. 24 werden die identifizierten Stilbene in den GT10-Frks dargestellt (siehe auch Anlage 21). Auffällig waren äußerst hohe PAU der Stilben-Verbindungen Piceatannolglucopyranosid in Frk 3 (ca. 2,5 Millionen PAU), THS-galloylglucosid in Frk 4 (ca. 1,5 Millionen PAU), Rhaponticingallat in Frk 5 (ca. 1,8 Millionen PAU) und Resveratrol-Dihydrodimer (ca. 2,2 Millionen PAU [mit ca. 2,6 Millionen PAU auch in Frk 8 stark vertreten]) wie auch Rhapontigenin (ca. 2,6 Millionen PAU) in Frk 6.

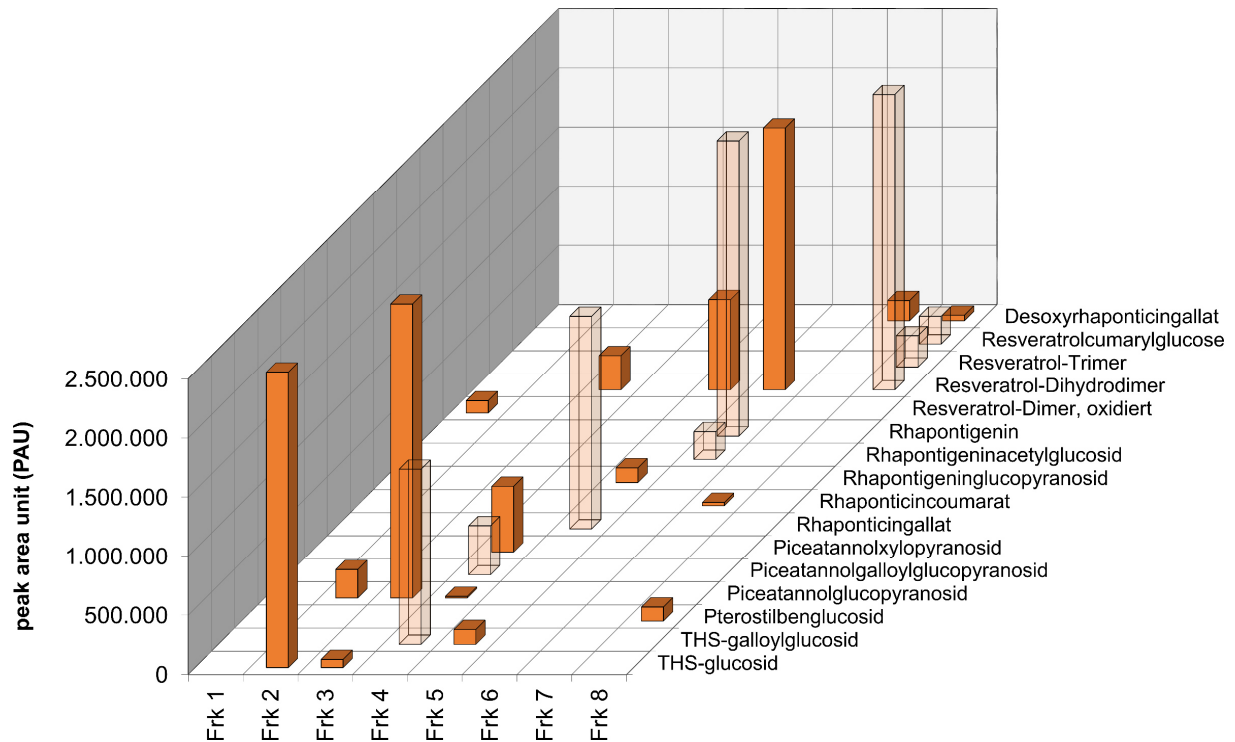


Abb. 24: Peakflächeneinheiten identifizierter Stilbene in Fraktionen (Frks) der Ethylacetat-Phase des Genotyps 10 Erntejahr 2014 (n = 2; bezogen auf 1 mg Frk; PAU = engl. peak area units [Peakflächeneinheiten], THS = Trihydroxystilben).

Rhaponticingallat in Frk 5 (143.022 + 1.655.623 PAU) und Resveratrol-Dihydrodimer in Frk 6 (1.053.045 + 1.164.538 PAU) waren mehrfach nachweisbar (Isomere), sodass die in Abb. 24 angegebenen Peakflächenwerte aus der jeweiligen Summe resultieren.

4.2.2.2 Weitere identifizierte Verbindungen

Weitere qualitativ bestimmbare Inhaltsstoffe der einzelnen Frks (bezogen auf 1 mg Frk) waren Sennosid (einfach glykosyliert) in Frk 5 (88.138 PAU), Torachrysonacetylglucosid (Naphtholglucosid) und ein Dimer aus Aloeemodin/Emodin in Frk 6 (64.337 / 198.625 PAU), Aloeemodinmonoglucosid in Frk 7 (752.286 PAU) sowie Emodin (Aglykon) in Frk 8 (85.556 PAU), d.h. überwiegend glucosylierte Anthrachinone. Die Frk 8 enthielt des Weiteren u.a. die ko-eluierenden Verbindungen Torachrysonglucopyranosid und Desoxyrhapontigeninacetylglucosid (925.280 PAU) sowie zu etwa einem Drittel eine Anreicherung unbekannter oder nicht eindeutig identifizierbarer Substanzen.

Frk 9 und Frk 10 wiederum enthielten im Wesentlichen Anthrachinone (weder Standard- noch weitere identifizierbare Verbindungen). Da diese Frks im Rahmen der vorliegenden Arbeit bis auf eine Ausnahme nicht in die funktionelle Testung einbezogen worden sind, soll lediglich Anlage 22 einen Überblick über die betreffenden Inhaltsstoffe vermitteln.

4.3 Antifungale Wirksamkeit der Gesamtextrakte *in vitro* (Mycelwachstumstests)

Die aus den Wurzeln der einzelnen *Rheum/Rumex*-GTs gewonnenen Gesamtextrakte unterschieden sich wegen der Aufkonzentrierung von Polyphenolen in der EtOAc-Phase deutlich in ihrer Aktivität gegenüber den in Kap. 3.1.4 gelisteten Phytopathogenen. Gegenüber den pathogenen Pilzen *Bipolaris sorokiniana*, *Botrytis cinerea*, *Rhizoctonia solani*, *R. zaeae*, *Sclerotinia sclerotiorum* sowie *Thielaviopsis basicola* zeigten jedoch weder die H₂O- noch die EtOAc-Phasen aller getesteten Extrakte eine nach interner Regel (siehe Kap. 3.2.3) ausreichende Wirksamkeit. Dennoch lagen die durch die EtOAc-Phasen verursachten Wachstumswerte (relatives Wachstum im Vergleich zur Kontrolle) stets gleich oder niedriger als die der H₂O-Phasen (siehe Anlage 23).

Wasser-Phasen: Gegenüber den übrigen Erregern waren meist nur die EtOAc-Phasen ausreichend wirksam. Mittels der H₂O-Phasen konnten i.d.R. lediglich Wachstumswerte von weit über 50 % erreicht werden (siehe Anlage 24). Die H₂O-Phasen des GT02 E09 und des GT10 E14 bewirkten gegenüber der *Fusarium*-Spezies *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* (FOL race 2) dagegen selbst bei 500 ppm Einsatzkonzentration Wachstumswerte von Ø 41 bzw. 45 % (Bildmaterial siehe Anlage 25). Über 7 d hinaus konnte aber keine dauerhafte Teilhemmung beobachtet werden (GT10 E14). Ähnlich verhielt es sich bei der H₂O-Phase des GT30 gegenüber dem *Phytophthora capsici*-Isolat LT1534 (500 ppm: Ø 48 % rel. Wachstum). Die H₂O-Phasen des GT05 und des GT11 erzielten gegenüber *Venturia inaequalis* bei 500 ppm nach 21 d Wachstumswerte von Ø 47 bzw. 36 %. Die Wirkung der H₂O-Phase des GT11 bei 1000 ppm (Ø 25 % rel. Wachstum) ließ sich bestätigend reproduzieren (nach 21 d Ø 20 % rel. Wachstum, *SD* = 0,50; *n* = 4).

Ethylacetat-Phasen: Im Folgenden soll zunächst auf die Ergebnisse der Mycelwachstumstests (MWTs) bei 1000 ppm-Dosierungen der EtOAc-Phasen eingegangen werden (Primärscreening 1. Stufe). Hierfür sind in Tab. 18 die Daten aller Extrakte gegen die nicht bereits entfallenen Phytopathogene aufgetragen. Die Wachstumswerte von *F. graminearum* sind ausgeschlossen, da hier lediglich die EtOAc-Phasen des GT02 E12 (Ø 44 % rel. Wachstum), GT24 (Ø 42 %), GT29 (Ø 41 %, 500 ppm: Ø 48 %) und des GT35 (Ø 38 %, 500 ppm: Ø 41 %) das interne Kriterium erzielen konnten.

Tab. 18: Relatives Wachstum nekrotropher und hemibiotropher Pilze und Oomyceten im Mycelwachstumstest mit *Rheum/Rumex*-Wurzelextrakten (Ethylacetat-Phasen, 1000 ppm-Dosierungen).

Genotyp (GT) Erntejahr (E)	<i>A. brassicicola</i>	<i>F. culmorum</i>	<i>F. oxysporum</i> (FOL race 2)	<i>M. oryzae</i> *	<i>P. capsici</i> (LT1534)	<i>P. capsici</i> (LT123)	<i>P. capsici</i> (LT263)	<i>V. inaequalis</i> **
GT02 E09	39	36	34	37	15	40	26	30
GT02 E12	37	32	29	24	43	41	22	35
GT05 E09	70	62	80	84	28	75	37	31
GT10 E12	17	19	27	19	16	9	14	0
GT10 E14	44	26	30	44	34	38	25	23
GT11 E12	37	70	49	54 ^b	45	67	61	23
GT14 E12	42	28	37	42	53 ^a	62	52 ^a	49
GT23 E12	36	19	34	13	40	35	16	21
GT24 E12	52 ^a	36	32	63	41	80	42	49
GT29 E12	36	32	30	30	46	52	29	37
GT30 E12	23	51	77	67	32	56	36	53
GT32 E12	41	35	35	43	52	61	58	46
GT35 E12	73	27	28	31	47	25	21	37
GT36 E09	37	21	36	27	51	32	15	19
GT36 E12	43	22	35	32	47	43	21	30

Anmerkungen: angegeben im prozentualen Vergleich zur Kontrolle; nach einer Inkubationsdauer von 7 d, *nach 14 d, **nach 21 d; Werte > 50 % basieren auf je einem technischen Replikate, Werte ≤ 50 % auf dem Mittelwert von je zwei biologischen Replikaten, ^aDoppelbestimmung, da Bestimmung I ≤ 50 %, ^bDoppelbestimmung, da 7 d-Werte ≤ 50 %; *A. brassicicola* = *Alternaria brassicicola*, *M. oryzae* = *Magnaporthe oryzae*; Während die Extrakte des GT11, GT14 und GT24 nennenswerte Effekte gegenüber (in der Reihenfolge) *Venturia inaequalis* (Ø 23 %; reproduzierbar [M 21 %, SD 2,00; n = 4]), *Fusarium culmorum* (Ø 28 %) sowie FOL race 2 (Ø 32 %) beobachten ließen, konnten durch die Ethylacetat-Phasen des GT36 (beide Erntejahre) sowohl gegenüber *F. culmorum* als auch dem *Phytophthora capsici*-Isolat LT263 Wachstumswerte von Ø < 25 % erzielt werden (Mehrfachbestimmungen siehe Anlage 26), wobei der E09-Extrakt im Allgemeinen meist bessere Wirkungen aufzeigte (Mehrfachbestimmung geg. *V. inaequalis* siehe Anlage 26).

Die MWTs zeigten bei 1000 ppm Anwendungskonzentration sowohl gegenüber dem nekrotrophen Pilz *Alternaria brassicicola* als auch gegenüber den übrigen, hemibiotrophen Phytopathogenen z.T. vergleichsweise starke antifungale Effekte der einzelnen Extrakte auf (siehe Tab. 18). Gemessen an der Anzahl von Erregern, deren Mycelwachstum ausreichend gehemmt wurde, zeigten die Extrakte des GT02 und GT10 aus beiden Erntejahren sowie die des GT23 und GT36 E12 eine 100 %ige Breitenwirksamkeit. Ähnlich, wenn auch leicht schwächer, bewiesen sich die EtOAc-Phasen der GTs 29, 35 sowie 36 E09 (88 % Breitenwirksamkeit). Die Extrakte des GT05 und des GT30 zeigten demgegenüber eine nur schwache Breitenwirksamkeit von je 38 % (ausreichende Wirksamkeit geg. drei von acht Pathogenen). Basierend auf den Mittelwerten der jeweiligen Wachstumsraten konnte bei dem Extrakt des GT10 E12 ein relatives Mycelwachstum der betreffenden Pathogene von durchschnittlich 15 % ermittelt werden. Nachgeordnet waren mit im Mittel 27, 30, 32 und 33 % die Extrakte der GTs 23, 36 E09, 02 E09 und E12 sowie mit durchschnittlich ebenfalls 33 % der des GT10 E14. Die Wachstumswerte der GT05- und GT30-Extrakte lagen dagegen erneut (fast) außerhalb der Bewertungsschwelle (Ø 58 bzw. 49 %). Die beiden zuletzt genannten

Extrakte zeigten jedoch Teilhemmungseffekte gegenüber dem Oomyceten *P. capsici* (mit $\bar{\phi}$ 30 % rel. Wachstum v.a. geg. LT1534).

Bei *A. brassicicola* bewirkte die EtOAc-Phase des GT30 einen durchschnittlichen Wachstumswert von unter 25 %, der sich in Nachfolgebestimmungen aber nicht reproduzieren ließ (M 53 % rel. Wachstum, SD 1,26; $n = 4$). Weiterführende Erläuterungen sind den Anmerkungen der Tab. 18 zu entnehmen.

Die Extrakte der **Genotypen 29 und 35** zeigten in Erstuntersuchungen gegenüber dem *P. capsici*-Isolat LT1534 bemerkenswerte Ergebnisse (Abb. 25). Durch die Einwirkung der EtOAc-Phasen kam es z.T. zum Absterben des Oomyceten und nur aus vitalen Stellen heraus zu Luftmycelbildungen (siehe Abb. 25, 3. Bild von links). An den übrigen Stellen konnte, durch Zellwandauflösung seitens der Extrakte, die dosisabhängige (v.a. bis 250 ppm) Anwesenheit und nach Aufschwemmung detektierbare Vitalität pilzeigener Bakterien beobachtet werden. Das reguläre Wachstum des Pathogens auf den Platten wurde innerhalb der Versuchsdauer zu 100 % eingestellt (bewertet als 0 % rel. Wachstum). Die dennoch ermittelten Wachstumswerte von $\bar{\phi}$ 28 bzw. 24 % ließen sich in einer zeitnah durchgeführten Messreihe reproduzieren (M 27/21 % rel. Wachstum, SD 0,96/1,41; $n = 4$). Da derartige Effekte jedoch in Nachfolgeversuchen nicht mehr beobachtet werden konnten, entfiel deren Deklaration als Nullwachstum. Der Extrakt des GT35 bewirkte aber bei den Isolaten LT123 und LT263 eine Hemmung des Wachstums von im Mittel 75 % bis 79 %.

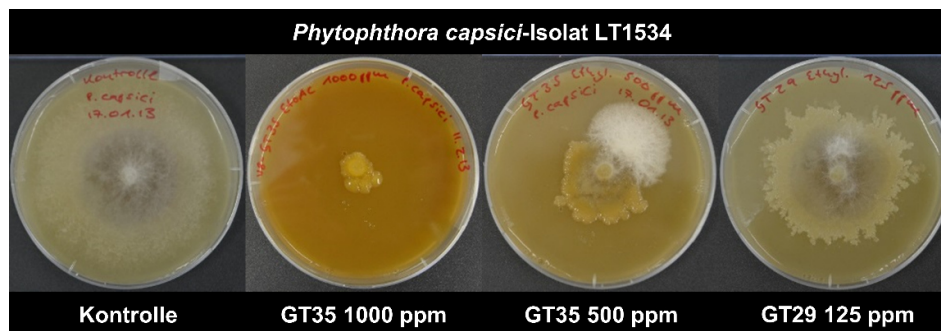


Abb. 25: Mycelwachstum des *Phytophthora capsici*-Isolats LT1534 im Mycelwachstumstest mit den Ethylacetat-Phasen der Genotypen (GTs) 29 und 35.

Der Extrakt von **Genotyp 23** erzielte gegenüber der Hälfte der in Tab. 18 aufgeführten Phytopathogene relative Wachstumswerte von unter 25 %, wobei die antifungale Wirkung gegenüber *Magnaporthe oryzae* mit $\bar{\phi}$ 13 % am besten ausfiel (Abb. 26). Die diesbezüglichen Werte ließen sich mit $\bar{\phi}$ 31 % bis 48 % (SD 1,15-3,86; $n = je$ 4) zwar nicht reproduzieren, aber die Effekte waren im Bewertungsrahmen wiederholbar (Schwellenwert für ausreichend bis sehr gut zu bewertende Ergebnisse: rel. Mycelwachstum \leq 50 %).

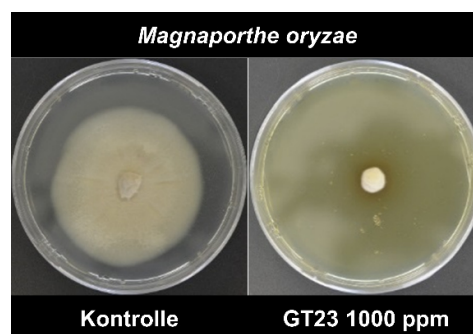


Abb. 26: Mycelwachstum von *Magnaporthe oryzae* im Mycelwachstumstest mit der Ethylacetat-Phase des Genotyps (GT) 23.

Ernteunterschiede zwischen den Extrakten der **Genotypen 02 Erntejahr 2009 und 02 Erntejahr 2012** konnten, wenn überhaupt, nur mit leichter Tendenz einer besseren Wirksamkeit des GT02-Extraktes aus den Wurzeln der später erfolgten Ernte ausgemacht werden. Während der GT02 E09-Extrakt insbesondere gegen zwei der drei Oomyceten auffallend wirksam war, erzielte der des GT02 E12 vergleichbare Wirkungen gegenüber FOL race 2, *M. oryzae* (\emptyset 24 % rel. Wachstum) und ebenfalls LT263. Die Wirkung des GT02 E09-Extraktes gegen das *P. capsici*-Isolat LT1534 (\emptyset 15 % rel. Wachstum) ließ sich mit \emptyset 39 % relativem Wachstum (SD 3,30; $n = 4$) nicht reproduzieren. Dennoch war bei den Extrakten aus dem GT02-Wurzelmateriale, wie oben bereits erwähnt, eine breitenwirksame Teilwirkung zu beobachten.

Bei den Extrakten der **Genotypen 10 Erntejahr 2012 und 10 Erntejahr 2014** zeigte der Extrakt aus den 2014 geernteten Wurzeln grundsätzlich schlechtere Wirkungen. Die Wachstumswerte bewegten sich aber noch im Rahmen des intern festgelegten Kriteriums. Durch den GT10 E14-Extrakt konnte v.a. das Wachstum von *F. culmorum* (\emptyset 26 % rel. Wachstum), LT263 (\emptyset 25 %; M 18 %, SD 1,26; $n = 4$) sowie *V. inaequalis* (\emptyset 23 %; M 26 %, SD 1,50; $n = 4$) reproduzierbar gehemmt werden. Diese Werte wurden seitens des GT10 E12-Extraktes je übertroffen und äußerten sich im Hinblick auf *V. inaequalis* im besten Testergebnis der gesamten Versuchsreihe (Abb. 27) – einer 100 %igen Hemmung des Wachstums selbst nach sechs Wochen Beobachtungsdauer (M 16 % rel. Wachstum, SD 3,40; $n = 4$).

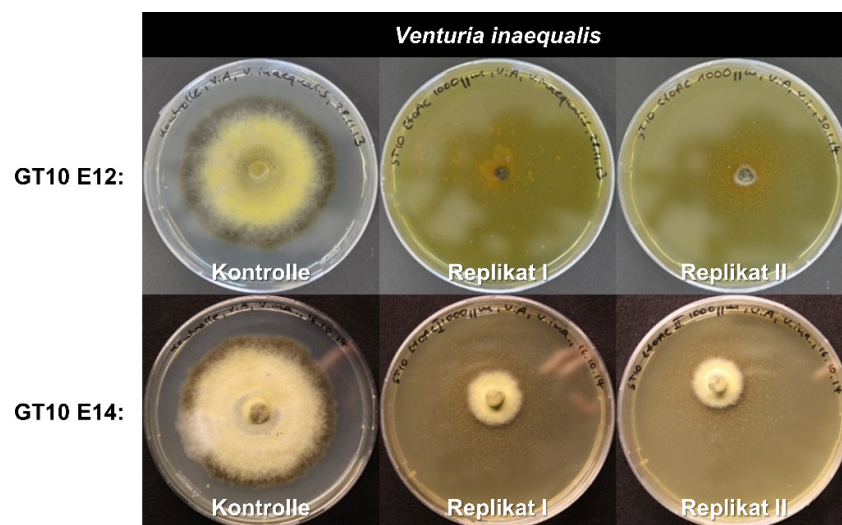


Abb. 27: Mycelwachstum von *Venturia inaequalis* im Mycelwachstumstest mit den Ethylacetat-Phasen der Genotyp (GT) 10 Erntejahr 2012 (E12)- und Erntejahr 2014 (E14)-Extrakte (1000 ppm; $n = 2$; nach einer Inkubationsdauer von sechs Wochen).

Mit \emptyset 9 % relativem Wachstum hatte der GT10 E12-Extrakt auch auf das *P. capsici*-Isolat LT123 eine hemmende Wirkung (M 20 %, SD 7,19; $n = 4$).

Alle Daten der Wiederholungsversuche sind der Anlage 26 zu entnehmen. MWTs mit inhaltsstoffbezogen charakteristischen (GT02/GT10 vs. GT05/GT30) und den im weiteren Verlauf dieser Arbeit gezielt untersuchten Gesamtextrakten des GT02 und GT10 sind in Abb. 28 dargestellt.

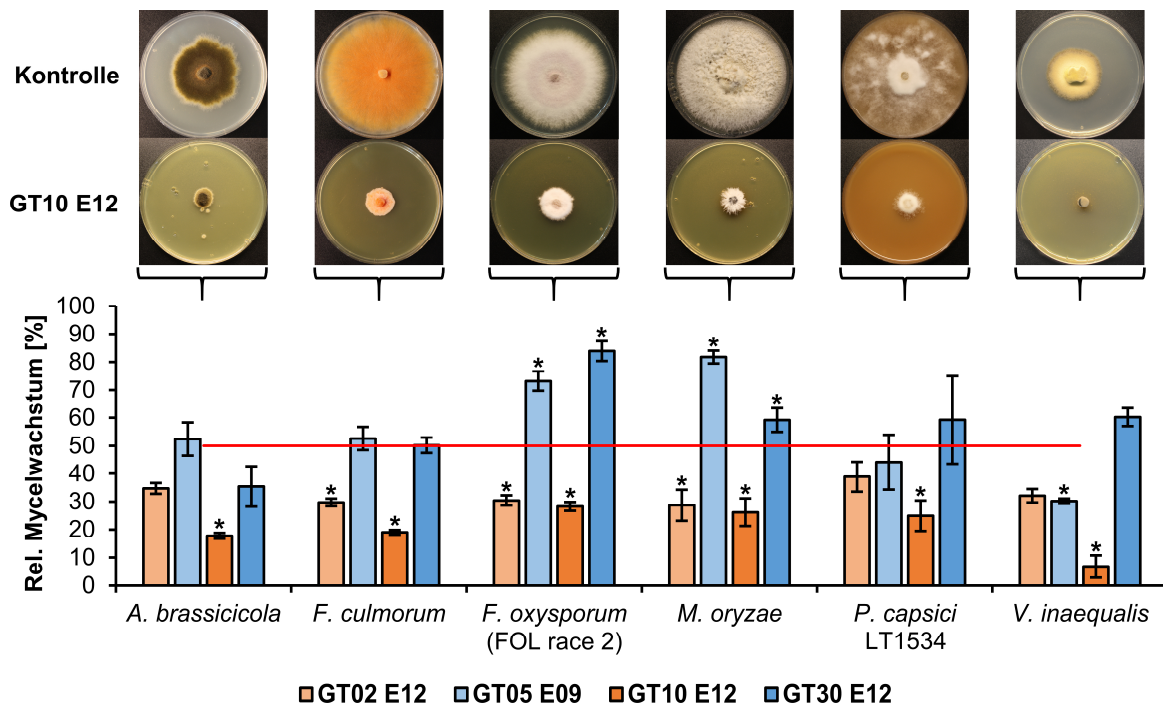


Abb. 28: Relatives Wachstum nekrotropher und hemibiotropher Pilze und Oomyceten im Mycelwachstumstest mit den *Rheum/Rumex*-Wurzelextrakten der Genotypen (GTs) 02 Erntejahr 2012 (E12), GT05 E09, GT10 E12 und GT30 E12 (Ethylacetat-Phasen, 1000 ppm-Dosierungen; $n \geq 3$, SEM; nach einer Inkubationsdauer von 7 d [*Magnaporthe oryzae*: 14 d, *Venturia inaequalis*: 21 d]; angegeben im prozentualen Vergleich zur Kontrolle; *A. brassicicola* = *Alternaria brassicicola*, *F. culmorum* = *Fusarium culmorum*, *P. capsici* = *Phytophthora capsici* [Isolat LT1534]). Die rote Linie kennzeichnet den Schwellenwert für ausreichend bis sehr gut zu bewertende Ergebnisse (rel. Mycelwachstum ≤ 50 %). Signifikante Unterschiede im Mycelwachstum gegenüber der Kontrolle sind mit Sternchen markiert (Dunnett-Test/Dunn-Test versus Kontrolle, $P \leq 0,032$).

Ergebnisse von MWTs nach vier- bis sechsjähriger Lagerung der Extrakte können der Anlage 27 entnommen werden. Mit dem GT10-Extrakt beider Erntejahre war nach längerer Lagerdauer ein relatives Mycelwachstum der *Fusarium*-Spezies von durchschnittlich etwa 24 % feststellbar.

Für die Blattsegmenttests (BSTs) erfolgte auf Basis ihrer antifungalen Effekte auf das Mycelwachstum ausgewählter Phytopathogene eine Selektion der Gesamtextrakte. Hierfür wurden die Extrakte des GT02 und GT10 je beider Erntejahre, die EtOAc-Phasen des GT24, GT29 und GT35 sowie, zum Vergleich, diejenigen des GT05 und des GT30 (inkl. H₂O-Phase) ausgewählt. Die H₂O-Phase erklärte sich über den bei dem betreffenden Extrakt ermittelten Effekt gegenüber *P. capsici*. Die Auswahl der GT02- sowie GT10-Extrakte basierte auf ihrer Breitenwirksamkeit und den ihrerseits beeinflussten Wachstumsraten. Die EtOAc-Phasen des GT29 und GT35 waren aufgrund ihrer z.T. beobachtbaren zellwandauflösenden Wirksamkeit gegenüber dem Falschen Mehltau auch im BST gegenüber dem Gerstenmehltau interessant. Hinzu kam, dass die meisten der hier ausgewählten Extrakte gegenüber FOL race 2 bis zu einer Einsatzkonzentration von 125 ppm ausreichend wirksam waren (mit \emptyset 39 % rel. Wachstum v.a. GT35), GT02 E09 und GT10 E12 (u.a.) mit \emptyset 41 % bis 44 % relativem Wachstum sogar bis 62,5 ppm. Die Ergebnisse der MWTs bei geringeren Dosierungen (Primärscreening 2. Stufe) sind der Anlage 28 zu entnehmen.

4.4 Antifungale Wirksamkeit von Extrakten und Polyphenolstandards in Blattsegmenttests mit Getreidemehltau

4.4.1 Blattsegmenttests mit Gesamtextrakten

Die in den Gersten-BSTs ermittelte Wirksamkeit von *Rheum/Rumex*-Gesamtextrakten (EtOAc-Phasen) gegenüber dem obligat biotrophen Gerstenmehltau *Blumeria graminis* f.sp. *hordei* (*Bgh*) ist zusammenfassend in Abb. 29 dargestellt.

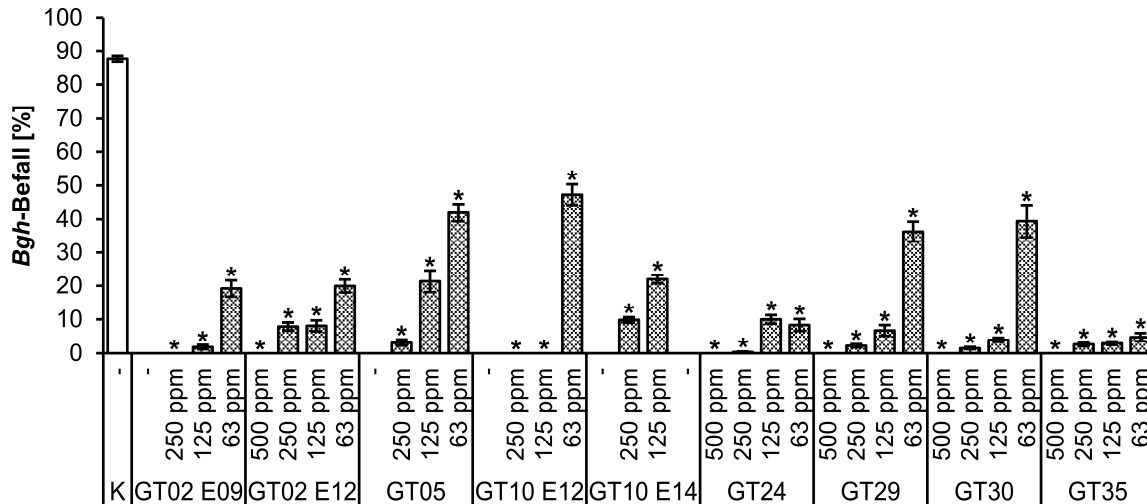


Abb. 29: Gersten-Blattsegmenttests mit Gesamtextrakten. *Blumeria graminis* f.sp. *hordei* (*Bgh*)-Befall von Gerstenblättern ('Lawina') zwei Wochen nach der Mehltauinfektion im Blattsegmenttest mit präinfektionell applizierten *Rheum/Rumex*-Wurzelextrakten (Ethylacetat-Phasen; $n \geq 15$, SEM; GT = Genotyp, E = Erntejahr). Signifikante Unterschiede im Befallsgrad gegenüber der Kontrolle (K; dest. Wasser) sind mit Sternchen markiert ($P < 0,050$).

In Abb. 29 zeigt sich, dass bei einer Anwendungskonzentration von 500 ppm alle damit getesteten Extrakte signifikant zur Kontrolle (\emptyset 88 % Befall) abweichende *Bgh*-Effekte erzielen konnten (Dunn-Test vs. Kontrolle, $P < 0,001$). Dies war auch bei Einsatz der geringsten Dosierung (63 ppm) der Fall, wobei die Extrakte dosisabhängig z.T. stark und im Vergleich zum GT24 und GT35 deutlich in ihrer Wirkung abfielen (Dunn-Test vs. Kontrolle, $P \leq 0,005$). Dementsprechend waren auch bei den 125 ppm- und 250 ppm-Dosierungen der Extrakte signifikant zur Kontrolle abweichende *Bgh*-Effekte feststellbar (Dunn-Test vs. Kontrolle, $P \leq 0,001$). Im Vergleich der beiden Erntejahre des Wurzelmaterials von GT02 und GT10 zeigte sich, dass die jeweils frühere Charge (E09, E12) einen deutlicheren *Bgh*-Effekt erzielte (250 ppm: \emptyset 0 vs. 8-10 % Befall). Der GT10 E12 bewirkte als einziger Extrakt bei sowohl 250 ppm als auch 125 ppm praktisch befallsfreie Blätter (\emptyset 0 % Befall). Im Test gegen den biotrophen Gerstenmehltau waren auch die Extrakte des GT05 und GT30 effektiv (250 ppm: \emptyset 3/2 % Befall), der GT30-Extrakt mit \emptyset 4 % Befall bis 125 ppm (H₂O-Phase 500/250/125/63 ppm: \emptyset 0/3/3/81 % Befall; $n = 15$, SD 0,00/3,59/2,58/3,35). Die höchste Aktivität über alle Einsatzkonzentrationen wies die EtOAc-Phase des GT35 auf (500-63 ppm: \emptyset 0-5 % Befall; Abb. 30).

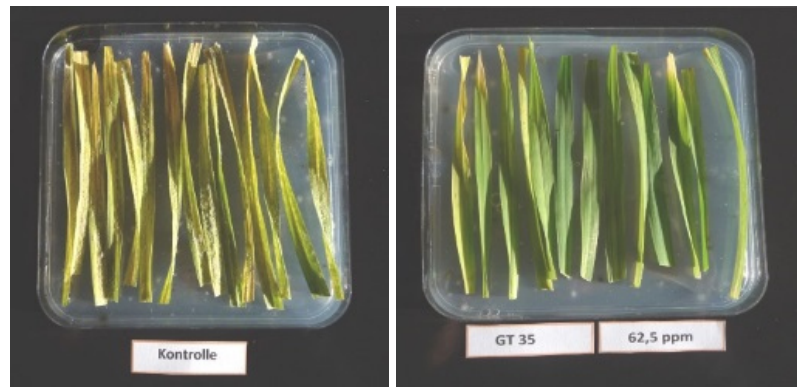


Abb. 30: Gerstenmehltau-Befall von Gerstenblättern ('Lawina') im Blattsegmenttest mit der präinfektionell applizierten Ethylacetat-Phase des Genotyps (GT) 35 gegenüber der Kontrolle (dest. Wasser).

In Abb. 31 sind die Ergebnisse eines BST an Weizenblättern ('Sokrates') nach präinfektioneller Behandlung mit den EtOAc-Phasen des GT02 beider Erntejahre dargestellt. Mit Ausnahme des GT02 E12-Extraktes in der 63 ppm-Dosierung unterschieden sich die Extraktproben in ihrer Wirksamkeit auch gegenüber dem Weizenmehltau *Blumeria graminis* f.sp. *tritici* (*Bgt*) signifikant von der Kontrolle (Dunn-Test vs. Kontrolle, $P \leq 0,029$). Die Dosis-Wirkungs-Abhängigkeit war vergleichbar.

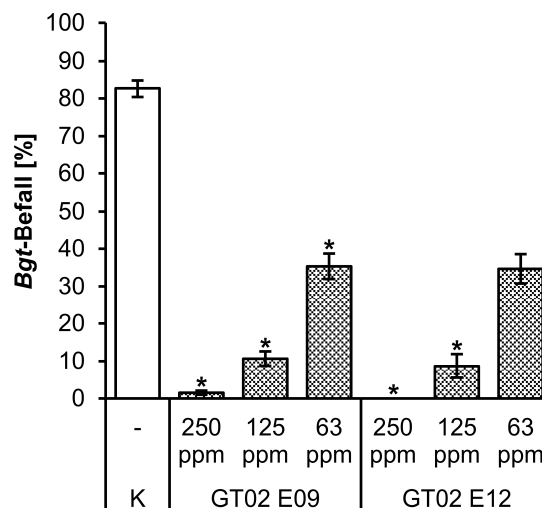


Abb. 31: Weizen-Blattsegmenttests mit Gesamtextrakten. *Blumeria graminis* f.sp. *tritici* (*Bgt*)-Befall von Weizenblättern ('Sokrates') zwei Wochen nach der Mehltauinfektion im Blattsegmenttest mit präinfektionell applizierten Wurzelextrakten des Genotyps (GT) 02 (Ethylacetat-Phasen; $n = 15$, SEM; E = Erntejahr). Signifikante Unterschiede im Befallsgrad gegenüber der Kontrolle (K; dest. Wasser) sind mit Sternchen markiert ($P < 0,050$).

Die antifungalen Wirkungen der EtOAc-Phasen des GT02 E12 und des GT10 E12 im Primärscreening waren letztlich Entscheidungsgrundlage für deren Einsatz in Freilandversuchen. Für die Versuche des Sekundärscreenings wurde aus den oben genannten Gründen mit dem GT10 E14 eine neue Charge des GT10 erzeugt. Der Extrakt des GT02 E12 diente dabei z.T. als interner Vergleichsstandard. Die im Folgenden dargestellten Ergebnisse von Gersten-BSTs mit Frks des GT10-Gesamtextraktes beziehen sich daher auf die Fraktionierung der neuen Charge (GT10 E14, EtOAc-Phase).

4.4.2 Blattsegmenttests mit Extraktfraktionen

Die Ergebnisse der Gersten-BSTs mit isolierten Frks des GT10 E14 (EtOAc-Phase) bei 250 ppm-Anwendungskonzentration sind in Abb. 32 dargestellt. Die Applikation der Frks 1 und 2 resultierte in einem *Bgh*-Befall von im Mittel 5 % bzw. 2 %. Ähnlich verhielt es

sich bei der Frk 5 mit \emptyset 3 % Befall. Gemäß der Charakterisierung mittels LC-MS wiesen die Frk 3 bis 8 vorrangig Stilben-, die Frk 1 und 2 v.a. Flavan-3-ol-Komponenten auf.

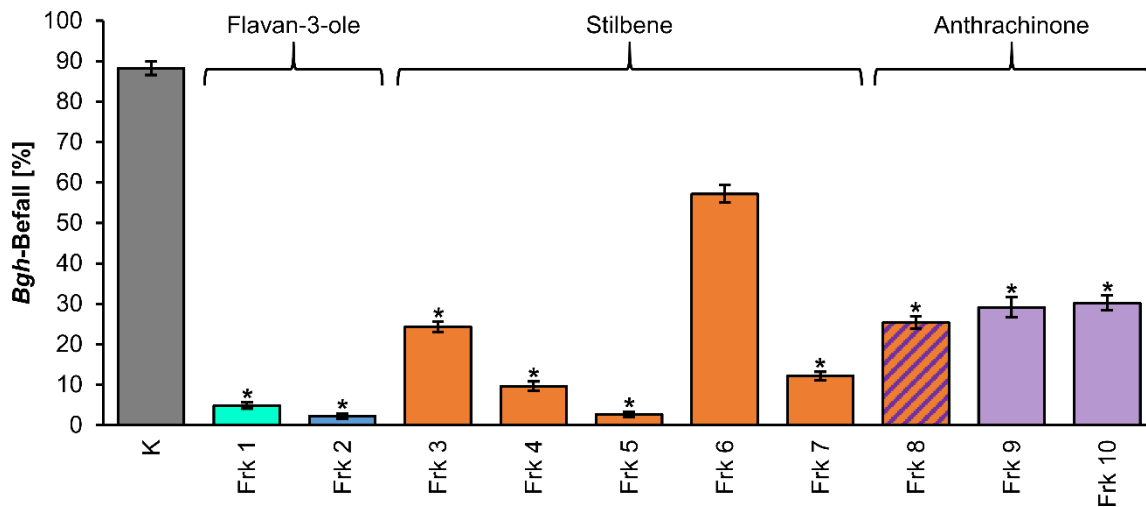


Abb. 32: Gersten-Blattsegmenttests mit Extraktfraktionen. *Blumeria graminis* f.sp. *hordei* (*Bgh*)-Befall von Gerstenblättern ('Lawina') zwei Wochen nach der Mehltauinfektion im Blattsegmenttest mit präinfektionell applizierten Fraktionen (Frks) der Ethylacetat-Phase des Genotyp 10 Erntejahr 2014-Gesamtextraktes (250 ppm; n = 28, SEM). Signifikante Unterschiede im Befallsgrad gegenüber der Kontrolle (K; dest. Wasser) sind mit Sternchen markiert ($P < 0,050$).

Detaillierte Variationen in der Effizienz der Frks konnten hauptsächlich unter den stilbenhaltigen Einheiten ausgemacht werden. Hier erwiesen sich die Frk 4 und 7 mit einem Befallsgrad von \emptyset 10 % bis 12 % als ähnlich effektiv gegenüber *Bgh*. Die übrigen Frks, darunter die anthrachinonhaltigen Frk 8 bis 10 (in Frk 8 nur in Spuren), zeigten mit einem Befall von \emptyset 24 % bis 57 % vergleichsweise moderate *Bgh*-Effekte. Statistisch betrachtet waren die *Bgh*-hemmenden Effekte der Frks mit nur einer Ausnahme signifikant (Dunnnett-Test, $P \leq 0,001$). Die genannte Ausnahme betraf Frk 6, deren *Bgh*-Effekt, mit Ausnahme der Frk 9 und 10, auch signifikant gegenüber den *Bgh*-Effekten der anderen Frks abwich (Tukey-Test, $P \leq 0,039$). Die *Bgh*-Effekte der Frk 1, 2 und 5 zeigten, verglichen untereinander, keine statistischen Abweichungen, auch nicht gegenüber den Frk 4 und 7. Geringer dosiert (125 ppm) ließ die Wirksamkeit aller Frks nach (siehe Anlage 29). Mit Ausnahme der Frk 6 und 9 waren die *Bgh*-hemmenden Effekte der Frks dennoch signifikant (Dunnnett-Test, $P \leq 0,007$). Die Daten der Bonitur nach einer Woche können der Anlage 30 entnommen werden.

4.4.3 Blattsegmenttests mit Standardsubstanzen

Einzelanwendung: Die *Bgh*-Effekte *Rheum*-typischer Polyphenolstandards aus den Gruppen der Procyanidine, Catechine und Stilbene sind in Abb. 33 dargestellt.

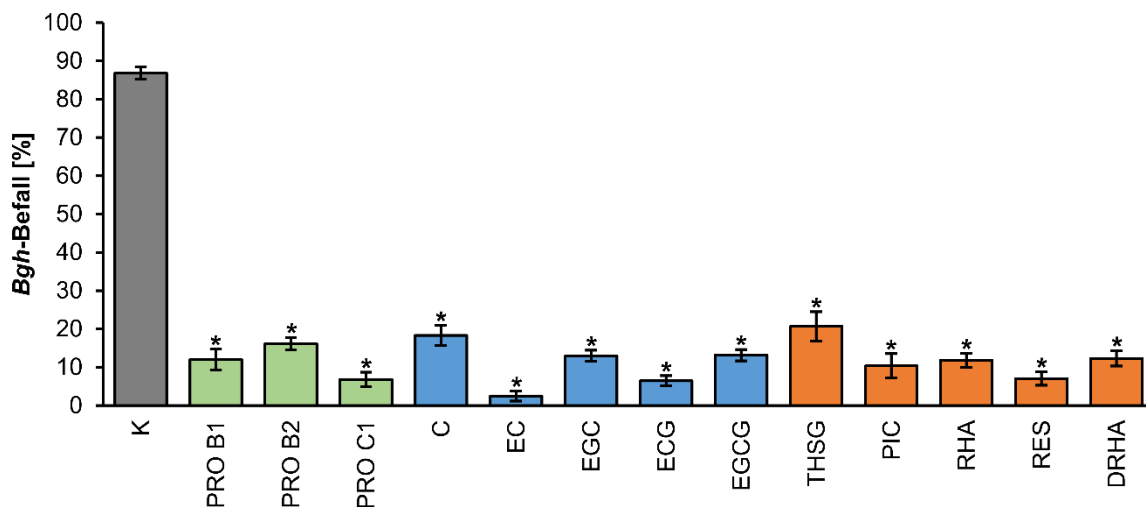


Abb. 33: Gersten-Blattsegmenttests mit Polyphenolstandards in Einzelanwendung. *Blumeria graminis* f.sp. *hordei* (*Bgh*)-Befall von Gerstenblättern ('Lawina') zwei Wochen nach der Mehltauinfektion im Blattsegmenttest mit präinfektionell applizierten Polyphenolstandards (125 ppm; n = 30, SEM; PRO = Procyanidin, C = Catechin, EC = Epicatechin, EGC = Epigallocatechin, ECG = Epicatechingallat, EGCG = Epigallocatechingallat, THSG = 3,4',5-Trihydroxystilben-3-O- β -D-glucosid/-glucopyranosid [Piceid], PIC = Piceatannol, RHA = Rhaponticin, RES = Resveratrol, DRHA = Desoxyrhaponticin). Signifikante Unterschiede im Befallsgrad gegenüber der Kontrolle (K; dest. Wasser) sind mit Sternchen markiert ($P < 0,050$).

Die Abb. 33 verdeutlicht, dass die *Bgh*-hemmenden Effekte aller repräsentativen Standards signifikant waren (Dunnnett-Test, $P < 0,001$). Aus jeder Gruppe erzielte mindestens eine Substanz eine Hemmung des Pathogens von über 90 % (z.B. ECG, RES). Unter den Procyanidinen wies PRO B2 die vergleichsweise schwächste Wirkung gegenüber *Bgh* auf, die sich zudem signifikant von der des PRO C1 und der des Epicatechins unterschied (Tukey-Test, $P \leq 0,028$). Die *Bgh*-Effekte des Catechins, des Epigallocatechins und des Epigallocatechingallats wichen statistisch ebenfalls von dem des Epicatechins ab (Tukey-Test, $P < 0,001$), welches in der Konzentrationsstufe 125 ppm den unter den Polyphenolstandards besten *Bgh*-Effekt zeigte. Bei der gegenüber *Bgh* schwächsten (Stilben-)Verbindung handelte es sich um THSG. Einzelbetrachtungen der getesteten Polyphenolstandards in Anwendungskonzentrationen von 500 ppm bis 32 ppm sind der Anlage 31 zu entnehmen.

Kombinationsanwendung: Zur Klärung der Fragestellung potentiell synergistischer *Bgh*-Effekte von *Rheum*-Polyphenolen wurden neben den Tests mit den Standardsubstanzen in Einzelanwendung auch solche in Kombination durchgeführt. Hierfür wurden Lösungen aus je einem repräsentativen Flavan-3-ol und einer Stilben-Verbindung in unterschiedlichsten Mischungsverhältnissen angesetzt und gegen die Standardlösungen, die separat appliziert wurden, im Gersten-BST auf ihren *Bgh*-Effekt hin geprüft. Die Abb. 34 zeigt eine solche Synergismusstudie am Beispiel der Kombinationsanwendung von ECG und RES. 10 d nach der Testanlage war der *Bgh*-hemmende Effekt beider Einzelpräparate, insbesondere der des ECG, in der geringsten Dosierung (8 ppm) verhältnismäßig schwach und im Vergleich zu den übrigen Dosierungen (Dunnnett-Test, $P < 0,001$) nicht signifikant. Statistisch traf dies auch auf die 16 ppm-Konzentration der ECG-Lösung zu. In Kombination konnte die Wirksamkeit der Einzelstandards deutlich verbessert werden, welche sich lediglich im Falle des 8+16 ppm-Mischungsverhältnisses nicht signifikant von der Kontrolle unterschied, sonst aber

schon (Dunnnett-Test, $P < 0,001$). Dieselben Aussagen konnte auch nach 20 d getroffen werden (siehe Anlage 32).

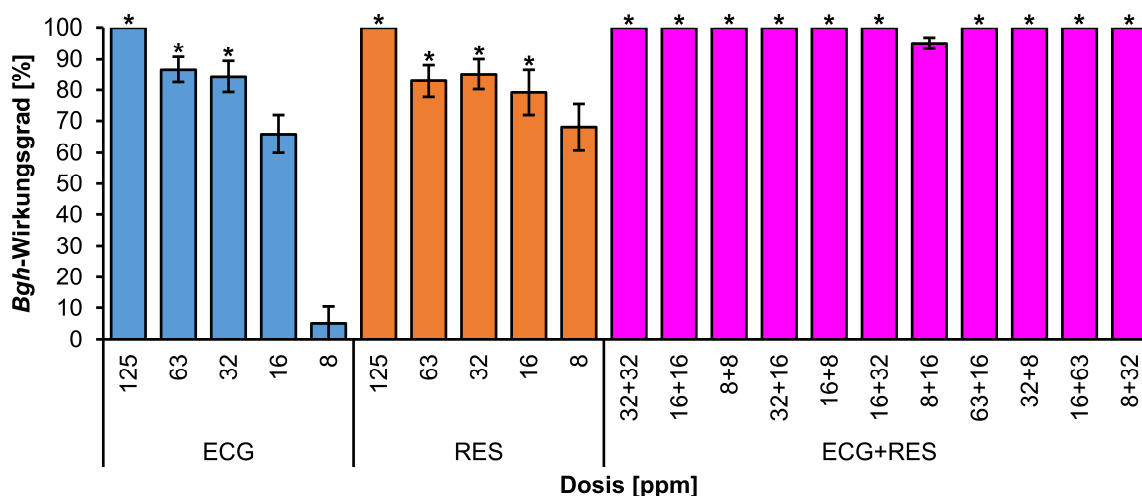


Abb. 34: Gersten-Blattsegmenttests mit Polyphenolstandards in Kombinationsanwendung. *Blumeria graminis* f.sp. *hordei* (*Bgh*)-Wirkungsgrad in Gerstenblättern ('Lawina') 10 d nach der Mehltauinfektion im Blattsegmenttest mit den präinfektionell applizierten Polyphenolstandards Epicatechingallat (ECG) und Resveratrol (RES) in Einzel- und Kombinationsanwendungen ($n = 15$, SD). Signifikante Unterschiede im Wirkungsgrad gegenüber der Kontrolle (dest. Wasser) sind mit Sternchen markiert ($P < 0,050$).

Während die Einzelstandards in der Hemmung von *Bgh* Schwächen aufwiesen, zeigten bestimmte Mischungsverhältnisse eine Wirksamkeit, die über die einfache Wirkungssumierung hinausging. In Tab. 19 sind die beobachteten (im BST bonitierten) und nach COLBY (1967) berechneten Wirkungsgrade gegenüber *Bgh* bei der kombinierten Anwendung der Standardsubstanzen ECG und RES im Gersten-BST aufgegliedert. Übrige Kalkulationen finden sich in Anlage 33.

Tab. 19: In den Gersten-Blattsegmenttests mit den Polyphenolstandards Epicatechingallat und Resveratrol in Kombinationsanwendung beobachtete und nach der Colby-Formel berechnete Wirkungsgrade gegenüber Gerstenmehltau.

ECG+RES [ppm]	32 +32	16 +16	8 +8	32 +16	16 +8	16 +32	8 +16	63 +16	32 +8	16 +63	8 +32
WG _{beobachtet} [%]	100	100	100	100	100	100	95	100	100	100	100
WG _{berechnet} [%]	98	93	70	97	89	95	80	97	95	94	86

Anmerkungen: ECG = Epicatechingallat, RES = Resveratrol, WG = Wirkungsgrad; größte Unterschiede bei höherem RES-Anteil und geringen Einsatzkonzentrationen

Synergismusstudien (Gersten-BSTs) wurden auch mit den polyphenolischen Verbindungen RHA und PRO B2 durchgeführt. Bei statistischer Betrachtung der 8 ppm-Dosierungen in den Einzel- und Kombinationsanwendungen konnte mittels Dunnnett-Test nachgewiesen werden, dass sich der nicht signifikante *Bgh*-hemmende Effekt des PRO B2 nach 10 d (8 ppm: $P = 0,063$) durch die 1:1-Kombination mit RHA signifikant verbessern ließ ($P < 0,001$) und nach der Colby-Formel (siehe Kap. 3.2.4.1) ein synergistischer Effekt vorlag (81 % beobachteter vs. 70 % berechneter *Bgh*-Wirkungsgrad), da die antifungale Wirkung der Wirkstoffkombination größer als die Summe der Effekte der einzeln applizierten Aktivsubstanzen war. Die betreffenden Daten (inkl. der 20 d-Werte) sind der Anlage 34 (und Anlage 33) zu entnehmen.

4.5 Histochemische Studien zur Wirksamkeit von *Rheum rhabarbarum* ‘The Sutton’-Extrakten im Pathosystem Gerste – Gerstenmehltau

Im Rahmen der dem Sekundärscreening zugehörigen histochemischen Studien konnte die in den Gersten-BSTs festgestellte Hemmung der *Bgh*-Infektion mittels Färbetechniken und Mikroskopie näher untersucht werden. Untersuchungsmaterial waren die EtOAc-Phasen des GT02 E12 (Vergleichsuntersuchungen) und des GT10 E14 (inkl. Frks und Reinsubstanzen).

4.5.1 Nachweis direkter antifungaler Effekte

Unter Nutzung resistenter Mutanten der Sommergersten (SG)-Linie ‘Ingrid’ als Positivkontrollen (*mlo5*, *Mla12*, *Mlg21*), ließ sich bei allen drei Mutanten 48 h nach der Infektion (engl. hours after infection [HAI]) mit *Bgh* eine im Vergleich zu ihrem anfälligen Wildtyp (WT) Mlo signifikant reduzierte Konidienkeimrate feststellen (Dunnett-Test, $P < 0,001$; Abb. 35 A). Untereinander zeigten die Ingrid-Mutanten keine signifikanten Wirksamkeitsunterschiede (Holm-Sidak-Test, $P \geq 0,783$). Die *Bgh*-Keimrate war nach präinfektioneller Behandlung susceptibler Pflanzen der SG-Sorte ‘Lawina’ mit dem Extrakt des GT10 E14 in ähnlicher Art beeinträchtigt (500-125 ppm: Dunnett-Test, $P < 0,001$). Wie aus Abb. 35 A ersichtlich, lag die Zahl an appressorienbildenden Konidien dosisabhängig auch 24 HAI und 72 HAI z.T. signifikant niedriger als im Falle der unbehandelten Kontrolle (500+250/500 ppm: Dunnett-Test, $P \leq 0,005$).

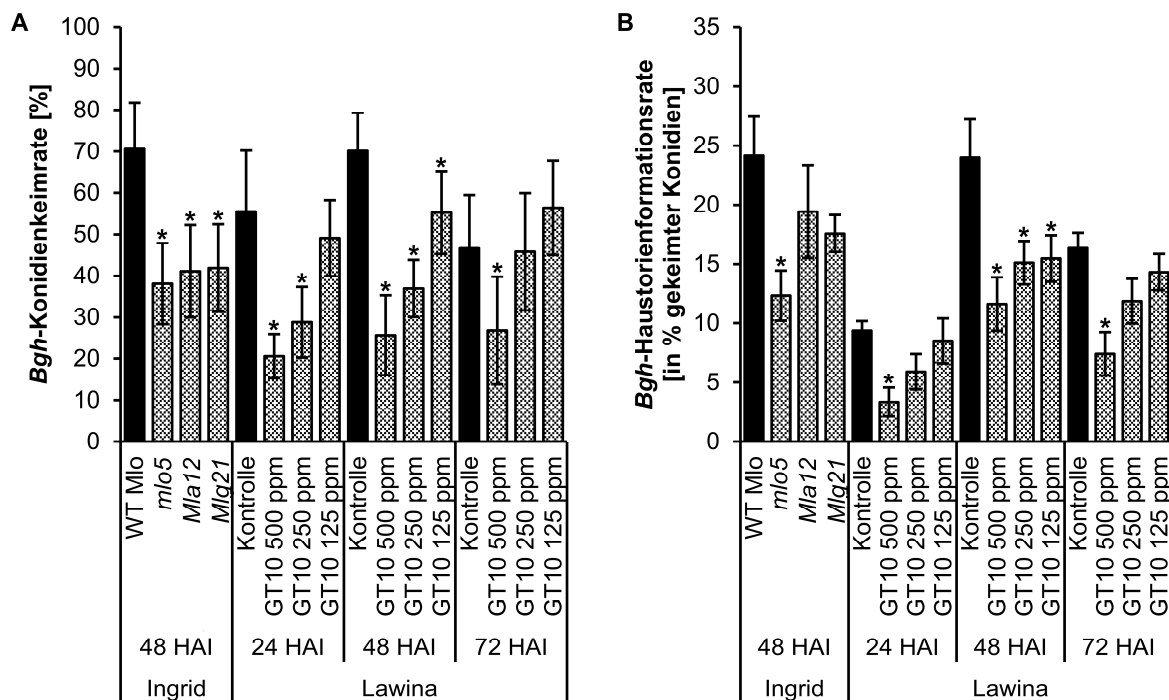


Abb. 35: Antifungale Effekte des Genotyp 10-Extraktes auf die Konidienkeim- und Haustorienformationsrate von Mehltau in Gerstenpflanzen. A, B) Konidienkeimrate (A) und Haustorienformationsrate (B) von *Blumeria graminis* f.sp. *hordei* (*Bgh*) 24-72 h nach der Infektion (engl. hours after infection [HAI]) von Gerstenpflanzen der resistenten Linie ‘Ingrid’ (unbehandelt [dest. Wasser]) bzw. anfälligen Sorte ‘Lawina’ (unbehandelt / präinfektionell behandelt [Genotyp {GT} 10 Erntejahr 2014 Ethylacetat-Phase]) (n = 10-15*100 Interaktionstypen, A: SD, B: SEM). Signifikante Unterschiede in den *Bgh*-Keimraten und -Haustorienraten gegenüber der jeweiligen Kontrolle (WT = Wildtyp) sind mit Sternchen markiert ($P < 0,050$).

Bei erfolgreicher Penetration seitens der *Bgh*-Konidien war detektierbar, dass diese quantitativ häufiger direkt über die Zellwand in die pflanzliche Zelle eindrangen. Weniger häufig erfolgte dies antiklinisch durch den Zwischenzellraum und im Mittel selten über die Spaltöffnungen (siehe Anlage 35 [und Anlage 36]). Die Abb. 35 B bezieht sich auf die nach der Besiedlung des Pflanzengewebes folgende Ausbildung von Haustorien. Diese wurden im Vergleich zu den unbehandelten Kontrollen und bzgl. aller Dosierungen nur im Falle der GT10 E14-Behandlungen 48 HAI mit signifikant niedrigeren Raten gebildet (Dunnett-Test, $P \leq 0,040$). Zudem wiesen die Kontrollblätter quantitativ mehr voll entwickelte Haustorienformationen auf, während diese bei den extraktbeeinflussten Blattproben eher als cytoplasmatische Verdichtungen in Erscheinung traten (Vorstufe; 250 ppm). Bei Ingrid äußerte sich ein vergleichsweise signifikant reduzierender Effekt auf die Haustorienrate (und die Sekundärhyphenrate) nur im Falle der penetrationsresistenten Mutante *mlo5* (Dunnett-Test, $P = 0,017$ [0,002]). Bezüglich der Extraktbehandlungen konnten die elongierten sekundären Hyphen (ESHs) betreffend zu keinem Probenahmezeitpunkt differenzierenden Aussagen getätigt werden (siehe Anlage 37 [und Anlage 38]).

Struktur-Wirkungs-Beziehungen: Bei gesonderter Betrachtung der Blattproben, die mit den GT10 E14-Frks 2 und 5 behandelt wurden, war feststellbar, dass bereits 24 HAI etliche der nicht gekeimten Konidien zersetzt bis aufgelöst erschienen, insbesondere infolge der Frk 2-Behandlung. Hinsichtlich der Frk 5-Applikation waren Konidien auffindbar, die lediglich primäre Keimschläuche aufwiesen (48+72 HAI). 24 HAI und 48 HAI reduzierten die Frks 2 und 5 sowie deren Hauptkomponenten in Form der Standardsubstanzen ECG und RES die *Bgh*-Konidienkeimraten signifikant (Dunnett-Test, $P \leq 0,020$; Abb. 36 A), sodass keine Wirksamkeitsunterschiede zwischen Flavan-3-olen und Stilbenen ausgemacht werden konnten. In den ECG- und Frk 5-behandelten Blattsegmenten wurde 48 HAI auch die Formation der Haustorien signifikant gehemmt (Dunnett-Test, $P \leq 0,030$; Abb. 36 B).

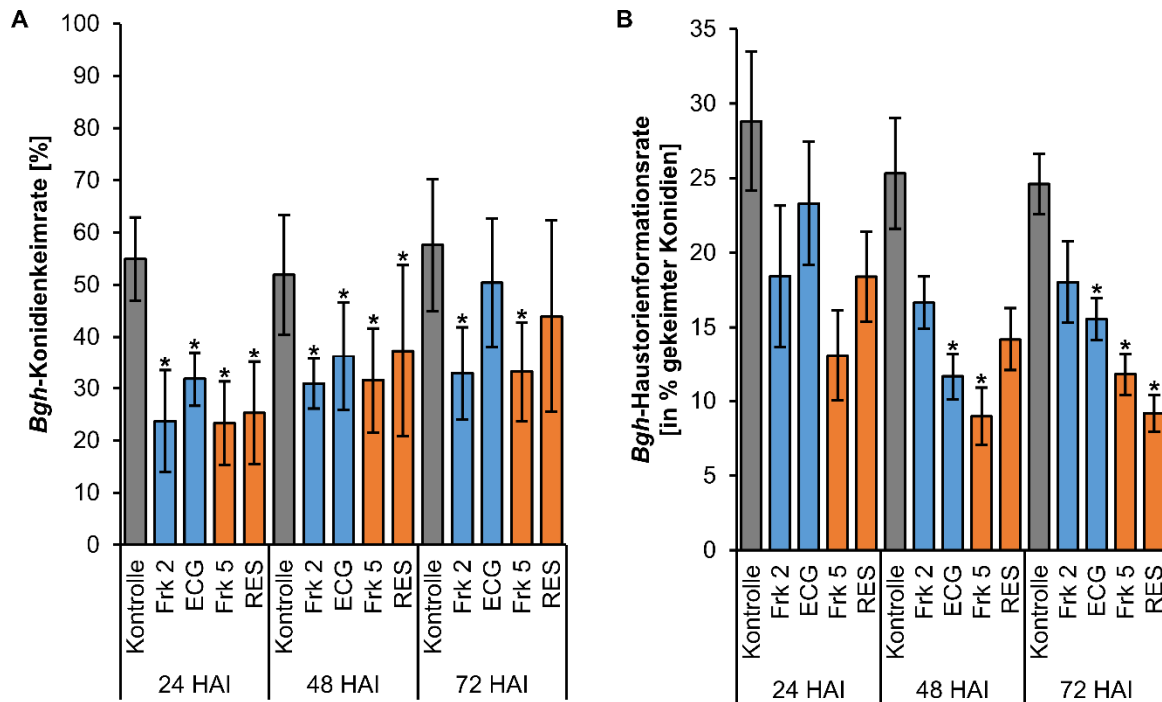


Abb. 36: Antifungale Effekte von Genotyp 10-Fraktionen und Polyphenolstandards auf die Konidienkeim- und Haustorienformationsrate von Mehltau in Gerstenpflanzen. A, B) Konidienkeimrate (A) und Haustorienformationsrate (B) von *Blumeria graminis* f.sp. *hordei* (*Bgh*) 24-72 h nach der Infektion (engl. hours after infection [HAI]) von Gerstenpflanzen der anfälligen Sorte 'Lawina' (unbehandelt [dest. Wasser] / präinfektionell behandelt [Genotyp 10 Erntejahr 2014 Ethylacetat-Phase-Fraktionen {Frks} 2 und 5 {250 ppm} sowie Standardsubstanzen Epicatechingallat {ECG} und Resveratrol {RES; 125 ppm}] (n = 10-15*100 Interaktionstypen, A: SD, B: SEM). Signifikante Unterschiede in den *Bgh*-Keimraten und -Haustorienraten gegenüber der Kontrolle sind mit Sternchen markiert ($P < 0,050$).

Entsprechend konnten infolge der Behandlungen mit den GT10 E14-Frks und Reinsubstanzen 24 HAI im Mittel praktisch keine elongierten (ESHs) ausgemacht werden (n = 10*100 Interaktionstypen). 48 HAI wichen die ESH-Raten nach der präinfektionellen Applikation beider Frks bereits signifikant vom Kontrollwert ab (Dunnett-Test, $P \leq 0,036$; n = 15*100 Interaktionstypen). 72 HAI war der entsprechende Unterschied auch im Hinblick auf ECG gegeben (Dunnett-Test, $P \leq 0,008$; n = 10*100 Interaktionstypen). Untereinander zeigten die Präparate meist keine signifikanten Wirksamkeitsunterschiede (Holm-Sidak-Test/Dunn-Test/Tukey-Test, $P \geq 0,051$) (siehe Anlagen 39, 40).

4.5.2 Nachweis induzierter Abwehrreaktionen

Ein weiterer Forschungsschwerpunkt betraf die im Rahmen der inkompatiblen Interaktion induzierten und potentiell durch die *Rheum*-Wurzelextrakte induzierten Abwehrmechanismen der Modellpflanze Gerste. Die hierzu zählenden postinfektionellen Papillenformationen und die hypersensitive Reaktion (HR) konnten mittels der histochemischen Untersuchungen nicht mit vollständiger statistischer Signifikanz verifiziert werden (Einzelwerte und sonstige Daten siehe Anlagen 41-44), aber Trends aufzeigen. Die Abb. 37 zeigt die Raten effektiver Papillenformationen infolge der Behandlungen mit den GT10 E14-Frks und Reinsubstanzen. Die Zahl an effektiven Papillen war 24 HAI bis 72 HAI stets höher als die in der zugehörigen Kontrolle, bedingt durch die Behandlungen mit den Frks und ECG 48 HAI und mit Ausnahme von Frk 5 72 HAI signifikant höher (Dunnett-Test, $P \leq 0,029$). Untereinander zeigten die Präparate überwiegend keine signifikanten Wirksamkeitsunterschiede (48 HAI: Holm-Sidak-Test, $P \geq 0,151$, außer bzgl. Frk 2/5 vs. RES [$P = 0,014/0,030$]; 72 HAI: Holm-Sidak-Test, $P \geq 0,381$).

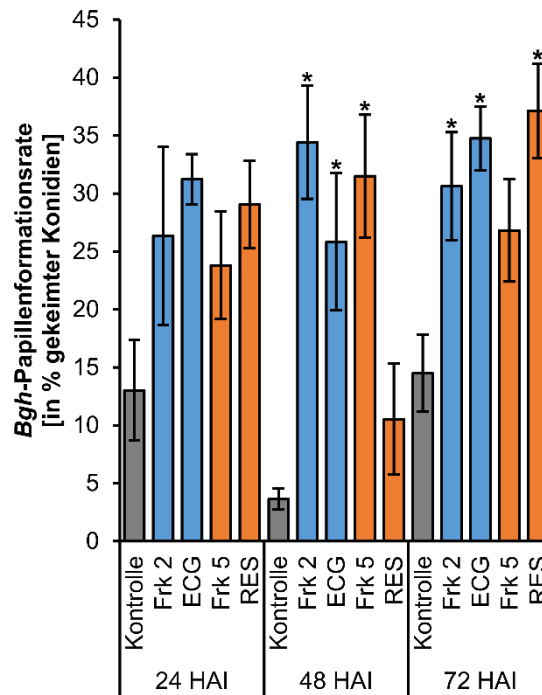


Abb. 37: Effekte von Genotyp 10-Fractionen und Polyphenolstandards auf die Papillenformationsrate in Mehltau-infizierten Gerstenpflanzen. Papillenformationsrate gegenüber *Blumeria graminis* f.sp. *hordei* (*Bgh*) 24-72 h nach der Infektion (engl. hours after infection [HAI]) von Gerstenpflanzen der anfälligen Sorte 'Lawina' (unbehandelt [dest. Wasser] / präinfektionell behandelt [Genotyp 10 Erntejahr 2014 Ethylacetat-Phase-Fractionen {Frks} 2 und 5 {250 ppm} sowie Standardsubstanzen Epicatechingallat {ECG} und Resveratrol {RES; 125 ppm}) (n = 5*100 Interaktionstypen, SEM). Signifikante Unterschiede in der Papillenformationsraten gegenüber der Kontrolle sind mit Sternchen markiert ($P < 0,050$).

Die Zahl an ineffektiven Papillen, welche ein Haustorium nach sich zogen (Abb. 38), lag nach präinfektioneller Applikation der 500 ppm- und 250 ppm-Dosierungen des GT10 E14-Gesamtextraktes 48 HAI signifikant niedriger als die in der zugehörigen Kontrolle (Holm-Sidak-Test vs. Kontrolle, $P \leq 0,040$; n = 5*100 Interaktionstypen). 48 HAI war der Unterschied in der Anzahl ineffektiver Papillen auch bei der penetrationsresistenten Mutante *mlo5* bzw. der Mutante *Mlg21* und ihrem anfälligen WT signifikant (Dunnnett-Test/Holm-Sidak-Test vs. Kontrolle, $P = 0,013/0,028$; n = 5*100 Interaktionstypen). Hinsichtlich der GT10 E14-Frks und Reinsubstanzen konnten 24 HAI und 48 HAI ebensolche, aber nicht signifikante Unterschiede ausgemacht werden (n = 5*100 Interaktionstypen) (siehe Anlage 45 [und Anlage 46]). 72 HAI unterschieden sich die Raten ineffektiver Papillenformationen infolge der Stilben-Behandlungen (Frk 5, RES) signifikant von der Kontrolle (Dunnnett-Test, $P \leq 0,022$; n = 5*100 Interaktionstypen). Zudem konnten in den Frk 5-behandelten Blattproben infolge der ineffektiven Papillen lediglich cytoplasmatische Verdichtungen verzeichnet werden.

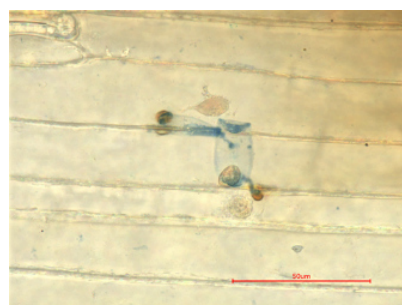


Abb. 38: Ineffektive Papillen in einem repräsentativen, präinfektionell Genotyp 10 Erntejahr 2014 Ethylacetat-Phase-Fraktion 5-behandelten (250 ppm) Gerstenblatt der anfälligen Sorte 'Lawina' 72 h nach der Infektion mit Gerstenmehltau (1000-fache Vergrößerung).

Trotz der teils unzureichenden statistischen Absicherung konnte der verifizierte *Bgh*-Effekt zum Zeitpunkt der Haustorienbildung bestätigt werden.

Die ähnlich denen der HR-Quantifizierung ausgefallenen Untersuchungsergebnisse der Nitroblautetrazoliumchlorid-angefärbten Proben sind aufgrund ihrer fehlenden Aussagekraft der Anlage 47 zu entnehmen. Die Wirkstoffe des GT10 E14-Extraktes schienen im Vergleich zur dest. Wasser-behandelten Kontrolle keinen signifikant abweichenden Einfluss auf die Akkumulation von Superoxid zu nehmen.

4.5.3 Vergleichsuntersuchungen mit dem Gesamtextrakt aus *Rheum officinale* „Genotyp 02“

Die Vergleichsversuche mit der EtOAc-Phase des GT02 E12 (500-125 ppm) ergaben im Wesentlichen die gleichen Resultate wie die mit dem GT10 E14-Extrakt:

- signifikant reduzierte *Bgh*-Keimrate mit leichter Schwäche (nicht signifikantem Effekt) des GT02 E12-Extraktes bei 125 ppm-Anwendungskonzentration 24 HAI (n = 8*50 Interaktionstypen, SEM ≤ 8,52; 24 HAI: Dunnett-Test, P ≤ 0,013; 48 HAI: Dunnett-Test, P < 0,020; 72 HAI: Holm-Sidak-Test vs. Kontrolle, P ≤ 0,041),
- zudem häufige Ausbildung von nur primären Keimschläuchen, insbesondere bei 500 ppm-Anwendungskonzentration,
- signifikant reduzierte *Bgh*-Haustorienformationsrate mit leichter Schwäche (nicht signifikantem Effekt) des GT02 E12-Extraktes bei 250 ppm-Anwendungskonzentration 72 HAI (n = 4-8*50 Interaktionstypen, SEM ≤ 5,79; 24 HAI: Holm-Sidak-Test vs. Kontrolle, P < 0,025; 48 HAI: Dunnett-Test, P ≤ 0,019; 72 HAI: Dunnett-Test, P ≤ 0,002),
- signifikant reduzierte ESH-Rate 72 HAI mit leichter Schwäche (nicht signifikantem Effekt) des GT02 E12-Extraktes bei 125 ppm-Anwendungskonzentration (n = 4-8*50 Interaktionstypen, SEM ≤ 3,73; 72 HAI: Dunnett-Test, P ≤ 0,028),
- nicht signifikant erhöhte Rate an effektiven Papillenformationen 24 und 72 HAI (24 HAI: 12 % [von gekeimt] vs. 16-28 %, P = 0,241; 48 HAI: 15 % vs. 8-17 %, P = 0,575; 72 HAI: 15 % vs. 23-27 %, P = 0,268; n = 4*50 Interaktionstypen, SEM ≤ 8,28/7,00/6,33),
- nicht signifikant reduzierte Rate an ineffektiven Papillenformationen 24 HAI bis 72 HAI (24 HAI: 16 % [von gekeimt] vs. 2-7 %, P = 0,206; 48 HAI: 15 % vs. 5-12 %, P = 0,284; 72 HAI: 18 % vs. 9-17 %, P = 0,122; n = 4*50 Interaktionstypen, SEM ≤ 5,32/5,69/4,00),
- ähnliche oder reduzierte HR-Rate (24 HAI: 9 % [von gekeimt] vs. 5-11 %, P = 0,708; 48 HAI: 13 % vs. 2-8 %, P = 0,214; 72 HAI: 16 % vs. 0-12 %, Dunnett-Test, P < 0,001-0,497 mit signifikantem Unterschied zu GT02 E12 500 ppm; n = 4*50 Interaktionstypen, SEM ≤ 6,08/5,55/3,23).

Alle Einzelwerte der Vergleichsversuche mit dem GT02 E12-Extrakt können den Anlagen 48 bis 53 entnommen werden.

4.6 Einfluss von *Rheum rhabarbarum* 'The Sutton'-Extrakten auf den antioxidativen Status von Gerste

Anhand der spektralphotometrischen Messungen der Aktivitäten oder Gehalte enzymatischer und nicht-enzymatischer Antioxidantien des pflanzlichen antioxidativen Schutzsystems wurde eine mögliche Beeinflussung des antioxidativen Status von Gerste (Sorte Lawina) bei der postinfektionellen Detoxifizierung von reaktiven Sauerstoffspezies durch präinfektionelle Behandlungen geprüft. Applikationsmaterial waren die EtOAc-Phase des GT10 E14 (1000, 500 ppm) und die stilbenhaltige GT10 E14-Frk 5 (500 ppm).

4.6.1 Aktivitäten der enzymatischen Antioxidantien

Bei den betrachteten enzymatischen Antioxidantien handelte es sich um Katalase (CAT), Dehydroascorbatreduktase (DHAR), Ascorbatperoxidase (APX), Glutathionreduktase (GR) und Monodehydroascorbatreduktase (MDHAR). Relevante Ergebnisse sind in Abb. 39 dargestellt. Zur Beschreibung der Ergebnisse werden die Zeitpunkte in

Stunden (24 HAI, 48 HAI) bzw. Tagen nach der Inokulation (engl. days after inoculation [7 DAI]) hinsichtlich der Daten der erregerefreien Pflanzen mit 24 und 48 h nach der Behandlung (engl. hours after treatment [HAT]) sowie 7 d nach der Behandlung (engl. days after treatment [DAT]) angegeben.

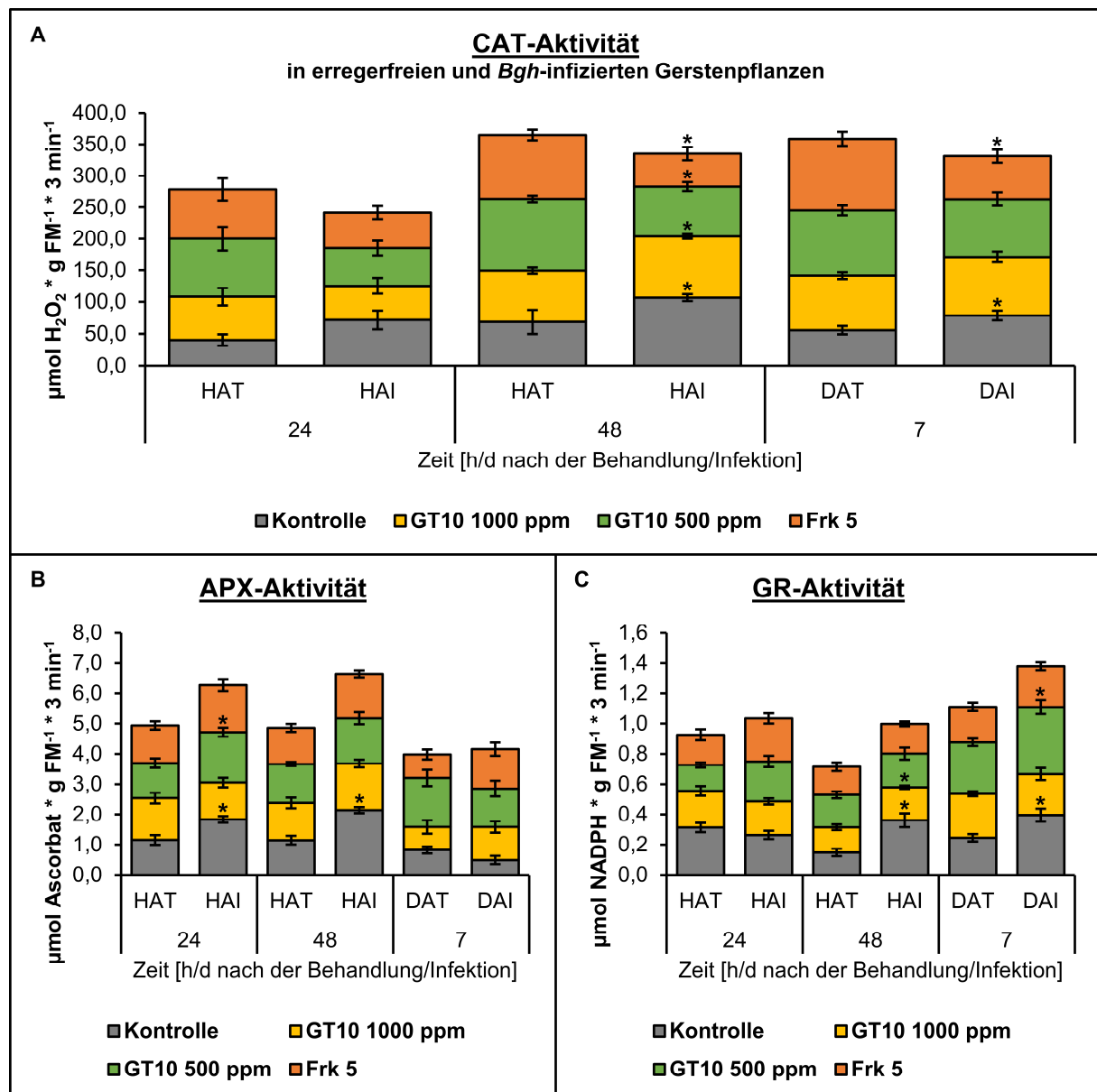


Abb. 39: Effekte von Genotyp 10-Extrakten auf die Aktivität enzymatischer Antioxidantien. A-C) Aktivität der enzymatischen Antioxidantien Katalase (CAT; A), Ascorbatperoxidase (APX; B) und Glutathionreduktase (GR; C) in mit dest. Wasser (Kontrolle), dem Genotyp (GT) 10 Erntejahr 2014 (E14)-Extrakt und der GT10 E14-Fraktion (Frk) 5 (500 ppm) präinfektionell behandelten Gerstenblättern ('Lawina') 24 h bis 7 d nach der Teilinfektion (engl. hours/days after infection [HAI/DAI]) mit *Blumeria graminis* f.sp. *hordei* (*Bgh*; $n \geq 13/7/10$, SEM; H_2O_2 = Wasserstoffperoxid, FM = Frischmasse, NADPH = Nicotinamidadeninindinukleotidphosphat). Signifikante Unterschiede in der Aktivität der *Bgh*-infizierten Gruppe (HAI/DAI) gegenüber der erregerefreien Gruppe (HAT/DAT = engl. hours/days after treatment [Stunden/Tage nach der Behandlung]) sind mit Sternchen markiert (t-Test/Mann-Whitney-Rangsummentest, $P \leq 0,044$).

Die Infektion mit *Bgh* führte in den Kontrollpflanzen nur 48 HAI zu einem größeren Anstieg der CAT-Aktivität im Vergleich zu erregerefreien Pflanzen (Mann-Whitney-Rangsummentest, $P < 0,001$; Abb. 39 A). Zu diesem Zeitpunkt war die CAT-Aktivität in den extraktbehandelten Pflanzen nur bei 1000 ppm GT10 leicht erhöht (t-Test, $P = 0,012$), aber signifikant

geringer als in der Kontrolle (Mann-Whitney-Rangsummentest, $P = 0,011$). In den erregerfreien Pflanzen war die CAT-Aktivität nach der Vorbehandlung mit den Extrakten zu allen Zeitpunkten höher als in den Kontrollpflanzen, im Falle der geringeren GT10-Dosierung und der Frk 5 48 HAT sowie bei allen Extrakten 7 DAT sogar signifikant (Dunnett-Test/Dunn-Test vs. Kontrolle, $P \leq 0,037$).

Bei den Ascorbatredoxstatus regulierenden Enzymen DHAR und MDHAR traten zu keinem Probezeitpunkt nennenswerte signifikante Unterschiede zwischen nicht inokulierten und *Bgh*-infizierten Kontroll- und Extrakt-behandelten Pflanzen auf, auch nicht im Vergleich der vorbehandelten Pflanzen mit der Kontrolle (siehe Anlage 54).

Die APX-Aktivität in den Kontrollpflanzen wurde durch *Bgh* 24 HAI und 48 HAI signifikant erhöht (t-Test, $P \leq 0,002$; Abb. 39 B). In den extraktbehandelten Pflanzen war v.a. 48 HAI eine postinfektionell erhöhte APX-Aktivität zu verzeichnen, die aber nicht signifikant war. 7 DAI konnten behandlungsbedingt jedoch höhere APX-Aktivitäten als in der Kontrolle gemessen werden (Mann-Whitney-Rangsummentest, $P \leq 0,043$).

Die Infektion mit *Bgh* führte bzgl. der GR-Aktivität in den Kontrollpflanzen 48 HAI und 7 DAI zu signifikanten Anstiegen (t-Test, $P \leq 0,004$; Abb. 39 C). In den extraktbehandelten Pflanzen war die GR-Aktivität insbesondere 48 HAI postinfektionell erhöht, aber nur bei 1000 ppm GT10 signifikant (t-Test, $P = 0,044$) und geringer als in der Kontrolle. In den erregerfreien Pflanzen war die GR-Aktivität nach der Vorbehandlung mit den Extrakten 48 HAT erhöht, aber nicht signifikant höher als in den Kontrollpflanzen.

4.6.2 Gehalte der nicht-enzymatischen Antioxidantien

Bei den berücksichtigten nicht-enzymatischen Antioxidantien handelte es sich um Ascorbat bzw. Glutathion (gemessen als reduziertes und oxidiertes Ascorbat [AsA / DAsA] bzw. Glutathion [GSH / GSSG]). Relevante Ergebnisse sind in Abb. 40 dargestellt. Die Messwerte des Gesamt-Ascorbats und des totales Glutathions sind der Anlage 55 zu entnehmen.

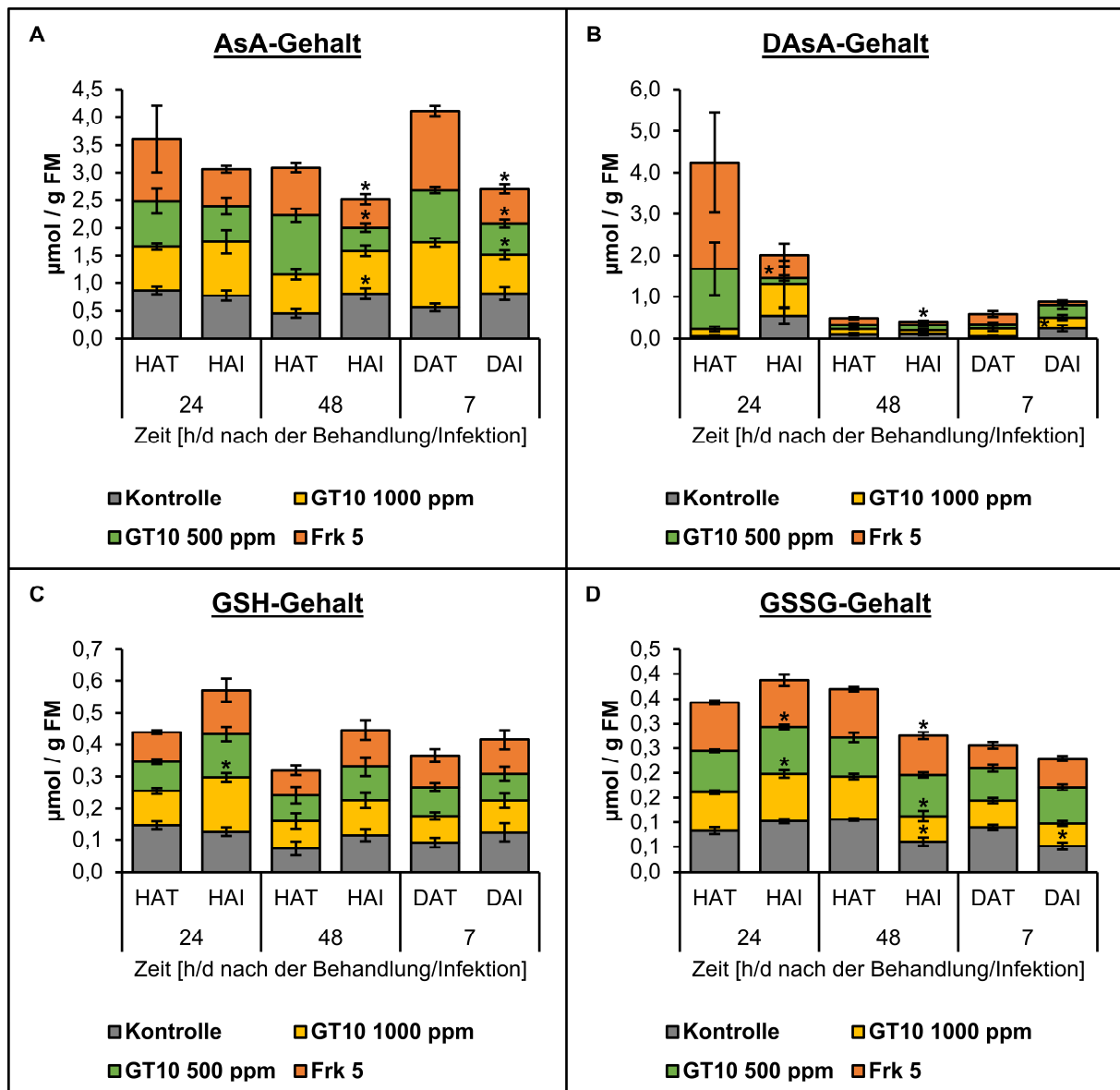


Abb. 40: Effekte von Genotyp 10-Extrakten auf den Gehalt nicht-enzymatischer Antioxidantien. A-D) Gehalte der nicht-enzymatischen Antioxidantien Ascorbat als reduziert (AsA; A) und oxidiertes (DAsA; B) Ascorbat sowie Glutathion als reduziert (GSH; C) und oxidiertes (GSSG; D) Glutathion in mit dest. Wasser (Kontrolle), dem Genotyp (GT) 10 Erntejahr 2014 (E14)-Extrakt und der GT10 E14-Fraktion (Frk 5) (500 ppm) präinfektionell behandelten Gerstenblättern ('Lawina') 24 h bis 7 d nach der Teilinfektion (engl. hours/days after infection [HAI/DAI]) mit *Blumeria graminis* f.sp. *hordei* (*Bgh*; $n \geq 12/4/7/8$, SEM; FM = Frischmasse). Signifikante Unterschiede im Gehalt der *Bgh*-infizierten Gruppe (HAI/DAI) gegenüber der erregerefreien Gruppe (HAT/DAT = engl. hours/days after treatment [Stunden/Tage nach der Behandlung]) sind mit Sternchen markiert (t-Test/Mann-Whitney-Rangsummentest, $P \leq 0,044$).

Die Inokulation mit *Bgh* führte in den Kontrollpflanzen zu einem Anstieg an AsA 48 HAI und 7 DAI (48 HAI: t-Test, $P = 0,014$; Abb. 40 A). In den GT10-behandelten Pflanzen (1000 ppm) war 24 HAI und 48 HAI ein postinfektioneller Anstieg im AsA-Gehalt zu verzeichnen, der jedoch zu keinem Zeitpunkt signifikant war. 48 HAI war der postinfektionelle AsA-Gehalt in den GT10-behandelten Pflanzen (1000 ppm) zudem um $0,02 \mu\text{mol pro g FM}$ geringer als in den Kontrollpflanzen. In den erregerefreien Pflanzen lag der Gehalt an AsA aber 48 HAT und 7 DAT um mindestens $0,24 \mu\text{mol pro g FM}$ höher (GT10 500 ppm, Frk 5 48 HAT: Dunnett-Test, $P \leq 0,026$; alle Behandlungsgruppen 7 DAT: Dunnett-Test, $P \leq 0,002$). Ein ähnliches Ergebnis konnte in den erregerefreien Pflanzen jedoch auch hinsichtlich des Gehalts an DAsA

ermittelt werden (GT10 500 ppm, Frk 5 24 HAT: Dunn-Test vs. Kontrolle, $P \leq 0,007$; Abb. 40 B).

Der DAsA-Gehalt wurde in den Kontrollpflanzen durch die *Bgh*-Infektion nur 7 DAI signifikant erhöht (Mann-Whitney-Rangsummentest, $P = 0,022$). Zu diesem Zeitpunkt war der postinfektionelle DAsA-Gehalt auch in den extraktbehandelten Pflanzen (GT10 1000+500 ppm) erhöht, aber nicht signifikant. Der Gesamtascorbatgehalt wurde postinfektionell nur in den Kontrollpflanzen zu allen Zeitpunkten erhöht (48 HAI: t-Test, $P = 0,004$). In den extraktbehandelten Pflanzen lag fast ausschließlich ein postinfektionell reduzierter Gesamtascorbatgehalt vor (GT10 500 ppm, Frk 5 48 HAI: Mann-Whitney-Rangsummentest, $P \leq 0,001$; GT10 1000+500 ppm, Frk 5 7 DAI: t-Test/Mann-Whitney-Rangsummentest, $P \leq 0,020$). Zudem war im Vergleich zur Kontrolle eine applikationsbedingte Reduktion im postinfektionellen Gesamtascorbatgehalt erkennbar (GT10 500 ppm 24 HAI: Dunn-Test vs. Kontrolle, $P = 0,007$; GT10 500 ppm, Frk 5 48 HAI: Dunnett-Test, $P \leq 0,004$).

