

Entwicklung eines *in vitro* Testsystems zur  
Identifizierung pflanzlicher Signale für  
Mehltau (*Blumeria graminis*) an  
Weizen (*Triticum aestivum*)

Dissertation  
zur  
Erlangung des Doktorgrades (Dr. rer. nat.)  
der  
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät  
der  
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

vorgelegt von  
Miriam Anna Huth  
aus Würzburg

Bonn, 2020



Angefertigt mit Genehmigung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der  
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

1. Gutachterin: Prof. Dr. Kerstin Koch
2. Gutachter: Prof. Dr. Lukas Schreiber

Tag der Promotion: 10.12.2020

Erscheinungsjahr: 2021

---

# Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung .....	V
Abkürzungsverzeichnis .....	VII
1 Einleitung .....	1
1.1 Die pflanzliche Oberfläche .....	1
1.2 Die Benetzung .....	4
1.3 Die Übertragung der Oberflächeneigenschaften .....	10
1.4 Das Pathogen <i>Blumeria graminis</i> .....	13
1.5 Die Wirtspflanze Weizen.....	17
1.6 Der Signalcharakter pflanzlicher Oberflächen .....	19
1.6.1 Der Einfluss der Hydrophobizität .....	20
1.6.2 Der Einfluss pflanzlicher Wachse .....	21
1.6.3 Der Einfluss einzelner Wachskomponenten .....	22
1.7 Die Ziele der Arbeit .....	23
2 Charakterisierung der nativen Blattoberfläche - Kapitel 1 .....	26
2.1 Material und Methoden .....	26
2.1.1 Pflanzenmaterial.....	27
2.1.2 Untersuchung der Wachsmorphologie .....	28
2.1.3 Wachsextraktion für die Rekrystallisationsversuche .....	29
2.1.4 Ermittlung der Extraktionszeiten für die Wachsanalyse.....	29
2.1.5 Untersuchung der Wachschemie .....	30
2.1.6 Untersuchung der Benetzungseigenschaften .....	34
2.1.7 Bestimmung der Krankheitsschwere .....	36
2.1.8 Übersicht der durchgeführten Experimente .....	38



2.2	Ergebnisse .....	39
2.2.1	Untersuchung der Wachsmorphologie .....	39
2.2.2	Untersuchung der Blattoberfläche der Pflanzen der Freilandkulturen .....	41
2.2.3	Wachsextraktion für die Rekrystallisation .....	43
2.2.4	Ermittlung der Extraktionszeiten.....	44
2.2.5	Untersuchung der Wachskemie .....	45
2.2.6	Untersuchung der Benetzungseigenschaften .....	65
2.2.7	Bestimmung der Krankheitsschwere .....	79
2.3	Diskussion.....	81
2.3.1	Untersuchung der Wachsmorphologie .....	81
2.3.2	Extraktion der Wachse .....	85
2.3.3	Untersuchung der Wachszusammensetzung.....	86
2.3.4	Untersuchung der Benetzungseigenschaften .....	92
2.3.5	Bestimmung der Krankheitsschwere .....	101
3	Entwicklung und Charakterisierung der <i>in vitro</i> Testsysteme - Kapitel 2.....	104
3.1	Material und Methoden .....	104
3.1.1	Verwendete Substanzen .....	104
3.1.2	Verwendete Substrate .....	108
3.1.3	Bestimmung des Schmelzpunkts des Weizenwachses mittels DSC.....	109
3.1.4	Rekrystallisation mittels physikalischer Dampfphasenabscheidung.....	110
3.1.5	Charakterisierung der entwickelten Testsysteme.....	114
3.2	Ergebnisse .....	117
3.2.1	Synthese einzelner Wachskomponenten.....	117
3.2.2	Bestimmung des Schmelzpunkts des Weizenwachses mittels DSC.....	121
3.2.3	Charakterisierung der entwickelten Testsysteme.....	122

3.3	Diskussion.....	145
3.3.1	Synthese einzelner Wachskomponenten.....	145
3.3.2	Bestimmung des Schmelzpunkts des Weizenwachses mittels DSC.....	147
3.3.3	Charakterisierung der entwickelten Testsysteme.....	148
4	Anwendung der <i>in vitro</i> Testsysteme – Kapitel 3.....	158
4.1	Material und Methoden .....	158
4.1.1	Kultivierung von <i>Blumeria graminis</i> f. sp. <i>tritici</i> .....	158
4.1.2	Verwendete Oberflächen.....	158
4.1.3	Inokulationen der Oberflächen.....	160
4.1.4	Etablierung der Keimungsbedingungen .....	160
4.1.5	Untersuchung des Keimerfolgs.....	161
4.1.6	Datenanalyse.....	162
4.2	Ergebnisse .....	163
4.2.1	Etablierung der Keimungsbedingungen .....	163
4.2.2	Untersuchung des Keimerfolgs.....	168
4.3	Diskussion.....	179
4.3.1	Etablierung der Keimungsbedingungen .....	179
4.3.2	Untersuchung des Keimerfolgs.....	183
5	Schlussfolgerungen .....	194
6	Literaturverzeichnis .....	198
7	Abbildungsverzeichnis .....	216
8	Tabellenverzeichnis.....	222
9	Danksagung .....	223
10	Anhang.....	224
10.1	Anhang Kapitel 1.....	225

10.1.1	Untersuchung der Wachskemie .....	225
10.1.2	Untersuchung der Benetzungseigenschaften .....	231
10.2	Anhang Kapitel 2.....	250
10.2.1	Überprüfung der chemischen Zusammensetzung des Wachsextraktes und der Wachsbeschichtung .....	250
10.3	Anhang Kapitel 3.....	252
10.3.1	Untersuchung des Keimerfolgs.....	252
10.3.2	Untersuchung des Keimerfolgs unter Berücksichtigung toter Konidien.....	254

## Zusammenfassung

*Blumeria graminis* ist der Erreger des Echten Mehltaus an Weizen (*Triticum aestivum*), einer der wichtigsten Kulturpflanzen weltweit (Christen 2009b). Durch Mehltau verursachte Ernteauffälle können bis 40 % betragen (Mehta 2014). Die Keimung und Differenzierung der Sporen auf der Blattoberfläche sind die ersten Schritte der Pathogenese. Die Kutikula stellt dabei einerseits einen wichtigen Schutzmechanismus der Pflanze dar, andererseits liefert sie auch entscheidende Signale für die Entwicklung der Infektionsstrukturen (Börner und Schlüter 2009). Kenntnisse über diese Signale können einen bedeutenden Beitrag für den Pflanzenschutz liefern. Zur Identifizierung dieser Signale wurde der Prepenetrationsprozess von *B. graminis* auf verschiedenen biomimetischen *in vitro* Testsystemen untersucht. Zunächst wurden die spezifischen Oberflächeneigenschaften der Weizenblätter analysiert. Hierfür wurden drei Weizensorten (Ponticus, Porthus und Akteur) mit unterschiedlichen Anfälligkeiten gegenüber Mehltau ausgewählt. Die Wachsmorphologie wurde mittels Rasterelektronenmikroskopie (REM) und die Wachszusammensetzung mittels Gaschromatographie und Massenspektrometrie (GC-FID und GC-MS) analysiert. Außerdem wurde die Benetzbarkeit der Weizenblätter mithilfe der Kontaktwinkel, der Abrollwinkel und der Kontaktwinkelhysteresen beschrieben. Auf den Blättern befanden sich ausschließlich Wachsschüppchen. Die Hauptkomponente des Weizenwachses war 1-Octacosanol. Die Weizenblätter waren hydrophob und teils superhydrophob. Die Fähigkeit der Selbstreinigung konnte nicht festgestellt werden. Die Benetzung war anisotrop, sodass die Benetzungseigenschaften richtungsabhängig waren. Die Untersuchung der Oberflächeneigenschaften zeigte keine sortenspezifischen Unterschiede, die einen Zusammenhang mit den Anfälligkeiten der Sorten erkennen ließen. Zudem wurde untersucht, ob das Blattalter, die Blattseite oder die Anzuchtbedingungen der Pflanzen die Oberflächeneigenschaften beeinflussten. Es konnte gezeigt werden, dass die Wachsmorphologie bei allen untersuchten Parametern gleich war. Die Wachsmenge nahm mit dem Blattalter zu, die Anteile der Substanzklassen oder einzelner Wachskomponenten änderten sich dabei nicht. Die Analyse der Wachszusammensetzung der Gewächshauspflanzen und der Freilandpflanzen zeigte nur geringe Unterschiede. Die verschiedenen Testsysteme wurden entwickelt, um den Signalcharakter der Wachschemie und der Benetzbarkeit einzeln und in Kombination *in vitro*

untersuchen zu können. Durch die Beschichtungen technischer Oberflächen mit extrahiertem Weizenwachs oder mit Wachskomponenten konnten die Oberflächeneigenschaften der natürlichen Oberfläche übertragen werden. Das Verfahren der thermischen Verdampfung ermöglichte eine homogene Beschichtung der Substrate, sodass eine gleichmäßige Benetzbarkeit erreicht wurde. Es wurden fünf verschiedene Testsysteme hergestellt. Durch die Rekristallisation des Weizenwachsextraktes wurden erstmalig sowohl die chemischen Eigenschaften als auch die Benetzungseigenschaften der Blattoberfläche nachgebildet. Das Wachs rekristallisierte in dreidimensionalen Strukturen, sodass die Oberfläche des Testsystems ebenso wasserabweisend war wie die des Weizenblattes. Auch durch die Rekristallisation des Reinstoffs 1-Octacosanol konnte auf der künstlichen Oberfläche die gleiche Benetzbarkeit erzeugt werden wie auf dem Blatt. Der Reinstoff bildete Wachsschüppchen, was die strukturgebende Funktion dieser Wachskomponente unterstreicht. Mit diesem Testsystem stand eine Oberfläche zur Verfügung, die unabhängig von der Wachschemie, die natürliche Benetzbarkeit widerspiegelte. Zur Herstellung zwei weiterer Testsysteme wurden, zusammen mit 1-Octacosanol, 1-Hexacosanal bzw. 1-Octacosanal rekristallisiert. Diese Testsysteme ermöglichten die Untersuchung der Signalfunktion der Aldehyde bei einer vergleichbaren Benetzbarkeit wie auf den Weizenblättern. Um den Einfluss der Wachschemie allein untersuchen zu können, wurde das Wachsgemisch aus der Schmelze rekristallisiert. Dieses Testsystem wies keine dreidimensionalen Strukturen auf, sodass die Benetzbarkeit dieser Oberfläche weit über der des Weizenblattes lag. Schließlich wurden die verschiedenen Testsysteme mit Mehltau inokuliert, um die Entwicklung des Pilzes zu untersuchen. Die Keimung und die Differenzierung wurden auf keinem der Testsysteme angeregt. Weder die Hydrophobizität, noch die Wachschemie, noch die Aldehyde, noch die Kombination dieser Parameter konnten als entscheidende Signale für die Keimentwicklung identifiziert werden. Es bleibt offen, welche Signale der pflanzlichen Oberfläche die Bildung der Infektionsstrukturen von *B. graminis* einleiten. Durch die Modifikation der Testsysteme kann der Signalcharakter weiterer Eigenschaften der pflanzlichen Oberfläche geprüft werden.

## Abkürzungsverzeichnis

App	Appressorium
AW	Abrollwinkel
BBCH	BBCH Code (benannt nach den ursprünglich beteiligten Organisationen: Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt und chemische Industrie), Dezimalskala zur Beschreibung der Entwicklungsstadien der Pflanzen
C26CHO	1-Hexacosanal
C28CHO	1-Octacosanal
C28OH	1-Octacosanol
diff	differenziert
DSC	dynamische Differenzkalorimetrie (engl.: differential scanning calorimetry)
ECM	Extrazelluläre Matrix
FK	Freilandkultur
f. sp.	forma specialis
FID	Flammenionisationsdetektor
GC	Gaschromatograph
GH	Gewächshauskultur
Hyst	Kontaktwinkelhysterese
KW	Kontaktwinkel
long	longitudinal
m3Ks	mehr als drei Keimschläuche
MS	Massenspektrometer
nk	nicht gekeimt
OS	Oberseite
PCC	Pyridiniumchlorchromat
Pon	Ponticus
Port	Porthus
Rel. LF	Relative Luftfeuchte
REM	Rasterelektronenmikroskop

rpm	Umdrehungen pro Minute (engl.: rounds per minute)
TLC	Dünnschichtchromatographie (engl.: thin layer chromatography)
trans	transversal
TS	Testsystem
ü. N.	über Nacht
US	Unterseite

# 1 Einleitung

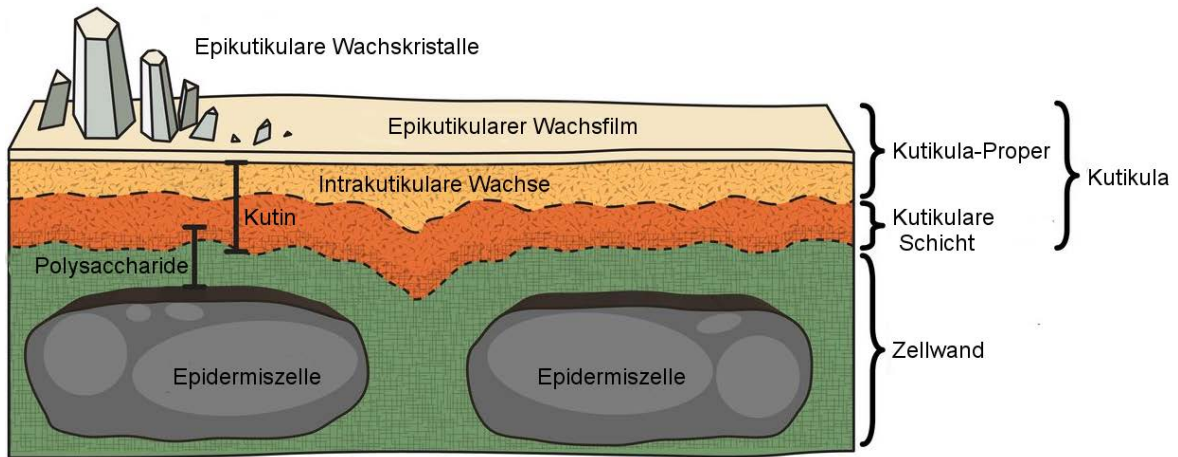
Phytopathogene verursachen global schwere Ernteaufschläge. Schätzungen zu Folge können die Verluste jährlich bis zu 30 % betragen (Ryder und Talbot 2015, Savary et al. 2019). Sehr häufig sind Pilze Schaderreger, sie verursachen ca. 85 % aller Pflanzenkrankheiten weltweit (Pernezny et al. 2008). Der Verlauf einer durch einen Pilz verursachten Krankheit läuft stets nach einem ähnlichen Muster ab. Eine erfolgreiche Infektion ist dabei der erste entscheidende Schritt der Pathogenese. Die pflanzliche Oberfläche stellt hierbei einerseits eine wichtige Barriere dar, andererseits liefert sie auch notwendige Signale für die Krankheitserreger. Erkennt ein Pilz aufgrund chemischer und physikalischer Reize seine Wirtspflanze, bilden sich die Infektionsstrukturen, die es dem Pathogen ermöglichen das Pflanzengewebe zu penetrieren und die Pflanze zu besiedeln (Börner und Schlüter 2009). Die vorliegende Arbeit widmet sich der Identifizierung solcher Erkennungsmerkmale anhand des Erregers des Echten Mehltaus (*Blumeria graminis*) an Weizen (*Triticum aestivum*) mithilfe eines *in vitro* Testsystems.

## 1.1 Die pflanzliche Oberfläche

Pflanzliche Oberflächen sind komplexe, multifunktionale Oberflächen (Bargel et al. 2004, Barthlott et al. 2017, Koch et al. 2008, 2009a). Durch die Variabilität der Zellformen und der Oberflächenstrukturen und durch die Bildung hierarchischer Strukturen, eine Kombination aus Mikro- und Nanostrukturen, ist die Diversität pflanzlicher Oberflächen sehr groß (Koch et al. 2008). Die äußerste Schicht aller höheren, nicht verholzten, pflanzlichen Oberflächen bildet eine dünne, den Epidermiszellen aufgelagerte, extrazelluläre Membran, die Kutikula (Abbildung 1.1). Die Ultrastruktur der Kutikula variiert je nach Pflanzenart, nach Pflanzenorgan und nach deren Entwicklungsstadium. Auch die Dicke der Kutikula kann, von wenigen Nanometern bis hin in den Mikrometerbereich, beträchtlich variieren (Jeffree 2006). Beispielsweise ist die Kutikula der Ackerschmalwand (*Arabidopsis thaliana*) nur 30 nm dünn, die Kutikula der Klivie (*Clivia miniata*) misst dahingegen 6 µm (Merida et al. 1981). Grundsätzlich besteht die pflanzliche



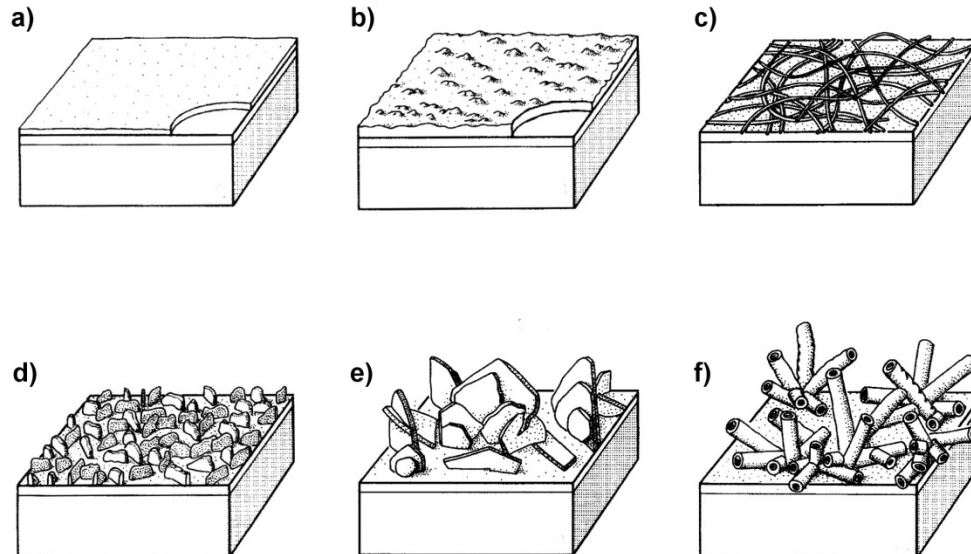
Kutikula aus einer unlöslichen polymeren Matrix, dem Kutin und löslichen hydrophoben Wachsen. Kutin ist ein Biopolyester, der hauptsächlich aus ungesättigten  $\omega$ -Hydroxyl- und Epoxy-,  $C_{16}$  und  $C_{18}$  Fettsäuren besteht, welcher der Membran ihre Stabilität verleiht (Kolattukudy 1980). Ausgehend von der Zellwand verbinden Polysaccharidfasern und manchmal auch Pektin die Kutikula mit dem darunterliegenden Gewebe. Die Kutikula erfüllt, als Grenzfläche der Pflanze zu ihrer Umwelt, viele lebenswichtige Funktionen: Die Reflektion schädlicher UV-Strahlung, die Verminderung des Auslaugens organischer und anorganischer Substanzen (engl.: leaching) oder den Schutz vor Herbivoren und Pathogenen (Barnes et al. 1996, Eigenbrode 2004, Grant et al. 1995, Reina-Pinto und Yephremov 2009, Tukey 1970). Die Hauptfunktion der Kutikula ist jedoch der Schutz der Pflanze vor Austrocknung (Kerstiens 1996, Riederer und Schreiber 2001). Die kutikularen Wachse tragen maßgeblich zu dieser Barrierefunktion bei (Li et al. 2019, Riederer und Schreiber 1995, Xue et al. 2017). Laut chemischer Definition sind Wachse Ester langkettiger Carbonsäuren mit langkettigen Alkoholen (Latscha und Kazmaier 2008). Pflanzliche Wachse bezeichnen komplexe Gemische aus langkettigen aliphatischen und zyklischen Kohlenwasserstoffverbindungen mit verschiedenen funktionellen Gruppen (Jetter et al. 2006). Sie werden ausgehend von  $C_{16}$  und  $C_{18}$  Fettsäuren in den epidermalen Plastiden *de novo* synthetisiert, anschließend elongiert und modifiziert (Post-Beittenmiller 1996). Die genaue Wachszusammensetzung ist art- und organspezifisch (Nawrath 2006). Typische Wachskomponenten sind Fettsäuren, Alkohole, Ketone, Aldehyde, und Triterpene (Jeffree 2006, Jetter et al. 2006, Kunst und Samuels 2003). Diese Wachbestandteile können sowohl endständig (z.B. primäre Alkohole) als auch innerhalb der Kette (z.B. sekundäre Alkohole,  $\beta$ -Diketone) substituiert sein. Zudem wurden polymere Aldehyde beispielsweise in dem Wachs von Zuckerrohr (*Saccharum officinarum*) und einer Kannenpflanze (*Nepenthes alata*) nachgewiesen (Jeffree 2006, Meusel et al. 1994, Riedel et al. 2003). Man differenziert pflanzliche Wachse in intrakutikuläre Wachse, welche in die Kutinmatrix eingelagert sind und in epikutikuläre Wachse, welche dem Polymer aufgelagert sind. Sie unterscheiden sich nicht nur hinsichtlich ihrer Lokalisation, sondern auch in ihrer chemischen Zusammensetzung. Intrakutikulär sammeln sich v.a. Triterpenoide und Alkylresorcine an, Alkane und Fettsäure akkumulieren bevorzugt epikutikulär (Buschhaus und Jetter 2011, Jetter et al. 2000).



**Abbildung 1.1: Schematische Übersicht über den Aufbau der pflanzlichen Kutikula;** Oftmals wird zwischen einer Polysaccharid reicheren (engl.: cuticle layer) und einer wachsreicheren Schicht (engl.: cuticle proper) unterschieden. Die Darstellung ist nicht maßstabsgetreu; verändert nach (Yeats und Rose 2013).

Epikutikuläre Wachse bilden einen dünnen Wachsfilm ( $< 1\mu\text{m}$ ) und oftmals verschiedene dreidimensionale Strukturen im Mikro- und Nanometerbereich ( $0,5 - 100\mu\text{m}$ ), welche aus dem Wachsfilm hervortreten (Ensikat et al. 2000, Koch et al. 2004, Koch und Ensikat 2008). Eine Übersicht über die Morphologie diverser Wachsstrukturen geben Barthlott et al. (1998). Zu den häufigsten Strukturen zählen Röhrrchen und Schüppchen (engl.: platelets), planare Wachsstrukturen mit ganzrandigen oder unterbrochenen Rändern (Barthlott et al. 1998). Daneben zählen Krusten und Fäden zu den Grundtypen der dreidimensionalen Wachsstrukturen (Koch et al. 2008) (Abbildung 1.2). Die Mikromorphologie der Wachsstrukturen ist maßgeblich durch deren chemische Zusammensetzung bestimmt (Jeffree et al. 1975). Die meisten Schüppchen weisen einen hohen Anteil primärer Alkohole auf. Bei Röhrrchen gibt es drei verschiedene Grundtypen. Je nach chemischer Zusammensetzung und Morphologie, wird zwischen sekundären Alkohol Röhrrchen (meist 10-Nonacosanol), Alkandiol Röhrrchen und  $\beta$ -Diketon Röhrrchen unterschieden (Jeffree 2006, Koch et al. 2006b). Für Weizen (*Triticum aestivum*) sind sowohl Schüppchen als auch  $\beta$ -Diketon Röhrrchen beschrieben (Jeffree 2006). Bereits 1871 hatte de Bary die Bezeichnung Wachskristalle für die Wachsstrukturen vorgeschlagen. Die Kristallinität der epikutikulären Wachse wurde später mittels Röntgenstrukturanalyse nachgewiesen (Matas et al. 2003, Reynhardt und Riederer 1994). Die

Kristallinität des Wachsfilms, welcher ehemals als amorph beschrieben wurde, wurde ebenfalls bewiesen (Ensikat et al. 2006).