Die Inokulation mit *Bgh* führte 48 HAI und 7 DAI auch zu einem leichten, aber nicht signifikanten Anstieg an GSH in den Kontrollpflanzen (Abb. 40 C). In den extraktbehandelten Pflanzen war zu allen Zeitpunkten ein postinfektioneller Anstieg im GSH-Gehalt zu verzeichnen (Ausnahme: GT10 500 ppm 7 DAI), der jedoch nur bei der höheren Konzentration des GT10-Gesamtextraktes (1000 ppm) 24 HAI signifikant erhöht war (t-Test, $P < 0,001$; vs. Kontrolle: t-Test, $P = 0,020$). Im Vergleich zur Kontrolle hatte die Extrakt-Behandlung (bis auf GT10 1000 ppm 24 HAI) weder in den erregerefreien noch *Bgh*-infizierten Pflanzen einen erkennbaren Einfluss auf den GSH-Gehalt. Der Gehalt an GSSG lag in den nicht infizierten und infizierten Kontrollpflanzen in einer ähnlichen Größenordnung (Abb. 40 D). Wenn der postinfektionelle GSSG-Gehalt in den extraktbehandelten Pflanzen (GT10 1000+500 ppm) 24 HAI auch signifikant anstieg (t-Test, $P \leq 0,044$), fielen insgesamt betrachtet die GSSG-Gehalte in den erregerefreien und *Bgh*-infizierten Pflanzen auch hier sehr ähnlich aus. Im Vergleich zur Kontrolle war der GSSG-Gehalt in den infizierten Pflanzen nicht erkennbar reduziert. In den erregerefreien Pflanzen senkte die Applikation der Extrakte den GSSG-Gehalt dagegen teilweise signifikant (GT10 1000+500 ppm 48 HAT: Dunn-Test vs. Kontrolle, $P \leq 0,042$; GT10 1000 ppm, Frk 5 7 DAT: Dunn-Test vs. Kontrolle, $P \leq 0,003$). Der Gesamtglutathiongehalt wurde postinfektionell nur in den Pflanzen zu allen Zeitpunkten erhöht, die mit der hohen GT10-Dosierung vorbehandelt wurden (24 HAI: t-Test, $P < 0,001$). Eine applikationsbedingte Reduktion im postinfektionellen Gesamtglutathiongehalt war nicht erkennbar. Dafür war der Gesamtglutathiongehalt in den erregerefreien Pflanzen durch die Vorbehandlung mit den Extrakten 24 HAT signifikant reduziert (Dunnett-Test, $P \leq 0,014$).

4.6.3 Vergleichsuntersuchungen mit dem Gesamtextrakt aus *Rheum officinale* „Genotyp 02“

In Vergleichsversuchen mit der EtOAc-Phase des GT02 E12 (1000 ppm; $n \geq 3/5$) führte die Infektion mit *Bgh* in den Kontrollpflanzen ebenfalls nur 48 HAI zu einem Anstieg der CAT-Aktivität im Vergleich zu erregerefreien Pflanzen, der jedoch nicht signifikant war. In den extraktbehandelten Pflanzen war zu diesem Zeitpunkt die CAT-Aktivität auch hier signifikant erhöht (t-Test, $P = 0,037$), aber, wie auch beim GT10-Extrakt, signifikant geringer als in der Kontrolle (t-Test, $P = 0,015$). In den erregerefreien Pflanzen war die CAT-Aktivität nach der Vorbehandlung mit dem GT02-Extrakte nur 24 HAT signifikant höher als in den Kontrollpflanzen (t-Test, $P = 0,017$).

Im Unterschied zur GT10-Versuchsreihe war die DHAR-Aktivität infolge der *Bgh*-Infektion in den Kontrollpflanzen 48 HAI zwar signifikant erhöht (t-Test, $P = 0,044$), in den extraktbehandelten Pflanzen zu diesem Zeitpunkt aber stark erniedrigt und signifikant geringer als in der Kontrolle (t-Test, $P < 0,001$). Die MDHAR-Aktivität war infolge der *Bgh*-Infektion in den Kontrollpflanzen 7 DAI signifikant (t-Test, $P < 0,001$) und in den extraktbehandelten Pflanzen 24 HAI signifikant (t-Test, $P = 0,008$) erhöht. Damit traten hinsichtlich dieser beiden Enzyme auch beim GT02-Extrakt keine relevanten Unterschiede auf.

Die APX-Aktivität in den Kontrollpflanzen wurde durch *Bgh* nicht 24 HAI und 48 HAI, wie beim GT10-Extrakt, sondern nur 7 DAI signifikant erhöht (Mann-Whitney-Rangsummentest, $P < 0,001$). In den extraktbehandelten Pflanzen war dagegen zu allen Zeitpunkten eine postinfektionell erhöhte APX-Aktivität zu verzeichnen, die 48 HAI und 7 DAI sogar signifikant war (t-Test, $P \leq 0,007$). Im Vergleich zur Kontrolle wurde die APX durch den GT02-Extrakt aber nur 48 HAI etwas stärker aktiviert (infizierte Pflanzen).

Im Unterschied zur GT10-Versuchsreihe traten bei dem Enzym GR zu keinem Probezeitpunkt nennenswerte signifikante Unterschiede zwischen nicht inokulierten und *Bgh*-infizierten Kontroll- und GT02-behandelten Pflanzen auf, auch nicht im Vergleich der vorbehandelten Pflanzen mit der Kontrolle (siehe Anlage 56).

Im zeitlichen Verlauf war insgesamt betrachtet kein auffallend abweichender Verlauf in den Enzymaktivitäten zwischen den Kontrollen und dem extraktbehandelten Blattmaterial zu verzeichnen.

Der AsA-Gehalt stieg in den Kontrollpflanzen nach der *Bgh*-Infektion kontinuierlich an (48 HAI, 7 DAI: t-Test, $P \leq 0,028$). In den GT02-behandelten Pflanzen war dies 24 HAI und 48 HAI ähnlich. Zu diesen beiden Zeitpunkten war der postinfektionelle Gehalt an AsA im Vergleich zur Kontrolle erhöht. In den erregerefreien Pflanzen war der AsA-Gehalt im Vergleich zur Kontrolle zu allen Zeitpunkten erhöht (7 DAT: t-Test, $P = 0,005$). Die DAsA-Konzentration konnte wegen größtenteils negativen Datensätzen nicht bewertet werden. Der postinfektionelle Gesamtascorbatgehalt war in den Kontrollpflanzen 24 HAI und 48 HAI und in den extraktbehandelten Pflanzen zu allen Zeitpunkten reduziert, lag in den behandelten Pflanzen aber 24 HAI und 7 DAI höher als in der Kontrolle (7 DAI: t-Test, $P = 0,044$). In den nicht infizierten Pflanzen führte die Vorbehandlung mit den Extrakten 24 HAI und 48 HAI zu einem geringeren Gesamtascorbatgehalt.

Der GSH-Gehalt stieg in den Kontrollpflanzen nach der *Bgh*-Infektion 24 HAI und 7 DAI an (7 DAI: t-Test, $P = 0,010$). In den GT02-behandelten Pflanzen war dies zu allen Zeitpunkten der Fall, wobei der Gehalt an GSH nur 24 HAI höher als in der Kontrolle lag. Hinsichtlich des postinfektionellen GSSG-Gehalts war in den Kontrollpflanzen 48 HAI und 7 DAI ein Anstieg zu verzeichnen, der in den GT02-behandelten Pflanzen 48 HAI zwar auch messbar war, 7 DAI aber abnahm und zu diesem Zeitpunkt niedriger lag als in der Kontrolle (t-Test, $P = 0,036$). Der postinfektionelle Gesamtglutathiongehalt war in den Kontrollpflanzen zu allen Zeitpunkten (7 DAI: t-Test, $P = 0,002$) und in den extraktbehandelten Pflanzen 24 HAI und 48 HAI erhöht. Zudem lag er in den behandelten Pflanzen 24 HAI und 48 HAI höher als in der Kontrolle. In den nicht infizierten Pflanzen führte die Vorbehandlung mit den Extrakten zu allen Zeitpunkten zu einem höheren Gesamtglutathiongehalt (siehe Anlage 57).

4.7 Ableitung resistenzinduzierender Effekte von *Rheum rhabarbarum* ‘The Sutton’-Extrakten im Pathosystem *Arabidopsis thaliana* – *Erysiphe cruciferarum* (Mutantenscreening)

Im Folgenden werden die Bonitur- und Konidienzählungs-bezogenen Ergebnisse des Mutantenscreenings dargestellt und erläutert. Das Screening wurde mit *Arabidopsis thaliana*-Mutanten durchgeführt, die in der Akkumulation von bzw. in der Reaktion auf Schlüsselregulatoren abwehrrelevanter Signalwege beeinträchtigt sind. So konnte zwischen direkten antifungalen und resistenzinduzierenden, d.h. lokal erworbene Resistenz (engl. local acquired resistance [LAR])- oder systemisch erworbene Resistenz (engl. systemic acquired resistance [SAR])-induzierenden Effekten von *Rheum*-Wurzelextrakten am Beispiel des GT10 E14 unterschieden werden. Nach der präinfektionellen Behandlung der Pflanzen mit der EtOAc-Phase des GT10 E14 (0,5 %) wurden die Blätter mit Mehлтаukonidien (*Erysiphe cruciferarum* [*E.c.*]) infiziert und der *Arabidopsis*-BST nach einer definierten Inkubationsdauer ausgewertet. Die Kontrollgruppen bildeten dest. Wasser-behandelte Pflanzen und der *Arabidopsis*-WT Col-8.

Ergebnisse von Vorversuchen mit dem Extrakt des GT02 E12 (Befallsbonitur ganzer Pflanzen, Konidienauszählung ganzer Blätter) können der Anlage 58 entnommen werden. Zu erwähnen ist, dass die betreffenden Resultate für die Methodenetablierung, wie sie im Material und Methoden-Teil beschrieben ist, maßgebend waren.

Allgemein konnte über alle Versuche hinweg beobachtet werden, dass das Pilzmycel auf den mit dem GT10-Extrakt behandelten Col-8-Blättern meist nur aus einzelnen Konidienträgern statt einem dichten Geflecht aus ESHs bestand (Abb. 41). Demensprechend höher war auch der Grünanteil der Blätter.

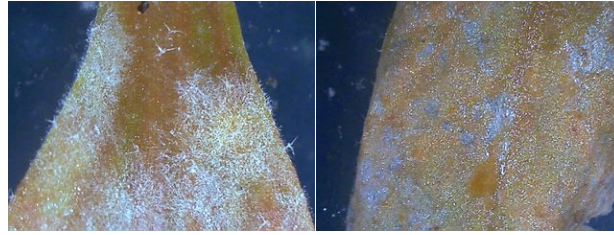


Abb. 41: Wasserbehandelte (l.) und extraktbehandelte (r.; Genotyp 10) *Arabidopsis*-Blätter des Wildtyps Col-8 nach der Infektion mit *Erysiphe cruciferarum* (6,7-fache Vergrößerung).

4.7.1 Screening Phytoalexin-defizienter Mutanten

Mit *pad4-1* und *pad2-1* befanden sich zwei Phytoalexin-defiziente *Arabidopsis*-Mutanten im Test, deren Versuchsergebnisse unterschiedlich ausfielen.

Bei *pad4-1* ließ sich aufgrund hemmender Effekte des GT10-Extraktes auf das Mycelwachstum und die Konidienabschnürung von *E.c.* beim WT und der Mutante kein Hinweis auf eine Camalexin-abhängige Wirkung der Extraktprobe feststellen (PAD4: Lipase-ähnliches Protein mit Bedeutung in der Camalexinbiosynthese und der Salicylsäure [engl. salicylic acid {SA}]- bzw. R-Gen-vermittelten Abwehr [GLAZEBROOK et al., 1997; ZHOU et al., 1998; ZHU et al., 2011]). Die betreffenden Daten sind der Anlage 59 zu entnehmen.

Die Versuche mit der sowohl Indol-Glucosinolat (iGS)- als auch Camalexin- sowie SA-defizienten Mutante *pad2-1* (FERRARI et al., 2003; PARISY et al., 2006; WANG Y et al., 2013) lieferten dagegen Hinweise auf eine Camalexinabhängigkeit (Abb. 42).

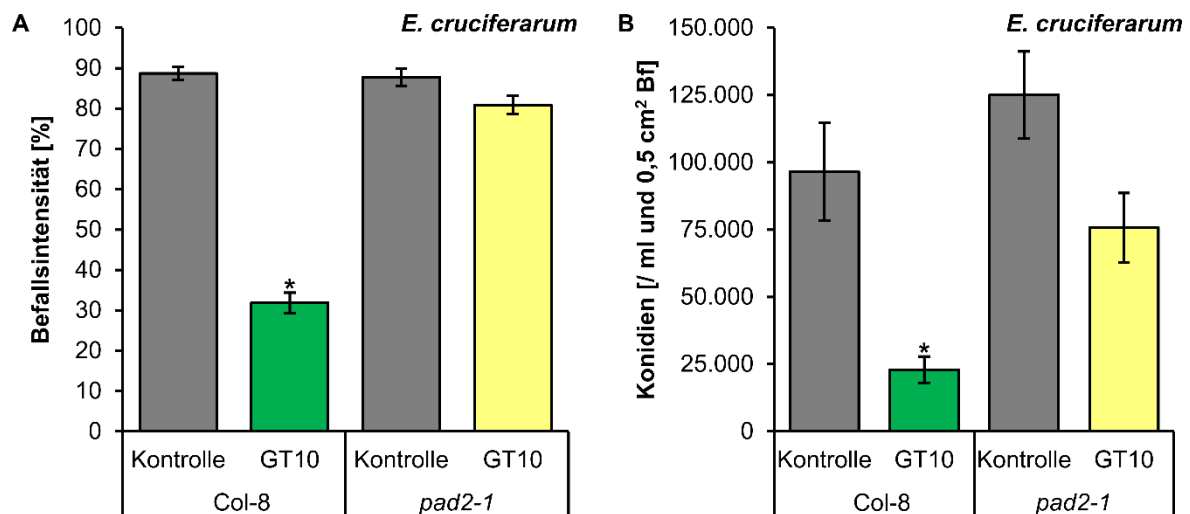


Abb. 42: Effekte des Genotyp 10-Extraktes auf den Mehltaubefall der Camalexin-defizienten *Arabidopsis*-Mutante *pad2-1*. A) Intensität des Befalls von *Arabidopsis*-Blättern des Wildtyps Col-8 und der Mutante *pad2-1* 7-8 d nach der Infektion mit *Erysiphe cruciferarum* im Blattsegmenttest mit der präinfektionell applizierten Ethylacetat-Phase (0,5 %) des Genotyps (GT) 10 Erntejahr 2014 (vier unabh. Versuche, $n \geq 57$, SEM). B) Zahl an Konidien von *E. cruciferarum* auf den zugehörigen Blattausschnitten (Bf; $n = 64$, SEM). Signifikante Unterschiede im Befallsgrad gegenüber der jeweiligen Kontrolle (H₂O = dest. Wasser) sind mit Sternchen markiert ($P < 0,050$).

Wie aus Abb. 42 A ersichtlich, unterschied sich die Befallsintensität der behandelten *pad2-1*-Blätter (\emptyset 81 %) mit $P = 0,304$ nicht signifikant von der zugehörigen Kontrolle (\emptyset 88 %), die Befallsintensitäten der behandelten Blätter des WT und der Mutante mit $P < 0,001$ jedoch signifikant (Dunn-Test). Hinsichtlich der Konidienauszählung (Abb. 42 B) lieferten die statistischen Analysen (Dunn-Test/Tukey-Test) mit $P = 0,093/0,073$ (*pad2-1* unbehandelt vs. behandelt) und $P = 0,701/0,397$ (*pad2-1* unb. vs. Col-8 unb.) die gleichen Resultate.

Aus diesem Grund wurde mit der Mutante *pad2-1* zudem ein Screening mit den GT10 E14 (EtOAc-Phase)-Frks 2 und 5 (je 0,1 %) sowie den entsprechend ihrer jeweiligen Hauptsubstanzen gewählten Standards ECG und RES (je 0,1 %) durchgeführt (Abb. 43).

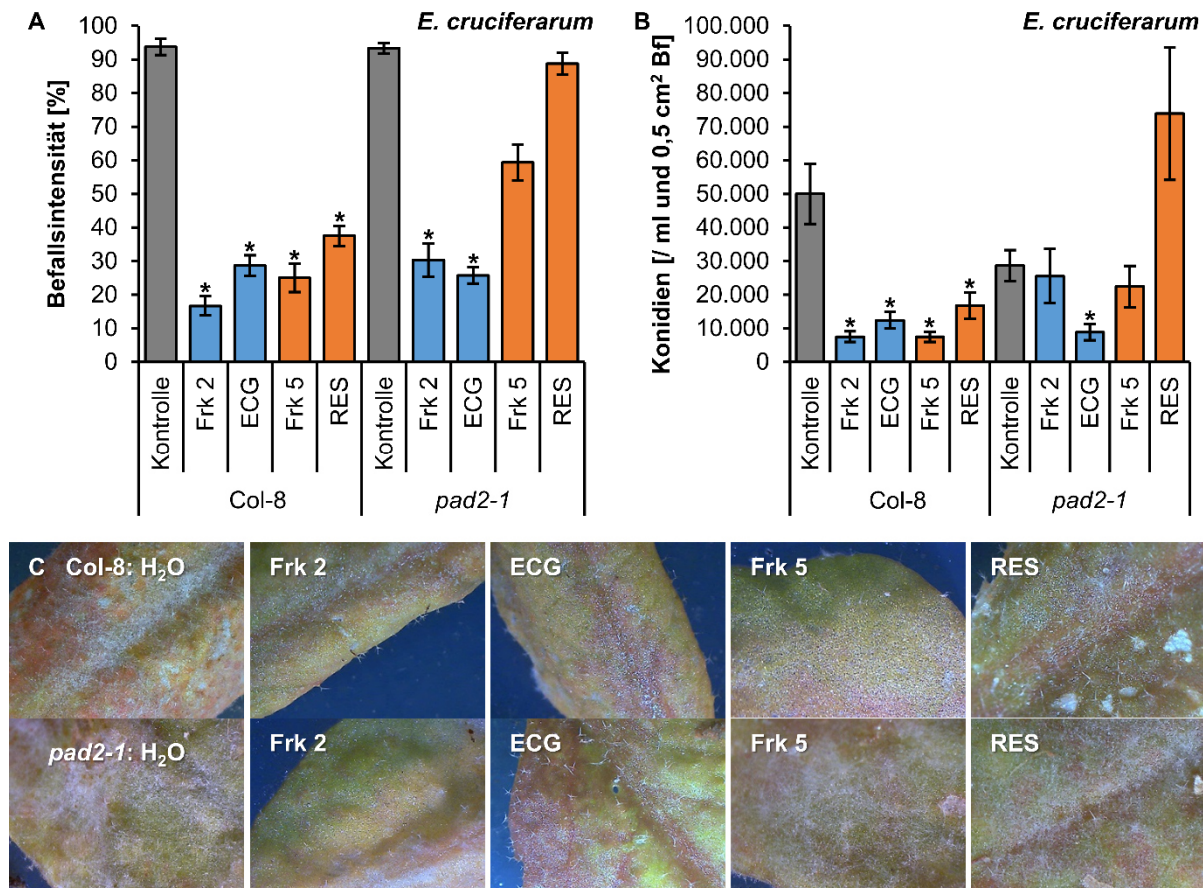


Abb. 43: Effekte von Genotyp 10-Fractionen und Polyphenolstandards auf den Mehltaubefall der Camalexin-defizienten *Arabidopsis*-Mutante *pad2-1*. **A)** Intensität des Befalls von *Arabidopsis*-Blättern des Wildtyps Col-8 und der Mutante *pad2-1* 8-9 d nach der Infektion mit *Erysiphe cruciferarum* im Blattsegmenttest mit den präinfektionell applizierten Genotyp 10-Fractionen (Frks) 2 und 5 (0,1 %) sowie den Standardsubstanzen Epicatechingallat (ECG) und Resveratrol (RES; 0,1 %; $n \geq 13$, SEM). **B)** Zahl an Konidien von *E. cruciferarum* auf den zugehörigen Blattausschnitten (Bf; $n \geq 15$ in Doppelbestimmung, SEM). Signifikante Unterschiede im Befallsgrad gegenüber der jeweiligen Kontrolle sind mit Sternchen markiert ($P < 0,050$). **C)** Die zugehörigen Bilder zeigen das gesunde Mycel mit dichtem Netzwerk sekundärer Hyphen auf unbehandelten (H₂O = dest. Wasser) und Stilben-behandelten (Frk 5, RES) Blättern (*pad2-1*) sowie das weniger intensive und nicht vitale Pilzwachstum auf Flavan-3-ol-behandelten (Frk 2, ECG) Blättern (6,7-10-fache Vergrößerung).

Hinsichtlich Abb. 43 A (und C) fiel auf, dass die Frk 5 und die Standardsubstanz RES, d.h. die Stilben-Verbindungen, die Mehltauinfektion bei *pad2-1* nur schwach hemmen konnten bzw. beinahe unwirksam waren (Dunn-Test, $P = 1,000$), während dies bei Col-8 nicht der Fall war ($P \leq 0,002$). Die RES-behandelten *pad2-1*-Blätter unterschieden sich in ihrer Befallsintensität auch von den behandelten Col-8- ($P \leq 0,009$) sowie den mit Frk 2 und ECG Flavan-3-ol-behandelten *pad2-1*-Blättern signifikant ($P < 0,001$), jedoch nicht von den Frk 5-behandelten *pad2-1*-Blättern ($P = 1,000$). Hinsichtlich der Konidienauszählung (Abb. 43 B) fielen die Ergebnisse ähnlich aus, wenn auch die Konidienanzahl auf den Frk 2-behandelten *pad2-1*-Blättern keinen signifikanten Unterschied zur zugehörigen Kontrollgruppe zeigte ($P = 0,160$).

Wie am Beispiel der iGS-Mutante *MYB51* (WANG Y et al., 2013) nachgewiesen werden konnte (drei unabh. Versuche, $n \geq 45$), gab es jedoch keine Hinweise auf eine iGS-abhängige Wirkung des GT10-Extraktes im Hinblick auf das Transkriptionsfaktorgen *MYB51*, welches positiv regulierend in die iGS-Biosynthese und die biotische Abwehr eingebunden ist (GIGOLASHVILI et al., 2007). Einzelwerte und Statistikdaten sind der Anlage 60 zu entnehmen.

4.7.2 Screening Ethylen-defizienter Mutanten

Mit der Mutante *ein2-1* war ein Ethylen (ET)-insensitiver Vertreter im Screening, dessen vier unabhängige Versuche ($n \geq 62$) in der zusammengefassten Datenauswertung und im Vergleich zum Vorversuch letztlich keine Hinweise auf eine ET-abhängige Wirksamkeit des GT10-Extraktes ergaben (siehe Anlage 61). Dies resultierte aus dem Unterschied zwischen der Befallsintensität der extrakt- und wasserbehandelten *ein2-1*-Blätter, der nur in zwei der vier Versuche nicht signifikant war (Tukey-Test, $P = 0,265/0,142$).

4.7.3 Screening Jasmonsäure-defizienter Mutanten

Ebenfalls in das Screening integriert waren mit *jar1-1* und *eds8* Vertreter Jasmonsäure (engl. jasmonic acid [JA])-resistenter (induzierte systemische Resistenz [engl. induced systemic resistance {ISR}]-beeinträchtigter) Mutanten. Während das „jasmonate resistant 1“-Gen (*JAR1*) eine JA-Aminosäuresynthetase kodiert, die JA durch die Konjugation zu JA-Isoleucin und damit ihrer signalaktiveren Form aktiviert (TURNER et al., 2002; STASWICK und TIRYAKI, 2004), wurde für die Gene „enhanced disease susceptibility 8“ (*EDS8*) und *EIN2* eine Beeinflussung des ET- und JA-Signalwegs nachgewiesen (GLAZEBROOK et al., 2003). In Tab. 20 sind die Daten der statistischen Auswertung der durch die Befallsbonitur und Konidienauszählung erhaltenen Werte für diese Mutanten zusammengefasst. Die Studien umfassten insgesamt je vier unabhängige Versuche.

Tab. 20: Befallsbonitur- und Konidienauszählungs-bezogene Daten des Screenings der Jasmonsäure-defizienten *Arabidopsis*-Mutanten *jar1-1* und *eds8*.

Mutante	Befallsbonitur				Konidienauszählung		
<i>jar1-1</i>:	n ≥ 60				n ≥ 60		
Befallsintensität	Dunn-Test, <i>P</i> < 0,050	<i>P</i>	<i>P</i> < 0,050	Konidienanzahl	Dunn-Test, <i>P</i> < 0,050	<i>P</i>	<i>P</i> < 0,050
Ø 88 vs. 35 %	Col-8_H ₂ O vs. Col-8_GT10	< 0,001	Yes	Ø 43T vs. 15T Konidien/0,5cm ²	Col-8_H ₂ O vs. Col-8_GT10	0,003	Yes
Ø 67 vs. 19 %	<i>jar1-1</i> _H ₂ O vs. <i>jar1-1</i> _GT10	< 0,001	Yes	Ø 43T vs. 9T Konidien/0,5cm ²	<i>jar1-1</i> _H ₂ O vs. <i>jar1-1</i> _GT10	< 0,001	Yes
Ø 88 vs. 67 %	Col-8_H ₂ O vs. <i>jar1-1</i> _H ₂ O	0,001	Yes	Ø 43T vs. 43T Konidien/0,5cm ²	Col-8_H ₂ O vs. <i>jar1-1</i> _H ₂ O	0,095	No
Ø 35 vs. 19 %	Col-8_GT10 vs. <i>jar1-1</i> _GT10	0,036	Yes	Ø 15T vs. 9T Konidien/0,5cm ²	Col-8_GT10 vs. <i>jar1-1</i> _GT10	0,037	Yes
Mutante	Befallsbonitur				Konidienauszählung		
<i>eds8</i>:	n ≥ 54				n = 64		
Befallsintensität	Dunn-Test, <i>P</i> < 0,050	<i>P</i>	<i>P</i> < 0,050	Konidienanzahl	Tukey-Test, <i>P</i> < 0,050	<i>P</i>	<i>P</i> < 0,050
Ø 88 vs. 42 %	Col-8_H ₂ O vs. Col-8_GT10	< 0,001	Yes	Ø 93T vs. 23T Konidien/0,5cm ²	Col-8_H ₂ O vs. Col-8_GT10	< 0,001	Yes
Ø 60 vs. 39 %	<i>eds8</i> _H ₂ O vs. <i>eds8</i> _GT10	0,001	Yes	Ø 18T vs. 29T Konidien/0,5cm ²	<i>eds8</i> _H ₂ O vs. <i>eds8</i> _GT10	0,070	No
Ø 88 vs. 60 %	Col-8_H ₂ O vs. <i>eds8</i> _H ₂ O	< 0,001	Yes	Ø 93T vs. 18T Konidien/0,5cm ²	Col-8_H ₂ O vs. <i>eds8</i> _H ₂ O	< 0,001	Yes
Ø 42 vs. 39 %	Col-8_GT10 vs. <i>eds8</i> _GT10	1,000	No	Ø 23T vs. 29T Konidien/0,5cm ²	Col-8_GT10 vs. <i>eds8</i> _GT10	0,959	No

Anmerkungen: vs. = versus, Col-8 = *Arabidopsis*-Wildtyp, H₂O = dest. Wasser, GT = Genotyp (GT10 Erntejahr 2014 Ethylacetat-Phase 0,5 %), T = Tausend

Die Tab. 20 zeigt hinsichtlich der Mutante *jar1-1* signifikante Unterschiede in der Befallsintensität wasserbehandelter und extraktbehandelter Col-8- sowie *jar1-1*-Blätter auf. Mittels der Konidienauszählung konnte das Ergebnis bestätigt werden. Dies deutete auf eine nicht JA-abhängigen Wirksamkeit des getesteten *Rheum*-Wurzelextraktes hin. Die Ergebnisse ähnelten denen der Versuche mit der Mutante *eds8*, wobei hinsichtlich der Konidienauszählung (*eds8*_H₂O vs. *eds8*_GT10) ein abweichendes Resultat vorlag.

Da bereits die *ein2-1*-Ergebnisse different ausfielen und nach GLAZEBROOK et al. (2003) auch eine Beeinflussung des ET-Signalwegs vorliegt, wurde mit der JA-insensitiven Mutante *eds8* (PETERSEN et al., 2000; BRODERSEN et al., 2006; WANG Y et al., 2013), wie bereits mit der Mutante *pad2-1*, zudem ein Versuch mit den GT10-Frks 2 und 5 sowie den Standardsubstanzen ECG und RES durchgeführt (Abb. 44).

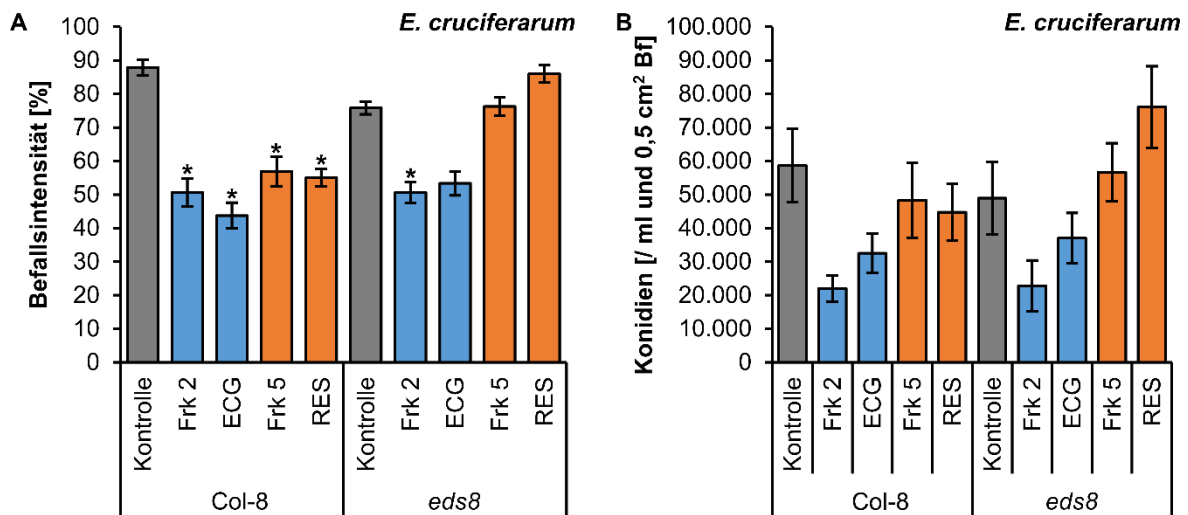


Abb. 44: Effekte von Genotyp 10-Fractionen und Polyphenolstandards auf den Mehltaubbefall der Jasmonsäure-defizienten *Arabidopsis*-Mutante *eds8*. A) Intensität des Befalls von *Arabidopsis*-Blättern des Wildtyps Col-8 und der Mutante *eds8* 7-8 d nach der Infektion mit *Erysiphe cruciferarum* im Blattsegmenttest mit den präinfektionell applizierten Genotyp 10-Fractionen (Frks) 2 und 5 (0,1 %) sowie den Standardsubstanzen Epicatechingallat (ECG) und Resveratrol (RES; 0,1 %; $n \geq 12$, SEM). B) Zahl an Konidien auf den zugehörigen Blattausschnitten (Bf; $n \geq 14$ in Doppelbestimmung, SEM). Signifikante Unterschiede im Befallsgrad gegenüber der jeweiligen Kontrolle (H_2O = dest. Wasser) sind mit Sternchen markiert ($P < 0,050$).

Die Behandlung der Pflanzen mit Flavan-3-olen hatte, zumindest bei Frk 2, sowohl bei Col-8 als auch *eds8* signifikant hemmende Effekte auf die Befallsintensität (Dunn-Test, $P \leq 0,024$; Abb. 44 A). Dies war hinsichtlich der stilbenhaltigen Frk 5 und RES, im Unterschied zum WT ($P = <0,001$), nicht gegeben ($P = 1,000$). Die Befallsintensitäten der Frk 5- und RES-behandelten *eds8*-Blätter unterschieden sich zudem signifikant von denen der Frk 2- und ECG-behandelten Blattproben ($P \leq 0,043$), untereinander aber nicht ($P = 1,000$). Auch dies stellte einen Unterschied zum WT dar ($P = 1,000$). Die Beobachtungen konnten jedoch nicht auf die Anzahl der abgeschwemmten Konidien übertragen werden, da aufgrund von hohen Standardabweichungen weder bei Col-8 noch bei *eds8* signifikante Unterschiede ermittelt werden konnten (Abb. 44 B). Obwohl die Werte auch hier über dem Kontrollwert lagen, wick die auf den Frk 5- und RES-behandelten Blättern ermittelte Konidienzahl lediglich von der auf den Frk 2-behandelten Blattproben signifikant ab ($P \leq 0,001$).

4.7.4 Screening Salicylsäure-defizienter Mutanten

SA-defiziente Mutanten flossen ebenfalls in das Screening ein. Die Tab. 21 gibt zunächst einen Überblick über die betreffenden Versuche mit den Mutanten *npr1-1* und *npr1-3* sowie *eds5-1* (je drei bis vier unabh. Versuche).

Arabidopsis-Mutanten vom Typ *npr1* sind bzgl. der Expression von SA-, 2,6-Dichlorisonikotinsäure- und Pathogen-responsiven Genen defizient (CAO et al., 1994).

Tab. 21: Befallsbonitur- und Konidienauszählungs-bezogene Daten des Screenings der Salicylsäure-defizienten *Arabidopsis*-Mutanten *npr1-1*, *npr1-3* sowie *eds5-1*.

Mutante	Befallsbonitur			Konidienauszählung			
<i>npr1-1</i>:	n ≥ 46			n = 48			
Befallsintensität	Dunn-Test, P < 0,050	P	P < 0,050	Konidienanzahl	Tukey-Test, P < 0,050	P	P < 0,050
Ø 89 vs. 34 %	Col-8_H ₂ O vs. Col-8_GT10	< 0,001	Yes	Ø 53T vs. 17T Konidien/0,5cm ²	Col-8_H ₂ O vs. Col-8_GT10	< 0,001	Yes
Ø 82 vs. 40 %	<i>npr1-1</i> _H ₂ O vs. <i>npr1-1</i> _GT10	< 0,001	Yes	Ø 78T vs. 18T Konidien/0,5cm ²	<i>npr1-1</i> _H ₂ O vs. <i>npr1-1</i> _GT10	0,001	Yes
Ø 89 vs. 82 %	Col-8_H ₂ O vs. <i>npr1-1</i> _H ₂ O	1,000	No	Ø 53T vs. 78T Konidien/0,5cm ²	Col-8_H ₂ O vs. <i>npr1-1</i> _H ₂ O	0,958	No
Ø 34 vs. 40 %	Col-8_GT10 vs. <i>npr1-1</i> _GT10	1,000	No	Ø 17T vs. 18T Konidien/0,5cm ²	Col-8_GT10 vs. <i>npr1-1</i> _GT10	0,997	No
Mutante	Befallsbonitur			Konidienauszählung			
<i>npr1-3</i>:	n ≥ 60			n = 64			
Befallsintensität	Dunn-Test, P < 0,050	P	P < 0,050	Konidienanzahl	Tukey-Test, P < 0,050	P	P < 0,050
Ø 88 vs. 35 %	Col-8_H ₂ O vs. Col-8_GT10	< 0,001	Yes	Ø 43T vs. 15T Konidien/0,5cm ²	Col-8_H ₂ O vs. Col-8_GT10	< 0,001	Yes
Ø 80 vs. 54 %	<i>npr1-3</i> _H ₂ O vs. <i>npr1-3</i> _GT10	< 0,001	Yes	Ø 105T vs. 22T Konidien/0,5cm ²	<i>npr1-3</i> _H ₂ O vs. <i>npr1-3</i> _GT10	< 0,001	Yes
Ø 88 vs. 80 %	Col-8_H ₂ O vs. <i>npr1-3</i> _H ₂ O	1,000	No	Ø 43T vs. 105T Konidien/0,5cm ²	Col-8_H ₂ O vs. <i>npr1-3</i> _H ₂ O	0,132	No
Ø 35 vs. 54 %	Col-8_GT10 vs. <i>npr1-3</i> _GT10	0,009	Yes	Ø 15T vs. 22T Konidien/0,5cm ²	Col-8_GT10 vs. <i>npr1-3</i> _GT10	0,727	No
Mutante	Befallsbonitur			Konidienauszählung			
<i>eds5-1</i>:	n ≥ 61			n = 64			
Befallsintensität	Dunn-Test, P < 0,050	P	P < 0,050	Konidienanzahl	Tukey-Test, P < 0,050	P	P < 0,050
Ø 89 vs. 32 %	Col-8_H ₂ O vs. Col-8_GT10	< 0,001	Yes	Ø 97T vs. 23T Konidien/0,5cm ²	Col-8_H ₂ O vs. Col-8_GT10	< 0,001	Yes
Ø 87 vs. 71 %	<i>eds5-1</i> _H ₂ O vs. <i>eds5-1</i> _GT10	< 0,001	Yes	Ø 199T vs 103T Konidien/0,5cm ²	<i>eds5-1</i> _H ₂ O vs. <i>eds5-1</i> _GT10	0,722	No
Ø 89 vs. 87 %	Col-8_H ₂ O vs. <i>eds5-1</i> _H ₂ O	1,000	No	Ø 97T vs. 199T Konidien/0,5cm ²	Col-8_H ₂ O vs. <i>eds5-1</i> _H ₂ O	0,032	Yes
Ø 32 vs. 71 %	Col-8_GT10 vs. <i>eds5-1</i> _GT10	< 0,001	Yes	Ø 23T vs. 103T Konidien/0,5cm ²	Col-8_GT10 vs. <i>eds5-1</i> _GT10	< 0,001	Yes

Anmerkungen: vs. = versus, Col-8 = *Arabidopsis*-Wildtyp, H₂O = dest. Wasser, GT = Genotyp (GT10 Erntejahr 2014 Ethylacetat-Phase 0,5 %), T = Tausend

Bezüglich der SA-gesteuerten Abwehrwege der betreffenden Mutanten *npr1-1* und *npr1-3* lagen keine abhängigen Wirkungen des GT10-Extraktes vor. Die signifikante Abweichung in der Befallsintensität behandelter Col-8- und *npr1-3*-Blätter war auf den um knapp 20 % höheren Befall der behandelten *npr1-3*-Blätter zurückführbar.

Einen Unterschied zu den oben aufgeführten Daten, lieferten die Versuche mit der Mutante *eds5-1* (Abb. 45).

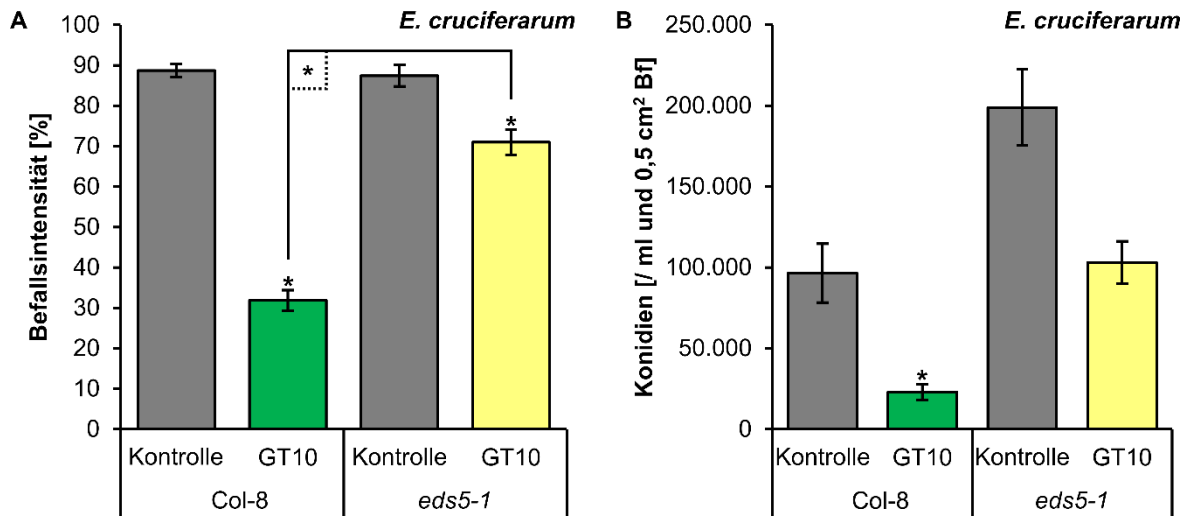


Abb. 45: Effekte des Genotyp 10-Extraktes auf den Mehltaubefall der Salicylsäure-defizienten *Arabidopsis*-Mutante *eds5-1*. A) Intensität des Befalls von *Arabidopsis*-Blättern des Wildtyps Col-8 und der Mutante *eds5-1* 7-8 d nach der Infektion mit *Erysiphe cruciferarum* im Blattsegmenttest mit der präinfektionell applizierten Ethylacetat-Phase (0,5 %) des Genotyps (GT) 10 Erntejahr 2014 (vier unabh. Versuche, $n \geq 61$, SEM). B) Zahl an Konidien von *E. cruciferarum* auf den zugehörigen Blattausschnitten (Bf; $n = 64$, SEM). Signifikante Unterschiede im Befallsgrad gegenüber der jeweiligen Kontrolle ($H_2O =$ dest. Wasser) sind mit Sternchen markiert ($P < 0,050$).

Die *Arabidopsis*-Mutante *eds5-1* ist dafür bekannt, postinfektionell nur geringe SA-Mengen und *PR1* Transkripte zu akkumulieren, was in einer hohen Anfälligkeit gegenüber Pathogenen resultiert. Das betroffene Protein zählt zur „MATE (Multi-antimicrobial extrusion protein) Transporter Family“ (NAWRATH et al., 2002; FERRARI et al., 2003). Bei der SA-defizienten Mutante war die Befallsintensität der extraktbehandelten Blätter im Vergleich zu denen des WT signifikant erhöht (Dunn-Test, $P < 0,001$; Abb. 45 A). Hinsichtlich der Auszählung wich die Anzahl der Konidien auf den behandelten *eds5-1*-Blättern nicht signifikant von der Konidienanzahl auf den Kontrollblättern ab (Abb. 45 B). Dieses Resultat konnte im Rahmen der Bonitur aufgrund eines signifikanten Unterschieds zwar nicht ermittelt werden, stellte aber mit einer Befallsdifferenz von nur 16 % gegenüber der zugehörigen Kontrolle und dem infolge der Mehltauinfektion nahezu abgestorbenen Blattmaterial eine nur geringfügige Abweichung dar.

Auf Grundlage der *eds5-1*-Resultate wurde eine spezifische SA-abhängige Wirkung des GT10-Gesamtextraktes vermutet. Folglich wurde das Screening mit den Frks und Reinsubstanzen auch am Beispiel dieser Mutante durchgeführt (Abb. 46).

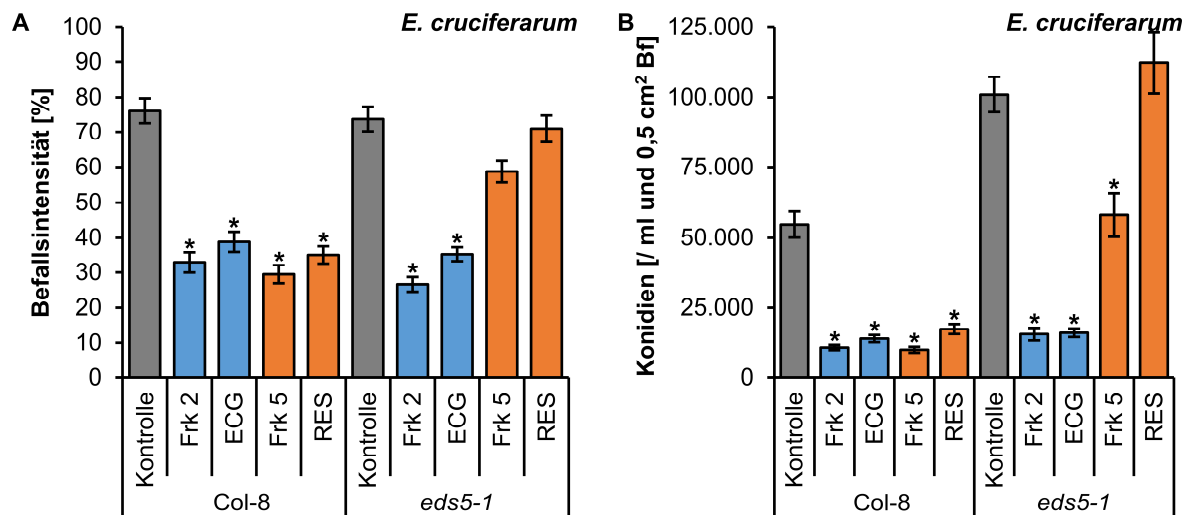


Abb. 46: Effekte von Genotyp 10-Fractionen und Polyphenolstandards auf den Mehltaubefall der Salicylsäure-defizienten *Arabidopsis*-Mutante *eds5-1*. **A)** Intensität des Befalls von *Arabidopsis*-Blättern des Wildtyps Col-8 und der Mutante *eds5-1* 7-9 d nach der Infektion mit *Erysiphe cruciferarum* im Blattsegmenttest mit den präinfektionell applizierten Genotyp 10-Fractionen (Frks) 2 und 5 (0,1 %) sowie den Standardsubstanzen Epicatechingallat (ECG) und Resveratrol (RES; 0,1 %; drei unabh. Versuche, $n \geq 46$, SEM). **B)** Zahl an Konidien von *E. cruciferarum* auf den zugehörigen Blattausschnitten (Bf; $n \geq 47$ in Doppelbestimmung, SEM). Signifikante Unterschiede im Befallsgrad gegenüber der jeweiligen Kontrolle (H₂O = dest. Wasser) sind mit Sternchen markiert ($P < 0,050$).

Hinsichtlich der Boniturdaten lagen im Falle von Col-8 signifikante Abweichungen in der Befallsintensität der Behandlungsgruppen gegenüber der Kontrolle vor. Dies war auch bzgl. der Befallsintensität der Frk 2- und ECG-behandelten *eds5-1*-Blätter gegeben (Dunn-Test, $P < 0,001$), jedoch nicht bzgl. der Frk 5- und RES-Behandlungen (Abb. 46 A). Unter gesonderter Betrachtung von Frk 5 und RES bewirkten diese bei *eds5-1* signifikant von den Frk 2- und ECG-Behandlungsgruppen abweichende Befallsintensitäten ($P < 0,001$). Untereinander lag kein signifikanter Befallsunterschied vor. Nach der Auszählung der Konidien-dichte pro Blattausschnitt konnte der visuelle Eindruck (Abb. 47) mit wenigen Ausnahmen bestätigt werden (Abb. 46 B).

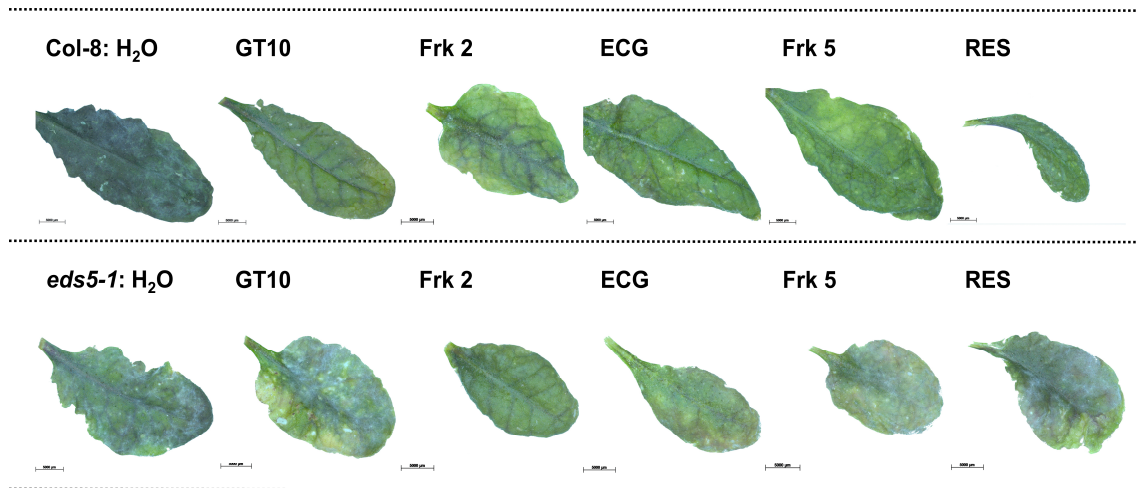


Abb. 47: Effekte von Genotyp 10-Extrakten und Polyphenolstandards auf den Mehltaubefall der Salicylsäure-defizienten *Arabidopsis*-Mutante *eds5-1* (Bildmaterial). Intensität des Befalls von *Arabidopsis*-Blättern des Wildtyps Col-8 und der Mutante *eds5-1* 7-9 d nach der Infektion mit *Erysiphe cruciferarum* im Blattsegmenttest mit der präinfektionell applizierten Ethylacetat-Phase (0,5 %) des Genotyps (GT) 10 Erntejahr 2014 und den präinfektionell applizierten GT10-Fractionen (Frks) 2 und 5 (0,1 %) sowie den Standardsubstanzen Epicatechingallat (ECG) und Resveratrol (RES; 0,1 %). Die Bilder zeigen das gesunde Mycel mit dichtem Netzwerk sekundärer Hyphen auf unbehandelten (H_2O = dest. Wasser), GT10-behandelten (*eds5-1*) und Stilben-behandelten (Frk 5, RES) Blättern (*eds5-1*) sowie das weniger intensive und nicht vitale Pilzwachstum auf Flavan-3-ol-behandelten (Frk 2, ECG) Blättern (6,3-fache Vergrößerung).

4.8 Einfluss des Gesamtextraktes aus *Rheum rhabarbarum* 'The Sutton' auf die Transkriptabundanz abwehrrelevanter Gene im Modellsystem *Arabidopsis thaliana*

4.8.1 Postapplikative Transkriptabundanzanalysen

Die mittels DNA-Chip-Technologie (DNA-Microarray) durchgeführten Analysen des *Arabidopsis*-Transkriptoms bezogen sich auf alle bekannten Protein-kodierenden Gene. Untersucht wurde, ob ein behandlungsbedingter Priming-Effekt vorliegt. Die Behandlung der Pflanzen (Col-8) erfolgte mit der EtOAc-Phase des GT10 E14 (0,1 %). Die Blattmischproben wurden 3, 6 sowie 9 h nach der Applikation (engl. hours after treatment [HAT]) entnommen und nach der mRNA-Isolation und cDNA-Synthese seitens des Kompetenzzentrums Fluoreszenz Bioanalytik (KFB; Universität Regensburg) analysiert (Affymetrix Microarray Hybridisierung). Als Kontrolle dienten Blattproben, die unmittelbar vor der Sprühapplikation gewonnen wurden.

In den zwei unabhängigen Versuchen zeigten zahlreiche Gene mit eindeutiger Beziehung zu Pathogen-Resistenz-Mechanismen erhöhte Transkriptabundanz. Diese wurden immer dann als signifikant eingestuft, wenn die betreffende n-fache Transkription („fold change“) bei \geq Faktor 2,00 lag. Der Wiederholungsversuch zeigte allgemein weniger aktivierte Gene mit insgesamt geringeren Erhöhungen, sodass eine kombinierte Auswertung aufgrund der oftmals nicht identischen Gene erschwert war. Es konnte jedoch ein ähnlicher Trend beobachtet werden. Zum Vergleich des 1. Tests und 2. Tests sind die Daten der Wiederholung, wenn nicht anders angegeben, daher in Klammern gesetzt. Zudem orientiert sich die Bezeichnung aller im Folgenden angegebenen Gene an der Gen-Beschreibung des AraGene 1.0 ST Arrays von Affymetrix.

Ausgehend von den Sonden für 28.501 Gene, die sich auf dem Array befanden, zeigten 1264(438) dieser Gene signifikante Transkriptabundanzunterschiede zu einem der drei Probenahmezeitpunkte (v.a. 6/9 HAT). Zu den Zeitpunkten 3 HAT und 6 HAT waren

81(21) Gene, bei 3 HAT und 9 HAT 76(64) Gene sowie 6 HAT und 9 HAT 410(46) Gene entsprechend aktiviert. 277(176) Gene zeigten zu allen der drei Probenahmezeitpunkte signifikant erhöhte Transkriptabundanz. Insgesamt betrachtet lag die Erhöhung max. bei Faktor 55,31(11,87). Hohe Transkriptabundanz von Faktor 17(7) bis 30(11) zu allen drei Zeitpunkten konnten im Falle des „late embryogenesis abundant hydroxyproline-rich glycoprotein“-Gens gefunden werden („Gene Symbol“: *YLS9*, „GO Biological Process Term“: u.a. „respiratory burst“; 1. Test). Im Wiederholungsversuch handelte es sich dabei um Glutathion-S-Transferase 6- („Gene Symbol“: *GSTF6*, „GO Biological Process Term“: u.a. Reaktion auf oxidativen Stress) und Glutathion-S-Transferase 7/11-kodierende Gene („Gene Symbol“: *GSTF7*, „GO Biological Process Term“: u.a. inkompatible Interaktion). Die höchste Transkriptabundanz zum Zeitpunkt 3 HAT wies mit einem Faktor von 26,67 das „germin-like protein subfamily 3 member 3“-Gen auf („Gene Symbol“: *GER3*, „GO Biological Process Term“: u.a. Abwehrreaktion). Bei 9 HAT (und 6 HAT) war dies mit Faktor 55,31 bzw. 25,28 ein Dihydroflavonol-4-Reduktase-kodierendes Gen („Gene Symbol“: *DFR*, „GO Biological Process Term“: u.a. Flavonoidbiosynthese; 1. Test). Das „pathogenesis-related protein 1“-kodierende Gen *PR1*, welches u.a. mit der postinfektionellen Biosynthese von SA, dem SA-vermittelten Signalweg und der SAR verbunden ist, stand unter den aktivierten Genen des Wiederholungsversuchs zum Zeitpunkt 3 HAT mit Faktor 6,94 an siebenter Stelle (9 HAT 4. Stelle 8,95-fache Transkription: Tyrosin-Aminotransferase 3 [„Gene Symbol“: *TAT3*, „GO Biological Process Term“: u.a. Signaltransduktion]). Unter Berücksichtigung der hohen Transkriptanzahl wurde festgelegt, die Betrachtung auf solche Gene zu beschränken, deren Transkriptabundanz zu mindestens zwei der drei Zeitpunkte signifikant erhöht waren. Dieses Kriterium umfasste 844(307) Gene.

Unter den betrachteten Genen fanden sich solche, die der inkompatiblen Interaktion im Zusammenhang mit der Akkumulation von Wasserstoffperoxid (H_2O_2 ; „oxidative burst“) zugeordnet werden konnten. Des Weiteren waren SAR-assoziierte Gene aktiviert, welche u.a. für in die Biosynthese der SA eingebundene Proteine kodieren. Die Abb. 48 fasst ausgewählte abwehrrelevante Gene mit signifikant erhöhten Transkriptabundanz des 1. und 2. Tests zusammen. Diese konnten mit teilweiser Assoziation zu Mitogen-aktivierten Proteinkinase-Kaskaden und WRKY-Transkriptionsfaktoren dem Phenylpropanoidstoffwechselweg, der Biosynthese von SA (Signaltransduktion, SAR) und im allgemeinen der inkompatiblen Interaktion zugeordnet werden (siehe Anlage 62).

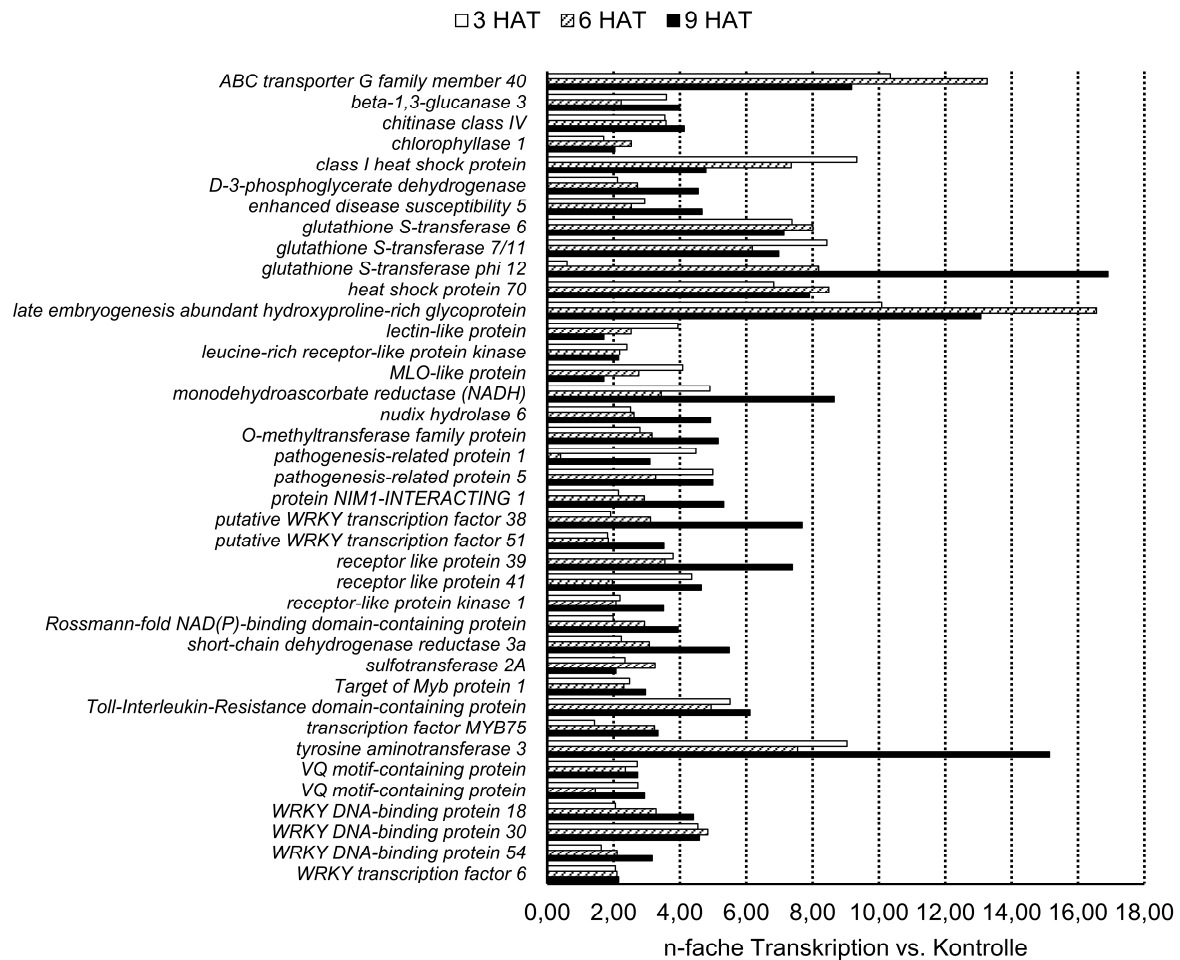


Abb. 48: Postapplikative Effekte des Genotyp 10-Extraktes auf die Transkriptabundanz abwehrrelevanter Gene in *Arabidopsis* (DNA-Microarray-Analysen). N-fache Transkription ausgewählter abwehrrelevanter Gene 3, 6 und 9 h nach der Behandlung (engl. hours after treatment [HAT]) von *Arabidopsis*-Pflanzen des Wildtyps Col-8 mit dem Genotyp 10 Erntejahr 2014-Extrakt (Ethylacetat-Phase 0,1 %) im Vergleich zu (vs.) unbehandelten Kontrollen (Mittelwerte von zwei biologischen Replikaten).

4.8.1.1 Transkripte der Kategorie „oxidative burst“

Neben 111(78) Genen mit einer Erhöhung von bis zu Faktor 30(9), die durch Verwundung oder Chitinbausteine aktiviert werden (Kodierung für z.B. Chitinasen [Chitinkatabolismus]), konnten 18(26) Gene mit bis zu 8(11)-fach erhöhten Transkriptabundanzen der Kategorie „oxidative burst“ zugeordnet werden. Bei diesen handelte es sich z.B. um MLO- und Lektin-ähnliche Proteine-kodierende Gene, das H₂O₂-reaktive „heat shock protein 90.1“-Gen (*HSP90.1*) und das „protein accelerated cell death 6“-Gen (*ACD6*). 63(33) weitere, mit der Regulation des H₂O₂-Metabolismus verbundene Gentranskripte zeigten eine Erhöhung von bis zu Faktor 30(8).

13 Gene mit Verbindungen zur HR und der Regulation des Programmierten Zelltods („GO Biological Process Term“) zeigten signifikant erhöhte Transkriptabundanzen mit einem Faktor von im Mittel max. 6 in beiden Experimenten. Die höchsten Transkriptabundanzen konnten hierbei zum Zeitpunkt 9 HAT beobachtet werden. Zudem wiesen Gene mit bis zu sechsfach erhöhter Transkription bei 3 HAT sowie einem Faktor von 22 bis 38 bei 6 HAT und 9 HAT einen direkten Zusammenhang mit der Zellwandverstärkung auf (Ligninmetabolismus, Kalloседeposition), wie z.B. „Rossmann-fold NAD(P)-binding domain-containing protein“-

kodierende Gene. Hinsichtlich des zweiten Replikats konnten diese, verbunden mit kleinerer faktorieller Erhöhung von bis zu 5, nur in geringerer Anzahl gefunden werden.

4.8.1.2 Transkripte der Kategorie „SAR“

Bei spezieller Betrachtung der SAR-verbundenen Gene zeigte sich, dass 107(76) dieser Gene mit einem Faktor von etwa 2(2) bis 30(9) zu mindestens zwei der drei Zeitpunkte signifikant hochreguliert waren. Hinsichtlich der Bewertung der SA-korrelierten Pathogenese-zugehörigen (engl. pathogenesis-related [*PR*]) Gene unter besonderer Berücksichtigung von *PR1*, *PR2* und *PR5* (Tab. 22) wurden infolge der ausschließlichen Extraktbehandlung praktisch alle dieser Gene mit bis zu fünffacher Abundanz signifikant aktiviert. Bezüglich *PR1* war dies zumindest bei 3 HAT, insbesondere im Wiederholungsversuch, und in letzterem bei 9 HAT zu beobachten. *PR2* und *PR5* zeigten erhöhte Transkriptabundanzen zu allen drei Zeitpunkten (v.a. 9 HAT). Andere (*LTP5*, *PR-1-LIKE*, *PRB1*, *AT2G15325*, *AT1G78780* usw.) und putative *PR* Gene wiesen keine nennenswerten Veränderungen der Transkriptabundanzen auf.

Tab. 22: Postapplikative Effekte des Genotyp 10-Extraktes auf die Transkriptabundanz von *PR1*, *PR2* und *PR5* in *Arabidopsis* (DNA-Microarray-Analysen).

Gen-Beschreibung	Gen-Symbol	Akzessions-Nr.	Aktivierung (n-fache Transkription)
<i>pathogenesis-related protein 1*</i>	(<i>PR1</i>)	NM_127025	↑ 3 HAT 2,02-fach (↑ 3 und 9 HAT, bis 6,94-fach 3 HAT)
<i>beta-1,3-glucanase 3</i>	(<i>BG3</i>)	NM_115584	↑ 3 bis 9 HAT, bis 5,84-fach 9 HAT (↑ 3 bis 9 HAT 2,14-fach)
<i>pathogenesis-related protein 5</i>	(<i>PR5</i>)	NM_106161	↑ 3 bis 9 HAT, bis 7,50-fach 9 HAT (↑ 3 bis 9 HAT, bis 5,21-fach 3 HAT)
<i>thaumatin-like protein 3</i>	(<i>TLP-3</i>)	NM_106160	↑ 3 bis 9 HAT, bis 4,05-fach 9 HAT

Anmerkungen: N-fache Transkription von Pathogenese-zugehörigen Protein-kodierenden Genen 3, 6 und 9 h nach der Behandlung (engl. hours after treatment [HAT]) von *Arabidopsis*-Pflanzen des Wildtyps Col-8 mit dem Genotyp 10 Erntejahr 2014-Extrakt (Ethylacetat-Phase 0,1 %) im Vergleich zu unbehandelten Kontrollen (1.+2. Test; DNA-Microarray-Analysen). Die Werte des Wiederholungsversuchs sind ggf. in Klammern gesetzt.
**pathogenesis-related protein 1* (*PRB1*, NM_127021): keine signifikante Aktivierung

In Verbindung mit JA und/oder ET (ISR-Bezug) stehende sowie Phytoalexin-verbundene Gene (Camalexin / iGS) waren zwar zu mindestens zwei Zeitpunkten ebenfalls signifikant, aber in geringerer Zahl hochreguliert (je 31 Transkripte mit bis zu 30[8]-facher Abundanz / 2[3] Transkripte mit bis zu 4[7]-facher Abundanz).

4.8.1.3 Transkripte der Kategorien Signaltransduktion, MAP-Kinase-Weg und Phenylpropanoidmetabolismus

Von Genen mit Einbindung in die Signaltransduktion, welche in Antwort auf bzw. in Abhängigkeit von SA-, JA- und ET-Stimuli exprimiert werden (z.B. WRKY-Transkriptionsfaktoren, TIR-NBS-LRR-Proteine [„toll interleukin 1 receptor“-], „nucleotide-binding site“- und „leucine-rich repeat“-Domänen]), waren 36(30) Transkripte hochreguliert. Von diesen zeigte das „leucine-rich receptor-like protein kinase“-Gen *LRR XI-23* mit einem Faktor von 2(2) bis 3(2) einen direkten Bezug zum Transmembranprotein-Rezeptor-Tyrosinkinase-Signalweg. Das „TIR-NBS-LRR class disease resistance protein“-Gen *AT1G17600* wies mit einer etwa dreifach erhöhten Transkriptabundanz einen direkten Bezug zur SA (Biosynthese, Signalisierung) und SAR auf (1. Test).

9(10) Gentranskripte (putativ) WRKY DNA-bindender Proteine bzw. Transkriptionsfaktoren waren mit einem Faktor von bis zu 7(8) signifikant hochreguliert, insbesondere zu den Zeitpunkten 6 HAT und 9 HAT (2. Test: 3-9 HAT).

Von Genen, die am MAP-Kinase-Weg beteiligt sind, zeigten 33(39) Transkripte signifikant erhöhte Werte von bis zu Faktor 30(8) zum Zeitpunkt 6 HAT bzw. 9 HAT. Die Aktivierung des „mitogen-activated protein kinase 3“-Gens *MPK3* wurde im gewählten Probenahmezeitraum kaum beeinflusst. Im Wiederholungsversuch lag bei 9 HAT jedoch eine um etwa zweifach signifikant erhöhte Transkriptabundanz vor. Transkripte von Serin- und Threonin-verbundenen Genen, welche die Phosphorylierung der Kinasen vermitteln (u.a. Serin/Threonin-Proteinkinasen; insgesamt je 8), zeigten Erhöhungen von bis zu Faktor 15(5) bei 9 HAT.

Ein anderer beeinflusster Stoffwechselweg war der Phenylpropanoidmetabolismus (11[1] Transkripte mit bis zu 17[2]-facher Abundanz, v.a. bei 6 und 9 HAT; z.B. das Phenylalaninammoniumlyase 1-kodierende Gen *PAL1*). Mit diesem Metabolismus sind Proteine verknüpft, die in die Biosynthese von Flavonoiden (29[7] Transkripte bis Faktor 55[5]), Anthocyaninen (27[4] Transkripte bis Faktor 55[5]) und Zimtsäuren (2 Transkripte bis Faktor 7) involviert sind.

4.8.1.4 Transkriptabundanzanalyse der Pathogenese-zugehörigen Gene *PR1*, *PR2* und *PR5*

Um eine Beeinflussung der Transkriptabundanz infolge der wasserbasierten Sprühapplikation ausschließen und speziell die Transkriptabundanzen der *PR* Gene *PR1*, *PR2* sowie *PR5* mittels qRT-PCR untersuchen zu können, wurde, wie bei den DNA-Microarray-Analysen, Blattmaterial unmittelbar vor (0 H) sowie 3, 6 und 9 HAT mit dest. Wasser bzw. dem GT10-Extrakt gewonnen und entsprechend aufgearbeitet. Als Positivkontrolle dienten SA-behandelte Blattproben. Die Ergebnisse dieser qRT-PCR-Analyse sind in Abb. 49 dargestellt.

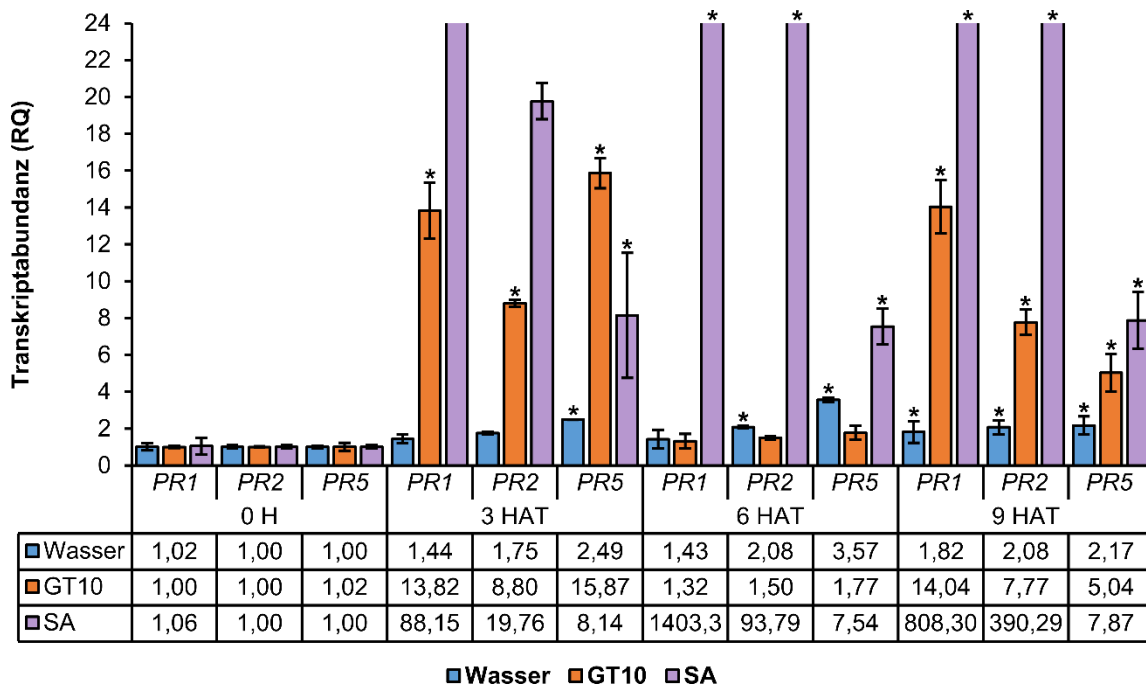


Abb. 49: Postapplikative Effekte des Genotyp 10-Extraktes auf die Transkriptabundanz von *PR1*, *PR2* und *PR5* in *Arabidopsis* (qRT-PCR-Analyse). Transkriptabundanz (relative Quantifizierung [RQ]) der Pathogenese-zugehörigen (*PR*) Protein-kodierenden Gene *PR1*, *PR2* und *PR5* 3, 6 und 9 h nach der Behandlung (engl. hours after treatment [HAT]) von *Arabidopsis*-Pflanzen des Wildtyps Col-8 mit dest. Wasser, dem Genotyp (GT) 10 Erntejahr 2014-Extrakt (Ethylacetat-Phase 0,1 %) bzw. Salicylsäure (engl. salicylic acid [SA]; 0,02 %) im Vergleich zu unbehandelten Proben zum Zeitpunkt 0 h (H; n ≥ 3, SD). Signifikante Unterschiede in der Transkriptabundanz gegenüber der Kontrolle (0 H) sind mit Sternchen markiert (Dunn-Test/Dunn-Test versus Kontrolle, $P \leq 0,027$).

Wie aus dem Diagramm und der Datentabelle ersichtlich ist, waren die Transkriptabundanzen aller betrachteten *PR* Gene in den extraktbehandelten Blättern zu den Zeitpunkten 3 HAT und 9 HAT signifikant erhöht (Dunn-Test vs. Kontrolle [0 H], $P \leq 0,022$). Bei *PR1* unterschieden sich die betreffenden Werte auch signifikant positiv von den zugehörigen Wasser-Datensätzen (t-Test/Mann-Whitney-Rangsummentest, $P \leq 0,012$), bei *PR2* und *PR5* nur zum Zeitpunkt 9 HAT (t-Test, $P < 0,001$). Die wasserzugehörigen relativen Quantifizierungs (RQ)-Werte der Transkriptabundanzen blieben meist unter oder nahe 2 und lagen bei max. 3,57 (*PR5* 6 HAT). Die SA-Applikation bewirkte zu allen Zeitpunkten vergleichsweise stark erhöhte Transkriptabundanzen der *PR* Gene, welche auch zum Zeitpunkt 6 HAT signifikant positiv von der unbehandelten Kontrollgruppe abwichen (Dunn-Test vs. Kontrolle, $P \leq 0,022$). Dies war bzgl. aller *PR* Gene mit $P \leq 0,022$ zudem bei 9 HAT und bzgl. *PR5* auch 3 HAT der Fall ($P = 0,027$).

4.8.2 Postinfektionelle Transkriptabundanzanalysen der Pathogenese-zugehörigen Gene *PR1*, *PR2* und *PR5*

Diese Analysen wurden mit der qRT-PCR-Technik durchgeführt. Sie bezogen sich ebenfalls auf die *PR* Gene *PR1*, *PR2* und *PR5*. Untersuchungsmaterial war auch hier die EtOAc-Phase des GT10 E14 in einer Konzentration von 0,1 %. Als Positivkontrolle dienten erneut SA-behandelte *Arabidopsis*-Pflanzen (Col-8). Die Probenahmen der Blattproben begannen 48 HAT und erfolgten im weiteren Verlauf 8, 12, 16, 20 und 24 HAI mit *E.c.*. Die Ergebnisse wurden aus den Daten von zwei unabhängigen Versuchen zusammengestellt. Die Daten eines dritten biologischen Replikates mit einer abweichenden Inokulationsmethode (Sprühverfahren, 80.000 Konidien / ml Inokulum) mussten aufgrund von Ausreißern ausgeschlossen werden (siehe Anlagen 63, 64). In den beiden Wiederholungsversuchen wurde eine

ähnliche Inukationsmethode angewandt (Überpinselung / Druckluftübertragung der Konidien). Die Transkriptabundanz der PR Protein-kodierenden *PR1*, *PR2* und *PR5* Gene sind in Abb. 50 aufgezeigt, wobei die Ergebnisdaten im jeweiligen Vergleich zu den Werten der ausschließlich wasserbehandelten Col-8-Pflanzen aufgeführt sind.

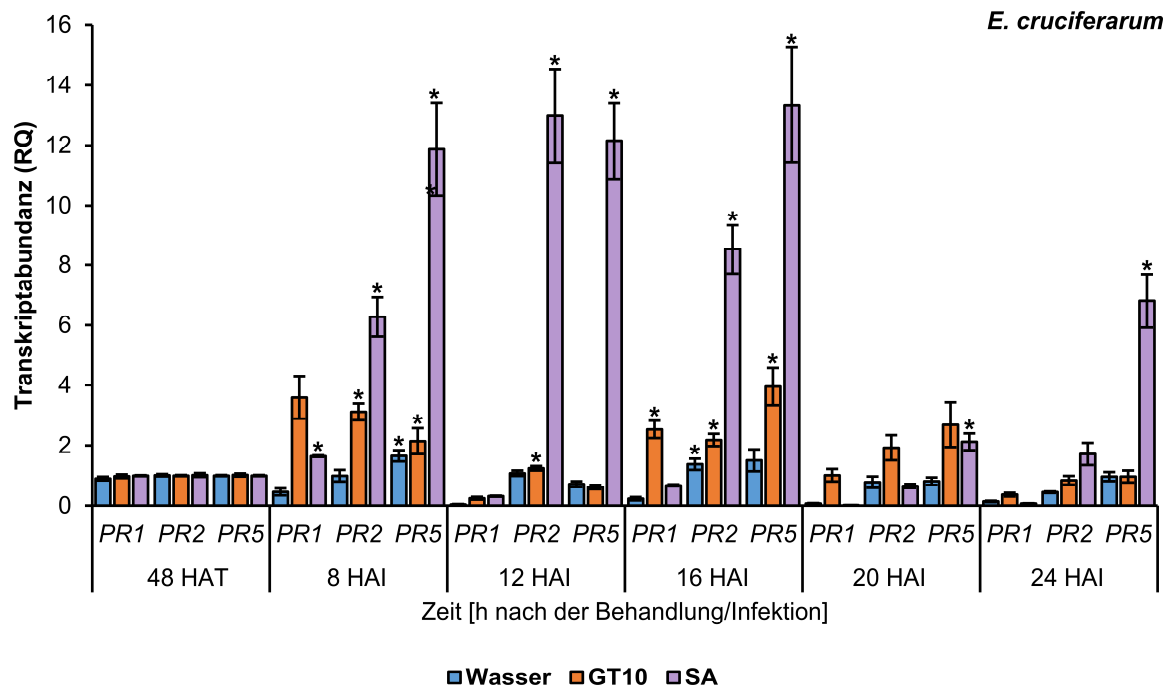


Abb. 50: Postinfektionelle Effekte des Genotyp 10-Extraktes auf die Transkriptabundanz von *PR1*, *PR2* und *PR5* in *Arabidopsis* (qRT-PCR-Analysen). Transkriptabundanz (relative Quantifizierung [RQ]) der Pathogenese-zugehörigen (*PR*) Protein-kodierenden Gene *PR1*, *PR2* und *PR5* 48 h nach der Behandlung (engl. hours after treatment [HAT]) von *Arabidopsis*-Pflanzen des Wildtyps Col-8 mit dest. Wasser, dem Genotyp (GT) 10 Erntejahr 2014-Extrakt (Ethylacetat-Phase 0,1 %) bzw. Salicylsäure (engl. salicylic acid [SA]; 0,02 %) sowie 8-24 h nach der Infektion (engl. hours after infection [HAI]) der Pflanzen mit *Erysiphe cruciferarum* zum Zeitpunkt 48 HAT ($n \geq 6$, SEM). Signifikante Unterschiede in der Transkriptabundanz gegenüber der Kontrolle (48 HAT) sind mit Sternchen markiert (Mann-Whitney-Rangsummentest/t-Test, $P \leq 0,030$).

Unter Extrakteinfluss waren die Transkriptabundanz aller *PR* Gene zu bestimmten Zeitpunkten nach der Mehltauinfektion schwach bis stärker erhöht. Insbesondere 8 HAI und 16 HAI lagen im Vergleich mit den Werten der GT10-Gruppe 48 HAT sowie den zugehörigen Wasser-Werten signifikante Abweichungen vor (Tab. 23).

Tab. 23: Statistikdaten der postinfektionellen Transkriptabundanzanalysen.

PR Gen	vs. 48 HAT	vs. Wasser
<i>PR1</i>	GT10 16 HAI vs. GT10 48 HAT: Mann-Whitney-Rangsummentest, $P < 0,001$	GT10 8/16/20 HAI vs. H ₂ O 8/16/20 HAI: Mann-Whitney-Rangsummentest, $P < 0,001$
<i>PR2</i>	GT10 8 und 16 HAI vs. GT10 48 HAT: Mann-Whitney-Rangsummentest, $P < 0,001$	GT10 8/16 HAI vs. H ₂ O 8/16 HAI: Mann-Whitney-Rangsummentest./t-Test, $P \leq 0,007$
<i>PR3</i>	GT10 8 und 16 HAI vs. GT10 48 HAT: Mann-Whitney-Rangsummentest, $P \leq 0,005$	GT10 16 HAI vs. H ₂ O 16 HAI: Mann-Whitney-Rangsummentest, $P = 0,040$

Anmerkungen: PR = engl. pathogenesis-related (Pathogenese-zugehörig), vs. = versus, HAT/HAI = engl. hours after treatment/infection (Stunden nach der Behandlung/Infektion), GT = Genotyp (GT10 Erntejahr 2014 Ethylacetat-Phase 0,1 %), H₂O = dest. Wasser

Während die Transkriptabundanz der *PR1* und *PR2* Gene, ungeachtet der Ausreißer bei 12 HAI, mit der Zeit abnahmen, war die Transkriptabundanz des *PR5* Gens zum Zeitpunkt 16 HAI am höchsten und im Vergleich zu den beiden anderen *PR* Genen auch 20 HAI noch erhöht, dies jedoch nicht signifikant. Zum Zeitpunkt 48 HAT konnte bei allen *PR* Genen statistisch keinerlei Abweichung zwischen den Behandlungsgruppen festgestellt werden.

Die Transkriptabundanzen der SA-Gruppe übertrafen die GT10-induzierten Transkriptabundanzen der *PR* Gene zu fast allen Probenahmezeitpunkten. Dies war v.a. bei *PR5*, jedoch nicht bei *PR1* der Fall. Ein Vergleich der Analysen der infizierten Blattproben mit denen von parallel durchgeführten Versuchsreihen behandelter, aber nicht infizierter Proben ist der Anlage 65 zu entnehmen.

4.9 Einfluss des Gesamtextraktes aus *Rheum rhabarbarum* 'The Sutton' auf die postapplikative MPK3-Aktivierung im Modellsystem *Arabidopsis thaliana*

Die Phosphorylierung Mitogen-aktivierter Proteinkinase 3 (MPK3) nach der Behandlung von *Arabidopsis*-Pflanzen (Col-8-Blattmaterial) mit dem GT10 E14-Extrakt (EtOAc-Phase; 0,1/0,5 %) wurde mittels SDS-PAGE und Western Blot untersucht („early response“).

Die definierte MPK3-Bande liegt mit einem Molekulargewicht der MPK3 von ~ 43 kDa unterhalb der 50 kDa-Referenzbande des Markers. Zur Auswertung wurde die Signalstärke (Intensität) der definierten Bande (Norm. Vol. [Int]) betrachtet. Da für die Analyse der MPK3 kein *Arabidopsis*-spezifischer Antikörper vorhanden war, musste das Signal bei 43 kDa zunächst verifiziert werden. Hier wurde ausgenutzt, dass der verwendete Antikörper nur das doppelt phosphorylierte Protein erkennt. Signalintensive Proben wurden mit Phosphatase versetzt und anschließend gegen die entsprechenden Proben ohne Phosphatasezusatz per Western Blot analysiert (Abb. 51). Die Reduktion der Signalstärken um 95 % bis 99 % im Vergleich zu den Ausgangsproben zeigte deutlich, dass der Antikörper ein doppelt phosphoryliertes Protein auf der zu erwartenden Höhe erkennt. Da die korrespondierenden Proben ohne Phosphatase ebenfalls für 1 h bei 37 °C inkubiert wurden, konnte ein Signalverlust aufgrund von Protein-degradierung ausgeschlossen werden.

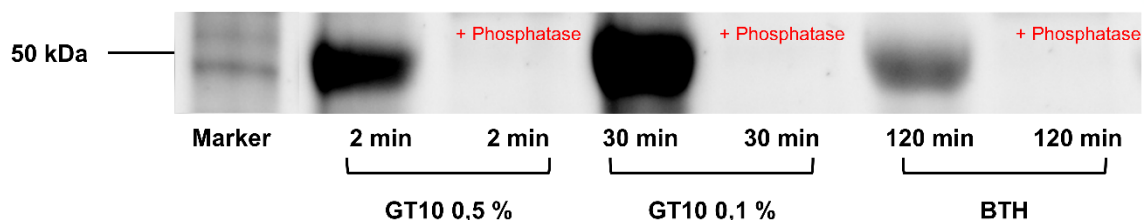


Abb. 51: Immundetektion der MPK3-Aktivierung in Genotyp 10-behandelten *Arabidopsis*-Blättern (Verifizierung). Immundetektion der Mitogen-aktivierte Proteinkinase 3 (MPK3)-Aktivierung in *Arabidopsis*-Col-8-Blattproben 2-120 min nach der Behandlung der Pflanzen mit 0,5 % und 0,1 % Genotyp (GT) 10 Erntejahr 2014-Extrakt (Ethylacetat-Phase) sowie 100 µM Benzothiadiazol (BTH; Western Blot). Die je rechte Bande zeigt die zugehörige Probe mit Phosphatasezusatz.

Nachdem das Signal verifiziert wurde, wurden die unterschiedlich behandelten Proben mittels Western Blot analysiert. Die auf den MPK3-Wert vor der Behandlung (Kontrolle) normierten Signalstärken der MPK3-Banden sind als Zeitreihen der MPK3-Signalentwicklung in Abb. 52 dargestellt.

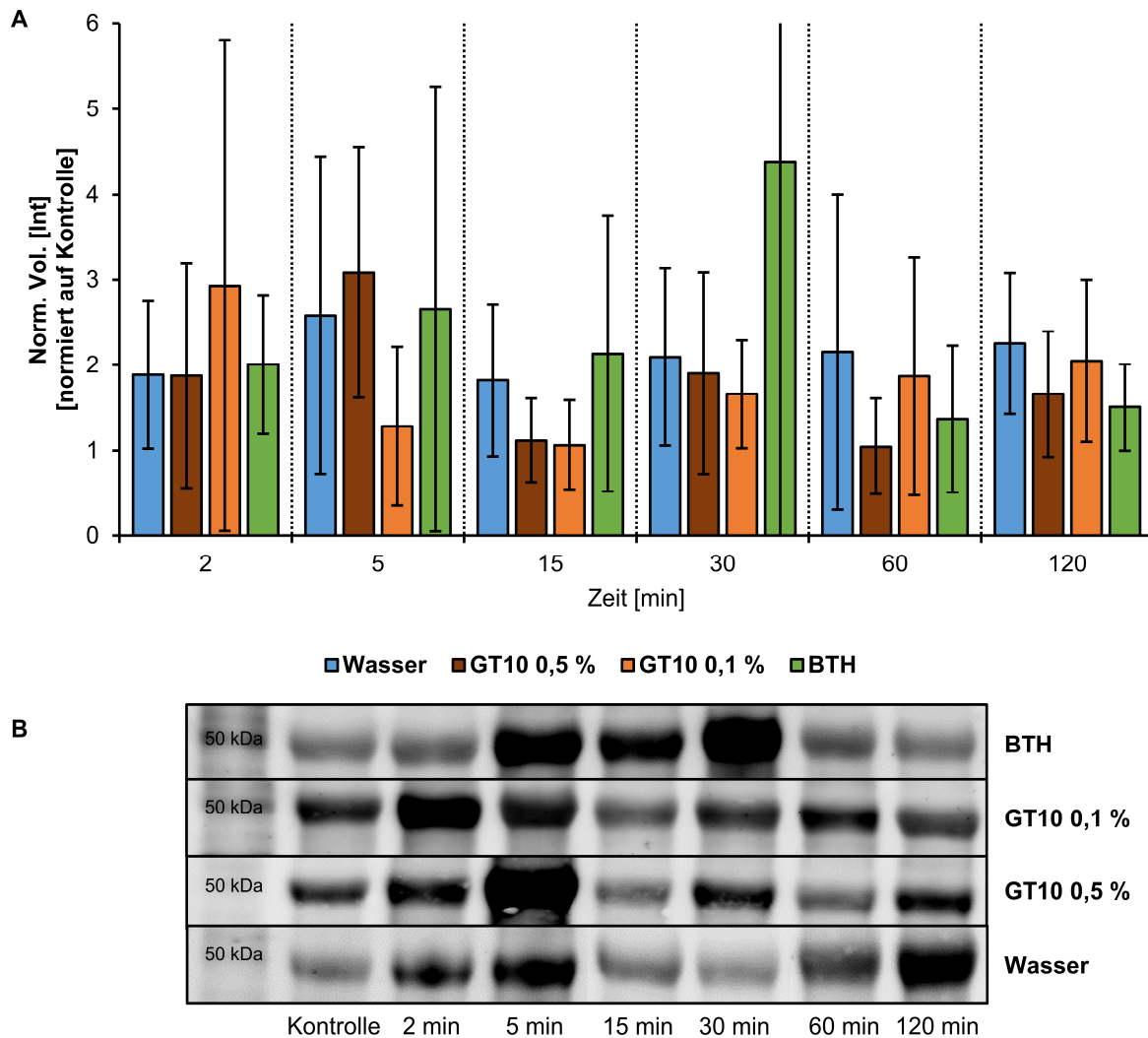


Abb. 52: Immundetektion der MPK3-Aktivierung in Genotyp 10-behandelten *Arabidopsis*-Blättern (Analysen). A, B) Immundetektion der Mitogen-aktivierte Proteinkinase 3 (MPK3)-Aktivierung in *Arabidopsis*-Col-8-Blattproben 2-120 min nach der Behandlung der Pflanzen mit dest. Wasser, 0,1 % und 0,5 % Genotyp (GT) 10 Erntejahr 2014-Extrakt (Ethylacetat-Phase) sowie 100 μ M Benzothiadiazol (BTH; n = 3, SEM; Western Blots).

Aus Abb. 52 ist ersichtlich, dass die Aktivierung der MPK3 in den mit 0,5 % GT10-Extrakt und Benzothiadiazol (BTH) behandelten Proben einen ähnlichen Verlauf nahm. Bei beiden Prüfgliedern stieg die Signalintensität 2 min nach Behandlungsbeginn um das etwa zweifache an. Die jeweils höchsten Bandenintensitäten waren mit einem etwa dreifach stärkeren Signal nach 5 min und mit einem etwa zwei- (GT10) bis vierfach (BTH) stärkeren Signal nach 30 min zu beobachten. Die Zeitreihe der MPK3-Signalentwicklung nach der Applikation des 0,1 %igen GT10-Extraktes ähnelte ab Zeitpunkt 5 min dem Verlauf infolge der Behandlung mit dest. Wasser (siehe Abb. 52). Bei dem geringer konzentrierten Extrakt stieg die Signalintensität bereits 2 min nach der Behandlung um das etwa dreifache an und war damit zu diesem Zeitpunkt am höchsten. Nach einem Abfall schienen ab Zeitpunkt 30 min die Phosphorylierungsprozesse auch in den wasserbehandelten Pflanzen erneut induziert zu werden. Bei den Wasserproben fielen die Signalstärken vergleichsweise hoch aus. Die diesbezüglichen Werte lagen teils über denen der Extraktproben oder der Positivkontrolle BTH (v.a. nach 60 und 120 min). Bei keinem Prüfglied konnten hinsichtlich der MPK3-Bandenintensität signifikante Unterschiede zur Kontrolle festgestellt werden. Die im Diagramm der Abb. 52 dargestellten Standardfehler verdeutlichen die starke Streuung zwischen den

drei biologischen Replikaten. Insgesamt fiel auf, dass die Bandenintensitäten auch zwischen technischen Replikaten teils hohe Abweichungen zeigten.

4.10 Antifungale Wirksamkeit von Extrakten im Freiland

4.10.1 Freilandversuche mit dem Rohextrakt aus *Rheum officinale* „Genotyp 02“

Versuchsjahr 2012: In der Vegetationsperiode des Versuchsjahrs 2012 wurde mit der EtOAc-Phase des GT02 E12 erstmals einer der betrachteten *Rheum*-Wurzelextrakte unter Freilandbedingungen getestet. Die Testung in SG erfolgte in Kombination mit zwei verschiedenen Adjuvantien. Die Aufwandmenge des GT02-Extraktes (750 g/ha) wurde der Wirkstoffkonzentration des Fenpropimorphs (Aktivsubstanz des Fungizids Corbel®) angepasst ($\pm 1,0$ l/ha formuliertes Produkt). Die Bonitur der Infektion mit *Bgh* erfolgte auf den Blattetagen F-3 (3. Blatt unter Fahnenblatt [F]) und F-4 (34 Blätter / Prüfglied und Replikat), da der Befall im Wesentlichen auf diese beschränkt war. Die dennoch praktizierte Befallsbonitur der Blattetagen F-2 sowie F-1 (separat) kann den Anlagen 66 und 67 entnommen werden. Der Freilandversuch in Winterweizen (WW) konnte aufgrund des ausbleibenden Braunrostbefalls der Kontrollparzellen nicht ausgewertet werden.

Im zeitigen Frühjahr 2012 war im SG-Bestand ein gut entwickelter *Bgh*-Befall zu verzeichnen, der jedoch aufgrund einer ausgedehnten Trockenperiode von Mitte Mai an hauptsächlich auf die weiter unten gelegenen Blattetagen F-3 und F-4 beschränkt blieb. Wie aus Abb. 53 A ersichtlich, konnte zum Boniturtermin auf den unbehandelten Kontrollblättern ein *Bgh*-Befall von im Mittel 42 % evaluiert werden. Verglichen hierzu fiel der Befall der mit dem GT02-Extrakt behandelten Blätter mit \emptyset 4 % deutlich geringer aus. Die zudosierten Adjuvantien PREV-AM® (800 ml/ha) bzw. HASTEN™ (600 ml/ha) verursachten dabei keine Differenzierung im *Bgh*-Effekt. Die beiden Vergleichsfungizide mit den Wirkstoffen Fenpropimorph (Corbel®) und Metrafenon (Flexity®; 150 g/ha) agierten mit einem resultierenden *Bgh*-Befall von \emptyset 3 % ähnlich positiv.

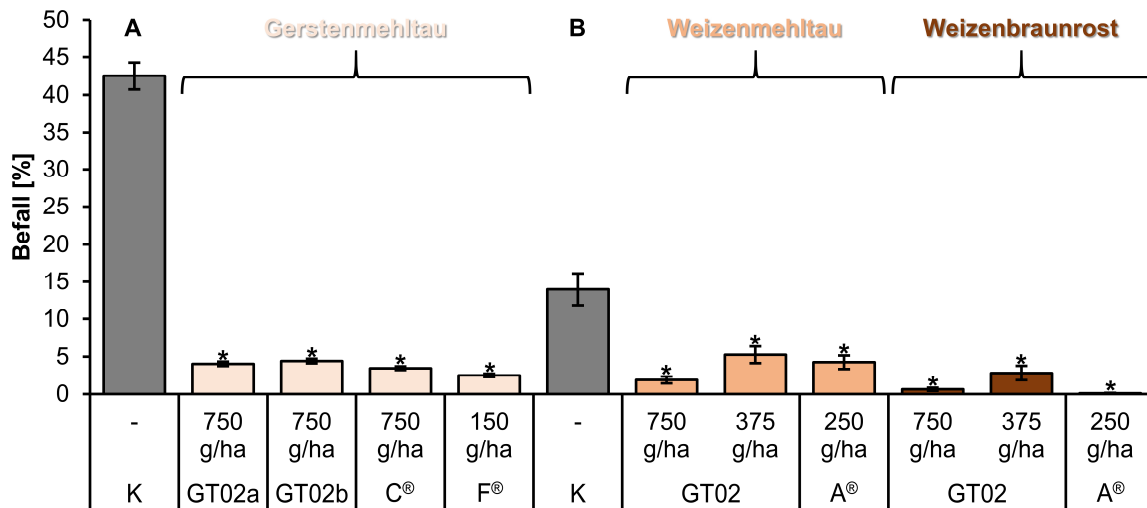


Abb. 53: Freilandversuche mit dem Rohextrakt aus *Rheum officinale* „Genotyp 02“.

A, B) Gerstenmehltau- (A) sowie Weizenmehltau- und Weizenbraunrost- (B) Befall in Sommergerste ('Lawina')- und Winterweizen (WW; 'Pamier')-Parzellen (Blatttagen F-3+F-4 [n = 136] / F-2 [n ≥ 44] / F [n = 100]; SEM) von Freilandversuchen der Versuchsjahre 2012 (A) und 2013 (B). Die Kontrollparzellen (K) blieben unbehandelt. Der zweite Kontrollbalken wurde, da Befall und SEM etwa gleich lagen, aus dem Mittelwert der Mehltau- und Braunrostdaten (WW) erstellt. Die Behandlung der Pflanzen erfolgte mit GT02a (750 g/ha Genotyp [GT] 02 Erntejahr 2012 [E12] Ethylacetat [EtOAc]-Phase + 800 ml/ha PREV-AM®), GT02b (750 g/ha GT02 E12 EtOAc-Phase + 600 ml/ha HASTEN™, C® (750 g/ha Fungizid Corbel®) und F® (150 g/ha Fungizid Flexity®; A) sowie GT02 (750/375 g/ha GT02 E12 EtOAc-Phase) und A® (250 g/ha Fungizid Amistar®; B). Signifikante Unterschiede im Befallsgrad gegenüber der jeweiligen Kontrolle sind mit Sternchen markiert (Dunnett-Test/Dunn-Test versus [vs.] Kontrolle, $P < 0,001$). Unter den Präparaten zeigten GT02b und F® (Tukey-Test, $P = 0,008$) sowie GT02 375 g/ha und A® vs. Weizenbraunrost (Tukey-Test, $P = 0,030$) signifikante Wirksamkeitsunterschiede.

Versuchsjahr 2013: Im Versuchsjahr 2013 wurde der GT02-Extrakt in zwei verschiedenen Konzentrationen (750/375 g/ha) in WW getestet. Das chemische Vergleichsprodukt war Amistar® (250 g/l Azoxystrobin). Bezüglich *Bgt*, dem Weizenmehltau, wurden pro Prüfglied und Replikat 11 bis 29 Blätter der Blatttage F-2 herangezogen. Hinsichtlich des Weizenbraunrostes (*Puccinia tritici*) handelte es sich um je 25 Fahnenblätter (Blatttage F) und bei *Septoria tritici* um je 13 bis 29 Blätter der Blatttagen F bis F-2. Da im Bestand des zugehörigen Kleinparzellenversuchs in SG witterungsbedingt kein *Bgh*-Aufkommen zu verzeichnen war, entfiel die entsprechende Bonitur.

Im Feldversuch 2013 (Abb. 53 B) hemmten die GT02-Präparate den Befall mit *Bgt* dosisabhängig um durchschnittlich 64 % bis 86 %. Mit einer Hemmung der *Bgt*-Infektion um \emptyset 71 % lag das gleichermaßen gegen Mehltau- wie auch Rostkrankheiten wirkende Fungizid Amistar® in einem vergleichbaren Bereich. Zu berücksichtigen ist jedoch die geringere Einsatzkonzentration des Vergleichsmittels. Infolge der Behandlung mit dem GT02-Extrakt konnte hinsichtlich des Braunrostes ein durchschnittlicher Befall von 1 % bis 3 % verzeichnet werden.

Da *S. tritici* weder bzgl. der *Rheum*-Wurzelextrakte noch des Amistar® eine Zielindikation ist, sei im Hinblick auf den antifungalen Effekt des GT02-Extraktes auf *S. tritici* auf die Anlagen 68 bis 70 verwiesen.

4.10.2 Freilandversuche mit dem Rohextrakt aus *Rheum rhabarbarum* 'The Sutton'

Die EtOAc-Phase des GT10 E12 wurde in zwei Konzentrationen erstmalig im Versuchsjahr 2014 getestet. Wie im Material und Methoden-Teil erwähnt, erfolgte die in WW durchgeführte zweite Spritzung mit dem 30 %ig formulierten Dispersionskonzentrat der EtOAc-Phase des GT10 E12 (DC30). Die mit 1000 g/ha hoch angelegte Dosierung des

GT10-Präparats diente der Prüfung auf potentielle Phytotoxizität. Die eigentliche Zielkonzentration betrug 500 g/ha. Vergleichsprodukt in WW war das synthetische Fungizid Capalo® (1,2 l/ha / 405 g/ha), ein Kombipräparat aus den drei Wirkstoffen Epoxiconazol (62,5 g/l), Fenpropimorph (200,0 g/l) und Metrafenon (75,0 g/l). Da auch in 2014 aufgrund der Wetterverhältnisse kein Gerstenmehltau auftrat, beschränkte sich die Bonitierung auf Rostkrankheiten in Weizen. Diese erfolgte nach dem Erscheinen von Gelbrospusteln und zu einem späteren Zeitpunkt im Hinblick auf die Infektion mit *P. triticina*. Im Rahmen der ersten Evaluierung wurden pro Prüfglied und Replikat 50 Blätter der Blattetage F, zum zweiten Boniturtermin je 25 Fahnenblätter genutzt.

Der Befall der Weizenblätter mit Gelbrost (*P. striiformis*) war trotz einer starken Variation in den Boniturwerten der Kontrollparzellen hoch genug, um eine sichere Bewertung der getesteten Präparate vornehmen zu können (Abb. 54 A, C). Der Gelbrosteffekt der GT10-Präparate war dosisunabhängig und ähnelte mit Ø 3 % Befall dem Pflanzenschutz-Topstandard Capalo® (Ø 1 % Befall). Phytotoxische Nebenwirkungen konnten ausgeschlossen werden. Durch den später dominant durchwachsenden Braunrostbefall war jedoch keine Dauerwirkung des GT10-Extraktes zu beobachten (Abb. 54 B).

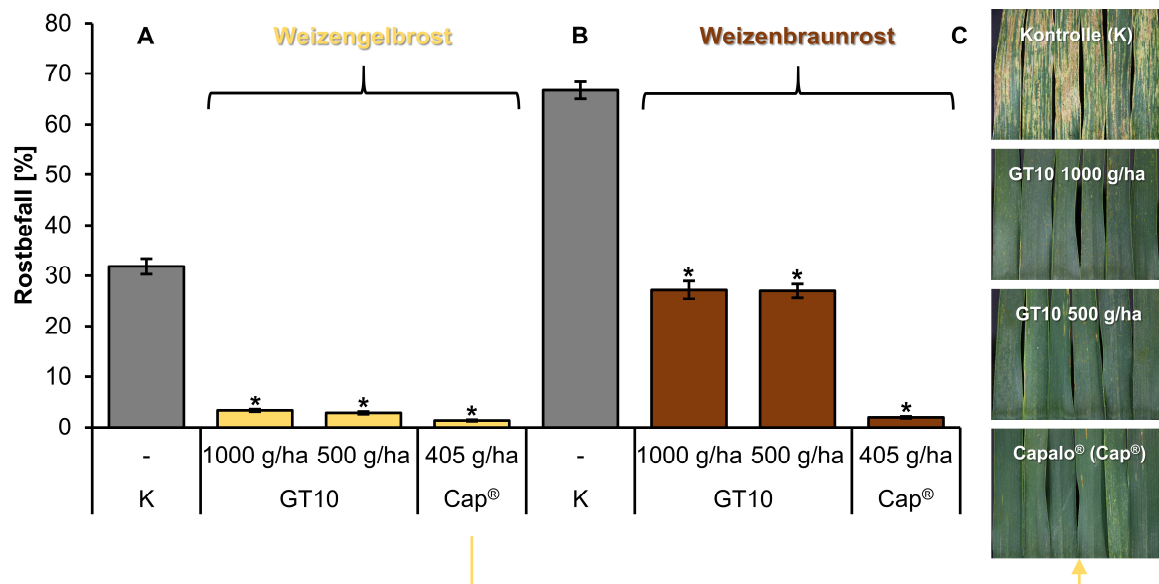


Abb. 54: Freilandversuch mit dem Rohextrakt aus *Rheum rhabarbarum* 'The Sutton'. A, B) Weizengelbrost- (A) und Weizenbraunrost- (B) Befall in Winterweizen ('Pamier')-Parzellen (Blattetage F [n = 200 / 100]; SEM) eines Freilandversuchs des Versuchsjahrs 2014. Die Kontrollparzellen (K) blieben unbehandelt. Die Behandlung der Pflanzen erfolgte mit GT10 (1000/500 g/ha Genotyp [GT] 10 Erntejahr 2012 [E12] Ethylacetat [EtOAc]-Phase / DC30 [= 30 %ig formuliertes Dispersionskonzentrat des GT10 E12 EtOAc-Phase]) und Capalo® (405 g/ha Fungizid Capalo®; A, B). Signifikante Unterschiede im Befallsgrad gegenüber der jeweiligen Kontrolle sind mit Sternchen markiert (Dunnett-Test, $P < 0,001$). Unter den Präparaten zeigten GT10 1000/500 g/ha und Capalo® versus Weizengelbrost/Weizenbraunrost (Tukey-Test, $P < 0,038$) signifikante Wirksamkeitsunterschiede. C) Die A-zugehörigen Bilder zeigen den Gelbrostbefall der Weizenblätter exemplarisch.

4.10.3 Freilandversuche mit dem formulierten Extrakt aus *Rheum rhabarbarum* 'The Sutton'

Das DC30 wurde in ausschließlicher Applikation auch in den Versuchsjahren 2015 bis 2017 getestet.

Versuchsjahre 2015 und 2017: Die klimatischen Verhältnisse in 2015 wie auch die in 2017 verhinderten erneut eine Mehltau-evaluierung in SG (bis zur Abtrocknung kein Mehltauaufkommen). Die Testung in WW erfolgte in drei verschiedenen Konzentrationen sowie in

Kombination mit Corbel®. Um die Effekte des DC30 besser ausmachen zu können, wurde das Corbel® in beiden Jahren (2015: 0,250 l/ha, 2017: 0,125 l/ha) unterdosiert appliziert (übliche Einsatzkonzentration = 1,0 l/ha). Die 2015er-Bonitierung erfolgte auf Blatttage F. Um die Bonitur von Artefakten aufgrund einer relativ starken Abtrocknung zu vermeiden, wurden aus dem vierten Replikat je nur 100 Fahnenblätter evaluiert (anderenfalls 200 Blätter / Prüfglied und Replikat). Die 2017er-Bonitierung erfolgte ebenfalls auf F, wobei sich die Evaluierung speziell auf die Uredosporenlager des Weizenbraunrostes bezog und hierfür je 50 Blätter herangezogen wurden. Da die Boniturergebnisse des vierten Replikats evtl. spritzfehlerbedingte Unstimmigkeiten aufwiesen, sind in der Auswertung nur drei Replikate berücksichtigt worden (n = 150).

2015 demonstrierten mikroskopische Betrachtungen der abaxialen Weizenblattsporen die Anwesenheit dunkler Teleutosporen (Wintersporenlager des Weizenbraunrostes; z.B. z.T. auf Prüfglied „DC30 200 g/ha“) sowie zusätzlich häufiger Sporenlager von Uredosporen (Sommer-sporen des Weizenbraunrostes). Auch in 2017 waren v.a. die bräunlichen Uredosporenlager auf der Blattoberfläche auffällig, welche bei entsprechendem Befall in einer späteren Phase durchwuchsen und auf der Blattunterseite, das Blattgewebe nekrotisierend, Teleutosporenlager in Form von schwarzen Pusteln ausbildeten (Abb. 55 C). Des Weiteren konnten Pflanzenkrankheiten wie Spelzenbräune (nur 2015), Getreidehähnchen und *S. tritici* beobachtet werden.

Die Abb. 55 (A, B) stellt die Braunrosteffekte des DC30 in individueller Anwendung sowie in Kombination mit Corbel® beider Versuchsjahre dar.

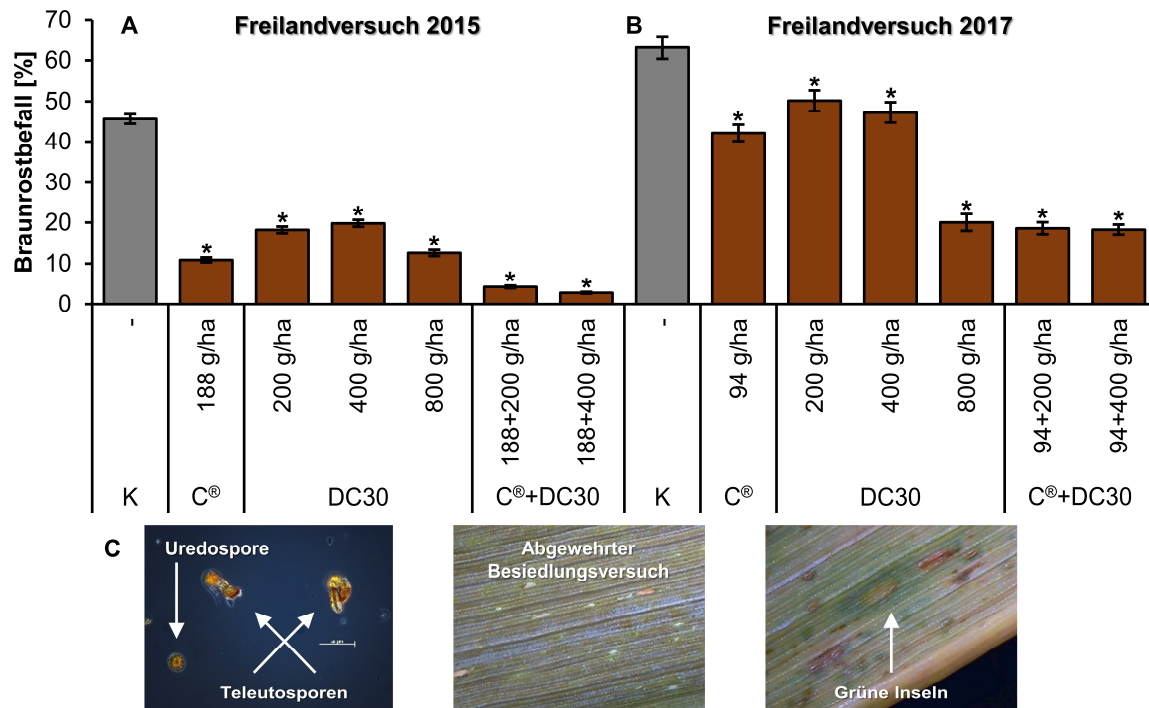


Abb. 55: Freilandversuche mit dem formulierten Extrakt aus *Rheum rhabarbarum* 'The Sutton' in Winterweizen. A, B) Weizenraunerostbefall in Winterweizen ('Pamier' / 'Julie E')-Parzellen (Blatttage F [n = 700 / 150]; SEM) von Freilandversuchen der Versuchsjahre 2015 (A) und 2017 (B). Die Kontrollparzellen (K) blieben unbehandelt. Die Behandlung der Pflanzen erfolgte mit C® (188 g/ha Fungizid Corbel®), DC30 (200-800 g/ha 30 %ig formuliertes Dispersionskonzentrat des Genotyps 10 Erntejahr 2012 Ethylacetat-Phase) und C®+DC30 (188 g/ha Fungizid Corbel® in Kombination mit 200/400 g/ha DC30; A) sowie C® (94 g/ha), DC30 (200-800 g/ha) und C®+DC30 (94 g/ha in Kombination mit 200/400 g/ha; B). Signifikante Unterschiede im Befallsgrad gegenüber der jeweiligen Kontrolle sind mit Sternchen markiert (Dunnett-Test, $P \leq 0,045$). Unter den Präparaten zeigten C® und C®+DC30 188/94+200/400 g/ha (Tukey-Test, $P < 0,001$) signifikante Wirksamkeitsunterschiede. C) Die zugehörigen Bilder zeigen Uredo- und Teleutosporen des Weizenbraunerostes (400-fache Vergrößerung; l.), einen abgewehrten Besiedlungsversuch infolge C®+DC30 94+200 g/ha (Boniturstufe 0; 20-fache Vergrößerung; m.) und einen Uredosporenlager-umgebenden hellen Hof (Nährstoffzufluss) infolge DC30 800 g/ha (20-fache Vergrößerung; r.).

Versuchsjahr 2015: Die Blattproben von Weizenpflanzen, die mit der mittleren Einzeldosierung des DC30 behandelt wurden, zeigten nur kleine Braunerostpusteln, welche im Parzellenbestand nicht so starke Schäden setzten (Ø 20 % Befall) wie im Falle der Kontrolle (Ø 46 % Befall). Hinsichtlich der Kontrollparzellen waren durch den Rostbefall etwa 70 % der Blätter abgetrocknet. Auf den Weizenblättern der mit 800 g/ha DC30 behandelten Pflanzen waren die Pusteln zwar teilweise präsent, die Sporenlager aber scheinbar bereits abgestorben (Boniturstufe 3; Ø 13 % Befall). Die Plastizität, Form und Verteilung der Braunerostpusteln (bzgl. der Einzelanwendungen unruhiger) wurden auch bei der Wirksamkeitsbewertung der kombinierten Präparate berücksichtigt. Infolge der kombinierten Applikationen mit der niedrigsten sowie mittleren Dosierung des DC30 konnte der Braunerosteffekt des Corbel® (Ø 11 % Befall) signifikant gesteigert werden (Tukey-Test, $P < 0,001$; Abb. 55 A). Dies ging u.a. mit flacheren Läsionsstellen einher. Die betreffenden Blattproben zeigten zudem eine schwächer ausgeprägte Infektion mit *S. tritici*.

Versuchsjahr 2017: Der 2015er-Versuch konnte in 2017 reproduziert werden (Abb. 55 B). Trotz des vergleichsweise höheren Befalls der Corbel®-behandelten Weizenpflanzen (Ø 42 % Befall) und der *Septoria*-Überlagerungen, zeigten deren Blätter eine durch das Mittel eingeschränkte Sporulation und ein tieferes Grün. Der deutlich bessere Braunerosteffekt des DC30 in der 800 g/ha-Dosierung (Ø 20 % Befall) darf jedoch unter Berücksichtigung der praxisunüblichen Einsatzkonzentration des Corbel® nicht überinterpretiert werden.

Auf den Blattproben der kombiniert applizierten Präparate war, wenn überhaupt, ein *Septoria*-Befall oder höchstens ein Braunrost-Anfangsstadium (Boniturstufe 10; Ø 18-20 % Befall) mit pustelumgebenden grünen Höfen/Inseln beobachtbar (siehe Kap. 2.1.3).

Versuchsjahr 2016: Neben 2012 bildete das Versuchsjahr 2016 über alle Freilandversuche hinweg die einzige Vegetationsperiode mit günstigen Bedingungen für *Bgh*. Das evaluierbare Ergebnis dieses Kleinparzellenversuchs mit 1000 und 500 g/ha DC30 in SG (100 Blätter / Prüfglied und Replikat; Blatttagen F-1, F-2) ist in Abb. 56 dargestellt. Die Gerstenblätter der mit dem Vergleichsmittel Flexity® behandelten Versuchspartellen konnten nicht bonitiert werden.

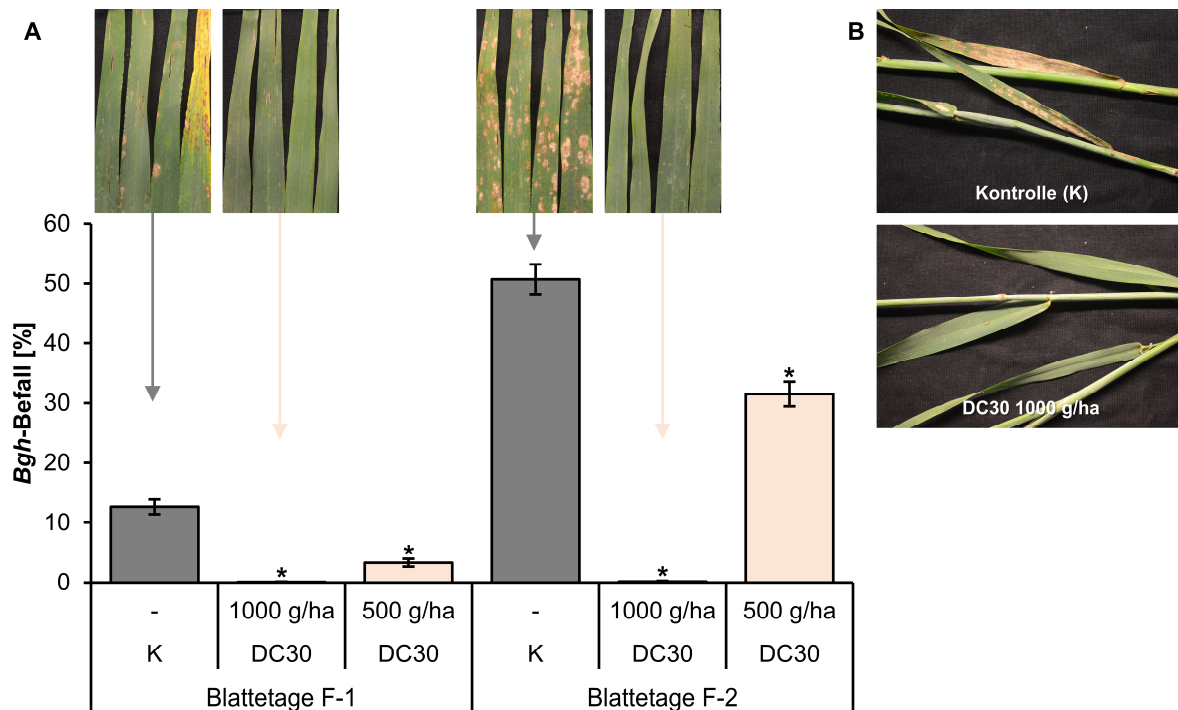


Abb. 56: Freilandversuch mit dem formulierten Extrakt aus *Rheum rhabarbarum* 'The Sutton' in Sommergerste. **A)** Gerstenmehltau (*Bgh*)-Befall in Sommergerste ('Steffi')-Parzellen (Blatttagen F-1 / F-2 [n ≥ 189]; SEM) eines Freilandversuchs des Versuchsjahrs 2016. Die Kontrollparzellen (K) blieben unbehandelt. Die Behandlung der Pflanzen erfolgte mit DC30 (1000/500 g/ha 30 %ig formuliertes Dispersionskonzentrat des Genotyps 10 Erntejahr 2012 Ethylacetat-Phase). Signifikante Unterschiede im Befallsgrad gegenüber der jeweiligen Kontrolle sind mit Sternchen markiert (Dunn-Test versus Kontrolle, $P < 0,001$). Unter den Präparaten zeigten DC30 1000 g/ha und DC30 500 g/ha (F-1 / F-2) signifikante Wirksamkeitsunterschiede (Dunn-Test, $P < 0,006$). **B)** Die zugehörigen Bilder zeigen den *Bgh*-Befall der Gerstenblätter exemplarisch.

Unter Berücksichtigung der *Bgh*-Effekte auf der ertragsbeeinflussenden Blatttage F-1 zeigte das Freilandergebnis des Versuchsjahrs 2016 ein gutes Resultat, wenn gleich die Wirkung auf F-2 bei der geringeren Dosierung des DC30 stärker nachließ. Während die mit 500 g/ha DC30 behandelten Gerstenblätter vitaler bzw. wüchsiger erschienen als die Kontrollblätter (3,3-31,5 % *Bgh*-Befall), wiesen die Blattproben der mit 1000 g/ha DC30 behandelten Gerstenpflanzen eine tiefgrüne, gesunde Blattfärbung auf (Ø 99,4 %ige *Bgh*-Hemmung; Abb. 56 B). Die *Bgh*-Symptome waren bei beiden Dosierungen signifikant reduziert.

5 Diskussion

Der Schutz unserer Kulturpflanzen vor Pflanzenkrankheiten bzw. -schädlingen durch Pflanzenschutzmittel (PSM) ist unter sozioökonomischen Aspekten unabdingbar. Neben der Reduzierung von Ernteverlusten und der damit einhergehenden Absicherung der Agrarproduktion kann dadurch auch die Qualität der Agrarerzeugnisse sowie eine höhere Flächeneffizienz bei gleichzeitig geringerem Flächenbedarf garantiert werden. Dies wiederum kommt (mit Einschränkungen) der Biodiversität und dem Naturschutz entgegen (OERKE, 2006; BMBF, 2010; BMEL, 2017). Pilze stellen unter den phytopathogenen Mikroorganismen die bedeutendste Gruppe dar, was nicht zuletzt an ihren hohen Reproduktionsraten und ihrer Überdauerungsfähigkeit an z.B. Pflanzenresten liegt. Die durch phytopathogene Pilze verursachten jährlichen Ertragsverluste von global etwa 15 % (bzgl. der acht wichtigsten Nutzpflanzen) lägen ohne adäquate Pflanzenschutzmaßnahmen mindestens doppelt so hoch (OERKE, 2006; HALLMANN et al., 2007). Die Rechtsgrundlage für den Einsatz zugelassener bzw. genehmigter chemischer PSM ist das „Gesetz zum Schutz der Kulturpflanzen“ (Pflanzenschutzgesetz [PflSchG]). Um Mensch und Umwelt nicht zu gefährden, sollen diese entsprechend der Bestimmungen sachkundig angewandt werden (Aufwandmenge, Gewässerabstand, Wartezeit, Bienenschutz, Anwenderschutz etc.) (WINTER, 2002). Auch bei Maßnahmen nicht-chemischer Art sind Nutzen und Risiken zu beachten. Im ökologischen Landbau wird dies durch bevorzugt präventive Pflanzenschutzmaßnahmen wie abwechslungsreiche Fruchtfolgen, der zwingende Nichteinsatz chemisch-synthetischer Mittel und die Reduktion der Anwendung kupferhaltiger Produkte berücksichtigt. Die häufigere Anwendung ein und desselben PSM in eng rotierenden Fruchtfolgesystemen kann bestimmte Phytopathogene fördern, die wiederum zu Ertragseinbußen, Qualitätsminderungen oder auch Verbraucherrisiken (z.B. durch Mykotoxine) führen können. Für ausgewählte Kulturen sind nicht-chemische Pflanzenschutzverfahren, wie der Einsatz resistenter Sorten, verfügbar (BMEL, 2017). Dennoch darf eine diesbezüglich stetige Optimierung und Weiterentwicklung (Züchtungsforschung, Resistenzstrategien als Bestandteil integrierter Pflanzenschutzverfahren) nicht vernachlässigt werden (OERKE, 2006; HALLMANN et al., 2007; BMBF, 2010; BMEL, 2017). Dies ist insbesondere so wichtig, da die Resistenzen von Sorten, welche nur auf Basis eines bestimmten Resistenzgens gegenüber einem abiotischen oder biotischen Faktor widerstandsfähig sind, von den Schadorganismen an den betreffenden Merkmalsstellen adaptiv überwunden werden können. Die in den vergangenen Jahrzehnten festgestellte Zunahme von Resistenzen gegenüber PSM ist zudem in der geringer werdenden Anzahl von Wirkstoffen sowie Wirkmechanismen begründet. Die Wissenschaft hat in Zusammenarbeit mit der PSM-produzierenden Industrie und der Praxis einen maßgebenden Anteil daran, wirksame Gegenstrategien zu finden. Insgesamt wichtig ist daher ein Angebot an wirtschaftlich und ökologisch vertretbaren Maßnahmen mit ausreichender Wirksamkeit, auch für ökologisch wirtschaftende Betriebe. Neben der Vorbeugung muss die nachhaltige Bekämpfung der Phytopathogene damit fester strategischer Bestandteil sein (OERKE, 2006; BMEL, 2017).

Wie beschrieben, enthalten Rhabarberwurzeln ein breites Spektrum polyphenolischer Substanzen, darunter verschiedenste bioaktive Flavonoide und Stilbene. Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, Wurzelextrakte aus *Rheum* und vergleichsweise *Rumex obtusifolius* (verschiedene Genotypen [GTs]) auf ihre antifungale Wirksamkeit zu untersuchen. Durch die Testung von Fraktionen (Frks) des Gesamtextraktes aus *Rheum rhabarbarum* 'The Sutton' (GT10 Erntejahr 2014 [E14]) war zudem die Ableitung von Struktur-Wirkungs-Beziehungen möglich.

5.1 Ernte, Extraktion und Fraktionierung

Das aufzuarbeitende Wurzelmaterial der einzelnen GTs wurde nach einer Kultivierungsdauer der Pflanzen von drei bis (meist) sechs bzw. im Falle des GT10 E14 nach acht Jahren gewonnen (ENGELSHOUE, 1985). Die Art der angewandten Aufarbeitung bis zur Extraktion entsprach in etwa der Gewinnung der Droge des echten chinesischen Rhabarbers (ca. sechs- bis siebenjährige Standzeit) (STICHER, 1999) und den Angaben von DINGERMANN et al. (2004) (siehe Kap. 2.3). Unter Berücksichtigung der Vegetationsperiode erfolgten die Ernten in den Monaten März bzw. April (GT02 [*Rheum officinale*], GT24 [*R. rhabarbarum*], GT29 [*R. rhabarbarum*], GT30 [*Rumex obtusifolius*], GT35 [*Rheum altaicum*]), Oktober bzw. November (GT05 [*Rheum officinale* differenter Herkunft], GT10 E12, GT36 E09 [*R. altaicum*]) oder beim GT10 E14 im Juni. Primärstudien von Pflanzen auf antifungale Aktivitäten ihrer Sekundärmetabolite beginnen oft mit wässrigen oder alkoholischen Rohextrakten (YAZDANI et al., 2011). Für die im Rahmen dieser Arbeit getesteten Wurzelextrakte kam ein fünfstufiges Laborverfahren aus Fest-Flüssig- und Flüssig-Flüssig-Extraktionsschritten (engl. liquid liquid extraction [LLE]) mittels unterschiedlicher, polarer Lösungsmittel zum Einsatz. Am Ende des Prozesses standen je eine Wasser (H₂O)- und Ethylacetat (EtOAc)-Phase zur Verfügung, wobei die interessierenden hydrophilen, polyphenolischen Inhaltsstoffe des Wurzelmaterials (v.a. Flavan-3-ole, Stilbene) in der EtOAc-Phase aufkonzentriert waren. Im Rahmen der Ernte und Extraktion fiel auf, dass sich die GTs sowohl in der Wurzel- als auch in den Ausbeuten an polyphenolhaltigen Extrakten unterschieden. Die im Frühjahr bzw. Spätherbst geernteten Wurzeln der GTs 05, 29, 35 und 36 E09 zeigten hinsichtlich der unterirdischen Biomasse vergleichsweise wenig Material, was sich aber nicht zwingend auf die Ausbeute an EtOAc-Phase auswirkte. Die höchste Ausbeute an EtOAc-Phase lieferte die Extraktion der Wurzeln des GT02, die im März 2012 geerntet wurden. Die Konzentration an Stilbenderivaten in den Wurzeln von Rhabarber scheint sich nach AAVIKSAAR et al. (2003) während der Vegetationsperiode, mit Ausnahme des Resveratrols (RES; Anstieg im Oktober), kaum zu verändern. Nach WATZL und LEITZMANN (1999) wirkt sich die Jahreszeit der Ernte auf den Flavonoidgehalt von Lebensmitteln aus. Im August soll z.B. in Kopfsalat der Gehalt an Flavonoiden höher als im Monat April sein (HERTOG et al., 1992). Der im Vergleich zu den enthaltenen Stilbenkomponenten geringe Flavan-3-ol-Anteil in der EtOAc-Phase des GT02 (LC-MS-Quantifizierungsdaten) kann diese Theorie jedoch aufgrund des im November geernteten GT05- und des ebenfalls im März gewonnenen GT30-Wurzelmaterials mit ausgesprochen hohen Anteilen an Flavan-3-olen nicht stützen. Zudem lag bzgl. der im Juni erfolgten Ernte des GT10 E14-Extraktes die Ausbeute an EtOAc-Phase mit \emptyset 8,75 % im oberen Mittelfeld und der Anteil an Flavan-3-olen in diesem Extrakt war gering (11,41 %). Die Betrachtung der unterirdischen Biomasse und nicht der zur Lebensmittelproduktion genutzten Stängel des Rhabarbers muss bei dem Literaturvergleich berücksichtigt werden. Im Vergleich des Inhaltsstoffspektrums der GT10 E12- (Oktober) und GT10 E14- (Juni) Extrakte fiel aber auf, dass im Falle des GT10 E14-Extraktes die Gehalte an Catechin und Epicatechingallat (ECG; Flavan-3-ole) beinahe zwei- bis dreimal höher ausfielen, was die oben genannte Angabe wiederum stützen würde. Der RES-Gehalt betrug im GT10 E14-Extrakt etwa 6 mg/g und war damit, gemäß AAVIKSAAR et al. (2003), um die Hälfte geringer als im GT10 E12-Extrakt (ca. 12 mg/g). Um definiertere und v.a. abgesicherte Aussagen zur Auswirkung der Kultivierungsbedingungen sowie Erntezeitpunkte auf den Polyphenolgehalt von Rhabarberwurzeln treffen zu können, wären jedoch gezielte Untersuchungen in Form von Langzeitversuchen erforderlich.

Anthrachinonhaltige Extrakte (z.B. Physcion, Rhein) aus Pflanzenarten wie *Rheum emodi* oder *Rheum officinale* werden in der Literatur als starke Antimykotika bzw. fungizide Wirkstoffe beschrieben (AGARWAL et al., 2000; YANG et al., 2009). Gemäß einer Entscheidung der Europäischen Kommission vom 15. Dezember 2008 (Aktenzeichen K(2008) 8133) dürfen Anthrachinone aufgrund ihrer potentiellen Gefährdung der Gesundheit von Mensch und Tier nicht in Anhang I der Richtlinie 91/414/EWG des Rates aufgenommen und in der EU somit nicht mehr für den Pflanzenschutz verwendet werden (Widerruf der Zulassungen von PSM mit diesen Wirkstoffen). Anthrachinone konnten durch LLE-Schritte mit Petrolether weitestgehend abgetrennt werden, waren in den Gesamtextrakten (EtOAc-Phasen), v.a. im Extrakt des GT05, und in den Frks des GT10 E14 aber dennoch sowie meist in glucosylierter Form erfassbar. In den Gesamtextrakten handelte es sich dabei insbesondere um Chrysophanol- und Emodinmonoglucosid. Wie einleitend erwähnt, bildete Chrysophanol eine der drei gegenüber *Blumeria graminis* f.sp. *hordei* (*Bgh*) aktiven Substanzen, die in einem Wurzelextrakt aus *Rumex crispus* identifiziert wurden (CHOI et al., 2004). In einer Studie von AGARWAL et al. (2000) wurde die antifungale Aktivität der aus Rhizomen von *Rheum emodi* methanolisch extrahierten Anthrachinonderivate Rhein, Physcion, Aloe-Emodin und Chrysophanol nachgewiesen, u.a. gegenüber *Aspergillus fumigatus* und *Candida albicans*. GONG et al. (2005) berichteten über den maßgebenden Anteil von Anthrachinonderivaten aus Rhabarber an dessen pharmakologischen Wirkungen. In der vorliegenden Arbeit machten die Anthrachinone in den untersuchten Extrakten im Mittel lediglich 15,74 % der jeweiligen Gesamtpeakfläche aus (LC-MS-Semiquantifizierungsdaten) und waren mit den geringsten Anteilen in den *Bgh*-aktiven EtOAc-Phasen der GTs 02 E12 sowie 30 enthalten. Infolge der Fraktionierung der EtOAc-Phase des GT10 E14 mittels präparativer HPLC waren die Anthrachinone vorrangig in den beiden zuletzt gesammelten Frks 9 und 10 aufkonzentriert, welche neben den Anthrachinonen keine weiteren Gerbstoffe oder Stilbene enthielten. In Frk 8 kamen die Anthrachinone in Spuren vor. Die Frks 8 bis 10 erzielten in Blattsegmenttests (BSTs) gegenüber *Bgh* vergleichsweise nur moderate Effekte. Daher kann ihr Anteil an den *Bgh*-Effekten der Gesamtextrakte als gering eingeschätzt werden.

5.2 Antifungale Wirksamkeit der Extrakte in den Mycelwachstumstests und Gersten-Blattsegmenttests

Verschiedenartige Pflanzenextrakte, wie solche aus *Reynoutria sachalinensis*, *Rumex crispus* oder *Rheum emodi* (Polygonaceae), wurden gegen Echte MehltauPilze und andere pilzliche Phytopathogene bereits getestet (HERGER und KLINGAUF, 1990; KONSTANTINIDOU-DOLTSINIS und SCHMITT, 1998; AGARWAL et al., 2000; KIM et al., 2004). In *in vitro* Untersuchungen von HUSSAIN et al. (2010) wurden ausgewählte methanolische Rohextrakte von Medizinalpflanzen aus der Familie der Knöterichgewächse auf ihre antibakteriellen, antifungalen und insektiziden Aktivitäten getestet. Unter den Pflanzenextrakten fanden sich solche aus *Rumex*-Spezies (spp.; oberirdische Biomasse / Wurzeln) und *Rheum australe* (Rhizom), welche v.a. hemmende Effekte gegenüber *Fusarium solani* und *Aspergillus niger* zeigten. In einer Studie von FARRAG et al. (2013) wurden die antifungalen Wirkungen unterschiedlicher wässriger Pflanzenextrakte auf die Konidienkeimung und das Mycelwachstum samenbürtiger Pilze von Gurkensaat untersucht (vorrangig *Fusarium oxysporum*). Bei den Extrakten handelte es sich u.a. um Pfefferminz-, Rhabarber-, Knoblauch- und Walnusseextrakte, von welchen der Pfefferminzextrakt, dicht gefolgt von *Rheum rhabarbarum*, am effektivsten war (*in vitro* Tests mit Dosierungen von 2 bzw. 3 %; 100 %ige Hemmungen). Ein Extrakt aus dem Rhizom von *R. rhabarbarum* zeigten in einer

Studie von WANG et al. (2007) auch signifikant hemmende Effekte gegenüber dem Falschen Mehltau *Phytophthora infestans* auf Kartoffelblättern und -keimlingen.

Ein ethanolischer Wurzelextrakt aus *Rheum officinale* wurde in Form der in China kommerzialisierten wässrigen Phycion/Parietin-Formulierung in Gewächshaus- und Freilandversuchen auf seine Wirksamkeit gegen Echten Mehltau in Gurken (*Podosphaera xanthii*) evaluiert. Auf Basis des meist über 80 %igen Wirkungsgrades wurde das Produkt in China als effektives Alternativmittel im integrierten und biologischen Pflanzenschutzmanagement gegen Echten Gurkenmehltau empfohlen (YANG et al., 2009).

Im Unterschied zu derartigen Studien galt es, die potentielle Eignung der Rumiaceae-Wurzelextrakte bzw. ihrer Wirkstoffe als Pflanzenschutzstrategie für einen (ergänzenden) Einsatz in fungiziden PSM in Experimenten funktionell zu prüfen, die *in vitro* Labor- bis groß angelegte Feldversuche mit unterschiedlichen Dosierungen, Frk-Testungen und die chemische Strukturcharakterisierung der Anthrachinon-reduzierten Extrakte umfassen. Das diesbezügliche Monitoring war in Primär-, Sekundär- sowie Tertiärscreening-Stufen unterteilt. Die Methoden des Primärscreenings bildeten der *in vitro* Mycelwachstumstest (MWT) und der *in vivo* BST.

5.2.1 Mycelwachstumstests

Der mit den H₂O- und EtOAc-Phasen der *Rheum*- und *Rumex*-Wurzelextrakte durchgeführte MWT wurde für die Testung gegen nekrotrophe und hemibiotrophe Pilze und Oomyceten unterschiedlichster Besiedlungsstrategien, Ernährungsformen oder Entwicklungszyklen (HAMMOND-KOSACK und JONES, 1996) genutzt. Da wachstumshemmende Effekte in Untersuchungen mit obligat biotrophen Erregern auch auf der Induktion pflanzlicher Resistenzmechanismen beruhen können, erlaubte der MWT so die Abgrenzung direkter antifungaler Aktivitäten. Durch die in das jeweilige Nährmedium eingearbeiteten Extraktlösungen wurden nicht alle der getesteten Erreger signifikant, aber hemibiotrophe Pathogene wie *Fusarium* spp. (CASTIBLANCO et al., 2017) und nekrotrophe Pilze wie *Alternaria brassicicola* (hier v.a. durch den GT10 E12-Extrakt) teils deutlich in ihrem Wachstum gehemmt (EtOAc-Phasen, 1000 ppm).

Gegenüber *Fusarium culmorum* und *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* (FOL race 2) waren die Extrakte des GT10 beider Erntejahre selbst in geringeren Dosierungen bis 250 ppm bzw. 62,5 ppm (GT10 E12) sehr effektiv, gegenüber Letzterem in 1000 ppm und 500 ppm sogar die H₂O-Phasen des GT02 E09 sowie GT10 E14. Die Wirksamkeit der H₂O-Phase des GT10 E14 könnte auf ihren vergleichsweise hohen Gehalt an Rhaponticin (RHA) zurückgeführt werden (41,01 mg/g Extrakt), da die H₂O-Phasen im Übrigen keine nennenswerten Polyphenolgehalte aufwiesen. Inwiefern sich weitere polyphenolische oder andere Substanzen auf das Mycelwachstum von FOL race 2 ausgewirkt haben, kann aufgrund der fehlenden Semi-quantifizierung der Verbindungen im GT10 E14-Extrakt an dieser Stelle nicht geklärt werden. *Fusarium* spp., wie *F. culmorum* oder *F. graminearum*, welche vorrangig Hafer und Weizen befallen, zählen global gesehen zu den gefährlichsten Krankheitserregern in Getreide. Die Ertragsverluste von etwa 10 % bis 50 % sind auf eine verringerte Triebkraft des Saatgutes, Kornzahl pro Ähre und ein vermindertes Tausendkorngewicht zurückzuführen (Schadbild: partielle Weiß- oder Taubährickeit). Von ihnen gebildete und für den Menschen sowie das Tier problematische Mykotoxine (z.B. Deoxynivalenol [DON], Zearalenon [ZON]) belasten bei witterungsbedingt langsamer Abreife oder unsachgemäßer Lagerung (Wiederbefeuchtung) das Erntegut (Konsum-, Futtergetreide) (SCHLÖSSER, 1997; HOFFMANN und SCHMUTTERER, 1999; PRIGGE et al., 2004). Allgemein gilt, dass für die Bekämpfung von pilzlichen Erkrankungen in

Weizen, wie Mehltau und *Septoria*, etliche PSM zugelassen sind, die wenigsten davon aber auch gegen *Fusarium* spp. wirken.

In Mais sind die agrarwirtschaftlichen Maßnahmen aufgrund fehlender Zulassungen auf die Saatgutbeizung beschränkt. Die Fruchtfolge Weizen nach Mais ist hinsichtlich des verstärkten Befallsrisikos mit *Fusarium* kritisch zu sehen.

Alternativen zu chemischen PSM bilden synthetische Pflanzenaktivatoren wie Benzothiadiazol (BTH). Die Kolonisationsrate von *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* konnte durch eine BTH-Vorbehandlung von Tomaten über die BTH-vermittelte induzierte Resistenz (IR) der Pflanzen nachweislich reduziert werden (BENHAMOU und BÉLANGER, 1998). Vorbeugende Behandlungen von Getreidebeständen mit Pflanzenstärkungsmitteln halten das Befallsniveau für längere Zeit unterhalb einer Schadensschwelle (Verstärkung der Papillenbildung, Anstieg von Salicylsäure [engl. salicylic acid {SA}]). Erfolgt dies erst in späteren Pflanzenentwicklungsstadien, ist jedoch mit einer geringeren Wirkung zu rechnen (SCHLÖSSER, 1997; HOFFMANN und SCHMUTTERER, 1999). Ein weiterer Nachteil solcher chemischen Resistenzinduktoren ist ihr bedingter Energieaufwand für die Pflanze, der sich negativ auf deren Ertragsbildung auswirken kann (z.B. durch die Bereitstellung abwehraktiver Verbindungen). Somit stellen Pflanzenaktivatoren agrarökonomisch keine echte Alternative zu Fungiziden dar (SCHLÖSSER, 1997; VAN HULTEN et al., 2006; HALLMANN et al., 2007; WALTERS et al., 2008; CONRATH et al., 2015). Kurativ wirksame Fungizide bergen jedoch eine hohe Resistenzgefahr und sollten daher nur begrenzt eingesetzt werden (WINTER, 2002). Unter Berücksichtigung dieser Überlegungen könnten Polyphenole von *Rheum*-Wurzelextrakten eine umweltfreundlichere wie auch potenziell nachhaltigere Ergänzung zu synthetischen Fungiziden sein (siehe auch Kap. 5.5 und Folgende). Die kurative Wirksamkeit von *Rheum*-Wurzelextrakten *in vivo* konnte anhand von Gersten-BSTs mit dem GT29-Extrakt (EtOAc-Phase, 500+50 ppm; n = 13) in Voruntersuchungen belegt werden. 7 d nach der Infektion (engl. days after infection [DAI]) mit *Bgh* zeigten die postinfektionell behandelten Blätter (3 DAI) einen *Bgh*-Befallsgrad von 32 % (500 ppm) bis 43 % (50 ppm), wobei der Befall der Kontrollblätter bei 92 % lag. Die Vorbehandlung von Blättern drei Tage vor der Inokulation bewirkte eine deutlich stärkere *Bgh*-Hemmung (1-20 % versus [vs.] 100 %). Die kurative Wirkung gegenüber *Bgh* war gegenüber der protektiven Wirksamkeit damit zwar schwächer, aber dennoch signifikant (Dunnnett-Test, $P < 0,001$).

Die Extrakte des GT10 E12 und GT02 E12 sowie v.a. des GT23 (Ø 13 % rel. Wachstum) hemmten auch das Mycelwachstum des hemibiotrophen „rice blast“-Pilzes *Magnaporthe oryzae* massiv. Mutmaßliche Wirkstoffe im GT23-Extrakt sind die quantitativen Hauptkomponenten RHA und Desoxyrhaponticin (DRHA) sowie die semiquantitativ bestimmten Substanzen Piceatannolglucopyranosid und Resveratrol-Dihydrodimer. Der durch *M. oryzae* verursachte Reisbrenner ist die weltweit relevanteste Krankheit im Reisanbau (MEHRABI et al., 2009). Nach dem Weizen zählt der Reis global zu den wichtigsten Grundnahrungsmitteln (BMBF, 2010), der ein Drittel der Weltbevölkerung ernährt (HEAD, 2017). Genauer zählt er neben Mais, Sojabohnen, Hirsen und der internationalen Bedeutung von Gerste zu den „big five cash crops“, die 75 % der Weltbevölkerung ernähren (MIEDANER, 2014). Auch bei Reis gilt, dass pflanzenzüchterische Maßnahmen in Form von krankheitsresistenten Kultivaren innerhalb weniger Vegetationsperioden von dem Pilz überwunden werden (FUKUOKA et al., 2009). Daher besteht ein dringender Bedarf an neuen antifungalen Wirkstoffen, welcher durch Rhabarber-basierte Mittel mit abgedeckt werden könnte. Gegenüber *Bgh* resistente Gerstenlinien (*mlo*-vermittelte Resistenz) zeigen eine hohe Anfälligkeit gegenüber *M. oryzae*, der auch andere Süßgräser befällt (JAROSCH et al., 1999). Ob *Rheum*-Wurzelextrakte den Erreger in Gerste kontrollieren können, wäre zu prüfen.

In Obstgewächsen gehören Pilze ebenfalls zu den schädlichsten Krankheitserregern (WINTER, 2002). Der Apfel zählt neben Getreide, Kartoffeln, Raps, der Weinrebe, Hopfen und Gemüsearten zu den Fungizid-intensiven Kulturen. Im Apfelanbau bedeutet dies eine Anwendungshäufigkeit von über 20 Behandlungen pro Saison (HALLMANN et al., 2007). Verglichen mit anderen pilzlichen Phytopathogenen in Kernobst, erfordert der Apfelschorf-Pilz *Venturia inaequalis* den höchsten Bekämpfungsaufwand, welcher bei sichtbarem Schorfbefall gezielte Fungizidbehandlungen mit Spritzabständen von max. 14 d umfasst (WINTER, 2002; COX, 2015). *Venturia inaequalis* zeigte unter Einwirkung des GT10 E12-Extraktes drastisch reduzierte Wachstumsraten und eine diesbezügliche Hemmung von bis zu 100 %. Da teilweise ausschließlich das Impfstück bewachsen war, ist anzunehmen, dass der Pilz Kontakt zur Extraktlösung hatte und sich infolgedessen ausschließlich aus dem Impfstückagar heraus ernährte. Die meisten europaweit angebauten Apfelsorten sind sowohl gegenüber Schorf als auch Mehltau (*Podosphaera leucotricha*) anfällig, sodass chemische Bekämpfungsmaßnahmen unabdingbar sind (WINTER, 2002; LESEMAN et al., 2006). „Teilsystemische Schorf-fungizide (Triazole) sowie Strobilurine erfassen auch den Mehltau. In Regionen mit Triazol-Resistenz bei Schorf dürfen schorfwirksame Produkte dieser Gruppe auch nicht gegen Mehltau eingesetzt werden“ (WINTER, 2002). Die erforderlichen intensiven Fungizidapplikationen sind zwangsläufig mit den bekannten ökologischen Problemen verbunden, wie Nebenwirkungen auf andere Lebewesen bzw. Nutzorgansimen (Regenwürmer, Bienen) (LESPINASSE et al., 2000; WINTER, 2002). Durch die substanziiell reduzierten Befallsraten *Bgh*-infizierter Blätter im Rahmen der Gersten-BSTs (siehe auch Kap. 5.2.2) und die 100 %ige Hemmung von *V. inaequalis* im MWT ist eine mögliche Doppelindikation des GT10-Extraktes im Erwerbsobstbau gegeben, die ansonsten nur durch hoch effiziente synthetische Fungizide erreicht wird.

Eine weitere Diskussionsgrundlage lieferten auf den Testplatten der MWTs aufgefallene morphologische Besonderheiten (siehe Anlage 71). Zu diesen zählte eine partielle dunkle (rötliche) Verfärbung des Nähragars an der Peripherie des Mycelstücks, die sowohl bei *M. oryzae* als auch *V. inaequalis* nach Behandlung mit hohen Dosen der GT02 E09-, GT10 E12 und E14- sowie GT23-Extrakte beobachtet wurde. Mögliche Ursache war ein Austritt des Farbstoffs Melanin, welcher als appressoriales Zellwandpigment u.a. bei der Gattung *Magnaporthe* bekannt ist (BECHINGER et al., 1999) und eine hohe antioxidative Kapazität aufweist (JACOBSON und TINNELL, 1993). Es war unter Einwirkung der *Rheum*-Extrakte offenbar als Folge einer Zellwandauflösung in den Nähragar ausgeschieden worden. Hinsichtlich *F. culmorum* zeigten Extrakte wie der des GT10 E14 auffällige morphologische Veränderungen des Mycelwachstums. Diese äußerten sich in einer ledrigen, schuppenartigen Ausprägung mit vergleichsweise glattem Rand (keine feinen Hyphenausläufer wie im Falle der Kontrolle / H₂O-Phase). Insbesondere die Beobachtungen der erstgenannten Effekte bedeuten, dass *Rheum*-Wurzelextrakte über die Eigenschaft verfügen könnten, pilzliche Zellwände anzugreifen, aufzubrechen bzw. aufzulösen (Chitinasewirkung [Zellwandabbau/-lysis]). In den mit den EtOAc-Phasen der GTs 29 und 35 anfänglich durchgeführten MWTs gegen den Oomyceten *Phytophthora capsici* (Isolat LT1534) konnte beobachtet werden, dass infolge der angenommenen Zellwandauflösung endogene Bakterien freigelassen wurden. Hauptkomponenten der GT29- und GT35-Extrakte waren RHA und DRHA (quantitativ) sowie Piceatannolglucopyranosid und Resveratrol-Dihydrodimer (GT35) bzw. Rhapontigenin (GT29) (semi-quantitativ). Insbesondere die vier erstgenannten Substanzen scheinen eine Rolle bei den beobachteten antifungalen Effekten zu spielen, da diese auch die Hauptkomponenten des GT23, GT10 und GT02 bildeten. ADRIAN et al. (1997) stellten fest, dass eine bestimmte Konzentration

exogen applizierten RES einen Aufbruch der Konidienzellwand von *Botrytis cinerea* mit anschließendem Austritt der Zellbestandteile verursachte.

Wenngleich dieses Ergebnis mit den geprüften *Rheum*-Extrakten nicht bestätigt werden konnte, liegen doch Hinweise auf ein entsprechendes zellwandauflösendes Potential gegenüber den oben angegebenen Phytopathogenen vor.

5.2.2 Gersten-Blattsegmenttests

Die BSTs, welche weitgehend im Pathosystem *Hordeum vulgare* (anfällige Sommergersten [SG]-Sorte 'Lawina') – *Blumeria graminis* f.sp. *hordei* (Gerstenmehltau, Rasse A6; *Bgh*) durchgeführt wurden, ermöglichten die Evaluierung des antifungalen Potentials selektierter Gesamtextrakte (EtOAc-Phasen) gegenüber obligat biotrophen pilzlichen Pathogenen. Hierbei wurden unbehandelte (dest. H₂O) Blätter mit Mehltaukonidien infiziert und bis zu einer deutlichen Mycelbedeckung inkubiert (ca. 90 %). Die Befallsrate wurde mit derjenigen von Blattsegmenten verglichen, die eine präinfektionelle Extraktbehandlung erfuhren. Die *Bgh*-hemmenden Effekte der hierfür ausgewählten Extraktproben (GT02, GT05, GT10, GT24, GT29, GT30, GT35) waren, wenngleich die Wirkungen bei geringeren Dosierungen meist abfielen, signifikant (500-63 ppm). Bei Anwendungskonzentrationen von 250 ppm sowie 125 ppm konnte der GT10 E12 das pilzliche Mycelwachstum um durchschnittlich 100 % hemmen und bildete damit den gegenüber *Bgh* nachweislich effektivsten Extrakt. Dies ist unter Berücksichtigung der durch Getreidemehltau verursachten Ertragsverluste von bis zu 30 % (siehe Kap. 2.1.1) hervorzuheben. Den entscheidenden Unterschied zu den beiden anderen *R. rhabarbarum*-GTs 24 und 29 könnten die im GT10 E12-Extrakt quantitativ höheren Gehalte an RHA, DRHA sowie RES verursacht haben, welche bzgl. des GT10 E14-Extraktes mit schlechterer *Bgh*-Wirkung ebenfalls geringer ausfielen (um ca. die Hälfte). Basierend auf den Mittelwerten der jeweiligen Wachstumsraten erwies sich der GT10 E12-Extrakt, mit großem Abstand, auch in den MWTs als effektivster Extrakt (Ø 15 % rel. Wachstum), während die Charge der später geernteten Wurzeln (GT10 E14) auch hier schwächere Effekte zeigte (z.B. geg. *V. inaequalis*). Die nur im GT10 E14-Extrakt gegebenen Anteile an den galloylierten Substanzen Piceatannolgalloylglucopyranosid und Rhaponticingallat dürften sich durch die nachgewiesene antifungale Wirkung von Gallussäure nicht nachteilig ausgewirkt haben (DIX, 1979; NGUYEN et al., 2013). Der betreffende Extrakt wies jedoch semiquantitativ höhere Gehalte an glucosylierten Komponenten auf (Trihydroxystilbenglucosid, Piceatannolglucopyranosid, Piceatannolcumarylglucosid). Glucosylierungsprozesse können in anfälligen bzw. resistenten Sorten unterschiedliche Reaktionen auslösen. Dies wurde am Beispiel RES und dem Falschen Mehltau in Reben verdeutlicht (PEZET et al., 2004b). Während in den anfälligen Kulturen infolge der Infektion RES zu seinem Glucosid Piceid umgewandelt wurde, produzierten die resistenten Sorten neben dem RES als Synthesepool zudem ε- und δ-Viniferin (Oxidationsprodukte des RES). In einer Studie von BAÍDEZ et al. (2006) zeigten die glykosylierten Verbindungen von polyphenolischen Substanzen aus Wurzeln und Stängeln des Olivenbaums eine geringere toxische Wirkung gegenüber Oomyceten und Pilzen als deren Aglykone. Demzufolge könnte die geringere Wirksamkeit des GT10 E14-Extraktes (einschließlich der unzureichenden Hypersensitivitätsreaktions [HR]-Bildung) auf dessen höheren Gehalt an glucosylierten Verbindungen zurückgeführt werden. Während die GT05- und GT30-Extrakte in den MWTs ein Wirkspektrum von nur 38 % aufwiesen, d.h. lediglich gegenüber drei von acht Pathogenen ausreichend effektiv waren (≤ 50 % rel. Wachstum), zeigten sie gegenüber *Bgh* dosierungsabhängig gute Wirkungen. Die von allen anderen Extrakten abweichende Verteilung der Flavan-3-ole (quantitativ dominierend) sowie Stilbene in den GT05- und GT30-Extrakten schien zwar Einfluss auf die Breitenwirksamkeit sowie Effektivität

(Ø 58 bzw. 49 % rel. Wachstum) gegen nekrotrophe und hemibiotrophe Pathogene, aber nicht auf die Wirksamkeit gegenüber dem biotrophen Gerstenmehltaupilz zu nehmen.

Zudem zeigten beide Extrakte eine gute Teilhemmung gegenüber dem Falschen Mehltaupilz *P. capsici* (v.a. geg. Isolat LT1534) auf. Neben quantitativ vernachlässigbar geringen Stilbengehalten wurde im Extrakt des GT05 ein Piceatannolglucopyranosid mit den semiquantitativ höchsten Peakflächeneinheiten (engl. peak area units [PAU]) identifiziert, welches im Vergleich zu den Extrakten der GTs 02, 10, 24, 29 und 35 jedoch geringer konzentriert vorlag. Der Extrakt des GT30 wies dagegen kein zusätzlich identifizierbares Stilben auf. Daher können die hemmenden Effekte der GT05- und GT30-Extrakte auf *Bgh* ausschließlich durch ihren Flavan-3-ol-Gehalt (v.a. Catechin [ca. 206/126 mg/g] und zu einem geringeren Anteil ECG) erklärt werden. Dem Catechin wird insbesondere eine antibakterielle Aktivität zugeschrieben (CHAKRABORTY und CHAKRABORTI, 2010). Catechin zeigte aber z.B. auch gegenüber *B. cinerea* einen reduzierenden Effekt auf die Keimschlauchlänge, während die Keimungsrate in der betreffenden *in vitro* Studie durch Gallussäure reduziert wurde (TAO et al., 2010). In einer Studie von HIRASAWA und TAKADA (2004) hemmte Epicatechingallat (ECG) die Überlebensrate von *Candida albicans*-Zellen ähnlich dem Catechin, jedoch nicht so schnell wie Epigallocatechingallat. Einen Wirkanteil an den *Bgh*-Effekten der GT05- und GT30-Extrakte könnten daher auch die semiquantitativ bestimmten galloylierten Substanzen gehabt haben (monogalloyliertes Procyanidin-Dimer; GT30: Epicatechingallat-Dimer, GT05: Gallussäure, Monogalloylglucose). Zudem enthielt der GT30-Extrakt die meisten unbekanntesten Massen, deren Substanzen einen maßgeblichen Einfluss gehabt haben könnten. In den breitenwirksamen und *Bgh*-aktiven Wurzelextrakten des GT02 und des GT10 je beider Erntejahre wie auch in allen übrigen Extrakten dominierte der Stilbengehalt (quantitativ: Ø 312 mg/g Stilbene vs. Ø 8 mg/g Flavan-3-ole, semiquantitativ: 56-87 % der Gesamtpeakfläche). Die Inhaltsstoffspektren der GT02- und GT10-Extrakte unterschieden sich dabei nur unwesentlich voneinander (Hauptkomponenten: RHA und DHRA [71-273 mg/g], 3,4',5-Trihydroxystilben-3-O- β -D-glucosid/-glucopyranosid [THSG] bzw. Piceid [insb. im GT02-Extrakt], RES [insb. im GT10 E12-Extrakt]). Auffällig war der Gehalt an RHA im *R. officinale*-Extrakt des GT02, der gemäß der Pharmakopöedefinition in der Droge der Medizinalrhabarberarten *R. palmatum* und *R. officinale* wegen seiner östrogenen Wirkung nicht nachweisbar enthalten sein darf (ENGELSHOWE, 1985; STICHER, 1999). Der Wert der Reinheitsprüfung wird seitens des Deutschen Arzneibuchs 1996 aber kritisch betrachtet, da auch in *R. palmatum* Stilbenderivate isoliert werden konnten (STICHER, 1999). Der hohe RHA- und sonstige Gehalt an Stilbenderivaten im GT10-Extrakt (Speiserhabarber) entspricht den Literaturangaben (DINGERMANN et al., 2004). Unter Berücksichtigung der semiquantitativen LC-MS-Auswertung enthielten die GT02- und GT10-Extrakte ebenfalls dieselben Hauptkomponenten: das Piceatannolglucopyranosid (v.a. im GT02-Extrakt) und ein Trihydroxystilbenglucosid. Das antifungale Potential der Stilbene ist umfassend beschrieben (HART, 1981; WOODWARD und PEARCE, 1988; HAIN et al., 1993; PEZET et al., 2004a; ALBERT et al., 2011; KUMAR und NAMBIAN, 2014) (siehe auch Kap. 2.2.2). Die Stilbene Piceatannol und RES wurden im Kernholz von Robinien, in denen das ältere Kernholz eine höhere Resistenz gegenüber pilzlicher Fäulnis zeigt, neben dem Flavonoid Dihydrorobinetin als die dort deutlich höher konzentrierten Inhaltsstoffe identifiziert (SERGENT et al., 2014). Das postinfektionell unspezifisch akkumulierte RES, dessen Oxidationsprodukte antifungal aktiver sind (LANGCAKE und PRYCE, 1976), induzierte in einer Studie von POCIECHA et al. (2014) den Phenolmetabolismus in mehltauanfälligem Weizen. Hier wurden erhöhte Phenylalaninammoniumlyase (PAL)- und β -D-Glucosidase-Aktivitäten detektiert. Durch exogen appliziertes RES konnte der pilzbedingte

Blattschädigungsgrad reduziert werden. Dieser Effekt wurde der antioxidativen und abwehrregulatorischen Kapazität des RES zugeordnet (Hemmung der Produktion reaktiver Sauerstoffspezies [engl. reactive oxygen species {ROS}]). Neben den Stilbenen sind aber auch Flavonoide, darunter insbesondere die (methylierten) Isoflavonoide, für antimikrobielle Kapazitäten bekannt (HARBORNE und WILLIAMS, 2000; ORHAN et al., 2010; KANWAL et al., 2010).

Das abweichende Inhaltsstoffspektrum des Wurzelmaterials aus dem GT05, der wie der GT02 die *Rheum*-Art *R. officinale* bildet, könnte daran liegen, dass eine große Bastardisierungstendenz der botanisch oder morphologisch-anatomisch ohnehin bereits schwer differenzierbaren *Rheum*-Arten besteht (ENGELSHOWE, 1985; HÄNSEL, 1999). Verunreinigungen von *R. palmatum* und *R. officinale* (Rhei radix, Rhabarberwurzel) durch Rhapontik-Rhabarber von *R. rhaponticum* und gelegentlich auch durch *R. rhabarbarum* kommen vor (SCHIER, 1999). Das im GT05-Extrakt gefundene Gallotannin Monogalloylglucose spricht jedoch für seine Zugehörigkeit zu den Medizinalrhabarberarten (STICHER, 1999; DINGERMANN et al., 2004).

Auf der Grundlage der überzeugenden Mehltauwirkung der Extrakte des GT05 und GT30 mit hohem Flavan-3-ol-Gehalten sowie der Stilben-dominierten GT02- und GT10-Gesamtextrakte wurde angenommen, dass Komponenten verschiedener Polyphenolgruppen an der protektiven Wirkung gegenüber *Bgh* maßgeblich beteiligt sind und möglicherweise zu einer synergistischen Wirkung führen könnten. Die antimikrobielle Aktivität von Extrakten und fraktionierten Inhaltsstoffen aus *Rheum* wurde erst kürzlich durch PHAM et al. (2017) getestet. Untersuchungsmaterial war das Rhizom des *Rheum tanguticum*, welches extrahiert und fraktioniert gegen fünf von sieben phytopathogenen Pilzen wirksam war (*in vivo*), darunter *M. oryzae* und *Bgh*. Die chromatographisch aufgetrennten Frks der aktiven Extrakte enthielten neben vier Stilbenen drei Anthrachinone, von denen Physcion sowie Chrysophanol gegenüber *Bgh* signifikant effektiv waren und Rhapontigenin wie auch Desoxyrhapontigenin antibakteriell überzeugten. In den mittels präparativer HPLC erzeugten 10 Frks des GT10 E14 (EtOAc-Phase) konnten die im Gesamtextrakt enthaltenen Substanzen entsprechend aufkonzentriert und eine Einteilung in vorrangig Flavan-3-ol- sowie Stilben-haltige Frks vorgenommen werden. Dies ermöglichte die Ableitung gezielterer Struktur-Wirkungs-Beziehungen. Wie sich anhand der LC-MS-Analytik ergab, enthielten die zu Beginn eluierenden Frks 1 und 2 insbesondere Flavan-3-ole (Frk 1 v.a. Catechin, aber auch Procyanidine; semiquantitativ: insb. Epicatechingallat-Dimer, monogalloyliertes Procyanidin-Dimer und Di-O-galloylglucose), die Frks 3 bis 8 vorrangig Stilbene, wobei Frk 8, wenn auch nur in Spuren, zudem Anthrachinone aufwies. Frk 9 und Frk 10 wiederum enthielten hauptsächlich Anthrachinone. Die mit den GT10-Frks 1 bis 10 durchgeführten Gersten-BSTs ließen an den signifikanten Bestwirkungen der Frk 2 und Frk 5 (Ø 2-3 % vs. 88 % Befall bei der Kontrolle) erkennen, dass an der *Bgh*-Wirkung des Gesamtextraktes sowohl Verbindungen der Flavan-3-ol-Gruppe (Frk 2-Hauptkomponente: ECG) als auch Stilbenkomponenten (Frk 5-Hauptkomponente: RES, semiquantitativ: Rhaponticingallat) beteiligt sind. Inwieweit das in Frk 2 zusätzlich identifizierte Trihydroxystilbenglucosid mit über 2,7 Millionen PAU Einfluss nahm, kann aufgrund der nur semiquantitativen Auswertung nicht geklärt werden. Der THSG-Standard war in Einzelanwendung aber die schwächste (Stilben-)Verbindung gegenüber *Bgh*. *Bgh*-aktiv, jedoch weniger effektiv als die Frks 2 und 5, war auch die Frk 7 mit dem vergleichsweise höchsten Polyphenolgehalt (ca. 927 mg/g Frk). Die Konzentration an Polyphenolen allein hat somit keine maßgebende Auswirkung, wenngleich sich der in Frk 6 festgestellte Mangel an Polyphenolen (ca. 2 mg/g Frk) durch die vergleichsweise schwächste *Bgh*-Wirkung äußerte. Die in der Frk 7 und Frk 4 aufkonzentrierten Hauptinhaltsstoffe des GT10-Gesamtextraktes DRHA bzw. RHA scheinen nicht ausschließlich für dessen *Bgh*-Effekt verantwortlich zu sein. Die Annahme der

polyphenolgruppenbezogenen Mehrkomponentenwirksamkeit konnte durch die Gersten-BSTs mit *Rheum*-typischen Standardsubstanzen bestätigt werden. Hier zeigten alle Vertreter der unterschiedlichen Polyphenolgruppen (Flavan-3-ol- und Stilben-Standards der MS-Quantifizierung) signifikant hemmende Effekte gegen den Mehлтаupilz. Aus jeder Gruppe erzielte mindestens eine Substanz eine Hemmung des Pathogens von über 90 % (z.B. ECG, RES).

Die multikomponentenbedingte antifungale Wirksamkeit des GT10-Extraktes lässt daher ein geringeres Risiko für Pathogenresistenzen in der landwirtschaftlichen Praxis vermuten.

Ein *R. rhabarbarum*-Extrakt konnte in einer Studie von DAGOSTIN et al. (2011) *Plasmopara viticola*-Infektionen in Reben unter Gewächshausbedingungen auf einem hohen Level kontrollieren. In Untersuchungen der Hochschule Geisenheim zeigten ausgewählte Extrakte des Rhabarbersortiments der Hochschule Anhalt in *in vivo* Tests (Gewächshausversuchen) eine ansprechende Wirkung gegenüber dem Falschen Mehltau der Weinrebe *P. viticola* an Rebstecklingen der Sorte Riesling. Während beim GT29-Extrakt (*R. rhabarbarum*) eine klare Dosis-Wirkungs-Beziehung erkennbar war, erwies sich der Extrakt des GT35 (*R. altaicum*) als die bessere Wirkstoffkombination mit sehr guten Effekten bis hin zur niedrigsten Konzentration (1000-250 ppm, protektiv; Blattbonitur, n = 20). Bis auf die niedrigste Dosierung des GT29-Extraktes übertrafen die Mehлтаueffekte der *Rheum*-Wurzelextrakte sogar die des Kontaktfungizids Folpan® 80 WDG. Diese stellen insofern relevante Ergebnisse dar, als dass *P. viticola*, wie andere Vertreter auch, durch eine zeitnah erworbene Resistenz gegenüber systemischen Fungizidwirkstoffen gekennzeichnet ist (HALLMANN et al., 2007). Gegen *Oidium* (Echter Mehltau in Reben) werden im ökologischen Weinbau als kostengünstige Alternative zu anorganischen Schwefelpräparaten zunehmend KHCO₃- und K₂CO₃-Präparate eingesetzt (z.B. VitiSan®, Armicarb®), welche auch im Obstbau sowie in landwirtschaftlichen Kulturen gegen Mehltau empfohlen werden. In Kooperation mit der Hochschule Geisenheim deuten erste Freilandversuche an *Oidium* in Reben darauf hin, dass auch *Rheum*-Extrakte eine Alternative für die Bekämpfung von Echtem Mehltau in Reben darstellen könnten. Im Rahmen des biologischen Pflanzenschutzes wäre daher eine Mischung von KHCO₃- und K₂CO₃-Präparaten mit *Rheum*-Extrakten denkbar. Die Bedeutung von Inhaltsstoffen mehrerer Polyphenolgruppen für die antimikrobielle Aktivität des GT10-Gesamtextraktes ließ sich im Rahmen einer dissertationsbegleiteten Masterarbeit von SOMMERMANN (2015) auch am Beispiel des Falschen Mehлтаupilzes *P. capsici* in Tomaten nachweisen (BSTs). Hier erwiesen sich gegenüber dem *P. capsici*-Isolat LT263 insbesondere die Flavan-3-ol-dominierte Frk 1 wie auch die Stilben-Frk 5 als wirksam. Die Ergebnisse korrelierten mit hohen Gehalten an galloylierten (z.B. ECG) und hydroxylierten Verbindungen (v.a. RES in Frk 5). Wie anhand der Gersten-BSTs gezeigt, enthielten die gegenüber *Bgh* aktiven Frks des GT10 E14-Extraktes sowohl galloylierte (ECG in Frk 2; Epicatechingallat-Dimer in Frk 1) und hydroxylierte (Catechin, Procyanidin [PRO] B1 in Frk 1) Flavan-3-ole als auch hydroxylierte (RES in Frk 5), glucosylierte (RHA, DRHA in Frk 4 bzw. 7; Trihydroxystilben-glucosid in Frk 2) und galloylierte (Rhaponticingallat in Frk 5) Stilbene.

Die Vorteile von Roh- bzw. Gesamtexttrakten liegen in ihren additiven oder synergistischen Effekten sowie, verbunden mit einem geringeren Resistenzrisiko, in ihrem erweiterten antimikrobiellen Wirkspektrum begründet (YAZDANI et al., 2011). Durch diese Eigenschaften sind auch moderne Fungizide gekennzeichnet, die meist nur durch Wirkstoffkombinationen mit unterschiedlichen Wirkmechanismen zur Minderung der Resistenzgefahr beitragen (HALLMANN et al., 2007). Während das weite antimikrobielle Wirkspektrum mittels der MWTs für die Mehrheit der Rumiaceae-Wurzelextrakte bestätigt werden konnte, waren durch die kombinierte Anwendung der *Rheum*-typischen Reinsubstanzen in den Gersten-BSTs zudem

synergistische Effekte von Verbindungen verschiedener Polyphenolgruppen nachweisbar. Hierfür wurden Lösungen aus je einem repräsentativen Flavan-3-ol und einer Stilbenkomponente in unterschiedlichsten Mischungsverhältnissen angesetzt und gegen die Standardlösungen, die separat appliziert wurden, auf ihren *Bgh*-Effekt hin geprüft. Am Beispiel der Kombinationen ECG und RES sowie PRO B2 und RHA konnte nachgewiesen werden, dass die (in den niedrigsten Dosierungen) verhältnismäßig schwachen, nicht signifikanten *Bgh*-hemmenden Wirkungen des z.B. im GT10 E14-Extrakt quantitativ gering vertretenen ECG und des nur marginal enthaltenen PRO B2 (mit schwächster Wirkung in Einzelanwendung [siehe Kap. 4.4.3]) durch die Kombinationsanwendungen mit den Stilbenen über eine additive Wirkung hinaus gesteigert werden können.

Auf der Stufe des Sekundärscreenings wurden die Effekte auserwählte Extraktproben, die sich im Primärscreening als besonders wirksam erwiesen hatten, anhand spezieller Testsysteme im Detail untersucht. Bei den Extraktproben handelte es sich um die für diese Zwecke neu aufgearbeitete Charge des GT10 (GT10 E14, EtOAc-Phase) einschließlich seiner repräsentativen Frks 2 (Flavan-3-ol-haltig) und 5 (Stilben-haltig) sowie deren Hauptkomponenten ECG und RES in Form der Standardsubstanzen.

5.3 Histochemische Studien zur Wirksamkeit von *Rheum rhabarbarum* ‘The Sutton’-Extrakten im Pathosystem Gerste – Gerstenmehltau

Im Rahmen des Sekundärscreenings wurden im Pathosystem *H. vulgare* (Lawina) – *B. graminis* f.sp. *hordei* (*Bgh*) histochemische Studien durchgeführt. Die Studien ergaben, dass der präinfektionell applizierte GT10 E14-Extrakt (EtOAc-Phase) die *Bgh*-Konidienkeimrate mit der Folge einer signifikant erniedrigten Haustorienformationsrate dosisabhängig signifikant reduzierte (48 h nach der Infektion [engl. hours after infection {HAI}]). In Vergleichsuntersuchungen mit dem GT02 E12-Extrakt konnten ähnliche Beobachtungen gemacht werden. In histochemischen Studien, die Teil einer Dissertations-begleiteten Bachelorarbeit von MEISSNER (2013) waren, galt dies auch für den GT05-Extrakt (250, 125[, 31,25] ppm). Dies deutet stark darauf hin, dass der geringe *Bgh*-Befall der Gerstenblätter im Rahmen der BSTs u.a. das Resultat einer verminderten Nährstoffaufnahme über die Haustorien war. Bei erfolgreicher Appressoriumbildung seitens der *Bgh*-Konidien war zu beobachten, dass diese quantitativ häufiger direkt über die Zellwand in die pflanzliche Zelle eindringen. Dies entspricht der Literaturangabe von HALLMANN et al. (2007). Wie bereits anhand der Gersten-BSTs nachgewiesen, scheinen für die inhibierenden Wirkungen des GT10-Gesamtextraktes zum Zeitpunkt der *Bgh*-Keimung und -Haustorienetablierung signifikant sowohl Komponenten aus der Gruppe der Flavan-3-ole (am Bsp. der Frk 2, ECG) als auch aus der Gruppe der Stilbene (am Bsp. der Frk 5, RES) verantwortlich zu sein.

In der Gerste-*Bgh*-Interaktion können nach erfolgreicher Ausbildung des appressorialen Keimschlauchs eine Reihe von Interaktionstypen identifiziert werden. Hierzu gehören die Bildung ineffektiver Wirtspapillen, denen eine erfolgreiche Penetration folgt, wie auch die Formation effektiver Papillen (CHOWDHURY et al., 2014). Papillenformationen und die HR sind mit der Akkumulation von Wasserstoffperoxid (H₂O₂) assoziiert (HÜCKELHOVEN et al., 1999). Die durch die *Rheum*-Extrakte induzierten Abwehrreaktionen der Modellpflanze konnten durch entsprechend detektierte H₂O₂-Akkumulationsorte zwar nicht mit vollständiger statistischer Signifikanz evaluiert werden (auch nicht im Falle des GT05-Extraktes), aber dennoch Trends aufzeigen. Diese betreffen insbesondere die bei bis zu 250 ppm GT10 E14-Extrakt signifikant geringere

Anzahl der infolge von ineffektiven Papillen entwickelten Haustorienformationen sowie die durch Frk 2 und Frk 5 48 HAI signifikant erhöhten Raten an effektiven Papillen.

Die Ergebnisse zu den mit resistenten 'Ingrid'-Mutanten als Positivkontrolle durchgeführten histochemischen Studien (Haustorien-Daten) müssen relativiert werden, da zumindest bei der *mlo5*-Mutante die Ausprägung von effektiven Papillenformationen gegenüber *Bgh* nahezu 100 % hätte betragen müssen (HÜCKELHOVEN und KOGEL, 1998; HOFFMANN und SCHMUTTERER, 1999). Darüber hinaus konnten Superoxid (O_2^-)-Akkumulationsorte nicht in statistisch ausreichender Zahl und Differenz zur Kontrolle ermittelt werden.

Das O_2^- wird bei erfolgreicher Penetration als subzelluläre Reduktion des injizierten Nitroblautetrazoliumchlorids sichtbar gemacht (TRUJILLO et al., 2004). In der Studie von TRUJILLO et al. (2004) konnten bei der Mehrzahl der Interaktionstypen (Haustorienformationen) entsprechende Akkumulationsorte nahe der Penetrationsstelle ausgemacht werden, während Zellen mit HR keine O_2^- -Akkumulation aufwiesen.

Unter protektiver Einwirkung v.a. der hohen Dosierung des GT02-Extraktes wie auch der GT10-Frk 5 zeigten sich vermehrt nur primäre, sehr dünn ausgeprägte Keimschläuche. Denkbar wäre, dass die Absorption von Wasser und gelösten Stoffen aus der Wirtszellwand in der Mehltaukonidie stilbenbedingt beeinträchtigt war. Dies könnte die Textur des primären *Bgh*-Keimschlauchs mit terminaler Kutikulaanbindung beeinflusst haben (WRIGHT et al., 2000; EDWARDS, 2002).

5.4 Einfluss von *Rheum rhabarbarum* 'The Sutton'-Extrakten auf den antioxidativen Status von Gerste

Im Sekundärscreening wurde auch die Aktivität enzymatischer und nicht-enzymatischer Antioxidantien nach präinfektioneller Applikation des GT02 E12-Extraktes sowie des GT10 E14-Extraktes und dessen stilbenhaltiger Frk 5 in *Bgh*-infizierten Gerstenblättern (Lawina) bestimmt. Ähnliche photometrische Untersuchungen waren im Rahmen der bereits erwähnten Bachelorarbeit von MEISSNER (2013) mit dem GT02 E09-Extrakt (EtOAc-Phase, 500 ppm) durchgeführt worden. In einer Studie von KÄHKÖNEN et al. (1999) zeigten zahlreiche polyphenolische Pflanzenextrakte (u.a. aus Gemüse und Getreide; Gallussäureäquivalente) starke antioxidative Effekte.

Das antioxidative System von Pflanzen ist ein zentrales Thema in wissenschaftlichen Untersuchungen. Den Aktivitäten von ROS, antioxidativen Enzymen und Antioxidantien bei biotischen sowie abiotischen Stresssituationen wird dabei besonderes Interesse gewidmet (FOYER und NOCTOR, 2005; BALTRUSCHAT et al., 2008; DIETZ et al., 2016; NOCTOR et al., 2017). Katalase (CAT) baut zuvor durch die Superoxiddismutase (SOD) aus Superoxid-Anionen generiertes H_2O_2 direkt zu molekularem Sauerstoff und Wasser ab und beugt so einer schädigenden Wirkung des H_2O_2 bei übermäßiger Produktion infolge von Stresssituationen vor (BUCHANAN et al., 2009). In anfälligen Weizensorten, die mit *Blumeria graminis* f.sp. *tritici* (*Bgt*) infiziert wurden, zeigte die CAT 24 HAI bis 72 HAI eine deutlich geringere Aktivität als in resistenten Weizensorten (HAFEZ und ABDELAAL, 2015). PATYKOWSKI und URBANEK (2003) stellten nach Infektion zweier Tomatensorten mit dem nekrotrophen Pilz *B. cinerea* nur leichte Aktivitätssteigerungen der CAT fest und schlussfolgerten daraus zwar eine vorhandene, aber nicht entscheidende Beteiligung dieses Enzyms am Abbau von H_2O_2 nach dem Pathogenbefall. Die in zwei Johanniskrautsorten ermittelten Enzymaktivitäten der CAT waren von dem Welkererreger *Colletotrichum* cf. *gloeosporioides* ebenfalls nur in geringem Ausmaß beeinflusst worden (RICHTER et al., 2011). Diese Beobachtungen stehen im Einklang mit den CAT-Messungen in Gerstenblättern nach der Applikation von GT10-Extrakten mit insgesamt nur

leicht veränderten CAT-Aktivitäten. In internen Vergleichsuntersuchungen mit den GT02-Extrakten konnte jedoch nach 24 h sowohl bei den nicht infizierten als auch infizierten Pflanzen eine deutliche Erhöhung der CAT-Aktivität beobachtet werden. Im weiteren Verlauf der Infektion war die CAT-Aktivität aber nicht mehr auffällig, was dafür spricht, dass es in den Pflanzen extraktinduziert zu einem schnellen und verstärkten Abbau von H_2O_2 kam. Die Hemmung der Mehltauentwicklung über die CAT-gesteuerte Metabolisierung der ROS scheint bereits nach 24 h derartig nachhaltig gewesen zu sein, dass zum Zeitpunkt der Haustorienbildung (Messzeitpunkt 48 HAI) keine abweichenden Aktivitäten mehr feststellbar waren. Alternativ zur CAT wird verstärkt aus reaktivem O_2^- gebildetes H_2O_2 von der Pflanzenzelle bekanntlich in erster Linie über den Ascorbat-Glutathion-Zyklus detoxifiziert. H_2O_2 wird hier durch Oxidation von Ascorbinsäure mit Hilfe der Ascorbatperoxidase (APX) zu H_2O reduziert. Das dabei oxidierte Ascorbat wird anschließend mit Hilfe von NADH von der Monodehydroascorbatreduktase (MDHAR) wieder zur reduzierten Form umgewandelt (BUCHANAN et al., 2009). Aus verschiedenen Untersuchungen geht hervor, dass die Aktivitäten der APX sowie der MDHAR nach Pathogeninokulation deutlich gesenkt werden. Eine *Bgh*-induzierte Senkung der APX-Aktivität in Gerstenblättern einer resistenten Sorte wurde von VANACKER et al. (1998) beschrieben. Im Pathosystem *Hypericum perforatum* – *C. cf. gloeosporioides* wurden negative Effekte auf die Aktivitäten der APX und MDHAR beobachtet (RICHTER et al., 2011). In den vorliegenden Untersuchungen wurde ebenfalls eine starke Absenkung der postinfektionellen APX-Aktivität ermittelt, allerdings erst zu einem späten Zeitpunkt (7 DAI). Mit der Applikation der hohen Dosierung des GT10-Extraktes und der Frk 5 wurde diese pathogeninduzierte Absenkung der APX-Aktivität verhindert. Diese Ergebnisse stimmen auch mit den Beobachtungen von SPANIC et al. (2017) überein, die in einer *Fusarium*-anfälligen Winterweizen (WW)-Sorte postinfektionelle antioxidative Enzymaktivitäten als Abwehrreaktion der Pflanzen erst zu einem späteren Zeitpunkt ermittelten. Die MDHAR- und Dehydroascorbatreduktase (DHAR)-Aktivitäten scheinen in dem Pathosystem Gerste – Mehltau nur eine untergeordnete Rolle zu spielen (VANACKER et al., 1998). Die DHAR katalysiert die Reduktion oxidiertes Ascorbinsäure nach ihrer spontanen Umwandlung in Dehydroascorbat. Da dabei gleichzeitig Glutathion oxidiert wird, greift hier der Ascorbat-Kreislauf in den Glutathion-Kreislauf über (BUCHANAN et al., 2009). Bei der Entgiftung von ROS in *C. cf. gloeosporioides*-infizierten Johanniskrautpflanzen spielte die DHAR ebenfalls nur eine untergeordnete Rolle (RICHTER et al., 2011). Die Entgiftung von ROS über die Oxidation von reduziertem Glutathion (GSH) ist für die Pflanze bei biotischem und abiotischem Stress von großer Bedeutung. Die zur Regeneration benötigte Glutathionreduktase (GR) zeigte nach Befall mit *C. cf. gloeosporioides* verringerte Aktivitäten in nicht mykorrhizierten Johanniskrautpflanzen. Stabilisierte oder gar erhöhte GR-Aktivitäten wurden dagegen in zuvor mykorrhizierten Pflanzen gefunden. Damit wurde für diese Pflanzen der Abbau von stressbedingt auftretenden Radikalen im Glutathion-Zyklus sichergestellt (RICHTER et al., 2011). In den Wurzeln von Gerstenpflanzen war die GR-Aktivität nach Inokulation mit dem symbiotischen Pilz *Piriformospora indica* ebenfalls deutlich erhöht und mit einer erhöhten Widerstandsfähigkeit gegenüber Mehltau assoziiert (WALLER et al., 2005). Allerdings ist auch belegt, dass als Folge biotischen Stresses die Aktivität antioxidativer Enzyme erhöht sein kann. Die Besiedlung von Maiswurzeln mit *Fusarium verticillioides* führte zu einer erheblichen Steigerung der GR-Aktivität. Diese pathogenbedingte Stresssituation wurde nach Inokulation mit *P. indica* abgeschwächt (KUMAR et al., 2009). Auch in den vorliegenden Untersuchungen war die GR-Aktivität in den infizierten Kontrollblättern zeitpunktabhängig signifikant höher als in den nicht infizierten Gerstenpflanzen. Die Applikation der hohen GT10-Extraktkonzentration führte dagegen zum Zeitpunkt 7 DAI zu einer signifikanten Verminderung der GR-Aktivität in den *Bgh*-inokulierten

Pflanzen. Dies kann in diesem Zusammenhang als extraktbedingte Verminderung der Stressbelastung oder Sensibilisierungsreaktion für einen späteren Anstieg in der H₂O₂-Produktion gesehen werden (VANACKER et al., 1998). Solch eine signifikante Abweichung konnte bei der Applikation des GT02 E12-Extraktes jedoch nicht beobachtet werden und beim GT02 E09-Extrakt lag wie bei der Kontrolle eine erhöhte GR-Aktivität vor.

Ascorbat spielt eine zentrale Rolle beim Abbau von oxidativem Stress in Pflanzen. Ascorbat hat eine Schutzfunktion gegenüber unterschiedlichen abiotischen Stressfaktoren wie Ozon, Salz, niedrigen Temperaturen oder Schwermetallen (CONKLIN et al., 1996, ELTAYEB et al., 2007, ZHANG et al., 2011, WU et al., 2015). Mutualistische pilzliche Endophyten können offensichtlich dazu beitragen, die Detoxifizierung von ROS in Pflanzen zu unterstützen, wenn die Pflanzen oxidativem Stress ausgesetzt sind (BALTRUSCHAT et al., 2008; RODRIGUEZ et al., 2008; HAMILTON und BAUERLE, 2012). In den Untersuchungen mit den GT10- und GT02-Extrakten zeigten die Blattextrakte der Kontrollblätter postinfektionell meist signifikant erhöhte Gehalte an reduziertem Ascorbat (AsA), was v.a. unter GT10-Einfluss in der Form nicht beobachtet wurde. Dies korrespondiert mit den Ergebnissen von VANACKER et al. (1998). In der betreffenden Studie war der postinfektionelle Gehalt an AsA in den Pflanzen einer *Bgh*-anfälligen Gerstenlinie signifikant erhöht, während er in der resistenten Linie kaum beeinflusst war.

Ein Einfluss der Extrakte des GT10 (1000 ppm) und des GT02 E12 (1000 ppm) auf den Glutathion-Gehalt war 24 HAI erkennbar. Hier lag der Gehalt an GSH v.a. beim GT10-Extrakt signifikant höher als in den *Bgh*-infizierten Kontrollblättern. Beim GT02 E12-Extrakt fiel ein postinfektionell im Vergleich zur Kontrolle reduzierter Gehalt an oxidiertem Glutathion auf (7 DAI). Dies spricht dafür, dass die reduzierte und damit in antioxidative Prozesse zentral eingebundene Form des Glutathions GSH (RAO und REDDY, 2008; GILL und TUTEJA, 2010) durch die Extrakte stärker als in den Kontrollblättern als Pool aufrechterhalten wurde (BUCHANAN et al., 2009). VANACKER et al. (1998) konnten in anfälligen und resistenten Gerstenlinien (*Mla1/mla1* Allel) nach der Infektion mit *Bgh* feststellen, dass die Blattepidermiszellen der anfälligen Pflanzen gegenüber der resistenten Linie nur vereinzelt eine HR aufwiesen und bei beiden Linien die Mehrheit wichtiger Zellreaktionen nach 24 h nahezu abgeschlossen zu sein schien. Die postinfektionelle Zunahme des GSH in der resistenten Linie sprach für eine positive Beziehung zwischen der Glutathionakkumulation und Pathogenresistenz.