**Abbildung 1.2: Schematische Darstellung der Hauptformen epikutikularer Wachse;** a) Film, b) Kruste, c) Fäden, d) Schüppchen, e) Schuppen und f) Röhrenchen (Barthlott et al. 1998)

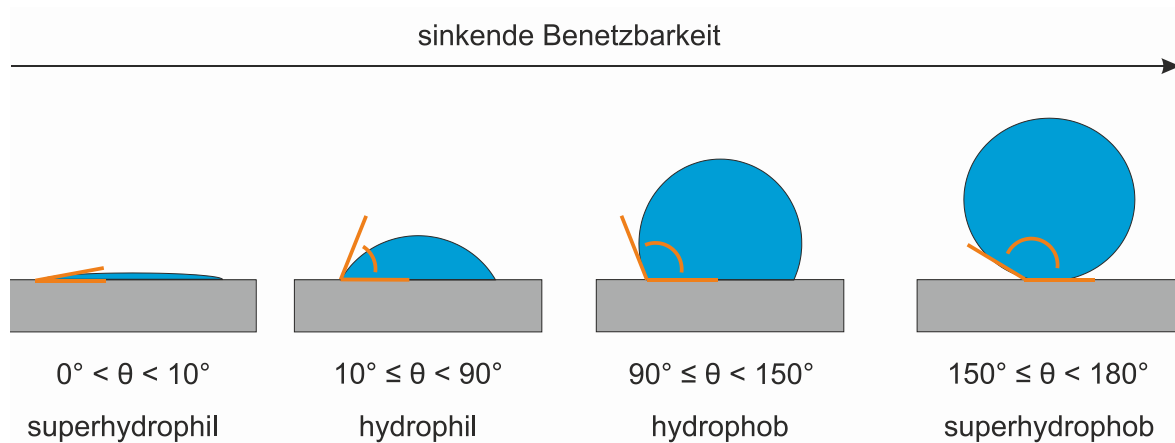
## 1.2 Die Benetzung

Benetzung beschreibt wie sich eine Flüssigkeit bei Kontakt mit einem Feststoff auf diesem ausbreitet. Sie wird durch die Wechselwirkung zwischen der Kohäsions- und der Adhäsionskraft beeinflusst. Die Flüssigkeit nimmt dabei die Form an, bei der die freie Energie des Gesamtsystems minimal ist. Grundsätzlich gibt es drei Arten der Benetzung: die vollständige Benetzung, auch Spreitung genannt, die partielle Benetzung und die vollständige Nichtbenetzung, bei der ein Tropfen eine sphärische Form annimmt (Bobzin 2013).

Ein Maß für den Grad der Benetzung ist der Kontaktwinkel  $\theta$ . Er bezeichnet den Winkel zwischen der Flüssigkeitsoberfläche und der Kontaktfläche der Flüssigkeit zu dem Feststoff. Je benetzbarer eine Oberfläche ist, desto kleiner ist der Kontaktwinkel (Abbildung 1.3). Bei einer vollständigen Benetzung beträgt der Kontaktwinkel  $0^\circ$ . Bei einer partiellen Benetzung unterscheidet man zwischen superhydrophilen ( $0^\circ < \theta < 10^\circ$ ),

hydrophilen, ( $10^\circ \leq \theta < 90^\circ$ ) hydrophoben ( $90^\circ \leq \theta < 150^\circ$ ) und kaum benetzbaren, superhydrophoben Oberflächen ( $150^\circ \leq \theta < 180^\circ$ ) (Koch et al. 2008).

Phytopathologen haben schon lange die Bedeutung der Wasserverfügbarkeit auf pflanzlichen Oberflächen für die Entwicklung von Pflanzenkrankheiten erkannt. Die Verteilung des Wasser auf pflanzlichen Oberflächen kann abhängig von deren Benetzbarkeit stark variieren (Butler 1996). Generell ist die Kutikula durch ihre chemische Zusammensetzung eine hydrophobe Oberfläche. Durch verschiedene strukturelle und chemische Modifikationen weisen pflanzliche Oberflächen jedoch verschiedene Benetzbarkeiten von extrem wassermeidend (superhydrophob) bis hin zu extrem wasserliebend (superhydrophil) auf (Holder 2020). Eine Übersicht über die diversen Mikrostrukturen und deren Einfluss auf die Benetzbarkeit pflanzlicher Oberflächen geben einige Reviews (Barthlott et al. 2016, Holloway 1970, Koch et al. 2008, Koch und Barthlott 2009).

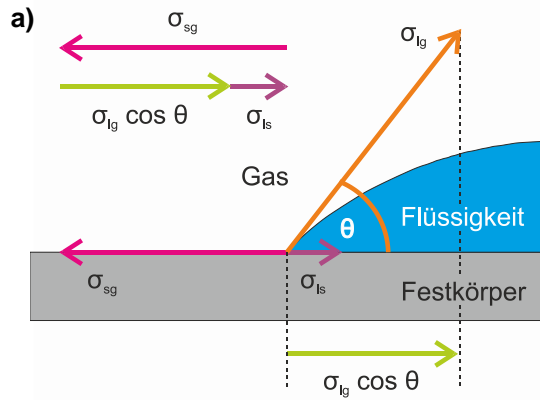


**Abbildung 1.3: Kategorien der Benetzbarkeit und deren charakteristische Kontaktwinkel;**  $\theta$ : Kontaktwinkel, verändert nach Nuraje et al. (2013)

Young formulierte 1805 als erster eine Beschreibung des Benetzungszustandes. Gemäß der Young'schen Gleichung (Abbildung 1.4a, Formel 1.1) hängt der Kontaktwinkel von den drei Grenzflächenspannungen Flüssigkeit-Feststoff, Flüssigkeit-Gas und Feststoff-Gas ab (Young 1805).

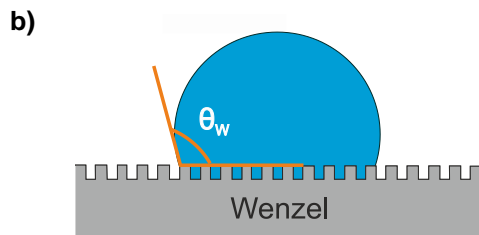
Young beschreibt einen idealen statischen Kontaktwinkel auf einer homogenen, glatten, nicht deformierbaren, inerten Oberfläche. Natürliche und technische Oberflächen entsprechen kaum diesen idealen Bedingungen. Wenzel (1936) sowie Cassie und Baxter (1944) untersuchten Kontaktwinkel auf rauen Oberflächen. Unter der Annahme, dass die Flüssigkeit vollkommen in die Vertiefungen der Oberfläche eindringt (homogene Benetzung), beschreibt die Wenzelgleichung (Abbildung 1.4b, Formel 1.2) die Abhängigkeit der Benetzbarkeit durch die Rauigkeit der Oberfläche (Wenzel 1936). Der Rauheitskoeffizient  $R_f$  ( $>1$ ) ist das Verhältnis der tatsächlichen Fläche zu der horizontal projizierten Oberfläche. Durch die Rauigkeit wird der Einfluss der Oberfläche auf den Kontaktwinkel verstärkt. Hydrophobe Materialien werden dadurch mit zunehmender Rauigkeit, noch hydrophober, hydrophile Materialien werden noch hydrophiler.

Cassie und Baxter (1944) beschreiben eine heterogene Benetzung, bei der die Flüssigkeit nicht in die Vertiefungen der Oberfläche eindringt (Abbildung 1.4c, Formel 1.3). Solche Oberflächen sind kaum benetzbar. Es entstehen Luftpolster unter der Flüssigkeit, sodass nur Teile der Feststoffoberfläche mit der Flüssigkeit in Kontakt treten, wodurch die Adhäsion stark reduziert ist. In der Formel entspricht  $f_{ls}$  dem flüssig-fest Kontaktanteil (engl.: liquid solid fraction), und  $1 - f_{ls}$  entspricht dem gasförmig-flüssig Kontaktanteil. Eine heterogene Benetzung führt immer zu einem größeren Kontaktwinkel (Roach et al. 2008); aus hydrophoben Oberflächen können superhydrophobe Oberflächen entstehen. Superhydrophobe pflanzliche Oberflächen werden meist durch hierarchische (multiskalare) Strukturen gebildet. Das bekannteste Beispiel dafür ist die Oberfläche der Lotuspflanze (*Nelumbo nucifera*). Die Rauigkeit der Lotusblattoberfläche wird durch Papillen gebildet, die zudem mit epikutikularen Wachsröhrchen bedeckt sind. Daneben können superhydrophobe Oberflächen auch durch Blatthaare wie beispielsweise bei dem Wasserfarn (*Salvinia sp.*) oder der Sojabohne (*Glycine max*) gebildet werden (Hagedorn et al. 2017, Koch et al. 2008). Naturgemäß kommen reine Wenzel oder Cassie-Baxter Benetzungsstadien selten vor. Es existieren häufig sogenannte gemischte Benetzungsstadien (Bormashenko 2017).



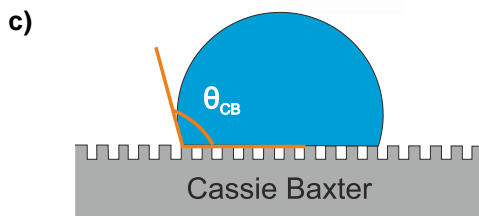
**Formel 1.1: Young'sche Gleichung**

$$\sigma_{sg} = \sigma_{ls} + \sigma_{lg} \cos \theta$$



**Formel 1.2: Wenzel-Gleichung**

$$\cos \theta_W = R_f \cos \theta_Y$$



**Formel 1.3: Cassie-Baxter-Gleichung**

$$\cos \theta_{CB} = R_f f_{sl} \cos \theta_Y - (1 - f_{sl})$$

**Abbildung 1.4: Benetzungsmodelle;** a) nach Young (Y), b) nach Wenzel (W), c) nach Cassie und Baxter (CB);  $\theta$ : Kontaktwinkel,  $\sigma_{sg}$ : Oberflächenspannung fest/gasförmig (solid/gas),  $\sigma_{ls}$ : Grenzflächenspannung flüssig/fest (liquid/solid),  $\sigma_{lg}$ : Oberflächenspannung flüssig/gasförmig (liquid/gas),  $R_f$ : Rauheitskoeffizient, Quotient aus der tatsächlichen und der projizierten Fläche,  $f_{sl}$ : fest-flüssig Kontaktanteil (engl.: solid liquid fraction),  $1 - f_{sl}$ : flüssig-gasförmig Kontaktanteil; Abb. a) verändert nach Zielke (2008), b) und c) verändert nach Han et al. (2019)

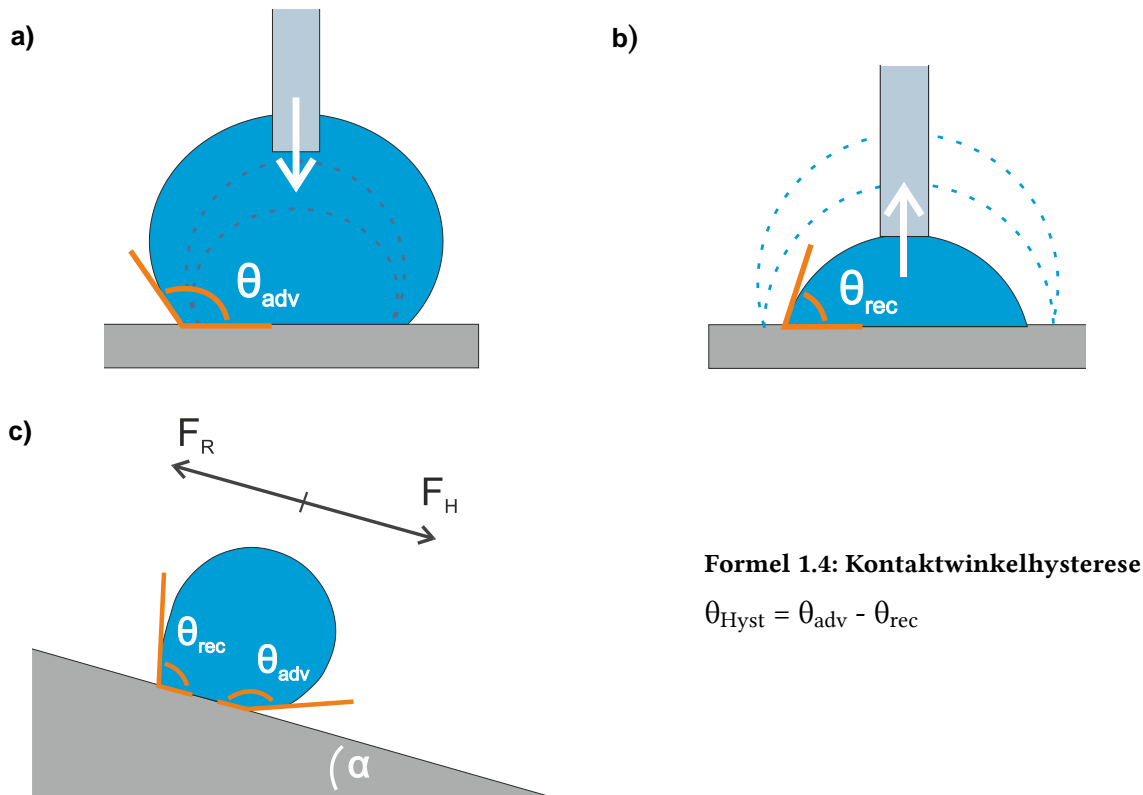
Die Benetzungsstadien stehen in einem engen Zusammenhang mit der Kontaktwinkelhysterese und dem Abrollwinkel. Beide Größen werden daher herangezogen, um die Benetzbarkeit rauer und heterogener Oberflächen ausreichend zu beschreiben.

Die Kontaktwinkelhysterese ist ein qualitatives Maß für die Mobilität eines Tropfens auf einer Oberfläche (Law und Zhao 2016). Je größer die Hysterese, desto schwerer rollt ein Tropfen ab (Roach et al. 2008). Die Kontaktwinkelhysterese ist definiert als die Differenz zwischen dem fortschreitenden (engl.: *advancing*) und dem rückschreitenden (engl.: *receding*) Kontaktwinkel (Formel 1.4). Sie kann bei einem Tropfen mit variierendem Volumen oder bei einem Tropfen auf einer schiefen Ebene bestimmt werden (Abbildung 1.5).

Bei einem sessilen Tropfen wird der fortschreitende Kontaktwinkel bei einer Volumenzunahme erzeugt: Der Kontaktwinkel wird zunächst größer, ohne dass sich die Kontaktlinie verändert. Ab einem bestimmten Punkt erreicht der Kontaktwinkel seinen maximalen Wert und die Kontaktlinie breitet sich aus. An diesem Punkt ist der fortschreitende Kontaktwinkel erreicht, der Kontaktwinkel bleibt stabil (Abbildung 1.5a). Bei einer Volumenabnahme wird der rückschreitende Kontaktwinkel erzeugt: Der Kontaktwinkel wird zunächst kleiner, ohne dass sich die Kontaktlinie verändert. Wird der minimale Wert erreicht, beginnt sich die Kontaktlinie zu bewegen und der Wert bleibt konstant. An diesem Punkt ist der rückschreitende Kontaktwinkel erreicht (Korhonen et al. 2013, Law und Zhao 2016, Ras et al. 2017) (Abbildung 1.5b).

Bei einem Tropfen auf einer schiefen Ebene kann die Hysterese bestimmt werden, kurz bevor ein Tropfen beginnt abzurollen. An diesem Punkt wird auf der hangabwärts gerichteten Seite der fortschreitende Kontaktwinkel und auf der hangaufwärts gerichteten Seite der rückschreitende Kontaktwinkel erreicht; der Reibungswiderstand und die Hangabtriebskraft sind gleich groß (Abbildung 1.5c). Der Reibungswiderstand kann empirisch durch den fortschreitenden und rückschreitenden Kontaktwinkel beschrieben werden (Forsberg et al. 2010, Macdougall und Ockrent 1942). Ist die Hysterese gering, können Tropfen ohne großen Widerstand leicht abrollen (Bhushan und Jung 2008, Nosonovsky und Bhushan 2008). Der Neigungswinkel, bei dem ein Tropfen beginnt abzurollen, wird als Abrollwinkel  $\alpha$  bezeichnet. Sowohl homogene als auch heterogene Benetzungsstadien können hohe Kontaktwinkel aufweisen. Geringe

Hysteresen werden jedoch nur durch eine heterogene Benetzung im Cassie und Baxter Stadium erreicht (Marmur 2003). Bei einer homogenen Benetzung bleiben auf einer rauen Oberfläche Tropfen für gewöhnlich stärker haften als auf einer äquivalenten glatten Oberfläche. Bei einer heterogenen Benetzung rollen Tropfen dagegen leichter ab als auf einer glatten Oberfläche des gleichen Materials (Roach et al. 2008).



**Formel 1.4: Kontaktwinkelhysterese**

$$\theta_{Hyst} = \theta_{adv} - \theta_{rec}$$

**Abbildung 1.5: Kontaktwinkelhysterese;** a) Fortschreitender (engl.: advancing) Kontaktwinkel bei Volumenzunahme eines sessilen Tropfens, b) Rückschreitender (engl.: receding) Kontaktwinkel bei Volumenabnahme, c) Fortschreitender und rückschreitender Kontaktwinkel eines Tropfens auf einer schiefen Ebene; Bei einem sessilen Tropfen wird der fortschreitende Kontaktwinkel bei einer Volumenzunahme erzeugt, wenn der maximal mögliche Wert erreicht ist. Der rückschreitende Kontaktwinkel wird bei einer Volumenabnahme erzeugt, wenn der minimal mögliche Wert erreicht ist. Bei einem Tropfen auf einer schiefen Ebene sind der Reibungswiderstand ( $F_R$ ) und die Hangabtriebskraft ( $F_H$ ) gleich groß wenn der fortschreitende und rückschreitende Kontaktwinkel erreicht sind. Bei einer stärkeren Neigung beginnt der Tropfen bei dem Abrollwinkel  $\alpha$  abzurollen;  $\theta_{Hyst}$ : Kontaktwinkelhysterese,  $\theta_{adv}$ : fortschreitender Kontaktwinkel,  $\theta_{rec}$ : rückschreitender Kontaktwinkel,  $F_R$ : Reibungskraft,  $F_H$ : Hangabtriebskraft,  $\alpha$ : Abrollwinkel; Abbildung a) und b) verändert nach (Ras et al. 2017), c) verändert nach Zielke (2008)



Superhydrophobe Oberflächen mit einer kleinen Hysterese und einem geringen Abrollwinkel ( $\alpha < 10^\circ$ ) haben die Fähigkeit zur Selbstreinigung (Koch et al. 2009a). Neben der Unbenetzbarkeit an sich, der Reduktion der Adhäsion, und der Erzeugung von Luftschichten ist die Fähigkeit zur Selbstreinigung eine der bedeutendsten Eigenschaften superhydrophober pflanzlicher Oberflächen (Barthlott et al. 2017). Diese auch Lotuseffekt<sup>®</sup> genannte Eigenschaft ist heute eines der meistuntersuchten Phänomene der Oberflächenwissenschaften (Bormashenko 2017). Barthlott und Ehler (1977) beschrieben erstmals den Selbstreinigungseffekt pflanzlicher Oberflächen. Das prominenteste Beispiel und Namensgeber für den Lotuseffekt ist das Blatt der Lotuspflanze (*Nelumbo nucifera*). Wie bereits erwähnt, befinden sich auf dem Blatt der Lotuspflanze eine Mikrostruktur aus Papillen und eine Nanostruktur aus Wachsröhrchen. Ein Wassertropfen kann die Blattoberfläche nicht homogen benetzen, er sitzt den Strukturen auf. Dadurch ist die Kontaktfläche zwischen Wassertropfen und Oberfläche und damit die Haftkraft stark reduziert (Barthlott und Neinhuis 1997). Gleiches gilt für Kontaminationen verschiedenster Art wie Schmutzpartikel, Bakterien oder Pilzsporen (Barthlott und Neinhuis 1997, Cerman 2007, Neinhuis und Barthlott 1997). Sie sind nur durch schwache, nicht kovalente Van-der-Waals Kräfte an die Oberfläche gebunden (Chow 2003, 2007). Rollt ein Tropfen über die Oberfläche, so werden die Kontaminationen zusammen mit dem Wassertropfen von dem Blatt gespült. Die Oberfläche bleibt somit trocken und sauber.

### **1.3 Die Übertragung der Oberflächeneigenschaften**

Die einzigartigen Benetzbarkeiten pflanzlicher Oberflächen waren oftmals Inspirationsquelle für die Entwicklung biomimetischer Materialien. Biomimetik (oder Bionik) erforscht Funktionsprinzipien der lebendigen Natur und ist bestrebt diese in technische Anwendungen zu übertragen (Barthlott et al. 2017). Oberflächen mit extremen Benetzungseigenschaften, wie Superhydrophobie oder Superhydrophilie, und die damit verknüpften Merkmale, wie beispielsweise die Fähigkeit zur Selbstreinigung (Barthlott und Neinhuis 1997) oder die Reibungsreduktion der Oberflächen (Bohn und Federle 2004, Federle et al. 1997, Gorb et al. 2005) waren in der Vergangenheit besonders interessant für die technische Umsetzung. Mit dem Aufkommen der Nanotechnologie konnten zahlreiche

dieser funktionellen Oberflächen, durch die Nachahmung der Oberflächenchemie und der Oberflächenstrukturen hergestellt werden (Bixler et al. 2014, Fürstner et al. 2005, Kavalenka et al. 2017, Kim et al. 2013, Liu und Jiang 2011, Shin et al. 2016, Sun et al. 2005, Wong et al. 2011, Yao et al. 2011, Zhang et al. 2012). Basierend auf dem Lotuseffekt<sup>®</sup> konnten beispielsweise biomimetische Oberflächen mit vergleichbaren Benetzungseigenschaften hergestellt werden, welche mit denen des Lotusblattes vergleichbar sind. So konnten einige Produkte mit selbstreinigenden Eigenschaften wie die Fassadenfarbe Lotusan<sup>®</sup> oder funktionelle Textilien wie Nanotex<sup>®</sup> und Nanosphere<sup>®</sup> auf den Markt gebracht werden (Chow 2007, Ming et al. 2005, Neinhuis et al. 2014). Des Weiteren diente auch der Salvinia effekt<sup>®</sup> als Vorbild zur Herstellung biomimetischer hydrophober Oberflächen (Tricinci et al. 2015). Die neuerdings beschriebene, öladSORbierende Eigenschaft von Salvinia ist zudem höchst interessant für technische Innovationen zur Säuberung von ölverschmutzten Gewässern (Zeiger et al. 2016). Biomimetische superhydrophile Materialien sind auch äußerst vielversprechende Materialien. Eine mögliche Anwendung ist beispielsweise die Entwicklung superhydrophiler Netze, die als Nebelfänger genutzt werden können (Azad et al. 2015).