Entscheidende Effekte der stilbenhaltigen GT10-Frk 5 konnten im Rahmen der Aktivitätsbestimmungen der Antioxidantien nicht ausgemacht werden, obwohl deren Hauptkomponente RES bei exogener Applikation, wie in Kap. 5.2.2 beschrieben, die ROS-Produktion basierend auf seiner regulatorischen Funktion im Stoffwechsel von z.B. antioxidativen Enzymen hemmen soll (POCIECHA et al., 2014) und Resveratrol-derivate als strukturbedingt antioxidativ aktiv beschrieben werden (HE und YAN, 2013). LIMMONGKON et al. (2018) veröffentlichten erst kürzlich ihre Ergebnisse zur antioxidativen Aktivität von resveratrolhaltigen Wurzelrohextrakten aus Erdnusskeimlingen.

Abschließend lässt sich dennoch festhalten, dass die *Bgh*-hemmende Wirkung der untersuchten *Rheum*-Wurzelextrakte mit der Beeinflussung des antioxidativen Status in Gerste einhergeht und die schädigende Wirkung der *Bgh*-Infektion auf Gerste durch eine verstärkte Detoxifizierung von ROS durch die Pflanzenextrakte reduziert werden könnte.

5.5 Resistenzinduzierende Effekte von *Rheum rhabarbarum* 'The Sutton'-Extrakten im Pathosystem *Arabidopsis thaliana* – *Erysiphe cruciferarum*

Um zwischen direkten antifungalen und resistenzinduzierenden Effekten des GT10 E14-Extraktes (EtOAc-Phase) unterscheiden zu können, wurden IR-Studien im Modellsystem *Arabidopsis thaliana* praktiziert. Zu den IR-Studien gehörte ein differenzierendes Mutantenscreening mit Phytoalexin-, Ethylen (ET)-, Jasmonsäure (engl. jasmonic acid [JA])- und SA-defizienten *Arabidopsis*-Mutanten im Pathosystem mit *Erysiphe cruciferarum* (*E.c.*). Des Weiteren waren die IR-Studien in mit ausschließlich Col-8 (Wildtyp [WT]) durchgeführte Transkriptabundanzanalysen und Analysen der MPK3-Aktivierung auf Proteinebene gegliedert.

Biologische PSM machen aktuell etwa 1 % des globalen PSM-Marktes aus. Vielfach wird heute auch die Nutzung pflanzeigener Abwehrmechanismen wie der IR durch die Applikation von z.B. pflanzlichen Stoffwechselprodukten wie Milsana® oder die vorbeugende Pflanzenstärkung hier eingeordnet (HERGER und KLINGAU, 1990; HALLMANN et al., 2007). Die durch Mikroben oder Chemikalien induzierbare Resistenz umfasst eine Verstärkung zellulärer Abwehrmechanismen und erhöht die Fähigkeit der Wirtspflanze, schnell und robust auf eine Pathogenattacke zu reagieren (Priming-Effekt) (VAN LOON et al., 1998; CONRATH et al., 2001; CONRATH et al., 2002, CONRATH et al., 2006; VAN LOON et al., 2006; CONRATH et al., 2015). Die Assoziation der IR mit dem pflanzlichen Zell-Priming ist weitreichend bekannt (KÖHLER et al., 2002; BECKERS et al., 2009). Pflanzen, die zur systemisch erworbenen Resistenz (engl. systemic acquired resistance [SAR]) fähig sind, sind in Vorbereitung auf potentielle Sekundärinfektionen in der Lage, eine erhöhte Abwehrbereitschaft in noch nicht befallenem Pflanzengewebe zu induzieren. Die postinfektionelle SAR ist u.a. durch die Akkumulation von SA charakterisiert, welche die Abwehr von vorrangig biotrophen Pathogenen ermöglicht (DURRANT und DONG, 2004; GRANT und LAMB, 2006; VLOT et al., 2009). VAN LOON und VAN STRIEN (1999) beschrieben, dass die Expression der SA-korrelierten Pathogenese-zugehörigen (engl. pathogenesis-related [PR]) Gene *PR1*, *PR2* und *PR5* in *Arabidopsis* für Abwehrreaktionen gegenüber dem biotrophischen Falschen Mehltaupilz *Hyaloperonospora parasitica* erforderlich ist. In einer Studie von HERMS et al. (2002) förderte die Vorbehandlung mit einem Strobilurinfungizid die Resistenz von Tabak gegenüber dem Tabakmosaikvirus und *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* durch das Priming der pflanzlichen Zellen auf eine schnellere Akkumulation von PR-1 Proteinen.

Im Rahmen des Mutantenscreenings wurden die *Arabidopsis*-Pflanzen präinfektionell mit 0,5 % GT10-Extrakt behandelt und etwa 7 d nach der Infektion mit dem Mehltaupilz die Befallsintensität von Blattsegmenten bonitiert. Die Evaluierung wurde durch die Auszählung der Konidien definierter Blattausschnitte ergänzt. Die in der Akkumulation von bzw. in der Reaktion auf IR-verbundene/n Schlüsselregulatoren beeinträchtigten Mutanten ermöglichten die Identifizierung der durch den Extrakt beeinflussten postinfektionell abwehrbezogenen Signalwege. Basierend auf den Versuchen mit der SA-defizienten Mutante *eds5-1* (NAWRATH et al., 2002) konnten Hinweise auf die Induktion der SAR gefunden werden (KOGEL et al., 1998). Indikationen hierfür waren bereits in Vorversuchen mit dem GT02 E12-Extrakt am Beispiel der SA-beeinträchtigten *npr1-1*-Mutante zu beobachten (siehe Anlage 58). Da unter Extrakteinfluss im Vergleich zu Col-8 auch die Befallsintensität auf Blattproben der Phytoalexin-defizienten Mutante *pad2-1* signifikant höher lag, wurde zudem eine Camalexin-abhängige Wirksamkeit

des getesteten GT10-Extraktes vermutet (GLAZEBROOK und AUSUBEL, 1994). Die postinfektionell durch die Extraktvorbehandlung verstärkte Abwehrbereitschaft der Pflanzen scheint damit sowohl SA- als auch Phytoalexin-gesteuert zu sein.

Die *Arabidopsis*-Mutante *pad2-1* gehört zu einer Reihe von Camalexin-defizienten Mutanten, für welche eine erhöhte Anfälligkeit gegenüber virulenten *Pseudomonas syringae*-Stämmen und dem Oomyceten *Phytophthora brassicae* nachgewiesen wurde. In beiden Pathosystemen war die Anfälligkeit der Mutante jedoch nicht durch den Camalexin-Mangel bedingt. Dies führte in einer Studie von PARISY et al. (2006) zu der Identifikation des PAD2 als γ -Glutamylcystein-synthetase und dem Nachweis, dass das mutierte Gen *At4g23100*, welches die betreffende Synthetase kodiert, postinfektionell verstärkt exprimiert wird und somit im Rahmen der Krankheitsresistenz eine weitere Funktion einnimmt. Die Synthetase katalysiert den ersten Schritt der GSH-Biosynthese. Da ähnliche Beobachtungen auch mit anderen Pathogenen gemacht wurden, spricht dies für eine generelle Rolle (PARISY et al., 2006; SCHLAEPPI et al., 2008). Die mutationsbedingt blockierte Wirkung des GT10-Extraktes und die damit beeinträchtigte Beeinflussung der GSH-Akkumulation durch den Extrakt könnte, unter Bedacht der photometrischen Glutathionmessungen, die mangelhafte Resistenz der GT10-behandelten *pad2-1*-Pflanzen gegenüber *E.c.* verursacht haben. In einer Studie von WANG Y et al. (2013) zeigte sich die *pad2*-Mutante als äußerst anfällig gegenüber dem *P. capsici*-Isolat LT123, woraus geschlossen wurde, dass die Resistenz gegenüber *P. capsici* stark von Camalexin und Indol-Glucosinolat (iGS) abhängig ist. Nach FERRARI et al. (2003) betrifft der bei *pad2-1* beeinträchtigte Signalweg bzgl. der lokalen Anfälligkeit gegenüber *B. cinerea*, neben der Camalexin-Biosynthese, zudem die SA. Dass die *pad2*-Mutante in der Akkumulation von SA und der Expression von *PR1* beeinträchtigt ist, wurde bereits von ROETSCHI et al. (2001) beschrieben. Die Camalexin-unabhängige Wirkung des GT10-Extraktes im Falle der Mutante *pad4-1* könnte damit erklärt werden, dass auch in der Studie von FERRARI et al. (2003) die Camalexin-Konzentration in mit *B. cinerea*-infizierten Blättern bei *pad2-1* signifikant erniedrigt lag, in *pad4-1* aber nur moderat reduziert und die Größe der Läsionsstellen mit dem WT vergleichbar war. Da die *pad4-1*-Mutation die Camalexin-Synthese nur pathogenabhängig reduzierte, wurde dem *PAD4* nach GLAZEBROOK et al. (1997) eine regulatorische Rolle zugesprochen. JIRAGE et al. (1999) wiesen dem *Arabidopsis-PAD4*-Gen eine Rolle im SA-Signalweg nach. Hinsichtlich der Resistenz gegenüber *B. cinerea* scheinen nach FERRARI et al. (2003) insbesondere solche Abwehrreaktionen für die lokale Limitierung des pilzlichen Wachstums wichtig zu sein, die durch *PAD2*-Genprodukte und SA vermittelt wurden. Dies ähnelt den Ergebnissen der hier vorliegenden Arbeit. SA ist ein wichtiger Regulator pflanzlicher Abwehrmechanismen, in deren Folge *Arabidopsis*-Mutanten mit Akkumulations-, Perzeptions- wie auch Signaltransduktionsdefekten in der Resistenz gegenüber bakteriellen und pilzlichen Pathogenen beeinträchtigt sind (FERRARI et al., 2003).

Die *Arabidopsis*-Mutante *eds5-1* ist dafür bekannt, postinfektionell nur geringe SA-Mengen und *PR1* Transkripte zu akkumulieren, was in einer gegenüber Pathogenen hohen Anfälligkeit resultiert. Diese Anfälligkeit kann durch exogen applizierte SA ausgeglichen werden (NAWRATH et al., 2002; FERRARI et al., 2003). Nach WANG Y et al., 2013 ist die eingeschränkte Resistenz der Mutante auch durch ihre beobachtete Akkumulation von Camalexin kompensierbar (NAWRATH und MÉTRAUX, 1999). Da die Aktivsubstanzen des GT10-Extraktes hier ebenfalls interagieren, war dies bei *eds5-1* nicht möglich. Der intensivere Befall der *eds5-1*-Pflanzen mit *E.c.* im Mutantenscreening kann daher über eine SA-abhängige Wirkweise des GT10-Extraktes erklärt werden (SA-abhängiger Mehltauereffekt des GT10-Extraktes). Diese Annahme ist zudem durch die Ergebnisse der Transkriptabundanzanalysen der *PR1*, *PR2* und *PR5* Gene begründet (siehe auch Kap. 5.6). Nach CHEN et al. (2017) ist die Mutante *eds5-1*

infolge ihrer SA-Akkumulationsbeeinträchtigung SAR-defizient (LU, 2009). Die SAR wiederum kann infolge der HR auf ein avirulentes Pathogen oder durch Behandlungen mit SA bzw. 2,6-Dichlorisonicotinsäure (engl. 2,6-dichloroisonicotinic acid [INA]) induziert werden. *Arabidopsis*-Mutanten vom „nonexpresser of PR genes“ (*npr1*)-Typ sind hinsichtlich der Expression eines SA-, INA- und Pathogen-responsiven, in die SAR eingebundenen Gens defizient (CAO et al., 1994). Warum die im Rahmen des Mutantenscreenings mit dem GT10-Extrakt genutzten *Arabidopsis*-Mutanten *npr1-1* und *npr1-3* keine erhöhten Anfälligkeiten zeigten, ist unklar. Die NPR1-Induktion war jedoch in der Studie von CHEN et al. (2017) auch im Falle der SA-defizienten *pad4*-Mutante stark reduziert, die in den hier vorgestellten Versuchen, wie oben erwähnt, ebenfalls resistent blieb. Ob tatsächlich systemische Effekte vorlagen, könnte durch Folgestudien, wie der Inokulation von weiter entfernt liegendem Pflanzengewebe (tiefer gelegenen Blattetagen) von Versuchspflanzen detektiert werden (als Grad systemischer Anfälligkeit), die eine Extraktvorbehandlung erfuhren (HÜCKELHOVEN et al., 1999; FERRARI et al., 2003).

Anhand der Studien, die mit den GT10-Frks 2 und 5 sowie den Standardsubstanzen ECG und RES (je 0,1 %) am Beispiel der *Arabidopsis*-Mutanten *pad2-1*, *eds8* und *eds5-1* durchgeführt wurden, konnte belegt werden, dass die von den Schlüsselsubstanzen der betreffenden Abwehrwege abhängige Wirkung des Gesamtextraktes tendenziell eher auf Stilbenkomponenten wie RES beruht (Verantwortlichkeit von Stilbenen für die GT10-induzierte SAR). Wie in Kap. 4.7 beschrieben, zeigten die mit Flavan-3-olen am Beispiel der Frk 2 und die mit ECG behandelten Blätter der Mutanten eine nur geringfügige Befallsintensität, was nicht den Schluss einer diesbezüglichen Abhängigkeit zulässt.

Die bei den Mutanten festgestellte SA- bzw. Phytoalexin/Glutathion-abhängige Wirksamkeit des Gesamtextraktes war durch seinen Anteil an aktiven Flavan-3-olen vermutlich partiell erhöht (direkter antifungaler Mehltauereffekt der Flavan-3-ole des GT10-Extraktes). Dies wiederum könnte die z.T. unsicheren Datenlagen erklären. Bezüglich der übrigen getesteten *Arabidopsis*-Mutanten, welche bzgl. anderer abwehrbezogener Signalwege beeinträchtigt sind, konnten keine oder (statistisch) nicht schlüssige (*eds8*, *ein2-1* [JA-, ET-defizient {GLAZEBROOK et al., 2003}]) Hinweise auf IR ermittelt werden. Mutanten wie *ein2-1* sind im ET-Signalweg beeinträchtigt (ALONSO et al., 1999; WANG Y et al., 2013). ET ist für gewöhnlich mit der Abwehr nekrotropher Pathogene assoziiert (BARI und JONES, 2009; BUCHANAN et al., 2009) und stellt das Signalmolekül der Rhizobakterien-induzierten systemischen Resistenz (engl. induced systemic resistance [ISR]) dar. Die in Kap. 2.4.2.3 erwähnten Hinweise auf synergistische Interaktionen zwischen den Signalmolekülen SA, JA und ET könnten ebenfalls involviert gewesen sein (SCHENK et al., 2000; MUR et al., 2006; BARI und JONES, 2009).

Der BST im Pathosystem *A. thaliana* – *E. cruciferarum* hat den Nachteil, dass die Bonitur, neben dem Anspruch auf Datenvergleichbarkeit, zwingend nach etwa 7 d durchgeführt werden musste, da aufgrund einer leichten Krümmung des Blattmaterials dieses keinen ausreichenden Kontakt zum benzimidazolhaltigen Agar hatte (strukturelle Blattveränderungen aufgrund von Alterungserscheinungen [MISHRA und MISRA, 1973]). Dies ist bei *H. vulgare*-Blättern so nicht gegeben, deren BST auch zu späteren Zeitpunkten nochmals bonitiert werden konnten. Im hier genutzten Testsystem schien das Pilzmycel auf den extraktbehandelten Blättern partiell noch aktiv zu sein (Übergangswirkung). Anzunehmen ist deshalb, dass eine weitere Beobachtung des Befallsverlaufs wirkungsetabliertere und noch differenziertere Ergebnisse hätte hervorbringen können (Endwirkung). Gegebenenfalls aufgetretene Differenzen zwischen bonitierter Befallsintensität und ausgezählter Konidienanzahl pro definierter Blattfläche sind auch darauf zurückführbar, dass der Mehltaubelag nicht zwingend mit der umweltabhängigen Sporulation korreliert.

5.6 Einfluss des Gesamtextraktes aus *Rheum rhabarbarum* 'The Sutton' auf die Transkriptabundanz abwehrrelevanter Gene im Modellsystem *Arabidopsis thaliana*

Um den Effekt der infektionsunabhängigen GT10-Behandlung (0,1 %) hinsichtlich eines möglichen Abwehr-Primings beurteilen zu können, wurden 3, 6 und 9 h nach der Sprühbehandlung (engl. hours after treatment [HAT]) Blattmischproben gewonnen. Die postapplikativen Analysen des gesamten *Arabidopsis*-Transkriptoms erfolgten mittels DNA-Microarray. Die mittels qRT-PCR durchgeführten Transkriptabundanzanalysen fokussierten auf die PR Protein-kodierenden Gene *PR1*, *PR2* und *PR5*. Bezüglich der *PR* Gene wurden auch postinfektionell gewonnene Blattproben analysiert (8, 12, 16, 20, 24 HAT).

5.6.1 Postapplikative Transkriptabundanzen

Die DNA-Microarrays resultierten in zahlreichen hochregulierten Gentranskripten mit eindeutiger Beziehung zu Pathogenresistenzmechanismen. Diese umfassten die HR, Mitogen-aktivierte Proteinkinase (MAPK)-Kaskaden, den Phenylpropanoidmetabolismus und insbesondere die SAR.

Relevante Gene der inkompatiblen Interaktion im Zusammenhang mit der Akkumulation von H_2O_2 („oxidative burst“) waren das H_2O_2 -reaktive „heat shock protein 90.1“-Gen, das „protein accelerated cell death 6“-Gen (*ACD6*) sowie weitere, mit der Regulation des H_2O_2 -Stoffwechsels verbundene Gene. *ACD6* kodiert ein Ankyrinprotein, das in *Arabidopsis* als Regulator und Effektor des SA-Signalwegs fungiert. In einer Studie von LU et al. (2003) zeigte sich das Protein als erforderlicher Aktivator in der Abwehr von virulenten Bakterien (*P. syringae*) und des SA-abhängigen Zelltods. In der hier vorliegenden Arbeit wiesen Gentranskripte mit signifikant erhöhten Transkriptabundanzen auch einen direkten Zusammenhang mit der Zellwandverstärkung auf (Ligninmetabolismus, Kalloshedeposition), wie „Rossmann-fold NAD(P)-binding domain-containing protein“-kodierende Gene. Phänotypisch kann dies mit der Rate an Papillenformationen, die in den histochemischen Studien gegenüber *Bgh* beobachtet wurde, in Verbindung gebracht werden. Während neben den Papillenformationsraten v.a. die der HR in den histochemischen Studien an Gerste nicht mit ausreichender statistischer Signifikanz durch die Extraktbehandlung beeinflusst waren, schien die Behandlung eine Aktivierung dieser frühzeitig auftretenden Abwehrmechanismen (BUCHANAN et al., 2009) in *Arabidopsis* tatsächlich auszulösen. Zu den Genen mit den höchsten Transkriptabundanzen zählten das „late embryogenesis abundant hydroxyproline-rich glycoprotein“-Gen *YLS9* („oxidative burst“), Glutathion-S-Transferase 6- (Reaktion auf oxidativen Stress) und Glutathion-S-Transferase 7/11- (inkompatible Interaktion) kodierende Gene, das „germin-like protein subfamily 3 member 3“-Gen *GER3* (Abwehrreaktion) und mit einer Erhöhung von Faktor 55,31 9 HAT (1. Test) insbesondere das Dihydroflavonol-4-Reduktase-kodierende Gen *DFR* (Flavonoidbiosynthese). Das *Arabidopsis*-„early response“-Gen *YLS9*, welches auch als *NHL10* bezeichnet wird, ist u.a. dafür bekannt, im Rahmen der HR auf das Gurkenmosaikvirus exprimiert zu werden (ZHENG et al., 2004). Glutathion-S-Transferasen sind multifunktionale Proteine, die eine wichtige Rolle im Rahmen der zellulären Detoxifizierung endobiotischer oder xenobiotischer Substanzen spielen und u.a. in die DHAR-Klasse eingeordnet werden können (SHARMA et al., 2014). Bei Germin-ähnlichen Proteinen handelt es sich um ubiquitäre pflanzliche Glykoproteine, die in verschiedene Unterfamilien klassifiziert sind und von denen einige, eingebunden in die pflanzliche Abwehr, enzymatische Eigenschaften aufweisen (z.B. die Superoxiddismutase) (PATNAIK und KHURANA, 2001; CHRISTENSEN et al., 2004; WANG T et al., 2013; BARMAN und BANERJEE, 2015). In einer Studie

von ZIMMERMANN et al. (2006) an Gerste zeigten sich *Bgh* und exogen appliziertes H_2O_2 als stärkste Signalinduktoren verschiedener Unterfamilien. Die Dihydroflavonol-4-Reduktase katalysiert einen späten Schlüsselschritt in der Biosynthese von Anthocyaninen, kondensierten Gerbstoffen und anderen Flavonoiden, genauer die Reduktion von Dihydroflavonolen zu Flavan-3,4-diolen (Leucoanthocyanidinen) (MARTENS et al., 2002; XIE et al., 2004). Wie oben aufgeführt, war in diesem Zusammenhang über z.B. das Phenylalaninammoniumlyase 1-kodierende Gen *PAL1* transkriptbezogen auch der Phenylpropanoidstoffwechselweg durch die Extraktbehandlung beeinflusst. Die PAL, ein Enzym, welches einen Schlüsselverzweigungspunkt im Phenylpropanoidbiosyntheseweg kontrolliert (BUCHANAN et al., 2009), desaminiert Phenylalanin zu Zimtsäuren (WATZL und LEITZMANN, 1999; HEß, 2008; BUCHANAN et al., 2009). Eine erhöhte PAL-Aktivität ist ursächlich für die Bildung von Phenol-abgeleiteten Phytoalexinen mit antimikrobieller Wirksamkeit (HALLMANN et al., 2007).

KIM und HWANG (2014) zeigten, dass *PAL1*-defiziente Pfefferpflanzen eine erhöhte Anfälligkeit gegenüber virulenten und avirulenten *Xcv*-Infektionen aufwiesen (*Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*). Die signifikanten Beeinträchtigungen umfassten ROS, die HR, die Expression des SA-abhängigen Pfeffer-*PR1* Gens, die SA-Akkumulation und die Induktion der PAL-Aktivität. Dies bedeutete, dass PAL1 über ihre enzymatische Aktivität im Phenylpropanoidmetabolismus als positiver Regulator des SA-vermittelten Signalwegs im Rahmen der Pathogenabwehr agiert (KIM und HWANG, 2014).

Unter Berücksichtigung der SA-korrelierten PR Proteine (VAN LOON und ANTONIW, 1982; GAFFNEY et al., 1993; VAN LOON, 1997), bei gesonderter Betrachtung der für PR-1, PR-2 und PR-5 kodierenden Gene, zeigten infolge der GT10-Behandlung alle diese Gentranskripte signifikant erhöhte Transkriptabundanzen. Diese Microarray-Ergebnisse konnten mittels qRT-PCR bestätigt werden. Dabei gilt die PR-1-Familie nach VAN LOON und VAN STRIEN (1999) als Marker für SAR (Weiteres siehe Kap. 5.6.2). Die Tatsache, dass in Verbindung mit JA und/oder ET stehende (ISR-Bezug) sowie Phytoalexin-verbundene Gentranskripte (Camalexin / iGS) ebenfalls signifikant, wenn auch in geringerer Zahl hochreguliert waren, bestätigte die Teilbeobachtungen des Mutantenscreenings.

Die in geringerer Zahl hochregulierten Gentranskripte und deren niedrigere Abundanzen im Wiederholungsversuchs, welcher aber im Trend ähnliche Resultate hervorbrachte, könnten ihre Ursache in Alterungsprozessen während der Extraktlagerung gehabt haben. Der Wiederholungsversuch erfolgte mit einer zeitlichen Verzögerung von etwa einem Jahr. Zu potentiellen Abwandlungsprozessen der Wirkstoffe zählen die Bildung von Oxidationsprodukten und Glykosidspaltungen (enzymatische Hydrolyse), die v.a. bei einer zu hohen Restfeuchte von $\geq 5\%$ nicht ausgeschlossen werden können. Die Trocknung und Lagerung dürften sich nach DINGERMANN et al. (2004) physikochemisch sowie gehaltsbezogen nur in geringem Maße auf die sekundären Naturstoffe ausgewirkt haben (Flavonoide sind hitzestabil) (HERTOG et al., 1993). Flavonoidrogen weisen empirisch ermittelt eine Haltbarkeitsdauer von etwa fünf Jahren auf (DINGERMANN et al., 2004). Inwiefern sich die Lagerung auf die im GT10-Extrakt enthaltenen und maßgeblich für die IR relevanten Stilbenkomponenten ausgewirkt hat, kann an dieser Stelle nicht geklärt werden.

Die bisherigen Ausführungen belegen, dass der genutzte GT10-Extrakt Priming-Kapazität aufweist. Nach CONRATH et al. (2015) ist das chemische Abwehr-Priming von Pflanzen durch verschiedenste natürliche und synthetische Substanzen möglich (RYALS et al., 1996; KOHLER et al., 2002; CONRATH et al., 2006; BECKERS und CONRATH, 2007), von welchen einige, wie BTH oder SA, in Pflanzenschutzprodukte integriert sind (z.B. Bion[®]). Im Hinblick auf die praktische Anwendung von INA (SA-imitierend) wie auch SA in der Landwirtschaft stellte sich

als ökonomisch nachteilig heraus, dass einige Kulturpflanzen eine verminderte Toleranz gegenüber diesen aufweisen (KAUSS et al., 1992; KESSMANN et al., 1994; RYALS et al., 1996; CONRATH et al., 2015). Die SA wirkt bei Dosierungen von nur knapp oberhalb der Resistenz-induktion bereits phytotoxisch (SCHLÖSSER, 1997; HALLMANN et al., 2007). Da eine Toleranz-reduktion hinsichtlich des GT10-Extraktes in den durchgeführten Versuchen nicht auftrat, könnte die Anwendung des Extraktes diese Lücke schließen.

5.6.2 Postinfektionelle Transkriptabundanzen der Pathogenese-zugehörigen Gene *PR1*, *PR2* und *PR5*

Die qRT-PCR-Experimente zeigten sowohl postapplikativ (GT10-induziert) als auch postinfektionell differentielle Transkriptabundanzen der PR Protein-kodierenden Gene *PR1*, *PR2* sowie *PR5* und bestätigten damit die Ergebnisse der DNA-Microarrays (zeit- und intensitätsbezogen).

Unter Extrakteinfluss waren die Transkriptabundanzen alle *PR* Gene zu bestimmten Zeitpunkten nach der Applikation (3, 9 HAT) und nach der Infektion mit dem Mehltaupilz (8, 16 HAI) meist signifikant erhöht. Infolge der Sprühbehandlung lagen die Transkriptabundanzen der untersuchten Gene höher. Dies könnte bedeuten, dass der Extrakt auf die Expression der betreffenden *PR* Gene Einfluss nimmt und die Modellpflanze auf die 48 h später erfolgte Infektion mit einem erhöhten Niveau an PR Proteinen reagiert. Anhand der Transkriptabundanzen war zwar ersichtlich, dass die Effekte denen der exogen applizierten SA nicht gleichkamen, das *PR1* Gen jedoch postinfektionell meist stärker aktiviert wurde. Letzteres ist in Anbetracht der Studie von FERRARI et al. (2003) verwunderlich, da SA für die Expression des *PR1* Gens benötigt wird. Die höhere Transkriptabundanz des β -1,3-Glucanase 3-Gens infolge der GT10-Behandlung in den DNA-Microarrays wie auch die postapplikativ und postinfektionell signifikant erhöhte Transkription von *PR2* in den qRT-PCR-Experimenten suggerieren, dass der GT10-Extrakt, ähnlich wie β -1,3-Glucan und/oder Chitin Oligomere der pilzlichen Zellwand, als Elicitor pflanzlicher Abwehrreaktionen agieren könnte (COSIO et al., 1996; KLARZYNSKI et al., 2000; VAN LOON et al., 2006; SHETTY et al., 2009; OLIVEIRA-GARCIA und DEISING, 2013). Wie im Rahmen des Mutantenscreenings am Beispiel der SA-defizienten Mutante *eds5-1* festgestellt werden konnte, ist die Wirkung des GT10-Extraktes aufgrund des signifikant stärkeren Befalls der *eds5-1*-Blätter SA-abhängig. Da SA mit der lokalen und systemischen Expression von PR Protein-kodierenden Genen korreliert und das Signalmolekül der SAR darstellt (VAN LOON, 1999; VAN LOON et al., 2006; VLOT et al., 2009; FU und DONG, 2013), kann davon ausgegangen werden, dass die polyphenolischen Wirkstoffe des getesteten Extraktes die SAR über SA in *Arabidopsis* induziert. Wie genau dies geschieht, bedarf gezielter Untersuchungen. Einen Hinweis könnten die infolge der alleinigen GT10-Applikation (DNA-Microarrays) erreichten Transkriptabundanzen SAR-verbundener Gene mit einer Erhöhung von bis zu Faktor 30 (im Wiederholungsversuch bis zu Faktor 9) geben (Anzahl: 107[76]). Zudem waren auch 36(30) Transkripte der SA-, JA- und ET-abhängigen bzw. -reaktiven Signaltransduktion signifikant hochreguliert (z.B. WRKY-Transkriptionsfaktoren, TIR-NBS-LRR-Proteine [„toll interleukin 1 receptor“- {involviert in HR-Induktion}, „nucleotide-binding site“- und „leucine-rich repeat“-Domänen] [JONES und DANGL, 2006; SWIDERSKI et al., 2009]). Die NBS-LRR-vermittelte Resistenz ist gegenüber biotrophen sowie hemibiotrophen Pathogenen, jedoch nicht gegenüber nekrotrophen Erregern effektiv und spielt im Rahmen der spezifischen Erkennung eines Pathogens und der resultierenden Effektor-getriggerten Immunität eine Rolle (Erkennung des Effektors seitens eines NBS-LRR-Proteins). Die NBS-LRR-Aktivierung resultiert in einem „cross-talk“-Netzwerk verschiedener Abwehrwege, das durch ein Gleichgewicht an SA, JA und ET aufrechterhalten

wird. In diesem Zusammenhang induziert die NBS-LRR-Aktivierung unterschiedliche SA- und ROS-abhängige Abwehrreaktionen (DOREY et al., 1997; GLAZEBROOK, 2005; JONES und DANGLE, 2006). WRKY-Transkriptionsfaktoren bilden eine der größten Familien transkriptioneller Regulatoren, welche in pflanzlichen Prozessen sowohl als hemmende als auch aktivierende Proteine agieren. MAP-Kinasen bilden nur einen ihrer zahlreichen interagierenden Proteinpartner (RUSHTON et al., 2010).

5.7 Einfluss des Gesamtextraktes aus *Rheum rhabarbarum* 'The Sutton' auf die postapplikative MPK3-Aktivierung im Modellsystem *Arabidopsis thaliana*

Mittels SDS-PAGE und Western Blot wurde die Aktivierung bzw. Phosphorylierung Mitogen-aktivierter Proteinkinase 3 (MPK3) nach der Behandlung von *Arabidopsis*-Col-8-Pflanzen (Blattmaterial) mit dem GT10 E14-Extrakt (EtOAc-Phase; 0,1/0,5 %) untersucht („early response“). Die Aktivierung von MAPK-Kaskaden als getriggerte Abwehrreaktionen gegenüber Pathogenen ist in Pflanzen ein wichtiger Mechanismus der Stressadaptation (LEE et al., 2004). Sie vermitteln die Signaltransduktion zwischen Rezeptoren und nachgelagerten Komponenten im Rahmen der PAMP (engl. pathogen-associated molecular pattern [Pathogen-assoziierte molekulare Muster])-getriggerten Immunität (PITZSCHKE et al., 2009). In Petersilienzellen konnte die Aktivierung von MAPKs infolge von *Phytophthora*-Infektionen als Elicitor nachgewiesen werden (LEE et al., 2004). Die Aktivierung von MAPKs innerhalb der MAPK-Kaskaden erfordert sukzessive Phosphorylierungsprozesse, die nach der Aktivierung von u.a. MPK3 und MPK6 letztlich in der Expression von „early-defence response“-Genen münden (ASAI et al., 2002). Die Phosphorylierung der MAPKs erfolgt durch Serin- oder Threoninkinasen (SUAREZ RODRIGUEZ et al., 2010).

Serin/Threoninproteinkinasen-verbundene Gentranskripte zeigten im Rahmen der DNA-Microarrays signifikant erhöhte Transkriptabundanzen. Die Transkriptabundanz des *MPK3*-Gens war hier lediglich im Wiederholungsversuch zum Zeitpunkt 9 HAT und mit einem Faktor von 2,01 zudem nur gering erhöht. Aus diesem Grund wurde auf Proteinebene untersucht, ob die Aktivierung der MPK3 in Probenahmereinheiten detektierbar ist (2, 5, 15, 30, 60, 120 min nach der Behandlung), die der GT10-Applikation sehr zeitnah folgen. Die Auswertung der inkubierten Blots zeigte, dass die Phosphorylierungsprozesse unter Extrakt- (0,5 %) und BTH- (100 µM; Positivkontrolle) Einfluss nach 5 min sowie 30 min am stärksten und auch nach 120 min nochmals induziert wurden (mehrere Aktivierungsprozesse). Da hinsichtlich der MPK3-Bandenintensität eine starke Streuung zwischen den drei biologischen Replikaten vorlag und bei keinem Prüfglied signifikante Unterschiede zur Kontrolle festgestellt werden konnten, ist es jedoch schwer, eine fundierte Aussage zu treffen. Dies ist auch deshalb erschwert, da die Signalstärken bei den Wasserproben vergleichsweise hoch ausfielen. Ein durch die Sprühbehandlung mit dest. Wasser bedingter osmotischer Stress in den Versuchspflanzen könnte für die erhöhte Phosphorylierung ursächlich gewesen sein (ZHANG und KLESSIG, 1998). In diesem Zusammenhang könnten die geringeren Signalstärken bei den Extraktproben sogar auf einen extraktbedingt verringerten osmotischen Stress hindeuten. Entsprechende Folgeversuche mit Leitungs- oder Regenwasser sind anzuraten. Eine weitere mögliche Fehlerquelle ist der im Western Blot verwendete Antikörper. Dieser erkennt zwar nachweislich ein doppelt phosphoryliertes Protein auf der erwarteten Höhe, ist aber spezifisch für die menschliche Isoform. Da die Sequenzhomologie zwischen der menschlichen und der pflanzlichen Isoform lediglich 50 % beträgt (BLAST, 2018), kann ein unspezifisches Signal nicht ausgeschlossen werden. Aus diesem Grund sollten noch weitere Untersuchungen mit einem pflanzenspezifischen Antikörper vorgenommen werden. BECKERS et al. (2009) stellten

fest, dass die Behandlung von *Arabidopsis* mit BTH zwar eine mehrphasische Akkumulation der MPK3-mRNA und eine sukzessive Akkumulation des Proteins induziert, die Aktivierung der Kinase durch Doppelphosphorylierung am TEY-Aminosäuremotiv aber erst nach einer Stressinduktion erfolgt. Es wäre somit möglich, dass die Behandlung zu einer Erhöhung der generellen MPK3-Proteinkonzentration geführt hat. Dies könnte durch die Testung eines Antikörpers gegen das unphosphorylierte Protein überprüft werden. Eine GT10-responsive MPK3-Aktivierung ist aufgrund der Ergebnisse aus dem Mutantenscreening wahrscheinlich. Diese haben gezeigt, dass die Wirkweise des GT10-Extraktes von Camalexin abhängt. Die Synthese dieses Phytoalexins wird durch die MPK3/MPK6-Kaskade reguliert (REN et al., 2008).

Die bisherigen Erläuterungen zusammenfassend, ist festzuhalten, dass die Effekte von *Rheum*-Wurzelextrakten am Beispiel des *R. rhabarbarum* 'The Sutton' nicht nur auf direkten antifungalen Aktivitäten sondern auch auf seiner Resistenzinduktion in Pflanzen beruhen und damit multiple Wirkweisen vorliegen.

5.8 Antifungale Wirksamkeit von Extrakten im Freiland

Auf Basis der Ergebnisse des Primär- und Sekundärscreenings wurde das antifungale Potential der EtOAc-Phasen der GT02 E12- und GT10 E12-Extrakte (teils formuliert) in Feld- bzw. Kleinparzellenversuchen untersucht (Tertiärscreening). Zielindikationen waren Mehltau- sowie Rosterkrankungen in SG und WW. Während der Vegetationsperioden trat v.a. der Weizenbraunrost, in 2012, 2013 und 2016 auch Getreidemehltau auf. Das Ausbleiben des Getreidemehltaus in den übrigen Versuchsjahren ist über die Klimadaten der DWD-Station auf dem Versuchstandort Bernburg-Strenzfeld nicht erklärbar (siehe Anlage 72).

Die Ergebnisse der Freilandversuche belegen, dass sowohl die Wirkungen des GT02- als auch die des GT10-Extraktes weitgehend mit den Effekten kommerzieller Fungizide vergleichbar sind (GT02 vs. *Bgh*: Corbel[®], Flexity[®] / vs. Weizenmehltau [*Bgt*], Weizenbraunrost: Amistar[®]; GT10 vs. Weizengelbrost, Weizenbraunrost: Capalo[®] / vs. Braunrost: Corbel[®]). Allerdings bleibt zu berücksichtigen, dass für die vergleichbaren Wirkungen mit den chemischen Fungiziden meist höhere Aufwandmengen der pflanzlichen Extrakte benötigt wurden. Dennoch gilt es anzumerken, dass die beobachteten Effekte von den nicht bzw. nicht ausgereift formulierten *Rheum*-Wurzelextrakten so nicht erwartet und durch maximal zwei Spritzungen pro Vegetationsperiode erreicht werden konnten. Phytotoxische Nebeneffekte, die sich in gelben Nekrosen und unmittelbar nach der Spritzung auftretenden Brennflecken geäußert hätten, traten auch bei höheren Anwendungskonzentrationen von bis zu 1000 g/ha nicht auf. Bedenkt man, dass die Wirksamkeit eines Extraktes im Freiland durch eine optimal abgestimmte Zudosierung geeigneter Formulierungshilfsstoffe (z.B. Agnique[®] AMD 3 L; Trägerstoffe, Emulgatoren usw.) oder Adjuvantien (WINTER, 2002; HALLMANN et al., 2007) noch stabilisiert und weiter verbessert werden kann, sind die Resultate im Hinblick auf eine spätere Praxisnutzung mehr als vielversprechend. Mit dem Adjuvans BREAK-THRU[®] S 240, welches in einem Teil der Feldversuche zum Einsatz kam, wurde die Basis einer erfolgreichen Ausbringung bereits geschaffen (Superspreiter [Evonik, 2018]).

Der Rohextrakt des GT02 erzielte gegenüber *Bgt* nicht nur im Gewächshausversuch (BST), sondern auch unter Freilandbedingungen signifikant hemmende Effekte. Der GT10 E12-Extrakt hemmte die Ausbildung von Weizengelbrost (*Puccinia striiformis*) dosisunabhängig in einer Größenordnung von 91 % und war damit nur geringfügig schwächer als das Vergleichsprodukt Capalo[®] mit einer etwa 100 %igen Wirkung, wobei die Einsatzkonzentrationen in etwa vergleichbar waren (500/405 g/ha). In T1 Weizen wird die Leistung von Capalo[®] gegen Gelbrost (540 g/ha) mit einem Wirkungsgrad von etwa 24 % angegeben (n = 5; 2016).

Die Tatsache, dass der gegenwärtige Pflanzenschutz-Topstandard Capalo® eine 3er-Wirkstoffkombination verschiedener Wirkweisen darstellt (BASF SE, 2018e), verdeutlicht das vergleichbare Potential des GT10-Extraktes, da dessen Wirksamkeit ebenso auf Multi-komponenten beruht. Zu bedenken sind hier auch die durch Gelbrost in v.a. Weizen verursachten Mindererträge von 40 % bis 50 % (PRIGGE et al., 2004). Die in diesem Versuchsjahr beobachtete unzureichende Dauerwirkung gegenüber Braunrost war vermutlich mit auf die fehlende Anwendung des formulierten Produktes in der ersten Spritzung zurückzuführen.

Das in späteren Versuchsjahren genutzte 30 %ig formulierte Dispersionskonzentrat der EtOAc-Phase des GT10 E12-Extraktes (DC30) ermöglichte insbesondere 2016 mit klimatisch günstigen Bedingungen für Mehltauinfektionen in Gerste bis zur ertragsessentiellen Blatttage F-1 (1. Blatt unter Fahnenblatt) die Verifizierung der Wirksamkeit des *Rheum*-Wurzelextraktes. In Weizen näherten sich die Effekte des DC30 gegen Braunrost dosisabhängig der Wirkung des kommerziellen Standards Corbel® weitgehend an.

In der Kombination DC30 mit Corbel® konnte die Wirkung gegen Braunrost deutlich gesteigert werden (beobachteter Wirkungsgrad 94/71 % vs. berechneter Wirkungsgrad 90/50 % bei 400 g/ha DC30 + 188/94 g/ha Corbel® = synergistische Interaktion). Durch das als Vektor fungierende Mittel Corbel® (Wirkstoff: Morpholinderivat Fenpropimorph) wird die Aufnahme von Partnerwirkstoffen in das pflanzliche Gewebe gefördert (Schlittenfunktion) (BASF SE, 2018d). Der Braunrost des Weizens (*Puccinia triticina*) hat u.a. infolge der zunehmenden Anbauintensität in allen Ländern mit Weizenanbau an Bedeutung gewonnen (HOFFMANN und SCHMUTTERER, 1999; PRIGGE et al., 2004).

Die Praxistauglichkeit von fungistatischen oder fungiziden Wirkstoffen wird letztlich in Freilandversuchen entschieden. Dazu gehören auch Ertragsparameter. Wenngleich in den Vegetationsperioden der Versuchsjahre keine signifikant erhöhten Kornerträge in den Bestandsparzellen zu verzeichnen waren (siehe Anlagen 73, 74), im Übrigen auch nicht nach Behandlung mit kommerziellen Fungiziden, so geben die Freilanduntersuchungen doch erste Hinweise auf das Potential von Pflanzenextrakten auf Basis von *Rheum*-Herkünften. Wenn man berücksichtigt, dass weltweit etwa 60 *Rheum*-Arten bekannt sind, mit einer Verbreitung in sehr unterschiedlichen Regionen von höheren Lagen des Himalaya-Gebirges bis hin zur Halbwüste des Nahen Ostens, kann man annehmen, dass *Rheum*-Herkünfte einen interessanten Pool für neue, möglicherweise noch nicht vorbeschriebene Wirkstoffe mit antifungaler Wirksamkeit bilden könnten.

Die vorliegende Arbeit hat gezeigt, dass Wurzelextrakte aus *Rheum* hinsichtlich der Findung von Wirkstoffen mit effektiven Wirkmechanismen für eine potenziell nachhaltige Pflanzenschutzstrategie geeignet sein können. Dies steht im Einklang mit dem zuletzt am 10. April 2013 seitens der Bundesregierung verabschiedeten Nationalen Aktionsplan zur nachhaltigen Anwendung von Pflanzenschutzmitteln (NAP). Ziel des NAP ist es, das durch zugelassene PSM und ihre Metabolite bedingte, potentiell gesundheits- oder ökologiegefährdende Risiko für den Menschen, das Tier und die Umwelt bis 2023 um 30 % zu reduzieren. Die reduzierenden Maßnahmen erstrecken sich dabei z.B. auf Mengenvorgaben und die Förderung von Alternativmethoden. Insbesondere die angewandte Forschung im Hinblick auf innovativen Pflanzenschutz findet im NAP Berücksichtigung. Es wird gefordert, dass ein ausreichendes Spektrum geeigneter Pflanzenschutzverfahren verfügbar ist, einschließlich praktikabler nicht-chemischer Alternativen, die in Deutschland nur für wenige und vorrangig Großkulturen, weniger aber für regionale Kleinkulturen wie Gemüse gegeben sind (BMEL, 2017). Unter anderem hier setzt seitens der Bundesregierung die Nationale Forschungsstrategie BioÖkonomie 2030 an, welche auf eine biologisch basierte nachhaltige Agrarwirtschaft sowie

einen bioökonomisch führenden Forschungs- und Innovationsstandort Deutschland bis zum Jahr 2030 abzielt. „Angesichts der Vielzahl an Jahren, die vom Start eines Forschungsprojekts bis zur Übernahme der Ergebnisse in die landwirtschaftliche Praxis vergehen, drängt die Zeit“ (BMBF, 2010). Die zügige Entwicklung und Anwendung von innovativen Präparaten mit neuartigen Wirkmechanismen als Ergänzung oder sogar Ersatz vorhandener chemischer Strategien im Sinne einer nachhaltigen Pflanzenproduktion erscheint damit nicht nur ökologisch, sondern auch wirtschaftlich geboten. Naturstoffe könnten auf Grund ihrer strukturellen Vielfalt als nahezu unbegrenztes Forschungsreservoir für eine nachhaltige und ökologisch orientierte Pflanzenproduktion somit besonders interessant sein.

6 Zusammenfassung und Ausblick

6.1 Zusammenfassung

Durch phytopathogene Pilze bedingte Pflanzenkrankheiten verursachen jährlich Ertragsverluste von global betrachtet etwa 15 %. Ohne adäquate Pflanzenschutzmaßnahmen lägen diese mindestens doppelt so hoch. Da adaptierte Erreger dazu in der Lage sind, pflanzliche Abwehrmechanismen zu überwinden und darüber hinaus eine zunehmende Pathogenresistenz gegenüber chemisch-synthetischen Fungiziden zu verzeichnen ist, sind ebenso adaptive Pflanzenschutzstrategien gefragt. Die dabei eingesetzten Pflanzenschutzmittel (PSM) sollten ein nachhaltig geringes Resistenzrisiko, eine hohe Breitenwirksamkeit, geringe Toxizität und Sicherheit für Anwender, Tiere, Wirtspflanzen sowie den Naturhaushalt vereinen. *Rheum*-Wurzelextrakte zeichnen sich durch ein breites Spektrum an polyphenolischen Verbindungen aus, welche als sekundäre Phytoagenzien vor Krankheiten schützen oder als Farbstoffe und Wachstumsregulatoren dienen. Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, Wurzelextrakte und -fraktionen aus *Rheum* sowie vergleichsweise aus *Rumex obtusifolius* auf ihre Wirksamkeit gegen ein repräsentatives Spektrum an agrarökonomisch bedeutenden Phytopathogenen zu testen. So sollte die potentielle Eignung ihrer aktiven Inhaltsstoffe als Teil einer alternativen biobasierten Pflanzenschutzstrategie funktionell geprüft werden. Das grundsätzliche antifungale Potential einiger Rumiacea-typischer Wurzelinhaltsstoffe ist bereits bekannt. Auf der Grundlage der wachsenden Resistenzproblematik in der Landwirtschaft ist es jedoch weiterhin wichtig, dem kulturanbauenden Markt ausreichende Produktalternativen zu bieten, die durch Labor-, Gewächshaus- wie auch Feldversuche umfassend evaluiert wurden. In den wesentlichen Teilen konnten Grundlagen dafür durch diese Arbeit geschaffen werden.

Basierend auf der Extraktion, Fraktionierung und der analytischen Charakterisierung mittels LC-MS erfolgten die funktionellen Untersuchungen mittels eines mehrstufigen Monitoring-Systems. Im Rahmen des Primärscreenings wurden Gesamtextrakte unterschiedlicher *Rheum/Rumex*-Spezies (spp.) bzw. Genotypen (GTs) sowie Fraktionen (Frks) des Extraktes aus *Rheum rhabarbarum* 'The Sutton' (GT10, Erntejahr 2014 [E14]) einschließlich *Rheum*-typischer Standardsubstanzen gegen verschiedene phytopathogene Pilze und Oomyceten getestet. Dabei stand der Gerstenmehltaupilz *Blumeria graminis* f.sp. *hordei* (*Bgh*) im Fokus. Methoden der Wahl waren der *in vitro* Mycelwachstums (MWT)- und der *in vivo* Blattsegmenttest (BST). Die Testsysteme des darauf aufbauenden Sekundärscreenings dienten der detaillierteren Aufklärung der Struktur-Wirkungs-Beziehungen am Beispiel ausgewählter Extraktproben. Diese wurden in den Modellsystemen *Hordeum vulgare* 'Lawina' (monokotyl) – *Bgh* oder *Arabidopsis thaliana* (dikotyl) – *Erysiphe cruciferarum* praktiziert. Bei den Methoden handelte es sich zum einen um histochemische Studien (mikroskopische Quantifizierung von Interaktionstypen in *Bgh*-infizierter Gerste). Die Evaluierung des antioxidativen Status in Gerste (Aktivitäten/Gehalte enzymatischer und nicht-enzymatischer Antioxidantien) basierte auf photometrischen Messungen. Die in *Arabidopsis* erfolgten Studien zu induzierter Resistenz unterteilten sich in ein differenzierendes Mutantenscreening (BST, Konidienauszählung), Transkriptabundanzanalysen (DNA-Microarray, qRT-PCR) und die Western Blot-gestützte Bestimmung der phosphorylierten Mitogen-aktivierten Proteinkinase 3 (MPK3). Vielversprechende, z.T. formulierte Wurzelextrakte, wie der des GT10, wurden letztlich in Kleinparzellenversuchen unter Freilandbedingungen in Sommergerste (SG) und Winterweizen (WW) geprüft (Tertiärscreening).

Anhand der LC-MS-Analysen konnten zwischen den einzelnen *Rheum/Rumex*-GTs qualitative und quantitative Unterschiede hinsichtlich ihres in den Wurzelextrakten (Ethylacetat [EtOAc]-Phasen) enthaltenen Spektrums an polyphenolischen Inhaltsstoffen ermittelt werden.

Hierbei grenzten sich der GT05-Extrakt aus *Rheum officinale* und der GT30-Extrakt aus *Rumex obtusifolius* (hohe Gehalte an Flavan-3-olen wie Catechin) deutlich gegenüber den übrigen Extrakten ab. Letztere enthielten hohe Mengen an Stilbenderivaten wie Rhaponticin (RHA), Desoxyrhaponticin, Piceatannolglucopyranosid und Resveratrol-Dihydrodimer. In Abhängigkeit von den Konzentrationsverhältnissen der verschiedenen Polyphenole variierte auch die antifungale Wirksamkeit der Extrakte in den MWTs gegenüber den nekrotrophen und hemibiotrophen Phytopathogenen. Die Extrakte aus GT02 (*Rheum officinale* [differenter Herkunft]), GT10, GT23 (*R. rhabarbarum*) und des GT36 (*R. altaicum*; E12) wiesen eine Breitenwirksamkeit von 100 % auf. Die GT05- und GT30-Extrakte waren dagegen nur gegenüber drei von acht Pathogenen ausreichend wirksam (≤ 50 % relatives Wachstum). Dies spiegelte sich auch in den jeweils beeinflussten Wachstumsraten wieder. Hier erwies sich der GT23-Extrakt v.a. gegen den „rice blast“-Pilz *Magnaporthe oryzae* als aktiv und der GT10 E12-Extrakt als mit Abstand am effektivsten (\emptyset 15 % rel. Wachstum), insbesondere gegenüber dem Apfelschorf-Erreger *Venturia inaequalis*. Im BST gegenüber dem obligat biotrophen Gerstenmehltaupilz *Bgh* schien dagegen eine Interaktion von Substanzen aus den unterschiedlichen Polyphenolklassen mit synergistischen Effekten vorzuliegen. Da hier alle getesteten Extrakte, erneut v.a. der des GT10, signifikante *Bgh*-hemmende Effekte erzielten, wurde angenommen, dass die *Bgh*-Wirkung sowohl auf der Aktivität von Verbindungen aus der Flavan-3-ol-Gruppe als auch aus der Gruppe der Stilbene beruht. Diese Annahme konnte durch Gersten-BSTs mit GT10-Frks und *Rheum*-typischen Standardsubstanzen bestätigt werden. Die Flavan-3-ol-dominierten Frks 1 und 2 (Hauptkomponente: Epicatechingallat [ECG]) wie auch die Stilben-dominierte Frk 5 (Hauptkomponente: Resveratrol [RES]) waren am *Bgh*-effektivsten. Die gegenüber *Bgh* aktiven GT10-Frks enthielten sowohl galloylierte und hydroxylierte Flavan-3-ole als auch hydroxylierte, glucosylierte und galloylierte Stilbene. Durch die kombinierte Anwendung der *Rheum*-typischen Reinsubstanzen waren zudem die synergistischen Effekte von Substanzen verschiedener Polyphenolklassen nachweisbar (Kombinationen: ECG und RES sowie Procyanidin B2 und RHA).

Aufgrund ihrer gut teilhemmenden bis 100 %igen Wirkungen im Primärscreening, wurden der GT02-Extrakt (E12; für Vergleichsversuche) und die dafür neu aufgearbeitete Charge des GT10-Extraktes (E14; für Hauptversuche) dem Sekundärscreening unterzogen. Im Rahmen der histochemischen Studien konnten die im Primärscreening beobachteten antifungalen Wirkungen auf signifikant reduzierte Keimraten und eine signifikant geringere Zahl an Haustorien zurückgeführt werden. Durch die Testung der GT10-Frks 2 und 5 sowie deren jeweiligen Hauptkomponenten ECG und RES in Form der Standardsubstanzen war wiederholt nachweisbar, dass der Effekt des GT10-Gesamtextraktes zum Zeitpunkt der Keimung nicht auf Einzelverbindungen basierte. Im Trend war zudem erkennbar, dass die Rate an *Bgh*-Papillenformationen durch die Vorbehandlung mit den GT10-Frks signifikant erhöht wurde. Die *Bgh*-hemmende Wirkung der untersuchten *Rheum*-Wurzelextrakte korrelierte zudem mit der Beeinflussung des antioxidativen Status in Gerste (verstärkte Detoxifizierung von reaktiven Sauerstoffspezies durch erhöhte Katalase-, Ascorbatperoxidase- und Glutathion-Aktivitäten). Die Effekte der Extrakte auf die Aktivitäten und Gehalte der Antioxidantien waren dabei z.T. artenabhängig (GT10/GT02). Das *Arabidopsis*-Mutantenscreening mit verschiedenartig defizienten Mutanten lieferte Hinweise darauf, dass sowohl Salicylsäure- als auch Camalexin-abhängige Abwehrwege der Pflanze durch den Stilbenanteil (z.B. RES) des GT10-Extraktes postinfektionell induziert wurden. Die DNA-Microarrays mit GT10-behandelten

Arabidopsis-Blättern des Wildtyps Col-8 lieferten das Resultat, dass die Applikation des Extraktes eine signifikant erhöhte Transkription diverser Protein-kodierender Gene auslöste, die mit Resistenzmechanismen wie der hypersensitiven Reaktion und dem „oxidative burst“ im Allgemeinen verbunden sind (Priming-Effekt). In Mitogen-aktivierte Proteinkinase-Kaskaden oder den Phenylpropanoidstoffwechsel eingebundene Transkripte und insbesondere systemisch erworbene Resistenz (engl. systemic acquired resistance [SAR])-verbundene Gene (z.B. Pathogenese-zugehörige [engl. pathogenesis-related {PR}] Proteine, WRKY-Transkriptionsfaktoren) waren ebenfalls hochreguliert. Die Bestimmung der MPK3-Aktivierung auf Proteinebene lieferte mit der angewandten Methodik trotz zeitpunktabhängig hoher Bandenintensitäten keine reproduzierbaren Ergebnisse. Eine behandlungsbedingte Erhöhung der MPK3-Proteinkonzentration und eine stressinduziert intensivere MPK3-Aktivierung in GT10-vorbehandelten Pflanzen sind aber wahrscheinlich. Mittels qRT-PCR konnte nachgewiesen werden, dass die antimikrobiell aktiven *PR* Gene *PR1* (Marker für SAR), *PR2* (β -1,3-Glucanase) sowie *PR5* (Thaumatin-ähnlich) auch zu bestimmten Zeitpunkten nach der Infektion mit dem Mehltaupilz *E. cruciferarum* signifikant stärker transkribiert wurden, als in der infizierten, aber nicht geprimten Wasserkontrolle und/oder nicht infizierten GT10-Nullkontrolle. Dies bestätigte den Priming-Effekt des GT10-Extraktes und damit die Ergebnisse der DNA-Microarrays.

Die Freilandversuche in SG und WW zeigten im Vergleich zu kommerziellen Produkten wie Fenpropimorph sowie der 3-Wirkstoff-Kombination Capalo® vielversprechende Ergebnisse für die Nutzung eines formulierten *Rheum*-Wurzelextraktes in der landwirtschaftlichen Praxis. Die hier eingesetzten Extrakte des GT02 und des GT10 (je E12) konnten sowohl gegen Mehltau in Gerste und Weizen als auch gegenüber Weizengelbrost und -braunrost überzeugen. Dabei wurden die Rohextrakte nicht einmal in Form ausgereifter Formulierungen als Suspensions- oder Emulsionskonzentrat appliziert.

Die gewonnenen Daten lassen den Schluss zu, dass Wurzelextrakte aus *Rheum* wie dem GT02 oder GT10 auf unterschiedlichen Wegen antifungal wirksam sind (direkte antifungale Aktivität, Priming-Funktion in der Wirtspflanze / SAR). Demzufolge tritt ein Resistenzerwerb weniger wahrscheinlich auf. Durch die sowohl protektive als auch direkte antifungale Wirksamkeit könnten häufige, Witterungs- und Neuzuwachs-bedingte Spritzaufwände vermieden werden. Zudem liegt dosisabhängig in *Arabidopsis*, SG und WW offensichtlich keine Phytotoxizität vor. Diese multikomponentenbasierten multiplen Wirkmechanismen schließen antifungale Effekte gegen verschiedene phytopathogene Pilze (*Fusarium* spp., Apfelschorf, Mehltaupilze, Rostkrankheiten) sowie Oomyceten (*Phytophthora capsici*) in Getreide und Gemüsekulturen ein. Zusammenfassend ist daher ein hohes antifungales Potential definierter, gut charakterisierter *Rheum*-Wurzelextrakte (z.B. als chemischer Resistenzinduktor / Pflanzenstärkungsmittel ähnlich dem *Reynoutria*-Extrakt) oder daraus isolierter, synthetisierbarer Verbindungen im formulierten Gemisch (multipler als der Einzelwirkstoff Benzothiadiazol in Bion®) hinsichtlich der Kontrolle von Pflanzenpathogenen festzustellen. Der Einsatz solcher Produkte kann zu einer größeren Nachhaltigkeit im Gartenbau und in der Landwirtschaft führen.

6.2 Ausblick

Durch die substanziell reduzierten Befallsraten *Bgh*-infizierter Blätter im Rahmen der Gersten-BSTs und die 100 %ige Hemmung von *V. inaequalis* im MWT resultiert eine mögliche Doppelindikation des GT10-Extraktes im Erwerbsobstbau. Durch den GT23-Extrakt wurde zudem das Mycelwachstum des Reispathogens *M. oryzae* massiv reduziert, bei welchem pflanzenzüchterische Maßnahmen in Form von resistenten Reiskultivaren bereits innerhalb

von wenigen Vegetationsperioden überwunden werden. Aufgrund des relativ breiten Wirkungsspektrums der meisten Extrakte *in vitro* wären Folgestudien (*in vivo* Versuche) mit *M. oryzae* in Reis und Gerste sowie *V. inaequalis* und *Podosphaera leucotricha* (Apfelmehltau) in Apfelmulturen ein agrarwirtschaftlich relevanter Ansatz.

Unter Berücksichtigung der überzeugenden Wirkungen des formulierten Extraktes aus den Wurzeln des GT10 unter Freilandbedingungen ist abzuleiten, dass Studien mit optimierten Formulierungshilfsstoffen und -zusammensetzungen dazu beitragen können, die Effekte im Freiland noch weiter zu verbessern oder zumindest zu stabilisieren. Auf Basis der vielversprechenden Ergebnisse kam es im Jahr 2015 zu einer Kooperation der Hochschule Anhalt (AG IBAS) mit der HELM AG, welche bereits die ursprüngliche Formulierung des getesteten Extraktes vorgenommen hatte. Zielführend war eine wirtschaftliche Technologieverwertung des für die antifungale Wirksamkeit der *Rheum*-Wurzelextrakte von der Hochschule Anhalt angemeldeten Patentes „Antifungale Formulierungen zur Bekämpfung von Pflanzenkrankheiten“ (Veröffentlichungsnummer: WO 2013/110258 A1). Im Rahmen der Zusammenarbeit wurde eine neu formulierte EtOAc-Mischphase des GT10 gegen den Sojarost in Brasilien evaluiert. Erste eigene Untersuchungen über die Verwendung unterschiedlicher Adjuvantien mit *Rheum*-Extrakten in *Bgh*-anfälliger Gerste (Gewächshausversuche) sind im Hinblick auf eine Verbesserung der Spreitung auf Blättern, der Wirkstoffaufnahme in die Pflanze oder der Regenfestigkeit ebenfalls ermutigend. Ein limitierender Faktor für die erfolgreiche Patentverwertung in der gärtnerischen und landwirtschaftlichen Praxis sind taxierte Zulassungskosten von etwa 50 Millionen Euro. Im Zulassungsverfahren für pflanzenextraktbasierte PSM würden neben der Identität und nachhaltigen Wirksamkeit auch weitere Aspekte wie das Resistenzrisiko gegenüber phytopathogenen Zielorganismen, die Bienenverträglichkeit oder Nützlingsschonung, die Toxizität, die Abbaubarkeit bzw. Persistenz u.ä. nochmals überprüft werden (VERORDNUNG (EG) Nr. 1107/2009 über das Inverkehrbringen von Pflanzenschutzmitteln und weitere Verordnungen). Ein Produkt auf Basis von *Rheum*-Wurzelextrakten als Pflanzenschutz- bzw. Pflanzenstärkungsmittel könnte bei erfolgreicher Umsetzung als kommerziell interessante Ergänzung oder Alternative zu chemischen PSM in Biogetreide etabliert werden. Berechnungen ergeben, dass bei etwa 25.000 Rhabarberpflanzen pro Hektar (0,75 m Reihenabstand; 0,5-0,6 m Pflanzenabstand), einem Wurzeleltertrag von 4 kg gereinigter, ungetrockneter Wurzelmasse pro Pflanze nach vier Vegetationsperioden und einer Ausbeute an EtOAc-Phase von etwa 10 % (bez. auf Wurzeltrockenmasse) eine spezifische Wirkextraktmenge von 3.400 kg pro Hektar Anbaufläche und Jahr erzeugt werden könnte (Ausgangsdaten). Berücksichtigt ist dabei ein trocknungsbedingter Wasserverlust von 66 %. Für die zweimalige Spritzung einer 2.070 ha großen Getreidefläche im Jahr wären bei einer Einsatzkonzentration von 1000 ppm 0,4 kg Extrakt pro Hektar erforderlich. Daraus ergibt sich eine erforderliche Rhabarberanbaufläche von 0,24 ha mit einer erforderlichen Pflanzenanzahl von 6.088 Stück. Da hier auch die z.T. klimatisch bedingten Varianzen in Syntheseleistung, Wurzelmasse und Extraktausbeute berücksichtigt werden müssen, sind unter dem Gesichtspunkt einer darauf basierenden definierten Produktentwicklung weitere Untersuchungen zur Abhängigkeit von Erntezeitpunkt/Extrakterstellungstermin und Lagerung auf das polyphenolische Inhaltsstoffspektrum angezeigt. Bei Optimierung verschiedener Einflussgrößen (Anbaukosten, Frischwurzeleltertrag, Extraktionskosten, Einsatzkonzentration) sind in Getreide bei Einsatzkonzentrationen von z.B. 500 ppm bzw. 1200 ppm (0,1/0,24 kg Extrakt / ha) spezifische Anwendungskosten von 3,69 € bis 8,85 € pro Anwendung und Hektar realistisch. Als weitere Möglichkeit zur Optimierung der Produktionskosten bietet sich auch die

Mikrovermehrung der *Rheum*-Pflanzen an. Abschließend ist festzuhalten, dass die Voraussetzungen für eine mögliche wirtschaftliche Verwertung von antifungalen, protektiv oder kurativ einsetzbaren Mischpräparaten auf Basis von *Rheum*-Wurzelextrakten vorliegen.

7 Summary

7.1 Background

A growing world population requires an increase in the quality and quantity of food production. Plant diseases caused by phytopathogenic fungi and oomycetes have repeatedly led to major harvest losses at the global scale. The risk of fungicide resistance in pathogens and strict pesticide legislation necessitate innovative agronomical practices for adequate crop protection, as e.g. the identification of new substances that combat pathogens with multiple modes of action. The main task for successful antifungal strategies is to develop substances with a low risk of resistance development in pathogens, i.e. direct antifungal activity incl. host plant priming capacity, which combine sustainability, broad-spectrum efficacy and low toxicity for humans, animals, host plants and ecosystems. Due to their richness in polyphenolic compounds, rhubarb root extracts show a high bioactive potential. The aim of this work was to investigate the impact and efficacy of such extracts that include flavonoids, stilbenes and other related compounds with regard to their utilization as a possible supplement for existing chemical fungicides.

7.2 Monitoring strategy and Results

The antifungal activity of rhubarb root extracts was tested by using a multi-step monitoring strategy. In a primary screening, based on chemical structure elucidation by LC-MS, total extracts from different *Rheum/Rumex* species (spp.) as well as their fractions and standard compounds were tested against economically relevant pathogens, like powdery mildew fungi, via *in vitro* mycelial growth tests and *in vivo* leaf segment assays. In the secondary screening, the structure-effect relationships were elucidated by histochemical studies, transcript abundance analyses and protein assays (greenhouse tests) with selected extract samples. Promising extracts were further evaluated in field trials as tertiary screening.

Specific polyphenolic mixtures inhibited mycelial growth of several necrotrophic, hemi-biotrophic and biotrophic phytopathogenic fungi and oomycetes. In dependency of the contained polyphenolic substances, the antifungal and plant protective effects of the extracts differed in the mycelial growth tests, but not in the leaf segment assays with barley powdery mildew (*Bgh*). Heterogeneous polyphenols (flavan-3-ols and stilbene agents) were proven as bioactive compounds that inhibited *Bgh* pustule formation by reducing conidial germination and haustoria formation rates. The *in vivo* *Bgh* effects of *Rheum* root extracts had a high probability of being accompanied by synergistic interactions between minor substances, like epicatechin gallate (ECG) or procyanidin B1/B2 (flavan-3-ols), and major components, like resveratrol (RES), desoxyrhaponticin or rhaponticin (stilbene derivatives), present in the total extracts. Moreover, the antifungal efficacy of selected crude or formulated extracts against powdery mildews and rust diseases in barley and wheat was similar to commercial products under field conditions, without any phytotoxic side effects. Certain extracts (*Rheum rhabarbarum* 'The Sutton' [genotype {GT} 10 ethyl acetate phase]) showed not only a direct inhibition of pathogen growth, but also some evidence for salicylic acid- (systemic acquired resistance) and camalexin-mediated induced resistance in *Arabidopsis thaliana* (stilbene-dependent). Furthermore, various defense-related genes, e.g. pathogenesis-related protein-coding genes, showed significantly higher transcript abundances in the case of treated *Arabidopsis* leaves from wild type Col-8 (DNA-microarray, qRT-PCR analyses). No profound extract activity was measurable by using protein assay (MAP kinase 3). The rate of papillae formation (lignin deposition) in *Bgh*-infected barley leaves was affected significantly by

fractions of the GT10 extract. The *Bgh*-inhibitory effects of GT10 and GT02 (*R. officinale*) extracts also correlated with extract-induced activities of antioxidants (catalase, ascorbate peroxidase, glutathione).

7.3 Conclusion

Special root extracts from *Rheum* spp. such as GT10 clearly demonstrated protective disease-controlling effects against a wide range of plant pathogens, such as powdery mildews as well as rusts and other diseases in cereals and vegetables. The multi-component-based antifungal potential of the extracts that include synergistically acting ingredients, with the advantage of low risks for the development of fungicide resistance in pathogens, may represent a promising alternative for developing synthetic leads from these botanicals in the future. ECG, RES and other polyphenolic substances featured direct antifungal properties and were found to induce immune responses in cultivated plants (multiple modes of action). Mixed formulations are designated to support spray rate reduction of agrochemicals and to improve conventional plant protection with single compounds. The adoption of natural substances for plant protection may facilitate sustainable horti- and agriculture.

LITERATURVERZEICHNIS

- AAVIKSAAR A, HAGA M, KUZINA K, PÜSSA T, RAAL A, TSOUPRAS G.** 2003. Hydroxystilbenes in the roots of *Rheum rhaponticum*. Proceedings of the Estonian Academy of Science. Chemistry **52**, 99-107.
- Abcam plc.** 2018. Protein dephosphorylation protocol. url: <http://www.abcam.com/protocols/protein-dephosphorylation-protocol> (03.02.2018).
- ACHATZ B.** 2006. Untersuchungen zum Einfluss des Wurzelendophyten *Piriformospora indica* auf das Wachstum von *Hordeum vulgare*, die Resistenz gegen *Blumeria graminis* f.sp. *hordei* und die Genexpression in den Blättern. Dissertation, Philipps-Universität Marburg.
- ADRIAN M, JEANDET P, VENEAU J, WESTON LA, BESSIS R.** 1997. Biological activity of resveratrol, a stilbenic compound from grapevines, against *Botrytis cinerea*, the causal agent for gray mold. Journal of Chemical Ecology **23**, 1689-1702.
- AGARWAL SK, SINGH SS, VERMA S, KUMAR S.** 2000. Antifungal activity of anthraquinone derivatives from *Rheum emodi*. Journal of Ethnopharmacology **72**, 43-46.
- AIST JR, BUSHNELL, WR.** 1991. Invasion of plants by powdery mildew fungi, and cellular mechanisms of resistance. In: COLE GT, HOCH HC, Hrsg. The fungal spore and disease initiation in plants and animals. Boston, Massachusetts: Springer, 321-345.
- ALBERT S, HORBACH R, DEISING HB, SIEWERT B, CSUK R.** 2011. Synthesis and antimicrobial activity of (E) stilbene derivatives. Bioorganic & Medicinal Chemistry **19**, 5155-5166.
- ALONSO JM, HIRAYAMA T, ROMAN G, NOURIZADEH S, ECKER JR.** 1999. EIN2, a bifunctional transducer of ethylene and stress responses in *Arabidopsis*. Science **284**, 2148-2152.
- ALY MM, GUMGUMJEE NM.** 2011. Antimicrobial efficacy of *Rheum palmatum*, *Curcuma longa* and *Alpinia officinarum* extracts against some pathogenic microorganisms. African Journal of Biotechnology **10**, 12058-12063.
- AMMAR GA, TRYONO R, DÖLL K, KARLOVSKY P, DEISING HB, WIRSEL SGR.** 2013. Identification of ABC transporter genes of *Fusarium graminearum* with roles in azole tolerance and/or virulence. PLOS ONE **8**, e79042.
- ANDERSON JC, BARTELS S, GONZÁLEZ BESTEIRO MA, SHAHOLLARI B, ULM R, PECK SC.** 2011. *Arabidopsis* MAP Kinase Phosphatase 1 (*AtMKP1*) negatively regulates MPK6-mediated PAMP responses and resistance against bacteria. The Plant Journal **67**, 258-268.
- APEL K, HIRT H.** 2004. Reactive oxygen species: Metabolism, oxidative stress, and signal transduction. Annual Review of Plant Biology **55**, 373-399.
- aprentas, Hrsg.** 2017. Laborpraxis Band 3: Trennungsmethoden. Muttentz: Springer.
- ARORA A, SAIRAM RK, SRIVASTAVA GC.** 2002. Oxidative stress and antioxidative system in plants. Current Science **82**, 1227-1238.
- ASAI T, TENA G, PLOTNIKOVA J, WILLMANN MR, CHIU WL, GOMEZ-GOMEZ L, BOLLER T, AUSUBEL FM, SHEEN J.** 2002. MAP kinase signaling cascade in *Arabidopsis* innate immunity. Nature **415**, 977-983.
- AZNAR A, CHEN NWG, THOMINE S, DELLAGI A.** 2015. Immunity to plant pathogens and iron homeostasis. Plant Science **240**, 90-97.
- BÁIDEZ AG, GÓMEZ P, DEL RÍO JA, ORTUÑO A.** 2006. Antifungal capacity of major phenolic compounds of *Olea europaea* L. against *Phytophthora megasperma* Drechsler and

- Cylindrocarpon destructans* (Zinssm.) Scholten. *Physiological and Molecular Plant Pathology* **69**, 224-229.
- BALLERT S.** 2014. Entwicklung einer präparativen HPLC-Methode zur Fraktionierung von Rhabarberextrakten. Masterarbeit, Hochschule Anhalt (Bernburg).
- BALTRUSCHAT H, FODOR J, HARRACH BD, NIEMCZYK E, BARNA B, GULLNER G, JANECKO A, KOGEL KH, SCHÄFER P, SCHWARCZINGER I, ZUCCARO A, SKOCZOWSKI A.** 2008. Salt tolerance of barley induced by the root endophyte *Piriformospora indica* is associated with a strong increase in antioxidants. *New Phytologist* **180**, 501-510.
- BALTRUSCHAT H, KABRODT K, SCHELLENBERG I, Anhalt University of Applied Sciences.** 2013. Antifungal formulations for combatting plant diseases. World Intellectual Property Organization patent WO2013110258A1.
- BARI R, JONES JDG.** 2009. Role of plant hormones in plant defence responses. *Plant Molecular Biology* **69**, 473-488.
- BARMAN AR, BANERJEE J.** 2015. Versatility of germin-like proteins in their sequences, expressions, and functions. *Functional & Integrative Genomics* **15**, 533-548.
- BASF SE.** 2009. Gebrauchsanleitung FLEXITY®. url: https://www.agrar.basf.de/agroportal/de/media/migrated/de/productfiles/labels_1/2012_3/ga_flexity_300112.pdf (03.02.2018).
- BASF SE.** 2018a. Schaderreger Echter Mehltau (Gerste). url: https://www.agrar.basf.de/agroportal/de/de/infothek_/pest_lexikon_1/pest_information_detailpage_2058.html (06.02.2018).
- BASF SE.** 2018b. Schaderreger Gelbrost. url: https://www.agrar.basf.de/agroportal/de/de/infothek_/pest_lexikon_1/pest_information_detailpage_2082.html (06.02.2018).
- BASF SE.** 2018c. Schaderreger Braunrost (Weizen, Triticale). url: https://www.agrar.basf.de/agroportal/de/de/infothek_/pest_lexikon_1/pest_information_detailpage_1923.html (06.02.2018).
- BASF SE.** 2018d. Gebrauchsanleitung CORBEL. url: <https://www.agrar.basf.de/agroportal/de/media/migrated/de/productfiles/ga/ga-corbel.pdf> (23.10.2018).
- BASF SE.** 2018e. Fungizid Capalo®. url: https://www.agrar.basf.de/agroportal/de/de/produkte_/produktempfehlung/product_details_2336.html (03.02.2018).
- BAUR JA, PEARSON KJ, PRICE NL, JAMIESON HA, LERIN C, KALRA A, PRABHU VV, ALLARD JS, LOPEZ-LLUCH G, LEWIS K, PISTELL PJ, POOSALA S, BECKER KG, BOSS O, GWINN D, WANG M, RAMASWAMY S, FISHBEIN KW, SPENCER RG, LAKATTA EG, LE COUTEUR D, SHAW RJ, NAVAS P, PUIGSERVER P, INGRAM DK, DE CABO R, SINCLAIR DA.** 2006. Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. *Nature* **444**, 337-342.
- BEBBER DP, GURR SJ.** 2015. Crop-destroying fungal and oomycete pathogens challenge food security. *Fungal Genetics and Biology* **74**, 62-64.
- BECHINGER C, GIEBEL KF, SCHNELL M, LEIDERER P, DEISING HB, BASTMEYER M.** 1999. Optical measurements of invasive forces exerted by appressoria of a plant pathogenic fungus. *Science* **285**, 1896-1899.
- BECKERS GJM, CONRATH U.** 2007. Priming for stress resistance: From the lab to the field. *Current Opinion in Plant Biology* **10**, 425-431.
- BECKERS GJM, JASKIEWICZ M, LIU Y, UNDERWOOD WR, HE SY, ZHANG S, CONRATH U.** 2009. Mitogen-activated protein kinases 3 and 6 are required for full priming of stress responses in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Cell* **21**, 944-953.

- BECKHOVE U.** 2001. Chemisch induzierte Resistenz im Pathosystem Weizen – Echter Weizenmehltau: Cytologische und molekulare Funktionsanalyse eines Benzothiadiazols. Dissertation, Justus-Liebig-Universität Gießen.
- BENHAMOU N, BÉLANGER RR.** 1998. Benzothiadiazole-mediated induced resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* in tomato. *Plant Physiology* **118**, 1203-1212.
- BENT AF, MACKEY D.** 2007. Elicitors, effectors, and R genes: The new paradigm and a life-time supply of questions. *Annual Review of Phytopathology* **45**, 399-436.
- BERGER S, BELL E, MULLET JE.** 1996. Two methyl jasmonate-insensitive mutants show altered expression of *AtVsp* in response to methyl jasmonate and wounding. *Plant Physiology* **111**, 525-531.
- BHATTACHARJEE S.** 2005. Reactive oxygen species and oxidative burst: Roles in stress, senescence and signal transduction in plants. *Current Science* **89**, 1113-1121.
- BLAESER P, STEINER U, DEHNE HW.** 2002. Pflanzeninhaltsstoffe mit fungizider Wirkung. Landwirtschaftliche Fakultät der Universität Bonn, Schriftenreihe des Lehr- und Forschungsschwerpunktes USL **97**, 1-143.
- BLASCHEK W.** 2010. Kohlenhydrate I: Chemie, wichtige Mono- und Oligosaccharide. In: HÄNSEL R, STICHER O, Hrsg. *Pharmakognosie – Phytopharmazie*. Heidelberg: Springer, 425-459.
- BLAST – Basic Local Alignment Search Tool.** 2018. url: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> (02.11.2018).
- BMBF – Bundesministerium für Bildung und Forschung, Hrsg.** 2010. Nationale Forschungsstrategie BioÖkonomie 2030. Unser Weg zu einer bio-basierten Wirtschaft. url: https://www.bmbf.de/pub/Nationale_Forschungsstrategie_Biooekonomie_2030.pdf (03.02.2018).
- BMEL – Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft, Hrsg.** 2017. NAP – Nationaler Aktionsplan Pflanzenschutz. Nationaler Aktionsplan zur nachhaltigen Anwendung von Pflanzenschutzmitteln. url: http://www.bmel.de/SharedDocs/Downloads/Broschueren/NationalerAktionsplanPflanzenschutz.pdf?__blob=publicationFile (03.02.2018).
- BOLLER T, FELIX G.** 2009. A renaissance of elicitors: Perception of microbe-associated molecular patterns and danger signals by pattern-recognition receptors. *Annual Review of Plant Biology* **60**, 379-406.
- BÖRNER H.** 2009. Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz. Berlin Heidelberg: Springer.
- BOWEN JK, MESARICH CH, BUS VGM, BERESFORD RM, PLUMMER KM, TEMPLETON MD.** 2011. *Venturia inaequalis*: The causal agent of apple scab. *Molecular Plant Pathology* **12**, 105-122.
- BRANDS SJ, Hrsg.** 1989-heute. *Systema Naturae 2000. The Taxonomicon*. Universal Taxonomic Services, Zwaag, The Netherlands. url: <http://taxonomicon.taxonomy.nl/> (17.12.2017).
- BREEN S, WILLIAMS SJ, OUTRAM M, KOBE B, SOLOMON PS.** 2017. Emerging insights into the functions of pathogenesis-related protein 1. *Trends in Plant Science* **22**, 871-879.
- BRODERSEN P, PETERSEN M, NIELSEN HB, ZHU S, NEWMAN MA, SHOKAT KM, RIETZ S, PARKER J, MUNDY J.** 2006. *Arabidopsis* MAP kinase 4 regulates salicylic acid- and jasmonic acid/ethylene-dependent responses via EDS1 and PAD4. *The Plant Journal* **47**, 532-546.
- BUCHANAN BB, GRUISSEM W, JONES RL.** 2009. *Biochemistry & molecular biology of plants*. Rockville, Maryland: American Society of Plant Physiologists.

- CAO H, BOWLING SA, GORDON S, DONG X.** 1994. Characterization of an *Arabidopsis* mutant that is non-responsive to inducers of systemic acquired resistance. *The Plant Cell* **6**, 1583-1592.
- CAO H, GLAZEBROOK J, CLARKE JD, VOLKO S, DONG X.** 1997. The *Arabidopsis* *NPR1* gene that controls systemic acquired resistance encodes a novel protein containing ankyrin repeats. *Cell* **88**, 57-63.
- CASTIBLANCO V, MARULANDA JJ, WÜRSCHUM T, MIEDANER T.** 2017. Candidate gene based association mapping in *Fusarium culmorum* for field quantitative pathogenicity and mycotoxin production in wheat. *BMC Genetics* **18**, 49.
- CHAKRABORTY D, CHAKRABORTI S.** 2010. Bioassay-guided isolation and identification of anti-bacterial and antifungal component from methanolic extract of green tee leaves (*Camellia sinensis*). *Research Journal of Phytochemistry* **4**, 78-86.
- CHAPMAN P.** 2014. Is the regulatory regime for the registration of plant protection products in the EU potentially compromising food security? *Food and Energy Security* **3**, 1-6.
- CHEN H, CHEN J, LI M, CHANG M, XU K, SHANG Z, ZHAO Y, PALMER I, ZHANG Y, MCGILL J, ALFANO JR, NISHIMURA MT, LIU F, FU ZQ.** 2017. A bacterial type III effector targets the master regulator of salicylic acid signaling, NPR1, to subvert plant immunity. *Cell Host & Microbe* **22**, 777-788.
- CHEN J, DAI GH.** 2014. Effect of D-pinitol isolated and identified from *Robinia pseudoacacia* against cucumber powdery mildew. *Scientia Horticulturae* **176**, 38-44.
- CHO Y.** 2015. How the necrotrophic fungus *Alternaria brassicicola* kills plant cells remains an enigma. *Eukaryotic Cell* **14**, 335-344.
- CHOI GJ, LEE SW, JANG KS, KIM JS, CHO KY, KIM JC.** 2004. Effects of chrysophanol, parietin, and nepodin of *Rumex crispus* on barley and cucumber powdery mildews. *Crop Protection* **23**, 1215-1221.
- CHOLLET JF, COUDERCHET M, BONNEMAIN JL.** 2014. Crop protection: New strategies for sustainable development. *Environmental Science and Pollution Research* **21**, 4793-4796.
- CHOWDHURY J, HENDERSON M, SCHWEIZER P, BURTON RA, FINCHER GB, LITTLE A.** 2014. Differential accumulation of callose, arabinoxylan and cellulose in nonpenetrated versus penetrated papillae on leaves of barley infected with *Blumeria graminis* f. sp. *hordei*. *New Phytologist* **204**, 650-660.
- CHRISTENSEN AB, THORDAL-CHRISTENSEN H, ZIMMERMANN G, GJETTING T, LYGKJÆR MF, DUDLER R, SCHWEIZER P.** 2004. The germinlike protein GLP4 exhibits superoxide dismutase activity and is an important component of quantitative resistance in wheat and barley. *Molecular Plant-Microbe Interactions* **17**, 109-117.
- COLBY SR.** 1967. Calculating synergistic and antagonistic responses of herbicide combinations. *Weeds* **15**, 20-22.
- CONKLIN PL, WILLIAMS EH, LAST RL.** 1996. Environmental stress sensitivity of an ascorbic acid-deficient *Arabidopsis* mutant. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **93**, 9970-9974.
- CONRATH U, BECKERS GJM, FLORS V, GARCÍA-AGUSTÍN P, JAKAB G, MAUCH F, NEWMAN MA, PIETERSE CMJ, POINSSOT B, POZO MJ, PUGIN A, SCHAFFRATH U, TON J, WENDEHENNE D, ZIMMERLI L, MAUCH-MANI B.** 2006. Priming: Getting ready for battle. *Molecular Plant-Microbe Interactions* **19**, 1062-1071.
- CONRATH U, BECKERS GJM, LANGENBACH CJG, JASKIEWICZ MR.** 2015. Priming for enhanced defense. *Annual Review of Phytopathology* **53**, 97-119.

- CONRATH U, PIETERSE CMJ, MAUCH-MANI B.** 2002. Priming in plant-pathogen interactions. *Trends in Plant Science* **7**, 210-216.
- CONRATH U, THULKE O, KATZ V, SCHWINDLING S, KOHLER A.** 2001. Priming as a mechanism in induced systemic resistance of plants. *European Journal of Plant Pathology* **107**, 113-119.
- CONRATH U.** 2006. Systemic acquired resistance. *Plant Signaling & Behavior* **1**, 179-184.
- COPPING LG, MENN JJ.** 2000. Biopesticides: A review of their action, applications and efficacy. *Pest Management Science* **56**, 651-676.
- COSIO EG, FEGER M, MILLER CJ, ANTELO L, EBEL J.** 1996. High-affinity binding of fungal β -glucan elicitors to cell membranes of species of the plant family Fabaceae. *Planta* **200**, 92-99.
- COX KD.** 2015. Fungicide resistance in *Venturia inaequalis*, the causal agent of apple scab, in the United States. In: ISHII H, HOLLOMON DW, Hrsg. Fungicide resistance in plant pathogens. Tokyo: Springer, 433-447.
- CSUPOR L.** 1970. Desoxy-rhaponticin, ein neues natürliches Stilbenderivat in Rhizoma *Rhei Rhapontici* (L.). *Archiv der Pharmazie* **303**, 681-687.
- DAGLIA M.** 2012. Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology* **23**, 174-181.
- DAGOSTIN S, SCHÄRER HJ, PERTOT I, TAMM L.** 2011. Are there alternatives to copper for controlling grapevine downy mildew in organic viticulture? *Crop Protection* **30**, 776-788.
- DAI J, MUMPER RJ.** 2010. Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anti-cancer properties. *Molecules* **15**, 7313-7352.
- DEAN R, VAN KAN JAL, PRETORIUS ZA, HAMMOND-KOSACK KE, DI PIETRO A, SPANU PD, RUDD JJ, DICKMAN M, KAHMANN R, ELLIS J, FOSTER GD.** 2012. The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology* **13**, 414-430.
- DEISING HB, GASE I, KUBO Y.** 2017. The unpredictable risk imposed by microbial secondary metabolites: How safe is biological control of plant diseases? *Journal of Plant Diseases and Protection* **124**, 413-419.
- DEL RÍO LA, CORPAS FJ, SANDALIO LM, PALMA JM, GÓMEZ M, BARROSO JB.** 2002. Reactive oxygen species, antioxidant systems and nitric oxide in peroxisomes. *Journal of Experimental Botany* **53**, 1255-1272.
- DEVOTO A, TURNER JG.** 2003. Regulation of jasmonate-mediated plant responses in *Arabidopsis*. *Annals of Botany* **92**, 329-337.
- DIETZ KJ, MITTLER R, NOCTOR G.** 2016. Recent progress in understanding the role of reactive oxygen species in plant cell signaling. *Plant Physiology* **171**, 1535-1539.
- DINGERMANN T, HILLER K, SCHNEIDER G, ZÜNDORF I.** 2004. Schneider Arzneidrogen. München: Spektrum.
- DIX NJ.** 1979. Inhibition of fungi by gallic acid in relation to growth on leaves and litter. *Transactions of the British Mycological Society* **73**, 329-336.
- DODDS PN, RATHJEN JP.** 2010. Plant immunity: Towards an integrated view of plant-pathogen interactions. *Nature Reviews Genetics* **11**, 539-548.
- DONG X.** 1998. SA, JA, ethylene, and disease resistance in plants. *Current Opinion in Plant Biology* **1**, 316-323.
- DONG X.** 2004. NPR1, all things considered. *Current Opinion in Plant Biology* **7**, 547-552.
- DOREY S, BAILLIEUL F, PIERREL MA, SAINDRENAN P, FRITIG B, KAUFFMANN S.** 1997. Spatial and temporal induction of cell death, defense genes, and accumulation of salicylic

- acid in tobacco leaves reacting hypersensitively to a fungal glycoprotein elicitor. *Molecular Plant-Microbe Interactions* **10**, 646-655.
- DURRANT WE, DONG X.** 2004. Systemic acquired resistance. *Annual Review of Phytopathology* **42**, 185-209.
- EDWARDS HH.** 2002. Development of primary germ tubes by conidia of *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* on leaf epidermal cells of *Hordeum vulgare*. *Canadian Journal of Botany* **80**, 1121-1125.
- ELTAYEB AE, KAWANO N, BADAWI GH, KAMINAKA H, SANEKATA T, SHIBAHARA T, INANAGA S, TANAKA K.** 2007. Overexpression of monodehydroascorbate reductase in transgenic tobacco confers enhanced tolerance to ozone, salt and polyethylene glycol stresses. *Planta* **225**, 1255-1264.
- ENGELSHOWE R.** 1985. Rhabarber eine alte Droge – noch immer aktuell. *Pharmazie in unserer Zeit* **14**, 40-49.
- Evonik – Technical Information.** 2018. BREAK-THRU® S 240. url: <https://www.break-thru.com/product/break-thru/en/products/spreaders-penetrants/pages/product-details.aspx?productId=17121> (14.11.2018).
- EXTRASYNTHESE.** 2018a. url: <https://www.extrasynthese.com/> (23.10.2018).
- EXTRASYNTHESE.** 2018b. url: https://www.extrasynthese.com/procyanidin-b2.html?__SID=U (23.10.2018).
- FARRAG ESH, MOHARAM MHA, ZIEDAN ESH.** 2013. Effect of plant extracts on morphological and pathological potential of seed-borne fungi on cucumber seeds. *Journal of Agricultural Technology* **9**, 141-149.
- FERRARI S, PLOTNIKOVA JM, DE LORENZO G, AUSUBEL FM.** 2003. *Arabidopsis* local resistance to *Botrytis cinerea* involves salicylic acid and camalexin and requires *EDS4* and *PAD2*, but not *SID2*, *EDS5* or *PAD4*. *The Plant Journal* **35**, 193-205.
- FETTIG S, HESS D.** 1999. Expression of a chimeric stilbene synthase gene in transgenic wheat lines. *Transgenic Research* **8**, 179-189.
- FOYER C, ROWELL J, WALKER D.** 1983. Measurement of the ascorbate content of spinach leaf protoplasts and chloroplasts during illumination. *Planta* **157**, 239-244.
- FOYER CH, NOCTOR G.** 2005. Redox homeostasis and antioxidant signaling: A metabolic interface between stress perception and physiological responses. *The Plant Cell* **17**, 1866-1875.
- FRANZ F, ALBAN S.** 1999. Kohlenhydrate. In: HÄNSEL R, STICHER O, STEINEGGER E, Hrsg. *Pharmakognosie – Phytopharmazie*. Berlin Heidelberg: Springer, 301-428.
- FREIALDENHOVEN A, SCHERAG B, HOLLRICHER K, COLLINGE DB, THORDAL-CHRISTENSEN H, SCHULZE-LEFERT P.** 1994. *Nar-1* and *Nar-2*, two loci required for *Mla₁₂*-specified race-specific resistance to powdery mildew in barley. *The Plant Cell* **6**, 983-994.
- FU ZQ, DONG X.** 2013. Systemic acquired resistance: Turning local infection into global defense. *Annual Review of Plant Biology* **64**, 839-863.
- FUKUOKA S, SAKA N, KOGA H, ONO K, SHIMIZU T, EBANA K, HAYASHI N, TAKAHASHI A, HIROCHIKA H, OKUNO K, YANO M.** 2009. Loss of function of a proline-containing protein confers durable disease resistance in rice. *Science* **325**, 998-1001.
- GAFFNEY T, FRIEDRICH L, VERNOOIJ B, NEGROTTO D, NYE G, UKNES S, WARD E, KESSMANN H, RYALS J.** 1993. Requirement of salicylic acid for the induction of systemic acquired resistance. *Science* **261**, 754-756.
- GAMBINI J, INGLÉS M, OLASO G, LOPEZ-GRUESO R, BONET-COSTA V, GIMENO-MALLENCH L, MAS-BARGUES C, ABDELAZIZ KM, GOMEZ-CABRERA MC, VINA J, BORRAS C.** 2015.

- Properties of resveratrol: *In vitro* and *in vivo* studies about metabolism, bioavailability, and biological effects in animal models and humans. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* **2015**, 1-13.
- GBIS/I – Genbankinformationssystem des IPK Gatersleben**. 2006. url: https://gbis.ipk-gatersleben.de/GBIS_I/home.jsf;jsessionid=YH0lt1YIEL2CVjlvvXWO1wwP49I2Qtahb-0d4Ic9Vc3kpp1Mlm59!494092542!1499089819173 (29.12.2017).
- GIGOLASHVILI T, BERGER B, MOCK HP, MÜLLER C, WEISSHAAR B, FLÜGGE UI**. 2007. The transcription factor HIG1/MYB51 regulates indolic glucosinolate biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal* **50**, 886-901.
- GILL SS, TUTEJA N**. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry* **48**, 909-930.
- GLAZEBROOK J, AUSUBEL FM**. 1994. Isolation of phytoalexin-deficient mutants of *Arabidopsis thaliana* and characterization of their interactions with bacterial pathogens. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **91**, 8955-8959.
- GLAZEBROOK J, CHEN W, ESTES B, CHANG HS, NAWRATH C, MÉTRAUX JP, ZHU T, KATAGIRI F**. 2003. Topology of the network integrating salicylate and jasmonate signal transduction derived from global expression phenotyping. *The Plant Journal* **34**, 217-228.
- GLAZEBROOK J, ZOOK M, MERT F, KAGAN I, ROGERS EE, CRUTE IR, HOLUB EB, HAMMERSCHMIDT R, AUSUBEL FM**. 1997. Phytoalexin-deficient mutants of *Arabidopsis* reveal that *PAD4* encodes a regulatory factor and that four *PAD* genes contribute to downy mildew resistance. *Genetics* **146**, 381-392.
- GLAZEBROOK J**. 2005. Contrasting mechanisms of defense against biotrophic and necrotrophic pathogens. *Annual Review of Phytopathology* **43**, 205-227.
- GOLDBERG DM**. 1996. More on antioxidant activity of resveratrol in red wine. *Clinical Chemistry* **42**, 113-114.
- GONG YX, LI SP, WANG YT, LI P, YANG FQ**. 2005. Simultaneous determination of anthraquinones in rhubarb by pressurized liquid extraction and capillary zone electrophoresis. *Electrophoresis* **26**, 1778-1782.
- GONZALEZ UREÑA A, OREA JM, MONTERO C, JIMÉNEZ JB, GONZÁLEZ JL, SÁNCHEZ A, DORADO M**. 2003. Improving postharvest resistance in fruits by external application of trans-resveratrol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51**, 82-89.
- GÖRG R, HOLLRICHER K, SCHULZE-LEFERT P**. 1993. Functional analysis and RFLP-mediated mapping of the *Mlg* resistance locus in barley. *The Plant Journal* **3**, 857-866.
- GÖRLACH J, VOLRATH S, KNAUF-BEITER G, HENGY G, BECKHOVE U, KOGEL KH, OOSTENDORP M, STAUB T, WARD E, KESSMANN H, RYALS J**. 1996. Benzothiadiazole, a novel class of inducers of systemic acquired resistance, activates gene expression and disease resistance in wheat. *The Plant Cell* **8**, 629-643.
- GOZZO F, FAORO F**. 2013. Systemic acquired resistance (50 years after discovery): Moving from the lab to the field. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **61**, 12473-12491.
- GRANT M, LAMB C**. 2006. Systemic immunity. *Current Opinion in Plant Biology* **9**, 414-420.
- HAFEZ YM, ABDELAAL KhAA**. 2015. Investigation of susceptibility and resistance mechanisms of some Egyptian wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.) inoculated with *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* using certain biochemical, molecular characterization and SEM. *Mansoura Journal of Plant Protection and Pathology* **6**, 431-454.
- HAHN M**. 2014. The rising threat of fungicide resistance in plant pathogenic fungi: *Botrytis* as a case study. *Journal of Chemical Biology* **7**, 133-141.

- HAIN R, REIF HJ, KRAUSE E, LANGEBARTELS R, KINDL H, VORNAM B, WIESE W, SCHMELZER E, SCHREIER PH, STÖCKER RH, STENZEL K.** 1993. Disease resistance results from foreign phytoalexin expression in a novel plant. *Nature* **361**, 153-156.
- HALLMANN J, QUADT-HALLMANN A, VON TIEDEMANN A.** 2007. *Phytomedizin. Grundwissen Bachelor*. Stuttgart: Ulmer.
- HAMILTON CE, BAUERLE TL.** 2012. A new currency for mutualism? Fungal endophytes alter antioxidant activity in hosts responding to drought. *Fungal Diversity* **54**, 39-49.
- HAMMERSCHMIDT R, MÉTRAUX JP, VAN LOON LC.** 2001. Inducing resistance: A summary of papers presented at the First International Symposium on Induced Resistance to Plant Diseases, Corfu, May 2000. *European Journal of Plant Pathology* **107**, 1-6.
- HAMMERSCHMIDT R.** 1999: Induced disease resistance: How do induced plants stop pathogens? *Physiological and Molecular Plant Pathology* **55**, 77-84.
- HAMMOND-KOSACK KE, JONES JDG.** 1996. Resistance gene-dependent plant defense responses. *The Plant Cell* **8**, 1773-1791.
- HÄNSEL R, KELLER K, RIMPLER H, SCHNEIDER G, Hrsg.** 1994. *Hagers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis: Drogen P-Z (Folgeband 2)*. Berlin Heidelberg: Springer.
- HÄNSEL R.** 1999. Phytochemische Grundlagen. In: HÄNSEL R, STICHER O, STEINEGGER E, Hrsg. *Pharmakognosie – Phytopharmazie*. Berlin Heidelberg: Springer, 1-118.
- HARBORNE JB, WILLIAMS CA.** 2000. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry* **55**, 481-504.
- HART JH.** 1981. Role of phytoalexins in decay and disease resistance. *Annual Review of Phytopathology* **19**, 437-458.
- HASLAM E.** 1996. Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: Possible modes of action. *Journal of Natural Products* **59**, 205-215.
- HE S, YAN X.** 2013. From resveratrol to its derivatives: New sources of natural antioxidant. *Current Medicinal Chemistry* **20**, 1005-1017.
- HEAD JW.** 2017. *International law and agroecological husbandry: Building legal foundations for a new agriculture*. New York, New York: Earthscan Food and Agriculture.
- HEATH MC.** 1981. A generalized concept of host-parasite specificity. *Phytopathology* **71**, 1121-1123.
- HERGER G, KLINGAUF F.** 1990. Control of powdery mildew fungi with extracts of the giant knotweed, *Reynoutria sachalinensis* (Polygonaceae). *Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen, Rijksuniversiteit Gent* **55**, 1007-1014.
- HERMANN M, MAIER F, MASROOR A, HIRTH S, PFITZNER AJP, PFITZNER UM.** 2013. The *Ara-bidopsis* NIMIN proteins affect NPR1 differentially. *Frontiers in Plant Science* **4**, 1-15.
- HERMS S, SEEHAUS K, KOEHLE H, CONRATH U.** 2002. A strobilurin fungicide enhances the resistance of tobacco against tobacco mosaic virus and *Pseudomonas syringae* pv *tabaci*. *Plant Physiology* **130**, 120-127.
- HERTOG MGL, HOLLMAN PCH, KATAN MB, KROMHOUT D.** 1993. Intake of potentially anticarcinogenic flavonoids and their determinants in adults in The Netherlands. *Nutrition and Cancer* **20**, 21-29.
- HERTOG MGL, HOLLMAN PCH, KATAN MB.** 1992. Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in The Netherlands. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **40**, 2379-2383.
- HEß D.** 2008. *Pflanzenphysiologie*. Stuttgart: Ulmer.

- HIRASAWA M, TAKADA K.** 2004. Multiple effects of green tea catechin on the antifungal activity of antimycotics against *Candida albicans*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **53**, 225-229.
- HOFFMANN GM, SCHMUTTERER H.** 1999. Parasitäre Krankheiten und Schädlinge an landwirtschaftlichen Nutzpflanzen. Stuttgart: Ulmer.
- HOLLÄNDER-CZYTKO H, GRABOWSKI J, SANDORF I, WECKERMANN K, WEILER EW.** 2005. Tocopherol content and activities of tyrosine aminotransferase and cysteine lyase in *Arabidopsis* under stress conditions. *Journal of Plant Physiology* **162**, 767-770.
- HOLLOMON DW.** 2015. Fungicide resistance: 40 years on and still a major problem. In: ISHII H, HOLLOMON DW, Hrsg. Fungicide resistance in plant pathogens. Principles and a guide to practical management. Tokyo Heidelberg New York Dordrecht London: Springer Japan, 3-11.
- HOSSAIN MA, NAKANO Y, ASADA K.** 1984. Monodehydroascorbate reductase in spinach chloroplasts and its participation in regeneration of ascorbate for scavenging hydrogen peroxide. *Plant and Cell Physiology* **25**, 385-395.
- HÜCKELHOVEN R, DECHERT C, TRUJILLO M, KOGEL KH.** 2001. Differential expression of putative cell death regulator genes in near-isogenic, resistant and susceptible barley lines during interaction with the powdery mildew fungus. *Plant Molecular Biology* **47**, 739-748.
- HÜCKELHOVEN R, FODOR J, PREIS C, KOGEL KH.** 1999. Hypersensitive cell death and papilla formation in barley attacked by the powdery mildew fungus are associated with hydrogen peroxide but not with salicylic acid accumulation. *Plant Physiology* **119**, 1251-1260.
- HÜCKELHOVEN R, KOGEL KH.** 1998. Tissue-specific superoxide generation at interaction sites in resistant and susceptible near-isogenic barley lines attacked by the powdery mildew fungus (*Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*). *Molecular Plant-Microbe Interactions* **11**, 292-300.
- HÜCKELHOVEN R, KOGEL KH.** 2003. Reactive oxygen intermediates in plant-microbe interactions: Who is who in powdery mildew resistance? *Planta* **216**, 891-902.
- HÜCKELHOVEN R.** 2007. Cell wall-associated mechanisms of disease resistance and susceptibility. *Annual Review of Phytopathology* **45**, 101-127.
- HUSSAIN F, AHMAD B, HAMEED I, DASTAGIR G, SANALLAH P, AZAM S.** 2010. Antibacterial, antifungal and insecticidal activities of some selected medicinal plants of polygonaceae. *African Journal of Biotechnology* **9**, 5032-5036.
- IMA – International Mycological Association.** 2016. MycoBankDatabase. Fungal Databases, Nomenclature & Species Banks. url: http://www.mycobank.org/Biolomics.aspx?Table=Mycobank&MycoBankNr_=119974 (06.02.2018).
- JACOBS S.** 2013. Molekulare Analyse der kompatiblen Interaktion von *Piriformospora indica* mit *Arabidopsis thaliana*. Dissertation, Justus-Liebig-Universität Gießen.
- JACOBSON ES, TINNELL SB.** 1993. Antioxidant function of fungal melanin. *Journal of Bacteriology* **175**, 7102-7104.
- JAROSCH B, KOGEL KH, SCHAFFRATH U.** 1999. The ambivalence of the barley *mlo* locus: Mutations conferring resistance against powdery mildew (*Blumeria graminis* f. sp. *hordei*) enhance susceptibility to the rice blast fungus *Magnaporthe grisea*. *Molecular Plant-Microbe Interactions* **12**, 508-514.
- JIRAGE D, TOOTLE TL, REUBER TL, FROST LN, FEYS BJ, PARKER JE, AUSUBEL FM, GLAZE BROOK J.** 1999. *Arabidopsis thaliana* *PAD4* encodes a lipase-like gene that is important for salicylic acid signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **96**, 13583-13588.

- JOHANSSON ON, FAHLBERG P, KARIMI E, NILSSON AK, ELLERSTRÖM M, ANDERSSON MX.** 2014. Redundancy among phospholipase D isoforms in resistance triggered by recognition of the *Pseudomonas syringae* effector AvrRpm1 in *Arabidopsis thaliana*. *Frontiers in Plant Science* **5**, 639.
- JONES JDG, DANGL JL.** 2006. The plant immune system. *Nature* **444**, 323-329.
- JØRGENSEN IH.** 1992. Discovery, characterization and exploitation of Mlo powdery mildew resistance in barley. *Euphytica* **63**, 141-152.
- JUPE J, STAM R, HOWDEN AJM, MORRIS JA, ZHANG R, HEDLEY PE, HUITEMA E.** 2013. *Phytophthora capsici*-tomato interaction features dramatic shifts in gene expression associated with a hemi-biotrophic lifestyle. *Genome Biology* **14**, 1-18.
- KABRODT K.** 2006. Analytische und funktionelle Charakterisierung von Polyphenolen aus *Rheum* spp. Dissertation, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg.
- KÄHKÖNEN MP, HOPIA AI, VUORELA HJ, RAUHA JP, PIHLAJA K, KUJALA TS, HEINONEN M.** 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **47**, 3954-3962.
- KANWAL Q, HUSSAIN I, LATIF SIDDIQUI H, JAVAID A.** 2010. Antifungal activity of flavonoids isolated from mango (*Mangifera indica* L.) leaves. *Natural Product Research* **24**, 1907-1914.
- KASHIWADA Y, NONAKA GI, NISHIOKA I, NISHIZAWA M, YAMAGISHI T.** 1988. Studies on rhubarb (*Rhei Rhizoma*). XIV. Isolation and characterization of stilbene glycosides from chinese rhubarb. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* **36**, 1545-1549.
- KASHIWADA Y, NONAKA GI, NISHIOKA I.** 1984. Studies on rhubarb (*Rhei Rhizoma*). VI. Isolation and characterization of stilbenes. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* **32**, 3501-3517.
- KAUFFMANN S, LEGRAND M, GEOFFROY P, FRITIG B.** 1987. Biological function of 'pathogenesis-related' proteins: Four PR proteins of tobacco have 1,3- β -glucanase activity. *The EMBO Journal* **6**, 3209-3212.
- KAUL R.** 1996. Pflanzliche Procyanidine. Vorkommen, Klassifikation und pharmakologische Wirkungen. *Pharmazie in unserer Zeit* **25**, 175-185.
- KAUSS H, THEISINGER-HINKEL E, MINDERMAN R, CONRATH U.** 1992. Dichloroisonicotinic and salicylic acid, inducers of systemic acquired resistance, enhance fungal elicitor responses in parsley cells. *The Plant Journal* **2**, 655-660.
- KESSMANN H, STAUB T, HOFMAN C, MAETZKE T, HERZOG J, WARD E, UKNES S, RYALS J.** 1994. Induction of systemic acquired disease resistance in plants by chemicals. *Annual Review of Phytopathology* **32**, 439-459.
- KHAN SA, AHMAD A, KHAN MI, YUSUF M, SHAHID M, MANZOOR N, MOHAMMAD F.** 2012. Antimicrobial activity of wool yarn dyed with *Rheum emodi* L. (Indian Rhubarb). *Dyes and Pigments* **95**, 206-214.
- KIM DS, HWANG BK.** 2014. An important role of the pepper phenylalanine ammonia-lyase gene (*PAL1*) in salicylic acid-dependent signalling of the defence response to microbial pathogens. *Journal of Experimental Botany* **65**, 2295-2306.
- KIM JC, CHOI GJ, LEE SW, KIM JS, CHUNG KY, CHO KY.** 2004. Screening extracts of *Achyranthes japonica* and *Rumex crispus* for activity against various plant pathogenic fungi and control of powdery mildew. *Pest Management Science* **60**, 803-808.
- KIM YS, DIXON EW, VINCELLI P, FARMAN ML.** 2003. Field resistance to strobilurin (QoI) fungicides in *Pyricularia grisea* caused by mutations in the mitochondrial cytochrome b gene. *Phytopathology* **93**, 891-900.

- KING R, Hrsg.** 2014. Crop production technology: The effect of the loss of plant protection products on UK agriculture and horticulture and the wider economy. The Andersons Centre, 1-67. url: <https://www.nfuonline.com/assets/37178> (01.01.2018).
- KIRK PM, CANNON PF, MINTER DW, STALPERS JA.** 2008. Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi. Wallingford: CABI Europe.
- KLAPHECK S, ZIMMER I, COSSE H.** 1990. Scavenging of hydrogen peroxide in the endosperm of *Ricinus communis* by ascorbate peroxidase. *Plant and Cell Physiology* **31**, 1005-1013.
- KLARZYNSKI O, PLESSE B, JOUBERT JM, YVIN JC, KOPP M, KLOAREG B, FRITIG B.** 2000. Linear β -1,3 glucans are elicitors of defense responses in tobacco. *Plant Physiology* **124**, 1027-1037.
- KLENKE F, SCHOLLER M.** 2015. Pflanzenparasitäre Kleinpilze. Bestimmungsbuch für Brand-, Rost-, Mehltau-, Flagellatenpilze und Wucherlingsverwandte in Deutschland, Österreich, der Schweiz und Südtirol. Berlin Heidelberg: Springer.
- KLESSIG DF, CHOI HW, DEMPSEY DMA.** 2018. Systemic acquired resistance and salicylic acid: Past, present, and future. *Molecular Plant-Microbe Interactions* **31**, 871-888.
- KNÖRZER OC, DURNER J, BÖGER P.** 1996. Alterations in the antioxidative system of suspension-cultured soybean cells (*Glycine max*) induced by oxidative stress. *Physiologia Plantarum* **97**, 388-396.
- KO SK.** 2000. A new stilbene diglycoside from *Rheum undulatum*. *Archives of Pharmacal Research* **23**, 159-162.
- KOECK M, HARDHAM AR, DODDS PN.** 2011. The role of effectors of biotrophic and hemibiotrophic fungi in infection. *Cellular Microbiology* **13**, 1849-1857.
- KOGA H, BUSHNELL WR, ZEYEN RJ.** 1990. Specificity of cell type and timing of events associated with papilla formation and the hypersensitive reaction in leaves of *Hordeum vulgare* attacked by *Erysiphe graminis* f.sp. *hordei*. *Canadian Journal of Botany* **68**, 2344-2352.
- KOGEL KH, BECKHOVE U, JAROSCH B, HÜCKELHOVEN R, SCHIFFER R, BEBER K, LANGEN G, KORELL M.** 1998. Die Pflanze wehrt sich selbst: Resistenzaktivierung in Kulturpflanzen. *Spiegel der Forschung* **15**, 54-61.
- KOHLER A, SCHWINDLING S, CONRATH U.** 2002. Benzothiadiazole-induced priming for potentiated responses to pathogen infection, wounding, and infiltration of water into leaves requires the *NPR1/NIM1* gene in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* **128**, 1046-1056.
- KOMATSU K, NAGAYAMA Y, TANAKA K, LING Y, BASNET P, MESELHY MR.** 2006. Development of a high performance liquid chromatographic method for systematic quantitative analysis of chemical constituents in rhubarb. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* **54**, 941-947.
- KONSTANTINIDOU-DOLTSINIS S, SCHMITT A.** 1998. Impact of treatment with plant extracts from *Reynoutria sachalinensis* (F. Schmidt) Nakai on intensity of powdery mildew severity and yield in cucumber under high disease pressure. *Crop Protection* **17**, 649-656.
- KRAFCZYK N.** 2008. Isolierung, Strukturaufklärung und Eigenschaften von polyphenolischen Verbindungen aus *Aspalathus linearis* und *Rheum rhaponticum*. Dissertation, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg.
- KREIS W.** 2010. Prinzipien des Sekundärstoffwechsels. In: HÄNSEL R, STICHER O, Hrsg. *Pharmakognosie – Phytopharmazie*. Heidelberg: Springer, 3-29.

- KRONTHALER FX.** 2009. Untersuchungen zur *in-vitro*-Antibiotikaempfindlichkeit aerober Bakterien beim Wirtschaftsgeflügel mittels Agardiffusionstest und Bouillon-Mikrodilutionsmethode. Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität München.
- KÜCK U, NOWROUSIAN M, HOFF B, ENGH I.** 2009. Schimmelpilze: Lebensweise, Nutzen, Schaden, Bekämpfung. Berlin Heidelberg: Springer.
- KUHL JC, DEBOER VL.** 2008. Genetic diversity of rhubarb cultivars. *Journal of the American Society for Horticultural Science* **133**, 587-592.
- KUMAR M, YADAV V, TUTEJA N, JOHRI AK.** 2009. Antioxidant enzyme activities in maize plants colonized with *Piriformospora indica*. *Microbiology* **155**, 780-790.
- KUMAR SN, NAMBISAN B.** 2014. Antifungal activity of diketopiperazines and stilbenes against plant pathogenic fungi *in vitro*. *Applied Biochemistry and Biotechnology* **172**, 741-754.
- KUNKEL BN, BROOKS DM.** 2002. Cross talk between signaling pathways in pathogen defense. *Current Opinion in Plant Biology* **5**, 325-331.
- LAMB C, DIXON RA.** 1997. The oxidative burst in plant disease resistance. *Annual Review of Plant Biology* **48**, 251-275.
- LANCASHIRE PD, BLEIHOLDER H, BOOM TVD, LANGELÜDDEKE P, STAUSS R, WEBER E, WITZENBERGER A.** 1991. A uniform decimal code for growth stages of crops and weeds. *Annals of Applied Biology* **119**, 561-601.
- Land24 GmbH.** 2018. Pflanzenschutzmittel: PROPERTY 180 SC. url: <http://www.raif-eisen.com/php/pflanzenschutzmittel/detail/007475-00> (03.02.2018).
- LANGCAKE P, PRYCE RJ.** 1976. The production of resveratrol by *Vitis vinifera* and other members of the Vitaceae as a response to infection or injury. *Physiological Plant Pathology* **9**, 77-86.
- LAWTON K, UKNES S, FRIEDRICH L, GAFFNEY T, ALEXANDER D, GOODMAN R, METRAUX JP, KESSMANN H, AHL GOY P, GUT RELLA M, WARD E, RYALS J.** 1993. The molecular biology of systemic acquired resistance. In: FRITIG B, LEGRAND M, Hrsg. Mechanisms of plant defense responses. *Developments in Plant Pathology*. Dordrecht: Springer, 422-432.
- LEADBEATER A, GISI U.** 2010. The challenges of chemical control of plant diseases. In: GISI U, CHET I, GULLINO ML, Hrsg. Recent developments in management of plant diseases. *Plant Pathology in the 21st Century*. Dordrecht: Springer, 3-17.
- LEADBEATER A.** 2015. Recent developments and challenges in chemical disease control. *Plant Protection Science* **51**, 163-169.
- LECKBAND G, LÖRZ H.** 1998. Transformation and expression of a stilbene synthase gene of *Vitis vinifera* L. in barley and wheat for increased fungal resistance. *Theoretical and Applied Genetics* **96**, 1004-1012.
- LEDERER B.** 2002. Die Regulation des antioxidativen Systems in höheren Pflanzen. Dissertation, Universität Konstanz.
- LEE J, RUDD JJ, MACIOSZEK VK, SCHEEL D.** 2004. Dynamic changes in the localization of MAPK cascade components controlling pathogenesis-related (*PR*) gene expression during innate immunity in parsley. *Journal of Biological Chemistry* **279**, 22440-22448.
- LEGRAND M, KAUFFMANN S, GEOFFROY P, FRITIG B.** 1987. Biological function of pathogenesis-related proteins: Four tobacco pathogenesis-related proteins are chitinases. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **84**, 6750-6754.
- LESEMANN SS, SCHIMPKE S, DUNEMANN F, DEISING HB.** 2006. Mitochondrial heteroplasmy for the cytochrome *b* gene controls the level of strobilurin resistance in the apple

- powdery mildew fungus *Podosphaera leucotricha* (Ell. & Ev.) E.S. Salmon. Journal of Plant Diseases and Protection **113**, 259-266.
- LESPINASSE Y, DUREL CE, LAURENS F, PARISI L, CHEVALIER M, PINET C.** 2000. A European project: D.A.R.E. – durable apple resistance in Europe (FAIR5 CT97-3898) durable resistance of apple to scab and powdery-mildew: One step more towards an environmental friendly orchard. Acta Horticulturae **1**, 197-200.
- LEV-YADUN S, KATZIR G, NE`EMAN G.** 2009. *Rheum palaestinum* (desert rhubarb), a self-irrigating desert plant. Naturwissenschaften **96**, 393-397.
- LfL – Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Hrsg.** 2005. Weizenkrankheiten: Diagnose- und Entscheidungshilfen zum Weizenmodell Bayern. LfL-Information, 1-14. url: https://www.lfl.bayern.de/mam/cms07/publikationen/daten/informationen/p_19962.pdf (29.12.2017).
- LfL – Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Hrsg.** 2010. Kulturanleitung für Medizinal-Rhabarber (*Rheum palmatum* und *R. officinale*) zur Produktion von Rhei radix bzw. der TCM-Droge Dahuang. LfL-Information, 1-16. url: https://www.lfl.bayern.de/mam/cms07/publikationen/daten/informationen/p_38228.pdf (26.12.2017).
- LIMMONGKON A, NOPPRANG P, CHAIKEANDEE P, SOMBOON T, WONGSHAYA P, PILAISANGSUREE V.** 2018. LC-MS/MS profiles and interrelationships between the anti-inflammatory activity, total phenolic content and antioxidant potential of Kalasin 2 cultivar peanut sprout crude extract. Food Chemistry **239**, 569-578.
- LINDERMAYR C, SELL S, MÜLLER B, LEISTER D, DURNER J.** 2010. Redox regulation of the NPR1-TGA1 system of *Arabidopsis thaliana* by nitric oxide. The Plant Cell **22**, 2894-2907.
- LIVAK KJ, SCHMITTGEN TD.** 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. Methods **25**, 402-408.
- LOAKE G, GRANT M.** 2007. Salicylic acid in plant defence – the players and protagonists. Current Opinion in Plant Biology **10**, 466-472.
- LU H, RATE DN, SONG JT, GREENBERG JT.** 2003. ACD6, a novel ankyrin protein, is a regulator and an effector of salicylic acid signaling in the *Arabidopsis* defense response. The Plant Cell **15**, 2408-2420.
- LU H.** 2009. Dissection of salicylic acid-mediated defense signaling networks. Plant Signaling & Behavior **4**, 713-717.
- MALAMY J, KLESSIG DF.** 1992. Salicylic acid and plant disease resistance. The Plant Journal **2**, 643-654.
- MAO G, MENG X, LIU Y, ZHENG Z, CHEN Z, ZHANG S.** 2011. Phosphorylation of a WRKY transcription factor by two pathogen-responsive MAPKs drives phytoalexin biosynthesis in *Arabidopsis*. The Plant Cell **23**, 1639-1653.
- MARTENS S, TEERI T, FORKMANN G.** 2002. Heterologous expression of dihydroflavonol 4-reductases from various plants. Federation of European Biochemical Societies Letters **531**, 453-458.
- MEHRABI R, ZHAO X, KIM Y, XU JR.** 2009. The cAMP signaling and MAP kinase pathways in plant pathogenic fungi. In: DEISING HB, Hrsg. Plant relationships. The mycota. Berlin Heidelberg: Springer, 157-172.
- MEIMOUN P, AMBARD-BRETTEVILLE F, COLAS-DES FRANCS-SMALL C, VALOT B, VIDAL J.** 2007. Analysis of plant phosphoproteins. Analytical Biochemistry **371**, 238-246.
- MEISSNER G.** 2013. Antifungale Wirkung von Wurzelextrakten aus *Rheum officinale* Baillon und Blattextrakten aus *Moringa oleifera* L. gegen phytopathogene Pilze. Bachelorarbeit, Hochschule Anhalt (Bernburg).

- MIEDANER T.** 2014. Kulturpflanzen: Botanik – Geschichte – Perspektiven. Berlin Heidelberg: Springer.
- MISHRA D, MISRA B.** 1973. Retardation of induced senescence of leaves from crop plants by benzimidazole and cytokinins. *Experimental Gerontology* **8**, 235-239.
- MITTLER R, VANDERAUWERA S, GOLLERY M, VAN BREUSEGEM F.** 2004. Reactive oxygen gene network of plants. *Trends in Plant Science* **9**, 490-498.
- MITTLER R, VANDERAUWERA S, SUZUKI N, MILLER G, TOGNETTI VB, VANDEPOELE K, GOLLERY M, SHULAEV V, VAN BREUSEGEM F.** 2011. ROS signaling: The new wave? *Trends in Plant Science* **16**, 300-309.
- MIYA A, ALBERT P, SHINYA T, DESAKI Y, ICHIMURA K, SHIRASU K, NARUSAKA Y, KAWAKAMI N, KAKU H, SHIBUYA N.** 2007. CERK1, a LysM receptor kinase, is essential for chitin elicitor signaling in *Arabidopsis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **104**, 19613-19618.
- MOLITOR A.** 2009. *Piriformospora indica*: Systemische Resistenz, Wachstumseffekte und Wechselwirkungen in der Wurzel : Molekularbiologische und morphologische Analysen der Interaktion des Endophyten mit Gerste (*Hordeum vulgare*) und *Arabidopsis thaliana*. Dissertation, Justus-Liebig-Universität Gießen.
- MORRIS SW, VERNOOIJ B, TITATARN S, STARRETT M, THOMAS S, WILTSE CC, FREDERIKSEN RA, BHANDHUFALCK A, HULBERT S, UKNES S.** 1998. Induced resistance responses in maize. *Molecular Plant-Microbe Interactions* **11**, 643-658.
- MULLINEAUX PM, RAUSCH T.** 2005. Glutathione, photosynthesis and the redox regulation of stress-responsive gene expression. *Photosynthesis Research* **86**, 459-474.
- MUR LAJ, KENTON P, ATZORN R, MIERSCH O, WASTERNAK C.** 2006. The outcomes of concentration-specific interactions between salicylate and jasmonate signaling include synergy, antagonism, and oxidative stress leading to cell death. *Plant Physiology* **140**, 249-262.
- NAKANO Y, ASADA K.** 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology* **22**, 867-880.
- NAVROT N, ROUHIER N, GELHAYE E, JACQUOT JP.** 2007. Reactive oxygen species generation and antioxidant systems in plant mitochondria. *Physiologia Plantarum* **129**, 185-195.
- NAWRATH C, HECK S, PARINTHAWONG N, MÉTRAUX JP.** 2002. EDS5, an essential component of salicylic acid-dependent signaling for disease resistance in *Arabidopsis*, is a member of the MATE transporter family. *The Plant Cell* **14**, 275-286.
- NAWRATH C, MÉTRAUX JP.** 1999. Salicylic acid induction-deficient mutants of *Arabidopsis* express *PR-2* and *PR-5* and accumulate high levels of camalexin after pathogen inoculation. *The Plant Cell* **11**, 1393-1404.
- NGUYEN DMC, SEO DJ, LEE HB, KIM IS, KIM KY, PARK RD, JUNG WJ.** 2013. Antifungal activity of gallic acid purified from *Terminalia nigrovenulosa* bark against *Fusarium solani*. *Microbial Pathogenesis* **56**, 8-15.
- NIDERMAN T, GENETET I, BRUYÈRE T, GEES R, STINTZI A, LEGRAND M, FRITIG B, MÖSINGER E.** 1995. Pathogenesis-related PR-1 proteins are antifungal (isolation and characterization of three 14-kilodalton proteins of tomato and of a basic PR-1 of tobacco with inhibitory activity against *Phytophthora infestans*). *Plant Physiology* **108**, 17-27.
- NOCTOR G, REICHHELD JP, FOYER CH.** 2017. ROS-related redox regulation and signaling in plants. *Seminars in Cell and Developmental Biology* **80**, 3-12.
- O'DONNELL PJ, JONES JB, ANTOINE FR, CIARDI J, KLEE HJ.** 2001. Ethylene-dependent salicylic acid regulates an expanded cell death response to a plant pathogen. *The Plant Journal* **25**, 315-323.

- OERKE EC, DEHNE HW, SCHÖNBECK F, WEBER A. 1994. Crop production and crop protection: Estimated losses in major food and cash crops. Amsterdam: Elsevier.
- OERKE EC. 2006. Crop losses to pests. *Journal of Agricultural Science* **144**, 31-43.
- OLIVEIRA-GARCIA E, DEISING HB. 2013. Infection structure-specific expression of β -1, 3-glucan synthase is essential for pathogenicity of *Colletotrichum graminicola* and evasion of β -glucan-triggered immunity in maize. *The Plant Cell* **25**, 2356-2378.
- OLSEN KM, HEHN A, JUGDE H, SLIMESTAD R, LARBAT R, BOURGAUD F, LILLO C. 2010. Identification and characterisation of CYP75A31, a new flavonoid 3'5'-hydroxylase, isolated from *Solanum lycopersicum*. *BMC Plant Biology* **10**, 1-12.
- ORHAN DD, ÖZÇELİK B, ÖZGEN S, ERGUN F. 2010. Antibacterial, antifungal, and antiviral activities of some flavonoids. *Microbiological Research* **165**, 496-504.
- PADMANABHAN SY. 1973. The great Bengal famine. *Annual Review of Phytopathology* **11**, 11-24.
- PARISY V, POINSSOT B, OWSIANOWSKI L, BUCHALA A, GLAZEBROOK J, MAUCH F. 2006. Identification of PAD2 as a γ -glutamylcysteine synthetase highlights the importance of glutathione in disease resistance of *Arabidopsis*. *The Plant Journal* **49**, 159-172.
- PARK SW, KAIMOYO E, KUMAR D, MOSHER S, KLESSIG DF. 2007. Methyl salicylate is a critical mobile signal for plant systemic acquired resistance. *Science* **318**, 113-116.
- PATNAIK D, KHURANA P. 2001. Germins and germin like proteins: An overview. *Indian Journal of Experimental Biology* **39**, 191-200.
- PATYKOWSKI J, URBANEK H. 2003. Activity of enzymes related to H₂O₂ generation and metabolism in leaf apoplastic fraction of tomato leaves infected with *Botrytis cinerea*. *Journal of Phytopathology* **151**, 153-161.
- PEDRAS MSC, AHIAHONU PWK. 2005. Metabolism and detoxification of phytoalexins and analogues by phytopathogenic fungi. *Phytochemistry* **66**, 391-411.
- PENNINCKX IAMA, EGGERMONT K, TERRAS FRG, THOMMA BPHJ, DE SAMBLANX GW, BUCHALA A, MÉTRAUX JP, MANNERS JM, BROEKAERT WF. 1996. Pathogen-induced systemic activation of a plant defensin gene in *Arabidopsis* follows a salicylic acid-independent pathway. *The Plant Cell* **8**, 2309-2323.
- PETERSEN M, BRODERSEN P, NAESTED H, ANDREASSON E, LINDHART U, JOHANSEN B, NIELSEN HB, LACY M, AUSTIN MJ, PARKER JE, SHARMA SB, KLESSIG DF, MARTIENSSEN R, MATTSSON O, JENSEN AB, MUNDY J. 2000. *Arabidopsis* MAP kinase 4 negatively regulates systemic acquired resistance. *Cell* **103**, 1111-1120.
- PEZET R, GINDRO K, VIRET O, RICHTER H. 2004a. Effects of resveratrol, viniferins and pterostilbene on *Plasmopara viticola* zoospore mobility and disease development. *Vitis* **43**, 145-148.
- PEZET R, GINDRO K, VIRET O, SPRING JL. 2004b. Glycosylation and oxidative dimerization of resveratrol are respectively associated to sensitivity and resistance of grapevine cultivars to downy mildew. *Physiological and Molecular Plant Pathology* **65**, 297-303.
- PHAM DQ, BA DT, DAO NT, CHOI GJ, VU TT, KIM JC, GIANG TPL, VU HD, DANG QL. 2017. Antimicrobial efficacy of extracts and constituents fractionated from *Rheum tanguticum* Maxim. ex Balf. rhizomes against phytopathogenic fungi and bacteria. *Industrial Crops and Products* **108**, 442-450.
- PIETERSE CMJ, VAN WEES SCM, HOFFLAND E, VAN PELT JA, VAN LOON LC. 1996. Systemic resistance in *Arabidopsis* induced by biocontrol bacteria is independent of salicylic acid accumulation and pathogenesis-related gene expression. *The Plant Cell* **8**, 1225-1237.

- PITZSCHKE A, SCHIKORA A, HIRT H.** 2009. MAPK cascade signalling networks in plant defence. *Current Opinion in Plant Biology* **12**, 421-426.
- POCIECHA E, JANEZKO Z, JANEZKO A.** 2014. Resveratrol stimulates phenolic metabolism and PSII efficiency in wheat infected with powdery mildew. *Journal of Plant Interactions* **9**, 494-503.
- PRIGGE G, GERHARD M, HABERMEYER J.** 2004. Pilzkrankheiten und Schadsymptome im Getreidebau. Münster: Landwirtschaftsverlag GmbH.
- RAO ASVC, REDDY AR.** 2008. Glutathione reductase: A putative redox regulatory system in plant cells. In: KHAN NA, SINGH S, UMAR S, Hrsg. Sulfur assimilation and abiotic stress in plants. Berlin Heidelberg: Springer, 111-147.
- RAUSCHER M, ÁDÁM AL, WIRTZ S, GUGGENHEIM R, MENDGEN K, DEISING HB.** 1999. PR-1 protein inhibits the differentiation of rust infection hyphae in leaves of acquired resistant broad bean. *The Plant Journal* **19**, 625-633.
- REN D, LIU Y, YANG KY, HAN L, MAO G, GLAZEBROOK J, ZHANG S.** 2008. A fungal-responsive MAPK cascade regulates phytoalexin biosynthesis in *Arabidopsis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **105**, 5638-5643.
- RICHTER J, BALTRUSCHAT H, KABRODT K, SCHELLENBERG I.** 2011. Impact of arbuscular mycorrhiza on the St. John's wort (*Hypericum perforatum*) wilt disease induced by *Colletotrichum cf. gloeosporioides*. *Journal of Plant Diseases and Protection* **118**, 109-118.
- RICHTER J.** 2000. Entwicklung einer dünnschichtchromatographischen Trennmethode für Gerbstoffe aus Rhabarberwurzel unter Berücksichtigung der AMD-Technik. Diplomarbeit, Hochschule Anhalt (Bernburg).
- RICHTER J.** 2007. Analytische Untersuchungen zum Einfluss der Mykorrhizierung auf Ertrag, Inhaltsstoffzusammensetzung und Pathogentoleranz von Heil- und Gewürzpflanzen. Dissertation, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg.
- RIDOUT CJ.** 2009. Profiles in pathogenesis and mutualism: Powdery mildews. In: DEISING HB, Hrsg. Plant relationships. The mycota. Berlin Heidelberg: Springer, 51-68.
- RODRIGUEZ RJ, HENSON J, VAN VOLKENBURGH E, HOY M, WRIGHT L, BECKWITH F, KIM YO, REDMAN RS.** 2008. Stress tolerance in plants via habitat-adapted symbiosis. *The ISME Journal* **2**, 404-416.
- ROETSCHI A, SI-AMMOUR A, BELBAHRI L, MAUCH F, MAUCH-MANI B.** 2001. Characterization of an *Arabidopsis-Phytophthora* pathosystem: Resistance requires a functional *PAD2* gene and is independent of salicylic acid, ethylene and jasmonic acid signaling. *The Plant Journal* **28**, 293-305.
- RUPP S, PLESKEN C, RUMSEY S, DOWLING M, SCHNABEL G, WEBER RWS, HAHN M.** 2017. *Botrytis fragariae*, a new species causing gray mold on strawberries, shows high frequencies of specific and efflux-based fungicide resistance. *Applied and Environmental Microbiology* **83**, AEM-00269.
- RUPPRICH N, HILDEBRAND H, KINDL H.** 1980. Substrate specificity *in vivo* and *in vitro* in the formation of stilbenes. Biosynthesis of rhaponticin. *Archives of Biochemistry and Biophysics* **200**, 72-78.
- RUSHTON PJ, SOMSSICH IE, RINGLER P, SHEN QJ.** 2010. WRKY transcription factors. *Trends in Plant Science* **15**, 247-258.
- RYALS JA, NEUENSCHWANDER UH, WILLITS MG, MOLINA A, STEINER HY, HUNT MD.** 1996. Systemic acquired resistance. *The Plant Cell* **8**, 1809-1819.

- SAKANAKA S, AIZAWA M, KIM M, YAMAMOTO T.** 1996. Inhibitory effects of green tea polyphenols on growth and cellular adherence of an oral bacterium, *Porphyromonas gingivalis*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* **60**, 745-749.
- SAKIHAMA Y, MANO J, SANO S, ASADA K, YAMASAKI H.** 2000. Reduction of phenoxyl radicals mediated by monodehydroascorbate reductase. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **279**, 949-954.
- SAUERMOST R, FREUDIG D, Hrsg.** 1999. *Lexikon der Biologie* (Bd. 1). Heidelberg: Spektrum.
- SCANDALIOS JG, GUAN L, POLIDOROS AN.** 1997. Catalases in plants: Gene structure, properties, regulation, and expression. In: SCANDALIOS JG, Hrsg. *Oxidative stress and the molecular biology of antioxidants defenses*. New York, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 343-406.
- SCHENK PM, KAZAN K, WILSON I, ANDERSON JP, RICHMOND T, SOMERVILLE SC, MANNERS JM.** 2000. Coordinated plant defense responses in *Arabidopsis* revealed by microarray analysis. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **97**, 11655-11660.
- SCHIER W.** 1999. Verfälschungen von Arzneidrogen. In: HÄNSEL R, STICHER O, STEINEGGER E, Hrsg. *Pharmakognosie – Phytopharmazie*. Berlin Heidelberg: Springer, 1319-1334.
- SCHLAEPPI K, BODENHAUSEN N, BUCHALA A, MAUCH F, REYMOND P.** 2008. The glutathione-deficient mutant *pad2-1* accumulates lower amounts of glucosinolates and is more susceptible to the insect herbivore *Spodoptera littoralis*. *The Plant Journal* **55**, 774-786.
- SCHLÖSSER E.** 1997. *Allgemeine Phytopathologie*. Stuttgart: Thieme.
- SCHNEIDER M, SCHWEIZER P, MEUWLY P, MÉTRAUX JP.** 1996. Systemic acquired resistance in plants. *International Review of Cytology* **168**, 303-340.
- SCHOLZ E.** 1994. Pflanzliche Gerbstoffe. *Pharmakologie und Toxikologie. Deutsche Apotheker Zeitung* **134**, 3167-3179.
- SCHWARZ S, BÖTTNER A, HAFEZ HM, KEHRENBERG C, KIETZMANN M, KLARMANN D, KLEIN G, KRABISCH P, KÜHN T, LUHOFER G, RICHTER A, TRAEGER W, WALDMANN KH, WALLMANN J, WERCKENTHIN CS.** 2003. Empfindlichkeitsprüfung bakterieller Infektionserreger von Tieren gegenüber antimikrobiellen Wirkstoffen: Methoden zur *in-vitro* Empfindlichkeitsprüfung und deren Eignung in Hinblick auf die Erarbeitung therapeutisch nutzbarer Ergebnisse. *Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift* **116**, 353-361.
- SERGEANT T, KOHNEN S, JOUREZ B, BEAUVE C, SCHNEIDER YJ, VINCKE C.** 2014. Characterization of black locust (*Robinia pseudoacacia* L.) heartwood extractives: Identification of resveratrol and piceatannol. *Wood Science and Technology* **48**, 1005-1017.
- SHARMA P, JHA AB, DUBEY RS, PESSARAKLI M.** 2012. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *Journal of Botany* **2012**, 1-26.
- SHARMA R, SAHOO A, DEVENDRAN R, JAIN M.** 2014. Over-expression of a rice tau class glutathione S-transferase gene improves tolerance to salinity and oxidative stresses in *Arabidopsis*. *PLOS ONE* **9**, e92900.
- SHETTY NP, JENSEN JD, KNUDSEN A, FINNIE C, GESHI N, BLENNOW A, COLLINGE DB, JØRGENSEN HJL.** 2009. Effects of β -1,3-glucan from *Septoria tritici* on structural defence responses in wheat. *Journal of Experimental Botany* **60**, 4287-4300.
- SHI Z, ZHANG Y, MAXIMOVA SN, GUILTINAN MJ.** 2013. TcNPR3 from *Theobroma cacao* functions as a repressor of the pathogen defense response. *BMC Plant Biology* **13**, 1-12.

- SHINE MB, XIAO X, KACHROO P, KACHROO A.** 2018. Signaling mechanisms underlying systemic acquired resistance to microbial pathogens. *Plant Science* (In Press), doi: 10.1016/j.plantsci.2018.01.001.
- SIDDHURAJU P, BECKER K.** 2003. Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents from three different agroclimatic origins of Drumstick Tree (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51**, 2144-2155.
- SIEROTZKI H, WULLSCHLEGER J, GISI U.** 2000. Point mutation in cytochrome *b* gene conferring resistance to strobilurin fungicides in *Erysiphe graminis* f. sp. *tritici* field isolates. *Pesticide Biochemistry and Physiology* **68**, 107-112.
- Sigma-Aldrich.** 2018a. Phenol. url: https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigma-aldrich/structure4/173/mfcd00002143.eps/_jcr_content/renditions/mfcd00002143-medium.png (03.01.2018).
- Sigma-Aldrich.** 2018b. Piceid. url: https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigma-aldrich/structure7/006/s_____15721.eps/_jcr_content/renditions/s_____15721-large.png (27.10.2018).
- SigmaPlot.** 2010. Benutzerhandbuch Teil 2 – Statistik. url: http://www.systat.de/PDFs/SigmaPlot_Statistik.pdf (03.02.2018).
- SILIPO A, ERBS G, SHINYA T, DOW JM, PARRILLI M, LANZETTA R, SHIBUYA N, NEWMAN MA, MOLINARO A.** 2010. Glycoconjugates as elicitors or suppressors of plant innate immunity. *Glycobiology* **20**, 406-419.
- SINCLAIR JB, DHINGRA OD.** 1995. Basic plant pathology methods. Boca Raton, Florida: CRC Press.
- SMIRNOFF N.** 2000. Ascorbic acid: Metabolism and functions of a multifaceted molecule. *Current Opinion in Plant Biology* **3**, 229-235.
- SMIRNOFF N.** 2005. Ascorbate, tocopherol and carotenoids: Metabolism, pathway engineering and functions. In: SMIRNOFF N, Hrsg. Antioxidants and reactive oxygen species in plants. Oxford: Blackwell Publishing Ltd., 53-86.
- SOMMERMANN L.** 2015. Untersuchungen zur antifungalen Wirkung der Wurzelextrakte und Fraktionen aus *Rheum rhabarbarum* L. gegenüber dem Pflanzenpathogen *Phytophthora capsici* Leonian am Modellsystem Tomate. Masterarbeit, Hochschule Anhalt (Bernburg).
- SPANIC V, VULETIC MV, ABICIC I, MARCEK T.** 2017. Early response of wheat antioxidant system with special reference to Fusarium head blight stress. *Plant Physiology and Biochemistry* **115**, 34-43.
- SPOEL SH, JOHNSON JS, DONG X.** 2007. Regulation of tradeoffs between plant defences against pathogens with different lifestyles. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **104**, 18842-18847.
- STASWICK PE, TIRYAKI I.** 2004. The oxylipin signal jasmonic acid is activated by an enzyme that conjugates it to isoleucine in *Arabidopsis*. *The Plant Cell* **16**, 2117-2127.
- STEIN JM, SCHUBERT-ZSILAVECZ M, STEINHILBER D, STARK H, WERZ O.** 2006. Wie sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe uns vor Krankheiten schützen. Von molekularen Wirkmechanismen zu neuen Medikamenten. *Forschung Frankfurt* **4**, 32-38.
- STEVENSON PC, HAWARE MP.** 1999. Maackiain in *Cicer bijugum* Rech. f. associated with resistance to *Botrytis* grey mould. *Biochemical Systematics and Ecology* **27**, 761-767.
- STICHER O.** 1999. Phenolische Verbindungen. In: HÄNSEL R, STICHER O, STEINEGGER E, Hrsg. Pharmakognosie – Phytopharmazie. Berlin Heidelberg: Springer, 771-934.

- STICHER O.** 2010. Phenolische Verbindungen. In: HÄNSEL R, STICHER O, Hrsg. Pharmakognosie – Phytopharmazie. Heidelberg: Springer, 1051-1215.
- SUAREZ RODRIGUEZ MC, PETERSEN M, MUNDY J.** 2010. Mitogen-activated protein kinase signaling in plants. *Annual Review of Plant Biology* **61**, 621-649.
- SURESH BABU K, SRINIVAS PV, PRAVEEN B, HARA KISHORE K, SURYANARAYANA MURTY U, MADHUSUDANA RAO J.** 2003. Antimicrobial constituents from the rhizomes of *Rheum emodi*. *Phytochemistry* **62**, 203-207.
- SWANSON J, KEARNEY B, DAHLBECK D, STASKAWICZ B.** 1988. Cloned avirulence gene of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* complements spontaneous race-change mutants. *Molecular Plant-Microbe Interactions* **1**, 5-9.
- SWIDERSKI MR, BIRKER D, JONES JD.** 2009. The TIR domain of TIR-NB-LRR resistance proteins is a signaling domain involved in cell death induction. *Molecular Plant-Microbe Interactions* **22**, 157-165.
- TAMELING WIL, TAKKEN FLW.** 2008. Resistance proteins: Scouts of the plant innate immune system. *European Journal of Plant Pathology* **121**, 243-255.
- TAO S, ZHANG S, TSAO R, CHARLES MT, YANG R, KHANIZADEH S.** 2010. *In vitro* antifungal activity and mode of action of selected polyphenolic antioxidants on *Botrytis cinerea*. *Archives of Phytopathology and Plant Protection* **43**, 1564-1578.
- TEUSCHER E.** 1990. Sekundärstoffe – Favoriten bei der Suche nach neuen Arzneistoffen? *Deutsche Apotheker Zeitung* **130**, 1627-1633.
- THOMPSON GD, MATTEN S, DENHOLM I, WHALON ME, LEONARD P.** 2008. The politics of resistance management: Working towards pesticide resistance management globally. In: WHALON ME, MOTA-SANCHEZ D, HOLLINGWORTH RM, Hrsg. Global pesticide resistance in arthropods. Wallingford (Oxfordshire): CAB International, 146-165.
- TON J, DE VOS M, ROBBEN C, BUCHALA A, MÉTRAUX JP, VAN LOON LC, PIETERSE CMJ.** 2002. Characterization of *Arabidopsis* enhanced disease susceptibility mutants that are affected in systemically induced resistance. *The Plant Journal* **29**, 11-21.
- TRUJILLO M, KOGEL KH, HÜCKELHOVEN R.** 2004. Superoxide and hydrogen peroxide play different roles in the nonhost interaction of barley and wheat with inappropriate formae speciales of *Blumeria graminis*. *Molecular Plant-Microbe Interactions* **17**, 304-312.
- TSUDA K, KATAGIRI F.** 2010. Comparing signaling mechanisms engaged in pattern-triggered and effector-triggered immunity. *Current Opinion in Plant Biology* **13**, 459-465.
- TSUDA K, SATO M, GLAZEBROOK J, COHEN JD, KATAGIRI F.** 2008. Interplay between MAMP-triggered and SA-mediated defense responses. *The Plant Journal* **53**, 763-775.
- TURNER JG, ELLIS C, DEVOTO A.** 2002. The jasmonate signal pathway. *The Plant Cell* **14** (Supplement 2002), S153-S164.
- USHIMARU T, NAKAGAWA T, FUJIOKA Y, DAICHO K, NAITO M, YAMAUCHI Y, NONAKA H, AMAKO K, YAMAWAKI K, MURATA N.** 2006. Transgenic *Arabidopsis* plants expressing the rice dehydroascorbate reductase gene are resistant to salt stress. *Journal of Plant Physiology* **163**, 1179-1184.
- VAN HULTEN M, PELSER M, VAN LOON LC, PIETERSE CMJ, TON J.** 2006. Costs and benefits of priming for defense in *Arabidopsis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **103**, 5602-5607.
- VAN LOON LC, ANTONIW JF.** 1982. Comparison of the effects of salicylic acid and ethephon with virus-induced hypersensitivity and acquired resistance in tobacco. *Netherlands Journal of Plant Pathology* **88**, 237-256.
- VAN LOON LC, BAKKER PAHM, PIETERSE CMJ.** 1998. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annual Review of Phytopathology* **36**, 453-483.

- VAN LOON LC, PIERPOINT WS, BOLLER T, CONEJERO V.** 1994. Recommendations for naming plant pathogenesis-related proteins. *Plant Molecular Biology Reporter* **12**, 245-264.
- VAN LOON LC, REP M, PIETERSE CMJ.** 2006. Significance of inducible defense-related proteins in infected plants. *Annual Review of Phytopathology* **44**, 135-162.
- VAN LOON LC, VAN STRIEN EA.** 1999. The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins. *Physiological and Molecular Plant Pathology* **55**, 85-97.
- VAN LOON LC.** 1985. Pathogenesis-related proteins. *Plant Molecular Biology* **4**, 111-116.
- VAN LOON LC.** 1997. Induced resistance in plants and the role of pathogenesis-related proteins. *European Journal of Plant Pathology* **103**, 753-765.
- VAN LOON LC.** 1999. Occurrence and properties of plant pathogenesis-related proteins. In: DATTA SK, MUTHUKRISHNAN S, Hrsg. *Pathogenesis-related proteins in plants*. Boca Raton, Florida: CRC Press LLC, 1-19.
- VANACKER H, CARVER TLW, FOYER CH.** 1998. Pathogen-induced changes in the antioxidant status of the apoplast in barley leaves. *Plant Physiology* **117**, 1103-1114.
- VLOT AC, DEMPSEY DA, KLESSIG DF.** 2009. Salicylic acid, a multifaceted hormone to combat disease. *Annual Review of Phytopathology* **47**, 177-206.
- WALLER F, ACHATZ B, BALTRUSCHAT H, FODOR J, BECKER K, FISCHER M, HEIER T, HÜCKELHOVEN R, NEUMANN C, VON WETTSTEIN D, FRANKEN P, KOGEL KH.** 2005. The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms barley to salt-stress tolerance, disease resistance, and higher yield. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **102**, 13386-13391.
- WALTERS DR, PATERSON L, WALSH DJ, HAVIS ND.** 2008. Priming for plant defense in barley provides benefits only under high disease pressure. *Physiological and Molecular Plant Pathology* **73**, 95-100.
- WANG S, HU T, ZHANG F, FORRER HR, CAO K.** 2007. Screening for plant extracts to control potato late blight. *Frontiers of Agriculture in China* **1**, 43-46.
- WANG T, CHEN X, ZHU F, LI H, LI L, YANG Q, CHI X, YU S, LIANG X.** 2013. Characterization of peanut germin-like proteins, *AhGLPs* in plant development and defense. *PLOS ONE* **8**, e61722.
- WANG Y, BOUWMEESTER K, VAN DE MORTEL JE, SHAN W, GOVERS F.** 2013. A novel *Ara-bidopsis*-oomycete pathosystem: Differential interactions with *Phytophthora capsici* reveal a role for camalexin, indole glucosinolates and salicylic acid in defence. *Plant, Cell and Environment* **36**, 1192-1203.
- WARD ER, UKNES SJ, WILLIAMS SC, DINCHER SS, WIEDERHOLD DL, ALEXANDER DC, AHLGOY P, MÉTRAUX JP, RYALS JA.** 1991. Coordinate gene activity in response to agents that induce systemic acquired resistance. *The Plant Cell* **3**, 1085-1094.
- WATZL B, LEITZMANN C.** 1999. *Bioaktive Substanzen in Lebensmitteln*. Stuttgart: Hippokrates.
- WINKEL-SHIRLEY B.** 2002. Biosynthesis of flavonoids and effects of stress. *Current Opinion in Plant Biology* **5**, 218-223.
- WINTER F.** 2002. *Lucas` Anleitung zum Obstbau*. Stuttgart: Ulmer.
- WITZENBERGER A, HACK H, VAN DEN BOOM T.** 1989. Erläuterungen zum BBCH-Dezimal-Code für die Entwicklungsstadien des Getreides. *Gesunde Pflanzen* **41**, 384-388.
- WOOD JG, ROGINA B, LAVU S, HOWITZ K, HELFAND SL, TATAR M, SINCLAIR D.** 2004. Sirtuin activators mimic caloric restriction and delay ageing in metazoans. *Nature* **430**, 686-689.

- WOODWARD S, PEARCE RB.** 1988. The role of stilbenes in resistance of Sitka spruce (*Picea sitchensis* (Bong.) Carr.) to entry of fungal pathogens. *Physiological and Molecular Plant Pathology* **33**, 127-149.
- WRIGHT AJ, CARVER TL, THOMAS BJ, FENWICK NI, KUNOH H, NICHOLSON RL.** 2000. The rapid and accurate determination of germ tube emergence site by *Blumeria graminis* conidia. *Physiological and Molecular Plant Pathology* **57**, 281-301.
- WU Z, ZHAO X, SUN X, TAN Q, TANG Y, NIE Z, QU C, CHEN Z, HU C.** 2015. Antioxidant enzyme systems and the ascorbate-glutathione cycle as contributing factors to cadmium accumulation and tolerance in two oilseed rape cultivars (*Brassica napus* L.) under moderate cadmium stress. *Chemosphere* **138**, 526-536.
- XIE DY, JACKSON LA, COOPER JD, FERREIRA D, PAIVA NL.** 2004. Molecular and biochemical analysis of two cDNA clones encoding dihydroflavonol-4-reductase from *Medicago truncatula*. *Plant Physiology* **134**, 979-994.
- YANG M, DUAN S, MEI X, HUANG H, CHEN W, LIU Y, GUO C, YANG T, WEI W, LIU X, HE X, DONG Y, ZHU S.** 2018. The *Phytophthora cactorum* genome provides insights into the adaptation to host defense compounds and fungicides. *Scientific Reports* **8**, 1-11.
- YANG X, MA X, YANG L, YU D, QIAN Y, NI H.** 2009. Efficacy of *Rheum officinale* liquid formulation on cucumber powdery mildew. *Crop Protection* **28**, 1031-1035.
- YAZDANI D, TAN YH, ZAINAL ABIDIN MA, JAGANATH IB.** 2011. A review on bioactive compounds isolated from plants against plant pathogenic fungi. *Journal of Medicinal Plants Research* **5**, 6584-6589.
- YE M, HAN J, CHEN H, ZHENG J, GUO D.** 2007. Analysis of phenolic compounds in rhubarbs using liquid chromatography coupled with electrospray ionization mass spectrometry. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* **18**, 82-91.
- YOON MY, CHA B, KIM JC.** 2013. Recent trends in studies on botanical fungicides in agriculture. *The Plant Pathology Journal* **29**, 1-9.
- ZHANG C, LIU J, ZHANG Y, CAI X, GONG P, ZHANG J, WANG T, LI H, YE Z.** 2011. Overexpression of *SIGMEs* leads to ascorbate accumulation with enhanced oxidative stress, cold, and salt tolerance in tomato. *Plant Cell Reports* **30**, 389-398.
- ZHANG S, KLESSIG DF.** 1998. The tobacco wounding-activated mitogen-activated protein kinase is encoded by *SIPK*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **95**, 7225-7230.
- ZHENG MS, TAKAHASHI H, MIYAZAKI A, HAMAMOTO H, SHAH J, YAMAGUCHI I, KUSANO T.** 2004. Up-regulation of *Arabidopsis thaliana NHL10* in the hypersensitive response to *Cucumber mosaic virus* infection and in senescing leaves is controlled by signaling pathways that differ in salicylate involvement. *Planta* **218**, 740-750.
- ZHOU N, TOOTLE TL, TSUI F, KLESSIG DF, GLAZEBROOK J.** 1998. *PAD4* functions upstream from salicylic acid to control defense responses in *Arabidopsis*. *The Plant Cell* **10**, 1021-1030.
- ZHU S, JEONG RD, VENUGOPAL SC, LAPCHYK L, NAVARRE D, KACHROO A, KACHROO P.** 2011. SAG101 forms a ternary complex with EDS1 and PAD4 and is required for resistance signaling against turnip crinkle virus. *PLOS Pathogens* **7**, e1002318.
- ZIMMERMANN G, BÄUMLEIN H, MOCK HP, HIMMELBACH A, SCHWEIZER P.** 2006. The multigene family encoding germin-like proteins of barley. Regulation and function in basal host resistance. *Plant Physiology* **142**, 181-192.
- ZIPFEL C.** 2008. Pattern-recognition receptors in plant innate immunity. *Current Opinion in Immunology* **20**, 10-16.

ANLAGEN

Anlage 1:	Bedeutung und Bekämpfung ausgewählter hemibiotropher und nekrotropher Phytopathogene.....	XXXVIII
Anlage 2:	Mycelwachstum ausgewählter hemibiotropher und nekrotropher Phytopathogene.....	XLI
Anlage 3:	Chemikalien und eingesetzte Lösungen für die Aktivitätsbestimmungen der Antioxidantien.....	XLII
Anlage 4:	Kalibrationsdaten der MS-Quantifizierung.....	XLV
Anlage 5:	MRM-spezifische Compound-Parameter.....	XLVI
Anlage 6:	Küvettenbelegungsschemata für die Aktivitätsbestimmungen der enzymatischen Antioxidantien.....	XLVII
Anlage 7:	Küvettenbelegungsschemata für die Aktivitätsbestimmung des Ascorbats.....	XLVIII
Anlage 8:	Küvettenbelegungsschemata für die Aktivitätsbestimmung des Glutathions.....	XLIX
Anlage 9:	Beispielhafte Kalibrierkurve für die Proteinquantifizierung nach Bradford.....	L
Anlage 10:	Beispielhafte Gele und Membranen bei der Detektion phosphorylierter Mitogen-aktivierter Proteinkinase 3.....	LI
Anlage 11:	Kenndaten der Freilandversuche 2012 bis 2017.....	LII
Anlage 12:	Ernte- und Extraktionsdaten des Wurzelmaterials der verwendeten <i>Rheum/Rumex</i> -Genotypen.....	LIV
Anlage 13:	Quantifizierungsdaten von Procyanidinen, Catechinen, Stilbenen und Phenolsäuren in den analysierten <i>Rheum/Rumex</i> -Wurzelextrakten (Ethylacetat-Phasen).....	LV
Anlage 14:	Quantifizierungsdaten von Procyanidinen, Catechinen, Stilbenen und Phenolsäuren in den analysierten <i>Rheum/Rumex</i> -Wurzelextrakten (Wasser-Phasen).....	LVI
Anlage 15:	Semiquantifizierungsdaten identifizierter Stilbene in den analysierten <i>Rheum/Rumex</i> -Wurzelextrakten (Ethylacetat-Phasen).....	LVII
Anlage 16:	Semiquantifizierungsdaten ko-eluierender Stilben-Verbindungen in den analysierten <i>Rheum/Rumex</i> -Wurzelextrakten (Ethylacetat-Phasen).....	LVIII
Anlage 17:	Semiquantifizierungsdaten weiterer identifizierter Inhaltsstoffe in den analysierten <i>Rheum/Rumex</i> -Wurzelextrakten (Ethylacetat-Phasen).....	LIX
Anlage 18:	Semiquantifizierungsdaten ko-eluierender Verbindungen weiterer Inhaltsstoffe in den analysierten <i>Rheum/Rumex</i> -Wurzelextrakten (Ethylacetat-Phasen).....	LX
Anlage 19:	Semiquantifizierungsdaten identifizierter Anthrachinone in den analysierten <i>Rheum/Rumex</i> -Wurzelextrakten (Ethylacetat-Phasen).....	LXI

Anlage 20:	Quantifizierungsdaten von Procyanidinen, Catechinen, Stilbenen und Phenolsäuren in Fraktionen der Ethylacetat-Phase des Genotyps 10 Erntejahr 2014.	LXII
Anlage 21:	Semiquantifizierungsdaten identifizierter Stilbene in Fraktionen der Ethylacetat-Phase des Genotyps 10 Erntejahr 2014.	LXIII
Anlage 22:	Semiquantifizierungsdaten identifizierter Inhaltsstoffe in den Fraktionen 9 und 10 der Ethylacetat-Phase des Genotyps 10 Erntejahr 2014.	LXIV
Anlage 23:	Relatives Wachstum nekrotropher und hemibiotropher Pilze im Mycelwachstumstest mit <i>Rheum/Rumex</i> -Wurzelextrakten (Wasser- und Ethylacetat-Phasen).....	LXV
Anlage 24:	Relatives Wachstum nekrotropher und hemibiotropher Pilze und Oomyceten im Mycelwachstumstest mit <i>Rheum/Rumex</i> -Wurzelextrakten (Wasser-Phasen).....	LXVII
Anlage 25:	Mycelwachstum von Pilzen und Oomyceten im Mycelwachstumstest mit Wasser-Phasen.	LXXI
Anlage 26:	Mehrfachbestimmungen des relativen Wachstums nekrotropher und hemibiotropher Pilze und Oomyceten im Mycelwachstumstest mit <i>Rheum/Rumex</i> -Wurzelextrakten (Wasser- und Ethylacetat-Phasen)....	LXXII
Anlage 27:	Relatives Wachstum nekrotropher und hemibiotropher Pilze und Oomyceten im Mycelwachstumstest mit <i>Rheum/Rumex</i> -Wurzelextrakten (Ethylacetat-Phasen) nach vier- bis sechsjähriger Lagerung der Extrakte.....	LXXVII
Anlage 28:	Gesamtdarstellung des relativen Wachstums ausgewählter nekrotropher und hemibiotropher Pilze und Oomyceten im Mycelwachstumstest mit <i>Rheum/Rumex</i> -Wurzelextrakten (Ethylacetat-Phasen).....	LXXVIII
Anlage 29:	Mehltaubefall von Gerstenblättern im Blattsegmenttest mit Fraktionen der Ethylacetat-Phase des Genotyps 10 Erntejahr 2014 (125 ppm).	XCIV
Anlage 30:	Mehltaubefall von Gerstenblättern im Blattsegmenttest mit Fraktionen der Ethylacetat-Phase des Genotyps 10 Erntejahr 2014 (7 d nach der Infektion).	XCV
Anlage 31:	Mehltaubefall von Gerstenblättern im Blattsegmenttest mit <i>Rheum</i> -typischen Polyphenolstandards (500-32 ppm).	XCVI
Anlage 32:	Mehltaubefall von Gerstenblättern im Blattsegmenttest mit den Polyphenolstandards Epicatechingallat und Resveratrol in Einzel- und Kombinationsanwendungen (20 d nach der Infektion).	XCIX
Anlage 33:	Beobachtete und nach der Colby-Formel berechnete Wirkungsgrade der kombinierten Standardverbindungen Epicatechingallat und Resveratrol sowie Rhaponticin und Procyanidin B2 im Blattsegmenttest gegenüber Gerstenmehltau.	C
Anlage 34:	Mehltaubefall von Gerstenblättern im Blattsegmenttest mit den Polyphenolstandards Rhaponticin und Procyanidin B2 in Einzel- und Kombinationsanwendungen.	CI
Anlage 35:	Penetrationswege von Gerstenmehltau nach der Behandlung von Gerstenpflanzen mit der Ethylacetat-Phase des Genotyps 10 Erntejahr 2014.	CIII

Anlage 36:	Penetrationswege von Gerstenmehltau nach der Infektion von Gerstenpflanzen der resistenten Linie 'Ingrid'.....	CIV
Anlage 37:	Sekundärhyphenrate von Gerstenmehltau nach der Behandlung von Gerstenpflanzen mit der Ethylacetat-Phase des Genotyps 10 Erntejahr 2014.	CV
Anlage 38:	Sekundärhyphenrate von Gerstenmehltau nach der Infektion von Gerstenpflanzen der resistenten Linie 'Ingrid'.....	CV
Anlage 39:	Penetrationswege von Gerstenmehltau nach der Behandlung von Gerstenpflanzen mit 250 ppm der Genotyp 10-Fraktionen 2 und 5 sowie 125 ppm der Standardsubstanzen Epicatechingallat und Resveratrol.....	CVI
Anlage 40:	Sekundärhyphenrate von Gerstenmehltau nach der Behandlung von Gerstenpflanzen mit 250 ppm der Genotyp 10-Fraktionen 2 und 5 sowie 125 ppm der Standardsubstanzen Epicatechingallat und Resveratrol.....	CVII
Anlage 41:	Papillenformationsrate gegenüber Gerstenmehltau nach der Behandlung von Gerstenpflanzen mit der Ethylacetat-Phase des Genotyps 10 Erntejahr 2014.....	CVIII
Anlage 42:	Hypersensitivitätsreaktionsrate gegenüber Gerstenmehltau nach der Behandlung von Gerstenpflanzen mit der Ethylacetat-Phase des Genotyps 10 Erntejahr 2014.....	CIX
Anlage 43:	Papillenformationsrate gegenüber Gerstenmehltau nach der Infektion von Gerstenpflanzen der resistenten Linie 'Ingrid'.....	CX
Anlage 44:	Hypersensitivitätsreaktionsrate gegenüber Gerstenmehltau nach der Infektion von Gerstenpflanzen der resistenten Linie 'Ingrid'.....	CX
Anlage 45:	Papillenformationsrate gegenüber Gerstenmehltau nach der Behandlung von Gerstenpflanzen mit 250 ppm der Genotyp 10-Fraktionen 2 und 5 sowie 125 ppm der Standardsubstanzen Epicatechingallat und Resveratrol.....	CXI
Anlage 46:	Hypersensitivitätsreaktionsrate gegenüber Gerstenmehltau nach der Behandlung von Gerstenpflanzen mit 250 ppm der Genotyp 10-Fraktionen 2 und 5 sowie 125 ppm der Standardsubstanzen Epicatechingallat und Resveratrol.....	CXII
Anlage 47:	Superoxid-Akkumulationsorte nach der Behandlung von Gerstenpflanzen mit der Ethylacetat-Phase des Genotyps 10 Erntejahr 2014, den Genotyp 10-Fraktionen 2 und 5 sowie den Standardsubstanzen Epicatechingallat und Resveratrol.....	CXIII
Anlage 48:	Konidienkeimrate von Gerstenmehltau nach der Behandlung von Gerstenpflanzen mit der Ethylacetat-Phase des Genotyps 02 Erntejahr 2012.	CXV
Anlage 49:	Penetrationswege von Gerstenmehltau nach der Behandlung von Gerstenpflanzen mit der Ethylacetat-Phase des Genotyps 02 Erntejahr 2012.	CXVI
Anlage 50:	Haustorienformationsrate von Gerstenmehltau nach der Behandlung von Gerstenpflanzen mit der Ethylacetat-Phase des Genotyps 02 Erntejahr 2012.	CXVII
Anlage 51:	Sekundärhyphenrate von Gerstenmehltau nach der Behandlung von Gerstenpflanzen mit der Ethylacetat-Phase des Genotyps 02 Erntejahr 2012.	CXVIII

Anlage 52:	Papillenformationsrate gegenüber Gerstenmehltau nach der Behandlung von Gerstenpflanzen mit der Ethylacetat-Phase des Genotyps 02 Erntejahr 2012.....	CXIX
Anlage 53:	Hypersensitivitätsreaktionsrate gegenüber Gerstenmehltau nach der Behandlung von Gerstenpflanzen mit der Ethylacetat-Phase des Genotyps 02 Erntejahr 2012.....	CXX
Anlage 54:	Aktivitäten der enzymatischen Antioxidantien Dehydroascorbatreduktase und Monodehydroascorbatreduktase in mit dem Genotyp 10 Erntejahr 2014-Gesamtextrakt und der Genotyp 10 Erntejahr 2014-Fraktion 5 behandelten und Mehltau-infizierten Gerstenblättern.....	CXXI
Anlage 55:	Gehalte an Gesamtascorbat und Gesamtglutathion in mit dem Genotyp 10 Erntejahr 2014-Gesamtextrakt und der Genotyp 10 Erntejahr 2014-Fraktion 5 behandelten und Mehltau-infizierten Gerstenblättern.....	CXXIII
Anlage 56:	Aktivitäten der enzymatischen Antioxidantien in mit dem Genotyp 02 Erntejahr 2012-Extrakt behandelten und Mehltau-infizierten Gerstenblättern.....	CXXV
Anlage 57:	Gehalte der nicht-enzymatischen Antioxidantien in mit dem Genotyp 02 Erntejahr 2012-Extrakt behandelten und Mehltau-infizierten Gerstenblättern.....	CXXVIII
Anlage 58:	Vorversuche des Mutantenscreenings mit dem Genotyp 02 Erntejahr 2012-Extrakt und den Mutanten <i>npr1-1</i> und <i>ein2-1</i>	CXXX
Anlage 59:	Intensität des Mehltaubefalls von <i>Arabidopsis</i> -Blättern des Wildtyps Col-8 und der Mutante <i>pad4-1</i> im Blattsegmenttest mit der Ethylacetat-Phase des Genotyps 10 Erntejahr 2014 sowie Zahl an Mehltaukonidien auf den zugehörigen Blattausschnitten.....	CXXXI
Anlage 60:	Intensität des Mehltaubefalls von <i>Arabidopsis</i> -Blättern des Wildtyps Col-8 und der Mutante <i>MYB51</i> im Blattsegmenttest mit der Ethylacetat-Phase des Genotyps 10 Erntejahr 2014 sowie Zahl an Mehltaukonidien auf den zugehörigen Blattausschnitten.....	CXXXIII
Anlage 61:	Intensität des Mehltaubefalls von <i>Arabidopsis</i> -Blättern des Wildtyps Col-8 und der Mutante <i>ein2-1</i> im Blattsegmenttest mit der Ethylacetat-Phase des Genotyps 10 Erntejahr 2014 sowie Zahl an Mehltaukonidien auf den zugehörigen Blattausschnitten.....	CXXXV
Anlage 62:	Beschreibung der ausgewählten abwehrrelevanten Gene der DNA-Microarray-Analysen.....	CXXXVII
Anlage 63:	Transkriptabundanzen der Pathogenese-zugehörigen Proteinkodierenden Gene <i>PR1</i> , <i>PR2</i> und <i>PR5</i> des dritten biologischen Replikats der postinfektionellen qRT-PCR-Analysen (nicht infizierte Vergleichsproben).....	CXL
Anlage 64:	Transkriptabundanzen der Pathogenese-zugehörigen Proteinkodierenden Gene <i>PR1</i> , <i>PR2</i> und <i>PR5</i> des dritten biologischen Replikats der postinfektionellen qRT-PCR-Analysen (infizierte Proben).....	CXLII
Anlage 65:	Transkriptabundanzen der Pathogenese-zugehörigen Proteinkodierenden Gene <i>PR1</i> , <i>PR2</i> und <i>PR5</i> in infizierten Proben und nicht infizierten Vergleichsproben der postinfektionellen qRT-PCR-Analysen.....	CXLIV

Anlage 66:	Gerstenmehltaubefall in Sommergersteparzellen des Freilandversuchs 2012 (Blatttage F-2).	CXLV
Anlage 67:	Gerstenmehltaubefall in Sommergersteparzellen des Freilandversuchs 2012 (Blatttage F-1).	CXLVI
Anlage 68:	<i>Septoria tritici</i> -Befall in Winterweizenparzellen des Freilandversuchs 2013 (Blatttage F).....	CXLVII
Anlage 69:	<i>Septoria tritici</i> -Befall in Winterweizenparzellen des Freilandversuchs 2013 (Blatttage F-1).	CXLVIII
Anlage 70:	<i>Septoria tritici</i> -Befall in Winterweizenparzellen des Freilandversuchs 2013 (Blatttage F-2).	CXLIX
Anlage 71:	Morphologische Besonderheiten im Rahmen der Mycelwachstumstests.	CL
Anlage 72:	Klimadaten des Versuchsstandorts Bernburg-Strenzfeld 2012 bis 2017.	CLI
Anlage 73:	Kornerträge Sommergerste 2012 bis 2017.....	CLII
Anlage 74:	Kornerträge Winterweizen 2012 bis 2017.....	CLV

Anlage 1: Bedeutung und Bekämpfung ausgewählter hemibiotropher und nekrotropher Phytopathogene.

Erreger	Wirt / Krankheit	Symptome	Bedeutung	Bekämpfung
<i>Alternaria brassicicola</i> (Schwein.) Wiltshire (1947)	Raps- und Kohlschwärze an Cruciferen, insb. <i>Brassica</i> -Arten (Gemüsekohllarten, wie Blumenkohl)	<ul style="list-style-type: none"> hellbraun-graue oder schwarzbraune Läsionen, bedeckt mit schwarzem Sporenrasen auf Blättern, Stängeln und Schoten von Raps 	Reduktion des Samenertrages von Kohllarten bis 80 %	Saatgutbeizung, Einarbeitung der Ernterückstände, bei Raps vorbeugende Fungizidmaßnahmen, Wirkstoffe gegen <i>S. sclerotiorum</i> (z.B. Iprodion) zeigen Nebeneffekte
<i>Fusarium culmorum</i> (W.G. Sm.) Sacc. (1895), <i>Fusarium graminearum</i> Schwabe (Bsp.)	<i>Fusarium</i> – Sämlings-, Fuß- und Ährenkrankheiten an Getreide, insb. Winterformen von Roggen und Weizen; <i>F. culmorum</i> parasitiert auch dikotyle Arten (z.B. Spargel), <i>F. graminearum</i> auch Mais und Reis	<ul style="list-style-type: none"> schlechte Entwicklung der Sämlinge bis Fehlstellen bei Roggen und Weizen diffuse, flächige Verbräunungen oder dunklere, strichförmige Nekrosen an Blattscheiden und Halmbasis Anflug eines rosa Sporenbelags des Gewebes mgl. befallene Blüten bleiben taub (partielle Taubährigkeit) 	in Einzelfällen Ertragsverluste bis 50 %, allgemein bis 10 %, direkte Kornverluste, Belastung des Erntegutes durch Mykotoxine	Verwendung von befallsfreiem Saatgut, Saatgutbeizung, Fruchtfolgemaßnahmen: Roggen vor Weizen und Gerste, Einarbeitung der Ernterückstände, nur sehr begrenzte Effekte zugelassener Wirkstoffe
<i>Fusarium oxysporum</i> (wie auch <i>F. culmorum</i> und <i>F. graminearum</i> etc.)	Keimlingskrankheiten an Mais, breiter Wirkskreis (alle Getreidearten)	<ul style="list-style-type: none"> verzögerter Aufgang, lückige Bestände wässrige hell- bis dunkelbraune Flecke an den Wurzeln, chlorotische Streifungen an den Blättern 	in Regionen mit kühleren, feuchten Frühjahrsbedingungen	Saatgut mit hoher Keimfähigkeit, rascher Keimung und schnellem Auflaufen der Pflanzen, Beizung des Saatgutes
<i>Magnaporthe grisea</i> *	Reisbräune, auch an Hirse und anderen Gräserarten	<ul style="list-style-type: none"> Befall und Nekrotisierung aller grünen Pflanzenteile 	wichtigste Krankheit im Reisanbau mit sehr hohem Epidemiepotential	Sortenwahl, Fungizide
<i>Phytophthora</i> spp. (wie auch <i>R. solani</i> etc.)	Umfallkrankheiten, Schwarzbeinigkeit an Cruciferen	<ul style="list-style-type: none"> dunkelbraune Verfärbungen am Hypokotyl der Sämlinge in Anzuchtbeeten bei hoher Bodenfeuchte Umfallen oder Welken der Keimpflanzen 	in Anzuchtbeeten, weniger bei Freilandaussaaten	Vermeiden wiederholter Aussaat im gleichen Substrat, bei Gemüsearten Saatgutbeizung, vorbeugende Gießbehandlungen mit Fungiziden oder gute Steuerung der Anzuchtbedingungen (Temperatur etc.)
<i>Venturia inaequalis</i> *	Apfelschorf	<ul style="list-style-type: none"> braune Flecken an den Blättern (Blattschorf), Befall der Früchte (Fruchtschorf) 	weltweit wichtigste Krankheit im Apfelanbau, rasche Epidemieentwicklung, Schäden durch Blattverluste und Qualitätsminderung der Früchte	wiederholte gezielte Fungizidapplikationen

Anmerkungen: (Quelle: HOFFMANN und SCHMUTTERER, 1999; *HALLMANN et al., 2007)

Fortsetzung Anlage 1.

Erreger	Wirt / Krankheit	Symptome	Bedeutung	Bekämpfung
<i>Bipolaris sorokiniana</i> (Sacc.) Shoem.	<i>Drechslera</i> – Wurzel-, Halm- und Blattkrankheit an Getreide (u.a. Gerste, Winterweizen) und Gräsern	<ul style="list-style-type: none"> ▪ lückiger Aufgang, Umfallen der Keimpflanzen ▪ in ariden Gebieten Wurzelfäulen ▪ rötliche Flecke auf Weizenblättern, dunkelbraune bis schwarze Flecke auf Gerstenblättern ▪ fleckige Verbräunungen auch an Blattscheiden, Ähren, Halmen etc. 	in Mittel- und Nordeuropa selten schädigend, Ausfälle durch Keimlingsinfektionen in wärmeren Getreideanbaugebieten wie Australien (bis zu 13/23 %)	Saatgutbeizung, Direktsaat, flache Einsaat, keine wendende Bodenbearbeitung, Fruchtfolge mit Unterbrechung des Getreideanbaus (z.B. Luzerne)
<i>Botrytis cinerea</i> Pers.:Fr. (Bsp.)	<i>Botrytis</i> -Graufäule an Grünbohnen, an Pflanzen aus sehr großer Artenzahl	<ul style="list-style-type: none"> ▪ dunkle, wasserdurchtränkte Flecke an Blättern; braune, streifige Läsionen an Stängeln ▪ Einsinken und Erweichen des Gewebes ▪ bei Eintrocknung mausgrauer, stäubender Pilzbelag 	weit verbreitet in kühleren und wärmeren Regionen, ernstes Problem bei kühler und regenreicher Witterung während und nach der Blüte	Vermeidung von Sorten mit langen Blühperioden, ausreichender Pflanzenabstand, mäßige Düngung und Bewässerung, Botryzide (z.B. Promycidon)
<i>Rhizoctonia solani</i> Kühn (Bsp.)	<i>Rhizoctonia</i> - oder Wurzeltöterkrankheit an Kartoffeln, sehr großer Wirkskreis; <i>Rhizoctonia</i> -Fäule (Beta-Rüben), <i>Rhizoctonia</i> -Wurzelhals- und Stängelfäule an Raps (nicht näher erläutert)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ reduzierte Zahl und Länge der Sprosse ▪ dunkelbraun verfärbte und abgestorbene Triebspitzen an Pflanzknollen / rostbraune Flecke an hellen Austrieben ▪ braune Faulstellen an Stängelbasis und Wurzeln in späteren Stadien ▪ „Wipfelrollen“ ▪ schwarzbraune, krustenartige Auflagerungen/Pocken (Sklerotien) auf der Knollenoberfläche während der Abreife 	Ertragsverluste von Ø 5 bis > 30 % (bei stärkerem Anbau und hohem Sklerotienbesatz), Auflaufverzögerungen, fehlende mittlere Knollengrößen, geringerer Stärkegehalt und -ertrag, deformierte Knollen, Bedeutung v.a. in konzentrierten Anbaugebieten mit kühlem Frühjahrswetter	mindestens zweijährige, besser vier- bis sechsjährige Anbaupause, Verwendung von gesundem, vorgekeimtem Pflanzgut, wendende Bodenbearbeitung, Abtöten der Sklerotien auf der Pflanzknolle mit fungiziden Wirkstoffen (Beizmittel), unterliegt im Boden antagonistischen Effekten durch Mikroorganismen wie <i>Verticillium biguttatum</i> (biologische Bekämpfung)

Anmerkungen: (Quelle: HOFFMANN und SCHMUTTERER, 1999)

Fortsetzung Anlage 1.

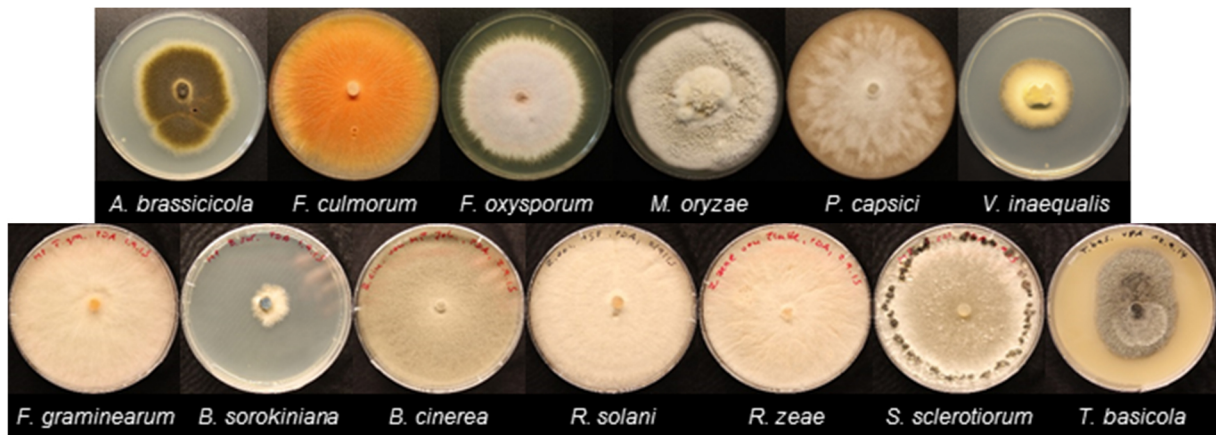
Erreger	Wirt / Krankheit	Symptome	Bedeutung	Bekämpfung
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (Lib.) de Bary (Bsp.)	Weißstängeligkeit, Rapskrebs an Raps (u.a.), Blatt- und Stängelerkrankungen, Fäulen an Rüben und Wurzeln an u.a. Cruciferen; <i>Sclerotinia</i> -Fäule (Bohnen), <i>Sclerotinia</i> -Stängelfäule (Kartoffel), <i>Sclerotinia</i> - Stängelfäule (Sonnenblume) (nicht näher erläutert)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ längliche, beige-weißgraue Flecke mit bräunlichem Rand an Haupt- und Seitentrieben ▪ im Stängelinneren eingelagerte dunkle Sklerotien 	Ertragsminderung ≥ 30 % mgl., Umbrechen, vorzeitiges Absterben der Pflanzen, verringerte/s Kornzahl, Tausendkorngewicht, Kornverlust durch Aufplatzen der Schoten	weitgestellte Fruchtfolge, Verwendung weniger anfälliger Kulturen, Unkrautbeseitigung, Vermeidung einseitiger N- Düngung (Kalkstickstoff wirkt fungistatisch und verhindert Auskeimung der Sklerotien), fungizide Wirkstoffe, wie Vinclozolin mit Nebeneffekten gegen z.B. <i>Alternaria</i> , Fungizidanwendung, wenn 50-60 % der Blüten geöffnet sind
<i>Thielaviopsis basicola</i> (Berk. & Broome) Ferraris. (Bsp.)	Wurzelbräune an Tabak, Wurzelfäule an Tabak, Tomate, Aubergine, Baumwolle, Fabaceen, Zierpflanzen	<ul style="list-style-type: none"> ▪ stellenweise Braunverfärbungen einzelner Wurzeln → gehemmt Pflanzenwachstum 	in wärmeren Anbaugebieten der USA und in Mittelmeerländern verbreitet	Bodenbehandlungen mit Fungiziden, mehrjährige Fruchtfolge

Anmerkungen: (Quelle: HOFFMANN und SCHMUTTERER, 1999)

XL

Anlagen

Anlage 2: Mycelwachstum ausgewählter hemibiotropher und nekrotropher Phytopathogene.



Anmerkungen: Masterplatten nach 7-21 d Inkubation bei 22 °C;
Alternaria brassicicola (nach CHO [2015] nekrotroph),
Fusarium culmorum, *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*,
Magnaporthe oryzae (nach KOECK et al. [2011] taxonomisch aktuelle Namensgebung),
Phytophthora capsici (Isolat 1534),
Venturia inaequalis,
Fusarium graminearum, *Bipolaris sorokiniana*, *Botrytis cinerea*, *Rhizoctonia solani* (AG-8),
Rhizoctonia zeae, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Thielaviopsis basicola*;
 (Quelle: eigenes Bildmaterial)

Anlagen

Anlage 3: Chemikalien und eingesetzte Lösungen für die Aktivitätsbestimmungen der Antioxidantien.

Chemikalie	Bezugsquelle	Einsatz	Ansatz
Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan (TRIS)	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe	Extraktion Enzyme	0,1 M; pH 7,8 in bidest. H ₂ O
+ Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA) Dinatriumsalz Dihydrat	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe		0,001 M
+ Poly(vinylpyrrolidone) (PVPP; Trübstoffentferner)	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen		7,50 % (w/v)
meta-Phosphoric acid	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen	Extraktion+ Kalibration Ascorbat, Glutathion	5,00 % (w/v) in bidest. H ₂ O
di-Natriumphosphat	Riedel-de Haën AG, Seelze	CAT- Na ₃ PO ₄ -Puffer	0,1 M; pH 6,5 in bidest. H ₂ O
Natriumdihydrogenphosphat Monohydrat	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe		
+ EDTA Dinatriumsalz Dihydrat	siehe oben		0,001 M
Hydrogen peroxide solution (H ₂ O ₂)	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen	CAT	0,75 % (v/v) in bidest. H ₂ O
Na ₃ PO ₄ -Puffer	siehe oben	DHAR- Na ₃ PO ₄ -Puffer	0,05 M; pH 6,5
(L)-Dehydroascorbic acid (DHA / DAsA = oxidierte Ascorbinsäure)	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen	DHAR	0,20 % (w/v) in DHAR- Na ₃ PO ₄ -Puffer
L-Glutathione reduced (GSH = reduziertertes Glutathion)	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen		0,70 % (w/v) in DHAR- Na ₃ PO ₄ -Puffer
TRIS	siehe oben	APX- TRIS-Puffer	0,05 M; pH 7,8 in bidest. H ₂ O
+ EDTA Dinatriumsalz Dihydrat	siehe oben		0,003 M
L(+)-Ascorbinsäure	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe	APX	0,10 % (w/v) in bidest. H ₂ O
H ₂ O ₂	siehe oben		0,10 % (v/v) in bidest. H ₂ O
TRIS-Puffer	siehe oben	GR- TRIS-Puffer (siehe APX-TRIS-Puffer)	(0,05 M; pH 7,8 in bidest. H ₂ O)
β-Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, reduced tetra(cyclohexylammonium) salt (NADPH)	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen	GR	0,20 % (w/v) in APX/GR- TRIS-Puffer
L-Glutathione oxidized disodium salt (GSSG = oxidiertes Glutathion)	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen		0,30 % (w/v) in APX/GR- TRIS-Puffer

Anmerkungen: CAT = Katalase, DHAR = Dehydroascorbatreduktase, APX = Ascorbatperoxidase, GR = Glutathionreduktase

Anlagen

Fortsetzung Anlage 3.