In der Nanotechnologie gibt es prinzipiell zwei Ansätze zur Erzeugung neuer (Bio-) Materialien; den „bottom up“ (engl.: von unten nach oben) und den „bottom down“ (engl.: von oben nach unten) Ansatz. Bei Ersterem werden Materialien Molekül für Molekül zusammengesetzt. Bei Letzterem werden Materialien durch die Zerlegung einer komplexen Struktur in ihre Untereinheiten erzeugt (Zhang 2003). Durch die Rekrystallisation extrahierter Pflanzenwachse konnte gezeigt werden, dass die vielfältigen Mikrostrukturen epikutikularer Wachse durch Selbstorganisation (engl.: self-assembly) entstehen (Jeffree et al. 1975, Jetter und Riederer 1995, Koch et al. 2004, Koch et al. 2006a, Koch et al. 2006b, Koch et al. 2009c, Koch et al. 2010). Selbstorganisation beschreibt eine spontane Struktur- bzw. Musterbildung durch eine geordnete Formation der Komponenten und ist im Wesentlichen ein „bottom up“ Prozess. Dieser Prozess ist allgegenwärtig und kann in verschiedenen Größenordnungen stattfinden. Sind die assemblierenden Einheiten, wie die Komponenten epikutikularer Wachskristalle, Moleküle, so spricht man von molekularer Selbstorganisation. In der Biologie werden viele Makromoleküle wie z.B. Lipiddoppelmembranen, Hämoglobin oder Ribosome durch

molekulare Selbstorganisation gebildet (Whitesides und Boncheva 2002, Whitesides und Grzybowski 2002, Zhang 2003). Laut Whiteside und Boncheva (2002) hängt der Erfolg einer molekularen Selbstorganisation prinzipiell von folgenden Faktoren ab: Den einzelnen Komponenten, der Art der Interaktionen zwischen den einzelnen Komponenten, der Reversibilität der geordneten Strukturen, der Umgebung in der die Selbstorganisation stattfindet und dem Massentransport der einzelnen Moleküle. Die Anordnung der einzelnen Moleküle erfolgt während der Selbstorganisation durch schwache nicht kovalente Bindungen, wie Wasserstoffbrückenbindungen, Van-der-Waals-Kräfte, Coulombsche Kräfte und hydrophobe Interaktionen (Whitesides und Boncheva 2002, Whitesides und Grzybowski 2002).

Folglich werden die, durch Rekristallisation gebildeten, Wachskristalle durch die gewählten Parameter, wie die zu rekristallisierende Masse, die Rekristallisationsgeschwindigkeit und die Rekristallisationstemperatur beeinflusst. Es wurden viele verschiedene Methoden zur Rekristallisation angewandt (Chambers et al. 1976, Jeffree et al. 1975, Jetter und Riederer 1994, Koch et al. 2006a, Koch et al. 2006b, Koch et al. 2009b, Meusel et al. 2000). Ein einfaches Verfahren ist beispielsweise die Rekristallisation aus der Lösung. Hierfür werden Tropfen eines Wachsextraktes auf ein Substrat aufgebracht. Nach dem Verdampfen des Lösungsmittels verbleiben dreidimensionalen Wachstrukturen. Dieses Verfahren hat jedoch den Nachteil, dass es zu einer heterogenen Verteilung der Wachsmasse und zu vielfältigen, oftmals nicht dem ursprünglichen Wachstyp entsprechenden Strukturen führen kann (Koch et al. 2006a, Niemietz et al. 2009). Aufgrund der ringförmigen Akkumulation wird auch von dem sogenannten „coffee drop effect“ (Deegan et al. 1997, Truskett und Stebe 2003) gesprochen. Dieser unerwünschte Effekt kann durch das lösungsmittelfreie Verfahren der thermischen Verdampfung (engl. physical vapour deposition, PVD) vermieden werden, sodass eine homogene Verteilung der Wachsmassen erreicht werden kann (Niemietz et al. 2009). Daher wurde dieses Verfahren auch in der vorliegenden Arbeit als Rekristallisationsmethode gewählt. Neben Wachsgemischen wurden in früheren Studien auch einzelne Wachskomponenten rekristallisiert (Koch et al. 2006a, Niemietz et al. 2009). So konnte gezeigt werden, dass oftmals eine Komponente strukturgebend ist. Beispielsweise kristallisierte reines 1-Octacosanol, die Hauptkomponente von Weizenwachs, wie das

Gesamtwachs, auch als Schüppchen (Koch et al. 2006a). Neben der Rekrystallisationsmethode und den zu kristallisierenden Substanzen beeinflussen auch die physikochemischen Eigenschaften des Substrates, auf dem die Rekrystallisation erfolgt, die gebildete Struktur (template effect). Zum Beispiel konnte ebenfalls mit rekrystallisierten Strukturen aus 1-Octacosanol gezeigt werden, dass sich auf polaren Substraten flachliegende Plättchen und auf apolaren Substraten aufrechtstehende Schüppchen bildeten (Koch et al. 2006a).

Durch die Rekrystallisation pflanzlicher Wachse konnten die Nanostrukturen der pflanzlichen Oberflächen und die damit verbundenen Eigenschaften auf technische Oberflächen übertragen werden. Die Oberflächen wurden durch die rekrystallisierten Wachsstrukturen ebenfalls (stark) wasserabweisend (Bhushan et al. 2009b, Koch et al. 2006b, Niemietz et al. 2009, Pechook und Pokroy 2012, Tavana et al. 2006). Neben der Entwicklung neuer Materialien bieten solche biomimetischen Oberflächen die Möglichkeit, Grenzflächenphänomene der pflanzlichen Oberflächen unter Laborbedingungen zu untersuchen. Diese technischen Oberflächen könnten dazu genutzt werden, um die Wirkstoffapplikation von Pflanzenschutz- oder Düngemitteln zu untersuchen, oder das Haftungsverhalten von (Schad-) Insekten und mikrobiellen Pathogenen zu studieren. In Studien zur Untersuchung des Spritzverhaltens von Flüssigkeiten oder in Haftungsversuchen mit Insekten wurden biomimetische Oberflächen beispielsweise bereits verwendet (Gorb et al. 2014, Koch und Grichnik 2016).

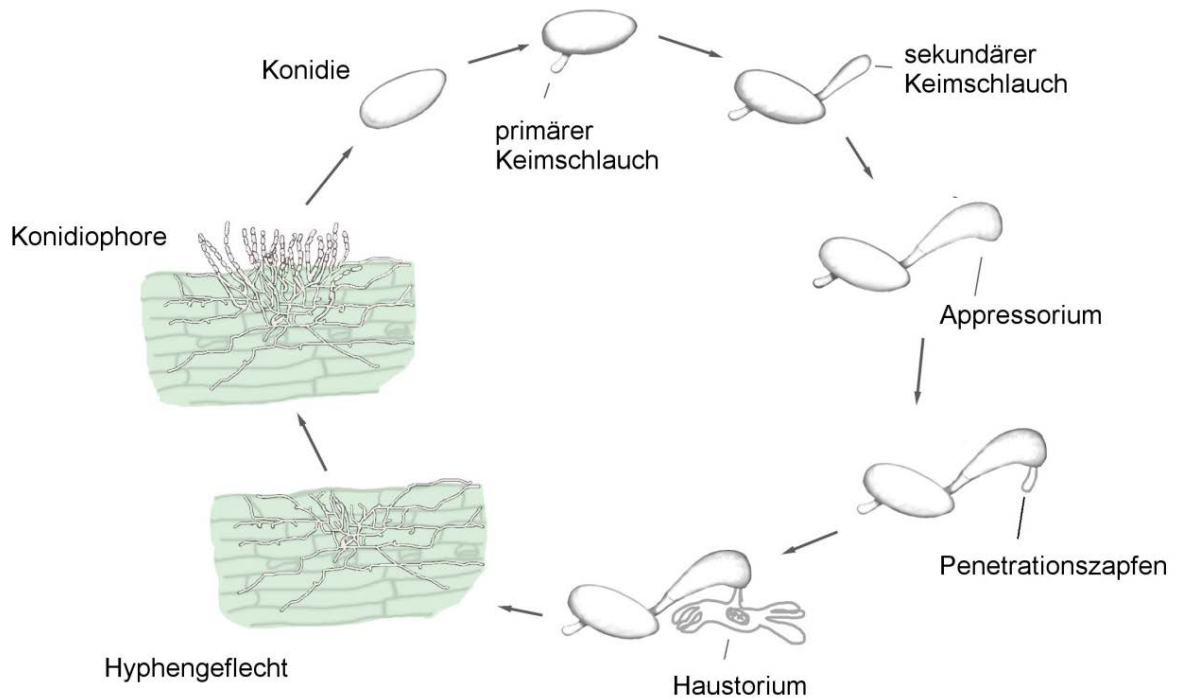
## **1.4 Das Pathogen *Blumeria graminis***

Mehltaupilze (Erysiphales), aus dem Stamm der Ascomyceten, können viele verschiedene Nutz- und Wildpflanzen befallen (Deacon 2006). Namensgeber für die Krankheit sind die weißen, an Mehlstaub erinnernden weißen Pusteln, die sich auf den Oberflächen infizierter Pflanzen bilden. Später in der Vegetationsperiode werden die braunschwarzen, punktförmigen Fruchtkörper des Pilzes sichtbar. Um den Pilz herum bilden sich Chlorosen (Mehrotra und Aggarwal 2003). Obwohl das Erscheinungsbild recht ähnlich ist, sind Mehltaupilze oftmals sehr wirtsspezifisch (Schumann und D'Arcy 2010). Insgesamt gibt es ca. 650 Mehltauarten (Braun et al. 2002). Eine der wirtschaftlich relevantesten Arten ist *Blumeria graminis* der Erreger des Echten Mehltaus an Gräsern (Poaceae)

(Deacon 2006). Zu dieser Pflanzenfamilie zählen auch alle Getreidearten. Das Pathogen zählt daher zu den wichtigsten Krankheitserregern weltweit (Dean et al. 2012). *Blumeria graminis* ist weiter in acht verschiedene, wirtsspezifische Unterarten (forma specialis, f. sp.), unterteilt (Marchal 1902, OKU et al. 1985, Troch et al. 2014). Neben den Erregern des Echten Mehltaus an vier Wildgräsern, wird zwischen den Erregern des Echten Mehltaus an Gerste (*Blumeria graminis* f. sp. *hordei*), an Hafer (*Blumeria graminis* f. sp. *avenae*), und Roggen (*Blumeria graminis* f. sp. *secalis*) unterschieden. Der Erreger des echten Mehltaus an Weizen ist *B. graminis* f. sp. *tritricum*. *Blumeria graminis* ist ein obligat biotropher Pilz, welcher alle oberirdischen Pflanzenteile befallen kann. Die Wirtspflanze wird durch ihn zwar nicht getötet, jedoch ist das Wachstum gehemmt, die Qualität und der Ertrag erniedrigt (Conner et al. 2003, Everts et al. 2001). Bei erkrankten Pflanzen sind die Respiration und die Transpiration erhöht, die Photosynthese ist herabgesetzt (Trigiano 2007). In schweren Fällen kann der Ertragsverlust bis zu 40 % betragen (Chaure et al. 2000). *B. graminis* ist ein pleomorpher Organismus: In einem sexuellen und einem asexuellen Vermehrungszyklus produziert er zwei verschiedene Sporentypen. Die sexuelle Vermehrung dient der genetischen Rekombination und der Überdauerung durch die Bildung der Chasmothecien (vormals Kleistothecien), welche Ascosporen (teleomorph) produzieren. Die asexuelle Vermehrung dient dahingegen der Produktion der Konidien (anamorph) und deren Verbreitung (Both und Spanu 2004).

Im Fokus dieser Arbeit steht die Keimentwicklung der asexuell entstanden Konidien. Sie werden kontinuierlich von Konidiophoren (Konidienträgern) gebildet. Sind sie reif, werden sie v.a. durch Wind verbreitet. Nachdem eine Konidie auf einer Pflanze gelandet ist, beginnt der Infektionsprozess. Die Entwicklung erfolgt in klar unterscheidbaren Phasen (Abbildung 1.6). Innerhalb weniger Sekunden nach dem Kontakt mit der pflanzlichen Oberfläche wird durch die Konidien eine Extrazelluläre Matrix (ECM) freigesetzt (Carver et al. 1999, Fujita et al. 2004). Sie ermöglicht die Anhaftung der Konidie und spielt eine Rolle in der Erkennung des Substrates (Meguro et al. 2001, Wright et al. 2002). Nach ca. 0,5 - 2 h entwickelt sich ein kurzer primärer Keimschlauch (5 - 10 µm), der an der Oberfläche haftet und einen Penetrationszapfen bildet, um die Kutikula zu durchdringen (Carver et al. 1995a, Edwards 2002, Kunoh et al. 1979). Neben der Haftung

und der Verankerung dient auch er der Erkennung der Wirtsoberfläche (Carver und Ingerson 1987, Wright et al. 2000). Zudem können durch ihn Wasser (Carver und Bushnell 1983) und kleinere Moleküle aus der Wirtszelle aufgenommen werden (Nielsen et al. 2000). Anders als bei den meisten Mehltauarten entsteht bei *B. graminis* nach ca. 3 h ein zweiter Keimschlauch, welcher sich weiter differenziert (Kunoh et al. 1979). Nachdem dieser sich verlängert hat (30 - 40  $\mu\text{m}$ ), verdickt er sich am apikalen Ende. Es entsteht der appressoriale Keimschlauch. Nach ca. 9 - 10 Stunden entwickelt sich aus dem appressorialen Keimschlauch ein Appressorium, welches an der hakenförmigen Struktur und an einer Septenbildung erkennbar ist (Carver et al. 1995a). Von dem Appressorium ausgehend bildet sich ein Penetrationszapfen. Durch die Aktivität verschiedener Enzyme, wie z.B. Kutinasen und durch einen hohen Turgordruck von bis zu 2 - 4 mPa kann dieser die Kutikula und die Zellwand durchdringen (Pryce-Jones et al. 1999). Damit ist der sogenannte Prepenetrationsprozess abgeschlossen. Ausgehend von dem Penetrationszapfen bildet sich in den epidermalen Zellen ein fingerförmiges Haustorium, über das der Pilz seine Nährstoffe aus der Pflanze bezieht (Eichmann und Hückelhoven 2008). Innerhalb von 24 h ist das Haustorium vollkommen entwickelt und der Pilz bildet ein epiphytisches Mycel an der Oberfläche. Nach drei Tagen werden makroskopische weiße Pilzkolonien sichtbar, welche wiederum beginnen Konidien zu produzieren (Both et al. 2005).



**Abbildung 1.6: Lebenszyklus von *B. graminis***; Nach dem Kontakt mit der pflanzlichen Oberfläche bildet sich zunächst ein erster Keimschlauch. Danach bildet sich ein zweiter Keimschlauch, welcher sich verdickt und schließlich ein Appressorium ausbildet. Dieses entwickelt einen Penetrationszapfen, mithilfe dessen der Pilz in die Pflanze eindringt. Nach ca. einem Tag bildet sich ein Haustorium aus, über das sich der Pilz von den Pflanzenzellen ernährt. Nach mehreren Tagen kann eine Pustelbildung auf der Blattoberfläche beobachten werden. Das Mycel breitet sich weiter auf der Oberfläche aus und beginnt erneut mit der Konidienproduktion. Verändert nach Both et al. (2005)

Die Verbreitung der Konidien folgt einem Tagesrhythmus und erfolgt meist um die Mittagszeit, wenn die Luftfeuchtigkeit sinkt (Trigiano 2007). Die Keimung kann über ein weites Temperaturspektrum (1 - 30 °C) erfolgen, optimal sind jedoch Temperaturen zwischen 15 und 20 °C (Cherewick 1944, Trigiano 2007). Das Spektrum der Luftfeuchte bei dem eine Keimung erfolgt, ist breit. Es wird unterschiedlich zwischen 60 - 100 % oder zwischen 85 - 100 % angegeben (Gupta und Paul 2002, Trigiano 2007). Im Gegensatz zu den meisten anderen Pilzen benötigt *B. graminis* kaum freies Wasser, um zu keimen, sodass eine Ausbreitung der Krankheit auch bei trockenen Bedingungen stattfinden kann (Trigiano 2007).

## 1.5 Die Wirtspflanze Weizen

Weizen (*Triticum aestivum*) ist ein Grundnahrungsmittel für einen Großteil der Weltbevölkerung (Mehta 2014). Nach der Anbaufläche ist er mit 238 Mio. Hektar die wichtigste Kulturpflanze weltweit. Mit einem Ertrag von 865 Mio. Tonnen liegt Weizen knapp hinter Reis und Mais (FAO 2018). In Deutschland werden im Durchschnitt ca. 23 Mio. Tonnen geerntet. Für die Lebensmittelindustrie werden ca. 7 Mio. Tonnen genutzt. Beim Anbau dominiert hierzulande die Winterform (Lindhauer 2009). Die Entwicklungsstadien der Weizenpflanzen werden durch die Dezimalskala des BBCH Codes (benannt nach den ursprünglich beteiligten Organisationen: Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt und chemische Industrie) beschrieben: Es werden neun Makrostadien unterschieden, welche weiter in neun Mikrostadien gegliedert sind (Abbildung 1.7). Die Makrostadien umfassen die Keimung, die Blattentwicklung, die Bestockung, das Schossen, das Ähren- /Rispschieben, die Blüte, die Fruchtbildung, die Samenreife und das Absterben (Hack et al. 1992). Die Mikrostadien der Blattentwicklung werden nach der Anzahl der einzelnen Blätter benannt. Die schmalen länglichen Blätter sind an Blattknoten angeordnet. Die genaue Anzahl der Blätter ist sortenabhängig. Das letzte Blatt vor dem Blütenstand, der Weizenähre, wird Fahnenblatt genannt. Das Weizenkorn, eine Nussfrucht (Karyopse), wird schützend von Spelzen umgeben. Es besteht hauptsächlich aus dem Mehlkörper (Endosperm), welches das für die Backfähigkeit ausschlaggebende Klebprotein Gluten enthält (Christen 2009a). Je nach Mahl- und Backqualität wird zwischen Eliteweizen (E), Aufmischweizen (A), Brotweizen (B) und sonstigem Weizen (C) differenziert (Rentel 2009).





**Abbildung 1.7: Makrostadien der Entwicklung der Weizenpflanzen;** Die Ziffern geben die Mikroentwicklungsstadien nach der BBCH Skala an. Verändert nach KWS (2020)

Mit einer wachsenden Weltbevölkerung wird die Nachfrage nach Weizen schätzungsweise um 40 % steigen (Goyal und Prasad 2010). Die Weizenproduktion ist jedoch durch verschiedene Krankheitserreger bedroht. Weltweit ist Mehltau eine der bedeutendsten Blattkrankheiten an Weizen. Im jungen Getreidestand zeigt sich der Frühbefall an den Blattscheiden. Im fortgeschrittenen Reifestadium führt v.a. der Befall der Spelzen und des Fahnenblattes zu einer Reduktion des Tausendkorngewichts (Rodemann 2009). Die durch die Krankheit verursachten Ernteaufälle können 20 - 40 % betragen (Mehta 2014, Rodemann 2009). Mehltau wird v.a. durch den Anbau resistenter Sorten bekämpft. Die Anzahl der bis dato identifizierten Resistenzgene gegenüber Mehltau (*Pm* Gene) geht aus der Literatur nicht eindeutig hervor (Pietrusińska und Tratwal 2020). Die Zahlen reichen von 39 bis 81 beschriebener Mehlttauresistenzgene (Alam et al. 2011, Hao et al. 2015, Liu et al. 2017, Ullah et al. 2018, Zhang et al. 2019). Daneben werden hauptsächlich systemische Fungizide zur Eindämmung der Krankheit eingesetzt. Die Bekämpfungsschwelle liegt bei Schossbeginn, wenn die Haupttriebe sich zu strecken beginnen (BBCH 30), bei einer Befallshäufigkeit von ca. 70 %, was einer Befallsstärke von ca. 1 % entspricht (Rodemann 2009). Weitere wichtige Maßnahmen sind kulturelle Praktiken wie die Fruchtfolge mit Nicht-Wirtsarten und die sorgfältige Einarbeitung von Ernterückständen. Bei der Nährstoffzufuhr sollte eine übermäßige Düngung mit Stickstoff vermieden werden, da sie zu weichen Epidermiszellen und damit zu einem erhöhten Befallsrisiko führen kann. Durch eine ausgewogene Versorgung mit

Kali kann hingegen eine Pilzinfektion erschwert werden (Börner und Schlüter 2009, Rodemann 2009).

## 1.6 Der Signalcharakter pflanzlicher Oberflächen

Die pflanzliche Kutikula ist die erste Kontaktstelle der Pflanze mit ihrer biotischen Umwelt. Insbesondere die der Kutikula aufgelagerten Wachse spielen eine zentrale Rolle bei der Interaktion der Pflanzen mit anderen Lebewesen. Die pflanzliche Kutikula ist daher von besonderer ökologischer Relevanz (Eigenbrode und Espelie 1995, Eigenbrode 2004, Müller und Riederer 2005, Ziv et al. 2018). Die pflanzliche Kutikula stellt einerseits einen wichtigen Abwehrmechanismus der Pflanze gegenüber Schaderregern wie pathogenen Pilzen dar. Neben der mechanischen Hürde trägt v.a. die Fähigkeit zur Selbstreinigung zum Schutz der Pflanze bei (Barthlott und Neinhuis 1997, Neinhuis und Barthlott 1997). Andererseits liefert die pflanzliche Oberfläche paradoxerweise aber auch wichtige physikalische, topographische und chemische Schlüsselreize, die für die Entwicklung pilzlicher Krankheitserreger notwendig sind (Carver und Gurr 2006, Walters 2006). Die Fähigkeit geeignete Wirtsoberflächen anhand solcher Signale zu erkennen und den Prepenetrationsprozess einzuleiten ist ein Grund für den Erfolg pathogener Pilze (Tucker und Talbot 2001).

Die spezielle Rolle der pflanzlichen Oberfläche als Signalgeber für die Keimung und die Wirtsspezifität wurde daher bei verschiedenen phytopathogenen Pilzen untersucht: Neben *Blumeria graminis* konnte die Signalwirkung der pflanzlichen Oberfläche bei den Erregern des Mehltaus an der Erbse (*Erysiphe pisi*, Gniwotta et al., 2005), des Mehltaus an der Ackerschmalwand (*Erysiphe cruciferarum*, *Golovinomyces orontii*, Weis et al. 2014, Weidenbach et al. 2014), des Getreiderosts (*Puccinia graminis*, Reisinger et al., 2006), der Anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*, Podila et al., 1993), des Grauschimmels (*Botrytis cinerea*, Doehlemann et al., 2006), des Maisbeulenbrands (*Ustilago maydis*, Mendoza-Mendoza et al. 2009), und der Blattfleckenkrankheit (*Magnaporthe sp.*, Uchiyama und Okuyama 1990, Lee und Dean 1994, Gilbert, Johnson und Dean 1996, Hegde und Kolattukudy 1997, Delventhal et al. 2014) gezeigt werden.