Chemikalie	Bezugsquelle	Einsatz	Ansatz
TRIS-Puffer (ohne EDTA)	siehe oben	MDHAR- TRIS-Puffer	0,2 M; pH 7,8 in bidest. H ₂ O
L(+)-Ascorbinsäure	siehe oben	MDHAR	0,024 M in MDHAR- TRIS-Puffer
β-Nicotinamide adenine dinucleotide, reduced dipotassium salt (NADH)	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen		0,0024 M in MDHAR- TRIS-Puffer
Ascorbate Oxidase from <i>Cucurbita</i> sp. [250UN]	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen		4,8 Einheiten/ml (19,2 µl/ml MDHAR- TRIS-Puffer; 250 Einheiten rekonstituiert in 1000 µl kaltem Natriumphosphat-Puffer)
Sodium phosphate dibasic	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen	Ascorbat Oxidase	0,004 M; pH 5,6 in bidest. H ₂ O
+ Bovine Serum Albumin (BSA)	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen		0,05 % (w/v)
Na ₃ PO ₄ -Puffer	siehe oben	Ascorbat- Na ₃ PO ₄ -Puffer	0,15 M; pH 7,4 in bidest. H ₂ O
Triethanolamine	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen	Ascorbat	1,5 M in bidest. H ₂ O
DL-Dithiothreitol (DTT)	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen		0,01 M in bidest. H ₂ O
N-Ethylmaleimide (NEM)	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen		0,50 % (w/v) in bidest. H ₂ O
Trichloressigsäure (TCA)	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe		10,00 % (w/v) in bidest. H ₂ O
Phosphoric acid	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen		44,00 % (v/v) in bidest. H ₂ O
2,2'-Bipyridyl (2,2'-Dipyridyl)	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen		4,00 % (w/v) in 70 % EtOH
Ethanol absolut	VWR International GmbH, Darmstadt	2,2'-Bipyridyl	70,00 % (v/v) in bidest. H ₂ O
Eisen(III)-chlorid Hexahydrat	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe	Ascorbat	2,00 % (w/v) in bidest. H ₂ O
di-Kaliumhydrogenphosphat	Riedel-de Haën AG, Seelze	Glutathion- K ₃ PO ₄ -Puffer	0,05 M; pH 7,5 in bidest. H ₂ O
Kaliumdihydrogenphosphat	Merck KGaA, Darmstadt		
+ EDTA Dinatriumsalz Dihydrat	siehe oben		

Anmerkungen: MDHAR = Monodehydroascorbatreduktase

Fortsetzung Anlage 3.

Chemikalie	Bezugsquelle	Einsatz	Ansatz
Triethanolamine	siehe oben	Glutathion	1,5 M in bidest. H ₂ O (siehe Ascorbat)
2-Vinylpyridine	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen		konz.
5,5'-Dithio-bis-(2-nitrobenzoesäure) (DTNB)	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe		0,01 M in K ₃ PO ₄ -Puffer
NADPH	siehe oben		0,002 M in K ₃ PO ₄ -Puffer
Glutathione Reductase from baker's yeast (<i>S. cerevisiae</i>) [500UN] (GR)	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen		2 Einheiten / Probe (Küvette) (0,8 µl Ammoniumsulfat- suspension / ml K ₃ PO ₄ -Puffer)
L(+)-Ascorbinsäure	siehe oben	Kalibration Ascorbat	0,002 M in in 5,00 % (w/v) meta-Phosphorsäure
GSSG	siehe oben	Kalibration Glutathion	0,001 M in 5,00 % (w/v) meta-Phosphorsäure
GSH	siehe oben	Kalibration Glutathion	0,001 M in 5,00 % (w/v) meta-Phosphorsäure

Anmerkungen: GR = Glutathionreduktase

Anlagen

Anlage 4: Kalibrationsdaten der MS-Quantifizierung.

Standard-substanz	Kalibrierlevel	LOD [ng/ml] Erf.grenze	LOQ [ng/ml] Bes.grenze	EPI-Schwelle* [ng/ml]	M der Rt [min] (n = 32)
PRO B1	16	5	15	5	22,608
PRO B2	16	5	15	5	25,706
PRO C1	13	15	75	15	27,318
C	16	5	20	5	24,259
EC	16	5	20	5	28,102
EGC	11	< 5	5	20	23,983
ECG	16	5	20	15	31,214
EGCG	13	5	20	30	27,538
THSG	16	< 5	5	5	32,635
PIC	16	< 5	5	5	33,850
RHA	16	< 5	5	5	34,737
RES	14	< 5	5	5	37,159
DRHA	16	< 5	5	5	40,593
<i>p</i> -Cumarsäure	14	< 5	5	5	32,492
Ferulasäure	14	< 5	5	5	33,780
Chlorogensäure	16	5	15	10	27,184

Anmerkungen:

MS = Massenspektrometrie;

PRO = Procyanidin, C = Catechin, EC = Epicatechin, EGC = Epigallocatechin,

ECG = Epicatechingallat, EGCG = Epigallocatechingallat, THSG = Piceid,

PIC = Piceatannol, RHA = Rhaponticin, RES = Resveratrol, DRHA = Desoxyrhaponticin;

Das maximale Konzentrationslevel (Kalibrierbergrenze) lag zwischen 300 ng/ml (EGC) und 1000 ng/ml (z.B. RHA) (500 ng/ml bei PRO C1, EGCG, RES, *p*-Cumarsäure und Ferulasäure). Höhere Kalibrierlevel wurden i.d.R. eliminiert.

LOD = engl. limit of detection (Erfassungsgrenze; Signal-Rausch-Verhältnis > 3),

LOQ = engl. limit of quantification (Bestimmungsgrenze; Signal-Rausch-Verhältnis > 10);

EPI = „enhanced product ion“,

*EPI-Triggerlevel (bzgl. der qualitativen Bestätigung der zu quantifizierenden Substanz);

Rt = engl. retention time (Retentionszeit)

Anlagen

Anlage 5: MRM-spezifische Compound-Parameter.

Standard-substanz	[M-H] ⁻ Quasimolekülion* (m/z) / Quantifier** (m/z)	DP [V]	CE [eV]	CXP [V]	dwel time [msec]
PRO B1	577.100/289.1	- 105	- 36	- 7	150
PRO B2	577.140/289.1	- 105	- 35	- 7	150
PRO C1	865.200/125.0	- 155	- 74	- 8	150
C	289.100/245.0	- 90	- 22	- 6	150
EC	289.080/245.0	- 95	- 22	- 6	150
EGC	305.100/124.9	- 85	- 32	- 9	150
ECG	441.100/168.8	- 95	- 30	- 12	150
EGCG	457.100/168.9	- 90	- 24	- 11	150
THSG	389.130/227.1	- 85	- 27	- 5	150
PIC	243.070/158.9	- 100	- 39	- 10	150
RHA	419.140/257.0	- 75	- 24	- 13	150
RES	227.076/185.1	- 100	- 29	- 13	150
DRHA	403.140/241.1	- 70	- 24	- 13	150
p-Cumarsäure	163.040/119.0	- 60	- 20	- 8	150
Ferulasäure	193.060/133.9	- 65	- 21	- 9	150
Chlorogensäure	353.100/191.0	- 65	- 26	- 12	150

Anmerkungen:

MRM = „multiple reaction monitoring“;
 PRO = Procyanidin, C = Catechin, EC = Epicatechin, EGC = Epigallocatechin,
 ECG = Epicatechingallat, EGCG = Epigallocatechingallat, THSG = Piceid,
 PIC = Piceatannol, RHA = Rhaponticin, RES = Resveratrol, DRHA = Desoxyrhaponticin;
 [M-H]⁻ = Quasimolekülion,
 *Mutterion (Molekülmasse abzgl. Masse Wasserstoffatom),
 m/z = Masse-zu-Ladungs-Verhältnis,
 **ausgewähltes Fragment für den MRM;
 DP („declustering potential“), CE („collision energy“) und CXP („cell exit potential“) waren
 spezifisch auf die jeweilige Standardsubstanz abgestimmt
 (EP [„entrance potential“]: - 10 V).

Anlagen

Anlage 6: Küvettenbelegungsschemata für die Aktivitätsbestimmungen der enzymatischen Antioxidantien.

Enzym	Kontrolle		Probe	
CAT	-		2 ml	Na ₃ PO ₄ -Puffer (0,10 M; pH 6,5)
			+ 75 µl	Extrakt-Lsg.
			+ 100 µl	H ₂ O ₂ -Lsg. (0,75 % [v/v])
DHAR	2 ml	Na ₃ PO ₄ -Puffer (0,05 M; pH 6,5)	2 ml	Na ₃ PO ₄ -Puffer (0,05 M; pH 6,5)
	+ 100 µl	GSH-Lsg. (0,70 % [w/v] in DHAR-Na ₃ PO ₄ -Puffer)	+ 50 µl	Extrakt-Lsg.
	+ 100 µl	DHA-Lsg. (0,20 % [w/v] in DHAR-Na ₃ PO ₄ -Puffer)	+ 100 µl	GSH-Lsg. (0,70 % [w/v] in DHAR-Na ₃ PO ₄ -Puffer)
			+ 100 µl	DHA-Lsg. (0,20 % [w/v] in DHAR-Na ₃ PO ₄ -Puffer)
APX	2,1 ml	TRIS-Puffer (0,05 M; pH 7,8)	2 ml	TRIS-Puffer (0,05 M; pH 7,8)
	+ 50 µl	Extrakt-Lsg.	+ 50 µl	Extrakt-Lsg.
	+ 100 µl	Ascorbinsäure-Lsg. (0,10 % [w/v])	+ 100 µl	Ascorbinsäure-Lsg. (0,10 % [w/v])
			+ 100 µl	H ₂ O ₂ -Lsg. (0,10 % [w/v])
GR	2,3 ml	TRIS-Puffer (0,05 M; pH 7,8)	2 ml	TRIS-Puffer (0,05 M; pH 7,8)
	+ 50 µl	Extrakt-Lsg.	+ 50 µl	Extrakt-Lsg.
	+ 100 µl	NADPH-Lsg. (0,20 % [w/v] in APX/GR-TRIS-Puffer)	+ 300 µl	GSSG-Lsg. (0,30 % [w/v] in APX/GR-TRIS-Puffer)
			+ 100 µl	NADPH-Lsg. (0,20 % [w/v] in APX/GR-TRIS-Puffer)
MDHAR	2,1 ml	TRIS-Puffer (0,2 M; pH 7,8)	2 ml	TRIS-Puffer (0,2 M; pH 7,8)
	+ 100 µl	Ascorbinsäure-Lsg. (0,024 M in MDHAR-TRIS-Puffer)	+ 100 µl	Ascorbinsäure-Lsg. (0,024 M in MDHAR-TRIS-Puffer)
	+ 100 µl	NADH-Lsg. (0,0024 M in MDHAR-TRIS-Puffer)	+ 100 µl	NADH-Lsg. (0,0024 M in MDHAR-TRIS-Puffer)
	+ 100 µl	Extrakt-Lsg.	+ 100 µl	Extrakt-Lsg.
			+ 100 µl	Ascorbat Oxidase-Lsg. (4,8 Einheiten/ml)

Anmerkungen: CAT = Katalase, DHAR = Dehydroascorbatreduktase, APX = Ascorbatperoxidase, GR = Glutathionreduktase, MDHAR = Monodehydroascorbatreduktase; GSH = reduziertes Glutathion, DHA = oxidierte Ascorbinsäure, TRIS = Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan, NADPH = Nicotinamidadeninukleotidphosphat, NADH = Nicotinamidadeninukleotid, GSSG = oxidiertes Glutathion; wenn nicht anders angegeben, dann in bidest. H₂O gelöst; Die hier angegebenen Einsatzmengen an Extraktlösung wurden im Rahmen der Messungen angepasst und als hinsichtlich einer vorzubeugenden Absorptionssättigung im Kurvenverlauf optimal befunden.

Anlagen

Anlage 7: Küvettenbelegungsschemata für die Aktivitätsbestimmung des Ascorbats.

Test A (reduziertes Ascorbat – AsA)		Test B (Gesamt-Ascorbat – AsA + DAsA)	
Probe	Kontrolle	Probe	Kontrolle
125 µl Extrakt-Lsg.	125 µl Extr.-Puffer	125 µl Extrakt-Lsg.	125 µl Extr.-Puffer
+ 25 µl Triethanolamin (1,5 M)	+ 25 µl Triethanolamin (1,5 M)	+ 25 µl Triethanolamin (1,5 M)	+ 25 µl Triethanolamin (1,5 M)
mischen		mischen	
+ 150 µl Na ₃ PO ₄ -Puffer (0,15 M; pH 7,4)	+ 150 µl Na ₃ PO ₄ -Puffer (0,15 M; pH 7,4)	+ 150 µl Na ₃ PO ₄ -Puffer (0,15 M; pH 7,4)	+ 150 µl Na ₃ PO ₄ -Puffer (0,15 M; pH 7,4)
+ 150 µl bidest. H ₂ O	+ 150 µl bidest. H ₂ O	+ 75 µl DTT (0,01 M)	+ 75 µl DTT (0,01 M)
mischen und bei RT 15 min inkubieren		mischen und bei RT 15 min inkubieren	
		+ 75 µl NEM (0,50 % [w/v])	+ 75 µl NEM (0,50 % [w/v])
mischen und bei RT 3 min inkubieren		mischen und bei RT 3 min inkubieren	
+ 300 µl TCA (10,00 % [w/v])	+ 300 µl TCA (10,00 % [w/v])	+ 300 µl TCA (10,00 % [w/v])	+ 300 µl TCA (10,00 % [w/v])
+ 300 µl Phosphorsäure (44,00 % [v/v])	+ 300 µl Phosphorsäure (44,00 % [v/v])	+ 300 µl Phosphorsäure (44,00 % [v/v])	+ 300 µl Phosphorsäure (44,00 % [v/v])
+ 300 µl 2,2'-Bipyridyl (4 % [w/v] in 70 % EtOH)	+ 300 µl 2,2'-Bipyridyl (4 % [w/v] in 70 % EtOH)	+ 300 µl 2,2'-Bipyridyl (4 % [w/v] in 70 % EtOH)	+ 300 µl 2,2'-Bipyridyl (4 % [w/v] in 70 % EtOH)
+ 150 µl FeCl ₃ (2,00 % [w/v])	+ 150 µl FeCl ₃ (2,00 % [w/v])	+ 150 µl FeCl ₃ (2,00 % [w/v])	+ 150 µl FeCl ₃ (2,00 % [w/v])
mischen und bei 37 °C 1 h inkubieren		mischen und bei 37 °C 1 h inkubieren	

Anmerkungen: AsA = reduziertes Ascorbat, DAsA = oxidiertes Ascorbat;
 RT = Raumtemperatur, TCA = engl. trichloroacetic acid (Trichloressigsäure),
 DTT = DL-Dithiothreitol, NEM = *N*-Ethylmaleimid;
 wenn nicht anders angegeben, dann in bidest. H₂O gelöst;
 Triethanolamin neutralisiert die Extraktlösung.
 DTT reduziert das enthaltene DAsA.
 NEM entfernt überschüssiges DTT.

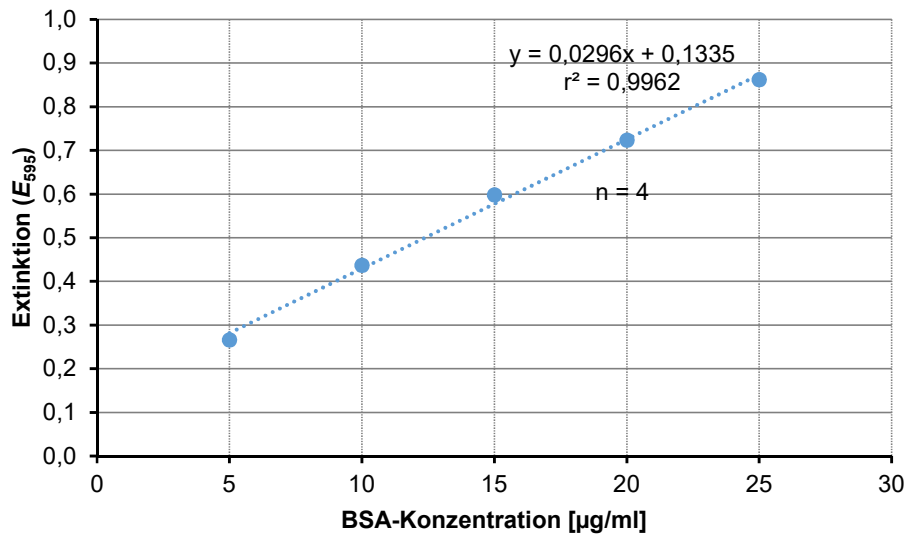
Anlagen

Anlage 8: Küvettenbelegungsschemata für die Aktivitätsbestimmung des Glutathions.

Test A (Gesamt-Glutathion – GSH + GSSG)		Test B (oxidiertes Glutathion – GSSG)	
Probe	Kontrolle	Probe	Kontrolle
Probenvorbereitung			
100 µl Extrakt-Lsg.	100 µl Extr.-Puffer	100 µl Extrakt-Lsg.	100 µl Extr.-Puffer
+ 24 µl Triethanolamin (1,5 M)	+ 24 µl Triethanolamin (1,5 M)	+ 24 µl Triethanolamin (1,5 M)	+ 24 µl Triethanolamin (1,5 M)
+ 16 µl bidest. H ₂ O	+ 16 µl bidest. H ₂ O	+ 12 µl bidest. H ₂ O	+ 12 µl bidest. H ₂ O
		+ 4 µl 2-Vinylpyridin	+ 4 µl 2-Vinylpyridin
mischen und bei 25 °C 60 min inkubieren		mischen und bei 25 °C 60 min inkubieren	
Küvettenansatz			
+ 700 µl K ₃ PO ₄ -Puffer (0,05 M; pH 7,5)	+ 700 µl K ₃ PO ₄ -Puffer (0,05 M; pH 7,5)	+ 700 µl K ₃ PO ₄ -Puffer (0,05 M; pH 7,5)	+ 700 µl K ₃ PO ₄ -Puffer (0,05 M; pH 7,5)
+ 100 µl DTNB (0,01 M in K ₃ PO ₄ -Puffer)	+ 100 µl DTNB (0,01 M in K ₃ PO ₄ -Puffer)	+ 100 µl DTNB (0,01 M in K ₃ PO ₄ -Puffer)	+ 100 µl DTNB (0,01 M in K ₃ PO ₄ -Puffer)
+ 100 µl NADPH (2 mM in K ₃ PO ₄ -Puffer)	+ 100 µl NADPH (2 mM in K ₃ PO ₄ -Puffer)	+ 100 µl NADPH (2 mM in K ₃ PO ₄ -Puffer)	+ 100 µl NADPH (2 mM in K ₃ PO ₄ -Puffer)
+ 100 µl GR-Lsg. (2 Einheiten / Küvette)	+ 100 µl GR-Lsg. (2 Einheiten / Küvette)	+ 100 µl GR-Lsg. (2 Einheiten / Küvette)	+ 100 µl GR-Lsg. (2 Einheiten / Küvette)
+ 20 µl vorbereitete Extrakt-Lsg.	+ 20 µl vorbereitete Extrakt-Lsg.	+ 50 µl vorbereitete Extrakt-Lsg.	+ 50 µl vorbereitete Extrakt-Lsg.
mischen und sofort enzymkinetisch vermessen		mischen und sofort enzymkinetisch vermessen	

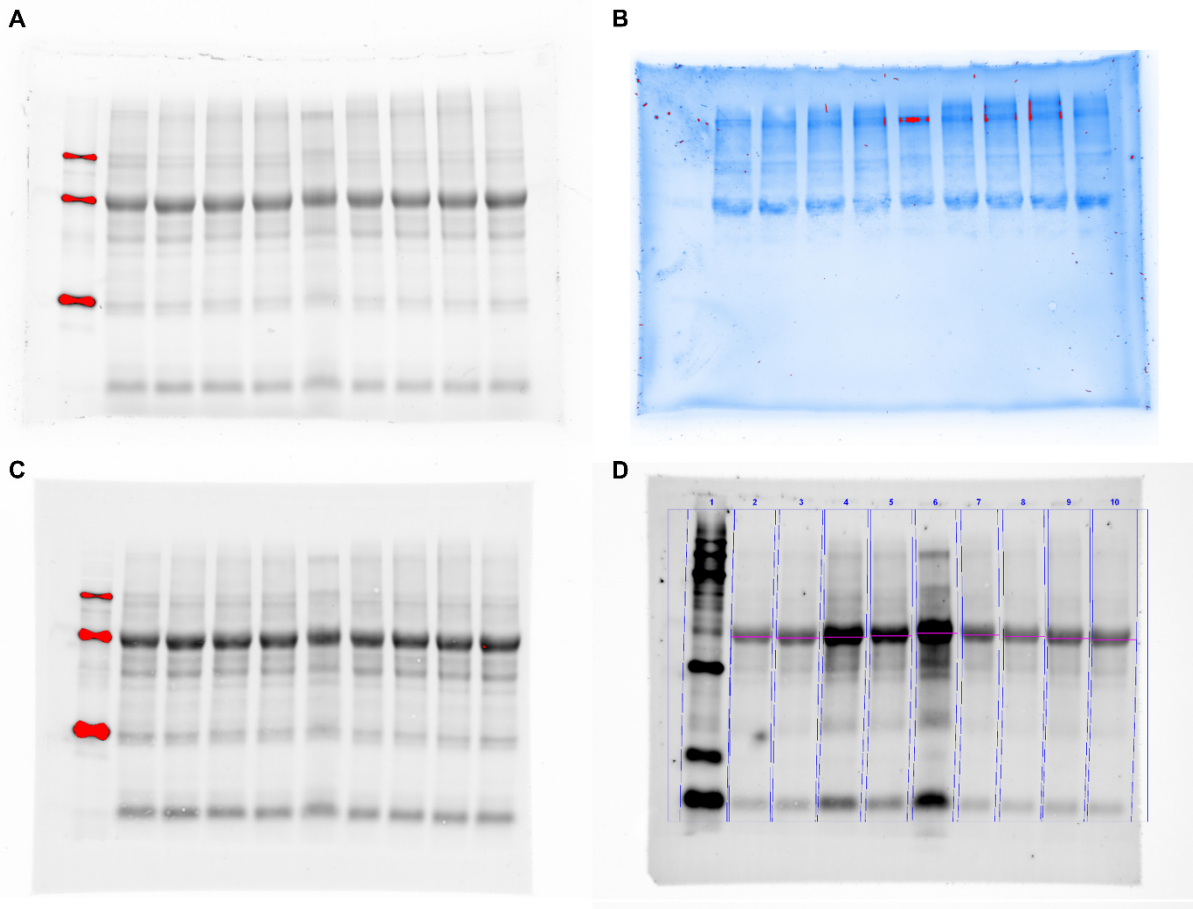
Anmerkungen: GSH = reduziertes Glutathion, GSSG = oxidiertes Glutathion;
 DTNB = 5,5'-Dithio-bis-(2-nitrobenzoesäure), NADPH = Nicotinamidadeninukleotid-phosphat, GR = Glutathionreduktase;
 wenn nicht anders angegeben, dann in bidest. H₂O gelöst;
 Triethanolamin neutralisiert die Extraktlösung.
 2-Vinylpyridin (konzentriert) blockiert enthaltenes GSH.

Anlage 9: Beispielhafte Kalibrierkurve für die Proteinquantifizierung nach Bradford.



Anmerkungen: r^2 = Korrelationskoeffizient; BSA = bovines Serumalbumin

Anlage 10: Beispielhafte Gele und Membranen bei der Detektion phosphorylierter Mitogen-aktivierter Proteinkinase 3.



- Anmerkungen:
- A) Überprüfung der Bandenqualität vor dem Blotten
 - B) Überprüfung der Transfereffizienz nach dem Blotten
 - C) Membran vor der Immundetektion
 - D) Immundetektion der MPK3 (= Mitogen-aktivierte Proteinkinase 3)-Aktivierung (Quelle: eigenes Bildmaterial)

Anlage 11: Kenndaten der Freilandversuche 2012 bis 2017.

Jahr	Kultur	Aussaat	Behandlungsstadium ^a	Probe	Dosis [g/ha]	Adjuvans	Dosis [ml/ha]	Vergleichsprodukt	Dosis [g/ha]	Bonitur (Datum)	Bonitur (Blatttage ^b)
2012	SG	12.03.2012	BBCH 39-41	GT02 (Rohextrakt)	750	PREV-AM [®]	800	Fenpropimorph (Corbel [®])	750 (1,0 l/ha)	07.06.2012	F-3 + F-4 (F-1, F-2)
					750	HASTEN [™]	600	Metrafenon (Flexity [®])	150 (0,5 l/ha)		
	WW	20.10.2011	BBCH 33-37	GT02 (Rohextrakt)	750	PREV-AM [®]	800	Fenpropimorph (Corbel [®])	750 (1,0 l/ha)	21.06.2012	F
2013	SG	16.04.2013	BBCH 39-41	GT02 (Rohextrakt)	750	HASTEN [™]	500	Metrafenon (Flexity [®])	150 (0,5 l/ha)	-	-
					375						
				GT35 (Rohextrakt)	750	HASTEN [™]	500				
					375						
	WW	12.10.2012	BBCH 33-37 + 51-61	GT02 (Rohextrakt)	750	HASTEN [™]	500	Azoxystrobin (Amistar [®])	250 (1,0 l/ha)	08.+ 09.07.2013, 08.08.2013	F-2 / F / F-F-2
					375						
2014	SG	28.02.2014	BBCH 39-41	GT10 (Rohextrakt)	1000	B-T [®] S 240	300	Metrafenon (Flexity [®])	150 (0,5 l/ha)	-	-
					500						
					250						
	WW	08.10.2013	BBCH 33-37 + 51-61	GT10 (Rohextrakt / DC30)	1000	B-T [®] S 240	300	3-Wirkstoffe-Kombi (Capalo [®])	405 (1,2 l/ha)	08.06.2014 (Gelbrost)	F
500											

Anmerkungen: SG = Sommergerste, WW = Winterweizen, GT = Genotyp (je Erntejahr [E] 2012), DC30 = 30 %ig formuliertes Dispersionskonzentrat des GT10 E12 (Ethylacetat-Phase), B-T[®] S 240 = BREAK-THRU[®] S, F = Fahnenblatt;
^agemäß BBCH-Skala (WITZENBERGER et al., 1989; LANCASHIRE et al., 1991), ^bBezeichnungen gemäß LfL (2005);
 Corbel[®]-Wirkstoff: 750 g/l Fenpropimorph (BASF SE, 2018d),
 Flexity[®]-Wirkstoff: 300 g/l Metrafenon (BASF SE, 2009),
 Amistar[®]-Wirkstoff: 250 g/l Azoxystrobin (Aufdruck Unverkäufliches Versuchsmittel),
 Capalo[®]-Wirkstoffe: 62,5 g/l Epoxiconazol, 200,0 g/l Fenpropimorph, 75,0 g/l Metrafenon (BASF SE, 2018e)

Fortsetzung Anlage 11.

Jahr	Kultur	Aussaat	Behandlungs- stadium ^a	Probe	Dosis [g/ha]	Adjuvans	Dosis [ml/ha]	Vergleichsprodukt	Dosis [g/ha]	Bonitur (Datum)	Bonitur (Blatttage ^b)
2015	SG	12.03.2015	BBCH 31-37	DC30	400 (1,333 l/ha)	B-T [®] Union	300	Pyriofenon (Property 180 SC)	90 (0,5 l/ha)	-	-
				DC30 + Property	400 + 45				45 (0,25 l/ha)		
	WW	28.10.2014	BBCH 37 + 51	DC30	200 (0,667 l/ha)	B-T [®] Union	300	Fenpropimorph (Corbel [®])	188 (0,25 l/ha)	07.- 10.07.2015	F
					400 (1,333 l/ha)						
					800 (2,670 l/ha)						
DC30 + Corbel [®]	200 + 188										
DC30 + Corbel [®]	400 + 188										
16	SG	03.03.2016	BBCH 31-37	DC30	1000 500	B-T [®] S 240	100	Metrafenon (Flexity [®])	150 (0,5 l/ha)	16.06.2016	F-1, F-2
2017	SG	16.03.2017	BBCH 31-37	DC30	400 (1,333 l/ha)	B-T [®] S 240	50	Metrafenon (Flexity [®])	30 (0,1 l/ha)	-	-
					800 (2,670 l/ha)						
					DC30 + Flexity [®]				400 + 30		
	DC30 + Flexity [®]	400 + 60									
	WW	30.09.2016	BBCH 33-37 + 51-61	DC30	200 (0,667 l/ha)	B-T [®] S 240	50	Fenpropimorph (Corbel [®])	94 (0,125 l/ha)	28.06.2017	F
400 (1,333 l/ha)											
800 (2,670 l/ha)											
DC30 + Corbel [®]					200 + 94						
DC30 + Corbel [®]	400 + 94										

Anmerkungen: SG = Sommergerste, WW = Winterweizen, DC30 = 30 %ig formuliertes Dispersionskonzentrat des GT10 E12 (EtOAc-Phase), B-T[®] = BREAK-THRU[®], F = Fahnenblatt; ^agemäß BBCH-Skala (WITZENBERGER et al., 1989; LANCASHIRE et al., 1991), ^bBezeichnungen gemäß LfL (2005); Property-Wirkstoff: 180 g/l Pyriofenon (Land24 GmbH, 2018), Corbel[®]-Wirkstoff und Flexity[®]-Wirkstoff: siehe Anlage 11

Anlage 12: Ernte- und Extraktionsdaten des Wurzelmaterials der verwendeten *Rheum/Rumex*-Genotypen.

Genotyp (GT)	Ernte-Zeitraum		Extraktions-Zeitraum		
	Monat	Jahr	von	bis	Jahr
GT02	(April)	2009	März	April	2013
	März	2012	Mai	Mai	2012
GT05	November	2009	März	März	2013
GT10	Oktober	2012	Nov/Jan	/Februar	2012/2013
	Juni	2014	Juni	Juli	2014
GT11	-	2012	Dezember	Dezember	2013
GT14	-	2012	November	November	2013
GT23	-	2012	Oktober	Oktober	2013
GT24	März	2012	Mai	Mai	2012
GT29	März	2012	Mai	Mai	2012
GT30	März	2012	Mai	Mai	2012
GT32	-	2012	Dezember	Dezember	2013
GT35	März	2012	April	April	2012
GT36	(November)	2009	November	November	2013
	-	2012	Oktober	Oktober	2013

Anlage 13: Quantifizierungsdaten von Procyanidinen, Catechinen, Stilbenen und Phenolsäuren in den analysierten *Rheum/Rumex*-Wurzelextrakten (Ethylacetat-Phasen).

GT	PRO B1	PRO B2	PRO C1	C	EC	EGC	ECG	EGCG	THSG	PIC	RHA	RES	DRHA	p-Cs	Fs	Cs
GT02 E09	0,69	0,74	-	6,06	0,26	-	4,11	-	27,74	5,78	88,06	6,48	88,98	-	-	-
GT02 E12	0,63	0,74	-	8,35	-	-	3,32	-	40,51	4,04	264,99	3,17	212,83	-	-	-
GT05 E09	8,67	-	-	205,83	0,30	-	8,89	-	0,72	0,18	4,81	0,12	4,44	1,82	0,26	-
GT10 E12	0,59	0,55	-	4,79	0,59	-	3,15	-	7,67	1,12	272,73	11,74	173,40	-	-	-
GT10 E14	2,36	1,56	-	13,89	1,31	-	8,00	-	7,36	2,14	123,91	6,46	70,54	-	0,06	-
GT11 E12	0,76	0,42	-	7,84	0,85	-	4,73	-	22,88	1,50	5,65	9,76	99,43	0,45	0,26	-
GT14 E12	0,45	0,22	-	9,09	0,34	-	3,49	-	10,17	5,92	186,63	2,94	107,06	0,37	0,17	-
GT23 E12	0,34	-	-	7,50	0,35	-	1,65	-	14,59	7,93	193,42	3,08	111,21	0,34	0,07	-
GT24 E12	0,42	-	-	9,09	-	-	1,76	-	8,69	3,53	162,45	4,04	109,82	-	-	-
GT29 E12	0,41	0,19	-	6,83	-	-	3,71	-	23,17	7,08	109,14	1,46	41,68	0,38	0,18	-
GT30 E12	8,01	5,31	-	125,62	3,72	-	28,94	-	-	0,33	0,12	-	-	-	-	0,41
GT32 E12	0,84	0,63	-	13,44	0,59	-	6,26	-	13,83	5,63	234,17	5,55	126,32	0,17	0,09	-
GT35 E12	0,82	0,42	-	18,10	0,23	-	4,44	-	24,29	5,07	200,21	2,08	129,38	-	-	-
GT36 E09	0,57	0,52	-	7,18	0,32	-	3,49	-	29,54	2,56	148,94	1,82	89,72	0,19	0,06	-
GT36 E12	0,81	0,85	-	9,77	0,90	-	4,00	-	22,07	5,34	231,93	3,49	96,37	0,10	0,06	-

Anmerkungen:

Gehalt in mg/g Extrakt (n = 2);

GT = Genotyp, E = Erntejahr (z.B. E09 = Erntejahr 2009), PRO = Procyanidin, C = Catechin, EC = Epicatechin, EGC = Epigallocatechin, ECG = Epicatechingallat, EGCG = Epigallocatechingallat, THSG = 3,4',5-Trihydroxystilben-3-O-β-D-glucosid / -glucopyranosid (Piceid), PIC = Piceatannol, RHA = Rhaponticin, RES = Resveratrol, DRHA = Desoxyrhaponticin, p-Cs = p-Cumarsäure, Fs = Ferulasäure, Cs = Chlorogensäure

Anlage 14: Quantifizierungsdaten von Procyanidinen, Catechinen, Stilbenen und Phenolsäuren in den analysierten *Rheum/Rumex*-Wurzelextrakten (Wasser-Phasen).

GT	PRO B1	PRO B2	PRO C1	C	EC	EGC	ECG	EGCG	THSG	PIC	RHA	RES	DRHA	<i>p</i> -Cs	Fs	Cs
GT02 E12	-	-	-	-	-	-	1,01	-	0,10	0,11	2,34	-	0,14	-	-	-
GT05 E09	0,97	-	-	0,59	-	-	-	-	0,06	-	1,58	-	0,13	-	-	-
GT10 E14	0,27	-	-	0,22	-	-	0,83	-	0,52	0,11	41,01	-	2,38	-	-	-

Anmerkungen:

Gehalt in mg/g Extrakt (n = 2);

GT = Genotyp, E = Erntejahr (z.B. E12 = Erntejahr 2012), PRO = Procyanidin, C = Catechin, EC = Epicatechin, EGC = Epigallocatechin, ECG = Epicatechingallat, EGCG = Epigallocatechingallat, THSG = 3,4',5-Trihydroxystilben-3-O- β -D-glucosid / -glucopyranosid (Piceid), PIC = Piceatannol, RHA = Rhaponticin, RES = Resveratrol, DRHA = Desoxyrhaponticin, *p*-Cs = *p*-Cumarsäure, Fs = Ferulasäure, Cs = Chlorogensäure

Anlage 15: Semiquantifizierungsdaten identifizierter Stilbene in den analysierten *Rheum/Rumex*-Wurzelextrakten (Ethylacetat-Phasen).

Stilben-Verbindung	GT02 E09	GT02 E12	GT05 E09	GT10 E12	GT10 E14	GT11 E12	GT14 E12	GT23 E12	GT24 E12	GT29 E12	GT30 E12	GT32 E12	GT35 E12	GT36 E09	GT36 E12
Trihydroxystilben-glucosid	777.630	767.306		565.043	856.812	807.830	133.576	271.208	208.461	64.589		224.151	160.234	235.762	209.252
Trihydroxystilben-galloylglucosid				41.261	200.662	163.153	X	52.454	14.589			18.196			
Pterostilben-acetylglucosid			18.250											X	
Piceatannol-glucopyranosid	1.330.875	1.182.669	97.675	676.266	826.835	1.012.845	773.934	1.316.280	1.157.113	1.688.932		875.946	1.295.350	1.530.805	1.204.606
Piceatannol-xylopyranosid	129.056	102.270		59.723	68.510	X	122.384	176.232	112.715	177.228		122.793	135.561	X	X
Piceatannol-galloylglucopyranosid					57.843	X									
Piceatannol-cinnamoylglucosid						28.460									
Piceatannol-cumarylglucosid				23.338	96.594	X	X	187.053	X			66.596	X	X	X
Rhaponticingallat					129.991		X								
Rhapontigenin	199.115	86.821		291.356			440.746	302.754	150.621	219.393		332.978	148.131	51.429	119.565
Rhapontigenin-acetylglucosid				22.302				15.058		24.628		50.126	11.967		
Rhapontigenin-cumarylglucose				X	X		X	X	X					X	21.188
Resveratrol-Dihydrodimer	74.508	56.266		48.668	40.974	X	159.477	405.807	326.530	125.833		294.583	200.210	25.470	79.095
Resveratrol-Trimer							18.396		26.396			21.489			
Resveratrol-cumarylglucose						X		50.290							
Desoxyrhaponticin-gallat							13.067		X						

Anmerkungen: Peakflächeneinheiten bezogen auf 1 mg Extrakt (n = 2);
 GT = Genotyp, E = Erntejahr (z.B. E09 = Erntejahr 2009);
 X = ko-eluierende Verbindungen

Anlage 16: Semiquantifizierungsdaten ko-eluierender Stilben-Verbindungen in den analysierten *Rheum/Rumex*-Wurzelextrakten (Ethylacetat-Phasen).

Stilben-Verbindungen	GT10 E12	GT10 E14	GT11 E12	GT14 E12	GT23 E12	GT24 E12	GT35 E12	GT36 E09	GT36 E12
Desoxyrhaponticingallat, Rhapontigenincumarylglucose, Rhapontigeninferoylglucose						31.520			
Resveratrolcumarylglucose; Resveratrol-Dihydrodimer; Resveratrol-Dihydrodimer, oxidiert			34.381						
Rhapontigenincumarylglucose, Rhapontigeninferoylglucose, (Digalloylglucose)	12.713	25.781		62.151	118.116				
Rhaponticingallat, Trihydroxystilbengalloylglucosid			12.161						
Piceatannolcumarylglucosid, Piceatannolferoylglucosid (581 m/z)			121.853	36.400		22.634	46.220	17.565	21.820
Piceatannolgalloylglucopyranosid, Piceatannolxylopyranosid			79.857						
Piceatannolxylopyranosid, 465 m/z								501.294	
Piceatannolxylopyranosid, 465/847 m/z									314.611
Pterostilbenacetylglucosid, Rhapontigenincumarylglucose, Torachrysonacetylglucosid, Rhapontigeninferoylglucose								15.393	

Anmerkungen: Peakflächeneinheiten (engl. peak area units [PAU]; summiert) bezogen auf 1 mg Extrakt (n = 2);
 GT = Genotyp, E = Erntejahr (z.B. E12 = Erntejahr 2012), m/z = Masse-zu-Ladungs-Verhältnis (unbekannte Massen);
 Hinsichtlich der Ethylacetat-Phasen des GT29 E12 (29.755 PAU), GT32 E12 (59.476 PAU), GT35 E12 (46.734 PAU) sowie GT36 beider Erntejahre
 (20.872 bzw. 31.102 PAU) ko-eluierten des Weiteren Rhapontigenincumarylglucose, Rhapontigeninferoylglucose und Desoxyrhapontigeninacetylglucosid.

Anlage 17: Semiquantifizierungsdaten weiterer identifizierter Inhaltsstoffe in den analysierten *Rheum/Rumex*-Wurzelextrakten (Ethylacetat-Phasen).

Verbindung	GT02 E09	GT02 E12	GT05 E09	GT10 E12	GT10 E14	GT11 E12	GT14 E12	GT23 E12	GT24 E12	GT29 E12	GT30 E12	GT32 E12	GT35 E12	GT36 E09	GT36 E12
Dimethylhydroxychromon						22.600									
Hydroxymusizinglucopyranosid			15.655			X									
Cinammoylgalloylglucose			126.500												
Monogalloylglucose			312.950							173.947					
Digalloylglucose			84.845												
Gallussäure			479.200							116.381					
Torachrysonacetylglucosid	109.243	116.549	212.750	268.052	X	254.043		17.145	X	147.939	296.177			X	X
Torachrysonglucopyranosid	24.036	13.219	201.600	30.941	44.939	343.296			18.442	42.316	153.211		23.084	X	X

Anmerkungen: Peakflächeneinheiten bezogen auf 1 mg Extrakt (n = 2);
 GT = Genotyp, E = Erntejahr (z.B. E09 = Erntejahr 2009);
 X = ko-eluierende Verbindungen

Anlage 18: Semiquantifizierungsdaten ko-eluierender Verbindungen weiterer Inhaltsstoffe in den analysierten *Rheum/Rumex*-Wurzelextrakten (Ethylacetat-Phasen).

Verbindungen	GT10 E14	GT11 E12	GT24 E12	GT36 E09	GT36 E12
Hydroxymusizinglucopyranosid, Resveratrol (Standard)		149.539			
Torachrysonacetylglucosid, Resveratrol-Dihydrodimer	256.623		197.323		
Torachrysonacetylglucosid, Resveratrol-Dihydrodimer, Chrysophanolmonoglucosid				213.279	132.305
Torachrysonglucopyranosid, Resveratrolcumarylglucose				83.480	53.190

Anmerkungen: Peakflächeneinheiten (engl. peak area units [PAU]; summiert) bezogen auf 1 mg Extrakt (n = 2);
 GT = Genotyp, E = Erntejahr (z.B. E14 = Erntejahr 2014);
 Hinsichtlich der Ethylacetat-Phase des GT11 E12 (43.240 PAU) ko-eluierten des Weiteren Torachrysonacetylglucosid und Piceatannolcinnamoylglucosid.

Anlage 19: Semiquantifizierungsdaten identifizierter Anthrachinone in den analysierten *Rheum/Rumex*-Wurzelextrakten (Ethylacetat-Phasen).

Anthrachinon-Verbindung	GT02 E09	GT02 E12	GT05 E09	GT10 E12	GT10 E14	GT11 E12	GT14 E12	GT23 E12	GT24 E12	GT29 E12	GT30 E12	GT32 E12	GT35 E12	GT36 E09	GT36 E12
Aloeemodin (Aglykon)			62.135			115.814									
Aloeemodinmonoglucosid						34.800		9.544							
Aloeemodinacetylglucosid													16.103		
Chrysophanol (Aglykon)	126.332			71.905		30.051	20.141	14.676	17.519	54.525		23.414		63.164	71.001
Chrysophanolmonoglucosid	28.250	31.251	236.950	161.843	131.173	108.905		37.159	52.682	122.821	37.314		43.033	89.597	38.969
Chrysophanolacetylglucosid	15.300	18.774	284.480	91.815	69.948	43.936		10.676	57.175	46.998	34.027		27.182	26.644	15.986
Emodin (Aglykon)	73.378	28.365	43.135	29.971		69.504	49.191	27.710	18.805	42.297	13.257	18.802	12.065	20.906	42.133
Emodinmonoglucosid	187.950	114.188	133.655	258.247	92.299	176.290	195.484	95.783	119.073	142.027	8.674	130.698	128.220	86.903	100.091
Emodinmalonylglucosid		34.011	47.555		52.668										
Palmidin B/C							42.311	34.889	37.486			57.823	9.846		
Rhein (Aglykon)			41.505			105.220									
Rheinmonoglucosid	18.520	19.692	58.235	90.162	66.485	79.672		13.097	31.467	50.877	11.050	13.661	26.383	57.852	47.932
Rheinacetylglucosid		10.313	16.445	19.312	30.416	25.420			14.933		11.070		17.238		
Rheidin A / Sennidin C/D											31.927				
Revandchinon 1						38.516	22.515	51.473				21.222		25.690	17.988
Sennosid				19.623	22.271		27.892								

Anmerkungen:

Peakflächeneinheiten (engl. peak area units [PAU]) bezogen auf 1 mg Extrakt (n = 2);

GT = Genotyp, E = Erntejahr (z.B. E09 = Erntejahr 2009);

Palmidin B/C: Palmidin B = Heterodianthron des Aloeemodins und Chrysophanols / Palmidin C = Heterodianthron des Emodins und Chrysophanols,

Rheidin A / Sennidin C/D: Rheidin A = Heterodianthron des Emodins und Rheins / Sennidin C/D = Heterodianthron des Aloeemodins und Rheins,

Revandchinon 1: Aglykon plus lipophile Seitenkette, Sennosid: mit Acetylgruppe an Glucose (Dianthron glykosyliert);

Ko-Elution von Chrysophanolmonoglucosid und Resveratrol-Dihydrodimer in den Ethylacetat (EtOAc)-Phasen des GT14 E12 (92.427 PAU) und GT35 E12 (142.944 PAU, zusätzlich),

Ko-Elution von Emodinmonoglucosid und Desoxyrhaponticingallat in der EtOAc-Phase des GT10 E14 (55.492 PAU, zus.),

Ko-Elution von Rheinmonoglucosid und einer Substanz der unbekanntenen Masse 525 in der EtOAc-Phase des GT11 E12 (36.392 PAU, zus.),

Ko-Elution von Chrysophanolacetylglucosid und Revandchinon 1 in den EtOAc-Phasen des GT35 E12 (69.682 PAU, zus.), GT36 E09 (48.303 PAU, zus.) und GT36 E12 (46.962 PAU, zus.),

Ko-Elution von Emodinmalonylglucosid und Revandchinon 1 in der EtOAc-Phase des GT11 E12 (63.250 PAU),

Ko-Elution von Rheinacetylglucosid und Chrysophanolacetylglucosid in den EtOAc-Phasen des GT29 E12 (41.401 PAU) und GT36 E09 (28.365 PAU)

Anlage 20: Quantifizierungsdaten von Procyanidinen, Catechinen, Stilbenen und Phenolsäuren in Fraktionen der Ethylacetat-Phase des Genotyps 10 Erntejahr 2014.

Frk	PRO B1	PRO B2	PRO C1	C	EC	EGC	ECG	EGCG	THSG	PIC	RHA	RES	DRHA	p-Cs	Fs	Cs
Frk 1	14,98	10,27	5,42	91,83	0,64	0,23	2,02	1,06	-	-	-	-	0,10	-	-	-
Frk 2	-	-	-	0,18	6,35	-	21,01	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Frk 3	-	-	-	-	-	-	29,55	-	63,09	-	-	0,15	-	-	-	-
Frk 4	-	-	-	-	-	-	8,66	-	0,89	18,31	569,07	-	-	0,90	1,14	-
Frk 5	-	-	-	-	-	-	1,97	-	-	0,18	5,63	317,15	0,05	-	-	-
Frk 6	-	-	-	-	-	-	1,16	-	-	-	0,38	0,28	0,13	-	-	-
Frk 7	-	-	-	-	-	-	0,67	-	-	-	0,10	4,21	922,28	-	-	-
Frk 8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Frk 9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Frk 10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

IXT

Anmerkungen:

Gehalt in mg/g Fraktion (n = 2);

Frk = Fraktion, PRO = Procyanidin, C = Catechin, EC = Epicatechin, EGC = Epigallocatechin, ECG = Epicatechingallat, EGCG = Epigallocatechingallat, THSG = 3,4',5-Trihydroxystilben-3-O-β-D-glucosid / -glucopyranosid (Piceid), PIC = Piceatannol, RHA = Rhaponticin, RES = Resveratrol, DRHA = Desoxyrhaponticin, p-Cs = p-Cumarsäure, Fs = Ferulasäure, Cs = Chlorogensäure

Anlagen

Anlage 21: Semiquantifizierungsdaten identifizierter Stilbene in Fraktionen der Ethylacetat-Phase des Genotyps 10 Erntejahr 2014.

Stilben-Verbindung	Frk 1	Frk 2	Frk 3	Frk 4	Frk 5	Frk 6	Frk 7	Frk 8	Frk 9	Frk 10
Trihydroxystilbenglucosid		2.748.739	68.890							
Trihydroxystilbengalloylglucosid				1.482.377	124.398					
Pterostilbenglucosid								118.364		
Piceatannolglucopyranosid		240.666	2.488.802	12.724						
Piceatannolgalloylglucopyranosid				418.228						
Piceatannolxylopyranosid				555.186						
Rhaponticingallat					1.798.645					
Rhaponticincoumarat							27.763			
Rhapontigeninglucopyranosid					123.444					
Rhapontigeninacetylglucosid						234.332				
Rhapontigenin						2.570.727				
Resveratrol-Dimer, oxidiert	103.700									
Resveratrol-Dihydrodimer			291.821		765.462	2.217.583		2.573.364		
Resveratrol-Trimer								266.215		
Resveratrolcumarylglucose								234.019		
Desoxyrhaponticingallat							170.088	47.262		

Anmerkungen: Peakflächeneinheiten bezogen auf 1 mg Fraktion (n = 2);
Frk = Fraktion

Anlage 22: Semiquantifizierungsdaten identifizierter Inhaltsstoffe in den Fraktionen 9 und 10 der Ethylacetat-Phase des Genotyps 10 Erntejahr 2014.

Verbindung	Ko-eluierende Verbindung/-en	Peakflächeneinheiten
Frk 9		
Torachrysonglucopyranosid		21.122
Torachrysonacetylglucosid	909 m/z, 987 m/z, 1009 m/z	1.654.624
Chrysophanolmonoglykosid		1.601.156
Chrysophanolacetylglucosid		657.274
Emodinmonoglykosid	Rhein A, 985 m/z, 1015 m/z	2.675.337
Emodinmalonylglykosid		747.495
Rheinmonoglykosid		195.376
567 m/z	(1135 m/z), 467 m/z	330.154
Frk 10		
Dianthron: Chrysophanol mit Emodin/Aloeemodin		1.094.130
Dianthron: Emodin/Aloeemodin		978.138
Dianthron: Rhein mit Aloeemodin		151.518
Physcion		478.188
Rheinosid A/B		221.255
Rheinmonoglykosid		985.830
Rheinacetylglucosid		512.652
Sennosid	Ferulasäureglucosid, 293 m/z	113.765
Sennosid		75.531
451 m/z	357 m/z, 473 m/z, 903 m/z	156.377
285 m/z	247 m/z	155.314
287 m/z	309 m/z	180.719
525 m/z	311 m/z, 269 m/z	107.844
725 m/z	681 m/z, 711 m/z, 755 m/z	860.881
585 m/z	255 m/z, 309 m/z, 323 m/z	203.036

Anmerkungen: Peakflächeneinheiten (summiert) bezogen auf 1 mg Fraktion (n = 2);
 Frk = Fraktion, m/z = Masse-zu-Ladungs-Verhältnis (unbekannte Massen);
 Sennosid: mit Malonylgruppe an Glucose (Dianthron glykosyliert)

Anlage 23: Relatives Wachstum nekrotropher und hemibiotropher Pilze im Mycelwachstumstest mit *Rheum/Rumex*-Wurzelextrakten (Wasser- und Ethylacetat-Phasen).

			<i>B. sorokiniana</i>	<i>B. cinerea</i>	<i>R. solani</i>	<i>R. zeae</i>	<i>S. sclerotiorum</i>	<i>T. basicola</i>
GT02 E09	H ₂ O	1000 ppm	91	100	100	100	100	118
	EtOAc	1000 ppm	71	100	51	100	100	94
GT02 E12	H ₂ O	1000 ppm	64	100	87	100	100	84
	EtOAc	1000 ppm	64	97	59	76	100	80
GT05 E09	H ₂ O	1000 ppm	93	99	100	100	100	101
	EtOAc	1000 ppm	91	97	77	94	100	101
GT10 E12	H ₂ O	1000 ppm	83	100	100	100	100	88
	EtOAc	1000 ppm	52	63	78	100	100	82
GT10 E14	H ₂ O	1000 ppm	100	100	100	100	100	86
	EtOAc	1000 ppm	54	100	100	100	100	83
GT11 E12	H ₂ O	1000 ppm	130	100	100	100	100	124
	EtOAc	1000 ppm	106	98	76	100	100	100
GT14 E12	H ₂ O	1000 ppm	145	100	100	100	100	97
	EtOAc	1000 ppm	118	97	90	100	100	94
GT23 E12	H ₂ O	1000 ppm	103	100	100	100	100	94
	EtOAc	1000 ppm	85	93	54	91	100	94

Anmerkungen: nach einer Inkubationsdauer von 7 d (angegeben im prozentualen Vergleich zur Kontrolle); Werte basieren auf Einfachbestimmungen; GT = Genotyp, E = Erntejahr (z.B. E09 = Erntejahr 2009), H₂O = Wasser-Phase, EtOAc = Ethylacetat-Phase; *Bipolaris sorokiniana*, *Botrytis cinerea*, *Rhizoctonia solani*, *Rhizoctonia zeae*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Thielaviopsis basicola*; Die GT10-Extrakte beider Erntejahre (EtOAc-Phasen) erzielten gegenüber *B. sorokiniana* rel. Wachstumswerte von nur 52 bzw. 54 %.

Fortsetzung Anlage 23.

			<i>B. sorokiniana</i>	<i>B. cinerea</i>	<i>R. solani</i>	<i>R. zeae</i>	<i>S. sclerotiorum</i>	<i>T. basicola</i>	
GT24 E12	EtOAc	1000 ppm	67	93	72	100	100	91	
GT29 E12	H ₂ O	1000 ppm	79	100	212	100	100	113	
	EtOAc	1000 ppm	73	100	76	80	100	107	
GT30 E12	H ₂ O	1000 ppm	82	100	124	100	100	96	
	EtOAc	1000 ppm	67	100	124	100	100	91	
GT32 E12	H ₂ O	1000 ppm	139	100	100	100	100	118	
	EtOAc	1000 ppm	106	94	61	99	100	94	
GT35 E12	H ₂ O	1000 ppm	70	100	132	100	100	89	
	EtOAc	1000 ppm	55	89	56	99	100	89	
GT36 E09	EtOAc	H ₂ O	1000 ppm	139	100	100	100	100	101
		1000 ppm	115	97	62*	96	100	90	
		500 ppm				92			
		250 ppm				100			
		125 ppm				100			
GT36 E12	H ₂ O	1000 ppm	167	100	100	100	100	108	
	EtOAc	1000 ppm	127	100	61	96	100	94	

Anmerkungen: nach einer Inkubationsdauer von 7 d (angegeben im prozentualen Vergleich zur Kontrolle); Werte basieren auf Einfachbestimmungen;
 GT = Genotyp, E = Erntejahr (z.B. E12 = Erntejahr 2012), H₂O = Wasser-Phase, EtOAc = Ethylacetat-Phase;
Bipolaris sorokiniana, *Botrytis cinerea*, *Rhizoctonia solani*, *Rhizoctonia zeae*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Thielaviopsis basicola*;
 *Doppelbestimmung, da Bestimmung I ≤ 50 %;
 Die im Mittel unzureichendste Wirkung erzielten die Wurzelextrakte gegenüber *S. sclerotiorum* (100 % rel. Mycelwachstum). Der beste Effekt konnte gegenüber *R. solani* verzeichnet werden (Ø 92 %), was vorrangig an den EtOAc-Phasen der Genotypen (GTs) 23, 32 und 35 sowie der GTs 02 und 36 (je beider Erntejahre) lag.

Anlage 24: Relatives Wachstum nekrotropher und hemibiotropher Pilze und Oomyceten im Mycelwachstumstest mit *Rheum/Rumex*-Wurzelextrakten (Wasser-Phasen).

			<i>A. brassicicola</i>	<i>F. culmorum</i>	<i>F. graminearum</i>	<i>F. oxysporum</i> (FOL race 2)		<i>M. oryzae</i>	
			nach 7 d	nach 7 d	nach 7 d	nach 7 d	nach 14 d	nach 7 d	nach 14 d
GT02 E09	H ₂ O	1000 ppm	102	68	90	35		92	94
		500 ppm				41			
		250 ppm				74			
		125 ppm				95			
GT02 E12	H ₂ O	1000 ppm	104	100	100	85		96	97
GT05 E09	H ₂ O	1000 ppm	94	91	100	97		92	92
		500 ppm							
		250 ppm							
		125 ppm							
GT10 E12	H ₂ O	1000 ppm	103	94	100	72		96	97
GT10 E14	H ₂ O	1000 ppm	92	100	100	39	66 ^b	101	94*
		500 ppm				45	68 ^b		
		250 ppm				53			
		125 ppm				82			
GT11 E12	H ₂ O	1000 ppm	99	107	100	89		94	100
		500 ppm							
		250 ppm							
		125 ppm							
GT14 E12	H ₂ O	1000 ppm	104	107	100	79		100	100
GT23 E12	H ₂ O	1000 ppm	96	81	100	90		92	106

Anmerkungen:

nach einer Inkubationsdauer von 7-21 d (angegeben im prozentualen Vergleich zur Kontrolle);

Werte > 50 % basieren auf Einfachbestimmungen, Werte ≤ 50 % auf dem Mittelwert von Doppelbestimmungen;

GT = Genotyp, E = Erntejahr (z.B. E09 = Erntejahr 2009), H₂O = Wasser-Phase;

Alternaria brassicicola, *Fusarium culmorum*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, *Magnaporthe oryzae*;

^bDoppelbestimmung, da 7 d-Werte ≤ 50 %; *Verhältnisverschiebung / fehlende Konzentrationsabhängigkeit

Fortsetzung Anlage 24.

			<i>A. brassicicola</i>	<i>F. culmorum</i>	<i>F. graminearum</i>	<i>F. oxysporum</i> (FOL race 2)		<i>M. oryzae</i>	
			nach 7 d	nach 7 d	nach 7 d	nach 7 d	nach 14 d	nach 7 d	nach 14 d
GT29 E12	H ₂ O	1000 ppm	86	100	95	75		108	110
GT30 E12	H ₂ O	1000 ppm	88	100	100	81		92	102
		500 ppm							
		250 ppm							
		125 ppm							
GT32 E12	H ₂ O	1000 ppm	103	107	100	54 ^a		98	100
		500 ppm				62			
		250 ppm				96			
		125 ppm				113			
GT35 E12	H ₂ O	1000 ppm	86	100	98	68		100	99*
GT36 E09	H ₂ O	1000 ppm	86	75	100	79		96	96
		500 ppm							
		250 ppm							
		125 ppm							
GT36 E12	H ₂ O	1000 ppm	86	100	100	57		94	92*

Anmerkungen:

nach einer Inkubationsdauer von 7-21 d (angegeben im prozentualen Vergleich zur Kontrolle);

Werte > 50 % basieren auf Einfachbestimmungen;

GT = Genotyp, E = Erntejahr (z.B. E12 = Erntejahr 2012), H₂O = Wasser-Phase;

Alternaria brassicicola, *Fusarium culmorum*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, *Magnaporthe oryzae*;

^aDoppelbestimmung, da Bestimmung I ≤ 50 %; *Verhältnisverschiebung / fehlende Konzentrationsabhängigkeit

Fortsetzung Anlage 24.

			<i>P. capsici</i> (LT1534)	<i>P. capsici</i> (LT123)	<i>P. capsici</i> (LT263)	<i>V. inaequalis</i>	
			nach 7 d	nach 7 d	nach 7 d	nach 14 d	nach 21 d
GT02 E09	H ₂ O	1000 ppm	50	81	62	51	47*
		500 ppm	71			66	66
		250 ppm	85			63*	66
		125 ppm	89			63	68
GT02 E12	H ₂ O	1000 ppm	73	97	103	80	78*
GT05 E09	H ₂ O	1000 ppm	59	93	89	29	34
		500 ppm				43	47
		250 ppm				56	57
		125 ppm				72	71*
GT10 E12	H ₂ O	1000 ppm	96	94	97	77	82
GT10 E14	H ₂ O	1000 ppm	73	85	71	47	52
		500 ppm					
		250 ppm					
		125 ppm					
GT11 E12	H ₂ O	1000 ppm	96	94	79	26	25 ^{d,*}
		500 ppm				37	36 ^{d,*}
		250 ppm				54	51*
		125 ppm				97	91*
GT14 E12	H ₂ O	1000 ppm	100	91	106	114	93*
GT23 E12	H ₂ O	1000 ppm	91	83	84	82	75*

Anmerkungen:

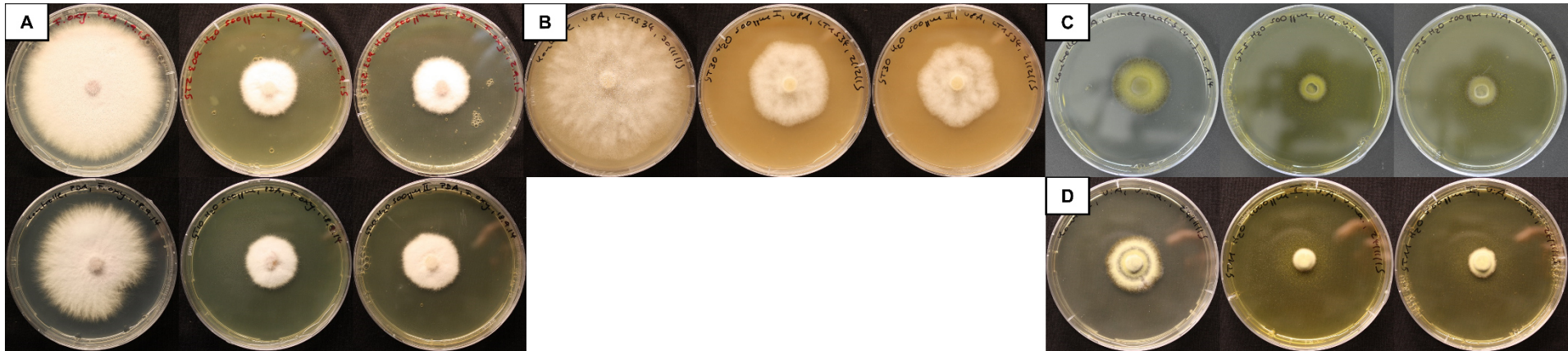
nach einer Inkubationsdauer von 7-21 d (angegeben im prozentualen Vergleich zur Kontrolle);
 Werte > 50 % basieren auf Einfachbestimmungen, Werte ≤ 50 % auf dem Mittelwert von Doppelbestimmungen;
 GT = Genotyp, E = Erntejahr (z.B. E09 = Erntejahr 2009), H₂O = Wasser-Phase;
Phytophthora capsici-Isolate, *Venturia inaequalis*;
^dnach 28, 35 und 42 d: 26, 29 und 32 % (1000 ppm) bzw. 38, 43 und 46 % (500 ppm);
 *Verhältnisverschiebung / fehlende Konzentrationsabhängigkeit;
V. inaequalis: Fehlende 7 d-Werte sind auf zu diesem Zeitpunkt bei Kontrolle und Probe kaum gewachsenes Myzel zurückzuführen (keine Vermessung/Darstellung, da Datenunsicherheit).

Fortsetzung Anlage 24.

			<i>P. capsici</i> (LT1534)	<i>P. capsici</i> (LT123)	<i>P. capsici</i> (LT263)	<i>V. inaequalis</i>	
			nach 7 d	nach 7 d	nach 7 d	nach 14 d	nach 21 d
GT29 E12	H ₂ O	1000 ppm	93	92	91	80	84
GT30 E12	H ₂ O	1000 ppm	42	77	43	53	61
		500 ppm	48		54		
		250 ppm	55		70		
		125 ppm	63		84		
GT32 E12	H ₂ O	1000 ppm	100	96	77	103	92*
		500 ppm					
		250 ppm					
		125 ppm					
GT35 E12	H ₂ O	1000 ppm	76	90	85	60	67
GT36 E09	H ₂ O	1000 ppm	90	87	78	53 ^c	52 ^{a,*}
		500 ppm					70
		250 ppm					92
		125 ppm					92
GT36 E12	H ₂ O	1000 ppm	92	96	85	88	55*

Anmerkungen: nach einer Inkubationsdauer von 7-21 d (angegeben im prozentualen Vergleich zur Kontrolle);
 Werte > 50 % basieren auf Einfachbestimmungen, Werte ≤ 50 % auf dem Mittelwert von Doppelbestimmungen;
 GT = Genotyp, E = Erntejahr (z.B. E12 = Erntejahr 2012), H₂O = Wasser-Phase;
Phytophthora capsici-Isolate, *Venturia inaequalis*;
^aDoppelbestimmung, da Bestimmung I ≤ 50 %; ^cDoppelbestimmung, da 21 d-Wert I ≤ 50 %;
 *Verhältnisverschiebung / fehlende Konzentrationsabhängigkeit;
V. inaequalis: Fehlende 7 d-Werte sind auf zu diesem Zeitpunkt bei Kontrolle und Probe kaum gewachsenes
 Myzel zurückzuführen (keine Vermessung/Darstellung, da Datenunsicherheit).

Anlage 25: Mycelwachstum von Pilzen und Oomyceten im Mycelwachstumstest mit Wasser-Phasen.



Anmerkungen:

- A) Mycelwachstum von *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* im Mycelwachstumstest mit den Wasser (H₂O)-Phasen des Genotyps (GT) 02 Erntejahr 2009 (E09; o.) und des GT10 E14 (u.) bei 500 ppm Anwendungskonzentration (Replik 1: m., Replik 2: r.) im Vergleich zur Kontrolle (l.) nach einer Inkubationsdauer von 7 d
- B) Mycelwachstum des *Phytophthora capsici*-Isolats LT1534 im Mycelwachstumstest mit der H₂O-Phase des GT30 E12 bei 500 ppm Anwendungskonzentration (Replik 1: m., Replik 2: r.) im Vergleich zur Kontrolle (l.) nach einer Inkubationsdauer von 7 d
- C) Mycelwachstum von *Venturia inaequalis* im Mycelwachstumstest mit der H₂O-Phase des GT05 E09 bei 500 ppm Anwendungskonzentration (Replik 1: m., Replik 2: r.) im Vergleich zur Kontrolle (l.) nach einer Inkubationsdauer von 21 d
- D) Mycelwachstum von *V. inaequalis* im Mycelwachstumstest mit der H₂O-Phase des GT11 E12 bei 1000 ppm Anwendungskonzentration (m.) und 500 ppm Anwendungskonzentration (r.) im Vergleich zur Kontrolle (l.) nach einer Inkubationsdauer von 21 d
(Quelle: eigenes Bildmaterial)

Anlage 26: Mehrfachbestimmungen des relativen Wachstums nekrotropher und hemibiotropher Pilze und Oomyceten im Mycelwachstumstest mit *Rheum/Rumex*-Wurzelextrakten (Wasser- und Ethylacetat-Phasen).

	GT02 E09 EtOAc	GT02 E12 EtOAc	
	LT1534	<i>M. oryzae</i>	LT263
Dosis [ppm]	nach 7 d	nach 14 d	nach 7 d
1000 (Ø I+II)	15	24	22
1000 III	35	54	51
1000 IV	40	45	42
1000 V	43	47	52
1000 VI	39	51	46
M [%]	39	49	48
SD [%]	3	4	5

Anmerkungen: nach einer Inkubationsdauer von 7-14 d (angegeben im prozentualen Vergleich zur Kontrolle);
 GT = Genotyp, E = Erntejahr (z.B. E09 = Erntejahr 2009),
 EtOAc = Ethylacetat-Phase;
Phytophthora capsici-Isolate (LT1534, LT263),
Magnaporthe oryzae

Fortsetzung Anlage 26.

	GT10 E12 EtOAc						
	<i>A. brassicicola</i>	<i>F. culmorum</i>	<i>M. oryzae</i>	LT1534	LT123	LT263	<i>V. inaequalis</i>
Dosis [ppm]	nach 7 d	nach 7 d	nach 14 d	nach 7 d	nach 7 d	nach 7 d	nach 21 d
1000 (Ø I+II)	17	19	19	16	9	14	0
1000 III	37	18	40	43	15	21	15
1000 IV	36	17	37	33	13	18	19
1000 V	40	21	45	45	29	29	19
1000 VI	36	16	44	35	21	21	12
M [%]	37	18	42	39	20	22	16
SD [%]	2	2	4	6	7	5	3
500 (Ø I+II)		21	22			22	
500 III		20	51			38	
500 IV		19	46			44	
500 V		22	54			48	
500 VI		20	48			42	
M [%]		20	50			43	
SD [%]	1	4	4				

Anmerkungen: nach einer Inkubationsdauer von 7-21 d (angegeben im prozentualen Vergleich zur Kontrolle);
 GT = Genotyp, E = Erntejahr (z.B. E12 = Erntejahr 2012), EtOAc = Ethylacetat-Phase;
Alternaria brassicicola, *Fusarium culmorum*, *Magnaporthe oryzae*,
Phytophthora capsici-Isolate (LT1534, LT123, LT263), *Venturia inaequalis*

Fortsetzung Anlage 26.

	GT10 E14 EtOAc		GT10 E14 EtOAc					
	LT263	<i>V. inaequalis</i>	<i>V. inaequalis</i>					
Dosis [ppm]	nach 7 d	nach 21 d	nach 7 d	nach 14 d	nach 21 d	nach 28 d	nach 35 d	nach 42 d
1000 (Ø I+II)	25	23	33	22	23	25	27	30
1000 III	18	28	25	24	28	28	29	34
1000 IV	18	25	30	24	25	26	29	32
1000 V	20	27	29	29	27	30	29	34
1000 VI	17	25	30	24	25	25	29	33
<i>M</i> [%]	18	26	29	25	26	27	29	33
<i>SD</i> [%]	1	2	2	3	2	2	0	1

Anmerkungen: nach einer Inkubationsdauer von 7-42 d (angegeben im prozentualen Vergleich zur Kontrolle);
 GT = Genotyp, E = Erntejahr (z.B. E14 = Erntejahr 2014), EtOAc = Ethylacetat-Phase;
Phytophthora capsici-Isolat (LT263), *Venturia inaequalis*;
V. inaequalis: Nach 7 d zeigte sich in der Peripherie des Impfstücks z.T. ein rötlicher Hof oder das Impfstück war partiell unbewachsen (Letzteres z.T. auch nach 14 d).

Fortsetzung Anlage 26.

	GT11 E12 H ₂ O	GT11 E12 EtOAc	GT23 E12 EtOAc				GT29 E12 EtOAc	GT30 E12 EtOAc
	<i>V. inaequalis</i>	<i>V. inaequalis</i>	<i>F. culmorum</i>	<i>M. oryzae</i>	LT263	<i>V. inaequalis</i>	LT1534	<i>A. brassicicola</i>
Dosis [ppm]	nach 21 d	nach 21 d	nach 7 d	nach 14 d	nach 7 d	nach 21 d	nach 7 d	nach 7 d
1000 (Ø I+II)	25	23	19	13	16	21	28*	23
1000 III	20	20	31	46	35	47	26	52
1000 IV	20	20	29	45	28	49	27	53
1000 V	19	20	31	43	33	47	26	53
1000 VI	20	24	33	44	27	49	28	55
M [%]	20	21	31	45	31	48	27	53
SD [%]	1	2	2	1	4	1	1	1
500 (Ø I+II)			22					
500 III			32					
500 IV			33					
500 V			34					
500 VI			30					
M [%]			32					
SD [%]			2					

Anmerkungen:

nach einer Inkubationsdauer von 7-21 d (angegeben im prozentualen Vergleich zur Kontrolle);
 GT = Genotyp, E = Erntejahr (z.B. E12 = Erntejahr 2012), H₂O = Wasser-Phase, EtOAc = Ethylacetat-Phase;
Venturia inaequalis, *Fusarium culmorum*, *Magnaporthe oryzae*, *Phytophthora capsici*-Isolate (LT263, LT1534), *Alternaria brassicicola*;
 *Mycelwachstumsdaten entstammen den Versuchen, die je als Nullwachstum bewertet wurden.
 Die Mehrfachbestimmungen wurden zeitnah durchgeführt.

Fortsetzung Anlage 26.

	GT35 E12 EtOAc	GT36 E09 EtOAc			GT36 E12 EtOAc	
	LT1534	<i>F. culmorum</i>	LT263	<i>V. inaequalis</i>	<i>F. culmorum</i>	LT263
Dosis [ppm]	nach 7 d	nach 7 d	nach 7 d	nach 21 d	nach 7 d	nach 7 d
1000 (Ø I+II)	24*	21	15	19	22	21
1000 III	20	32	46	25	29	45
1000 IV	20	33	39	32	34	47
1000 V	23	31	41	27	36	46
1000 VI	21	34	41	24	35	42
M [%]	21	33	42	27	34	45
SD [%]	1	1	3	4	3	2
500 (Ø I+II)					25	
500 III					41	
500 IV					44	
500 V					43	
500 VI					44	
M [%]					43	
SD [%]					1	

Anmerkungen: nach einer Inkubationsdauer von 7-21 d (angegeben im prozentualen Vergleich zur Kontrolle);
 GT = Genotyp, E = Erntejahr (z.B. E12 = Erntejahr 2012), EtOAc = Ethylacetat-Phase;
Phytophthora capsici-Isolate (LT1534, LT263), *Fusarium culmorum*, *Venturia inaequalis*;
 Vierfachbestimmungen des GT35 E12 EtOAc-Extraktes (1000 ppm) geg. LT123 und LT263 waren
 aufgrund von Materialmangel nicht mehr praktikierbar.
 *Mycelwachstumsdaten entstammen den Versuchen, die je als Nullwachstum bewertet wurden.
 Die Mehrfachbestimmungen wurden zeitnah durchgeführt.

Anlage 27: Relatives Wachstum nekrotropher und hemibiotropher Pilze und Oomyceten im Mycelwachstumstest mit *Rheum/Rumex*-Wurzelextrakten (Ethylacetat-Phasen) nach vier- bis sechsjähriger Lagerung der Extrakte.

	<i>A. brassicicola</i>	<i>F. culmorum</i>	<i>F. oxysporum</i> (FOL race 2)	<i>M. oryzae</i> *	<i>P. capsici</i> (LT1534)	<i>P. capsici</i> (LT123)	<i>P. capsici</i> (LT263)	<i>V. inaequalis</i>
GT02 E09	33	24	28	65	38	33	44	-
GT02 E12	38	25	31	48	13	37	46	-
GT05 E09	41	42	66	97	88	100	60	-
GT10 E12	35	22	27	58	1	34	35	-
GT10 E14	13	18	27	53	39	33	40	-
GT11 E12	31	28	42	88	64	76	47	-
GT14 E12	34	20	30	64	50	35	47	-
GT23 E12	23	20	31	61	35	38	38	-
GT24 E12	42	29	33	76	73	44	55	-
GT29 E12	34	24	32	67	68	36	50	-
GT30 E12	32	69	82	99	95	100	59	-
GT32 E12	33	23	30	60	32	36	52	-
GT35 E12	29	24	31	69	47	35	48	-
GT36 E09	39	28	32	68	46	37	55	-
GT36 E12	37	23	32	70	40	32	46	-

Anmerkungen: nach einer Inkubationsdauer von 7 d (angegeben im prozentualen Vergleich zur Kontrolle); Werte basieren auf dem Mittelwert von Doppelbestimmungen;
 GT = Genotyp, E = Erntejahr (z.B. E09 = Erntejahr 2009);
Alternaria brassicicola, *Fusarium culmorum*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*,
Magnaporthe oryzae, *Phytophthora capsici*-Isolate (LT1534, LT123, LT263),
Venturia inaequalis;
 *nach 14 d

Anlage 28: Gesamtdarstellung des relativen Wachstums ausgewählter nekrotropher und hemibiotropher Pilze und Oomycten im Mycelwachstumstest mit *Rheum/Rumex*-Wurzelextrakten (Ethylacetat-Phasen).

		<i>A. brassicicola</i>			<i>F. culmorum</i>			<i>F. graminearum</i>		
		nach 7 d	nach 14 d	nach 21 d	nach 7 d	nach 14 d	nach 21 d	nach 7 d	nach 14 d	nach 21 d
GT02 E09	EtOAc	1000 ppm	39			36			78	
		500 ppm	42			59				
		250 ppm	54			83				
		125 ppm	63			89				
		62,5 ppm								
		31,25 ppm								
Anmerkungen:		250 ppm: I = 46 %, II = 62 %								
GT02 E12	EtOAc	1000 ppm	37			32			44	
		500 ppm	52			46			57	
		250 ppm	59			75			78	
		125 ppm	60			93			96	
		62,5 ppm								
		31,25 ppm								
Anmerkungen:		500 ppm: I = 46 %, II = 57 %								
GT05 E09	EtOAc	1000 ppm	70			62			100	
		500 ppm								
		250 ppm								
		125 ppm								
Anmerkungen:										
GT10 E12	EtOAc	1000 ppm	17			19			84	
		500 ppm	41			21				
		250 ppm	59			34				
		125 ppm	81			54				
		62,5 ppm								
		31,25 ppm								
Anmerkungen:		Rot: siehe Mehrfachbestimmung			Rot: siehe Mehrfachbestimmungen					

Fortsetzung Anlage 28.

		<i>A. brassicicola</i>			<i>F. culmorum</i>			<i>F. graminearum</i>			
		nach 7 d	nach 14 d	nach 21 d	nach 7 d	nach 14 d	nach 21 d	nach 7 d	nach 14 d	nach 21 d	
GT10 E14	EtOAc	1000 ppm	44	49	64	26	53	88	87		
		500 ppm	44	49	66	29	64	92			
		250 ppm	58			48	90	100			
		125 ppm	74			73					
		62,5 ppm									
		31,25 ppm									
Anmerkungen:											
GT11 E12	EtOAc	1000 ppm	37			70			100		
		500 ppm	43								
		250 ppm	60								
		125 ppm	91								
Anmerkungen:											
GT14 E12	EtOAc	1000 ppm	42			28			78		
		500 ppm	52			37					
		250 ppm	66			54					
		125 ppm	80			71					
		62,5 ppm									
		31,25 ppm									
Anmerkungen:											
GT23 E12	EtOAc	1000 ppm	36			19			54		
		500 ppm	47			22					
		250 ppm	63			51					
		125 ppm	86			61					
		62,5 ppm									
		31,25 ppm									
Anmerkungen:		Rot: siehe Mehrfachbestimmungen									

LXXXI

Anlagen

Fortsetzung Anlage 28.

			<i>A. brassicicola</i>			<i>F. culmorum</i>			<i>F. graminearum</i>		
			nach 7 d	nach 14 d	nach 21 d	nach 7 d	nach 14 d	nach 21 d	nach 7 d	nach 14 d	nach 21 d
GT24 E12	EtOAc	1000 ppm	52			36			42		
		500 ppm	55			51			66		
		250 ppm	72			54			82		
		125 ppm	77			89			84		
		62,5 ppm									
		31,25 ppm									
Anmerkungen:			1000 ppm: I = 50 %, II = 54 %								
GT29 E12	EtOAc	1000 ppm	36			32			41		
		500 ppm	54			46			48		
		250 ppm	54			60			57		
		125 ppm	58			73			80		
Anmerkungen:						250 ppm: I = 47 %, II = 72 %					
GT30 E12	EtOAc	1000 ppm	23			51			91		
		500 ppm	42								
		250 ppm	61								
		125 ppm	61								
Anmerkungen:			Rot: siehe Mehrfachbestimmung								
GT32 E12	EtOAc	1000 ppm	41			35			86		
		500 ppm	64			43					
		250 ppm	66			57					
		125 ppm	80			81					
		62,5 ppm									
		31,25 ppm									
Anmerkungen:			500 ppm: I = 47 %, II = 80 %								

LXXX

Anlagen

Fortsetzung Anlage 28.

			<i>A. brassicicola</i>			<i>F. culmorum</i>			<i>F. graminearum</i>		
			nach 7 d	nach 14 d	nach 21 d	nach 7 d	nach 14 d	nach 21 d	nach 7 d	nach 14 d	nach 21 d
GT35 E12	EtOAc	1000 ppm	73			27			38		
		500 ppm				39			41		
		250 ppm				74			57		
		125 ppm				94			79		
		62,5 ppm									
		31,25 ppm									
Anmerkungen:											
GT36 E09	EtOAc	1000 ppm	37			21			63		
		500 ppm	46			38					
		250 ppm	63			71					
		125 ppm	73			87					
		62,5 ppm									
		31,25 ppm									
Anmerkungen:			Rot: siehe Mehrfachbestimmung								
GT36 E12	EtOAc	1000 ppm	43			22			72		
		500 ppm	48			25					
		250 ppm	59			61					
		125 ppm	76			85					
		62,5 ppm									
		31,25 ppm									
Anmerkungen:			Rot: siehe Mehrfachbestimmungen								

Anmerkungen: nach einer Inkubationsdauer von 7-21 d (angegeben im prozentualen Vergleich zur Kontrolle);
 Werte basieren auf Einfachbestimmungen (Orange) bzw. auf dem Mittelwert von Doppelbestimmungen (Grün);
 GT = Genotyp, E = Erntejahr (z.B. E09 = Erntejahr 2009), EtOAc = Ethylacetat-Phase;
Alternaria brassicicola, *Fusarium culmorum*, *Fusarium graminearum*;
 Dunkelrot: Verhältnisverschiebung / fehlende Konzentrationsabhängigkeit

Fortsetzung Anlage 28.

			<i>F. oxysporum</i> (FOL race 2)			<i>M. oryzae</i>			
			nach 7 d	nach 14 d	nach 21 d	nach 7 d	nach 14 d	nach 21 d	nach 28 d
GT02 E09	EtOAc	1000 ppm	34			39	37	42	60
		500 ppm	35			52	51		
		250 ppm	38			79	77		
		125 ppm	40			92	105		
		62,5 ppm	44						
		31,25 ppm	68						
Anmerkungen:			31,25 ppm: I = 42 %, II = 94 %			500 ppm: I+II = 53/50 % (na7d), 51/50 % (na14d)			
GT02 E12	EtOAc	1000 ppm	29			22	24	32	47
		500 ppm	35			75	69		
		250 ppm	39			69	77		
		125 ppm	47			83	89		
		62,5 ppm	84						
		31,25 ppm	84						
Anmerkungen:			Rot: siehe Mehrfachbestimmung						
GT05 E09	EtOAc	1000 ppm	80			86	84		
		500 ppm							
		250 ppm							
		125 ppm							
Anmerkungen:									
GT10 E12	EtOAc	1000 ppm	27			17	19	24	34
		500 ppm	30			23	22	26	41
		250 ppm	33			30	30	44	70
		125 ppm	36			83	85		
		62,5 ppm	41						
		31,25 ppm	61						
Anmerkungen:			Rot: siehe Mehrfachbestimmungen						

I XXX T

Anlagen

Fortsetzung Anlage 28.

			<i>F. oxysporum</i> (FOL race 2)			<i>M. oryzae</i>			
			nach 7 d	nach 14 d	nach 21 d	nach 7 d	nach 14 d	nach 21 d	nach 28 d
GT10 E14	EtOAc	1000 ppm	30	52	71	49	44	53	
		500 ppm	37	59	85	55	48	73	
		250 ppm	39	64	87	71	60		
		125 ppm	44	68	91	86	94		
		62,5 ppm	57						
		31,25 ppm	87						
Anmerkungen:			500 ppm: I+II = 52/57 % (na7d), 71/74 % (na21d)						
GT11 E12	EtOAc	1000 ppm	49			41	54		
		500 ppm	79						
		250 ppm	81						
		125 ppm	95						
Anmerkungen:			1000 ppm: I = 40/54 %, II = 42/54 % (na 7/14 d)						
GT14 E12	EtOAc	1000 ppm	37			31	42	... -	
		500 ppm	38			67	67		
		250 ppm	40			85	87		
		125 ppm	44			94	106		
		62,5 ppm	45						
		31,25 ppm	64						
Anmerkungen:									
GT23 E12	EtOAc	1000 ppm	34			16	13	16	26
		500 ppm	37			31	31	48	76
		250 ppm	40			65	68		
		125 ppm	40			80	86		
		62,5 ppm	57						
		31,25 ppm	88						
Anmerkungen:			Rot: siehe Mehrfachbestimmung						

IIXXXI

Anlagen

Fortsetzung Anlage 28.

			<i>F. oxysporum</i> (FOL race 2)			<i>M. oryzae</i>			
			nach 7 d	nach 14 d	nach 21 d	nach 7 d	nach 14 d	nach 21 d	nach 28 d
GT24 E12	EtOAc	1000 ppm	32			76	63		
		500 ppm	37						
		250 ppm	38						
		125 ppm	41						
		62,5 ppm	60						
		31,25 ppm	97						
Anmerkungen:			62,5 ppm: I = 49 %, II = 70 %						
GT29 E12	EtOAc	1000 ppm	30			29	30	40	56
		500 ppm	34			61	60		
		250 ppm	34			80	82		
		125 ppm	64			88	87		
Anmerkungen:			125 ppm: I = 45 %, II = 83 %						
GT30 E12	EtOAc	1000 ppm	77			67	67		
		500 ppm							
		250 ppm							
		125 ppm							
Anmerkungen:									
GT32 E12	EtOAc	1000 ppm	35			32	43	...	
		500 ppm	37			79	71		
		250 ppm	41			94	95		
		125 ppm	45			95	94		
		62,5 ppm	52						
		31,25 ppm	56						
Anmerkungen:									

LXXXXV

Anlagen

Fortsetzung Anlage 28.

			<i>F. oxysporum</i> (FOL race 2)			<i>M. oryzae</i>			
			nach 7 d	nach 14 d	nach 21 d	nach 7 d	nach 14 d	nach 21 d	nach 28 d
GT35 E12	EtOAc	1000 ppm	28			28	31	36	47
		500 ppm	34			59	49	60	79
		250 ppm	34			80	79		
		125 ppm	39			84	88		
		62,5 ppm	60						
		31,25 ppm	62						
Anmerkungen:			500 ppm: I+II = 49/69 % (na7d)						
GT36 E09	EtOAc	1000 ppm	36			35	27	27	35
		500 ppm	36			50	37	44	61
		250 ppm	40			83	74		
		125 ppm	44			89	92		
		62,5 ppm	54						
		31,25 ppm	91						
Anmerkungen:									
GT36 E12	EtOAc	1000 ppm	35			33	32	38	53
		500 ppm	39			68	62		
		250 ppm	42			80	84		
		125 ppm	42			80	81		
		62,5 ppm	49						
		31,25 ppm	96						
Anmerkungen:									

Anmerkungen: nach einer Inkubationsdauer von 7-28 d (angegeben im prozentualen Vergleich zur Kontrolle);
 Werte basieren auf Einfachbestimmungen (Orange) bzw.
 auf dem Mittelwert von Doppelbestimmungen (Grün);
 GT = Genotyp, E = Erntejahr (z.B. E09 = Erntejahr 2009), EtOAc = Ethylacetat-Phase;
Fusarium oxysporum f.sp. *lycopersici*, *Magnaporthe oryzae*;
 Dunkelrot: Verhältnisverschiebung / fehlende Konzentrationsabhängigkeit

Fortsetzung Anlage 28.

			<i>P. capsici</i> (LT1534)			<i>P. capsici</i> (LT123)			<i>P. capsici</i> (LT263)		
			nach 7 d	nach 14 d	nach 21 d	nach 7 d	nach 14 d	nach 21 d	nach 7 d	nach 14 d	nach 21 d
GT02 E09	EtOAc	1000 ppm	15			40			26		
		500 ppm	52			68			51		
		250 ppm	80			89			64		
		125 ppm	82			98			77		
		62,5 ppm									
		31,25 ppm									
Anmerkungen:			Rot; 500 ppm: I = 47 %, II = 57 %								
GT02 E12	EtOAc	1000 ppm	43			41			22		
		500 ppm	53			59			39		
		250 ppm	56			71			69		
		125 ppm	70			81			87		
		62,5 ppm									
		31,25 ppm									
Anmerkungen:									Rot: siehe Mehrfachbestimmung		
GT05 E09	EtOAc	1000 ppm	28			75			37		
		500 ppm	53						48		
		250 ppm	75						64		
		125 ppm	80						88		
Anmerkungen:											
GT10 E12	EtOAc	1000 ppm	16			9			14		
		500 ppm	46			41			22		
		250 ppm	67			64			52		
		125 ppm	75			75			82		
		62,5 ppm									
		31,25 ppm									
Anmerkungen:			Rot: siehe Mehrfachbestimmung			Rot: siehe Mehrfachbestimmung			Rot; 250 ppm: I = 49 %, II = 54 %		

LXXXVI

Anlagen

Fortsetzung Anlage 28.

			<i>P. capsici</i> (LT1534)			<i>P. capsici</i> (LT123)			<i>P. capsici</i> (LT263)		
			nach 7 d	nach 14 d	nach 21 d	nach 7 d	nach 14 d	nach 21 d	nach 7 d	nach 14 d	nach 21 d
GT10 E14	EtOAc	1000 ppm	34	64	76	38	67		25	39	54
		500 ppm	47	90	100	58			33	53	74
		250 ppm	60			80			58		
		125 ppm	90			94			88		
		62,5 ppm									
		31,25 ppm									
Anmerkungen:									Rot: siehe Mehrfachbestimmung		
GT11 E12	EtOAc	1000 ppm	45			67			61		
		500 ppm	56								
		250 ppm	71								
		125 ppm	82								
Anmerkungen:											
GT14 E12	EtOAc	1000 ppm	53			62			52		
		500 ppm							72		
		250 ppm							77		
		125 ppm							96		
		62,5 ppm									
		31,25 ppm									
Anmerkungen:			1000 ppm: I = 49 %, II = 57 %						1000 ppm: I = 48 %, II = 56 %		
GT23 E12	EtOAc	1000 ppm	40			35			16		
		500 ppm	66			52			28		
		250 ppm	76			57			51		
		125 ppm	84			73			86		
		62,5 ppm									
		31,25 ppm									
Anmerkungen:						500 ppm: I = 46 %, II = 57 %			Rot: siehe Mehrfachbestimmung		

Fortsetzung Anlage 28.

			<i>P. capsici</i> (LT1534)			<i>P. capsici</i> (LT123)			<i>P. capsici</i> (LT263)		
			nach 7 d	nach 14 d	nach 21 d	nach 7 d	nach 14 d	nach 21 d	nach 7 d	nach 14 d	nach 21 d
GT24 E12	EtOAc	1000 ppm	41			80			42		
		500 ppm	55						81		
		250 ppm	83						81		
		125 ppm	86						102		
		62,5 ppm									
		31,25 ppm									
Anmerkungen:			500 ppm: I = 50 %, II = 60 %								
GT29 E12	EtOAc	1000 ppm	46			52			29		
		500 ppm	52						46		
		250 ppm	56						69		
		125 ppm	58						80		
Anmerkungen:			500 ppm: I = 50 %, II = 53 %								
GT30 E12	EtOAc	1000 ppm	32			56			36		
		500 ppm	34						37		
		250 ppm	48						42		
		125 ppm	53						53		
Anmerkungen:											
GT32 E12	EtOAc	1000 ppm	52			61			58		
		500 ppm									
		250 ppm									
		125 ppm									
		62,5 ppm									
		31,25 ppm									
Anmerkungen:											

LXXXVIII

Anlagen

Fortsetzung Anlage 28.

			<i>P. capsici</i> (LT1534)			<i>P. capsici</i> (LT123)			<i>P. capsici</i> (LT263)		
			nach 7 d	nach 14 d	nach 21 d	nach 7 d	nach 14 d	nach 21 d	nach 7 d	nach 14 d	nach 21 d
GT35 E12	EtOAc	1000 ppm	47			25			21		
		500 ppm	50			56			36		
		250 ppm	52			67			55		
		125 ppm	63			79			78		
		62,5 ppm									
		31,25 ppm									
Anmerkungen:						Rot: fehlt (auch bei LT263)			Rot; 250 ppm: I = 49 %, II = 60 %		
GT36 E09	EtOAc	1000 ppm	51			32			15		
		500 ppm				52			27		
		250 ppm				64			58		
		125 ppm				73			80		
		62,5 ppm									
		31,25 ppm									
Anmerkungen:						500 ppm: I = 45 %, II = 59 %			Rot: siehe Mehrfachbestimmung		
GT36 E12	EtOAc	1000 ppm	47			43			21		
		500 ppm	61			58			30		
		250 ppm	74			65			55		
		125 ppm	84			79			81		
		62,5 ppm									
		31,25 ppm									
Anmerkungen:						500 ppm: I = 50 %, II = 66 %			Rot: siehe Mehrfachbestimmung		

Anmerkungen: nach einer Inkubationsdauer von 7-21 d (angegeben im prozentualen Vergleich zur Kontrolle);
 Werte basieren auf Einfachbestimmungen (Orange) bzw. auf dem Mittelwert von Doppelbestimmungen (Grün);
 GT = Genotyp, E = Erntejahr (z.B. E09 = Erntejahr 2009), EtOAc = Ethylacetat-Phase;
Phytophthora capsici-Isolate (LT1534, LT123, LT263);
 Dunkelrot: Verhältnisverschiebung / fehlende Konzentrationsabhängigkeit

Fortsetzung Anlage 28.

			<i>V. inaequalis</i>					
			nach 7 d	nach 14 d	nach 21 d	nach 28 d	nach 35 d	nach 42 d
GT02 E09	EtOAc	1000 ppm	35	32	30	29	28	30
		500 ppm	34	39	40	43	45	49
		250 ppm	38	60	57			
		125 ppm	69	77	74			
		62,5 ppm						
		31,25 ppm						
Anmerkungen:								
GT02 E12	EtOAc	1000 ppm		28	35	35	35	39
		500 ppm		46	51	47	51	56
		250 ppm		63	61			
		125 ppm		75	70			
		62,5 ppm						
		31,25 ppm						
Anmerkungen:			500 ppm: I = 50 %, II = 52 % (na21d)					
GT05 E09	EtOAc	1000 ppm		23	31	31	31	36
		500 ppm		41	47	46	50	55
		250 ppm		56	57			
		125 ppm		66	64			
Anmerkungen:								
GT10 E12	EtOAc	1000 ppm		0	0	0	0	0
		500 ppm		35	39	42	45	51
		250 ppm		59	59			
		125 ppm		66	68			
		62,5 ppm						
		31,25 ppm						
Anmerkungen:			Rot: siehe Mehrfachbestimmung					

XC

Anlagen

Fortsetzung Anlage 28.

			<i>V. inaequalis</i>					
			nach 7 d	nach 14 d	nach 21 d	nach 28 d	nach 35 d	nach 42 d
GT10 E14	EtOAc	1000 ppm	33	22	23	25	27	30
		500 ppm	47	45	49	49	49	54
		250 ppm	72	71	73			
		125 ppm	89	79	82			
		62,5 ppm						
		31,25 ppm						
Anmerkungen:			Rot: siehe Mehrfachbestimmung					
GT11 E12	EtOAc	1000 ppm	33	26	23	22	22	23
		500 ppm	50	44	47	49	52	56
		250 ppm	69	69	66			
		125 ppm	94	94	91			
Anmerkungen:			Rot: siehe Mehrfachbestimmung					
GT14 E12	EtOAc	1000 ppm	42	50	49	50	... -	
		500 ppm	63	74	75			
		250 ppm	75	97	94			
		125 ppm	106	123	109			
		62,5 ppm						
		31,25 ppm						
Anmerkungen:								
GT23 E12	EtOAc	1000 ppm		15	21	... -		
		500 ppm			41	... -		
		250 ppm			72			
		125 ppm			84			
		62,5 ppm						
		31,25 ppm						
Anmerkungen:			Rot: siehe Mehrfachbestimmung					

XCI

Anlagen

Fortsetzung Anlage 28.

			<i>V. inaequalis</i>					
			nach 7 d	nach 14 d	nach 21 d	nach 28 d	nach 35 d	nach 42 d
GT24 E12	EtOAc	1000 ppm	56	56	49	50	... -	
		500 ppm	88	80	75			
		250 ppm	63	83	77			
		125 ppm	106	111	117			
		62,5 ppm						
		31,25 ppm						
Anmerkungen:								
GT29 E12	EtOAc	1000 ppm		31	37	38	43	43
		500 ppm		50	52	54	57	64
		250 ppm		56	59			
		125 ppm		84	79			
Anmerkungen:			500 ppm: I = 50 %, II = 54 % (na21d)					
GT30 E12	EtOAc	1000 ppm		40	53			
		500 ppm						
		250 ppm						
		125 ppm						
Anmerkungen:								
GT32 E12	EtOAc	1000 ppm	30	48	46	50	... -	
		500 ppm	44	66	75			
		250 ppm	88	86	87			
		125 ppm	100	97	104			
		62,5 ppm						
		31,25 ppm						
Anmerkungen:			500 ppm: I = 44/66/75 %, II = 56/63/72 % (na 7/14/21 d)					

XcII

Anlagen

Fortsetzung Anlage 28.

			<i>V. inaequalis</i>					
			nach 7 d	nach 14 d	nach 21 d	nach 28 d	nach 35 d	nach 42 d
GT35 E12	EtOAc	1000 ppm		32	37	33	36	42
		500 ppm		44	50	51	54	60
		250 ppm		59	61			
		125 ppm		72	75			
		62,5 ppm						
		31,25 ppm						
Anmerkungen:								
GT36 E09	EtOAc	1000 ppm		15	19	... -		
		500 ppm			39	... -		
		250 ppm			56			
		125 ppm			70			
		62,5 ppm						
		31,25 ppm						
Anmerkungen:			Rot: siehe Mehrfachbestimmung					
GT36 E12	EtOAc	1000 ppm		15	30	... -		
		500 ppm			47	... -		
		250 ppm			54			
		125 ppm			78			
		62,5 ppm						
		31,25 ppm						
Anmerkungen:								

Anmerkungen: nach einer Inkubationsdauer von 7-42 d (angegeben im prozentualen Vergleich zur Kontrolle); Werte basieren auf Einfachbestimmungen (Orange) bzw. auf dem Mittelwert von Doppelbestimmungen (Grün);
 GT = Genotyp, E = Erntejahr (z.B. E09 = Erntejahr 2009), EtOAc = Ethylacetat-Phase; *Venturia inaequalis*;
 Dunkelrot: Verhältnisverschiebung / fehlende Konzentrationsabhängigkeit;
V. inaequalis: Fehlende 7 d-Werte sind auf zu diesem Zeitpunkt bei Kontrolle und Probe kaum gewachsenes Myzel zurückzuführen (keine Vermessung/ Darstellung, da Datenunsicherheit). Die niedriger dosierten Extrakte waren v.a. gegenüber *F. culmorum* und FOL race 2 wirksam. Bzgl. Ersterem erzielten die GTs 36 E12, 23 und 10 E12 rel. Wachstumswerte von ≤ 25 % (500 ppm). Gegenüber FOL race 2 konnten die GTs 02 E09, 10 E12, 14 und 36 E12 mit Ø 41-49 % bis 62,5 ppm überzeugen.

Anlage 29: Mehltaubefall von Gerstenblättern im Blattsegmenttest mit Fraktionen der Ethylacetat-Phase des Genotyps 10 Erntejahr 2014 (125 ppm).

PG	Dosis [ppm]	Rik 1	Rik 2	Rik 3	Rik 4	Rik 5	Rik 6	Rik 7	Rik 8	Rik 9	Rik 10	Rik 11	Rik 12	Rik 13	Rik 14	M [%]	SD [%]	
Kontrolle	-	90	90	100	80	90	100	80	90	100	100	90	90	100	100	88	9	
		80	80	80	80	80	100	80	80	80	80	80	90	80	100			80
Frk 1	125	5	10	10	10	20	30	20	20	20	10	10	20	20	20	30	19	7
		20	20	10	10	30	20	20	20	20	20	20	30	20	20	30		
Frk 2	125	20	10	20	20	20	30	30	20	20	20	20	30	20	20	25	9	
		30	40	20	30	20	30	20	20	40	40	30	30	5	40			
Frk 3	125	30	30	30	40	40	30	30	40	40	30	20	20	30	40	40	30	8
		20	30	20	20	30	20	30	40	30	20	40	20	30	40			
Frk 4	125	40	40	50	40	50	40	50	40	50	30	30	50	60	50	52	12	
		60	50	40	70	70	50	70	60	60	60	70	40	70	60			
Frk 5	125	20	10	10	10	20	20	5	10	10	10	10	20	20	20	17	7	
		20	20	20	25	10	20	20	20	20	20	20	30	20	30			0
Frk 6	125	70	40	70	80	40	70	80	50	70	80	70	70	80	70	65	10	
		60	60	60	70	70	70	60	70	60	60	60	60	60	60			
Frk 7	125	30	30	20	20	10	30	20	20	20	30	30	30	10	10	20	8	
		20	20	20	30	30	20	10	10	10	10	10	10	30	10			
Frk 8	125	40	30	40	30	40	40	40	30	30	40	40	30	30	30	32	8	
		20	30	40	20	40	20	20	20	40	40	40	40	30	40			20
Frk 9	125	50	70	70	80	60	70	70	70	60	70	70	70	80	70	64	9	
		60	60	60	60	50	70	60	50	60	60	40	70	70	70			
Frk 10	125	40	40	40	40	50	50	40	40	30	30	30	40	30	40	36	9	
		40	60	40	30	30	30	30	20	30	40	40	40	40	20			30

Anmerkungen: Befall [%], zwei Wochen nach der Mehltauinfektion, 2 unabhängige Versuche;
 PG = Prüfglied, Frk = Fraktion, Rik = Replikat;
 Signifikante Unterschiede im Befallsgrad gegenüber der Kontrolle: alle PGs außer Frk 6, Frk 9
 (Dunnett-Test, $P \leq 0,007$)

Anlage 30: Mehltaubefall von Gerstenblättern im Blattsegmenttest mit Fraktionen der Ethylacetat-Phase des Genotyps 10 Erntejahr 2014 (7 d nach der Infektion).

PG	Dosis [ppm]	Rik 1	Rik 2	Rik 3	Rik 4	Rik 5	Rik 6	Rik 7	Rik 8	Rik 9	Rik 10	Rik 11	Rik 12	Rik 13	Rik 14	M [%]	SD [%]
Kontrolle	-	60	60	60	70	60	70	60	70	60	80	60	60	60	60	64	6
Frk 1	250	10	10	5	0	0	0	10	10	10	10	5	5	5	0	6	4
	125	3	3	10	10	10	5	10	20	20	15	15	20	20	20	13	7
Frk 2	250	0	10	10	5	5	5	3	0	5	10	5	0	0	0	4	4
	125	30	40	20	30	20	30	5	20	40	40	30	30	5	40	27	12
Frk 3	250	20	30	10	20	30	10	10	10	30	20	40	10	10	20	19	10
	125	30	25	30	20	30	25	25	10	30	50	20	20	10	20	25	10
Frk 4	250	10	10	10	30	10	10	0	10	10	10	15	5	5	10	10	7
	125	60	40	40	70	70	40	70	40	60	60	70	40	70	60	56	13
Frk 5	250	20	20	5	25	10	20	3	3	20	20	20	20	30	20	17	8
	125	10	5	10	0	5	10	5	5	5	0	5	5	5	0	5	3
Frk 6	250	50	60	60	70	40	40	60	70	60	80	50	60	60	60	59	11
	125	60	60	60	70	70	70	60	70	60	60	60	60	60	50	62	6
Frk 7	250	10	10	20	10	10	10	0	5	5	5	10	10	20	5	9	6
	125	3	0	0	10	5	3	10	10	5	5	5	5	5	0	5	3
Frk 8	250	20	20	10	30	0	30	20	30	20	30	30	20	20	5	20	10
	125	20	30	20	20	5	5	5	5	20	10	40	30	20	20	18	11
Frk 9	250	0	10	0	0	0	0	30	55	50	0	20	20	20	20	16	19
	125	60	30	30	60	10	40	20	50	20	20	20	40	20	20	31	16
Frk 10	250	0	30	20	20	20	20	40	20	40	30	40	30	20	5	24	12
	125	40	60	0	30	30	30	30	20	30	40	20	20	20	30	29	14

Anmerkungen:

Befall [%], eine Woche nach der Mehltauinfektion, 250 und 125 ppm;

PG = Prüfglied, Frk = Fraktion; Rik = Replikat;

Signifikante Unterschiede im Befallsgrad gegenüber der Kontrolle: alle PGs außer Frk 6 250 ppm, Frk 4, Frk 6 125 ppm (Dunnett-Test, $P \leq 0,027$)

Anlage 31: Mehлтаubefall von Gerstenblättern im Blattsegmenttest mit *Rheum*-typischen Polyphenolstandards (500-32 ppm).

PG	Dosis [ppm]	Rlk 1	Rlk 2	Rlk 3	Rlk 4	Rlk 5	Rlk 6	Rlk 7	Rlk 8	Rlk 9	Rlk 10	Rlk 11	Rlk 12	Rlk 13	Rlk 14	Rlk 15	M [%]	SD [%]	
Kontrolle	-	90	70	90	70	90	80	80	90	90	90	70	90	80	90	70	87	9	
		80	90	90	90	100	80	95	90	90	90	100	90	90	90	100			
Procyanidin B1	500	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	250	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	125	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12	15
		0	20	30	30	30	30	20	20	20	30	50	30	30	0	20	20		
	63	0	20	5	5	20	20	20	20	0	20	30	30	20	5	30	20	16	11
32	20	40	30	30	10	40	30	50	60	10	30	30	10	30	30	30	30	14	
Procyanidin B2	500	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	250	20	20	20	10	10	20	20	10	10	10	10	10	20	10	10	20	15	5
		20	20	20	20	10	20	10	10	10	10	10	10	20	10	10	20	16	9
	20	20	0	30	20	30	30	0	20	20	0	0	30	20	25				
	63	70	40	20	40	40	30	40	5	5	50	30	30	5	10	30	30	18	
32	50	50	50	30	30	0	60	60	60	40	60	60	60	60	60	60	49	17	
Procyanidin C1	500	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	250	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	10
	5	20	20	0	20	0	20	30	30	20	20	0	0	10	10				
	63	20	20	50	30	50	50	30	30	30	70	50	50	20	20	20	20	36	16
32	70	80	70	70	80	70	70	70	70	80	80	70	70	70	70	80	73	5	

Anmerkungen:

Befall [%], zwei Wochen nach der Mehлтаuinfection;

PG = Prüfglied, Rlk = Replikat;

Das Procyanidin B2 zeigte in höheren Dosierungen (125+250 ppm) eine vergleichsweise schwache Mehлтаuwirkung.

Bei 63 und 32 ppm fiel jedoch die Wirkung des Procyanidin C1 am stärksten ab.

Signifikante Unterschiede im Befallsgrad gegenüber der Kontrolle: alle PGs außer Procyanidin C1 63 ppm, Procyanidin B2, Procyanidin C1 32 ppm (Dunn-Test vs. Kontrolle, $P \leq 0,034$)

Fortsetzung Anlage 31.

PG	Dosis [ppm]	Rik 1	Rik 2	Rik 3	Rik 4	Rik 5	Rik 6	Rik 7	Rik 8	Rik 9	Rik 10	Rik 11	Rik 12	Rik 13	Rik 14	Rik 15	M [%]	SD [%]	
Kontrolle	-	90	70	90	70	90	80	80	90	90	90	70	90	80	90	70	87	9	
		80	90	90	90	100	80	95	90	90	90	100	90	90	90	100			
C	500	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	250	0	0	10	10	5	5	10	10	10	5	5	5	0	0	0	5	4	
	125	10	10	0	0	10	10	10	10	5	5	10	0	0	10	10	18	15	
		30	30	30	0	50	30	30	30	30	20	30	30	40	20	50			
	63	40	40	40	40	60	60	60	60	60	60	50	30	40	50	40	45	48	10
32	80	80	70	70	80	80	80	80	80	70	80	80	80	80	80	80	78	4	
EC	500	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	250	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	125	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	7
		0	0	0	0	0	0	5	0	0	30	20	20	0	0	0			
	63	20	20	50	20	20	0	5	0	30	20	0	20	20	50	10	19	16	
32	30	20	0	20	20	10	10	10	10	5	30	10	30	30	50	19	13		
EGC	500	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	250	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	125	0	10	10	10	10	10	5	5	5	10	10	10	10	10	10	13	8	
		10	20	20	10	20	30	30	5	5	20	20	20	30	15	10			
	63	20	5	30	15	5	20	20	30	5	5	10	60	25	5	20	18	15	
32	0	40	30	30	0	30	20	20	0	50	20	20	20	20	25	22	14		
EGCG	500	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	250	5	5	5	0	0	0	5	5	5	0	0	5	5	5	0	3	3	
	125	5	20	20	0	10	10	20	20	5	10	10	5	5	5	20	6	7	
		0	9	5	0	0	0	10	0	0	0	5	0	0	0				
	63	0	30	30	0	40	10	30	0	20	20	0	0	30	30	20	17	14	
32	5	20	50	60	30	60	30	20	30	20	50	40	50	20	30	34	17		
EGCGG	500	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	250	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	125	10	10	10	10	10	5	5	5	10	20	20	10	20	10	10	13	8	
		0	0	20	10	20	5	0	20	20	30	20	20	20	30	15			
	63	30	20	20	10	0	30	40	30	20	30	40	40	20	20	20	25	11	
32	30	35	50	20	20	30	20	30	60	40	10	10	10	10	10	26	16		

Anmerkungen:

Befall [%], zwei Wochen nach der Mehltauinfektion;

PG = Prüfglied, C = Catechin, EC = Epicatechin, EGC = Epigallocatechin, ECG = Epicatechingallat, EGCG = Epigallocatechingallat, Rik = Replikat;

Das C zeigte eine vergleichsweise schwache Mehltauwirkung.

Signifikante Unterschiede im Befallsgrad gegenüber der Kontrolle: alle PGs außer C, EGCG 63 ppm, C, ECG, EGCG 32 ppm

(Dunn-Test vs. Kontrolle, $P \leq 0,007$)

Fortsetzung Anlage 31.

PG	Dosis [ppm]	Rik 1	Rik 2	Rik 3	Rik 4	Rik 5	Rik 6	Rik 7	Rik 8	Rik 9	Rik 10	Rik 11	Rik 12	Rik 13	Rik 14	Rik 15	M [%]	SD [%]	
Kontrolle	-	90	70	90	70	90	80	80	90	90	90	70	90	80	90	70	87	9	
		80	90	90	90	100	80	95	90	90	90	100	90	90	90	100			
THSG	500	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	250	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	125	0	5	5	5	5	5	5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	21	21
		50	40	50	30	50	50	50	50	50	30	20	30	20	20	50			
	63	70	20	20	60	0	40	40	40	40	40	50	30	50	20	30	20	35	18
	32	80	80	80	80	80	80	90	80	80	90	80	80	80	80	80	70	81	5
PIC	500	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	250	0	5	5	5	5	5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	2	3	
	125	0	5	5	5	5	0	5	5	5	5	5	5	5	5	5	0	10	18
		0	10	0	40	60	60	0	0	0	50	0	0	0	15	15			
	63	0	0	0	70	20	0	20	50	50	0	70	5	50	30	30	26	26	
	32	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	0
RHA	500	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	250	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	125	10	10	10	5	5	5	10	10	20	5	5	10	5	10	20	12	10	
		30	0	20	10	0	0	5	30	0	0	30	30	30	20	10			
	63	20	5	0	0	50	30	50	20	20	30	20	0	0	0	0	16	18	
	32	40	50	30	0	30	30	30	30	0	30	30	30	60	30	30	0	28	17
RES	500	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	250	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	125	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	10	
		20	20	20	0	20	10	0	20	10	20	30	20	10	10	0			
	63	30	30	0	20	20	10	20	20	20	20	20	20	10	10	10	0	16	9
	32	30	60	40	70	60	30	60	30	40	40	40	40	50	60	35	30	45	14
DRHA	500	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	250	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	125	5	5	5	5	10	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	12	11	
		0	0	30	50	20	20	30	20	20	20	20	20	20	10	10			
	63	70	5	30	20	50	30	20	20	20	20	20	20	30	30	5	5	25	17
	32	50	50	50	50	50	50	50	50	40	50	40	40	50	50	50	50	48	4

Anmerkungen: Befall [%], zwei Wochen nach der Mehltauinfektion; PG = Prüfglied, THSG = 3,4',5-Trihydroxystilben-3-O-β-D-glucosid / -glucopyranosid (Piceid), PIC = Piceatannol, RHA = Rhaponticin, RES = Resveratrol, DRHA = Desoxyrhaponticin, Rik = Replikat; Bei 32 ppm fiel die Wirkung des THSG und des PIC am stärksten ab. RHA und RES zeigten auch bei 63 ppm eine gute Mehltauwirkung. Signifikante Unterschiede im Befallsgrad gegenüber der Kontrolle: alle PGs außer THSG 63 ppm, THSG, PIC, RES, DRHA 32 ppm (Dunn-Test vs. Kontrolle, $P \leq 0,023$)

Anlage 32: Mehltaubefall von Gerstenblättern im Blattsegmenttest mit den Polyphenolstandards Epicatechingallat und Resveratrol in Einzel- und Kombinationsanwendungen (20 d nach der Infektion).

PG	Dosis [ppm]	Rik 1	Rik 2	Rik 3	Rik 4	Rik 5	Rik 6	Rik 7	Rik 8	Rik 9	Rik 10	Rik 11	Rik 12	Rik 13	Rik 14	Rik 15	M [%]	SD [%]
Kontrolle	-	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	0
ECG	125	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	63	10	10	10	10	10	20	10	10	20	10	20	10	10	10	10	13	5
	32	10	20	20	10	10	20	20	20	10	20	20	20	10	10	10	15	5
	16	30	30	40	20	50	40	40	40	30	40	60	60	20	50	40	39	12
	8	90	100	80	90	90	90	80	90	80	80	90	80	100	90	100	90	89
RES	125	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	63	10	10	20	20	20	20	20	10	10	20	20	40	20	20	40	20	9
	32	20	10	10	10	10	20	20	10	20	10	20	20	20	20	10	15	5
	16	20	20	20	20	30	20	20	20	30	20	20	30	10	20	30	22	6
	8	40	40	40	30	20	30	40	30	30	30	40	30	20	30	40	33	7
ECG + RES	32+32	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ECG + RES	16+16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ECG + RES	8+8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ECG + RES	32+16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ECG + RES	16+8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ECG + RES	16+32	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ECG + RES	8+16	5	10	10	5	10	5	10	0	5	5	5	10	10	5	5	7	3
ECG + RES	63+16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ECG + RES	32+8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ECG + RES	16+63	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ECG + RES	8+32	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Anmerkungen: Befall [%], 20 d nach der Mehltauinfektion;
 PG = Prüfglied, ECG = Epicatechingallat, RES = Resveratrol, Rik = Replikat;
 Signifikante Unterschiede im Befallsgrad gegenüber der Kontrolle: 125-32 ppm ECG, 125-16 ppm RES, alle kombinierten PGs außer 8+16 ppm (Dunnnett-Test, $P < 0,001$)

Anlagen

Anlage 33: Beobachtete und nach der Colby-Formel berechnete Wirkungsgrade der kombinierten Standardverbindungen Epicatechingallat und Resveratrol sowie Rhaponticin und Procyanidin B2 im Blattsegmenttest gegenüber Gerstenmehltau.

		Beobachteter Wirkungsgrad [%]	Berechneter Wirkungsgrad [%]
Epicatechingallat + Resveratrol	Dosis [ppm]	20 d nach der Infektion	
	32+32	100	98
	16+16	100	91
	8+8	100	71
	32+16	100	97
	16+8	100	87
	16+32	100	94
	8+16	93	80
	63+16	100	97
	32+8	100	95
	16+63	100	92
	8+32	100	86
	Rhaponticin + Procyanidin B2	Dosis [ppm]	10 d nach der Infektion
32+32		100	99
16+16		96	97
8+8		81	70
32+16		100	98
16+8		98	90
16+32		100	99
8+16		84	92
63+16		100	98
32+8		100	94
16+63		100	99
8+32		100	96
Rhaponticin + Procyanidin B2		Dosis [ppm]	20 d nach der Infektion
	32+32	100	99
	16+16	95	97
	8+8	72	71
	32+16	100	98
	16+8	98	90
	16+32	100	97
	8+16	85	91
	63+16	100	98
	32+8	100	95
	16+63	100	98
	8+32	100	92

Anlage 34: Mehltaubefall von Gerstenblättern im Blattsegmenttest mit den Polyphenolstandards Rhaponticin und Procyanidin B2 in Einzel- und Kombinationsanwendungen.

PG	Dosis [ppm]	Rik 1	Rik 2	Rik 3	Rik 4	Rik 5	Rik 6	Rik 7	Rik 8	Rik 9	Rik 10	Rik 11	Rik 12	Rik 13	Rik 14	Rik 15	M [%]	SD [%]	
Kontrolle	-	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	0	
RHA	125	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	63	5	5	5	5	5	5	10	5	10	5	10	5	5	5	5	6	2	
	32	5	5	5	5	5	5	5	10	5	10	10	5	5	5	5	6	2	
	16	10	10	10	10	20	10	10	20	5	5	10	10	10	10	10	11	4	
	8	30	20	30	40	30	40	30	40	30	30	30	30	40	30	20	30	31	6
PRO B2	125	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	63	5	5	5	20	5	5	10	5	10	10	5	10	5	10	5	8	4	
	32	5	5	5	10	20	20	10	5	10	10	5	10	10	10	5	9	5	
	16	20	20	10	20	30	20	20	20	30	20	20	20	20	10	20	30	21	6
	8	70	80	70	80	70	80	70	80	80	80	80	70	80	80	80	80	77	5
RHA + PRO B2	32+32	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
RHA + PRO B2	16+16	5	5	5	5	5	5	5	0	0	5	5	0	0	10	0	4	3	
RHA + PRO B2	8+8	20	30	30	20	5	20	5	5	5	20	20	20	20	20	20	17	8	
RHA + PRO B2	32+16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
RHA + PRO B2	16+8	0	0	0	0	0	0	5	0	5	0	0	5	5	5	0	2	2	
RHA + PRO B2	16+32	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
RHA + PRO B2	8+16	5	5	20	20	5	5	10	20	10	30	20	10	20	10	20	14	8	
RHA + PRO B2	63+16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
RHA + PRO B2	32+8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
RHA + PRO B2	16+63	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
RHA + PRO B2	8+32	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

Anmerkungen:

Befall [%], 10 d nach der Mehltauinfektion;

PG = Prüfglied, RHA = Rhaponticin, PRO B2 = Procyanidin B2, Rik = Replikat;

Signifikante Unterschiede im Befallsgrad gegenüber der Kontrolle: 125-16 ppm RHA, 125-32 ppm PRO B2, alle kombinierten PGs außer 8+16 und 8+8 ppm (Dunnett-Test, $P \leq 0,008$)

D

Anlagen

Fortsetzung Anlage 34.

PG	Dosis [ppm]	Rik 1	Rik 2	Rik 3	Rik 4	Rik 5	Rik 6	Rik 7	Rik 8	Rik 9	Rik 10	Rik 11	Rik 12	Rik 13	Rik 14	Rik 15	M [%]	SD [%]
Kontrolle	-	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	0
RHA	125	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	63	5	5	5	5	5	5	10	5	10	5	10	5	5	5	5	6	2
	32	5	5	5	5	5	5	5	10	5	10	10	5	5	5	5	6	2
	16	10	10	10	10	20	10	10	20	10	10	10	10	20	10	10	12	4
	8	40	30	30	40	30	40	30	40	40	40	40	30	40	30	20	30	34
PRO B2	125	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	63	10	20	20	20	10	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	19	4
	32	30	20	20	20	30	20	20	20	20	20	20	20	20	40	20	23	6
	16	30	30	20	20	30	20	20	30	30	20	20	30	20	40	30	26	6
	8	80	80	90	90	80	80	80	80	80	90	90	80	80	80	90	90	84
RHA + PRO B2	32+32	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
RHA + PRO B2	16+16	5	5	5	5	10	10	5	0	10	5	10	0	0	10	0	5	4
RHA + PRO B2	8+8	20	30	30	40	30	20	30	30	20	20	40	20	50	20	20	28	9
RHA + PRO B2	32+16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
RHA + PRO B2	16+8	0	0	0	0	0	0	5	0	5	0	0	5	5	5	0	2	2
RHA + PRO B2	16+32	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
RHA + PRO B2	8+16	5	10	20	20	5	10	10	20	10	30	20	10	20	10	20	15	7
RHA + PRO B2	63+16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
RHA + PRO B2	32+8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
RHA + PRO B2	16+63	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
RHA + PRO B2	8+32	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Anmerkungen:

Befall [%], 20 d nach der Mehltauinfektion;

PG = Prüfglied, RHA = Rhaponticin, PRO B2 = Procyanidin B2, Rik = Replikat;

Der gegenüber der Kontrolle reduzierte Gerstenmehltaubefall war bei allen Prüfgliedern signifikant (Dunnett-Test, $P < 0,001$).

Signifikante Unterschiede im Befallsgrad gegenüber der Kontrolle: 125-16 ppm RHA, 125-16 ppm PRO B2, alle kombinierten PGs außer 8+16 und 8+8 ppm (Dunnett-Test, $P \leq 0,031$)

Anlage 35: Penetrationswege von Gerstenmehltau nach der Behandlung von Gerstenpflanzen mit der Ethylacetat-Phase des Genotyps 10 Erntejahr 2014.

		Kontrolle					GT10 E14 EtOAc-Phase 500 ppm					GT10 E14 EtOAc-Phase 250 ppm					GT10 E14 EtOAc-Phase 125 ppm				
24 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
Zw	T	66	71	79	67	81	58	54	86	68	76	62	67	75	50	62	76	71	66	77	69
Zzr	T	32	21	18	24	14	38	38	14	27	24	31	30	25	32	32	18	24	28	19	23
Sö	T	2	9	3	10	5	4	8	0	5	0	8	3	0	18	5	6	5	6	5	8
48 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
Zw	T	70	64	55	74	70	71	78	75	41	64	72	61	60	73	67	61	56	56	53	60
Zzr	T	27	33	41	19	23	21	22	25	53	36	28	27	33	24	29	33	35	38	35	34
Sö	T	3	2	5	6	7	7	0	0	6	0	0	12	7	3	4	6	8	5	11	6
72 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
Zw	T	66	71	54	62	43	58	60	65	60	48	46	50	39	62	53	48	52	55	47	56
Zzr	T	23	14	35	23	39	33	30	19	27	29	38	13	26	18	27	15	30	16	20	25
Sö	T	3	5	3	0	0	8	0	4	0	5	0	0	6	2	5	7	2	4	2	2
24 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
Zw	D+T	65	62	56	62	64	71	65	66	64	75	71	59	65	56	50	54	60	58	61	68
Zzr	D+T	27	26	38	38	29	29	26	24	18	20	14	34	27	34	43	37	38	36	37	28
Sö	D+T	8	11	5	0	7	0	9	10	18	5	14	7	8	9	7	10	2	6	2	3
48 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
Zw	D+T	49	52	58	50	46	60	56	48	64	67	62	63	59	52	62	53	57	56	55	47
Zzr	D+T	41	29	26	39	41	16	32	32	36	30	24	29	23	21	24	27	28	38	23	34
Sö	D+T	2	18	5	3	5	8	12	8	0	0	0	0	13	12	3	8	9	2	13	5
72 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
Zw	D+T	63	59	44	42	39	34	53	63	67	33	60	69	43	56	55	55	62	39	41	54
Zzr	D+T	18	22	37	26	37	40	28	26	22	47	25	27	33	25	26	27	22	38	44	21
Sö	D+T	2	2	1	4	6	9	0	4	0	9	8	4	5	6	6	9	2	9	3	2
48 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
Zw	NBT	60	46	49	48	56	46	61	56	36	69	73	41	44	56	48	57	78	41	50	53
Zzr	NBT	37	36	32	47	38	38	26	42	42	19	20	49	32	31	36	33	22	40	43	30
Sö	NBT	3	4	6	1	0	3	6	0	2	4	8	4	9	10	3	6	0	5	4	5

Anmerkungen:

Angabe in % von PZ (PZ = penetrierte Zellen [gekeimte Konidien]);
 HAI = engl. hours after infection (Stunden nach der Infektion), Zw = Zellwand, Zzr = Zellzwischenraum, Sö = Spaltöffnung, T = Tintenanfärbung,
 D+T = Doppelfärbung mit 3,3'-Diaminobenzidin (DAB) + Tinte, NBT = Anfärbung mit Nitroblautetrazoliumchlorid (NBT), GT = Genotyp,
 E = Erntejahr (z.B. E14 = Erntejahr 2014), EtOAc = Ethylacetat, BS = Blattsegment

Anlage 36: Penetrationswege von Gerstenmehltau nach der Infektion von Gerstenpflanzen der resistenten Linie 'Ingrid'.

		WT Mlo					mlo5					Mla12					Mlg21				
48 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
Zw	T	48	59	50	45	50	54	62	49	64	66	48	54	71	44	58	33	56	53	52	56
Zzr	T	43	28	39	45	36	43	33	47	30	18	41	40	21	31	35	56	41	28	33	40
Sö	T	7	8	6	4	5	4	5	4	7	13	7	4	4	7	0	9	3	10	5	4
48 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
Zw	D+T	64	60	58	37	42	45	58	55	49	52	50	46	52	61	52	59	48	42	49	53
Zzr	D+T	24	29	36	46	44	35	37	29	40	27	44	46	29	29	40	30	29	18	38	43
Sö	D+T	7	2	5	9	8	18	6	16	11	21	3	4	5	11	5	5	8	11	8	2

Anmerkungen:

Angabe in % von PZ (PZ = penetrierte Zellen [gekeimte Konidien]);

HAI = engl. hours after infection (Stunden nach der Infektion), Zw = Zellwand, Zzr = Zellzwischenraum, Sö = Spaltöffnung, T = Tintenanfärbung,

D+T = Doppelfärbung mit 3,3'-Diaminobenzidin (DAB) + Tinte, WT = Wildtyp, BS = Blattsegment

Anlage 37: Sekundärhyphenrate von Gerstenmehltau nach der Behandlung von Gerstenpflanzen mit der Ethylacetat-Phase des Genotyps 10 Erntejahr 2014.

		Kontrolle					GT10 E14 EtOAc-Phase 500 ppm					GT10 E14 EtOAc-Phase 250 ppm					GT10 E14 EtOAc-Phase 125 ppm				
24 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	D+T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
48 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	D+T	7	2	12	8	8	16	0	12	0	3	15	7	5	14	11	11	7	4	9	13
	NBT	0	14	13	4	5	13	6	3	20	8	0	6	15	2	12	4	0	14	4	12
72 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
	T	9	10	8	15	17	0	10	12	13	19	15	38	29	18	15	30	16	25	31	18
	D+T	16	17	18	28	19	17	20	7	11	12	6	0	19	13	13	9	15	14	12	23

2

Anmerkungen: Angabe in % von PZ (PZ = penetrierte Zellen [gekeimte Konidien]);
HAI = engl. hours after infection (Stunden nach der Infektion), T = Tintenanfärbung, D+T = Doppelfärbung mit 3,3'-Diaminobenzidin (DAB) + Tinte,
NBT = Anfärbung mit Nitroblautetrazoliumchlorid (NBT), GT = Genotyp, E = Erntejahr (z.B. E14 = Erntejahr 2014), EtOAc = Ethylacetat, BS = Blattsegment

Anlage 38: Sekundärhyphenrate von Gerstenmehltau nach der Infektion von Gerstenpflanzen der resistenten Linie 'Ingrid'.

		WT Mlo					mlo5					Mla12					Mlg21				
48 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
	T	1	5	6	7	10	0	0	0	0	3	4	2	4	18	8	2	0	8	10	0
	D+T	5	9	2	7	6	3	0	0	0	0	3	4	14	0	2	5	15	29	5	2

Anmerkungen: Angabe in % von PZ (PZ = penetrierte Zellen [gekeimte Konidien]);
HAI = engl. hours after infection (Stunden nach der Infektion), T = Tintenanfärbung, D+T = Doppelfärbung mit 3,3'-Diaminobenzidin (DAB) + Tinte,
WT = Wildtyp, BS = Blattsegment

Anlage 39: Penetrationswege von Gerstenmehltau nach der Behandlung von Gerstenpflanzen mit 250 ppm der Genotyp 10-Fraktionen 2 und 5 sowie 125 ppm der Standardsubstanzen Epicatechingallat und Resveratrol.

		Kontrolle					Frk 2					ECG					Frk 5					RES				
24 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
Zw	T	63	57	53	50	48	56	90	56	57	69	70	51	70	54	59	50	44	59	69	52	50	40	62	75	55
Zzr	T	35	38	37	37	36	44	10	31	29	21	30	43	23	43	39	50	44	29	26	38	38	47	38	21	36
Sö	T	0	5	10	13	16	0	0	13	14	10	0	6	7	3	2	0	13	12	6	10	12	13	0	4	9
48 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
Zw	T	45	77	49	63	39	69	69	61	60	51	68	63	60	57	58	59	76	71	76	50	43	59	40	44	44
Zzr	T	36	20	37	21	50	19	25	29	23	44	14	22	37	36	32	38	10	21	24	23	37	26	46	33	35
Sö	T	5	0	11	5	0	13	6	3	10	2	18	15	3	2	6	3	10	9	0	23	14	13	7	13	7
72 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
Zw	T	50	43	48	35	45	56	50	60	50	41	54	59	50	60	36	63	67	63	61	55	60	39	42	65	62
Zzr	T	25	33	29	44	37	38	22	30	40	46	34	26	40	22	53	29	27	31	39	38	32	52	36	20	29
Sö	T	0	8	10	6	8	5	22	10	3	8	8	7	10	8	2	4	7	6	0	0	4	6	11	10	6
24 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
Zw	D+T	53	52	78	59	49	64	65	68	86	63	48	65	62	62	53	71	63	64	57	73	74	62	55	75	72
Zzr	D+T	33	39	22	36	42	27	32	19	0	33	41	26	38	29	34	24	33	28	30	23	26	33	38	17	19
Sö	D+T	15	9	0	5	9	9	3	13	14	3	10	10	0	9	13	5	4	8	14	5	0	4	7	8	9
48 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
Zw	D+T	56	64	63	54	46	59	81	71	67	56	54	57	48	50	67	68	73	65	71	42	75	56	65	59	59
Zzr	D+T	33	31	22	28	43	37	13	25	27	44	32	37	36	47	28	27	23	29	25	35	13	40	29	26	32
Sö	D+T	5	2	7	7	4	4	6	4	7	0	11	7	9	0	2	0	0	3	4	13	13	4	6	3	5
72 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
Zw	D+T	64	48	51	57	45	54	76	57	59	61	63	53	53	47	55	43	76	75	54	67	56	49	56	54	41
Zzr	D+T	20	36	31	33	29	31	10	32	35	30	32	37	38	39	39	43	18	22	29	29	26	36	32	32	33
Sö	D+T	2	3	1	3	5	3	3	9	5	9	5	2	10	5	3	14	6	3	6	4	11	0	5	5	5
48 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
Zw	NBT	58	45	48	47	40	59	47	62	55	39	49	52	64	61	47	53	47	45	42	54	55	50	52	47	38
Zzr	NBT	42	42	48	44	22	36	42	35	34	47	43	34	30	34	34	36	49	42	45	35	38	43	34	41	54
Sö	NBT	0	8	1	2	3	4	2	3	0	6	4	10	0	2	5	6	4	9	12	9	6	4	9	6	9

Anmerkungen:

Angabe in % von PZ (PZ = penetrierte Zellen [gekeimte Konidien]);
HAI = engl. hours after infection (Stunden nach der Infektion), Zw = Zellwand, Zzr = Zellzwischenraum, Sö = Spaltöffnung, T = Tintenanfärbung,
D+T = Doppelfärbung mit 3,3'-Diaminobenzidin (DAB) + Tinte, NBT = Anfärbung mit Nitroblautetrazoliumchlorid (NBT), Frk = Fraktion,
ECG = Epicatechingallat, RES = Resveratrol, BS = Blattsegment

Anlage 40: Sekundärhyphenrate von Gerstenmehltau nach der Behandlung von Gerstenpflanzen mit 250 ppm der Genotyp 10-Fractionen 2 und 5 sowie 125 ppm der Standardsubstanzen Epicatechingallat und Resveratrol.

		Kontrolle					Frk 2					ECG					Frk 5					RES				
24 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
	T	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	D+T	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
48 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
	T	14	3	4	12	11	0	0	6	7	2	0	0	0	5	3	0	5	0	0	4	6	3	7	10	14
	D+T	5	4	7	11	7	0	0	0	0	0	3	0	7	3	2	5	3	3	0	11	0	0	0	12	5
	NBT	0	4	3	7	36	2	9	0	11	9	4	4	6	2	13	5	0	4	1	2	2	3	5	6	0
72 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
	T	25	15	14	14	10	0	6	0	7	5	4	7	0	10	9	4	0	0	0	7	4	3	11	5	3
	D+T	15	13	16	7	20	13	10	2	0	0	0	8	0	9	3	0	0	0	10	0	7	15	8	8	21

Anmerkungen:

Angabe in % von PZ (PZ = penetrierte Zellen [gekeimte Konidien]);

HAI = engl. hours after infection (Stunden nach der Infektion), T = Tintenanfärbung, D+T = Doppelfärbung mit 3,3'-Diaminobenzidin (DAB) + Tinte,

NBT = Anfärbung mit Nitroblautetrazoliumchlorid (NBT), Frk = Fraktion, ECG = Epicatechingallat, RES = Resveratrol, BS = Blattsegment

Anlage 41: Papillenformationsrate gegenüber Gerstenmehltau nach der Behandlung von Gerstenpflanzen mit der Ethylacetat-Phase des Genotyps 10 Erntejahr 2014.

Eff. Papillen		Kontrolle					GT10 E14 EtOAc-Phase 500 ppm					GT10 E14 EtOAc-Phase 250 ppm					GT10 E14 EtOAc-Phase 125 ppm				
24 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
	D+T	10	4	6	8	4	7	35	7	18	0	11	14	27	9	11	7	3	6	8	5
48 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
	D+T	9	3	9	3	8	12	4	8	5	10	9	17	8	5	14	18	7	7	23	8
72 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
	D+T	2	3	12	0	6	9	13	7	4	30	15	0	28	3	26	16	28	14	23	12
Ineff. Papillen		Kontrolle					GT10 E14 EtOAc-Phase 500 ppm					GT10 E14 EtOAc-Phase 250 ppm					GT10 E14 EtOAc-Phase 125 ppm				
24 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
	D+T	5	8	3	3	0	0	0	0	5	5	0	0	0	3	2	12	3	0	4	7
CV		100	100	100	100	-	-	-	-	100	100	-	-	-	100	100	100	100	-	100	100
HAU		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
48 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
	D+T	14	5	14	17	18	12	0	12	9	3	6	0	0	2	8	10	7	9	8	3
CV		33	33	33	18	27	0	-	0	50	0	50	-	-	0	33	33	0	25	0	0
HAU		67	67	67	82	73	100	-	100	50	100	150	-	-	100	33	67	100	75	100	100
72 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
	D+T	4	2	15	2	13	2	8	0	4	9	8	0	3	6	11	7	17	6	7	4
CV		0	0	30	0	14	0	0	-	0	50	25	-	0	0	40	0	10	0	20	50
HAU		100	100	70	100	86	100	100	-	100	50	75	-	100	100	60	100	90	100	80	50

Anmerkungen:

Angabe in % von PZ (PZ = penetrierte Zellen [gekeimte Konidien]);

Eff. = effektiv, Ineff. = ineffektiv, HAI = engl. hours after infection (Stunden nach der Infektion), D+T = Doppelfärbung mit 3,3'-Diaminobenzidin (DAB) + Tinte, CV = cytoplasmatische Verdichtungen, HAU = Haustorien (voll ausgebildete), GT = Genotyp, E = Erntejahr (z.B. E14 = Erntejahr 2014), EtOAc = Ethylacetat, BS = Blattsegment

Anlage 42: Hypersensitivitätsreaktionsrate gegenüber Gerstenmehltau nach der Behandlung von Gerstenpflanzen mit der Ethylacetat-Phase des Genotyps 10 Erntejahr 2014.

		Kontrolle					GT10 E14 EtOAc-Phase 500 ppm					GT10 E14 EtOAc-Phase 250 ppm					GT10 E14 EtOAc-Phase 125 ppm				
24 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
	D+T	0	0	1	2	0	7	0	3	0	5	0	0	4	0	5	5	2	5	6	2
48 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
	D+T	0	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	3	0	3	8	0	0	4	0
72 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
	D+T	2	0	6	0	0	0	3	0	0	0	0	0	3	3	0	2	0	5	0	4

Anmerkungen: Angabe in % von PZ (PZ = penetrierte Zellen [gekeimte Konidien]);
HAI = engl. hours after infection (Stunden nach der Infektion), D+T = Doppelfärbung mit 3,3'-Diaminobenzidin (DAB) + Tinte, GT = Genotyp,
E = Erntejahr (z.B. E14 = Erntejahr 2014), EtOAc = Ethylacetat, BS = Blattsegment

Anlage 43: Papilleninformationsrate gegenüber Gerstenmehltau nach der Infektion von Gerstenpflanzen der resistenten Linie 'Ingrid'.

Eff. Papillen		WT Mlo					mlo5					Mla12					Mlg21				
48 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
	D+T	7	10	17	4	3	33	37	0	26	24	17	37	19	21	12	24	25	11	19	23
Ineff. Papillen		WT Mlo					mlo5					Mla12					Mlg21				
48 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
	D+T	15	19	14	22	8	10	13	3	4	3	11	8	9	4	12	5	12	8	11	9
CV		25	45	56	40	67	50	0	0	50	0	75	25	40	0	60	100	33	67	0	80
HAU		75	55	44	60	33	50	100	100	50	100	25	75	60	100	40	0	67	33	100	20

Anmerkungen: Angabe in % von PZ (PZ = penetrierte Zellen [gekeimte Konidien]);
 Eff. = effektiv, Ineff. = ineffektiv, HAI = engl. hours after infection (Stunden nach der Infektion), D+T = Doppelfärbung mit 3,3'-Diaminobenzidin (DAB) + Tinte,
 CV = cytoplasmatische Verdichtungen, HAU = Haustorien (voll ausgebildete), WT = Wildtyp, BS = Blattsegment

Anlage 44: Hypersensitivitätsreaktionsrate gegenüber Gerstenmehltau nach der Infektion von Gerstenpflanzen der resistenten Linie 'Ingrid'.

		WT Mlo					mlo5					Mla12					Mlg21				
48 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
	D+T	0	2	0	3	0	0	0	6	2	0	3	2	2	4	5	0	0	0	0	0

Anmerkungen: Angabe in % von PZ (PZ = penetrierte Zellen [gekeimte Konidien]);
 HAI = engl. hours after infection (Stunden nach der Infektion), D+T = Doppelfärbung mit 3,3'-Diaminobenzidin (DAB) + Tinte, WT = Wildtyp,
 BS = Blattsegment

CX

Anlagen

Anlage 45: Papilleninformationsrate gegenüber Gerstenmehltau nach der Behandlung von Gerstenpflanzen mit 250 ppm der Genotyp 10-Fractionen 2 und 5 sowie 125 ppm der Standardsubstanzen Epicatechingallat und Resveratrol.

Ineff. Papillen		Kontrolle					Frk 2					ECG					Frk 5					RES				
24 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
	D+T	22	42	2	11	30	14	5	3	14	7	17	13	0	12	9	5	11	12	22	5	5	20	10	4	16
CV		83	67	100	83	86	100	100	100	100	100	60	75	-	75	100	100	100	100	100	100	100	78	100	100	100
HAU		17	33	0	17	14	0	0	0	0	0	40	25	-	25	0	0	0	0	0	0	0	22	0	0	0
48 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
	D+T	7	5	30	21	38	7	0	7	17	12	3	0	9	6	20	16	0	6	0	9	8	8	6	9	0
CV		0	67	30	42	38	50	-	50	20	67	0	-	60	50	67	33	-	0	-	60	50	50	100	33	-
HAU		100	33	70	58	62	50	-	50	80	33	100	-	40	50	33	67	-	100	-	40	50	50	0	67	-
72 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
	D+T	11	15	12	16	24	10	3	21	8	9	10	10	10	14	12	5	0	3	2	4	13	5	5	3	11
CV		50	73	50	45	54	50	0	50	67	33	83	83	100	56	50	100	-	100	100	100	43	0	33	100	75
HAU		50	27	50	55	46	50	100	50	33	67	17	17	0	44	50	0	-	0	0	0	57	100	67	0	25

Anmerkungen: Angabe in % von PZ (PZ = penetrierte Zellen [gekeimte Konidien]);
 Eff. = effektiv, Ineff. = ineffektiv, HAI = engl. hours after infection (Stunden nach der Infektion), D+T = Doppelfärbung mit 3,3'-Diaminobenzidin (DAB) + Tinte,
 CV = cytoplasmatische Verdichtungen, HAU = Haustorien (voll ausgebildete), Frk = Fraktion, ECG = Epicatechingallat, RES = Resveratrol,
 BS = Blattsegment

Anlage 46: Hypersensitivitätsreaktionsrate gegenüber Gerstenmehltau nach der Behandlung von Gerstenpflanzen mit 250 ppm der Genotyp 10-Fraktionen 2 und 5 sowie 125 ppm der Standardsubstanzen Epicatechingallat und Resveratrol.

		Kontrolle					Frk 2					ECG					Frk 5					RES				
		BS1	BS2	BS3	BS4	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
24 HAI	D+T	2	2	2	0	14	0	0	3	0	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
48 HAI	D+T	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	5	0	9	0	13	4	0	0	0	0
72 HAI	D+T	2	0	0	0	0	3	3	2	3	3	3	2	3	5	2	0	3	3	6	0	0	2	5	5	1

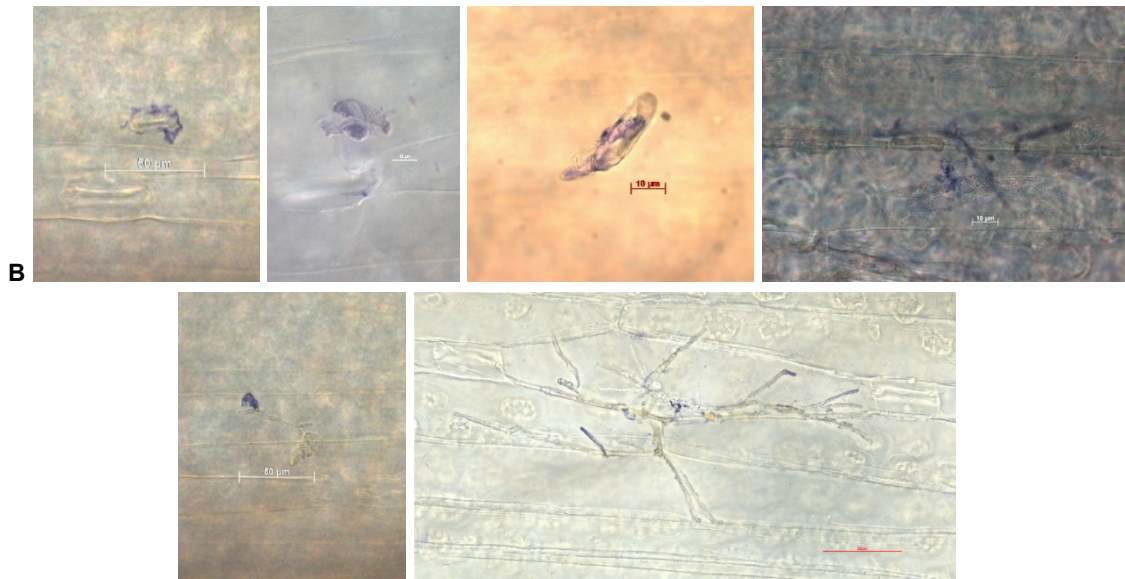
Anmerkungen: Angabe in % von PZ (PZ = penetrierte Zellen [gekeimte Konidien]);
HAI = engl. hours after infection (Stunden nach der Infektion), D+T = Doppelfärbung mit 3,3'-Diaminobenzidin (DAB) + Tinte, Frk = Fraktion
ECG = Epicatechingallat, RES = Resveratrol, BS = Blattsegment

**Anlage 47: Superoxid-Akkumulationsorte nach der Behandlung von Gerstenpflanzen mit der Ethylacetat-Phase des Genotyps 10 Erntejahr 2014, den Genotyp 10-Fraktionen 2 und 5 sowie den Standardsubstanzen Epicatechingallat und Resveratrol.
A) Quantifizierungsdaten der Nitroblautetrazoliumchlorid-angefärbten Proben (48 h nach der Infektion mit Gerstenmehltau). B) Exemplarische Mikroskopieaufnahmen.**

A	NPLZ	Zw	Zw HAU	Zzr	Zzr HAU	Sö	Sö HAU	ESH	Summe
Kontrolle	2,4	3,4	0,8	2,4	0,6	0,0	0,0	0,0	9,6
GT10 E14 500 ppm	3,6	1,8	0,2	0,8	0,6	0,0	0,2	1,0	8,2
GT10 E14 250 ppm	3,0	1,8	0,0	0,2	0,2	0,6	0,0	0,4	6,2
GT10 E14 125 ppm	4,2	3,4	0,2	0,4	0,0	0,0	0,0	0,4	8,6
Kontrolle	1,2	3,0	0,4	2,0	0,2	0,0	0,0	0,6	7,4
Frk 2 250 ppm	1,8	1,8	0,2	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	4,8
ECG 125 ppm	2,4	0,8	0,0	0,8	0,0	0,6	0,0	0,2	4,8
Frk 5 250 ppm	0,4	1,2	0,0	1,6	0,0	0,0	0,0	0,0	3,2
RES 125 ppm	2,0	0,4	0,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,6	4,0

Anmerkungen: GT = Genotyp, E = Erntejahr (z.B. E14 = Erntejahr 2014), Frk = Fraktion, ECG = Epicatechingallat, RES = Resveratrol, NPLZ = nicht penetrierte lebende Zelle (ungekeimte Konidie), Zw = Zellwand, Zzr = Zellzwischenraum, Sö = Spaltöffnung, HAU = Haustorium, ESH = elongierte sekundäre Hyphe; Superoxid-Akkumulationsorte (entspr. Blaustrukturen) waren in den mit Nitroblautetrazoliumchlorid angefärbten Blattsegmenten (auch hinsichtlich der Kontrollen) kaum detektierbar.
Kontrollen: größtenteils im Bereich über die Zellwand penetrierender Konidien; keine signifikanten Unterschiede zwischen den Prüfgliedern! (n = 5*100 Interaktionstypen)

Fortsetzung Anlage 47.



Anmerkungen:

Superoxid-Akkumulationen an
oben l.: einer ungekeimten Konidie (NPLZ); GT10 E14 500 ppm (400-fache Vergr.)
oben 2. von l.: einer Konidie; Kontrolle aus GT10-Reihe (1000-fache Vergrößerung)
oben 2. von r.: einer gekeimten Konidie; Frk 2 250 ppm (1000-fache Vergrößerung)
oben r.: einem Haustorium; Kontrolle aus GT10-Reihe (1000-fache Vergrößerung)
unten l.: einer ESH; GT10 E14 250 ppm (400-fache Vergrößerung)
unten r.: einer ESH; Kontrolle aus GT10-Reihe (1000-fache Vergrößerung)
(Quelle: eigenes Bildmaterial)

Anlage 48: Konidienkeimrate von Gerstenmehltau nach der Behandlung von Gerstenpflanzen mit der Ethylacetat-Phase des Genotyps 02 Erntejahr 2012.

		Kontrolle					GT02 E12 EtOAc-Phase 500 ppm					GT02 E12 EtOAc-Phase 250 ppm					GT02 E12 EtOAc-Phase 125 ppm				
24 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
NPLZ	T	5	8	9	19	-	7	29	22	35	-	23	10	26	28	-	12	24	23	23	-
	D+T	11	14	15	11	-	31	28	27	30	-	25	15	36	29	-	23	20	12	23	-
PZ	T	45	42	41	31	-	43	21	28	15	-	27	40	24	22	-	38	26	27	27	-
	D+T	39	36	35	39	-	19	22	23	20	-	25	35	14	21	-	27	30	38	27	-
48 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
NPLZ	T	8	1	4	19	-	47	31	31	40	-	31	20	18	21	-	36	34	37	43	-
	D+T	10	12	5	19	-	11	33	21	33	-	33	23	23	13	-	21	13	30	16	-
PZ	T	42	49	46	31	-	3	19	19	10	-	19	30	32	29	-	14	16	13	7	-
	D+T	40	38	45	31	-	39	17	29	17	-	17	27	27	37	-	29	37	20	34	-
72 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
NPLZ	T	16	11	6	22	-	24	47	42	44	-	37	22	30	40	-	41	40	24	18	-
	D+T	7	14	15	11	-	35	31	22	21	-	20	18	27	20	-	23	14	9	13	-
PZ	T	34	39	44	28	-	26	3	8	6	-	13	28	20	10	-	9	10	26	32	-
	D+T	43	36	35	39	-	15	19	28	29	-	30	32	23	30	-	27	36	41	37	-

Anmerkungen: bezogen auf 50 ausgezählte Interaktionsstellen;
HAI = engl. hours after infection (Stunden nach der Infektion), NPLZ = nicht penetrierte lebende Zellen (ungekeimte Konidien), PZ = penetrierte Zellen (gekeimte Konidien), T = Tintenanfärbung, D+T = Doppelfärbung mit 3,3'-Diaminobenzidin (DAB) + Tinte, GT = Genotyp, E = Erntejahr (z.B. E12 = Erntejahr 2012), EtOAc = Ethylacetat, BS = Blattsegment

Anlage 49: Penetrationswege von Gerstenmehltau nach der Behandlung von Gerstenpflanzen mit der Ethylacetat-Phase des Genotyps 02 Erntejahr 2012.

		Kontrolle					GT02 E12 EtOAc-Phase 500 ppm					GT02 E12 EtOAc-Phase 250 ppm					GT02 E12 EtOAc-Phase 125 ppm				
24 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
Zw	T	80	83	76	81	-	77	67	86	67	-	67	78	83	68	-	58	65	78	48	-
Zzr	T	18	17	17	13	-	19	33	14	27	-	30	23	17	27	-	29	31	22	37	-
Sö	T	2	0	7	6	-	5	0	0	7	-	4	0	0	5	-	13	4	0	15	-
48 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
Zw	T	79	82	67	74	-	67	89	63	80	-	89	87	78	66	-	79	75	85	100	-
Zzr	T	19	14	28	26	-	33	5	21	20	-	5	13	22	31	-	14	25	15	0	-
Sö	T	2	4	4	0	-	0	5	16	0	-	5	0	0	3	-	7	0	0	0	-
72 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
Zw	T	74	56	66	64	-	92	100	75	50	-	77	79	85	40	-	89	90	46	38	-
Zzr	T	3	8	18	11	-	8	0	25	33	-	23	11	5	20	-	0	10	31	34	-
Sö	T	0	5	0	4	-	0	0	0	17	-	0	4	10	10	-	11	0	12	0	-
24 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
Zw	D+T	59	67	54	72	-	47	55	48	60	-	64	49	43	33	-	63	47	45	63	-
Zzr	D+T	36	31	40	28	-	37	41	43	35	-	28	40	50	29	-	15	37	42	11	-
Sö	D+T	5	0	6	0	-	16	5	9	5	-	8	11	7	38	-	22	17	13	15	-
48 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
Zw	D+T	50	58	33	45	-	33	82	38	71	-	76	48	63	38	-	59	49	55	41	-
Zzr	D+T	38	29	53	42	-	59	18	48	24	-	24	44	26	43	-	28	46	30	41	-
Sö	D+T	13	13	7	0	-	5	0	14	6	-	0	7	7	16	-	10	5	15	18	-
72 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
Zw	D+T	44	47	54	49	-	40	63	57	45	-	47	47	57	50	-	48	36	61	51	-
Zzr	D+T	28	42	37	23	-	47	21	21	41	-	47	44	35	37	-	30	50	22	32	-
Sö	D+T	5	6	3	10	-	7	5	7	14	-	7	9	9	13	-	22	3	12	8	-

Anmerkungen:

Angabe in % von PZ (PZ = penetrierte Zellen [gekeimte Konidien]);

HAI = engl. hours after infection (Stunden nach der Infektion), Zw = Zellwand, Zzr = Zellzwischenraum, Sö = Spaltöffnung, T = Tintenanfärbung, D+T = Doppelfärbung mit 3,3'-Diaminobenzidin (DAB) + Tinte, GT = Genotyp, E = Erntejahr (z.B. E12 = Erntejahr 2012), EtOAc = Ethylacetat, BS = Blattsegment

Anlage 50: Haustorienformationsrate von Gerstenmehltau nach der Behandlung von Gerstenpflanzen mit der Ethylacetat-Phase des Genotyps 02 Erntejahr 2012.

		Kontrolle					GT02 E12 EtOAc-Phase 500 ppm					GT02 E12 EtOAc-Phase 250 ppm					GT02 E12 EtOAc-Phase 125 ppm				
24 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
CV	T	18	5	24	13	-	5	5	0	0	-	15	18	0	18	-	-	-	-	-	-
HAU	T	0	0	0	0	-	0	0	0	0	-	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-
CV	D+T	5	14	20	10	-	0	9	0	0	-	0	0	7	5	-	4	7	8	4	-
HAU	D+T	3	3	3	0	-	0	0	0	0	-	0	0	0	0	-	0	0	3	0	-
48 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
CV	T	21	16	33	32	-	0	5	0	0	-	32	27	16	7	-	7	0	8	0	-
HAU	T	19	27	28	19	-	0	5	21	10	-	16	17	0	3	-	7	0	8	0	-
CV	D+T	13	13	2	3	-	13	6	0	6	-	0	7	19	3	-	17	14	10	3	-
HAU	D+T	13	13	9	0	-	8	0	0	0	-	0	0	0	0	-	0	11	0	9	-
72 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
CV	T	24	18	20	36	-	8	0	13	17	-	23	11	30	0	-	11	0	4	19	-
HAU	T	21	3	9	14	-	0	0	0	0	-	8	11	5	10	-	0	0	4	13	-
CV	D+T	5	6	3	5	-	7	0	4	7	-	3	13	17	0	-	0	3	0	0	-
HAU	D+T	5	0	3	5	-	7	0	0	3	-	3	6	4	0	-	0	6	0	3	-

Anmerkungen:

Angabe in % von PZ (PZ = penetrierte Zellen [gekeimte Konidien]);
 HAI = engl. hours after infection (Stunden nach der Infektion), CV = cytoplasmatische Verdichtungen, HAU = Haustorien (voll ausgebildete),
 T = Tintenanfärbung, D+T = Doppelfärbung mit 3,3'-Diaminobenzidin (DAB) + Tinte, GT = Genotyp, E = Erntejahr (z.B. E12 = Erntejahr 2012),
 EtOAc = Ethylacetat, BS = Blattsegment

Anlage 51: Sekundärhyphenrate von Gerstenmehltau nach der Behandlung von Gerstenpflanzen mit der Ethylacetat-Phase des Genotyps 02 Erntejahr 2012.

		Kontrolle					GT02 E12 EtOAc-Phase 500 ppm					GT02 E12 EtOAc-Phase 250 ppm					GT02 E12 EtOAc-Phase 125 ppm				
24 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	D+T	0	3	0	0	-	0	0	0	0	-	0	0	0	0	-	0	0	0	11	-
48 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	D+T	0	0	7	13	-	3	0	0	0	-	0	0	4	3	-	3	0	0	0	-
72 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
	T	24	31	16	21	-	0	0	0	0	-	0	7	0	30	-	0	0	12	28	-
	D+T	23	6	6	18	-	7	11	14	0	-	0	0	0	0	-	0	11	5	8	-

Anmerkungen:

Angabe in % von PZ (PZ = penetrierte Zellen [gekeimte Konidien]);
 HAI = engl. hours after infection (Stunden nach der Infektion), T = Tintenanfärbung, D+T = Doppelfärbung mit 3,3'-Diaminobenzidin (DAB) + Tinte,
 GT = Genotyp, E = Erntejahr (z.B. E12 = Erntejahr 2012), EtOAc = Ethylacetat, BS = Blattsegment

Anlage 52: Papillenformationsrate gegenüber Gerstenmehltau nach der Behandlung von Gerstenpflanzen mit der Ethylacetat-Phase des Genotyps 02 Erntejahr 2012.

Eff. Papillen		Kontrolle					GT02 E12 EtOAc-Phase 500 ppm					GT02 E12 EtOAc-Phase 250 ppm					GT02 E12 EtOAc-Phase 125 ppm				
24 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
	D+T	10	14	9	15	-	16	27	39	15	-	48	34	21	10	-	0	23	26	15	-
48 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
	D+T	13	16	18	13	-	3	6	24	0	-	0	33	11	19	-	21	14	10	24	-
72 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
	D+T	12	19	20	10	-	27	11	29	41	-	20	19	26	30	-	15	28	29	22	-
Ineff. Papillen		Kontrolle					GT02 E12 EtOAc-Phase 500 ppm					GT02 E12 EtOAc-Phase 250 ppm					GT02 E12 EtOAc-Phase 125 ppm				
24 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
	D+T	23	11	3	26	-	5	5	13	5	-	4	6	0	0	-	4	3	8	7	-
CV		33	75	100	70	-	100	0	100	100	-	100	100	-	-	-	100	100	100	100	-
HAU		67	25	0	30	-	0	100	0	0	-	0	0	-	-	-	0	0	0	0	-
48 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
	D+T	13	11	22	13	-	8	0	24	0	-	0	7	0	11	-	14	11	5	18	-
CV		60	25	50	50	-	67	-	57	-	-	-	50	-	50	-	75	25	100	67	-
HAU		40	75	50	50	-	33	-	43	-	-	-	50	-	50	-	25	75	0	33	-
72 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
	D+T	16	28	11	15	-	7	5	7	17	-	27	13	9	20	-	11	6	10	11	-
CV		71	30	25	33	-	0	0	0	80	-	38	50	50	50	-	100	100	50	50	-
HAU		29	70	75	67	-	100	100	100	20	-	63	50	50	50	-	0	0	50	50	-

Anmerkungen:

Angabe in % von PZ (PZ = penetrierte Zellen [gekeimte Konidien]);

Eff. = effektiv, Ineff. = ineffektiv, HAI = engl. hours after infection (Stunden nach der Infektion), D+T = Doppelfärbung mit 3,3'-Diaminobenzidin (DAB) + Tinte, CV = cytoplasmatische Verdichtungen, HAU = Haustorien (voll ausgebildete), GT = Genotyp, E = Erntejahr (z.B. E12 = Erntejahr 2012), EtOAc = Ethylacetat, BS = Blattsegment

Anlage 53: Hypersensitivitätsreaktionsrate gegenüber Gerstenmehltau nach der Behandlung von Gerstenpflanzen mit der Ethylacetat-Phase des Genotyps 02 Erntejahr 2012.

		Kontrolle					GT02 E12 EtOAc-Phase 500 ppm					GT02 E12 EtOAc-Phase 250 ppm					GT02 E12 EtOAc-Phase 125 ppm				
24 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
	D+T	10	11	3	13	-	16	0	0	10	-	8	9	29	0	-	4	0	13	4	-
48 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
	D+T	13	3	13	23	-	8	0	0	24	-	0	0	4	8	-	7	0	0	3	-
72 HAI		BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5	BS1	BS2	BS3	BS4	BS5
	D+T	14	19	14	18	-	0	0	0	0	-	17	13	17	3	-	7	17	10	3	-

Anmerkungen: Angabe in % von PZ (PZ = penetrierte Zellen [gekeimte Konidien]);
HAI = engl. hours after infection (Stunden nach der Infektion), D+T = Doppelfärbung mit 3,3'-Diaminobenzidin (DAB) + Tinte, GT = Genotyp, E = Erntejahr
(z.B. E12 = Erntejahr 2012), EtOAc = Ethylacetat, BS = Blattsegment

Anlage 54: Aktivitäten der enzymatischen Antioxidantien Dehydroascorbatreduktase und Monodehydroascorbatreduktase in mit dem Genotyp 10 Erntejahr 2014-Gesamtextrakt und der Genotyp 10 Erntejahr 2014-Fraktion 5 behandelten und Mehltau-infizierten Gerstenblättern.

		24 HAT	48 HAT	7 DAT	24 HAI	48 HAI	7 DAI	
Kontrolle		0,31	0,32	0,02	0,12	0,29	0,17	
		0,50	0,26	0,14	0,19	0,38	0,14	
		0,69	0,42	0,31	0,28	0,13	0,24	
		0,50	0,51	0,20	0,28	0,20	0,20	
		0,10	0,29	0,28	0,24	0,17	0,05	
		0,10	0,38	0,20	0,28	0,25	0,16	
		0,34	0,18	0,14	0,10	0,10	0,30	
		0,41	0,18	0,09	0,17	0,30	0,27	
		0,10	0,01	0,33	0,34	0,10	0,33	
		0,08	0,29	0,16	0,13	0,23	0,41	
		0,24	0,16	0,13	0,21	0,17	0,12	
		0,24	0,37	0,16	0,09	0,17	0,06	
		0,11	0,35	0,21	0,06	0,04	0,09	
		0,23	0,32	0,17	0,20	0,02	0,12	
		0,24	0,18	0,13	0,27	0,15	0,09	
		0,21	0,10	0,15	0,25	0,15	0,22	
	<i>M</i>		0,28	0,27	0,18	0,20	0,18	0,19
	<i>SD</i>		0,18	0,13	0,08	0,08	0,10	0,10
	GT10 1000 ppm		0,37	0,11	0,04	0,02	0,14	0,06
			0,27	0,25	0,07	0,05	0,16	0,00
		0,15	0,62	0,05	0,14	0,23	0,05	
		0,18	0,39	0,12	0,28	0,07	0,11	
		0,44	0,08	0,29	0,23	0,12	0,18	
		0,42	0,28	0,23	0,38	0,12	0,27	
		0,33	0,25	0,14	0,29	0,14	0,14	
		0,33	0,39	0,29	0,06	0,23	0,29	
		0,17	0,11	0,05	0,19	0,06	0,04	
		0,07	0,14	0,04	0,17	0,17	0,17	
		0,13	0,12	0,29	0,18	0,33	0,22	
		0,26	0,05	0,29	0,25	0,26	0,20	
		0,13	0,35	0,02	0,27	0,17	0,21	
		0,14	0,19	0,04	0,21	0,17	0,19	
		0,22	0,07	0,16	0,24		0,21	
		0,28	0,09	0,42				
<i>M</i>			0,24	0,22	0,16	0,20	0,17	0,16
<i>SD</i>			0,11	0,16	0,12	0,10	0,07	0,09
GT10 500 ppm			0,19	0,15	0,13	0,21	0,11	0,37
			0,35	0,19	0,52	0,26	0,07	0,37
		0,23	0,23	0,14	0,22	0,12	0,35	
		0,21	0,25	0,16	0,58	0,16	0,21	
		0,42	0,25	0,20	0,21	0,41	0,13	
		0,21	0,17	0,57	0,45	0,18	0,24	
		0,26	0,17	0,14	0,25	0,32	0,13	
		0,28	0,39	0,11	0,35	0,27	0,15	
		0,13	0,13	0,23	0,18	0,19	0,14	
		0,13	0,29	0,12	0,29	0,21	0,31	
		0,08	0,27	0,13	0,13	0,15	0,17	
		0,14	0,29	0,07	0,25	0,20	0,11	
		0,21	0,47	0,11	0,35	0,22	0,30	
		0,12	0,20	0,22	0,16	0,15	0,15	
		0,06	0,52	0,49	0,13	0,12	0,13	
		0,06	0,39		0,11	0,23	0,25	
	<i>M</i>		0,19	0,27	0,22	0,26	0,19	0,22
	<i>SD</i>		0,10	0,12	0,16	0,12	0,09	0,09
	Frk 5		0,17	0,29	0,19	0,25	0,06	0,15
			0,08	0,29	0,22	0,24	0,09	0,25
		0,30	0,46	0,26	0,09	0,03	0,21	
		0,30	0,35	0,12	0,23	0,31	0,20	
		0,32	0,24	0,31	0,27	0,15	0,02	
		0,36	0,34	0,41	0,44	0,23	0,12	
		0,38	0,19	0,40	0,32	0,13	0,19	
		0,34	0,34	0,35	0,41	0,34	0,11	
		0,22	0,29	0,47	0,02	0,23	0,07	
		0,19	0,39	0,17	0,18	0,16	0,31	
		0,29	0,16	0,16	0,06	0,10	0,30	
		0,25	0,31	0,43	0,13	0,03	0,40	
		0,13	0,13	0,48	0,17	0,04	0,02	
		0,24	0,12	0,23	0,16	0,19	0,22	
		0,16	0,20	0,10	0,17		0,10	
		0,22	0,03	0,45	0,18		0,17	
<i>M</i>			0,25	0,26	0,30	0,21	0,15	0,18
<i>SD</i>			0,09	0,11	0,13	0,11	0,10	0,11

Anmerkungen: DHAR = Dehydroascorbatreduktase, DHA = oxidierte Ascorbinsäure, FM = Frischmasse, GT = Genotyp, Frk = Fraktion, HAT/DAT/HAI/DAI = engl. hours/days after treatment/ infection (Stunden/Tage nach der Behandlung/Infektion [Mehltau-infizierte Gruppe {HAI/DAI} und erregerefreie Gruppe {HAT/DAT}])

Anlagen

Fortsetzung Anlage 54.

		24 HAT	48 HAT	7 DAT	24 HAI	48 HAI	7 DAI	
MDHAR-Aktivität (µmol NADH * g FM ⁻¹ * 3 min ⁻¹)	Kontrolle	0,25	0,01	0,02	0,27	0,16	0,41	
		0,23	0,09	0,30	0,19	0,27	0,27	
		0,26	0,08	0,31	0,30	0,21	0,34	
		0,28	0,04	0,26	0,28	0,16	0,28	
		0,08	0,02	0,28	0,25	0,28	0,36	
		0,11	0,05	0,32	0,21	0,23	0,36	
		0,21	0,08	0,28	0,26	0,34	0,36	
		0,30	0,10	0,14	0,29	0,30	0,36	
		0,02	0,08	0,19	0,17	0,15	0,05	
		0,00	0,07	0,13	0,12	0,08	0,03	
		0,01	0,12	0,17	0,06	0,05	0,31	
		0,09	0,01	0,03	0,27	0,09	0,14	
		0,13	0,12	0,23	0,05	0,14	0,32	
		0,13			0,24	0,15	0,17	
		0,09			0,18	0,11	0,33	
		0,14			0,10			
	M		0,14	0,07	0,20	0,20	0,18	0,27
	SD		0,10	0,04	0,10	0,08	0,09	0,12
	GT10 1000 ppm		0,20	0,07	0,23	0,22	0,15	0,28
			0,07	0,05	0,27	0,11	0,11	0,26
			0,17	0,22	0,21	0,16	0,18	0,28
			0,09	0,24	0,09	0,20	0,21	0,31
			0,24	0,07	0,11	0,24	0,17	0,33
			0,22	0,14	0,17	0,25	0,24	0,45
			0,14	0,17	0,09	0,17	0,19	0,30
			0,21	0,08	0,21	0,20	0,23	0,31
			0,01			0,03	0,06	0,09
			0,03			0,08	0,15	0,15
			0,01			0,00	0,08	0,15
			0,03			0,27	0,12	0,12
						0,07		0,08
								0,34
								0,01
								0,23
	M		0,12	0,13	0,17	0,15	0,16	0,23
	SD		0,09	0,07	0,07	0,09	0,06	0,12
	GT10 500 ppm		0,12	0,17	0,20	0,26	0,17	0,29
			0,24	0,20	0,02	0,28	0,15	0,30
			0,30	0,15	0,37	0,28	0,12	0,40
			0,24	0,03	0,32	0,27	0,11	0,33
			0,27	0,13	0,19	0,19	0,18	0,32
			0,32	0,05	0,25	0,24	0,20	0,27
			0,24	0,11	0,06	0,17	0,26	0,36
			0,30	0,11	0,05	0,27	0,19	0,24
			0,12	0,08	0,08	0,17	0,16	0,10
			0,00	0,06	0,11	0,16	0,21	0,13
			0,07	0,06	0,16	0,14	0,13	0,14
			0,03	0,04	0,02	0,16	0,07	0,06
			0,10	0,00	0,28	0,23	0,12	0,05
			0,06			0,13	0,14	0,28
							0,03	
		M		0,17	0,09	0,16	0,21	0,15
	SD		0,11	0,06	0,12	0,06	0,06	0,12
	Frk 5		0,17	0,09	0,21	0,25	0,10	0,35
			0,12	0,05	0,22	0,24	0,28	0,30
			0,23	0,08	0,14	0,16	0,12	0,31
			0,31	0,06	0,26	0,27	0,02	0,22
			0,27	0,03	0,11	0,26	0,24	0,36
			0,18	0,06	0,19	0,40	0,14	0,34
			0,29	0,12	0,26	0,30	0,00	0,29
			0,30	0,18	0,06	0,15	0,08	0,31
			0,07		0,15	0,07	0,06	0,05
			0,06		0,25	0,04	0,06	0,43
			0,03			0,08	0,01	0,19
						0,20	0,03	0,21
						0,21	0,08	0,12
						0,05	0,23	0,15
						0,06		0,16
								0,18
	M		0,18	0,08	0,19	0,18	0,10	0,25
	SD		0,10	0,05	0,07	0,11	0,09	0,10

Anmerkungen: MDHAR = Monodehydroascorbatreduktase, NADH = Nicotinamidadenindinukleotid, FM = Frischmasse, GT = Genotyp, Frk = Fraktion, HAT/DAT/HAI/DAI = engl. hours/days after treatment/infection (Stunden/Tage nach der Behandlung/Infektion [Mehltau-infizierte Gruppe {HAI/DAI} und erregerefreie Gruppe {HAT/DAT}])

Anlagen

Anlage 55: Gehalte an Gesamtascorbat und Gesamtglutathion in mit dem Genotyp 10 Erntejahr 2014-Gesamtextrakt und der Genotyp 10 Erntejahr 2014-Fraktion 5 behandelten und Mehltau-infizierten Gerstenblättern.

		24 HAT	48 HAT	7 DAT	24 HAI	48 HAI	7 DAI	
Kontrolle		0,83	0,16	0,30	0,56	0,42	0,95	
		0,82	0,18	0,25	0,95	0,42	0,94	
		1,13	0,22	0,32	0,07	0,81	0,10	
		0,92	0,25	0,28	1,13	0,74	0,86	
		1,13	0,25	0,53	1,49	0,38	0,19	
		1,13	0,22	0,44	1,74	0,47	0,56	
		1,34	0,23	0,45	0,65	0,58	0,36	
		1,20	0,32	0,41	1,96	0,66	0,54	
		0,84	1,04	0,75	0,56	1,51	1,54	
		0,81	0,84	0,64	0,53	1,04	1,53	
		0,70	0,46	0,80	1,24	1,02	1,12	
		0,59	0,51	0,74	1,21	1,28	1,71	
		0,34	0,73	0,73	0,96	0,78	0,43	
		0,19	0,78	0,68	1,08	0,83	0,36	
		0,28	0,66	0,69	1,04	0,97	1,02	
		0,35	0,77	0,70	1,00	1,17	0,55	
	<i>M</i>		0,79	0,48	0,55	1,01	0,82	0,80
	<i>SD</i>		0,36	0,29	0,19	0,48	0,33	0,50
	GT10 1000 ppm		0,57	0,55	1,72	0,64	0,53	0,30
			0,76	0,45	1,69	0,12	0,65	0,26
		0,98	0,63	1,17	1,63	0,30	0,20	
		0,94	0,62	1,19	0,48	0,45	0,22	
		1,23	0,55	1,21	6,84	0,68	0,97	
		1,16	0,39	1,01	1,86	0,57	0,99	
		0,62	0,52	1,51	0,91	0,57	1,04	
		0,39	0,43	1,62	2,52	0,73	0,85	
		0,50	1,14	1,03	0,51	0,53	0,43	
		0,61	1,14	0,81	0,31	0,64	0,46	
		0,34	0,90	1,16	0,31	0,67	1,16	
		0,27	0,92	1,16	0,30	0,84	1,29	
		0,45	0,62	1,06	0,64	0,90	0,94	
		0,51	0,70	1,00	0,67	0,89	0,92	
			0,87	1,33	0,57	0,89	0,68	
			0,81	0,70	0,78		0,63	
<i>M</i>			0,67	0,70	1,21	1,19	0,66	0,71
<i>SD</i>			0,30	0,24	0,30	1,64	0,17	0,36
GT10 500 ppm			1,51	0,68	0,87	0,25	0,55	0,24
			3,06	0,85	1,31	0,26	0,21	0,42
		1,30	0,54	1,01	0,67	0,43	0,37	
		1,72	0,73	1,06	0,22	0,42	0,49	
		3,06	0,88	0,62	0,70	0,15	0,61	
		6,08	0,66	0,57	0,67	0,20	0,55	
		1,21	0,68	1,04	0,65	0,57	1,60	
		1,17	0,83	0,94	0,69	0,57	0,82	
		0,03	1,40	1,22	0,50	0,48	0,94	
		0,09	1,49	0,98	0,46	0,68	1,49	
		0,06	1,35	1,16	0,44	0,46	0,68	
		0,08	1,46	1,00	0,52	0,43	1,34	
		0,16	1,54	0,70		0,77	0,76	
		0,69	1,53	0,83		0,81	0,82	
		0,11	0,92	1,07			0,51	
		0,12	0,92	1,08			0,45	
	<i>M</i>		1,28	1,03	0,97	0,50	0,48	0,76
	<i>SD</i>		1,63	0,36	0,21	0,18	0,20	0,41
	Frk 5		9,07	0,59	1,25	0,56	0,36	1,06
			0,95	0,59	1,44	1,91	0,22	1,01
		5,74	0,56	1,81	2,22	0,25	0,21	
		3,85	0,51	1,60	0,68	0,24	0,24	
		1,24	0,91	1,04	0,53	0,19	0,46	
		9,44	0,80	1,01	0,43	0,19	0,54	
		1,09	0,90	1,17	0,45	0,27	0,64	
		0,19	0,84	1,16	0,54	0,23	0,53	
		0,20	1,10	1,30	0,55	0,77	0,72	
		0,39	1,07	1,40	0,73	0,79	0,74	
		0,74	0,89	1,36	0,70	1,03	0,89	
		0,02	0,90	1,83	0,86	1,09	0,84	
		0,69	1,08	1,38	0,82	0,66	0,10	
		0,12	0,82	1,15		0,57	0,16	
		0,14	1,37	1,56		0,51	0,49	
			1,44	1,88		0,63	0,59	
<i>M</i>			2,26	0,90	1,40	0,85	0,50	0,58
<i>SD</i>			3,25	0,27	0,28	0,56	0,30	0,30

Anmerkungen: AsA = reduziertes Ascorbat, DAsA = oxidiertes Ascorbat, FM = Frischmasse, GT = Genotyp, Frk = Fraktion, HAT/DAT/HAI/DAI = engl. hours/days after treatment/infection (Stunden/Tage nach der Behandlung/Infektion [Mehltau-infizierte Gruppe {HAI/DAI} und erregerefreie Gruppe {HAT/DAT}])

Anlagen

Fortsetzung Anlage 55.

		24 HAT	48 HAT	7 DAT	24 HAI	48 HAI	7 DAI	
GSH + GSSG(μmol / g FM)	Kontrolle	0,22	0,06	0,09	0,19	0,20	0,20	
		0,23	0,07	0,10	0,16	0,15	0,12	
		0,20	0,14	0,22	0,20	0,23	0,14	
		0,30	0,09	0,14	0,20	0,20	0,06	
		0,22	0,16	0,13	0,23	0,09	0,12	
		0,21	0,11	0,14	0,23	0,10	0,09	
		0,28	0,13	0,16	0,18	0,16	0,07	
		0,23	0,08	0,13	0,20	0,22	0,10	
		0,21	0,13	0,24	0,24	0,21	0,25	
		0,20	0,23	0,28	0,27	0,18	0,27	
		0,18	0,23	0,23	0,35	0,20	0,27	
		0,24	0,29	0,19	0,28		0,28	
		0,15						
		0,25						
		0,27						
	0,26							
	<i>M</i>		0,23	0,14	0,17	0,23	0,17	0,16
	<i>SD</i>		0,04	0,07	0,06	0,05	0,05	0,08
	GT10 1000 ppm	0,21	0,12	0,10	0,27	0,14	0,07	
		0,14	0,08	0,13	0,23	0,14	0,13	
		0,15	0,09	0,08	0,24	0,14	0,08	
		0,16	0,08	0,12	0,25	0,10	0,11	
		0,22	0,12	0,18	0,29	0,14	0,10	
		0,22	0,07	0,09	0,26	0,21	0,06	
		0,16	0,08	0,11	0,18	0,10	0,13	
		0,21	0,08	0,15	0,26	0,19	0,09	
		0,13	0,23	0,15	0,25	0,19	0,25	
		0,19	0,20	0,16	0,39	0,18	0,29	
		0,19	0,21	0,18	0,34	0,27	0,26	
		0,18	0,19	0,23	0,26		0,21	
		0,22						
		0,21						
		0,17						
	0,26							
	<i>M</i>		0,19	0,13	0,14	0,27	0,16	0,15
	<i>SD</i>		0,04	0,06	0,04	0,05	0,05	0,08
	GT10 500 ppm	0,16	0,04	0,18	0,31	0,05	0,12	
		0,17	0,17	0,15	0,15	0,11	0,06	
		0,16	0,13	0,11	0,15	0,14	0,12	
		0,19	0,09	0,04	0,12	0,11	0,14	
		0,22	0,14	0,17	0,27	0,09	0,14	
		0,20	0,08	0,15	0,24	0,11	0,08	
		0,18	0,09	0,19	0,18	0,05	0,14	
		0,13	0,27	0,13	0,14	0,07	0,10	
		0,15	0,24		0,26	0,23	0,25	
		0,15	0,20		0,37	0,22	0,12	
		0,14	0,14		0,33	0,30	0,33	
		0,18			0,26	0,22	0,05	
		0,20						
		0,25						
		0,12						
	0,17							
	<i>M</i>		0,17	0,15	0,14	0,23	0,14	0,14
	<i>SD</i>		0,03	0,07	0,05	0,08	0,08	0,08
	Frk 5	0,20	0,16	0,14	0,07	0,17	0,24	
		0,18	0,07	0,08	0,09	0,18	0,20	
		0,20	0,16	0,04	0,24	0,19	0,17	
		0,19	0,10	0,04	0,21	0,12	0,13	
		0,16	0,16	0,16	0,20	0,10	0,12	
		0,22	0,13	0,17	0,18	0,10	0,09	
		0,12	0,09	0,18	0,07	0,08	0,07	
		0,18	0,07	0,12	0,06	0,08	0,05	
		0,23	0,23	0,19	0,22	0,33	0,10	
		0,21	0,24	0,23	0,24	0,25	0,39	
		0,21	0,19	0,15	0,33	0,27	0,18	
		0,23	0,22	0,23	0,35	0,24	0,12	
		0,20						
		0,17						
		<i>M</i>		0,19	0,15	0,14	0,19	0,17
	<i>SD</i>		0,03	0,06	0,06	0,10	0,08	0,09

Anmerkungen: GSH = reduziertes Glutathion, GSSG = oxidiertes Glutathion, FM = Frischmasse, GT = Genotyp, Frk = Fraktion, HAT/DAT/HAI/DAI = engl. hours/days after treatment/infection (Stunden/Tage nach der Behandlung/Infektion [Mehltau-infizierte Gruppe {HAI/DAI} und erregerefreie Gruppe {HAT/DAT}])

Anlagen

Anlage 56: Aktivitäten der enzymatischen Antioxidantien in mit dem Genotyp 02 Erntejahr 2012-Extrakt behandelten und Mehltau-infizierten Gerstenblättern.

		24 HAT	48 HAT	7 DAT	24 HAI	48 HAI	7 DAI
CAT-Aktivität ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \cdot \text{g FM}^{-1} \cdot 3 \text{ min}^{-1}$)	Kontrolle	80,42	106,50	332,51	106,04	146,79	242,94
		76,51	116,93	209,92	91,79	171,12	249,12
		65,49	90,35	306,44	76,75	78,26	123,29
		94,72	81,92	200,78	39,80	107,55	123,16
		100,48	75,88	140,32	96,74	149,51	168,91
		71,98	91,24	112,48	32,32	89,86	190,67
		58,40	90,08	482,20	32,46	85,50	218,02
		57,68	90,63	114,80	96,17	85,82	128,09
	<i>M</i>	75,71	92,94	237,43	71,51	114,30	180,53
	<i>SD</i>	15,77	13,07	128,67	31,49	36,07	52,86
	GT02 E12	157,73	26,76	104,14	134,28	85,94	156,27
		116,06	32,89	67,84	126,12	76,14	128,06
		108,89	74,16	225,28	69,07	79,93	395,49
		139,62	108,94	218,06	129,21	72,79	210,31
		79,94	21,17	398,11	95,25	64,86	285,47
		72,37	44,50	419,07	85,68	99,48	221,66
			49,99	194,63	85,52	66,72	80,51
			66,20	313,98	106,74	82,75	113,43
<i>M</i>	112,43	53,08	242,64	103,99	78,57	198,90	
<i>SD</i>	33,10	29,12	127,24	23,97	11,20	103,47	
DHAR-Aktivität ($\mu\text{mol DHA} \cdot \text{g FM}^{-1} \cdot 3 \text{ min}^{-1}$)	Kontrolle	0,63	0,40	0,40	1,25	1,13	0,16
		1,11	0,28	0,26	0,43	0,62	0,25
		1,13	0,29	0,10	0,25	1,06	0,38
		2,05	0,52	0,11	0,51	0,94	0,26
		1,91	0,90	0,27	0,90	0,79	0,39
		0,43	0,69	0,35	0,50	0,50	0,59
		0,66		0,61	0,27		0,87
				0,78	0,10		
	<i>M</i>	1,13	0,51	0,36	0,53	0,84	0,42
	<i>SD</i>	0,63	0,24	0,23	0,38	0,25	0,24
	GT02 E12	1,25	0,33	0,34	0,45	0,27	0,69
		0,69	0,25	0,12	0,51	0,15	0,35
		0,25	0,31	0,13	0,89	0,10	0,15
		0,23	0,68	0,74	1,11	0,23	0,39
		0,27	1,11	0,22	0,85	0,45	0,62
		0,65	0,99	0,65	0,40	0,35	0,36
		0,90		0,66	0,20	0,10	1,13
		1,02			0,66	0,35	1,14
<i>M</i>	0,66	0,61	0,41	0,63	0,25	0,60	
<i>SD</i>	0,39	0,37	0,27	0,30	0,13	0,37	

Anmerkungen: CAT = Katalase, DHAR = Dehydroascorbatreduktase, FM = Frischmasse, DHA = oxidierte Ascorbinsäure, GT = Genotyp, E = Erntejahr (z.B. E12 = Erntejahr 2012); GT02 E12 Ethylacetat-Phase 1000 ppm; HAT/DAT/HAI/DAI = engl. hours/days after treatment/infection (Stunden/Tage nach der Behandlung/Infektion [Mehltau-infizierte Gruppe {HAI/DAI} und erregerefreie Gruppe {HAT/DAT}])

Anlagen

Fortsetzung Anlage 56.

		24 HAT	48 HAT	7 DAT	24 HAI	48 HAI	7 DAI
APX-Aktivität(μmol Ascorbat * g FM⁻¹ * 3 min⁻¹)	Kontrolle	2,72	1,80	0,52	1,81	1,02	0,74
		2,19	1,71	0,70	1,52	1,48	3,45
		2,66	0,58	0,50	1,37	1,34	2,19
		2,49	0,59	0,58	1,11	0,90	3,24
		1,33	0,77	0,73	1,48	0,74	3,53
		1,62	1,91	0,55	1,50	1,23	2,46
		1,47	1,27			1,53	2,18
			1,16			1,88	3,99
	<i>M</i>	2,07	1,22	0,60	1,46	1,26	2,72
	<i>SD</i>	0,59	0,54	0,10	0,23	0,37	1,05
	GT02 E12	0,82	0,91	0,27	1,52	2,15	1,16
		1,00	0,19	0,84	1,36	1,53	0,78
		1,47	0,40	0,36	1,22	1,38	0,74
		1,23	0,16	0,58	1,49	1,54	0,56
		0,82	0,61	0,50	0,92	0,76	0,94
		1,32	0,41	0,85	1,27		1,10
		1,47	0,46	0,44			0,92
							1,08
<i>M</i>	1,16	0,45	0,55	1,30	1,47	0,91	
<i>SD</i>	0,29	0,26	0,23	0,22	0,50	0,21	
GR-Aktivität(μmol NADPH * g FM⁻¹ * 3 min⁻¹)	Kontrolle	2,87	0,93	0,70	1,43	1,29	0,99
		3,09	1,49	0,87	1,24	1,21	1,26
		1,75	0,76	1,24	1,16	0,78	0,82
		4,54	1,25	0,95	1,49	0,53	1,09
		2,09	0,73	1,02	1,62	0,62	1,05
		2,69	0,98	1,06	1,39	0,82	1,93
		2,80	0,74	1,37	1,18	0,99	0,95
		1,88		0,83		1,21	1,46
	<i>M</i>	2,71	0,98	1,00	1,36	0,93	1,19
	<i>SD</i>	0,89	0,29	0,22	0,17	0,29	0,36
	GT02 E12	0,86	0,79	0,42	1,10	0,77	1,77
		1,38	1,08	0,95	1,13	1,12	0,94
		1,10	1,31	1,09	1,14	1,18	0,96
		1,46	1,49	2,39	1,03	1,01	0,72
		1,06	1,02	1,18	1,17	1,21	1,23
		1,03	1,37	2,37	1,27	0,81	1,35
		1,16	1,27	1,29	1,76	1,51	0,88
		1,23	1,61	1,98	1,25		1,56
<i>M</i>	1,16	1,24	1,46	1,23	1,09	1,18	
<i>SD</i>	0,19	0,27	0,71	0,23	0,26	0,37	

Anmerkungen: APX = Ascorbatperoxidase, GR = Glutathionreduktase, FM = Frischmasse, NADPH = Nicotinamidadenindinukleotidphosphat, GT = Genotyp, E = Erntejahr (z.B. E12 = Erntejahr 2012); GT02 E12 Ethylacetat-Phase 1000 ppm; HAT/DAT/HAI/DAI = engl. hours/days after treatment/infection (Stunden/Tage nach der Behandlung/Infektion [Mehltau-infizierte Gruppe {HAI/DAI} und erregerefreie Gruppe {HAT/DAT}])

Fortsetzung Anlage 56.