Aufgrund der biotrophen Lebensweise ist es nicht möglich *Blumeria graminis* axenisch zu kultivieren. Viele Studien haben jedoch gezeigt, dass Konidien auf künstlichen Oberflächen keimen können. Neben Epidermisabzügen und isolierten Kutikeln konnte der Prepenetrationsprozess des Pilzes in der Vergangenheit so auf zahlreichen künstlichen Oberflächen untersucht werden. Beispielsweise dienten Plastikscheibchen, Zellulosemembrane, FEP Folie, oder (mit Wachs beschichtete) Glasplättchen als Substrat für Keimungsexperimente (Carver et al. 1999, Carver und Ingerson 1987, Feng et al. 2009, Francis et al. 1996, Kobayashi et al. 1991, Meguro et al. 2001, Nicholson et al. 1988, Nicholson et al. 1993, Ringelmann et al. 2009, Tsuba et al. 2002, Wright et al. 2000, Yang und Ellingboe 1972, Zabka et al. 2008). Als Modellorganismus wurde meist *B. graminis* f.sp. *hordei* verwendet. Vergleichende Studien mit natürlichen und künstlichen Oberflächen konnten so die entscheidende Bedeutung des Substrates auf den Keimerfolg zeigen (siehe folgenden Abschnitt). Nimmt der primäre Keimschlauch keine induktive Oberfläche wahr, stoppt die Entwicklung des Pilzes. Die Verlängerung des zweiten Keimschlauches und die Appressorienbildung finden nicht statt (Carver et al. 1995a). Gelegentlich entstehen auch mehrere kurze Keimschläuche. Diese subsidiären Keimschläuche, sind aber nicht funktional (Wright et al. 2000).

### **1.6.1 Der Einfluss der Hydrophobizität**

In vielen Studien wurden künstliche Oberflächen mit verschiedenen Benetzbarkeiten genutzt, um den Einfluss der Benetzbarkeit auf das Keimungsverhalten zu untersuchen. Die ECM wurde auf hydrophilen (Zellophan) und auf hydrophoben Oberflächen (silanisieretes Glas) freigesetzt (Nicholson et al. 1988, Nielsen et al. 2000). Die Freisetzung erfolgte auf hydrophoben Oberflächen jedoch schneller als auf hydrophilen Oberflächen (Carver et al. 1999, Meguro et al. 2001). Durch die ECM werden die Wirtsoberfläche und die Konidienoberflächen selbst hydrophiler. Es wurde angenommen, dass diese Änderungen für eine normale Entwicklung der Konidien nötig seien (Nicholson et al. 1993). Auch für die weiteren Entwicklungsschritte nach der ECM Freisetzung spielt die Benetzbarkeit eine Rolle. Auf hydrophoben Oberflächen entwickelten sich die Konidien weiter als auf hydrophilen Oberflächen (Carver 1996, Zabka et al. 2008). Der primäre Keimschlauch bildete sich auf einer künstlichen hydrophoben Oberfläche auf der Substrat

zugewandten Seite und konnte so in Kontakt mit der Oberfläche treten. Auf hydrophilen Oberflächen (Glas) hingegen entwickelte sich der Keimschlauch seitlich und konnte nicht in Kontakt mit der Oberfläche treten (Carver et al. 1999). Auf künstlichen hydrophilen Oberflächen, wie Glas oder Agar bildeten Konidien auch keine Appressorien aus (Carver und Ingerson 1987, Francis et al. 1996, Yang und Ellingboe 1972). Auf einer hydrophoben künstlichen Oberfläche wie silanisiertem Glas, wurde die Bildung der Appressorien jedoch eingeleitet (Wright et al. 2000).

### **1.6.2 Der Einfluss pflanzlicher Wachse**

Auch die chemische Zusammensetzung der Oberfläche ist ein entscheidender Faktor für eine erfolgreiche Keimung (Both und Spanu 2004). Neben der keiminduzierenden Wirkung von Zellulose (Kinane et al. 2000, Kobayashi et al. 1991, Nicholson et al. 1993) und Kutinmonomeren (Francis et al. 1996, Simpson 2010), die durch die Enzymaktivität der Pilze freigesetzt werden können (Kunoh et al. 1990, Nicholson et al. 1988, Pascholati et al. 1992, Suzuki et al. 1998), stehen v.a. die kutikularen Wachse im Fokus der Forschung. Ihre Bedeutung für den Keimungsprozess wird unterschiedlich bewertet. Manche Autoren vermuteten, dass die Wachsstrukturen keine Rolle spielen, da das Entfernen der epikutikularen Wachse den Prepenetrationsprozess nicht beeinflusste (Carver und Thomas 1990, Zabka et al. 2008). Es wurde daher angenommen, dass eher unspezifische Signale der pflanzlichen Kutikula in den Erkennungsprozess involviert seien (Carver und Thomas 1990). Andererseits konnten verschiedene Studien die induzierende Wirkung der Wachse auf den Prepenetrationsprozess von *B. graminis* belegen (Feng et al. 2009, Hansjakob et al. 2010, Hansjakob et al. 2011, Ringelmann et al. 2009, Tsuba et al. 2002, Weidenbach et al. 2014, Zabka et al. 2008).

Yang und Ellingboe konnten bereits 1972 den positiven Effekt der Wachse mithilfe von *cer* Wachsmutanten und künstlichen Oberflächen zeigen. Die Blätter der Wachsmutanten hatten eine veränderte Wachschemie und -morphologie im Vergleich zu den Blättern des Wildtyps. Auf den Blättern der Wachsmutanten bildeten sich abnormale Appressorien. Auf den Blattoberflächen des Wildtyps, auf Epidermisabzügen und auf isolierten Kutikeln fand eine normale Keimentwicklung statt. Nach Entfernung der Wachse bildete der Pilz jedoch kaum noch Appressorien aus (Yang und Ellingboe 1972). Rubiales et al. (2001)

betonten nach erneuten Keimungsversuchen mit *cer* Wachsmutanten die Bedeutung der Wachschemie auf den Keimerfolg. Auch bei dem Deutschen Weidelgras (*Lolium perenne*) hing der Keimerfolg, neben der Hydrophobizität, von der chemischen Zusammensetzung und der Struktur der epikutikularen Wachse ab (Carver und Adai 1990, Ringelmann et al. 2009). Des Weiteren konnten Studien mit Epidermisabzügen von Wirtspflanzen und Nicht-Wirtspflanzen belegen, dass nur das Wachs der Wirtspflanze zu einer erfolgreichen Keimung führte (Tsuba et al. 2002).

### **1.6.3 Der Einfluss einzelner Wachskomponenten**

Insbesondere langkettige Aldehyde erwiesen sich als signalgebende Substanzen. Durch Keimungsexperimente auf mit Wachskomponenten beschichtete Glasplättchen und auf einem mit Aldehyden versetzten Polyvinyl-Testsystem, konnte die induktive Wirkung von Hexacosanal (C<sub>26</sub> Aldehyd), Octacosanal (C<sub>28</sub> Aldehyd) und Triacontanal (C<sub>30</sub> Aldehyd) auf die Entwicklung der Infektionsstrukturen gezeigt werden (Hansjakob et al. 2010, Hansjakob et al. 2011, Kong und Chang 2018, Ringelmann et al. 2009, Simpson 2010, Tsuba et al. 2002, Wang et al. 2018).

Auch *in vivo* konnte die keiminduzierende Wirkung der langkettigen Aldehyde auf die Entwicklung von *B. graminis* gezeigt werden. In Versuchen mit der wachsfreien Maismutante (*glossy 11*) und mit einer Gerstenmutante (*low wax 1*) mit deutlich reduziertem langkettigen Aldehydanteil im Wachs, konnte diese Substanzklasse als entscheidender Faktor für die Keimung des Pathogens nachgewiesen werden (Hansjakob et al. 2011, Weidenbach et al. 2014). Auf den Blättern der Wachsmutanten waren die Keimung und die Differenzierung stark reduziert. Durch das Besprühen der Blätter mit aldehydhaltigem Wachs oder synthetischen Aldehyden und durch die Komplementation der Mutation konnten die Keimungs- und Differenzierungsraten wieder gesteigert werden. Auch bei Weizen konnten mithilfe von zwei Wachsmutanten (TaCDK8 und TaKCS6 Knockout Mutanten) langkettige Aldehyde als Signalstoffe für die Keimentwicklung ausgemacht werden (Kong und Chang 2018, Wang et al. 2018).

Zabka et al. (2008) und Ringelmann et al. (2009) zeigten, dass die chemische Zusammensetzung und die Hydrophobizität gemeinsam die Prepenetration des Pilzes anregen. Die Interdependenz der Wachsstruktur und -chemie mit der Benetzung wurde in

der Vergangenheit jedoch nur teilweise berücksichtigt. Neben Experimenten an der Pflanze stammen die gewonnen Erkenntnisse über die Signalwirkung der Wachse aus Experimenten mit Testsystemen, die nur teilweise dem biologischen Vorbild entsprachen. Die bisher verwendeten *in vitro* Systeme wiesen keine, oder vom Original abweichende, dreidimensionale Wachsstrukturen auf, so dass zwangsläufig von der Pflanzenoberfläche deutlich abweichende Benetzungsverhältnisse vorlagen. Die Differenzierungsraten des Pilzes konnten durch die chemischen Substanzen angeregt werden, jedoch blieben sie hinter denen auf der pflanzlichen Oberfläche zurück. Auch bei den *in vivo* Experimenten war neben der Wachskemie auch die Wachsstruktur und die Benetzbarkeit verändert. Letztendlich ist nicht klar, ob nicht auch die Nanostrukturen, die neben der Wachskemie die Benetzung bestimmen, entscheidend für die normale Keimentwicklung des Pilzes sind.

## 1.7 Die Ziele der Arbeit

Der Beginn einer Pilzinfektion findet in einem Milieu dominiert von epikutikularen Wachsen statt. In der vorliegenden Arbeit soll ein *in vitro* Testsystem entwickelt werden, das sowohl die chemische als auch die physikalische Natur der epikutikularen Wachse und die damit verknüpften Benetzungseigenschaften der pflanzlichen Oberfläche widerspiegelt. Aufbauend auf den bisherigen Erkenntnissen an *B. graminis* f. sp. *hordei* soll mithilfe dieses und weiterer modifizierter Testsysteme untersucht werden, welche Rolle die Struktur und die Chemie der epikutikularen Wachse auf den Keimerfolg von *B. graminis* f. sp. *tritici* haben. Insbesondere soll der Frage nachgegangen werden, ob die auf der natürlichen Oberfläche vorherrschende Benetzbarkeit den Prepenetrationsprozess von *B. graminis* f. sp. *tritici* anregt.

Das Vorhaben gliedert sich in drei Kapitel. Das erste Kapitel widmet sich der Charakterisierung der natürlichen Oberfläche, nach deren Vorbild die Testsysteme entwickelt werden sollen. Dabei wird auch der Frage nachgegangen, ob unterschiedlich anfällige Weizensorten gegenüber *B. graminis* f. sp. *tritici* unterschiedliche Oberflächeneigenschaften aufweisen. Zudem wird der Einfluss des Blattalters und der Kulturbedingungen auf die Oberflächeneigenschaften in die Untersuchung miteinbezogen. Die Charakterisierung der Oberflächeneigenschaften umfasst die chemische Analyse der

Wachszusammensetzung, die Untersuchung der Wachsmorphologie und die Bestimmung der Benetzungseigenschaften der natürlichen Oberflächen.

Das zweite Kapitel beschreibt die Entwicklung der *in vitro* Testsysteme. Durch das Verfahren der thermischen Verdampfung sollen die Eigenschaften der natürlichen Oberfläche auf technische Oberflächen übertragen werden. Damit soll erstmalig ein Testsystem geschaffen werden, das sowohl über die chemische Information der epikutikularen Wachse, als auch über die gleichen Benetzungseigenschaften wie die Blattoberfläche verfügt. Durch veränderte Rekristallisationsparameter sollen daneben *in vitro* Testsysteme geschaffen werden, die es erlauben die chemischen Signale einzelner Wachskomponenten bei gleichbleibender niedriger Benetzung zu untersuchen. Außerdem sollen die *in vitro* Testsysteme so modifiziert werden, dass sie nur die Chemie oder nur die Benetzbarkeit der Blattoberfläche widerspiegeln. *In vitro* Testsysteme bieten gegenüber *in vivo* Versuchen den Vorteil, dass die zu untersuchenden Eigenschaften leichter und schneller modifiziert werden können. Bei der Pflanze wäre dies nur durch aufwendige, durch Mutagenese oder Gentechnik erzielte, Veränderungen möglich. *In vitro* Testsysteme stellen daher eine kostengünstige Alternative zu Wachsmutanten dar. Ein *in vitro* Testsystem, das über die gleichen Oberflächeneigenschaften wie die pflanzliche Oberfläche verfügt, könnte neben Keimungsexperimenten auch für die Untersuchung anderer Grenzflächenphänomene wie z.B. der Wirkstoffapplikation herangezogen werden.

Im dritten Kapitel werden die entwickelten *in vitro* Testsysteme in Keimungsexperimenten angewendet, um keiminduzierende Signale der pflanzlichen Oberfläche identifizieren zu können. Mithilfe der *in vitro* Testsysteme kann der Einfluss einzelner Parameter und erstmalig der Einfluss kombinierter Parameter auf den Keimerfolg des Pilzes untersucht werden. Die Versuche sollen zeigen, ob der Prepenetrationsprozess durch die Wachskemie, durch langkettige Aldehyde, durch die Hydrophobie und durch die chemischen und physikalischen Faktoren gemeinsam angeregt wird. Die aus den Experimenten gewonnen Erkenntnisse könnten dazu genutzt werden, um eine gezielte Auswahl an Sorten zu treffen, bei denen die Signalstoffe für die phytopathogenen Pilze fehlen, oder langfristig Sorten dahingehend zu züchten, um den Einsatz von Pflanzenschutzmitteln zu vermindern und Ernteaufträge zu verringern. Sind die *in vitro*

Testsysteme erfolgreich etabliert, ließen sie sich auf weitere Nutzpflanzen und deren Wachstypen, deren Signalstoffe und deren Pathogene erweitern.



## 2 Charakterisierung der nativen Blatt- oberfläche - Kapitel 1

### 2.1 Material und Methoden

In dieser Arbeit wurde mit drei verschiedenen Weizenkulturen gearbeitet: eine Gewächshauskultur und zwei Freilandkulturen. In jeder Aussaat wurden jeweils drei Weizensorten angezogen (Tabelle 2.1). Die Pflanzen der Gewächshauskultur wurden für Vorversuche herangezogen. In diesen Versuchen wurde überprüft, ob die Weizenblätter 1-Octacosanol Schüppchen oder  $\beta$ -Diketon Röhren aufweisen. Es wurde außerdem untersucht, ob die Wachse sich aufgrund der Sorten, der Blattseiten oder der unterschiedlichen Blattalter in ihrer Morphologie oder Chemie unterscheiden. Hierfür wurden die Morphologie und die chemische Zusammensetzung der Oberflächenwaxe der verschiedenen Sorten analysiert (2.1.2 und 2.1.5). Innerhalb einer Sorte wurden die Wachse der Blattoberseiten und der Blattunterseiten sowie unterschiedlich alter Blätter untersucht.

Im Freilandversuch sollten die Weizenpflanzen unter möglichst realistischen Bedingungen kultiviert werden. Neben der Wachsmorphologie und der Wachschemie wurden zudem die Benetzungseigenschaften der Weizenblätter analysiert (2.1.6). Es wurde untersucht, ob sich die Benetzungseigenschaften der verschiedenen Sorten, der unterschiedlichen Blätter und der Blattober- und der Blattunterseite unterscheiden. Für die späteren Rekristallisationsversuche (Kapitel 2, 3.1.4) wurde das Wachs der Pflanzen der ersten Freilandkultur in großen Mengen extrahiert (2.1.3). Die Pflanzen der zweiten Aussaat wurden in einem späteren Entwicklungsstadium für eine Studie zur Krankheitsschwere (2.1.7) herangezogen.

### 2.1.1 Pflanzenmaterial

Die Experimente wurden mit drei verschiedenen Sorten Weizen (*Triticum aestivum*) mit unterschiedlich starker Anfälligkeit gegenüber dem Echten Mehltau an Weizen (*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*) durchgeführt (Tabelle 2.1).

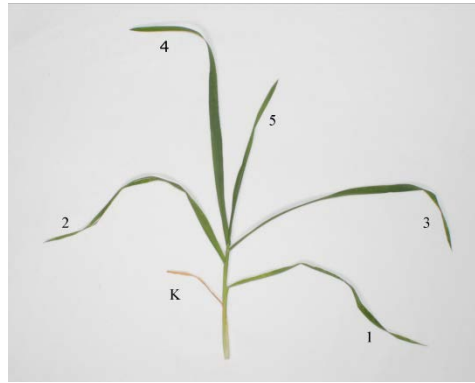
Für die Vorversuche wurden die Pflanzen im Gewächshaus der Hochschule Rhein-Waal in Töpfen mit einem Ackerboden Sandgemisch, sowie Universallerde (1:1:2), kultiviert (UV-durchlässiges Glas, Temp. Tag: 18 °C, Temp. Nacht: 12 °C, Bewässerung: händisch 1x pro Woche, Düngung: 1x pro Woche mit Mehrfachdünger (2,5 % Universol Blue 18-11-18+2.5MgO+TE, Everris International BV, Heerlen, Niederlande)).

**Tabelle 2.1: Verwendete Weizensorten**

Sorte	APS	Anfälligkeit*	Resistenzgene	Bezug
Ponticus	2	sehr gering bis gering	Pm2, Pm3a, Pm5	Strube D&S GmbH, Söllingen
Porthus	5	mittel	Pm3a, Pm5, Pm6	Strube D&S GmbH, Söllingen
Akteur	8	stark bis sehr stark	Pm4b, Pm6	Deutsche Saatveredelung AG, Lippstadt

APS: Ausprägungsstufe, \* gegenüber *Blumeria graminis* f. sp. *tritici*, (Bundessortenamt 2016)

Im Versuchsgarten der Hochschule Rhein-Waal wurden die drei Weizensorten im März 2016 (Freilandkultur 1, FK 1) und im November 2016 (Freilandkultur 2, FK 2) händisch ausgesät. Der Reihenabstand betrug ca. 35 cm der Kornabstand ca. 10 cm. Gedüngt wurde einmalig mit Salpetergranulat (YaraLiva CALCINIT, Yara GmbH & Co. KG, Dülmen). Die zweite Freilandkultur wurde ausgesät, da die Pflanzen der ersten Freilandaussaat von verschiedenen Schädlingen, wie z.B. dem Getreidehähnchen (*Oulema* sp.), Mehltau und Gelbrost (*Puccinia striiformis*) befallen waren. Eine Behandlung mit Schädlingsbekämpfungsmitteln wurde ausgeschlossen, da dies sowohl die Wachskemie, als auch die Wachstrukturen verändern könnte. Bei allen Weizenkulturen wurden Blatt 2, 3 und 4 der Pflanzen im 5 Blattstadium für die Versuche herangezogen (Abbildung 2.1).



**Abbildung 2.1: Geerntete Weizenpflanze im 5 Blattstadium;** K: Keimblatt, 1 - 5: Blatt 1 - 5; Für die Versuche verwendete Blätter: 2 - 4;

### 2.1.2 Untersuchung der Wachsmorphologie

Die Morphologie der Wachstrukturen der abaxialen und adaxialen Blattseiten, der verschiedenen Blätter und Sorten wurden mithilfe eines Rasterelektronenmikroskops (REM, Gemini Supra 40 VP, Zeiss, Oberkochen) untersucht. Die Untersuchungen sollten zeigen, welche Wachstrukturen sich auf den Weizenblättern befinden und, ob diese sich aufgrund der Sorten, der Blattseiten oder der unterschiedlichen Blattalter unterscheiden.

#### Probenvorbereitung

Zur Vorbereitung für die REM Untersuchungen wurden die Blätter in kleine, ca. 0,3 x 0,5 cm große Stücke geschnitten und mit leitfähigen doppelseitigen Aufklebern (Leit-Tabs, Plano, Wetzlar) auf Aluminium REM-Probentellern (Durchmesser 2,4 cm, Plano, Wetzlar) befestigt. Anschließend wurden die Proben mit einem Sputtercoater (Cressington 108 auto SE, Elektronen-Optik-Service GmbH, Dortmund) für 60 s bei 30 mA und 0,1 mbar mit einer ca. 8 nm dünnen Goldschicht überzogen (besputtert), um die Leitfähigkeit der Proben zu erhöhen und eine Aufladung durch den Elektronenstrahl während der REM Messungen zu reduzieren.

Bei den Blattstücken der Pflanzen der Freilandkultur wurde eine Glycerinsubstitution (Ensikat und Barthlott 1993) durchgeführt. Durch den Austausch von Wasser zu Glycerin (90 % VWR, Darmstadt) soll ein Zusammenfallen der Zellen während der REM Messung

verhindert werden. Nach ca. 20 h wurden die glycerinsubstituierten Blattstücke ebenfalls mit Leit-Tabs auf Aluminium Probentellern befestigt und besputtert.

### **REM Untersuchung**

Die Morphologie der Wachsstrukturen wurde bei einer Spannung von 10 kV mit dem Sekundär-Elektronen Detektor untersucht. Der Probenabstand betrug 4 - 7 mm. Die Blende war 30  $\mu\text{m}$  groß.

### **2.1.3 Wachsextraktion für die Rekrystallisationsversuche**

Zur Wachsgewinnung für die späteren Rekrystallisationsversuche (Kapitel 2, 3.1.4) wurde das Wachs der Weizenblätter der ersten Freilandkultur sortenweise extrahiert. Blätter, die stark mit Mehltau und Rostpilz befallen waren, wurden zuvor aussortiert. Für die Extraktion wurden jeweils 5 Blätter nacheinander mit einer Pinzette für 20 s in 1 l Chloroform (Rotisolv HPLC, Carl Roth, Karlsruhe) geschwenkt. Insgesamt wurden 6.783 Blätter der Sorte Ponticus, 1.599 Blätter der Sorte Akteur und 1.715 Blätter der Sorte Porthus extrahiert. Anschließend wurden die Extrakte filtriert. Das Filtrat wurde schließlich unter einem Abzug getrocknet bis das Lösungsmittel vollkommen verdampft war.

### **2.1.4 Ermittlung der Extraktionszeiten für die Wachsanalyse**

Für die chemische Analyse der Wachszusammensetzung (2.1.5) sollte die optimale Extraktionsdauer zur Auflösung der epikutikularen Wachse mit Chloroform in einem Vorversuch mit den Pflanzen der Gewächshauskultur ermittelt werden. Hierfür wurden unterschiedlich alte Blätter der verschiedenen Weizensorten für 15 s ( $n = 8$ ) und 20 s ( $n = 8$ ) in Chloroform eingetaucht. Die Oberflächen der extrahierten Blätter wurden anschließend mittels REM untersucht, um zu überprüfen inwieweit die epikutikularen Wachse entfernt worden waren.

### 2.1.5 Untersuchung der Wachschemie

Die chemischen Analysen der Oberflächenwachse wurden alle an der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn im Institut für Zelluläre & Molekulare Botanik durchgeführt. Alle benutzten Glaswaren wurden mit Chloroform gereinigt, um eine mögliche Kontamination mit Fremdstoffen zu verhindern. Zum Verschließen der Gefäße wurden ausschließlich teflonbeschichtete Deckel verwendet. Bei den Pflanzen der Gewächshauskultur wurde untersucht, ob sich die Wachszusammensetzung von Blatt 2, 3 und 4 unterschied. Bei allen drei Aussaaten wurde die Wachschemie der verschiedenen Sorten miteinander verglichen. Zudem wurde die Wachszusammensetzung der Pflanzen der unterschiedlichen Kulturen betrachtet und die Extraktionsmethode überprüft. Vor allem wurden die totalen Wachsmengen, die Hauptkomponenten (pot. strukturgebend) und der C<sub>26</sub> und der C<sub>28</sub> Aldehyd (pot. signalgebend) analysiert.

#### Probenvorbereitung

##### *Pflanzen der Gewächshauskultur*

Zur Extraktion der epikutikularen Wachse der Gewächshauspflanzen wurden jeweils drei Blätter pro Blattalter und pro Weizensorte für 20 s in 20 ml Chloroform geschwenkt (n = 5). Zur Bestimmung der Größe der Blattoberflächen wurden die Blätter direkt nach der Extraktion mit einem Wurzelscanner (LA2400 scanner Whinrhizho, Regent Instruments Inc, Québec, Canada) gescannt. Die Extrakte wurden jeweils mit 50 µl Tetracosan (C<sub>24</sub> Alkan, c = 0,2 mg/ml) als interner Standard versetzt; zur chemischen Analyse wurde ein 5 ml Aliquot entnommen.

##### *Pflanzen der Freilandkulturen*

Das Wachs der Blätter 2, 3 und 4 der Freilandpflanzen wurde sortenweise ebenfalls in 20 ml Chloroform für 20 s extrahiert (FK 1: n = 6, FK 2: n = 3). Den Wachsextrakten der FK 1 wurden jeweils 50 µl Tetracosan (c = 0,2 mg/ml), den Wachsextrakten der FK 2 jeweils 100 µl Tetracosan als interner Standard hinzugefügt. Allen Extrakten wurde jeweils ein 0,5 ml Aliquot entnommen. Nach der Standardisierung wurden die Blätter, wie die der Pflanzen der Gewächshauskultur, zur Bestimmung der Blattoberfläche gescannt.

### ***Kollodiumabhebungen***

Die Extraktionsmethode wurde überprüft, um sicherzustellen, dass nur epikutikulare und keine intrakutikularen Wachse extrahiert wurden. Zu diesem Zweck wurden die Zusammensetzungen chemisch extrahierter Wachse und mechanisch abgehobener Wachse miteinander verglichen (Haas und Rentschler 1984). Zur mechanischen Abhebung wurde Kollodium (4 % Nitrocellulose gelöst in Ether/Ethanol (Merck, Darmstadt)) dünn mit einem Pinsel auf eine ca. 1 cm<sup>2</sup> große Fläche auf das Weizenblatt (Porthus, Blattoberseite, Blatt 3, FK 2) aufgetragen (n = 4). Nachdem das Lösungsmittel verdampft war (ca. 30 - 60 s), bildete sich ein dünner polymerer Film aus Nitrozellulose. Dieser dünne Film (Stripp) und die ihm anhaftenden epikutikularen Wachse wurden mit einer Pinzette abgezogen und in 4 ml Chloroform gegeben. Die abgehobenen Wachse wurden durch das Chloroform wieder gelöst. Als Negativkontrolle diente ein Kollodiumstripp von einem Glasobjektträger. Zur chemischen Analyse der Kollodiumstripps wurden die Proben mit 50 µl Tetracosan als interner Standard versetzt. Neben der chemischen Analyse der Zusammensetzung der abgehobenen Wachse, wurde die Qualität der Abhebungen mittels REM untersucht. Hierfür wurde das Wachs an einer Stelle der Blattoberfläche insgesamt drei Mal hintereinander mit Kollodium abgehoben. Sowohl die entwachste Blattfläche als auch die Unterseite der Filme mit den abgehobenen Wachsen wurden mittels REM untersucht (2.1.2, Seite 28 - 29).

### **Derivatisierung**

Alle zu analysierenden Extrakte wurden bei 70 °C unter einem Stickstoffstrom auf ca. 200 µl eingedampft. Die Proben wurden anschließend für 45 min bei 70 °C mit 20 µl Bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide (BSTFA) und 20 µl Pyrimidin, als Katalysator derivatisiert, um die polaren Gruppen der Wachsmonomere zu maskieren und die Flüchtigkeit der Substanzen zu erhöhen.

### **Quantitative Wachsanalyse mittels GC-FID**

Die Wachskomponenten wurden mit einem Gaschromatographen (GC; 6890N, Agilent Technologies Sales & Services GmbH & Co. KG, Waldbronn) aufgrund unterschiedlicher

Kettenlängen und Polaritäten über eine Kapillarsäule (DB-1; 30 m x 0.32 mm, 0,1 µm; J&W, Agilent Technologies Sales & Services GmbH & Co. KG, Waldbronn) aufgetrennt. Hierfür wurde 1 µl der Probe auf die Säule gegeben. Als Trägergas wurde Wasserstoff verwendet, die Flussrate betrug 2 ml/min. Zur quantitativen Analyse der Wachskomponenten wurde ein Flammenionisationsdetektor (FID) benutzt. Tabelle 2.2 zeigt das verwendete Temperaturprogramm der Analysen.

**Tabelle 2.2: Temperaturprogramm der Wachsanalyse mittels GC**

<b>Schritt</b>	<b>Temperatur</b>
Injektion bei	50 °C
Halten der Temperatur für 2 Min	50 °C
Heizen mit 40 °C/Min auf	200 °C
Halten der Temperatur für 2 Min	200 °C
Heizen mit 3 °C/Min auf	310 °C
Halten der Temperatur für 30 Min.	310 °C

### **Qualitative Wachsanalyse mittels GC-MS**

Zur qualitativen Analyse wurde ein GC, gekoppelt an ein Massenspektrometer (MS, 5973, Agilent Technologies Sales & Services GmbH & Co. KG, Waldbronn) verwendet. Als Trägergas diente Helium. Die einzelnen Wachsmonomere wurden anhand ihrer durch Elektronenstoßionisation entstandenen Fragmente mithilfe der HP-Chemstation Software (Hewlett Packard Cooperation, Palo Alto, USA) identifiziert.

### **Wartung der Säule**

Vor und nach jeder GC-FID und GC-MS Analyse wurde der Zustand der Säule mithilfe eines Säurestandards, einem Gemisch aus Tetracosan und drei Monocarbonsäuren (C<sub>29</sub>, C<sub>30</sub> und C<sub>31</sub>, 1:1:1:1, v/v) überprüft. Der Säurestandard wurde wie die Analyte derivatisiert (Seite 31). Zur Auftrennung wurde das Temperaturprogramm aus Tabelle 2.3 verwendet. Zur Einschätzung der Säulenqualität wurde der Quotient aus den Peakflächen von Tetracosan und der C<sub>31</sub> Säure berechnet. Lag der Wert unter 1,4 musste die Säulenqualität verbessert werden. Zu diesem Zweck wurde ein Stück der Säule, das Verunreinigungen

aufwies, abgeschnitten. Anschließend wurde die Säule bei 310 °C und 140 kPa ausgeheizt, um Verunreinigungen komplett zu entfernen. Danach wurde die Säulenqualität mithilfe des Säurestandards nochmals überprüft.

**Tabelle 2.3: Temperaturprogramm zur Wartung der GC-Säule**

<b>Schritt</b>	<b>Temperatur</b>
Injektion bei	50 °C
Halten der Temperatur für 1 Min	50 °C
Heizen mit 40 °C/Min auf	200 °C
Halten der Temperatur für 2 Min	200 °C
Heizen mit 3 °C/Min auf	310 °C
Halten der Temperatur für 20 Min.	310 °C

### **Datenaufbereitung**

Die einzelnen Peaks der erzeugten Chromatogramme wurden mit der GC Chemstation Software (Hewlett Packard Corporation, Palo Alto, USA) integriert. Die weitere Datenverarbeitung erfolgte in Excel (2010, Version 14, Microsoft, Redmond, USA): Hier wurden den massenspektrometrisch identifizierten Substanzen die Flächen der einzelnen Peaks zugeordnet. Die Menge der Substanzen wurde durch die Flächen der Peaks und der bekannten Masse des internen Standards (IS) berechnet (Formel 2.1) und auf die Blattoberfläche bezogen.

**Formel 2.1: Berechnung der Masse der Substanzen:**

$$\text{Masse der Substanz } (\mu\text{g}) = \frac{\text{Fläche des Peaks der Substanz} \times \text{Masse des IS } (\mu\text{g})}{\text{Fläche des Peaks des IS}}$$

### **Datenanalyse**

Die Daten wurden mithilfe der Software R Studio (R Studio Inc., Ver. 1.1.383, Boston, USA) ausgewertet. Die Normalverteilung der Daten und die Homogenität der Varianzen wurde mit grafischen Methoden (Boxplots und QQ Plots) überprüft. Zur statistischen Auswertung ( $p < 0,05$ ) der unterschiedlichen Blätter und Sorten wurde eine ANOVA mit



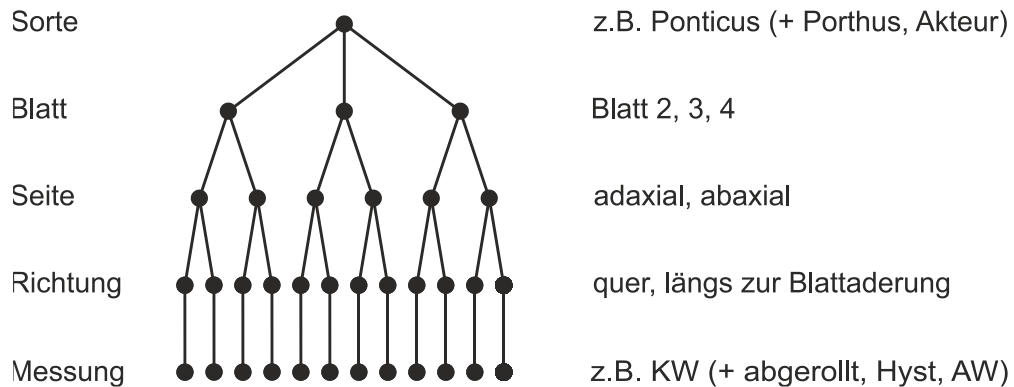
einem anschließenden *Post Hoc* Tukey Test durchgeführt. Falls die Voraussetzungen für eine ANOVA nicht erfüllt waren, wurde eine Box-Cox-Transformation durchgeführt. Zur Auswertung der unterschiedlichen Kulturen und Methoden wurde jeweils ein t-Test durchgeführt ( $p < 0,05$ ). Alle Ergebnisse sind als Mittelwerte  $\pm$  der Standardabweichung angegeben.

### 2.1.6 Untersuchung der Benetzungseigenschaften

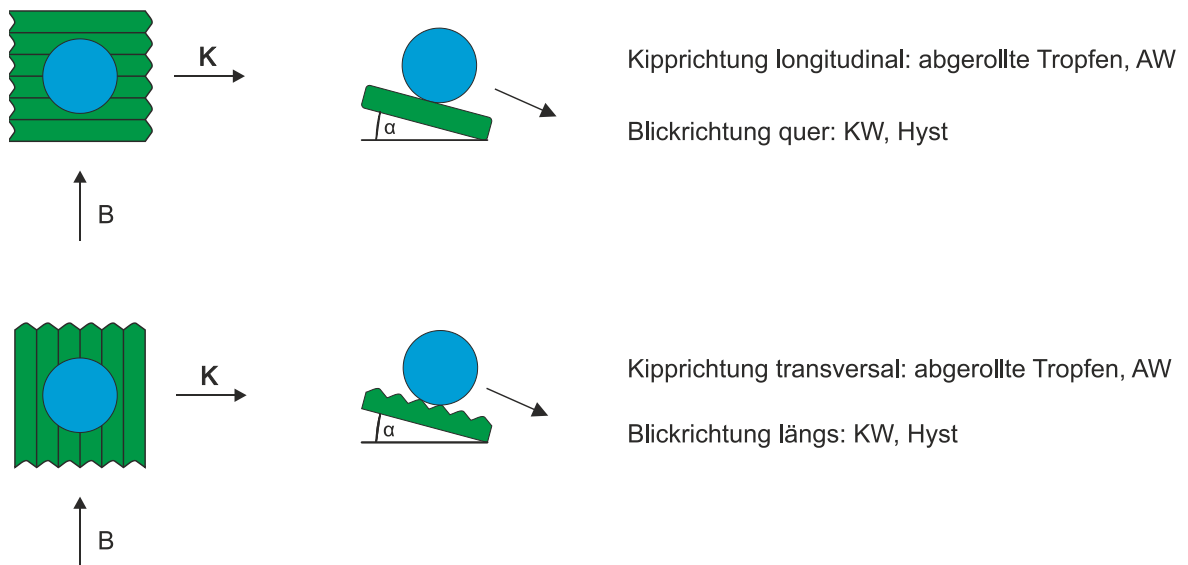
Die Untersuchung der Benetzungseigenschaften sollte zeigen, ob es Unterschiede zwischen den Sorten (Ponticus, Porthus, Akteur) den Blattseiten (adaxial, abaxial), den Blattaltern (Blatt 2, 3, 4) oder den Blattrichtungen entlang und senkrecht zu der Blattaderung gibt (Abbildung 2.2 und Abbildung 2.3). Da die Pflanzen der ersten Freilandkultur stark befallen waren, wurde auch überprüft, ob sich die Benetzungseigenschaften der beiden Freilandkulturen voneinander unterschieden. Es wurden die Kontaktwinkel, die Abrollwinkel und die Hysteresen der Weizenblätter mithilfe eines Goniometers (OCA 35, DataPhysics Instruments GmbH, Filderstadt) bestimmt ( $n = 15$ ). Die Hysteresen wurden auf einer schiefen Ebene kurz vor Abrollen des Tropfens bestimmt (tilting plate method). Die Kontaktwinkel wurden im ersten Frame der Videos zur Bestimmung der Hysterese und des Abrollwinkels gemessen. Außerdem wurde ermittelt, wie viele der abgelegten Tropfen abrollten. Am Anfang der Experimente wurde überprüft, ob die abgelegten Tropfen zur Basis anders abrollten als zur Spitze des Blattes. Alle Messungen wurden bei Raumtemperatur mit demineralisiertem Wasser (Tropfenvolumen: 5  $\mu$ l) durchgeführt.

Die Messungen der Benetzungsparameter erfolgten in zwei Kipp- bzw. Blickrichtungen. Bei der ersten Art der Messung wurde das Blatt so gekippt, dass die Tropfen longitudinal zur Blattaderung abrollen konnten. Hierbei wurden die Anzahl der abgerollten Tropfen und die Abrollwinkel in longitudinaler Richtung und die dazugehörigen Kontaktwinkel und Hysteresen in Blickrichtung quer zur Blattaderung gemessen. Bei der zweiten Art der Messung wurde das Blatt so gekippt, dass die Tropfen transversal zur Blattaderung abrollen konnten. Dabei wurden die Anzahl der abgerollten Tropfen und die Abrollwinkel in transversaler Kipprichtung und die dazugehörigen Kontaktwinkel und Hysteresen in Blickrichtung längs zur Blattaderung gemessen (Abbildung 2.3).

Das Benetzungsverhalten der Pflanzen der ersten und zweiten Freilandkultur wurde auf den abaxialen Seiten des Blattes 3 (Kipprichtung longitudinal und Blickrichtung quer) miteinander verglichen.



**Abbildung 2.2: Durchgeführte Untersuchungen zur Bestimmung der Benetzungseigenschaften;** Die Grafik dient der Veranschaulichung der einzelnen Messungen anhand des Beispiels der Kontaktwinkelmessungen der Sorte Ponticus. KW: Kontaktwinkel, abgerollt: Anteil abgerollter Tropfen, Hyst: Hysterese, AW: Abrollwinkel



**Abbildung 2.3: Kipp- und Blickrichtungen bei den Messungen der Benetzungseigenschaften;** Die Bestimmung der Benetzungsparameter erfolgte in zwei Kipprichtungen (K) und Blickrichtungen (B). AW: Abrollwinkel, KW: Kontaktwinkel, Hyst: Hysterese

## Datenanalyse

Die Merkmale (Blattalter, Blattseite, Richtung, Sorte) wurden einzeln betrachtet und hinsichtlich signifikanter Unterschiede ( $p < 0,05$ ) mithilfe der Software R Studio (R Studio Inc., ver. 1.1.383, Boston, USA) untersucht. Wenn der Einfluss eines Merkmals untersucht wurde, waren alle anderen Merkmale gleich. Um beispielsweise zu überprüfen, ob sich die Kontaktwinkel auf Blatt 2, 3 und 4 voneinander unterschieden, wurden die Kontaktwinkel der unterschiedlich alten Blätter nur einer Sorte (z.B. Ponticus), nur einer Seite (z.B. Blattoberseite) und nur einer Richtung (z.B. quer) miteinander verglichen.

Insgesamt wurden so pro Variable (Kontaktwinkel, Hysterese, Abrollwinkel, Anteil abgerollter Tropfen) bei der Untersuchung der Richtung und der Blattseite 18 Vergleiche angestellt, bei den Blattaltern und den Sorten jeweils 12. Die Voraussetzungen für parametrische Tests wurden grafisch (Boxplots und QQ Plots) geprüft. Bei Erfüllung der Voraussetzungen wurde ein t-Test zum Vergleich der Werte der unterschiedlichen Richtungen, der Blattseiten und der unterschiedlichen Kulturen durchgeführt. Zum Vergleich der Werte der verschiedenen Blätter und Sorten wurde eine ANOVA mit anschließendem *Post Hoc* Tukey Test durchgeführt. Bei einem Verstoß gegen die Voraussetzungen wurden die Werte der Richtungen, der Blattseiten und der Kulturen mit einem Wilcoxon Rangsummen Test getestet. Die Werte der Blätter und Sorten wurden mit einem Kruskal Wallis Test mit anschließendem *Post Hoc* Dunn Test geprüft. Das Signifikanzniveau betrug bei allen Tests 0,05. Die Kontaktwinkel, die Hysteresen, die Abrollwinkel der Blätter der ersten Freilandkultur und die Anzahl der abgerollten Tropfen wurden gegeneinander aufgetragen, um zu überprüfen, ob es einen Zusammenhang zwischen den einzelnen Benetzungsparametern gab. Alle Ergebnisse sind als Mittelwerte  $\pm$  der Standardabweichung angegeben.

### 2.1.7 Bestimmung der Krankheitsschwere

Die Krankheitsschwere (Anteil der betroffenen Fläche pro Blatt, James und Shih 1973) der verschiedenen Weizensorten wurde auf den Blattober- und Blattunterseiten der Pflanzen der zweiten Freilandkultur im Entwicklungsstadium BBCH 65 untersucht. Hierfür wurden pro Sorte bei jeweils zehn Pflanzen das Fahnenblatt und das erste, das zweite und das dritte darunterliegende Blatt abgeschnitten und mit dem Wurzelscanner gescannt.

Mithilfe der Software wurden anhand von zuvor zugeteilten Farbwerten befallene Flächen von gesundem Gewebe unterschieden. Der Anteil der befallenen Flächen von der gesamten Blattoberfläche der verschiedenen Weizenblätter wurde in R Studio berechnet.

### **Datenanalyse**

Es wurde mit einem Wilcoxon Vorzeichen Rang Test in R Studio geprüft, ob der Befall der Blattoberseite und der Befall der Blattunterseite unterschiedlich waren. Die Unterschiede zwischen den Sorten wurden mit einem Kruskal-Wallis Test und anschließendem *Post Hoc* Dunn Test analysiert. Der Befall auf den unterschiedlichen Blättern wurde sortenübergreifend mit einem Friedman Test und anschließendem *Post Hoc* Test nach Nemenyi untersucht. Das Signifikanzniveau war bei allen Tests 0,05. Die Ergebnisse sind als Mittelwerte  $\pm$  der Standardabweichung angegeben.

## 2.1.8 Übersicht der durchgeführten Experimente

Zur besseren Übersicht der durchgeführten Experimente dieses Kapitels sind diese in Tabelle 2.4 zusammengefasst.

**Tabelle 2.4: Übersicht der durchgeführten Experimente**

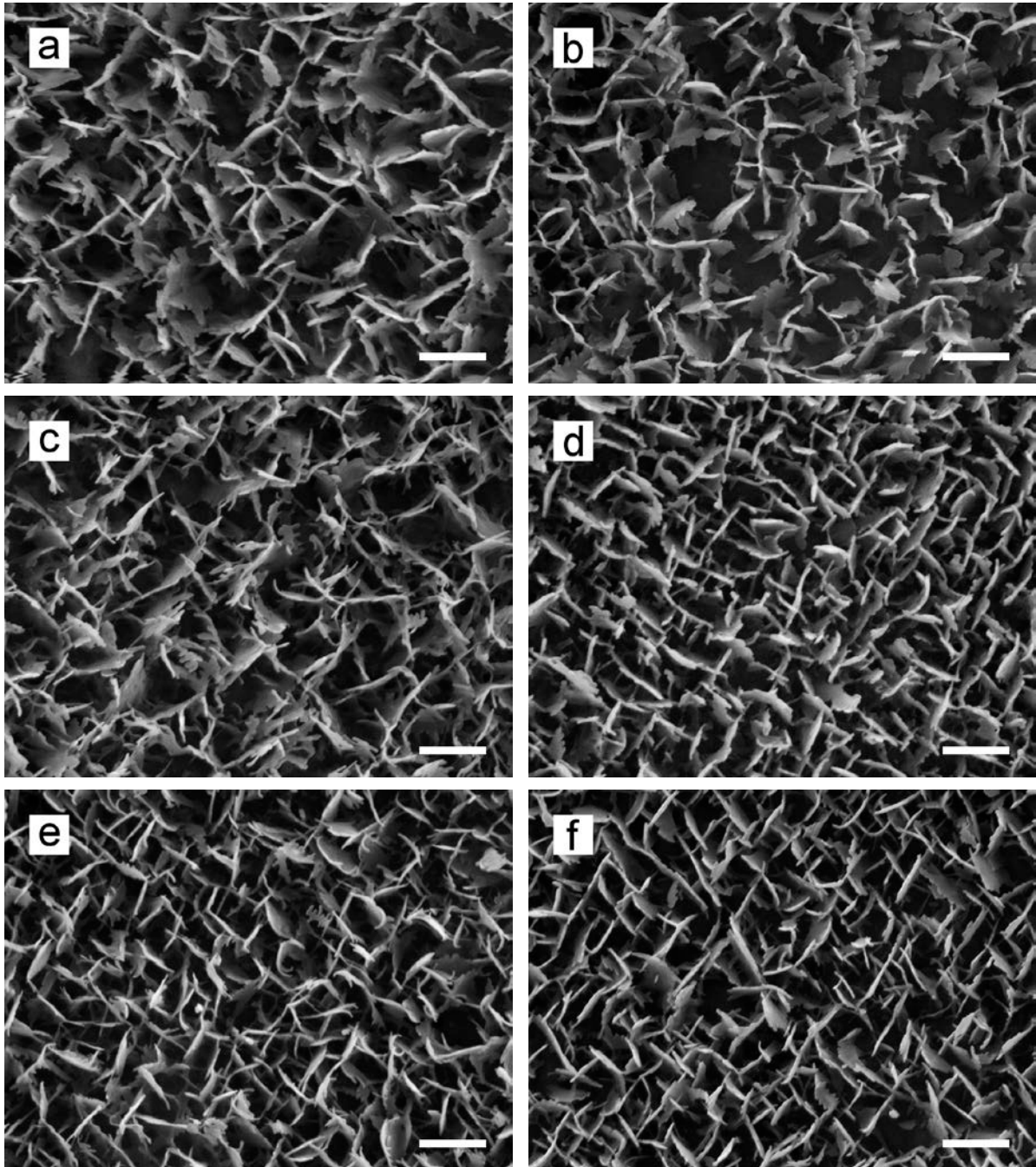
<b>Experiment</b>	<b>Parameter</b>	<b>Kultur</b>
Untersuchung der Wachsmorphologie	Blattalter	GH
	Blattseite	GH
	Sorte	GH, FK 1, FK 2
Ermittlung der Extraktionszeit	Extraktionsdauer	GH
Wachsextraktion für Rekrystallisation	-	FK 1
Untersuchung der Wachschemie	Blattalter	GH
	Sorte	GH, FK 1, FK 2
	Kultur	GH vs. FK 1, FK 1 vs FK 2
	Methode	FK 2
Untersuchung der Benetzungseigenschaften	Blattalter	FK 1
	Blattseite	FK 1
	Richtung	FK 1
	Sorte	FK 1
	Kultur	FK 1 vs. FK 2
Untersuchung der Krankheitsschwere	Blattalter	FK 2
	Sorte	FK 2

GH: Gewächshauskultur; FK: Freilandkultur

## **2.2 Ergebnisse**

### **2.2.1 Untersuchung der Wachsmorphologie**

Auf den Weizenblättern der drei verschiedenen Sorten der Gewächshauskultur waren sowohl auf der abaxialen als auch auf der adaxialen Blattseite Wachsschüppchen. Auch auf den unterschiedlich alten Blättern waren die gleichen Wachsstrukturen vorhanden. Die Schüppchen hatten irreguläre Ränder und standen sehr dicht. Abbildung 2.4 zeigt die Wachsstrukturen auf Blatt 3 der verschiedenen Sorten, exemplarisch für Blatt 2 und 4. Auch bei den Pflanzen, die im Freiland angezogen wurden, waren Wachsschüppchen auf der abaxialen und auf der adaxialen Blattseite. Hier waren ebenfalls bei allen drei Sorten die gleichen Strukturen vorhanden.