		24 HAT	48 HAT	7 DAT	24 HAI	48 HAI	7 DAI
MDHAR-Aktivität ($\mu\text{mol NADH} \cdot \text{g FM}^{-1} \cdot 3 \text{ min}^{-1}$)	Kontrolle	0,42	0,20	0,17	0,37	0,17	0,44
		0,36	0,36	0,31	0,24	0,48	0,81
		0,35	0,25	0,31	0,41	0,27	0,48
		0,78	0,20	0,30	0,29	0,23	0,49
		0,37	0,32	0,25	0,19	0,22	0,67
		0,18	0,21	0,42	0,22	0,32	0,51
		0,35		0,15	0,21	0,31	0,85
		0,29			0,26		0,81
	M	0,39	0,26	0,27	0,27	0,28	0,63
	SD	0,17	0,07	0,09	0,08	0,10	0,17
	GT02 E12	0,18	0,27	0,36	0,31	0,11	0,46
		0,09	0,10	0,20	0,46	0,25	0,62
		0,24	0,14	0,31	0,35	0,31	0,16
		0,19	0,03	0,86	0,20	0,25	0,44
		0,39	0,25	0,43	0,24	0,34	0,41
		0,26		0,65	0,49	0,25	0,42
		0,24		0,30	0,53	0,30	0,28
		0,12		0,61	0,54		0,53
	M	0,21	0,16	0,47	0,39	0,26	0,42
SD	0,09	0,10	0,22	0,13	0,08	0,14	

Anmerkungen: MDHAR = Monodehydroascorbatreduktase, NADH = Nicotinamadenindinukleotid, FM = Frischmasse, GT = Genotyp, E = Erntejahr (z.B. E12 = Erntejahr 2012); GT02 E12 Ethylacetat-Phase 1000 ppm; HAT/DAT/HAI/DAI = engl. hours/days after treatment/infection (Stunden/Tage nach der Behandlung/Infektion [Mehltau-infizierte Gruppe {HAI/DAI} und erregerefreie Gruppe {HAT/DAT}])

Anlagen

Anlage 57: Gehalte der nicht-enzymatischen Antioxidantien in mit dem Genotyp 02 Erntejahr 2012-Extrakt behandelten und Mehltau-infizierten Gerstenblättern.

		24 HAT	48 HAT	7 DAT	24 HAI	48 HAI	7 DAI
AsA-Gehalt(µmol / g FM)	Kontrolle	0,22	0,31	1,12	0,33	0,48	3,13
		0,33	0,34	1,01	0,36	0,39	4,68
		0,26	0,17	1,46	0,46	0,51	2,51
						0,41	
	M	0,27	0,27	1,20	0,39	0,45	3,44
	SD	0,06	0,09	0,24	0,07	0,05	1,12
	GT02 E12	0,32	0,38	3,90	2,82	0,42	2,19
		0,78	0,41	4,06	0,51	0,49	1,30
		0,51	0,50	2,51	0,68	0,47	1,80
			0,35	2,98	1,92	0,46	2,22
M	0,54	0,41	3,36	1,48	0,46	1,88	
SD	0,23	0,07	0,74	1,09	0,03	0,43	
DAsA-Gehalt(µmol / g FM)	Kontrolle	0,06	0,21	-0,70	-0,32	-0,20	-2,63
		1,23	1,98	-0,52	-0,26	-0,06	-4,15
		0,77	0,93	-1,12	-0,22	-0,14	-1,92
						-0,01	
	M	0,69	1,04	-0,78	-0,27	-0,11	-2,90
	SD	0,59	0,89	0,31	0,05	0,08	1,14
	GT02 E12	-0,18	-0,10	-2,52	-2,61	-0,09	-0,83
		-0,58	-0,01	-3,05	-0,45	-0,21	-0,72
		-0,35	0,06	-1,14	-1,67	-0,07	-0,89
			0,45	-1,37		-0,13	-1,05
M	-0,37	0,10	-2,02	-1,58	-0,13	-0,87	
SD	0,20	0,24	0,92	1,08	0,06	0,14	
AsA + DAsA(µmol / g FM)	Kontrolle	0,28	0,51	0,42	0,01	0,27	0,49
		1,56	2,32	0,42	0,10	0,33	0,53
		1,03	1,10	0,49	0,24	0,37	0,58
		0,23	0,33	0,34		0,40	0,68
	M	0,77	1,06	0,42	0,12	0,34	0,57
	SD	0,64	0,90	0,06	0,12	0,05	0,08
	GT02 E12	0,24	0,28	1,38	0,21	0,33	1,36
		0,14	0,40	1,01	0,06	0,27	0,59
		0,20	0,56	1,37	0,25	0,40	0,91
		0,16	0,80	1,61		0,33	1,17
M	0,18	0,51	1,34	0,17	0,33	1,01	
SD	0,04	0,23	0,25	0,10	0,05	0,33	

Anmerkungen: AsA = reduziertes Ascorbat, DAsA = oxidiertes Ascorbat, FM = Frischmasse, GT = Genotyp, E = Erntejahr (z.B. E12 = Erntejahr 2012); GT02 E12 Ethylacetat-Phase 1000 ppm; HAT/DAT/HAI/DAI = engl. hours/days after treatment/infection (Stunden/Tage nach der Behandlung/Infektion {Mehltau-infizierte Gruppe {HAI/DAI} und erregerefreie Gruppe {HAT/DAT}})

Anlagen

Fortsetzung Anlage 57.

		24 HAT	48 HAT	7 DAT	24 HAI	48 HAI	7 DAI
GSH-Gehalt(μmol / g FM)	Kontrolle	0,14	0,25	0,40	0,22	0,44	0,64
		-0,01	0,28	0,47	0,14	0,16	0,56
		0,02	0,30	0,46	0,11	0,31	0,73
				0,54		0,15	0,60
	<i>M</i>	0,05	0,28	0,46	0,16	0,27	0,63
	<i>SD</i>	0,08	0,02	0,06	0,05	0,14	0,07
	GT02 E12	0,13	0,20	0,45	0,40	0,23	0,60
		0,20	0,19	0,39	0,19	0,25	0,36
		0,25	0,21	0,49	0,21	0,32	0,62
		0,12	0,19	0,50		0,19	0,34
<i>M</i>	0,17	0,20	0,46	0,27	0,25	0,48	
<i>SD</i>	0,06	0,01	0,05	0,12	0,06	0,15	
GSSG-Gehalt(μmol / g FM)	Kontrolle	0,07	0,02	0,14	0,10	0,03	0,20
		0,08	0,01	0,17	0,07	0,09	0,18
		0,10	0,02	0,10	0,08	0,03	0,14
		0,12		0,13	0,08	0,11	0,24
	<i>M</i>	0,09	0,02	0,14	0,08	0,06	0,19
	<i>SD</i>	0,02	0,00	0,03	0,01	0,04	0,04
	GT02 E12	0,07	0,10	0,11	0,14	0,13	0,15
		0,10	0,11	0,13	0,17	0,09	0,10
		0,11	0,12	0,17	0,10	0,16	0,09
		0,08	0,10	0,17	0,09	0,13	0,14
<i>M</i>	0,09	0,11	0,15	0,12	0,13	0,12	
<i>SD</i>	0,02	0,01	0,03	0,04	0,03	0,03	
GSH + GSSG(μmol / g FM)	Kontrolle	0,22	0,28	0,54	0,31	0,47	0,84
		0,09	0,27	0,64	0,21	0,26	0,75
		0,14	0,29	0,56	0,01	0,33	0,87
			0,32	0,67	0,20	0,26	0,85
	<i>M</i>	0,15	0,29	0,60	0,18	0,33	0,83
	<i>SD</i>	0,07	0,02	0,06	0,13	0,10	0,05
	GT02 E12	0,21	0,29	0,57	0,00	0,36	0,75
		0,30	0,30	0,52	0,57	0,34	0,46
		0,36	0,34	0,67	0,29	0,48	0,72
		0,19	0,29	0,67	0,30	0,32	0,47
<i>M</i>	0,26	0,30	0,61	0,29	0,37	0,60	
<i>SD</i>	0,08	0,02	0,08	0,23	0,07	0,15	

Anmerkungen: GSH = reduziertes Glutathion, GSSG = oxidiertes Glutathion, FM = Frischmasse, GT = Genotyp, E = Erntejahr (z.B. E12 = Erntejahr 2012); GT02 E12 Ethylacetat-Phase 1000 ppm; HAT/DAT/HAI/DAI = engl. hours/days after treatment/infection (Stunden/Tage nach der Behandlung/Infektion [Mehltau-infizierte Gruppe {HAI/DAI} und erregerefreie Gruppe {HAT/DAT}])

Anlage 58: Vorversuche des Mutantenscreenings mit dem Genotyp 02 Erntejahr 2012-Extrakt und den Mutanten *npr1-1* und *ein2-1*.

		Mehltau-Befall [%]					<i>M</i>	<i>SD</i>
Col-8	Kontrolle	100	100	75	66	-	85	17,42
Col-8	GT02	0	6	13	23	-	11*	9,88
<i>npr1-1</i>	Kontrolle	100	100	70	75	-	86	16,01
<i>npr1-1</i>	GT02	60	40	70	25	-	49*	20,16
Col-8	Kontrolle	80	90	95	95	85	89	6,52
Col-8	GT02	70	60	50	85	50	63	14,83
<i>ein2-1</i>	Kontrolle	90	100	100	100	80	94	8,94
<i>ein2-1</i>	GT02	100	80	90	100	100	94	8,94

Anmerkungen: Befall von *Arabidopsis*-Blättern unterer Blattrosetten des Wildtyps Col-8, der Salicylsäure-defizienten Mutante *npr1-1* und der Ethylen-defizienten Mutante *ein2-1* 13 d nach der Infektion mit *Erysiphe cruciferarum* im Test an ganzen Pflanzen mit der 24 h präinfektionell applizierten Ethylacetat-Phase (0,1 %) des Genotyps 02 (GT02) Erntejahr 2012 (E12).
Signifikante Unterschiede im Befallsgrad gegenüber der jeweiligen Kontrolle sind mit Sternchen markiert (Holm-Sidak-Test / Tukey-Test, $P \leq 0,021$).
Col-8_GT02 versus (vs.) *npr1-1*_GT02: $P = 0,024$, Col-8_GT02 vs. *ein2-1*_GT02: $P = 0,032$

Anlage 59: Intensität des Mehltaubefalls von *Arabidopsis*-Blättern des Wildtyps Col-8 und der Mutante *pad4-1* im Blattsegmenttest mit der Ethylacetat-Phase des Genotyps 10 Erntejahr 2014 sowie Zahl an Mehltaukonidien auf den zugehörigen Blattausschnitten.

Versuch	PG	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B9	B10	B11	B12	B13	B14	B15	B16	M	SD	SEM	
1	Col-8	Kontrolle	80	90	100	90	50	90	100	70	50	100	90	95	100	95	95	90	87	16,30	4,08
		GT10	50	40	40	40	50	40	30	20	30	20	70	10	20	10	-	-	34	16,92	4,52
	<i>pad4-1</i>	Kontrolle	100	70	100	80	90	90	70	100	80	80	80	80	100	85	-	-	86	10,77	2,88
		GT10	30	50	50	10	40	60	10	10	20	60	50	40	50	30	20	-	35	18,07	4,67
2	Col-8	Kontrolle	80	100	100	100	80	100	95	100	80	100	90	100	95	100	80	70	92	10,31	2,58
		GT10	40	50	60	50	30	40	30	20	90	80	50	80	50	20	40	10	46	22,77	5,69
	<i>pad4-1</i>	Kontrolle	70	90	80	100	100	100	100	100	100	90	90	100	80	100	100	-	93	9,76	2,52
		GT10	50	60	80	70	60	90	50	80	60	70	80	90	40	40	40	80	65	17,51	4,38
3	Col-8	Kontrolle	90	100	80	100	90	100	95	100	85	85	70	85	100	90	85	100	91	8,98	2,25
		GT10	20	20	10	70	10	10	10	30	20	10	80	60	10	10	60	40	29	24,62	6,16
	<i>pad4-1</i>	Kontrolle	90	90	90	100	100	80	90	85	70	60	70	90	85	85	100	40	83	16,02	4,00
		GT10	100	100	30	70	40	40	30	30	30	40	80	70	80	100	85	85	63	27,92	6,98

Anmerkungen:

PG = Prüfglied, GT = Genotyp, B = Blatt;

GT10 Erntejahr 2014 Ethylacetat-Phase 0,5 %;

Drei unabhängige Versuche (V1 bis V3):

V1: Ansaat = 01.10.2014, Applikation = 25.11.2014, Mehltau-Vermehrung = 12.11.2014, Inokulation = 27.11.2014, Inokulumdichte = 1,63 Konidien / mm² (n = 4 in Doppelbest.), Bonitur = 04.+05.12.2014 (7-8 d nach der Infektion [engl. days after infection {DAI}]), Auszählung = 05.(+06.)12.2014 (8 DAI)

V2: Ansaat = 15.10.2014, Applikation = 09.12.2014, Mehltau-Vermehrung = 27.11.2014, Inokulation = 11.12.2014, Inokulumdichte = 1,50 Konidien / mm² (n = 4 in Doppelbest.), Bonitur = 18.12.2014 (7 DAI), Auszählung = 18.12.2014 (7 DAI)

V3: Ansaat = 14.01.2015, Applikation = 10.03.2015, Mehltau-Vermehrung = 25.02.2015, Inokulation = 12.03.2015, Inokulumdichte = 1,63 Konidien / mm² (n = 4 in Doppelbest.), Bonitur = 20.03.2015 (8 DAI), Auszählung = 20.03.2015 (8 DAI);

Dunn-Test:

Col-8_Kontrolle versus (vs.) Col-8_GT10 <0,001

*pad4-1*_Kontrolle vs. *pad4-1*_GT10 <0,001

Col-8_Kontrolle vs. *pad4-1*_Kontrolle 1,000

*pad4-1*_GT10 vs. Col-8_GT10 0,079

Fortsetzung Anlage 59.

V	PG		Bf1	Bf2	Bf3	Bf4	Bf5	Bf6	Bf7	Bf8	Bf9	Bf10	Bf11	Bf12	Bf13	Bf14	Bf15	Bf16
1	Col-8	Kontrolle	192.500	145.000	160.000	145.000	107.500	102.500	10.000	12.500	30.000	32.500	2.500	7.500	30.000	22.500	27.500	42.500
		GT10	12.500	27.500	30.000	47.500	55.000	45.000	2.500	5.000	12.500	12.500	20.000	12.500	127.500	77.500	2.500	0
	pad4-1	Kontrolle	432.500	365.000	82.500	90.000	67.500	55.000	5.000	15.000	192.500	127.500	72.500	75.000	192.500	207.500	177.500	177.500
		GT10	75.000	72.500	7.500	7.500	45.000	60.000	15.000	10.000	300.000	302.500	32.500	30.000	297.500	277.500	17.500	12.500
2	Col-8	Kontrolle	7.500	12.500	10.000	7.500	45.000	87.500	105.000	170.000	332.500	392.500	32.500	22.500	145.000	120.000	15.000	15.000
		GT10	2.500	15.000	25.000	12.500	47.500	40.000	7.500	10.000	12.500	12.500	12.500	12.500	17.500	15.000	5.000	7.500
	pad4-1	Kontrolle	102.500	87.500	20.000	30.000	315.000	472.500	302.500	292.500	175.000	155.000	105.000	100.000	25.000	12.500	122.500	77.500
		GT10	55.000	85.000	17.500	10.000	32.500	27.500	15.000	25.000	125.000	70.000	32.500	32.500	37.500	55.000	2.500	2.500
3	Col-8	Kontrolle	20.000	5.000	7.500	7.500	270.000	390.000	50.000	42.500	67.500	60.000	5.000	12.500	25.000	17.500	2.500	10.000
		GT10	12.500	12.500	0	0	10.000	7.500	2.500	0	27.500	32.500	15.000	10.000	25.000	40.000	5.000	7.500
	pad4-1	Kontrolle	230.000	240.000	80.000	115.000	185.000	180.000	22.500	17.500	180.000	242.500	50.000	57.500	352.500	240.000	0	5.000
		GT10	307.500	160.000	50.000	35.000	5.000	5.000	32.500	32.500	70.000	120.000	5.000	7.500	7.500	7.500	7.500	12.500

Anmerkungen:

V = Versuch, PG = Prüfglied, GT = Genotyp, Bf = Blattfläche/-ausschnitt;

GT10 Erntejahr 2014 Ethylacetat-Phase 0,5 %;

Drei unabhängige Versuche (V1 bis V3):

V1: Ansaat = 01.10.2014, Applikation = 25.11.2014, Mehltau-Vermehrung = 12.11.2014, Inokulation = 27.11.2014, Inokulumdichte = 1,63 Konidien / mm² (n = 4 in Doppelbest.), Bonitur = 04.+05.12.2014 (7-8 d nach der Infektion [engl. days after infection {DAI}]), Auszählung = 05.(+06.)12.2014 (8 DAI)

V2: Ansaat = 15.10.2014, Applikation = 09.12.2014, Mehltau-Vermehrung = 27.11.2014, Inokulation = 11.12.2014, Inokulumdichte = 1,50 Konidien / mm² (n = 4 in Doppelbest.), Bonitur = 18.12.2014 (7 DAI), Auszählung = 18.12.2014 (7 DAI)

V3: Ansaat = 14.01.2015, Applikation = 10.03.2015, Mehltau-Vermehrung = 25.02.2015, Inokulation = 12.03.2015, Inokulumdichte = 1,63 Konidien / mm² (n = 4 in Doppelbest.), Bonitur = 20.03.2015 (8 DAI), Auszählung = 20.03.2015 (8 DAI);

Dunn-Test:

Col-8_Kontrolle versus (vs.) Col-8_GT10 0,005

pad4-1_Kontrolle vs. pad4-1_GT10 <0,001

Col-8_Kontrolle vs. pad4-1_Kontrolle 0,002

pad4-1_GT10 vs. Col-8_GT10 0,017

Anlage 60: Intensität des Mehltaubefalls von *Arabidopsis*-Blättern des Wildtyps Col-8 und der Mutante *MYB51* im Blattsegmenttest mit der Ethylacetat-Phase des Genotyps 10 Erntejahr 2014 sowie Zahl an Mehltaukonidien auf den zugehörigen Blattausschnitten.

Versuch	PG		B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B9	B10	B11	B12	B13	B14	B15	B16	M	SD	SEM	
1	Col-8	Kontrolle	80	90	100	90	100	95	95	100	100	70	100	90	100	100	90	70	92	10,31	2,58	
		GT10	60	70	60	40	40	30	70	30	50	30	80	70	0	80	0	10	45	26,04	6,51	
	<i>MYB51</i>	Kontrolle	60	70	30	50	70	80	80	80	10	100	90	90	80	100	50	100	50	69	26,20	6,55
		GT10	40	50	70	70	40	30	40	40	30	70	30	20	70	70	100	70	-	53	22,57	5,83
2	Col-8	Kontrolle	40	100	50	60	30	30	50	80	80	40	60	70	40	100	40	40	57	23,01	5,75	
		GT10	50	30	30	40	40	30	40	30	30	20	50	20	20	30	30	-	33	9,61	2,48	
	<i>MYB51</i>	Kontrolle	70	50	30	40	50	80	50	40	40	40	50	80	80	40	40	50	30	51	17,08	4,27
		GT10	20	20	20	30	30	30	30	20	20	30	30	30	10	10	10	-	-	22	8,02	2,14
3	Col-8	Kontrolle	40	50	50	80	50	55	50	60	55	65	90	85	75	75	90	95	67	17,67	4,42	
		GT10	45	10	70	80	90	15	10	5	15	15	10	10	95	70	20	70	39	33,61	8,40	
	<i>MYB51</i>	Kontrolle	50	50	60	45	50	90	70	90	70	95	80	95	30	80	60	95	69	20,81	5,20	
		GT10	60	55	60	55	30	35	10	30	5	10	5	10	10	5	0	0	24	22,69	5,67	

Anmerkungen:

PG = Prüfglied, GT = Genotyp, B = Blatt;

GT10 Erntejahr 2014 Ethylacetat-Phase 0,5 %;

Drei unabhängige Versuche (V1 bis V3):

V1: Ansaat = 11.03.2015, Applikation = 11.05.2015, Mehltau-Vermehrung = 28.04.2015, Inokulation = 13.05.2015, Inokulumdichte = 1,02 Konidien / mm² (n = 8 in Doppelbestimmung), Bonitur = 20.05.2015 (7 d nach der Infektion [engl. days after infection {DAI}]), Auszählung = 21.+22.05.2015 (8-9 DAI)

V2: Ansaat = 08.04.2015, Applikation = 02.06.2015, Mehltau-Vermehrung = 13.05.2015, Inokulation = 04.06.2015, Inokulumdichte = 0,55 Konidien / mm² (n = 8 in Doppelbestimmung), Bonitur = 11.06.2015 (7 DAI), Auszählung = 11.+13.06.2015 (7-9 DAI)

V3: Ansaat = 03.06.2015, Applikation = 28.07.2015, Mehltau-Vermehrung = 15.07.2015, Inokulation = 30.07.2015, Inokulumdichte = 1,52 Konidien / mm² (n = 8 in Doppelbestimmung), Bonitur = 06.08.2015 (7 DAI), Auszählung = 07.08.2015 (8 DAI);

Dunn-Test:

Col-8_Kontrolle versus (vs.) Col-8_GT10 <0,001

*MYB51*_Kontrolle vs. *MYB51*_GT10 <0,001

Col-8_Kontrolle vs. *MYB51*_Kontrolle 0,986

*MYB51*_GT10 vs. Col-8_GT10 1,000

Fortsetzung Anlage 60.

V	PG		Bf1	Bf2	Bf3	Bf4	Bf5	Bf6	Bf7	Bf8	Bf9	Bf10	Bf11	Bf12	Bf13	Bf14	Bf15	Bf16
1	Col-8	Kontrolle	82.500	72.500	67.500	57.500	347.500	305.000	295.000	392.500	172.500	197.500	42.500	40.000	172.500	155.000	57.500	55.000
		GT10	112.500	110.000	27.500	25.000	217.500	145.000	10.000	30.000	5.000	10.000	10.000	10.000	25.000	82.500	77.500	0
	MYB51	Kontrolle	75.000	42.500	2.500	5.000	350.000	275.000	150.000	175.000	185.000	210.000	85.000	80.000	187.500	137.500	15.000	37.500
		GT10	77.500	90.000	0	32.500	22.500	15.000	42.500	37.500	27.500	22.500	2.500	7.500	272.500	212.500	90.000	100.000
2	Col-8	Kontrolle	10.000	15.000	5.000	15.000	15.000	15.000	7.500	7.500	5.000	7.500	5.000	2.500	5.000	2.500	12.500	2.500
		GT10	17.500	5.000	2.500	10.000	0	2.500	22.500	20.000	5.000	5.000	5.000	2.500	2.500	2.500	0	5.000
	MYB51	Kontrolle	0	10.000	0	2.500	15.000	25.000	15.000	7.500	185.000	215.000	7.500	5.000	5.000	2.500	12.500	30.000
		GT10	2.500	2.500	7.500	5.000	2.500	2.500	2.500	7.500	2.500	5.000	0	7.500	5.000	5.000	2.500	2.500
3	Col-8	Kontrolle	160.000	202.500	60.000	80.000	17.500	37.500	15.000	5.000	42.500	62.500	7.500	17.500	130.000	145.000	15.000	10.000
		GT10	50.000	77.500	25.000	7.500	12.500	12.500	25.000	22.500	5.000	0	7.500	22.500	45.000	42.500	35.000	7.500
	MYB51	Kontrolle	40.000	42.500	5.000	12.500	492.500	407.500	112.500	70.000	185.000	152.500	62.500	52.500	92.500	105.000	7.500	0
		GT10	150.000	285.000	60.000	132.500	262.500	215.000	10.000	7.500	5.000	5.000	2.500	0	10.000	5.000	5.000	2.500

Anmerkungen:

V = Versuch, PG = Prüfglied, GT = Genotyp, Bf = Blattfläche/-ausschnitt;

GT10 Erntejahr 2014 Ethylacetat-Phase 0,5 %;

Drei unabhängige Versuche (V1 bis V3):

V1: Ansaat = 11.03.2015, Applikation = 11.05.2015, Mehltau-Vermehrung = 28.04.2015, Inokulation = 13.05.2015, Inokulumdichte = 1,02 Konidien / mm² (n = 8 in Doppelbestimmung), Bonitur = 20.05.2015 (7 d nach der Infektion [engl. days after infection {DAI}]), Auszählung = 21.+22.05.2015 (8-9 DAI)

V2: Ansaat = 08.04.2015, Applikation = 02.06.2015, Mehltau-Vermehrung = 13.05.2015, Inokulation = 04.06.2015, Inokulumdichte = 0,55 Konidien / mm² (n = 8 in Doppelbestimmung), Bonitur = 11.06.2015 (7 DAI), Auszählung = 11.+13.06.2015 (7-9 DAI)

V3: Ansaat = 03.06.2015, Applikation = 28.07.2015, Mehltau-Vermehrung = 15.07.2015, Inokulation = 30.07.2015, Inokulumdichte = 1,52 Konidien / mm² (n = 8 in Doppelbestimmung), Bonitur = 06.08.2015 (7 DAI), Auszählung = 07.08.2015 (8 DAI);

Tukey-Test:

Col-8_Kontrolle versus (vs.) Col-8_GT10 0,045

MYB51_Kontrolle vs. MYB51_GT10 0,014

Col-8_Kontrolle vs. MYB51_Kontrolle 0,998

MYB51_GT10 vs. Col-8_GT10 0,997

Anlage 61: Intensität des Mehltaubefalls von *Arabidopsis*-Blättern des Wildtyps Col-8 und der Mutante *ein2-1* im Blattsegmenttest mit der Ethylacetat-Phase des Genotyps 10 Erntejahr 2014 sowie Zahl an Mehltaukonidien auf den zugehörigen Blattausschnitten.

Versuch	PG	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B9	B10	B11	B12	B13	B14	B15	B16	M	SD	SEM	
1	Col-8	Kontrolle	80	90	100	90	100	95	95	100	100	70	100	90	100	100	90	70	92	10,31	2,58
		GT10	60	70	60	40	40	30	70	30	50	30	80	70	0	80	0	10	45	26,04	6,51
	<i>ein2-1</i>	Kontrolle	30	50	40	60	90	50	70	70	90	70	90	80	50	60	70	30	63	19,83	4,96
		GT10	50	70	50	80	30	30	40	50	20	30	30	50	20	30	60	30	42	17,59	4,40
2	Col-8	Kontrolle	40	100	50	60	30	30	50	80	80	40	60	70	40	100	40	40	57	23,01	5,75
		GT10	50	30	30	40	40	30	40	30	30	20	50	20	20	30	30		33	9,61	2,48
	<i>ein2-1</i>	Kontrolle	40	40	40	40	40	40	40	50	50	60	50	50	50	40	40	50	45	6,32	1,58
		GT10	50	30	50	30	20	20	20	30	30	40	20	30	20	30	20		29	10,33	2,67
3	Col-8	Kontrolle	40	50	50	80	50	55	50	60	55	65	90	85	75	75	90	95	67	17,67	4,42
		GT10	45	10	70	80	90	15	10	5	15	15	10	10	95	70	20	70	39	33,61	8,40
	<i>ein2-1</i>	Kontrolle	90	5	95	80	75	75	90	85	55	45	15	30	25	10	20	35	52	32,24	8,06
		GT10	60	45	20	15	25	30	20	20	20	10	25	15	55	65	20	50	31	15,76	3,94
4	Col-8	Kontrolle	30	50	40	40	40	60	40	70	50	70	60	70	60	60	80	80	56	15,44	3,86
		GT10	20	20	20	10	5	20	5	10	3	0	20	20	5	0	3	3	10	8,25	2,06
	<i>ein2-1</i>	Kontrolle	40	40	50	40	70	50	70	70	60	60	50	50	50	70	60		55	11,25	2,91
		GT10	20	5	10	10	0	10	10	0	10	30	30	20	3	5	10		12	9,50	2,45

Anmerkungen:

PG = Prüfglied, GT = Genotyp, B = Blatt;

GT10 Erntejahr 2014 Ethylacetat-Phase 0,5 %;

Vier unabhängige Versuche (V1 bis V4):

V1: Ansaat = 11.03.2015, Applikation = 11.05.2015, Mehltau-Vermehrung = 28.04.2015, Inokulation = 13.05.2015, Inokulumdichte = 1,02 Konidien / mm² (n = 8 in Doppelbestimmung), Bonitur = 20.05.2015 (7 d nach der Infektion [engl. days after infection {DAI}]), Auszählung = 21.+22.05.2015 (8-9 DAI)

V2: Ansaat = 08.04.2015, Applikation = 02.06.2015, Mehltau-Vermehrung = 13.05.2015, Inokulation = 04.06.2015, Inokulumdichte = 0,55 Konidien / mm² (n = 8 in Doppelbestimmung), Bonitur = 11.06.2015 (7 DAI), Auszählung = 11.+13.06.2015 (7-9 DAI)

V3: Ansaat = 03.06.2015, Applikation = 28.07.2015, Mehltau-Vermehrung = 15.07.2015, Inokulation = 30.07.2015, Inokulumdichte = 1,52 Konidien / mm² (n = 8 in Doppelbestimmung), Bonitur = 06.08.2015 (7 DAI), Auszählung = 07.08.2015 (8 DAI)

V4: Ansaat = 07.10.2015, Applikation = 01.12.2015, Mehltau-Vermehrung = 18.11.2015, Inokulation = 03.12.2015, Inokulumdichte = 0,63 Konidien / mm² (n = 4 in Doppelbestimmung), Bonitur = 10.12.2015 (7 DAI), Auszählung = 14.12.2015 (11 DAI);

Dunn-Test:

Col-8_Kontrolle versus (vs.) Col-8_GT10 <0,001

*ein2-1*_Kontrolle vs. *ein2-1*_GT10 <0,001

Col-8_Kontrolle vs. *ein2-1*_Kontrolle 0,057

*ein2-1*_GT10 vs. Col-8_GT10 1,000

Fortsetzung Anlage 61.

V	PG		Bf1	Bf2	Bf3	Bf4	Bf5	Bf6	Bf7	Bf8	Bf9	Bf10	Bf11	Bf12	Bf13	Bf14	Bf15	Bf16
1	Col-8	Kontrolle	82.500	72.500	67.500	57.500	347.500	305.000	295.000	392.500	172.500	197.500	42.500	40.000	172.500	155.000	57.500	55.000
		GT10	112.500	110.000	27.500	25.000	217.500	145.000	10.000	30.000	5.000	10.000	10.000	25.000	82.500	77.500	0	7.500
	ein2-1	Kontrolle	45.000	20.000	25.000	35.000	170.000	120.000	10.000	7.500	282.500	242.500	15.000	30.000	220.000	182.500	17.500	17.500
		GT10	122.500	102.500	70.000	60.000	37.500	15.000	0	25.000	15.000	5.000	2.500	22.500	5.000	2.500	7.500	22.500
2	Col-8	Kontrolle	10.000	15.000	5.000	15.000	15.000	15.000	7.500	7.500	5.000	7.500	5.000	2.500	5.000	2.500	12.500	2.500
		GT10	17.500	5.000	2.500	10.000	0	2.500	22.500	20.000	5.000	5.000	5.000	2.500	2.500	2.500	0	5.000
	ein2-1	Kontrolle	7.500	5.000	32.500	15.000	32.500	60.000	82.500	90.000	0	5.000	45.000	32.500	45.000	27.500	7.500	2.500
		GT10	0	0	42.500	50.000	0	2.500	2.500	0	2.500	5.000	0	2.500	5.000	10.000	0	2.500
3	Col-8	Kontrolle	160.000	202.500	60.000	80.000	17.500	37.500	15.000	5.000	42.500	62.500	7.500	17.500	130.000	145.000	15.000	10.000
		GT10	50.000	77.500	25.000	7.500	12.500	12.500	25.000	22.500	5.000	0	7.500	22.500	45.000	42.500	35.000	7.500
	ein2-1	Kontrolle	100.000	87.500	2.500	2.500	117.500	140.000	60.000	130.000	10.000	5.000	5.000	17.500	5.000	0	0	7.500
		GT10	50.000	40.000	30.000	20.000	20.000	52.500	42.500	67.500	72.500	70.000	27.500	22.500	5.000	22.500	17.500	17.500
4	Col-8	Kontrolle	10.000	10.000	17.500	27.500	15.000	20.000	15.000	35.000	340.000	240.000	62.500	72.500	20.000	20.000	25.000	40.000
		GT10	15.000	10.000	7.500	7.500	10.000	2.500	35.000	37.500	5.000	7.500	2.500	5.000	2.500	10.000	2.500	0
	ein2-1	Kontrolle	27.500	5.000	5.000	2.500	25.000	17.500	15.000	17.500	77.500	87.500	5.000	12.500	0	2.500	5.000	12.500
		GT10	2.500	0	2.500	7.500	22.500	10.000	0	0	15.000	17.500	0	12.500	5.000	15.000	5.000	12.500

Anmerkungen:

V = Versuch, PG = Prüfglied, GT = Genotyp, Bf = Blattfläche/-ausschnitt;

GT10 Erntejahr 2014 Ethylacetat-Phase 0,5 %;

Vier unabhängige Versuche (V1 bis V4):

V1: Ansaat = 11.03.2015, Applikation = 11.05.2015, Mehltau-Vermehrung = 28.04.2015, Inokulation = 13.05.2015, Inokulumdichte = 1,02 Konidien / mm² (n = 8 in Doppelbestimmung), Bonitur = 20.05.2015 (7 d nach der Infektion [engl. days after infection {DAI}]), Auszählung = 21.+22.05.2015 (8-9 DAI)

V2: Ansaat = 08.04.2015, Applikation = 02.06.2015, Mehltau-Vermehrung = 13.05.2015, Inokulation = 04.06.2015, Inokulumdichte = 0,55 Konidien / mm² (n = 8 in Doppelbestimmung), Bonitur = 11.06.2015 (7 DAI), Auszählung = 11.+13.06.2015 (7-9 DAI)

V3: Ansaat = 03.06.2015, Applikation = 28.07.2015, Mehltau-Vermehrung = 15.07.2015, Inokulation = 30.07.2015, Inokulumdichte = 1,52 Konidien / mm² (n = 8 in Doppelbestimmung), Bonitur = 06.08.2015 (7 DAI), Auszählung = 07.08.2015 (8 DAI)

V4: Ansaat = 07.10.2015, Applikation = 01.12.2015, Mehltau-Vermehrung = 18.11.2015, Inokulation = 03.12.2015, Inokulumdichte = 0,63 Konidien / mm² (n = 4 in Doppelbestimmung), Bonitur = 10.12.2015 (7 DAI), Auszählung = 14.12.2015 (11 DAI);

Tukey-Test:

Col-8_Kontrolle versus (vs.) Col-8_GT10 <0,001

ein2-1_Kontrolle vs. ein2-1_GT10 0,080

Col-8_Kontrolle vs. ein2-1_Kontrolle 0,262

ein2-1_GT10 vs. Col-8_GT10 0,992

Anlage 62: Beschreibung der ausgewählten abwehrrelevanten Gene der DNA-Microarray-Analysen.

„Gene Description“	„Gene Symbol“	„GO Biological Process Term“ (Auswahl)
<i>ABC transporter G family member 40</i>	<i>PDR12</i>	MAPK cascade // signal transduction // response to ET stimulus // response to auxin stimulus // response to JA stimulus // SAR, SA mediated signaling pathway // response to chitin // regulation of H ₂ O ₂ metabolic process // regulation of plant-type HR // defense response to fungus
<i>beta-1,3-glucanase 3</i>	<i>BG3</i>	MAPK cascade // incompatible interaction // SAR, SA mediated signaling pathway // JA mediated signaling pathway // response to chitin // regulation of H ₂ O ₂ metabolic process // regulation of plant-type HR // regulation of innate immune response // defense response to fungus
<i>chitinase class IV</i>	<i>EP3</i>	respiratory burst involved in defense response // plant-type HR // chitin catabolic process
<i>chlorophyllase 1</i>	<i>CLH1</i>	MAPK cascade // SAR, SA mediated signaling pathway // JA mediated signaling pathway // regulation of H ₂ O ₂ metabolic process // regulation of plant-type HR // defense response to fungus
<i>class I heat shock protein</i>	<i>AT1G07400</i>	response to oxidative stress // response to heat
<i>D-3-phosphoglycerate dehydrogenase</i>	<i>AT1G17745</i>	L-serine biosynthetic process // indoleacetic acid biosynthetic process // positive regulation of flavonoid biosynthetic process // regulation of plant-type HR // oxidation-reduction process
<i>enhanced disease susceptibility 5</i>	<i>EDS5</i>	drug transmembrane transport // indoleacetic acid biosynthetic process // JA biosynthetic process // SAR, SA mediated signaling pathway // response to chitin // regulation of H ₂ O ₂ metabolic process // regulation of plant-type HR // secondary metabolic process // innate immune response // defense response to fungus
<i>glutathione S-transferase 6</i>	<i>GSTF6</i>	response to oxidative stress // toxin catabolic process // defense response
<i>glutathione S-transferase 7/11</i>	<i>GSTF7</i>	defense response to fungus, incompatible interaction // response to stress // response to toxic substance
<i>glutathione S-transferase phi 12</i>	<i>GSTF12</i>	anthocyanin-containing compound biosynthetic process // regulation of flavonol biosynthetic process // response to stress
<i>heat shock protein 70</i>	<i>AT5G02490</i>	response to heat // SAR // SA biosynthetic process // response to H ₂ O ₂ // response to stress
<i>late embryogenesis abundant hydroxyproline-rich glycoprotein</i>	<i>YLS9</i>	MAPK cascade // respiratory burst involved in defense response // cellular membrane fusion // SAR, SA mediated signaling pathway // JA mediated signaling pathway // leaf senescence // response to chitin // regulation of H ₂ O ₂ metabolic process // regulation of plant-type HR // defense response to fungus
<i>lectin-like protein</i>	<i>AT3G15356</i>	defense response to fungus, incompatible interaction

Fortsetzung Anlage 62.

„Gene Description“	„Gene Symbol“	„GO Biological Process Term“ (Auswahl)
<i>leucine-rich receptor-like protein kinase</i>	<i>LRR XI-23</i>	protein phosphorylation // cellular membrane fusion // response to oxidative stress // signal transduction // transmembrane receptor protein tyrosine kinase signaling pathway // SAR // stomatal complex morphogenesis // regulation of plant-type HR // regulation of defense response
<i>MLO-like protein</i>	<i>MLO12</i>	respiratory burst involved in defense response // cell death // toxin catabolic process // defense response to fungus, incompatible interaction // response to chitin
<i>monodehydroascorbate reductase (NADH)</i>	<i>MDHAR</i>	signal transduction // response to wounding
<i>nudix hydrolase 6</i>	<i>NUDT6</i>	MAPK cascade // SAR, SA mediated signaling pathway // JA mediated signaling pathway // response to chitin // regulation of H ₂ O ₂ metabolic process // regulation of plant-type HR // regulation of innate immune response // defense response to fungus
<i>O-methyltransferase family protein</i>	<i>AT1G21120</i>	indole glucosinolate metabolic process // methylation
<i>pathogenesis-related protein 1</i>	<i>PR1</i>	MAPK cascade // defense response // SAR // SA biosynthetic process // response to chitin // regulation of H ₂ O ₂ metabolic process // regulation of plant-type HR // regulation of innate immune response
<i>pathogenesis-related protein 5</i>	<i>PR5</i>	MAPK cascade // respiratory burst // cellular membrane fusion // defense response, incompatible interaction // SAR, SA mediated signaling pathway // JA mediated signaling pathway // response to chitin // regulation of H ₂ O ₂ metabolic process // regulation of plant-type HR // cell differentiation // regulation of anthocyanin biosynthetic process // regulation of innate immune response
<i>protein NIM1-INTERACTING 1</i>	<i>NIMIN1</i>	MAPK cascade // SA biosynthetic process // SAR, salicylic acid mediated signaling pathway // JA mediated signaling pathway // regulation of SAR // regulation of H ₂ O ₂ metabolic process // regulation of plant-type HR // regulation of defense response // regulation of immune response // defense response to fungus
<i>putative WRKY transcription factor 38</i>	<i>WRKY38</i>	MAPK cascade
<i>putative WRKY transcription factor 51</i>	<i>WRKY51</i>	JA mediated signaling pathway // defense response to bacterium
<i>receptor like protein 39</i>	<i>RLP39</i>	defense response // signal transduction
<i>receptor like protein 41</i>	<i>RLP41</i>	defense response // signal transduction // SAR
<i>receptor-like protein kinase 1</i>	<i>RLK1</i>	MAPK cascade // protein phosphorylation // SAR, SA mediated signaling pathway // JA mediated signaling pathway // regulation of H ₂ O ₂ metabolic process // regulation of plant-type HR
<i>Rossmann-fold NAD(P)-binding domain-containing protein</i>	<i>AT4G13180</i>	metabolic process // oxidation-reduction process

CXXXVIII

Anlagen

Fortsetzung Anlage 62.

„Gene Description“	„Gene Symbol“	„GO Biological Process Term“ (Auswahl)
<i>short-chain dehydrogenase reductase 3a</i>	AT2G47130	abscisic acid biosynthetic process // defense response // plant-type HR // oxidation-reduction process
<i>sulfotransferase 2A</i>	ST2A	response to wounding // JA metabolic process // response to JA stimulus // JA mediated signaling pathway
<i>Target of Myb protein 1</i>	AT1G76970	cellular membrane fusion
<i>Toll-Interleukin-Resistance domain-containing protein</i>	AT1G57630	MAPK cascade // signal transduction // SA biosynthetic process // defense response, incompatible interaction // JA mediated signaling pathway // regulation of plant-type HR // innate immune response
<i>transcription factor MYB75</i>	PAP1	anthocyanin-containing compound biosynthetic process // response to ET stimulus // response to auxin stimulus // response to JA stimulus // removal of superoxide radicals // defense response to fungus
<i>tyrosine aminotransferase 3</i>	TAT3	signal transduction // response to wounding // response to fungus // SAR // JA biosynthetic process // SA biosynthetic process // response to ET stimulus // response to auxin stimulus // abscisic acid mediated signaling pathway
<i>VQ motif-containing protein</i>	AT1G78410	MAPK cascade // response to oxidative stress // SAR, SA mediated signaling pathway // JA mediated signaling pathway // response to chitin // regulation of H ₂ O ₂ metabolic process // regulation of plant-type HR
<i>VQ motif-containing protein</i>	AT2G41180	SAR // regulation of defense response
<i>WRKY DNA-binding protein 18</i>	WRKY18	response to SA stimulus
<i>WRKY DNA-binding protein 30</i>	WRKY30	response to SA stimulus // response to H ₂ O ₂
<i>WRKY DNA-binding protein 54</i>	WRKY54	MAPK cascade // SAR // SA biosynthetic process // JA mediated signaling pathway // response to chitin // regulation of H ₂ O ₂ metabolic process // regulation of plant-type HR // regulation of innate immune response // defense response to fungus
<i>WRKY transcription factor 6</i>	WRKY6	respiratory burst involved in defense response // toxin catabolic process // intracellular signal transduction // ET mediated signaling pathway

Anlage 63: Transkriptabundanz der Pathogenese-zugehörigen Protein-kodierenden Gene *PR1*, *PR2* und *PR5* des dritten biologischen Replikats der postinfektionellen qRT-PCR-Analysen (nicht infizierte Vergleichsproben).

	<i>PR1</i>		<i>PR2</i>		<i>PR5</i>	
	H ₂ O	GT10	H ₂ O	GT10	H ₂ O	GT10
48 HAT	1,066832	1,002313	0,933033	0,777366	0,952638	0,959264
	1,112136	1,023374	1,006956	1,334840	1,071773	1,164734
	0,842842	0,974905	1,064370	0,963707	0,979420	1,248331
	0,866537	1,189207				
	0,909618	0,795536				
	1,268684	1,057018				
	0,808508	0,849685				
	0,791869	1,176907				
1,561934	1,076738					
8 HAI		3,131094		4,169863		5,426417
		3,498331		3,160165		4,438278
		2,555018		4,377175		4,834388
		1,977028				
		2,367449				
		2,221704				
		1,707241				
		2,773421				
	2,163449					
12 HAI		1,540430		2,462289		4,027822
		1,417485		3,630077		3,514534
		1,540430		3,758091		3,371366
		1,958841				
		1,086735				
		1,815038				
		1,500039				
		1,563739				
	1,469169					

Anmerkungen: qRT-PCR = quantitative Reverse-Transkriptase-PCR (PCR = engl. polymerase chain reaction [Polymerasekettenreaktion]);
HAT/HAI = engl. hours after treatment/infection (Stunden nach der Behandlung/Infektion), PR = engl. pathogenesis-related (Pathogenese-zugehörig),
GT = Genotyp

Fortsetzung Anlage 63.

		<i>PR1</i>		<i>PR2</i>		<i>PR5</i>	
		H ₂ O	GT10	H ₂ O	GT10	H ₂ O	GT10
16 HAI			0,905425		2,239743		1,265757
			0,850667		2,700700		1,219819
			0,924450		2,434007		1,362888
			0,534650				
			0,491978				
			0,360149				
			0,973779				
			0,830278				
			0,737987				
20 HAI			0,935191		0,611320		1,265757
			1,030492		0,773782		1,526259
			1,002313		0,692555		1,477679
			0,611320				
			0,907519				
			0,668191				
			0,800145				
			0,834124				
		0,846745					
24 HAI	16,223352	2,479415	3,241511	1,967913	4,074623	2,620787	
	20,677645	2,751084	3,286761	1,900879	3,152872	2,848100	
	17,387758	1,958841	3,990769	1,598442	3,286761	2,757447	
	11,445167	1,677912					
	12,787538	1,810850					
	19,517098	2,155964					
	16,373982	2,201266					
	12,238318	2,732081					
		2,789487					

Anmerkungen: HAI = engl. hours after infection (Stunden nach der Infektion), PR = engl. pathogenesis-related (Pathogenese-zugehörig), GT = Genotyp

Anlage 64: Transkriptabundanz der Pathogenese-zugehörigen Protein-kodierenden Gene *PR1*, *PR2* und *PR5* des dritten biologischen Replikats der postinfektionellen qRT-PCR-Analysen (infizierte Proben).

	<i>PR1</i>		<i>PR2</i>		<i>PR5</i>	
	H ₂ O	GT10	H ₂ O	GT10	H ₂ O	GT10
48 HAT	1,017480	1,066832	0,842842	0,866537	1,061914	0,942785
	0,982821	0,948246	1,112136	1,388313	1,146047	1,060688
	0,969290	0,988514	1,066832	0,831238	0,821690	1,006956
	1,031683	1,122462	1,086735	1,057018	1,002313	0,937354
	0,559936	0,816014	1,057018	0,979420	0,928731	0,899171
	1,009285	1,091768	0,870551	0,965936	1,074253	1,186463
	0,878633	1,107009		1,138131		0,901250
	0,848704	0,821690		0,838956		0,922316
	1,341022	1,099362		1,047294		0,825496
8 HAI	20,228723	105,907920	0,250000	7,835362	0,432269	20,112214
	18,614221	104,449854	0,396392	8,224911	0,331788	26,722813
	17,732614	90,300788	0,354781	4,228072	0,368142	20,677645
	16,355077	190,019017	0,359733		0,327220	
	17,650861	150,122874				
	12,921187	189,580487				
	17,468292	184,396398				
	16,074107	142,682705				
	15,312805	165,803808				
12 HAI	2,097009	6,105037	1,781797	37,966804	8,310873	8,310873
	2,691356	7,160201	3,371366	42,419822	15,580468	15,580468
	1,136817	8,339726	2,795940	56,754649	11,405570	11,405570
	1,361314	7,889862	4,443408	25,457167	8,514961	11,739779
	1,747146	6,364292	3,814957	22,784803	11,235559	8,514961
	1,810850	7,012846	4,174683	40,597904	11,418754	7,361501
	2,324091	6,980514		53,199225	10,728179	11,235559
	1,857463	5,910718		27,986645	12,495471	11,418754
	2,224272	6,558352		69,230379	9,940603	8,774600
						10,728179
						12,495471
					9,940603	

Anmerkungen: qRT-PCR = quantitative Reverse-Transkriptase-PCR (PCR = engl. polymerase chain reaction [Polymerasekettenreaktion]);
HAT/HAI = engl. hours after treatment/infection (Stunden nach der Behandlung/Infektion), PR = engl. pathogenesis-related (Pathogenese-zugehörig),
GT = Genotyp

Fortsetzung Anlage 64.

	PR1		PR2		PR5	
	H ₂ O	GT10	H ₂ O	GT10	H ₂ O	GT10
16 HAI	8,544523	63,118893	0,692555	49,866533	0,901250	42,517946
	9,157793	40,224428	1,019833	41,642939	1,050930	58,081226
	7,004749	58,892010	0,998845	28,246496	0,967053	39,396621
	5,931238	78,611402	0,906471	30,838628	1,029302	55,075292
	12,153781	64,296427		24,195497		44,735038
	7,378530	60,828127		27,793328		29,107789
	7,908112	76,109255				
	13,392314	77,171701				
	11,339879	61,819925				
20 HAI	10,815287	152,923537	0,248273	1,109569	0,594604	18,252219
	7,594737	142,682705	0,313166	1,883392	0,589815	16,111289
	7,507504	143,675142	0,421908	0,308498	0,554144	14,928528
	7,718569	235,568039	0,375010		0,546515	
	10,678719	221,321531				
	9,339422	173,645354				
	4,448544	249,575643				
	6,558352	198,546530				
12,266627	193,117264					
24 HAI	18,571263	167,343264	0,384219	26,908685	2,340257	74,030000
	19,226177	213,289135	0,858565	21,406841	1,954320	54,948188
	10,374716	158,316374	0,852635	20,821470	3,286761	62,682899
	8,310873	280,787195	0,790041	16,602555	1,002313	43,211198
	18,808767	234,481994		21,308148	0,860551	55,844114
	7,533568	203,187335		19,203979	0,825496	77,888225
	16,602555	214,772678				
	14,859703	257,185709				
	13,579264	230,187657				

Anmerkungen:

HAI = engl. hours after infection (Stunden nach der Infektion), PR = engl. pathogenesis-related (Pathogenese-zugehörig), GT = Genotyp;
 PR1: signifikant erhöhte Transkriptabundanz 8, 20 und 24 HAI (GT10 8-24 HAI versus [vs.] GT10 48 HAT, Dunnett-Test, $P < 0,001$)
 PR2: signifikant erhöhte Transkriptabundanz 12 und 16 HAI (GT10 8-24 HAI vs. GT10 48 HAT, Dunn-Test vs. Kontrolle, $P < 0,001$)
 PR5: signifikant erhöhte Transkriptabundanz 16 und 24 HAI (GT10 8-24 HAI vs. GT10 48 HAT, Dunn-Test vs. Kontrolle, $P < 0,001$);
 Im Vergleich zur Anlage 63 (nicht infizierte Vergleichsproben) zeigten sich 48 HAT und 24 HAI mit den H₂O-Werten übereinstimmende Transkriptabundanz-Werte, welche auch im Vergleich zur unbehandelten GT10-Gruppe ähnlich, im Übrigen aber deutlich geringer ausfielen (PR1).
 Hinsichtlich des PR2 Gens lagen die Transkriptabundanz-Werte im Falle der Kontrollen etwa gleich und anderenfalls z.T. deutlich niedriger.
 Ähnliches war bzgl. des PR5 Gens beobachtbar (Ausnahme: GT10 48 HAT). Höhere Transkriptabundanz-Werte der PR Gene in den nicht infizierten Vergleichsproben entsprachen i.d.R. den PR Gen-Transkriptabundanz-Werten in den infizierten Proben, die keine bedeutenden Abweichungen aufwiesen.

Anlage 65: Transkriptabundanz der Pathogenese-zugehörigen Protein-kodierenden Gene *PR1*, *PR2* und *PR5* in extraktbehandelten und infizierten Proben sowie extraktbehandelten und nicht infizierten Vergleichsproben der postinfektionellen qRT-PCR-Analysen.

		nicht infiziert	SEM	infiziert	SEM	Statistik
<i>PR1</i>	8 HAI	0,62982919	0,0367987	3,06378475	0,12274772	ns
	16 HAI	1,00304682	0,04506183	2,53557896	0,40496113	$P = <0,001$
	20 HAI	0,20606577	0,02216052	0,90095601	0,11606487	ns
<i>PR2</i>	8 HAI	1,9650544	0,10695689	3,05046271	0,25790702	$P = <0,001$
	16 HAI	2,2635588	0,07200208	2,22485545	0,17201033	ns
	20 HAI	0,70816265	0,04719167	1,83484201	0,0978763	ns
<i>PR5</i>	8 HAI	1,72630973	0,05915154	2,40734854	0,36375474	ns
	16 HAI	2,6646276	0,1274875	3,95779095	0,08168743	$P = 0,040$
	20 HAI	0,54360364	0,03719947	2,68973211	0,04698646	ns

Anmerkungen: qRT-PCR = quantitative Reverse-Transkriptase-PCR (PCR = engl. polymerase chain reaction [Polymerasekettenreaktion]);
 PR = engl. pathogenesis-related (Pathogenese-zugehörig), HAI = engl. hours after infection (Stunden nach der Infektion);
 Statistik: t-Test / Mann-Whitney-Rangsummentests (n = 4),
 ns = nicht signifikant

Anlage 66: Gerstenmehltaubefall in Sommergersteparzellen des Freilandversuchs 2012 (Blatttage F-2).

			Gerstenmehltaubefall [%] / Blatt (F-2)																																					
PG	Dosis	Wh	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	M	SD	SEM	
Kontrolle	-	1	50	50	70	30	40	20	30	50	50	60	80	50	80	10	20	30	20	40	20	20	10	30	40	40	30	30	60	50	40	30	50	40	30	50	40	18	3	
GT02a	750 g/ha		0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	3	3	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	1	1	0	
GT02b	750 g/ha		5	5	5	0	0	0	0	0	0	5	5	5	0	5	5	5	10	5	0	0	0	0	0	0	0	5	5	10	5	0	5	5	5	0	3	3	3	1
Corbel®	750 g/ha		0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	5	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	3	3	0	1	2	0
Flexity®	150 g/ha		0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	5	5	5	5	0	0	5	0	0	0	0	5	0	5	5	0	5	5	0	5	5	2	2	0
Kontrolle	-	2	40	30	50	30	60	20	30	30	50	60	50	50	70	30	20	40	50	40	20	60	50	30	40	40	30	30	80	50	40	30	40	30	30	50	41	14	2	
GT02a	750 g/ha		0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	
GT02b	750 g/ha		5	5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	5	5	3	0	0	0	0	0	0	0	0	5	5	0	5	0	5	5	5	0	3	2	2	0
Corbel®	750 g/ha		0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Flexity®	150 g/ha		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	5	0	5	0	0	0	1	0
Kontrolle	-	3	50	70	70	30	60	20	70	50	50	60	80	50	60	80	20	30	80	50	20	70	70	30	40	40	60	30	50	50	80	30	50	40	60	80	52	19	3	
GT02a	750 g/ha		0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	3	3	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	1	1	0	
GT02b	750 g/ha		5	5	5	0	0	0	0	5	0	5	5	10	10	5	5	5	10	5	0	0	0	0	10	0	5	10	5	5	0	5	5	5	0	3	4	3	1	
Corbel®	750 g/ha		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	3	0	0	0	0	3	3	0	1	1	0	
Flexity®	150 g/ha		0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	5	0	5	0	0	0	5	0	0	0	3	3	0	0	0	0	0	5	0	5	5	1	2	0
Kontrolle	-	4	60	80	70	30	40	20	30	50	30	60	80	50	80	60	80	30	20	40	20	20	70	30	40	40	70	30	60	50	30	30	50	40	30	20	45	20	3	
GT02a	750 g/ha		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	
GT02b	750 g/ha		5	5	5	0	0	0	0	0	0	10	0	0	0	0	5	5	0	10	0	0	0	0	0	0	0	5	5	5	5	5	5	5	5	10	10	3	3	1
Corbel®	750 g/ha		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	3	3	0	0	1	0	
Flexity®	150 g/ha		0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	5	5	0	0	0	0	5	5	1	2	0	

Anmerkungen: Blatttage F-2 = 2. Blatt unter Fahnenblatt (F);
 PG = Prüfglied, GT = Genotyp, GT02a = GT02 Erntejahr 2012 (E12) + PREV-AM®, GT02b = GT02 E12 + HASTEN™,
 Wh = Wiederholung/Replikat;
 Der gegenüber der Kontrolle reduzierte Gerstenmehltaubefall war bei allen Prüfgliedern signifikant (Dunnett-Test, $P < 0,001$).

CXLV

Anlagen

Anlage 67: Gerstenmehltaubefall in Sommergersteparzellen des Freilandversuchs 2012 (Blatttage F-1).

			Gerstenmehltaubefall [%] / Blatt (F-1)																																					
PG	Dosis	Wh	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	M	SD	SEM	
Kontrolle	-	1	30	10	20	5	20	0	3	10	0	30	10	50	30	20	3	10	10	10	0	0	0	0	0	30	30	30	30	5	5	5	5	5	10	20	13	13	2	
GT02a	750 g/ha		0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
GT02b	750 g/ha		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	3	0	0	3	0	0	5	0	5	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	0
Corbel®	750 g/ha		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Flexity®	150 g/ha		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kontrolle	-	2	20	10	5	5	0	30	3	0	0	20	10	0	30	20	3	10	10	10	0	0	0	0	0	20	30	20	30	10	5	10	5	5	0	0	9	10	2	
GT02a	750 g/ha		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
GT02b	750 g/ha		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	
Corbel®	750 g/ha		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Flexity®	150 g/ha		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kontrolle	-	3	40	30	20	20	20	3	10	40	30	10	50	30	20	40	10	10	10	0	0	40	0	20	30	30	30	40	40	5	5	5	10	10	20	21	14	2		
GT02a	750 g/ha		0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	
GT02b	750 g/ha		0	0	10	0	0	0	5	0	0	0	5	0	0	0	10	10	0	0	3	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	1	3	1	
Corbel®	750 g/ha		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Flexity®	150 g/ha		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kontrolle	-	4	5	5	5	5	20	0	3	10	0	20	10	10	30	20	10	10	10	10	5	30	0	0	30	5	5	30	5	5	5	5	5	5	3	3	10	9	2	
GT02a	750 g/ha		0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	
GT02b	750 g/ha		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	
Corbel®	750 g/ha		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Flexity®	150 g/ha		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Anmerkungen:

Blatttage F-1 = 1. Blatt unter Fahnenblatt (F);
 PG = Prüfglied, GT = Genotyp, GT02a = GT02 Erntejahr 2012 (E12) + PREV-AM®, GT02b = GT02 E12 + HASTEN™,
 Wh = Wiederholung/Replikat;
 Der gegenüber der Kontrolle reduzierte Gerstenmehltaubefall war bei allen Prüfgliedern signifikant (Dunnett-Test, $P < 0,001$).

Anlage 68: *Septoria tritici*-Befall in Winterweizenparzellen des Freilandversuchs 2013 (Blatttage F).

			Septoria tritici-Befall [%] / Blatt (F)																															
PG	Dosis	Wh	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	M	SD	SEM
Kontrolle	-	1	50	10	40	0	5	0	20	10	3	50	10	85	10	3	0	0	20	0	0	0	0	0	50	5	80	20	10	10		18	24	5
GT02	750 g/ha		5	55	3	10	0	0	0	5	0	0	0	0	30	20	10	5	5	50	20	0	5	0	5	20	0	0	5	40	10	10	15	3
GT02	375 g/ha		5	5	3	10	0	0	0	5	0	0	0	0	30	20	10	5	5	50	20	0	5	0	5	20	0	0	5	40	10	9	13	2
Amistar®	250 g/ha		50	10	40	0	5	0	20	10	3	50	10	85	10	3	0	0	20	0	0	0	0	0	50	5	0	10	10	70	80	19	26	5
Kontrolle	-	2	0	0	30	10	5	10	5	0	30	0	0	10	0	20	0	10	30	0	10	0	20	0	20	20	0					9	11	2
GT02	750 g/ha		50	20	40	0	0	0	0	0	40	50	0	0	5	5	0	30	0	5	0	0	10	0	5	0	0					10	17	3
GT02	375 g/ha		40	20	30	10	50	0	0	20	10	0	70	50	0	5	0	0	15	0	0	0	0	20	0	0	0					14	20	4
Amistar®	250 g/ha		10	0	0	0	0	10	15	0	0	20	0	5	15	0	5	0	0	0	0	0	0	10	0	10	40	10	10			6	9	2
Kontrolle	-	3	0	0	0	0	5	80	10	10	10	40	80	50	90	5	20	60	0	0	10	90	40	5	30	25	20	60	40	50	20	29	29	5
GT02	750 g/ha		0	20	0	5	0	40	0	0	0	0	0	0	20	50	0	0	5	20	20	40	0	0	5	0	0	0	40	40		11	16	3
GT02	375 g/ha		0	0	10	30	20	10	80	50	0	80	0	10	20	0	30	70	0	5	60	30	60	60	5	0	0	0	0	0	30	23	27	5
Amistar®	250 g/ha		0	40	5	0	0	10	20	80	30	5	5	0	70	30	20	70	60	10	0	20	0	0	80	0	10	0	0	0	5	20	27	5
Kontrolle	-	4	80	20	30	60	10	5	20	5	5	0	0	60	30	70	20	30	10	0	50	40	5	20	10	40	40	30	60	60		29	24	4
GT02	750 g/ha		0	0	5	0	20	5	10	25	0	10	20	0	5	0	0	0	10	60	60	60	20	0	0	0	10	40	0	0	0	12	19	4
GT02	375 g/ha		20	0	0	0	0	20	10	0	0	5	50	5	30	20	0	50	10	10	0	30	70	80	30	0	5	50	40	0	20	19	23	4
Amistar®	250 g/ha		0	0	0	0	5	0	30	10	5	0	0	5	0	5	10	5	0	0	0	10	20	20	50	5	0	0	40			8	13	3

Anmerkungen: Blatttage F = Fahnenblatt;
 PG = Prüfglied, GT = Genotyp (GT02 Erntejahr 2012 Ethylacetat-Phase), Wh = Wiederholung/Replikat

Anlage 69: *Septoria tritici*-Befall in Winterweizenparzellen des Freilandversuchs 2013 (Blatttage F-1).

			Septoria tritici-Befall [%] / Blatt (F-1)																															
PG	Dosis	Wh	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	M	SD	SEM
Kontrolle	-	1	80	25	20	15	20	15	90	90	80	30	50	15	0	25	70	30	5	50	5	20	30	20	25	20	40	25	40			35	26	5
GT02	750 g/ha		60	70	20	70	40	40	10	5	10	20	15	20	10	5	5	40	10	3	5	40	5	10	5	0	10	30	30			22	21	4
GT02	375 g/ha		40	30	40	0	40	15	10	20	80	0	40	20	0	30	40	80	50	50	40	10	20	50	20	20						31	22	4
Amistar®	250 g/ha		15	10	5	0	3	20	30	5	10	40	20	40	40	2	0	0	0	0	10	15	2	3	5	0	10	10	5	25	10	12	13	2
Kontrolle	-	2	10	0	10	60	70	30	3	70	5	80	50	10	20	0	30	40	50	15	30	50	30	30	20	30	40	15	60	80	10	33	24	5
GT02	750 g/ha		60	50	50	30	20	5	40	10	60	0	30	50	15	70	0	0	10	5	50	0	30	35	5	10	0	5			25	23	4	
GT02	375 g/ha		40	50	80	50	10	20	20	60	30	70	70	0	50	70	30	40	0	50	70	30	0	15	30	5	60	30	50			38	24	5
Amistar®	250 g/ha		20	10	0	10	3	5	40	15	10	30	30	5	25	30	40	10	0	50	10	0	5	20	0	20	70	50	50	30		21	19	4
Kontrolle	-	3	70	5	10	40	70	30	70	10	20	30	80	80	80	30	80	10	20	80	40	30	10	70	30	70	80	70	10			45	29	6
GT02	750 g/ha		20	10	30	40	0	40	20	10	0	30	70	0	70	40	50	20	30	10	20	50	60	10	0	70	5	0	80	30		29	25	5
GT02	375 g/ha		30	30	10	70	70	30	40	60	30	10	70	10	10	10	70	40	10	70	60	20	70	70	30	20	40	30	20	60	50	39	23	4
Amistar®	250 g/ha		0	70	30	10	10	70	30	90	30	20	40	0	80	30	90	80	20	20	10	0	60	0	70	0	0	0	0	0	0	30	32	6
Kontrolle	-	4	40	60	70	0	80	20	60	20	40	5	70	50	30	30	80	30	20	80	0	0	90	30	80	20	70	30	80			44	29	6
GT02	750 g/ha		70	15	80	10	60	5	0	70	70	0	20	10	40	10	10	0	5	20	50	40	40	20	20	0	40	10	70	40	20	29	26	5
GT02	375 g/ha		20	0	10	50	5	20	80	30	20	20	20	30	60	60	70	70	80	80	50	30	40	70	80	70	30	70	70	70	10	45	27	5
Amistar®	250 g/ha		5	3	5	3	20	10	30	20	10	10	5	10	5	0	40	60	5	5	0	30	20	20	30	10	10	5	5	40		15	15	3

Anmerkungen: Blatttage F-1 = 1. Blatt unter Fahnenblatt (F);
 PG = Prüfglied, GT = Genotyp (GT02 Erntejahr 2012 Ethylacetat-Phase), Wh = Wiederholung/Replikat

Anlage 70: *Septoria tritici*-Befall in Winterweizenparzellen des Freilandversuchs 2013 (Blatttage F-2).

			Septoria tritici-Befall [%] / Blatt (F-2)																																
PG	Dosis	Wh	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	M	SD	SEM	
Kontrolle	-	1	70	0	80	50	40	30	20	20	40	40	80	70	70	70	20	50	60														48	24	6
GT02	750 g/ha		40	30	50	60	30	50	50	30	40	60	40	70	80	30	30	70	40	40	40	15	60	50	50	70						47	16	3	
GT02	375 g/ha		30	60	50	60	50	40	80	80	20	5	50	70	70	50	30	50	70	80	50	20	70	70									53	21	5
Amistar®	250 g/ha		50	70	30	80	40	15	30	80	20	20	70	20	10	0	40	30	70	70	70	10	40	70	70	40	50	40	10	80	20	43	25	5	
Kontrolle	-	2	70	20	80	80	80	60	80	20	70	80	80	50	50	50	80	70	80	80													66	20	5
GT02	750 g/ha		70	30	50	70	70	70	70	30	20	70	70	70	50	30																	55	20	5
GT02	375 g/ha		70	80	70	70	80	30	70	50	70	80	80	60	50	60																	66	15	4
Amistar®	250 g/ha		80	50	40	50	70	50	60	20	40	20	30	80	60	0	5	70	40														45	24	6
Kontrolle	-	3	50	50	80	70	70	80	70	75	80	80	50	80	70	80	40																68	14	4
GT02	750 g/ha		50	70	70	60	70	80	70	70	50	70	70	50	30																		62	14	4
GT02	375 g/ha		60	30	80	70	80	40	50	70	70	70	70	30	40	70	70																60	17	4
Amistar®	250 g/ha		10	70	70	40	80	80	80	20	80	80	60	70	40	40	60																59	23	6
Kontrolle	-	4	89	90	20	40	30	10	70	70	20	40	70	10	70	90	80																53	30	8
GT02	750 g/ha		70	80	35	70	70	80	50	70	10	70	50	50	60	70	70	70	60	40	40	70											59	18	4
GT02	375 g/ha		50	70	50	40	70	60	60	80	70	30	70	70	50	70	70	70	50														61	13	3
Amistar®	250 g/ha		10	80	90	70	20	50	90	5	50	80	80	60	80	80	50	40	40	80													59	27	6

Anmerkungen: Blatttage F-2 = 2. Blatt unter Fahnenblatt (F);
 PG = Prüfglied, GT = Genotyp (GT02 Erntejahr 2012 Ethylacetat-Phase), Wh = Wiederholung/Replikat

Anlage 71: Morphologische Besonderheiten im Rahmen der Mycelwachstumstests.



Anmerkungen: Oben: Mycelwachstum von *Magnaporthe oryzae* im Mycelwachstumstest mit der Ethylacetat (EtOAc)-Phase des Genotyps (GT) 02 Erntejahr 2009 (E09; 1000 ppm) nach einer Inkubationsdauer von 7 d (l.: Kontrolle, r.: periphere rötliche Agarverfärbung)

 Unten: Mycelwachstum von *Fusarium culmorum* im Mycelwachstumstest mit der EtOAc-Phase des GT10 E14 (1000 [m.], 500 [r.] ppm) nach einer Inkubationsdauer von 7 d (l.: Kontrolle, m.+r.: deutliche morphologische Unterschiede)

(Quelle: eigenes Bildmaterial)

Anlagen

Anlage 72: Klimadaten des Versuchsstandorts Bernburg-Strenzfeld 2012 bis 2017.

	2012	2013	2014	2015	2016	2017 (Jan-Sep)
Bonitur am	07.06.	08.07.-09.07. / 08.08.	08.06. / -	07.07.- 10.07.	16.06.	28.06.
Ø Jahrestemperatur [°C]	9,8	9,4	11,0	10,8	10,7	11,7
Ø Januar-März	2,8	-0,2	4,5	3,6	3,1	3,3
Ø April-Juni	13,3	13,0	13,8	12,9	14,3	14,1
Ø Juli	18,5	20,4	20,8	20,2	20,5	19,4
Ø 1 Monat vor Bonitur	14,6	18,0 / 21,3	14,8 / -	18,3	17,1	18,8
Ø Mitte Mai-Mitte Juni	15,1	14,3	16,3	15,0	16,8	17,9
Jahresniederschlag [mm*]	523,2	600,8	543,9	480,9	358,5	367,4
Januar-März	75,2	126,5	42,6	69,7	91,5	91,7
April-Juni	144,8	176,4	165,3	77,2	95,3	117,8
Juli	147,2	28,2	116,7	85,7	23,5	70,0
1 Monat vor Bonitur	49,7	49,5 / 65,5	88,1 / -	64,3	58,4	66,6
Mitte Mai-Mitte Juni	48,5	119,2	80,8	7,6	61,9	47,9
Sonnenscheindauer [h*]	1751,3	1602,0	1724,8	1890,8	1770,3	1457,1
April-Juni	555,1	513,3	628,7	682,9	704,0	636,9
Juli	210,8	293,8	244,3	255,7	220,3	193,7
1 Monat vor Bonitur	235,0	255,1 / 302,8	264,4 / -	250,1	275,0	275,6
Mitte Mai-Mitte Juni	237,8	196,3	282,9	255,0	221,8	293,1
Ø rel. Feuchte [%]	76,2	80,0	79,9	76,7	76,0	75,6
Ø April-Juni	70,7	75,1	74,3	68,4	69,5	71,6
Ø Juli	73,5	69,5	70,7	66,5	63,4	72,7
Ø 1 Monat vor Bonitur	67,8	74,3 / 68,6	73,2 / -	65,2	73,3	70,0
Ø Mitte Mai-Mitte Juni	67,5	79,1	72,4	66,0	73,7	69,8

Anmerkungen: *Summe;
1 Messwert / d, bzgl. 12 Monate
(Quelle: DWD-Station, Prof. A. Deubel, Hochschule Anhalt, Bernburg)

Anlage 73: Körnerträge Sommergerste 2012 bis 2017.

2012				2013			
Ernte:			26.07.2012	Ernte:			09.08.2013
Flächenfaktor:			909,1	Flächenfaktor:			909,1
PG/Parzelle	Korn-FM [kg]	TS [%]	Kornertrag [dt/ha 86 %]	PG/Parzelle	Korn-FM [kg]	TS [%]	Kornertrag [dt/ha 86 %]
Kontrolle a	5,8	85,5	52,5	Kontrolle a	1,7	85,1	15,5
Kontrolle b	5,5		49,8	Kontrolle b	2,5		22,2
Kontrolle c	5,9		53,0	GT02 750g/ha a	1,8	84,8	16,3
Kontrolle d	4,4		39,9	GT02 750g/ha b	2,7		24,6
GT02a a	5,3	85,7	48,2	GT02 375g/ha a	2,0	84,9	17,9
GT02a b	5,7		51,3	GT02 375g/ha b	2,6		23,5
GT02a c	6,2		56,0	GT35 750g/ha a	1,9	85,0	16,9
GT02a d	5,2		46,7	GT35 750g/ha b	1,6		14,7
GT02b a	5,2	86,1	47,5	GT35 375g/ha a	1,9	85,0	16,7
GT02b b	5,7		52,1	GT35 375g/ha b	2,8		25,5
GT02b c	5,7		51,5	GT35 187g/ha a	2,2	85,1	19,5
GT02b d	5,5		50,1	GT35 187g/ha b	1,3		11,3
Corbel® a	5,4	85,8	48,8	Flexity® a	2,3	85,0	20,5
Corbel® b	5,9		53,4	Flexity® b	2,3		20,3
Corbel® c	6,3		57,1				
Corbel® d	5,3		47,9				
Flexity® a	5,3	47,5					
Flexity® b	5,8	52,1					
Flexity® c	6,1	85,5	55,1				
Flexity® d	5,2		46,8				

Anmerkungen: PG = Prüfglied, FM = Frischmasse, TS = Trockensubstanz,
 GT = Genotyp, GT02a = GT02 Erntejahr 2012 (E12) + PREV-AM®, GT02b = GT02 E12 + HASTEN™

Fortsetzung Anlage 73.

2014				2015			
Ernte:			18.07.2014	Ernte:			22.07.2015
Flächenfaktor:			909,1	Flächenfaktor:			909,1
PG/Parzelle	Korn-FM [kg]	TS [%]	Kornertrag [dt/ha 86 %]	PG/Parzelle	Korn-FM [kg]	TS [%]	Kornertrag [dt/ha 86 %]
Kontrolle a	3,6	86,9	33,3	Kontrolle a	7,1	86,9	65,5
Kontrolle b	4,0		36,4	Kontrolle b	7,2		66,4
GT10 1000g/ha a	3,6	86,7	33,2	DC30 a	8,4	87,1	77,5
GT10 1000g/ha b	4,0		36,5	DC30 b	8,0		73,2
GT10 500g/ha a	4,1	86,5	37,9	DC30+Prop. a	7,6	86,3	69,6
GT10 500g/ha b	3,9		35,5	DC30+Prop. b	7,4		67,3
GT10 250g/ha a	3,9	86,5	35,5	Property 90g/ha a	8,1	86,9	74,0
GT10 250g/ha b	4,1		37,1	Property 90g/ha b	7,6		70,1
Flexity® a	4,7	86,5	42,9	Property 45g/ha a	8,5	86,7	78,0
Flexity® b	4,5		40,7	Property 45g/ha b	7,7		70,9

Anmerkungen:

PG = Prüfglied, FM = Frischmasse, TS = Trockensubstanz, GT = Genotyp (GT10 Erntejahr 2012 [E12] Ethylacetat [EtOAc]-Phase), DC30 = 30 %ig formuliertes Dispersionskonzentrat des GT10 E12 (EtOAc-Phase)

Fortsetzung Anlage 73.

2016				2017			
Ernte:			18.07.2016	Ernte:			18.07.2017
Flächenfaktor:			909,1	Flächenfaktor:			909,1
PG/Parzelle	Korn-FM [kg]	TS [%]	Kornertrag [dt/ha 86 %]	PG/Parzelle	Korn-FM [kg]	TS [%]	Kornertrag [dt/ha 86 %]
Kontrolle a	8,2	85,1	74,0	Kontrolle a	6,4	86,3	72,3
Kontrolle b	7,6		68,7	Kontrolle b	7,0		64,0
DC30 1000g/ha a	7,3	86,1	66,8	DC30 400g/ha a	6,6	86,5	60,5
DC30 1000g/ha b	7,6		69,2	DC30 400g/ha b	7,2		65,4
DC30 500g/ha a	8,5	85,5	76,5	DC30 800g/ha a	6,7	86,5	61,1
DC30 500g/ha b	7,6		68,5	DC30 800g/ha b	7,2		65,8
Flexity® a	7,8	86,3	71,0	DC30+F.® 30g/ha a	6,7	86,5	60,9
Flexity® b	7,8		71,5	DC30+F.® 30g/ha b	6,7		60,8
				DC30+F.® 60g/ha a	6,9	86,5	63,1
				DC30+F.® 60g/ha b	7,1		65,3
				Flexity® 30g/ha a	6,6	86,7	74,0
				Flexity® 30g/ha b	7,2		65,5
				Flexity® 60g/ha a	6,5	86,7	59,6
				Flexity® 60g/ha b	7,0		64,2

Anmerkungen:

PG = Prüfglied, FM = Frischmasse, TS = Trockensubstanz,
 DC30 = 30 %ig formuliertes Dispersionskonzentrat des Genotyps 10 Erntejahr 2012 (Ethylacetat-Phase);
 Der Kornertrag in dt/ha bei 86 % TS berechnete sich aus der Korn-FM [kg], der prozentualen TS und dem parzellenabhängigen Flächenfaktor nach folgender Formel:

$$\text{Kornertrag} \left[\frac{\text{dt}}{\text{ha}} \text{ 86 \%} \right] = \frac{\text{FM (Korn)} [\text{kg}]}{100} \times \frac{\text{TS} [\%]}{86 \% \text{ TS}} \times \text{Flächenfaktor} \left(\frac{10.000 \text{ m}^2}{\text{Parzellengröße} [\text{m}^2]} \right)$$

Anlage 74: Kornträge Winterweizen 2012 bis 2017.

2012				2013			
Ernte:			01.08.2012	Ernte:			15.08.2013
Flächenfaktor:			1333,3	Flächenfaktor:			1333,3
PG/Parzelle	Korn-FM [kg]	TS [%]	Kornertrag	PG/Parzelle	Korn-FM [kg]	TS [%]	Kornertrag
			[dt/ha 86 %]				[dt/ha 86 %]
Kontrolle a	6,3	89,1	86,8	Kontrolle a	6,9	87,9	93,4
Kontrolle b	5,4		75,1	Kontrolle b	6,9		94,6
Kontrolle c	6,1		84,5	Kontrolle c	6,1		82,9
Kontrolle d	5,6		77,4	Kontrolle d	7,2		97,8
GT02 a	5,5	88,8	76,1	GT02 750g/ha a	5,9	88,6	81,5
GT02 b	6,0		82,7	GT02 750g/ha b	7,0		95,7
GT02 c	6,5		89,6	GT02 750g/ha c	6,9		94,2
GT02 d	6,1		83,7	GT02 750g/ha d	7,5		102,5
Corbel® a	6,6	88,6	90,8	GT02 375g/ha a	7,0	88,3	95,3
Corbel® b	7,4		101,9	GT02 375g/ha b	7,1		97,2
Corbel® c	6,6		90,1	GT02 375g/ha c	7,0		95,8
Corbel® d	7,7		105,8	GT02 375g/ha d	6,7		91,3
				Amistar® a	7,2	88,6	99,2
				Amistar® b	5,9		81,5
				Amistar® c	7,5		102,5
				Amistar® d	7,3		99,9

Anmerkungen: PG = Prüfglied, FM = Frischmasse, TS = Trockensubstanz,
 GT = Genotyp (GT02 Erntejahr 2012 Ethylacetat-Phase);
 2012: signifikante Abweichung des Kornertrags von Corbel® von dem der Kontrolle (Dunnett-Test, $P = 0,011$)

CLV

Anlagen

Fortsetzung Anlage 74.

2014			
Ernte:			01.08.2014
Flächenfaktor:			1333,3
PG/Parzelle	Korn-FM [kg]	TS [%]	Kornertrag
			[dt/ha 86 %]
Kontrolle a	6,9	88,2	64,3
Kontrolle b	6,8		63,0
GT10 1000g/ha a	6,7	87,9	62,1
GT10 1000g/ha b	7,4		68,8
GT10 500g/ha a	7,4	88,2	68,8
GT10 500g/ha b	7,4		68,7
Capalo® a	8,6	87,9	80,1
Capalo® b	7,7		71,9

Anmerkungen: PG = Prüfglied, FM = Frischmasse,
 TS = Trockensubstanz,
 GT = Genotyp
 (GT10 Erntejahr 2012 Ethylacetat-Phase)

CLVI

Anlagen

Fortsetzung Anlage 74.

2015				2017			
Ernte:			30.07.2015	Ernte:			21.07.2017
Flächenfaktor:			1333,3	Flächenfaktor:			833,3
PG/Parzelle	Korn-FM [kg]	TS [%]	Kornertrag	PG/Parzelle	Korn-FM [kg]	TS [%]	Kornertrag
			[dt/ha 86 %]				[dt/ha 86 %]
Kontrolle a	7,0	87,1	94,3	Kontrolle a	9,0	86,7	82,3
Kontrolle b	6,6		88,9	Kontrolle b	8,8		80,8
Kontrolle c	7,0		94,5	Kontrolle c	8,9		81,5
Kontrolle d	6,4		86,2	Kontrolle d	7,7		70,8
DC30 200g/ha a	7,5	86,7	100,5	DC30 200g/ha a	9,0	87,1	82,9
DC30 200g/ha b	6,9		92,5	DC30 200g/ha b	8,8		81,0
DC30 200g/ha c	6,7		90,1	DC30 200g/ha c	8,0		73,7
DC30 200g/ha d	6,7		89,7	DC30 200g/ha d	7,6		69,9
DC30 400g/ha a	6,6	87,5	89,9	DC30 400g/ha a	9,0	86,8	82,2
DC30 400g/ha b	7,0		94,4	DC30 400g/ha b	8,5		78,0
DC30 400g/ha c	6,9		93,1	DC30 400g/ha c	8,2		75,4
DC30 400g/ha d	6,9		93,6	DC30 400g/ha d	8,1		74,1
DC30 800g/ha a	7,0	87,1	94,0	DC30 800g/ha a	8,8	86,2	80,0
DC30 800g/ha b	7,1		95,6	DC30 800g/ha b	8,8		80,2
DC30 800g/ha c	7,2		97,6	DC30 800g/ha c	7,9		71,6
DC30 800g/ha d	7,0		94,7	DC30 800g/ha d	7,4		67,2

Anmerkungen: PG = Prüfglied, FM = Frischmasse, TS = Trockensubstanz,
DC30 = 30 %ig formuliertes Dispersionskonzentrat des Genotyps 10 Erntejahr 2012 (Ethylacetat-Phase)

Fortsetzung Anlage 74.

2015				2017			
Ernte:			30.07.2015	Ernte:			21.07.2017
Flächenfaktor:			1333,3	Flächenfaktor:			833,3
PG/Parzelle	Korn-FM [kg]	TS [%]	Kornertrag	PG/Parzelle	Korn-FM [kg]	TS [%]	Kornertrag
			[dt/ha 86 %]				[dt/ha 86 %]
DC30+C.® 200g/ha	7,2	86,0	96,1	DC30+C.® 200g/ha	9,3	86,9	85,3
DC30+C.® 200g/ha	7,4		98,9	DC30+C.® 200g/ha	9,1		83,8
DC30+C.® 200g/ha	7,8		104,3	DC30+C.® 200g/ha	8,7		79,9
DC30+C.® 200g/ha	6,9		92,5	DC30+C.® 200g/ha	7,8		71,8
DC30+C.® 400g/ha	7,7	86,2	103,4	DC30+C.® 400g/ha	10,0	86,4	90,9
DC30+C.® 400g/ha	7,5		100,2	DC30+C.® 400g/ha	9,3		84,6
DC30+C.® 400g/ha	6,9		91,9	DC30+C.® 400g/ha	8,9		81,3
DC30+C.® 400g/ha	6,9		92,2	DC30+C.® 400g/ha	7,3		66,7
Corbel® a	6,7	87,5	90,9	Corbel® a	9,3	86,4	84,8
Corbel® b	7,3		99,3	Corbel® b	9,5		86,9
Corbel® c	6,6		89,8	Corbel® c	9,0		82,2
Corbel® d	7,3		99,3	Corbel® d	5,9		53,9*

Anmerkungen:

PG = Prüfglied, FM = Frischmasse, TS = Trockensubstanz,
 DC30 = 30 %ig formuliertes Dispersionskonzentrat des Genotyps 10 Erntejahr 2012 (Ethylacetat-Phase);
 *Vogelfraß;

Der Kornertrag in dt/ha bei 86 % TS berechnete sich aus der Korn-FM [kg], der prozentualen TS und dem parzellenabhängigen Flächenfaktor nach folgender Formel:

$$\text{Kornertrag} \left[\frac{\text{dt}}{\text{ha}} \text{ 86 \%} \right] = \frac{\text{FM (Korn)} [\text{kg}]}{100} \times \frac{\text{TS} [\%]}{86 \% \text{ TS}} \times \text{Flächenfaktor} \left(\frac{10.000 \text{ m}^2}{\text{Parzellengröße} [\text{m}^2]} \right)$$

Lebenslauf

1. Angaben zur Person

Name: Marit Gillmeister
Geburtstag: 26. Juni 1981
Geburtsort: Berlin-Mitte
Familienstand: ledig
Staatsangehörigkeit: deutsch

2. Ausbildungsdaten

1988 - 1991 1. Oberschule „Franz Mett“, Berlin
1991 - 1994 6. Grundschule (Gipsstraße), Berlin
1994 - 2001 Max-Planck-Oberschule (Gymnasium), Berlin
2001 - 2002 Freiwilliges Ökologisches Jahr (Stiftung Naturschutz Berlin,
Einsatzstelle: Schulfarm Insel Scharfenberg)
2002 - 2003 Technische Universität Berlin, Studiengang
Landschaftsplanung
2003 - 2007 Humboldt-Universität zu Berlin, Studiengang
Agrarwissenschaften, B.Sc.-Abschluss
05-07 2007 Praktikum beim Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR),
Abteilung 5: Lebensmittelsicherheit, 5 Z: Chemisch-
Analytisches Zentrum
2007 - 2009 Hochschule Anhalt (FH), Bernburg, Studiengang
Ökotrophologie, M.Sc.-Abschluss
04-09 2009 Tutorentätigkeit (Bereich Umweltanalytik) an der
Hochschule Anhalt (FH), Bernburg

3. Berufstätigkeit

2009 - 2018 wiss. Mitarbeiter in der Arbeitsgruppe „Institute of Bioanalytical
Sciences (IBAS)“ der Hochschule Anhalt, Bernburg,
vorrangig in den Projekten:
2009 - 2012 Verbundvorhaben 6 des Innovativen Regionalen Wachstums-
kerns WIGRATEC, Teilprojekt „Entwicklung von Unter-
suchungsmethodiken für die Verkapselung“ (FKZ:
03WKBQ06C)

2013 - 2015

„Innovative Regionale Wachstumskerne“ Modul WK-Potenzial, Technologieentwicklung zur Herstellung antifungaler Wirkstoffe für den biologischen Pflanzenschutz, Teilprojekt „Wirkstoffgewinnung und Wirksamkeitstestung“, Kurzbezeichnung „Antifungale Pflanzenschutzwirkstoffe“ (FKZ: 03WKP32A)

2016 - vsl. 2021

„Förderung der Technologietransferaktivitäten im Rahmen des KAT an der Hochschule Anhalt“, Teilprojekt „Antimikrobielle, antioxidative und antientzündliche Wirkstoffe für Pharma, Kosmetik und biologischen Pflanzenschutz, Wirksamkeitstestung und Untersuchungen zu Wirkmechanismen“

Ort, Datum

Unterschrift

Veröffentlichungen

Baltruschat H, Gillmeister M, Leske D, Kabrodt K, Schellenberg I. 2013.

Einfluss von *Piriformospora indica* auf die Besiedlung von Gerste mit *Fusarium culmorum* unter besonderer Berücksichtigung des antioxidativen Status. Tagungsband zum 24. Borkheider Seminar zur Ökophysiologie des Wurzelraumes, Lutherstadt Wittenberg, 19.-20. September 2013.

Gillmeister M, Baltruschat H, Richer J, Kabrodt K, Schellenberg I. 2014.

Einfluss von arbuskulären Mykorrhizapilzen und *Piriformospora indica* auf wertgebende Pflanzeninhaltsstoffe in Johanniskraut (*Hypericum perforatum*) und Basilikum (*Ocimum basilicum*). Tagungsband zum 25. Borkheider Seminar zur Ökophysiologie des Wurzelraumes, Lutherstadt Wittenberg, 23.-24. September 2014.

Gillmeister M, Schellenberg I. 2015.

Antifungale Wirkstoffe aus Rhabarber-Wurzeln für den biol. Pflanzenschutz. Handzettel zum Internationalen Kongress Forum Life Science 2015 (Bayern Innovativ), München, 11.-12. März 2015.

Gillmeister M, Ballert S, Kabrodt K, Schellenberg I. 2016.

Antifungale Wirkstoffe aus Rhabarber-Wurzeln für den biologischen Pflanzenschutz. Exponatposter und Standbroschüre zur Analytica 2016, München, 10.-13. Mai 2016.

Gillmeister M, Baltruschat H, Schellenberg I. 2016.

Antifungal potential of *Rheum*-root extracts in different model systems. Vortragsbeitrag zur Internationalen Konferenz für erneuerbare Ressourcen und Pflanzenbiotechnologie „NAROSSA® 2016“, Magdeburg, 13. Juni 2016.

Gillmeister M. 2017.

Rheum-Polyphenole als biologische Fungizide in der Landwirtschaft. Vortragsbeitrag zum WCH Bioökonomie Matchmaking „Vom Molekül zum Markt“, Halle (Saale), 07. März 2017.

Gillmeister M, Baltruschat H, Schellenberg I. 2018.

Back to the roots – antifungal capacity of polyphenols from rhubarb for modern plant protection. Vortragsbeitrag zur 19. Nachwuchswissenschaftlerkonferenz am 5./6. Juni 2018 in Köthen (Anhalt), Köthen (Anhalt), 06. Juni 2018.

Gillmeister M, Ballert S, Raschke A, Geistlinger J, Kabrodt K, Baltruschat H, Deising HB, Schellenberg I. 2019.

Polyphenols from *Rheum* roots inhibit growth of fungal and oomycete phytopathogens and induce plant disease resistance. *Plant Disease* 103(7), 1674-1684.

Ort, Datum

Unterschrift

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre an Eides statt, dass ich die Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst, keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt und die den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Ort, Datum

Unterschrift