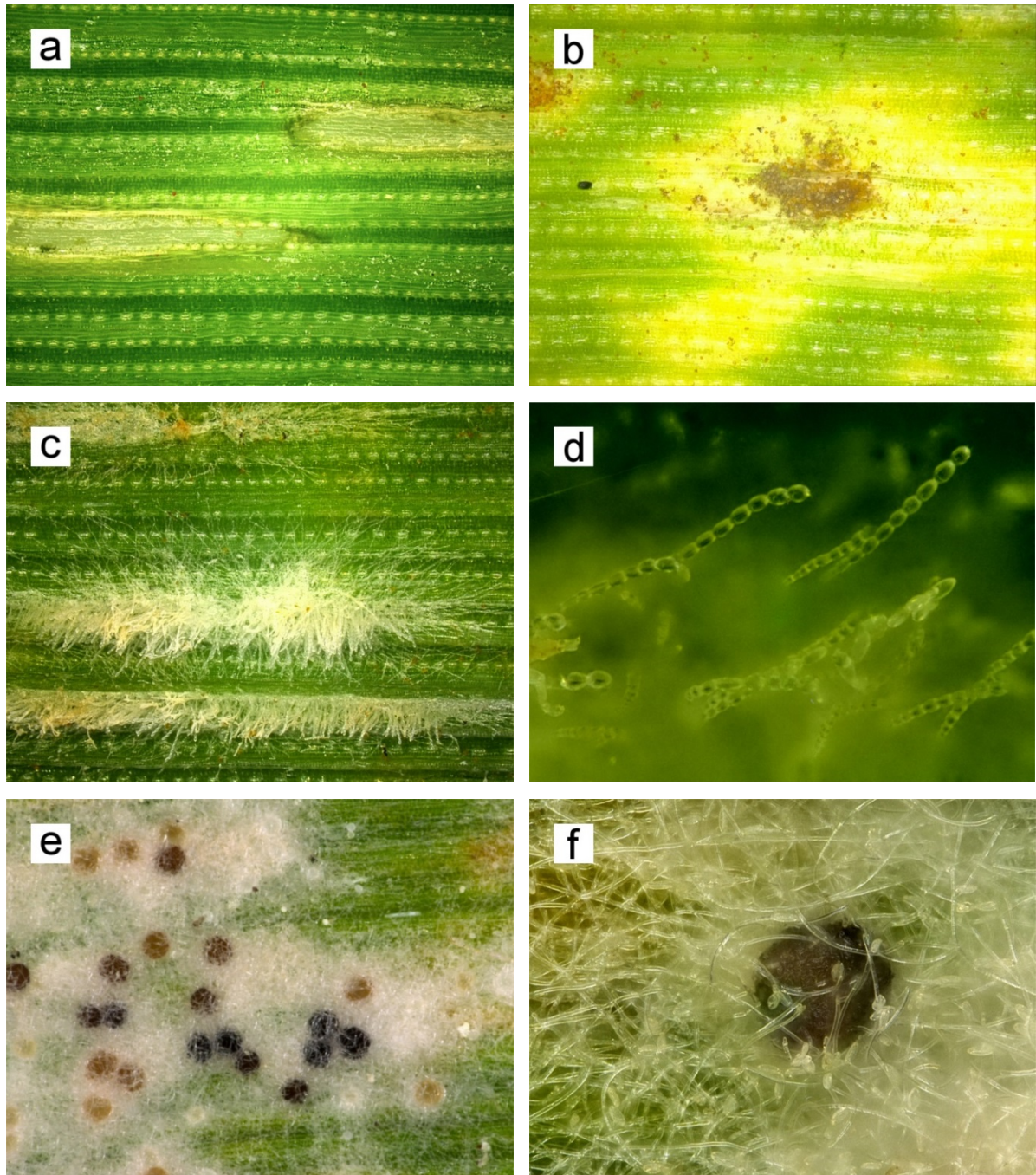


**Abbildung 2.4: REM Mikrographien der Wachsschüppchen der adaxialen und abaxialen Blattseiten (Blatt 3) der verschiedenen Weizensorten der Gewächshauskultur; a), c) und e): adaxiale Blattseite; b), d), und f) abaxiale Blattseite; a) und b): Ponticus; c) und d): Porthus; e) und f) Akteur; Größenbalken: 1  $\mu$ m**

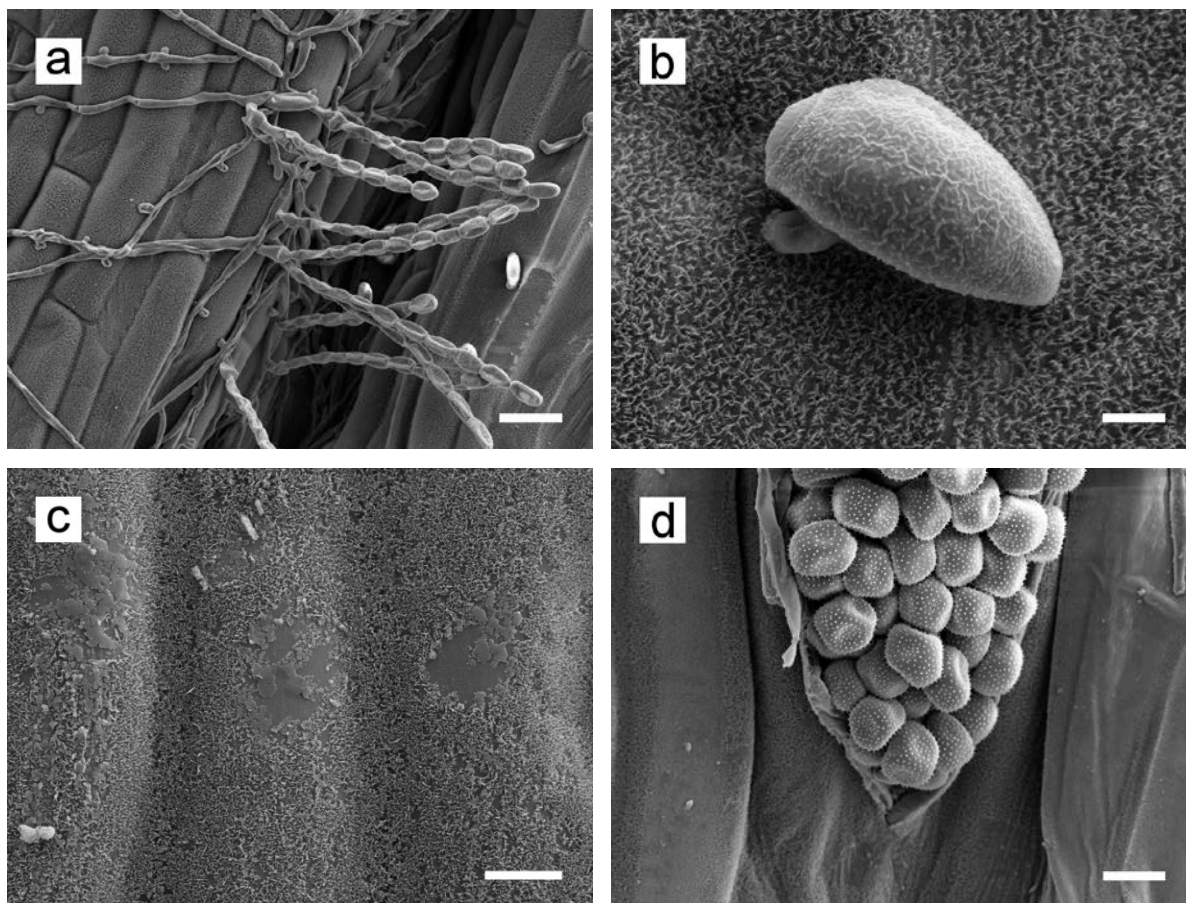
### 2.2.2 Untersuchung der Blattoberfläche der Pflanzen der Freilandkulturen

Die Pflanzen der ersten Freilandkultur waren von verschiedenen Schädlingen befallen. Die Blätter wiesen Schäden durch das Getreidehähnchen (*Oulema sp.*) auf (Abbildung 2.5a). Die Larve des Käfers frisst Zellschichten zwischen der Blattnervatur ab, sodass mit bloßem Auge streifenförmige Löcher erkennbar sind. Außerdem zeigten die Pflanzen gelbe Flecken des Gelbrosts (*Puccinia striiformis*) und weiße Pusteln des Mehltaus (Abbildung 2.5b, c). Es wurden auch Chasmothecien (vormals Kleistothecien) von *B. graminis* auf den Weizenblättern identifiziert. Die braunen Fruchtkörper waren eingebettet in einem weißen Hyphengeflecht (Abbildung 2.5e, f). Auf den mikroskopischen Aufnahmen waren die Konidienketten des Mehltaus und die rostbraunen Sporen des Gelbrosts eindeutig zu erkennen (Abbildung 2.5b, d). Die REM-Aufnahmen zeigten zudem die Mikrostruktur der Verteilungsformen und deutliche Schäden in der Wachsschicht (Abbildung 2.6).





**Abbildung 2.5: Mikroskopische Aufnahmen infizierter Weizenblätter;** a) Fraßspuren der Larve des Getreidehähnchens, Vergrößerung: 100 x; b) Rostpilzbefall, Vergrößerung: 100 x; c) Mehltaupustel aus Konidienketten, Vergrößerung: 100 x; d) kettenförmige Konidienträger und Konidien des Mehltaus, Vergrößerung: 600 x; e) dunkelbraune Mehltau Chasmothecien eingebettet im weißen Hyphengeflecht, Vergrößerung 100 x; f) Nahaufnahme eines Chasmotheciums im Hyphengeflecht, Vergrößerung: 500 x



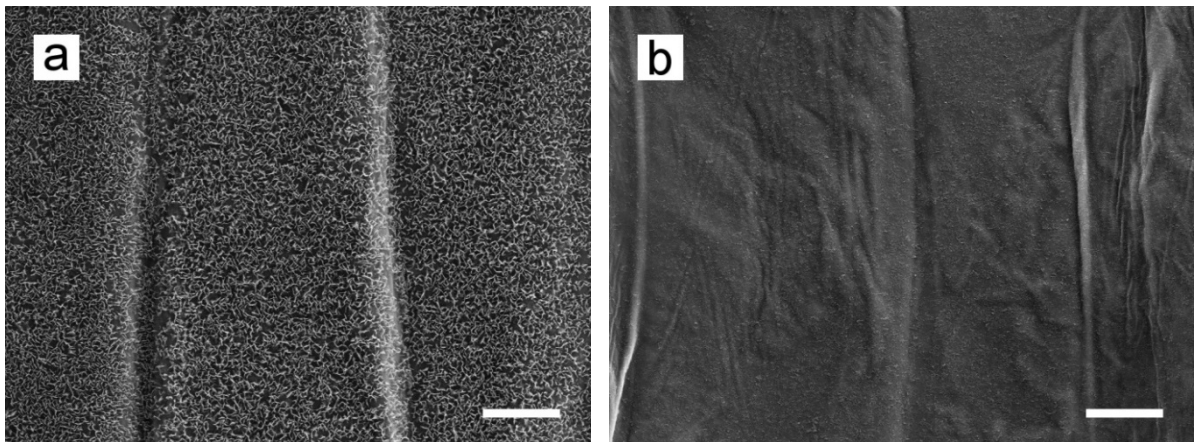
**Abbildung 2.6: REM Mikrographien der Blattoberflächen im Freiland kultivierter Weizenpflanzen;** a) Mehltau Mycelium und Konidienträger auf Epidermiszellen, Größenbalken: 40 µm; b) Mehltaukonidie mit primärem Keimschlauch, Größenbalken: 4 µm; c) Schäden in der Wachsschicht auf der Blattoberfläche, Größenbalken: 10 µm; d) Rostpilzsporenlager, Größenbalken: 20 µm

### 2.2.3 Wachsextraktion für die Rekrystallisation

Das epikutikulare Wachs der Weizensorten Ponticus, Akteur und Porthus wurde mittels Chloroform für die folgenden Rekrystallisationen in großem Umfang extrahiert. Es konnten 5.495,9 mg Ponticus Wachs, 578,7 mg Akteur Wachs und 645,9 mg Porthus Wachs gewonnen werden.

### 2.2.4 Ermittlung der Extraktionszeiten

Die Weizenblätter wurden für 15 s und 20 s in Chloroform eingetaucht und anschließend mittels REM untersucht, um eine geeignete Extraktionszeit für die Wachsanalytik zu bestimmen. Die REM Mikrographien der extrahierten Oberflächen zeigten keinen Unterschied zwischen den zwei Extraktionszeiten, aber einen deutlichen Unterschied zur nativen Blattoberfläche. Durch die Extraktion mit Chloroform wurden bei 15 s und bei 20 s die dreidimensionalen Strukturen entfernt, es waren keine Wachsschüppchen mehr vorhanden. Als Extraktionszeit wurden 20 s gewählt. Abbildung 2.7 zeigt eine Blattoberfläche vor und nach der Extraktion mit Chloroform für 20 s.



**Abbildung 2.7: REM Mikrographien der Blattoberflächen;** a) intakte native Blattoberfläche mit Wachsschüppchen (Ponticus, Blattoberseite, Blatt 2); b) Blattoberfläche nach der Wachsextraktion mit Chloroform (Extraktionsdauer: 20 s, Ponticus, Blattoberseite, Blatt 2); Größenbalken: 10  $\mu\text{m}$

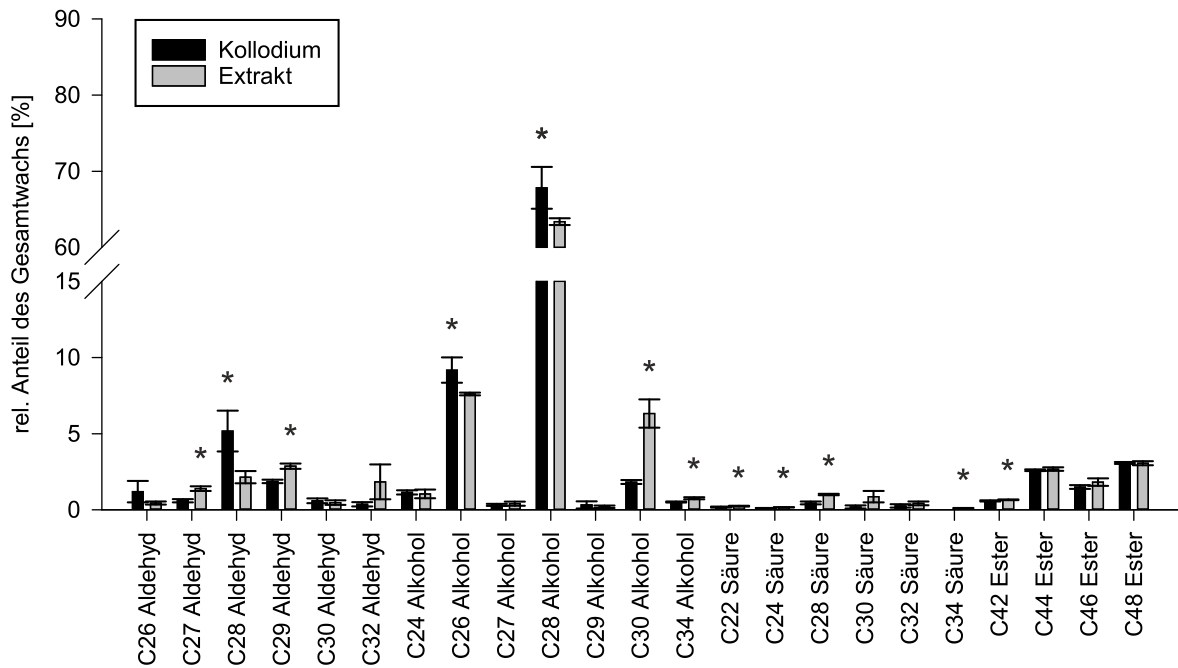
## 2.2.5 Untersuchung der Wachschemie

Das Wachs der verschiedenen Blätter, Sorten, und Kulturen wurde analysiert, um die Wachsmomere zu identifizieren. Außerdem wurde geprüft, ob es aufgrund dieser Merkmale Unterschiede in der Wachszusammensetzung gab. Es wurden Aldehyde ( $C_{26}$  -  $C_{30}$ ,  $C_{32}$ ), Alkohole ( $C_{24}$  -  $C_{30}$ ,  $C_{34}$ ), Säuren ( $C_{22}$ ,  $C_{24}$ ,  $C_{28}$ ,  $C_{30}$ ,  $C_{32}$ ,  $C_{34}$ ) und Ester ( $C_{42}$ ,  $C_{44}$ ,  $C_{46}$ ,  $C_{48}$ ) als Wachsbestandteile identifiziert. Die totalen Wachsmengen lagen zwischen  $19,96 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  und  $8,97 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ . Das Weizenwachs bestand vorwiegend aus Alkoholen (75,4 - 84,4 %). Die Hauptkomponenten des Weizenwachses bildete der  $C_{28}$  Alkohol 1-Octacosanol (56,7 - 77,4 %). Ester (6,5 - 8,2 %) und Aldehyde (6,2 - 13,4 %) stellten einen geringen Teil des Weizenwachses dar. Der  $C_{28}$  Aldehyd 1-Octacosanal machte 2,2 - 4,2 % des Gesamtwachses aus. Die absoluten Mengen des  $C_{28}$  Aldehyds lagen deutlich unter  $1 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  ( $0,22$  -  $0,79 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ). Die Anteile des  $C_{26}$  Aldehyds 1-Hexacosanal waren mit 0,1 - 0,9 % sehr gering. Die Mengen lagen maximal bei  $0,17 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ . Säuren wurden auch nur in Spuren unter  $0,5 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  nachgewiesen. Sie bildeten mit 1,1 - 3,5 % die geringste funktionelle Gruppe des Weizenwachses (Seite 48 ff.).

### Vergleich chemisch extrahierter und mechanisch abgehobener Wachse

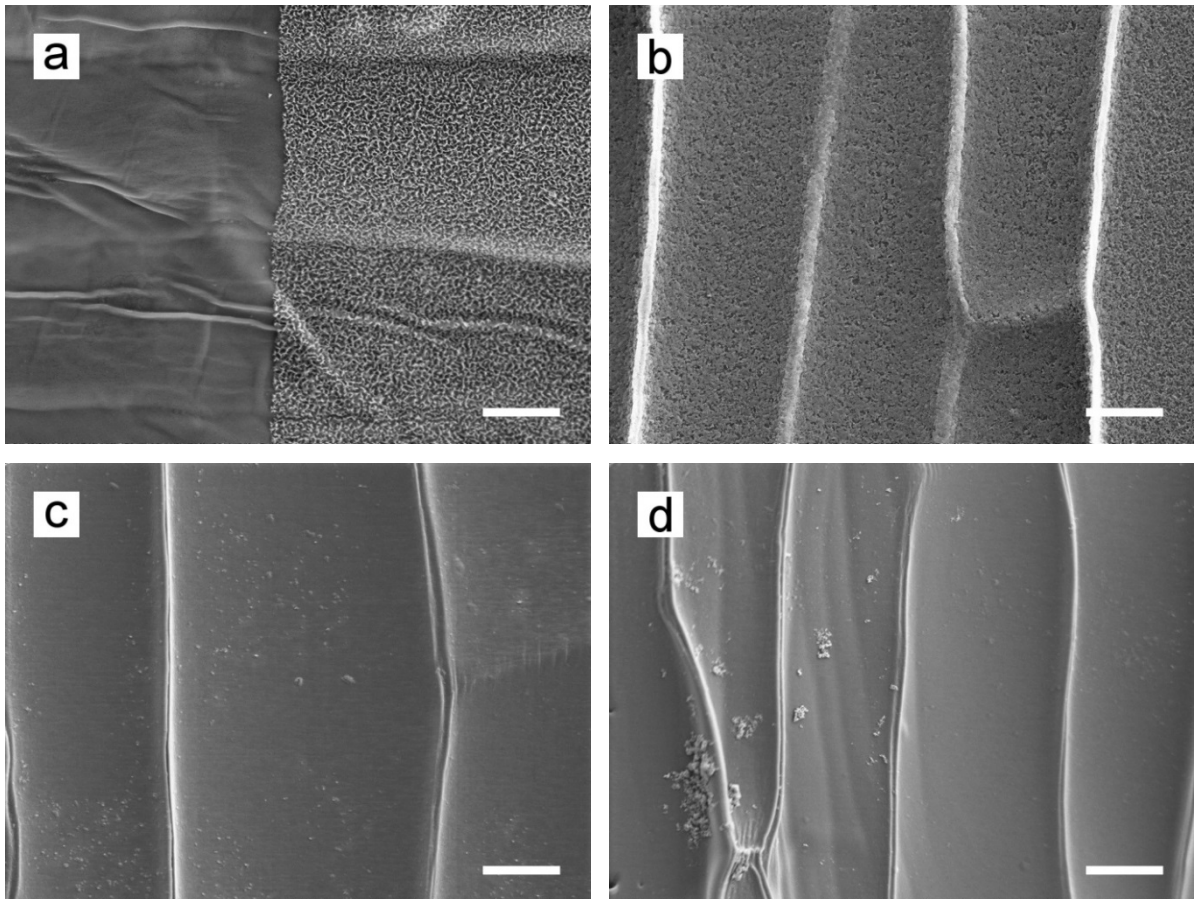
Zur Überprüfung der Extraktionsmethode wurde die Zusammensetzung des Wachses, das mit Chloroform extrahiert wurde, mit der Zusammensetzung des Wachses, das mechanisch mithilfe von Kollodium abgehoben wurde, verglichen. Im Kollodiumstripp wurden bis auf die  $C_{34}$  Säure die gleichen Substanzen wie im Extrakt nachgewiesen (Abbildung 2.8). Die Anteile der Wachskomponenten waren bei beiden Methoden ähnlich. Im Extrakt war der Anteil des  $C_{28}$  Aldehyds mit  $2,2 \pm 0,4$  %, des  $C_{26}$  Alkohols mit  $7,6 \pm 0,1$  % und der des  $C_{28}$  Alkohols mit  $63,4 \pm 0,5$  % etwas geringer als im Kollodiumabzug mit  $5,2 \pm 1,3$  % ( $C_{28}$  Aldehyd), mit  $9,2 \pm 0,8$  % ( $C_{26}$  Alkohol) und mit  $67,8 \pm 2,8$  % ( $C_{28}$  Alkohol). Die Anteile der Substanzklassen der Alkohole, der Aldehyde und der Ester waren bei beiden Methoden gleich. Nur der Anteil der Säuren war im Extrakt mit  $2,8 \pm 0,3$  % etwas höher als bei den mechanisch abgehobenen Wachsen mit  $1,2 \pm 0,2$  %.





**Abbildung 2.8: Vergleich der Wachszusammensetzung chemisch extrahierter und mechanisch abgehobener Wachse;** Extrakt: Wachse die durch Schwenken der Blätter in Chloroform (20 s) extrahiert wurden; Kollodium: Wachse die mittels Kollodium von der Blattoberfläche abgehoben wurden und anschließend in Chloroform gelöst wurden; Sternchen kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Mengen bzw. Anteilen der jeweiligen Wachskomponente ( $p < 0,05$ , getestet durch einen t-Test).

Die REM Mikrographen der Blattoberfläche zeigen, dass durch das Kollodium die epikutikularen Wachse mit dem ersten Stripp bereits entfernt wurden (Abbildung 2.9a). Die REM Aufnahmen der Unterseite des ersten Kollodiumstripps zeigten deutlich die abgehobenen Wachsstrukturen (Abbildung 2.9b). Mit dem zweiten und dritten Stripp wurden noch einige wenige Wachsreste entfernt (Abbildung 2.9c und d).

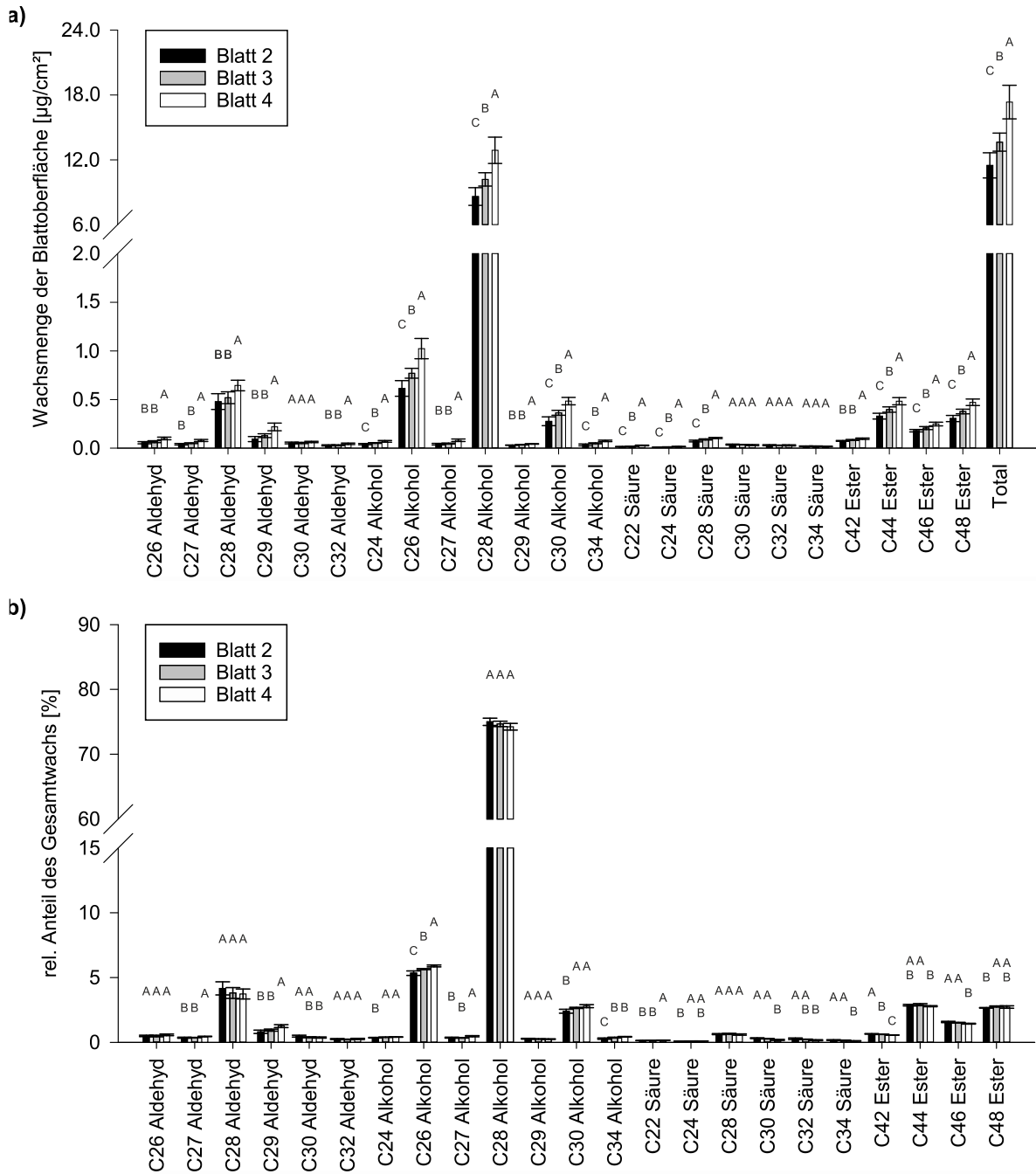


**Abbildung 2.9: REM Mikrographien einer Blattoberfläche nach Wachsabhebung und der Unterseite der Kollodiumabzüge;** a) Weizenblattoberfläche nach mechanischer Wachsabhebung mittels Kollodium; links: wachsfreie Fläche, rechts: Blattoberfläche mit nativen Waxeskristallen; b) erster Kollodiumabzug mit abgehobenen Waxeskristallen, c) zweiter Kollodiumabzug und d) dritter Kollodiumabzug mit wenigen Waxesresten, Größenbalken: 10  $\mu\text{m}$

## Vergleich der verschiedenen Blätter

Die Wachschemie der unterschiedlich alten Blätter der Gewächshauspflanzen wurde getrennt analysiert, um zu klären, ob sich die Wachszusammensetzung mit dem Alter der Blätter verändert. Alle drei Sorten zeigten bei der Zusammensetzung der Wachsmomere ein ähnliches Muster. Die Ergebnisse der Wachsanalyse der Sorten Porthus und Akteur sind im Anhang beigefügt (Abbildung 10.1 und Abbildung 10.2). Abbildung 2.10 zeigt exemplarisch die Ergebnisse der Wachsanalyse der Sorte Ponticus. Die totale Wachsmenge stieg mit zunehmenden Blattalter an: Auf Blatt 2 betrug die Wachsmenge  $11,49 \pm 1,17 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  auf Blatt 3  $13,64 \pm 0,8 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  und auf Blatt 4  $17,35 \pm 1,55 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ . Die Hauptkomponente bildete bei allen Blättern der  $\text{C}_{28}$  Alkohol. Auf Blatt 4 war der  $\text{C}_{28}$  Alkoholgehalt mit  $12,88 \pm 1,22 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  am höchsten, gefolgt von Blatt 3 mit  $10,19 \pm 0,62 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ . Auf Blatt 2 war dieser mit  $8,61 \pm 0,82 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  am niedrigsten. Auch der Gehalt von 1-Octacosanal ( $\text{C}_{28}$  Aldehyd) war auf Blatt 4 mit  $0,64 \pm 0,05$  höher als auf Blatt 3 mit  $0,52 \pm 0,06 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  und auf Blatt 2 mit  $0,48 \pm 0,08 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ . Bei der Sorte Porthus wurde auch auf Blatt 4 mehr  $\text{C}_{28}$  Alkohol extrahiert als auf Blatt 2 und 3. Bei der Sorte Akteur war der  $\text{C}_{28}$  Alkoholgehalt bei allen Blättern gleich. Bei den übrigen Substanzen war die Menge auf Blatt 2 auch meist geringer als auf Blatt 4. Der Unterschied zwischen Blatt 2 und 4 wurde auch bei den anderen Sorten beobachtet. Die Mengen auf Blatt 3 lagen oft zwischen denen von Blatt 2 und 4. Bei der Sorte Ponticus unterschieden sich die Wachsmengen auf Blatt 3 oftmals nicht von denen auf Blatt 2, bei der Sorte Akteur meist nicht von denen auf Blatt 4 und bei der Sorte Porthus von keinem der beiden anderen Blätter.

Bei der relativen Wachszusammensetzung wurden weniger Unterschiede festgestellt (Abbildung 2.10b). Der Anteil der Hauptkomponente war auf allen drei Blättern gleich: Auf Blatt 2 entsprach der  $\text{C}_{28}$  Alkohol  $75 \pm 0,6 \%$  des Gesamtwachses, auf Blatt 3  $74,7 \pm 0,4 \%$  und auf Blatt 4  $74,2 \pm 0,5 \%$ . Auch der Anteil des  $\text{C}_{28}$  Aldehyds war mit  $4,2 \pm 0,5 \%$  auf Blatt 2 mit  $3,8 \pm 0,4 \%$  auf Blatt 3 und mit  $3,7 \pm 0,4$  auf Blatt 4 gleich groß. Auch bei den Sorten Akteur und Porthus wurden in der relativen Betrachtung weniger Unterschiede festgestellt. Bei keiner Sorte unterschieden sich die Anteile des  $\text{C}_{28}$  Alkohols oder des  $\text{C}_{28}$  Aldehyds der unterschiedlich alten Blätter. Für die folgenden Versuche wurden deswegen Blatt 2, 3 und 4 pro Sorte gemeinsam betrachtet.



**Abbildung 2.10: Wachszusammensetzungen der verschiedenen Blätter der Weizensorte Ponticus der Gewächshauskultur;** a) absolute und b) relative Zusammensetzung; Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Mengen bzw. Anteilen der jeweiligen Wachskomponente ( $p > 0,05$ , getestet durch eine ANOVA mit anschließendem *Post Hoc* Tukey Test)



## Vergleich der verschiedenen Sorten

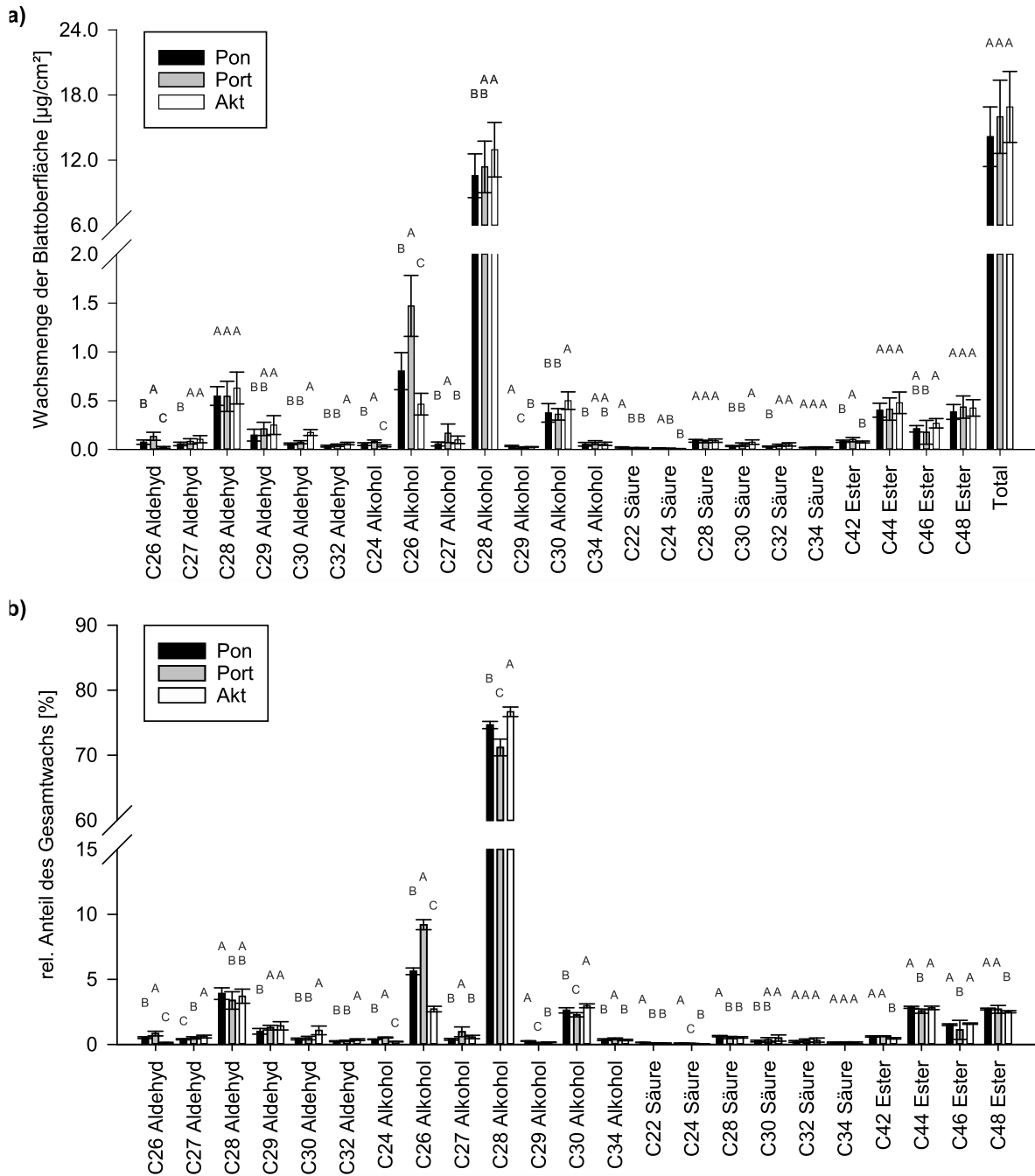
Die Zusammensetzung der epikutikularen Wachse der drei verschiedenen Weizensorten Ponticus (geringe Anfälligkeit), Porthus (mittlere Anfälligkeit) und Akteur (hohe Anfälligkeit) wurden miteinander verglichen, um zu überprüfen, ob es Unterschiede zwischen den Sorten gab.

### *Gewächshauskultur*

Bei den Pflanzen der Gewächshauskultur wurden bei allen drei Sorten die gleichen Wachskomponenten nachgewiesen (Abbildung 2.11). Die Gesamtwachsmenge war bei allen drei Sorten gleich (Ponticus:  $14,16 \pm 2,75 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ , Porthus  $15,99 \pm 3,38 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  und Akteur:  $16,90 \pm 3,27 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ). In dem Wachs der Sorte Ponticus war mit  $10,56 \pm 2,01 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  etwas weniger  $\text{C}_{28}$  Alkohol enthalten, als in dem Wachs der Sorte Akteur mit  $12,96 \pm 2,51 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ . Der  $\text{C}_{28}$  Alkoholgehalt der Sorte Porthus unterschied sich mit  $11,37 \pm 2,38 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  von keinem der beiden anderen Sorten. 1-Hexacosanal ( $\text{C}_{26}$  Aldehyd,  $0,02 \pm 0,01 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  -  $0,14 \pm 0,04 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ), 1-Tetracosanol ( $\text{C}_{24}$  Alkohol,  $0,04 \pm 0,01$  -  $0,08 \pm 0,01 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ), 1-Hexacosanol ( $\text{C}_{26}$  Alkohol,  $0,46 \pm 0,11$  -  $1,47 \pm 0,31 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) und 1-Nonacosanol ( $\text{C}_{29}$  Alkohol,  $0,02 \pm 0,01$  -  $0,04 \pm 0,01 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) wurden in allen drei Sorten in verschiedenen Mengen detektiert. Im Vergleich zu Porthus und Akteur war bei Ponticus der Gehalt des  $\text{C}_{27}$  Aldehyds ( $0,06 \pm 0,02 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) geringer als bei den beiden anderen Sorten. Daneben wurden im Wachs der Sorte Ponticus drei Säuren ( $\text{C}_{22}$ ,  $\text{C}_{24}$  und  $\text{C}_{30}$ ) in anderen Mengen gefunden als im Wachs der beiden anderen Sorten. Alle drei Säuren wurden in geringen Mengen unter  $0,05 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  nachgewiesen. Das Wachs der Sorte Akteur enthielt mehr von dem  $\text{C}_{30}$  Aldehyd ( $0,17 \pm 0,03 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ), dem  $\text{C}_{32}$  Aldehyd ( $0,06 \pm 0,01 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ), dem  $\text{C}_{30}$  Alkohol ( $0,50 \pm 0,09 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) und der  $\text{C}_{30}$  Säure ( $0,08 \pm 0,02 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) als das Wachs der Sorten Porthus und Ponticus. Der Gehalt des  $\text{C}_{28}$  Aldehyds war in allen drei Sorten gleich (Ponticus:  $0,55 \pm 0,10 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ , Porthus:  $0,54 \pm 0,15 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ , Akteur:  $0,63 \pm 0,16 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ).

In der relativen Betrachtung wurden mehr Unterschiede festgestellt als bei den absoluten Mengen der Wachskomponenten (Abbildung 2.11b). Der Anteil der Hauptkomponente ( $\text{C}_{28}$  Alkohol) war bei Akteur mit  $76,68 \pm 0,74 \%$  am höchsten. Bei Ponticus war er mit  $74,64 \pm 0,56 \%$  am zweithöchsten. Bei Porthus war er mit  $71,18 \pm 1,28 \%$  am niedrigsten.

Auch bei vier weiteren Alkoholen ( $C_{24}$ ,  $C_{26}$ ,  $C_{29}$  und  $C_{30}$ ) waren die Anteile bei den drei Sorten jeweils verschieden. Wie bei dem  $C_{28}$  Alkohol war der Anteil des  $C_{30}$  Alkohols bei Akteur mit  $2,97 \pm 0,15$  % am höchsten und bei Porthus mit  $2,28 \pm 0,16$  % am niedrigsten. Bei dem  $C_{24}$  und dem  $C_{26}$  Alkohol verhielt es sich genau umgekehrt. Bei diesen Alkoholen waren die Anteile bei Akteur mit  $0,22 \pm 0,02$  % und  $2,72 \pm 0,21$  % am niedrigsten und bei Porthus mit  $0,53 \pm 0,04$  % und  $9,20 \pm 0,38$  % am höchsten. Der Aldehydanteil im Wachs der Sorte Akteur war mit  $7,31 \pm 0,79$  % etwas höher als im Wachs der Sorte Ponticus mit  $6,49 \pm 0,55$  %. Bei dem  $C_{30}$  und dem  $C_{32}$  Aldehyd wurde bei Akteur mit  $1,08 \pm 0,33$  % und  $0,37 \pm 0,07$  % ein größerer Anteil festgestellt als bei den beiden anderen Sorten. Der Anteil des  $C_{28}$  Aldehyds in dem Wachs der Sorte Akteur unterschied sich mit  $3,71 \pm 0,54$  % weder von dem der Sorte Ponticus noch von dem der Sorte Porthus. Bei allen drei Sorten bildete der  $C_{28}$  Aldehyd den größten Anteil der Aldehyde. Bei zwei Aldehyden ( $C_{26}$ ,  $C_{27}$ ) und einer Säure ( $C_{24}$ ), unterschieden sich die Anteile bei allen drei Sorten. Akteur hatte z.B. den geringsten Anteil des  $C_{26}$  Aldehyds ( $0,12 \pm 0,04$  %), Ponticus den zweitgrößten ( $0,52 \pm 0,07$  %) und Porthus den größten Anteil ( $0,84 \pm 0,18$  %). Bei einem Aldehyd ( $C_{29}$  Aldehyd) hatte Ponticus mit  $1,00 \pm 0,22$  % einen geringeren Anteil als Akteur und Porthus. Daneben war bei Ponticus der Anteil zweier Säuren ( $C_{22}$  und  $C_{28}$ ) größer als bei den beiden anderen Sorten. Beide Säuren machten jeweils weniger als 0,1 % des Gesamtwachses aus. Bei vier Substanzen ( $C_{27}$  und  $C_{34}$  Alkohol,  $C_{44}$  und  $C_{46}$  Ester) unterschieden sich die Anteile bei Porthus von denen der beiden anderen Sorten. Auch hier waren die Anteile der Substanzen sehr gering: Die Anteile des  $C_{27}$  und des  $C_{34}$  Alkohols waren beispielsweise bei Porthus mit  $0,97 \pm 0,38$  % und  $0,43 \pm 0,06$  % größer, als bei Ponticus und Akteur.



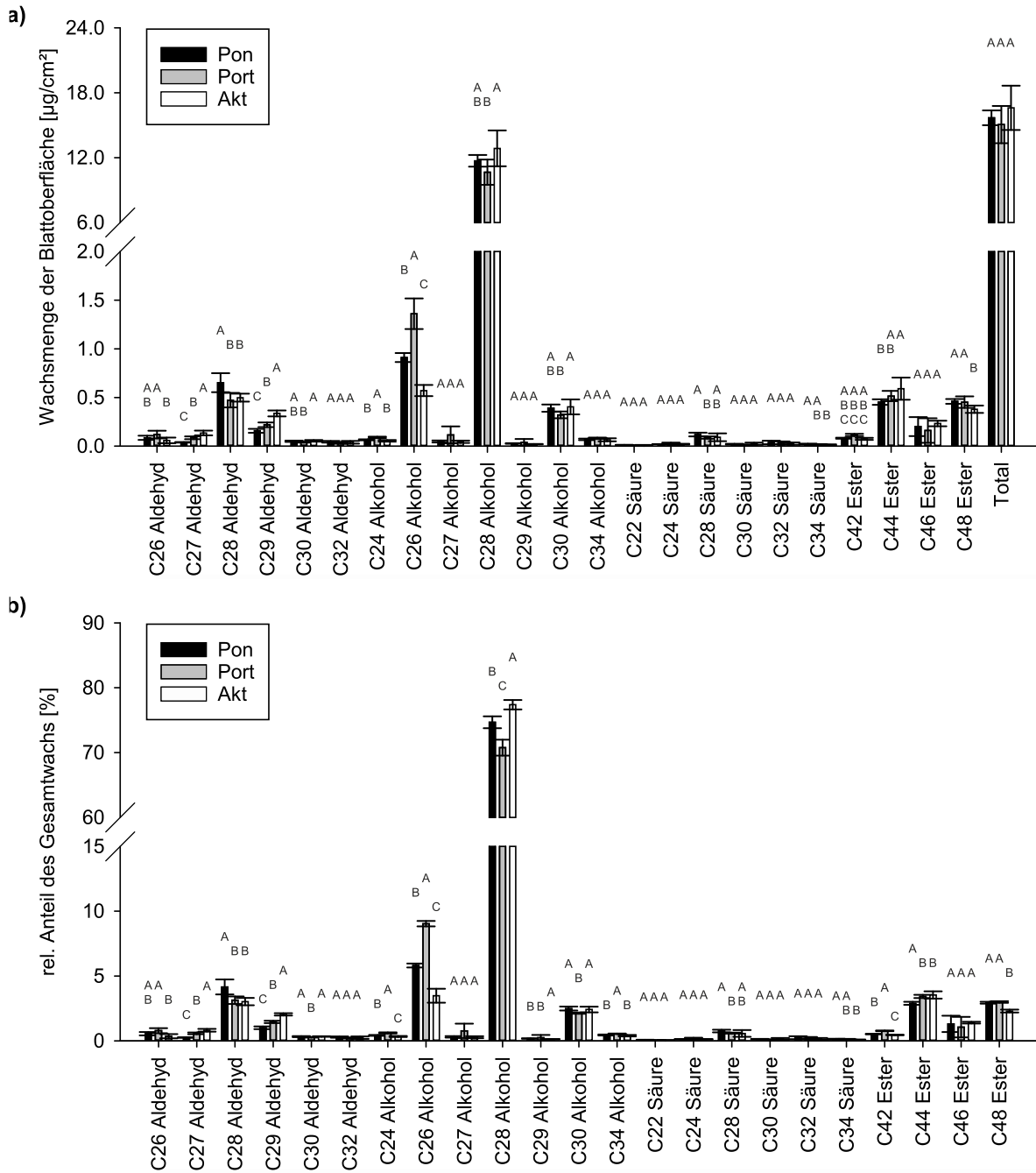
**Abbildung 2.11: Wachszusammensetzungen der verschiedenen Weizensorten der Gewächshauskultur;** a) absolute Zusammensetzung, b) relative Zusammensetzung (Pon: Ponticus, Port: Porthus, Akt: Akteur); Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Mengen bzw. Anteilen der jeweiligen Wachskomponente ( $p < 0,05$ , getestet durch eine ANOVA mit anschließendem *Post Hoc* Tukey Test).

***Erste Freilandkultur***

Auch die Wachskemie der Pflanzen der Freilandkulturen wurde hinsichtlich sortenspezifischer Unterschiede untersucht (Abbildung 2.12). Die totalen Wachsmengen der drei Sorten Ponticus ( $15,68 \pm 0,68 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ), Porthus ( $15,06 \pm 1,72 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) und Akteur ( $16,61 \pm 2,05 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) der ersten Freilandkultur unterschieden sich nicht. Bei der Menge der Hauptkomponente, dem  $\text{C}_{28}$  Alkohol, wurden Unterschiede festgestellt: Im Wachs der Sorte Porthus war der  $\text{C}_{28}$  Alkohol Gehalt mit  $10,65 \pm 1,17 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  niedriger als in dem Wachs der Sorte Akteur mit  $12,86 \pm 1,66 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ . Der  $\text{C}_{28}$  Alkoholgehalt der Sorte Ponticus unterschied sich mit  $11,71 \pm 0,54 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  von keinem der beiden anderen Sorten. Die Menge des  $\text{C}_{26}$  Alkohols war in allen drei Sorten verschieden. Die geringste Menge wurde bei Akteur mit  $0,57 \pm 0,06 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  festgestellt, die höchste bei Porthus mit  $1,36 \pm 0,16 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ . Bei Ponticus lag die Menge mit  $0,91 \pm 0,05 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  zwischen denen der beiden anderen Sorten. Dennoch war in allen drei Sorten der  $\text{C}_{26}$  Alkohol in allen drei Sorten der zweithäufigste Alkohol. Bei dem  $\text{C}_{28}$  Aldehyd unterschied sich Ponticus von den beiden anderen Sorten: In dem Wachs der Sorte Ponticus war der  $\text{C}_{28}$  Aldehydgehalt mit  $0,65 \pm 0,10 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  höher als in dem der Sorte Porthus mit  $0,47 \pm 0,07 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  und in dem der Sorte Akteur mit  $0,50 \pm 0,04 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ . Der  $\text{C}_{27}$  und der  $\text{C}_{29}$  Aldehyd Gehalt war in allen drei Sorten verschieden: In Akteur waren sie mit  $0,14 \pm 0,02 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  und  $0,34 \pm 0,03 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  am höchsten, gefolgt von Porthus mit  $0,09 \pm 0,01 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  und  $0,22 \pm 0,02 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ . Bei Ponticus wurden mit  $0,04 \pm 0,00 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  und  $0,16 \pm 0,02 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  die geringsten Mengen dieser Aldehyde gefunden. Bei den anderen Aldehyden war kein einheitliches Muster erkennbar.

In allen drei Sorten waren die relativen Anteile mehrerer Wachskomponenten verschieden (Abbildung 2.12b). Unter anderem unterschieden sich die Anteile von drei Alkoholen ( $\text{C}_{24}$ ,  $\text{C}_{26}$  und  $\text{C}_{28}$ ). Der  $\text{C}_{28}$  Alkohol war in allen drei Sorten die Hauptkomponente des Wachses. Bei Akteur war der  $\text{C}_{28}$  Alkohol Anteil mit  $77,38 \pm 0,72 \%$  am höchsten. Der zweithöchste Anteil wurde bei Ponticus mit  $74,66 \pm 0,93 \%$  festgestellt. Bei Porthus war der  $\text{C}_{28}$  Alkoholanteil mit  $70,76 \pm 1,24 \%$  am niedrigsten. Bei dem  $\text{C}_{24}$  Alkohol und dem  $\text{C}_{26}$  Alkohol verhielt es sich umgekehrt: Bei Akteur waren die Anteile mit  $0,33 \pm 0,04 \%$  ( $\text{C}_{24}$  Alkohol) und  $3,48 \pm 0,54 \%$  ( $\text{C}_{26}$  Alkohol) am niedrigsten. Bei Porthus waren sie mit  $0,60 \pm 0,04 \%$  und  $9,03 \pm 0,21 \%$  am höchsten. Bei Ponticus lagen die Anteile

mit  $0,42 \pm 0,03$  % ( $C_{24}$  Alkohol) und  $5,81 \pm 0,15$  % ( $C_{26}$  Alkohol) zwischen den Anteilen der beiden anderen Sorten. Die Anteile des  $C_{30}$  und des  $C_{34}$  Alkohols und des  $C_{30}$  Aldehyds waren bei Ponticus ( $0,32 \pm 0,04$  %,  $2,49 \pm 0,15$  % und  $0,44 \pm 0,4$  %) und Akteur ( $0,33 \pm 0,4$  %,  $2,41 \pm 0,22$  % und  $0,39 \pm 0,6$  %) gleich. Bei Porthus lag der Anteil des  $C_{34}$  Alkohols mit  $0,54 \pm 0,03$  % über dem der beiden anderen Sorten. Die Anteile des  $C_{30}$  Alkohols ( $2,13 \pm 0,05$  %) und  $C_{30}$  Aldehyds ( $0,27 \pm 0,02$  %) lagen unter denen der beiden anderen Sorten. Wie bei den absoluten Werten unterschieden sich die Anteile des  $C_{27}$  und  $C_{29}$  Aldehyds bei allen drei Sorten voneinander: Bei Akteur waren die Anteile des  $C_{27}$  und des  $C_{29}$  Aldehyds mit  $0,81 \pm 0,11$  % und mit  $2,04 \pm 0,09$  % am höchsten, in Porthus waren sie mit  $0,57 \pm 0,07$  % und mit  $1,46 \pm 0,09$  % am zweithöchsten. Bei Ponticus waren die Anteile mit  $0,25 \pm 0,02$  % ( $C_{27}$  Aldehyd) und mit  $1,01 \pm 0,11$  % ( $C_{29}$  Aldehyd) am niedrigsten. Die Anteile des  $C_{28}$  Aldehyds waren bei Porthus und Akteur mit  $3,13 \pm 0,29$  % und  $3,02 \pm 0,29$  % gleich. Ponticus hatte mit  $4,15 \pm 0,59$  % einen höheren Anteil des  $C_{28}$  Aldehyds.



**Abbildung 2.12: Wachszusammensetzungen der verschiedenen Weizensorten der ersten Freilandkultur;** a) absolute Zusammensetzung und b) relative Zusammensetzung (Pon: Ponticus, Port: Porthus, Akt: Akteur); Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Mengen bzw. Anteilen der jeweiligen Wachskomponente ( $p < 0,05$ , getestet durch eine ANOVA mit anschließendem *Post Hoc* Tukey Test).

### ***Zweite Freilandkultur***

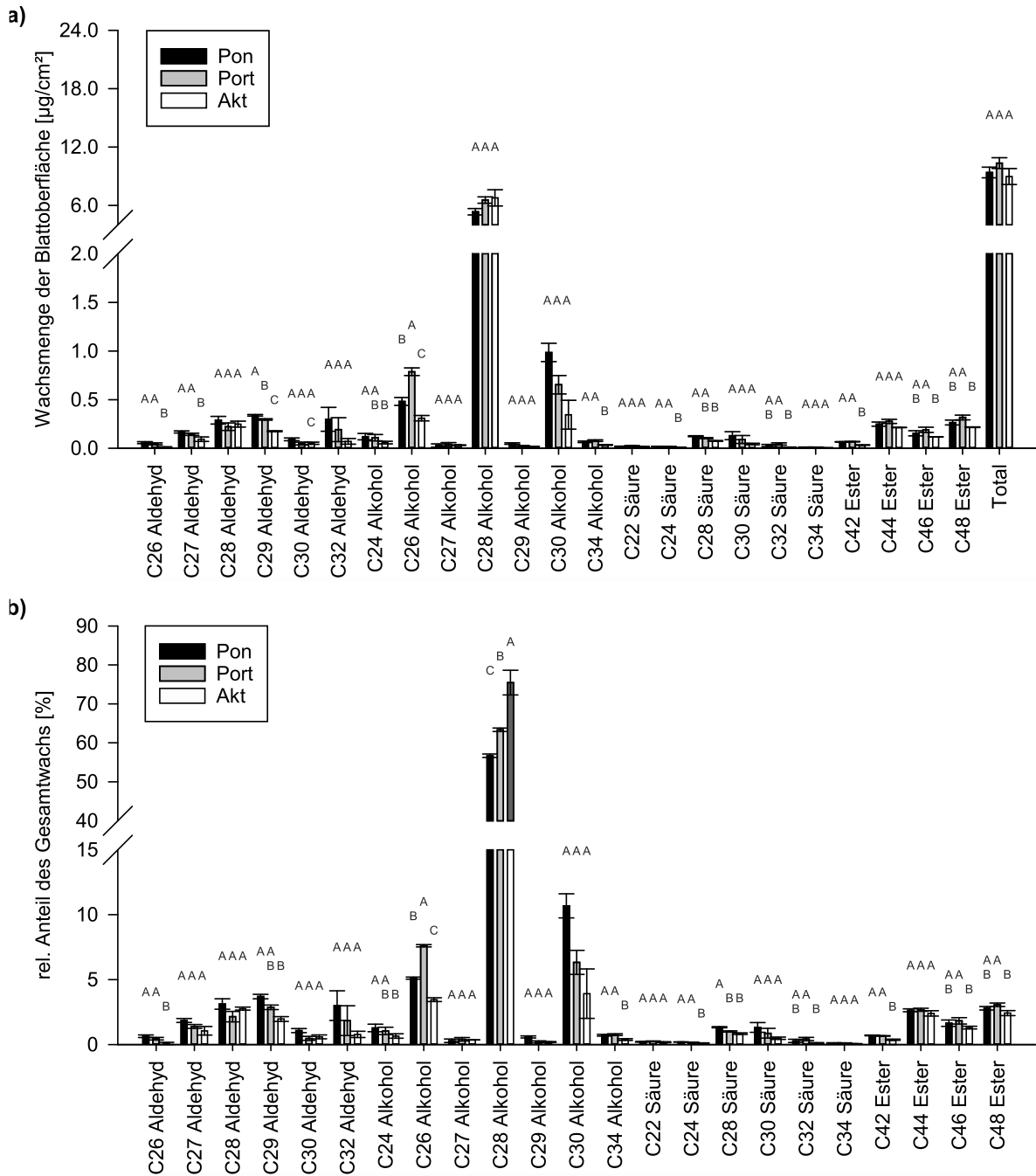
Bei den Pflanzen der zweiten Freilandkultur gab es bei der Hälfte der Substanzen keinen Unterschied zwischen den verschiedenen Sorten (Abbildung 2.13). Die Gesamtwachsmenge der drei Sorten war gleich. Ponticus hatte eine Wachsbelegung von  $9,38 \pm 2,91 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ , Porthus von  $10,35 \pm 0,55 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  und Akteur von  $8,97 \pm 0,81 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ . Bei der Hauptkomponente, dem  $\text{C}_{28}$  Alkohol, konnte auch kein Unterschied festgestellt werden. In dem Wachs der Sorte Ponticus waren  $5,35 \pm 2,23 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ , in dem der Sorte Porthus  $6,56 \pm 0,32 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  und in dem der Sorte Akteur  $6,78 \pm 0,84 \mu\text{g}/\text{cm}^2$   $\text{C}_{28}$  Alkohol enthalten. In allen drei Sorten wurden die gleichen Mengen des  $\text{C}_{28}$  Aldehyds gefunden (Ponticus:  $0,29 \pm 0,04 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ , Porthus:  $0,22 \pm 0,4 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ , Akteur:  $0,25 \pm 0,03 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ). Der Gehalt des  $\text{C}_{34}$  Alkohols war in dem Wachs der Sorte Akteur mit  $0,03 \pm 0,0 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  geringer als in dem Wachs der Sorten Ponticus mit  $0,07 \pm 0,01 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  und Porthus mit  $0,08 \pm 0,01 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ . Der Gehalt des  $\text{C}_{24}$  Alkohols war bei Ponticus mit  $0,12 \pm 0,03 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  doppelt so hoch wie bei Akteur mit  $0,06 \pm 0,01 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ . Der Gehalt des  $\text{C}_{26}$  Alkohols war bei Akteur mit  $0,31 \pm 0,03 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  auch geringer als bei Ponticus mit  $0,48 \pm 0,04 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ . Der höchste  $\text{C}_{26}$  Alkoholgehalt wurde mit  $0,79 \pm 0,04 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  bei Porthus festgestellt. Der Gehalt des  $\text{C}_{29}$  Aldehyds unterschied sich auch bei allen drei Sorten: Bei Akteur wurde der geringste ( $0,18 \pm 0,01 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ), bei Porthus die zweitgrößte ( $0,30 \pm 0,01 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) und bei Ponticus die höchste Menge ( $0,34 \pm 0,01 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) dieses Aldehyds nachgewiesen. Der  $\text{C}_{26}$  und der  $\text{C}_{27}$  Aldehyd wurden bei Akteur in geringeren Mengen ( $0,01 \pm 0,01 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ,  $0,09 \pm 0,02 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) gefunden als bei Ponticus ( $0,06 \pm 0,01 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ,  $0,17 \pm 0,01 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) und Porthus ( $0,05 \pm 0,01 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ,  $0,14 \pm 0,01 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ). Auch bei den anderen Substanzen, bei denen Unterschiede festgestellt worden waren, hatte Akteur weniger des Stoffes als mindestens eine der beiden anderen Sorten.

Die relativen Anteile des  $\text{C}_{28}$  und des  $\text{C}_{26}$  Alkohols waren in allen drei Sorten verschieden (Abbildung 2.13b): Der höchste Anteil des  $\text{C}_{28}$  Alkohols wurde bei Akteur mit  $75,46 \pm 3,18 \%$  festgestellt, der zweithöchste bei Porthus mit  $63,38 \pm 0,45 \%$  und der niedrigste bei Ponticus mit  $56,69 \pm 3,09 \%$ . Der Anteil des  $\text{C}_{26}$  Alkohols war bei Porthus mit  $7,61 \pm 0,09 \%$  am höchsten, bei Ponticus mit  $5,11 \pm 0,09 \%$  am zweithöchsten und bei Akteur mit  $3,45 \pm 0,14 \%$  am geringsten. Auch die Anteile der übrigen Wachskomponenten, bei denen Unterschiede festgestellt worden waren, waren bei Akteur

niedriger als bei einer der beiden anderen Sorten. So waren beispielsweise die Anteile des C<sub>24</sub> Alkohols und des C<sub>29</sub> Aldehyds bei Akteur mit  $0,66 \pm 0,17$  % und  $1,97 \pm 0,18$  % geringer als bei Ponticus mit  $1,28 \pm 0,29$  % und  $3,70 \pm 0,17$  %. Der Anteil des C<sub>26</sub> Aldehyds war bei Akteur mit  $0,09 \pm 0,08$  % niedriger als bei Ponticus mit  $0,64 \pm 0,10$  % und bei Porthus mit  $0,45 \pm 0,10$  %. Die Anteile des C<sub>28</sub> Aldehyds und der anderen Aldehyde (C<sub>27</sub>, C<sub>30</sub> und C<sub>32</sub>) waren gleich.

Zusammenfassend ist festzuhalten: Die jeweiligen Gesamtwachsmengen der verschiedenen Sorten waren in allen drei Kulturen gleich (Abbildung 2.11a, Abbildung 2.12a und Abbildung 2.13a). Der Gehalt des C<sub>28</sub> Aldehyds unterschied sich nur bei den Pflanzen der ersten Freilandkultur, hier hatten Ponticus einen höheren Gehalt des C<sub>28</sub> Aldehyds als Porthus und Akteur (Abbildung 2.12a). Bei den Pflanzen der ersten Freilandkultur und bei den Gewächshauspflanzen unterschied sich auch die Menge des C<sub>28</sub> Alkohols (Abbildung 2.11a und Abbildung 2.12a): Bei der Sorte Akteur wurde in beiden Kulturen mehr C<sub>28</sub> Alkohol detektiert als bei den anderen Sorten. Bei den Pflanzen der Gewächshauskultur war der Gehalt des C<sub>28</sub> Alkohols bei Akteur größer als bei Ponticus, bei den Pflanzen der ersten Freilandkultur war er größer als bei Porthus. Im Wachs der Pflanzen der ersten Freilandkultur war der relative Anteil des C<sub>28</sub> Aldehyds bei Ponticus am höchsten (Abbildung 2.12b). Bei den Pflanzen der Gewächshauskultur hatte Ponticus einen höheren Anteil dieses Aldehyds als Porthus (Abbildung 2.11). Die relativen Anteile des C<sub>28</sub> Alkohols der verschiedenen Sorten unterschieden sich in allen drei Kulturen voneinander. In allen drei Kulturen hatte Akteur den höchsten Anteil des C<sub>28</sub> Alkohols (Abbildung 2.11b, Abbildung 2.12b und Abbildung 2.13b).





**Abbildung 2.13: Wachszusammensetzungen der verschiedenen Weizensorten der zweiten Freilandkultur;** a) absolute Zusammensetzung und b) relative Zusammensetzung (Pon: Ponticus, Port: Porthus, Akt: Akteur); Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Mengen bzw. Anteilen der jeweiligen Wachskomponente ( $p < 0,05$ , getestet durch eine ANOVA mit anschließendem *Post Hoc* Tukey Test).

## Vergleich der Kulturen

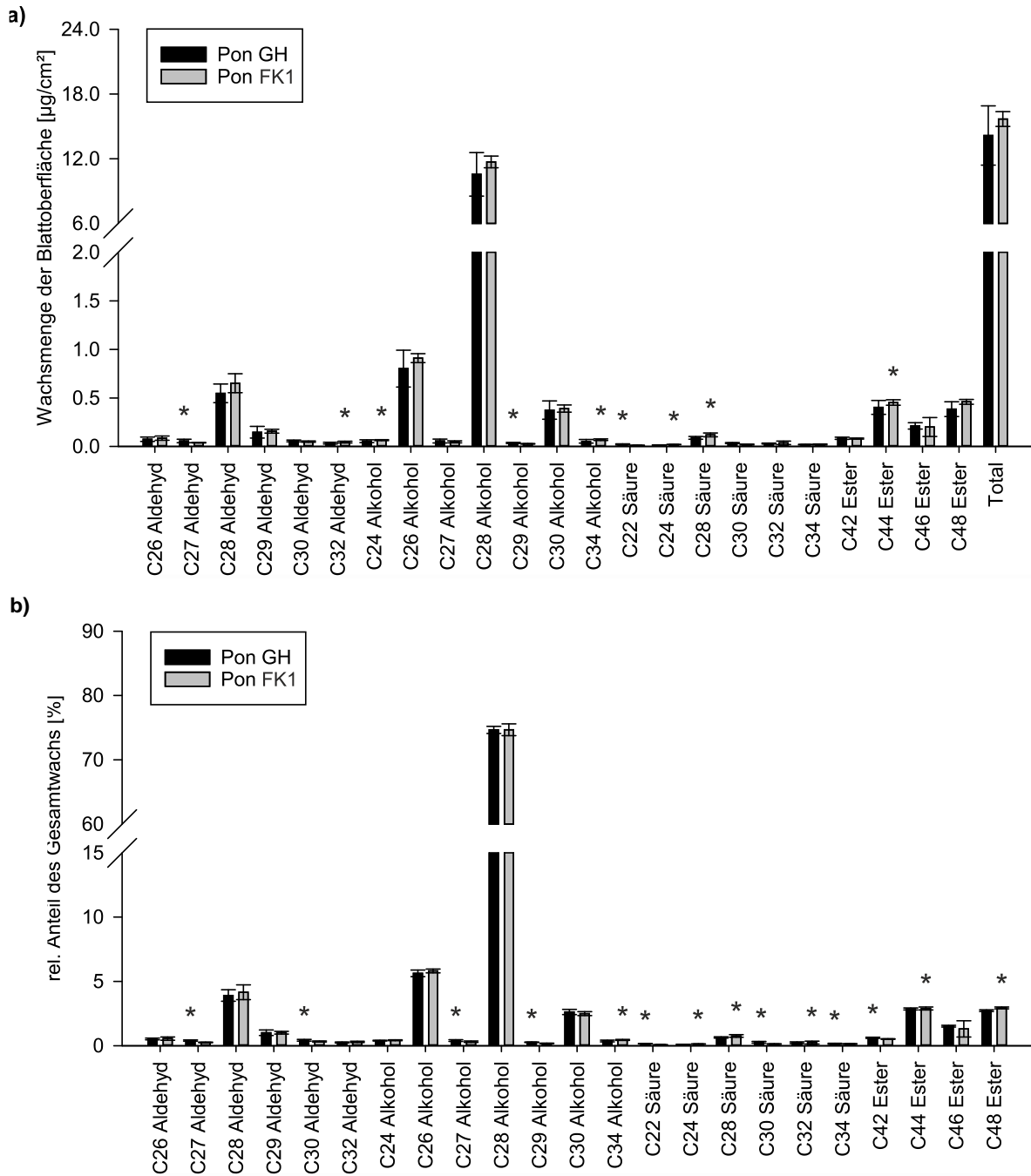
Die Wachschemie der Weizenpflanzen der verschiedenen Kulturen wurde miteinander verglichen, um zu testen, ob die Anzuchtbedingungen einen Einfluss auf die Wachschemie hatten.

### *Vergleich der Gewächshauskultur und der ersten Freilandkultur*

Abbildung 2.14 zeigt den Vergleich der chemischen Zusammensetzung der Wachse der Gewächshauskultur und der ersten Freilandkultur der Sorte Ponticus. Die Gegenüberstellungen der beiden anderen Sorten sind im Anhang beigefügt (Abbildung 10.3 und Abbildung 10.4). Die Gesamtwachsmenge der Pflanzen, die im Gewächshaus kultiviert wurden, unterschied sich bei keiner Sorte von der Gesamtwachsmenge der Pflanzen der ersten Freilandkultur. Bei allen drei Sorten war der Gehalt der Hauptkomponente ( $C_{28}$  Alkohol) in beiden Kulturen gleich. Der Gehalt des  $C_{28}$  Aldehyds war bei Ponticus (GH:  $3,9 \pm 0,45 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ , FK 1:  $4,15 \pm 0,58 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) und bei Porthus (GH:  $3,38 \pm 0,67 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ , FK 1:  $3,13 \pm 0,29 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) bei beiden Kulturen gleich. Bei Akteur enthielt das Wachs der Pflanzen der Gewächshauskultur mit  $0,63 \pm 0,16 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  mehr  $C_{28}$  Aldehyd als das der Pflanzen der Freilandkultur mit  $0,50 \pm 0,04 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ . Bei allen drei Sorten waren die Mengen der Aldehyde der beiden Kulturen gleich. Im Wachs der Pflanzen der Freilandkultur war weniger von der  $C_{22}$  Säure, mehr von der  $C_{24}$  Säure und mehr des  $C_{44}$  Esters enthalten als im Wachs der Pflanzen der Gewächshauskultur. So wurden beispielsweise bei Ponticus im Wachs der Pflanzen der Gewächshauskultur  $0,02 \pm 0,01 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  der  $C_{22}$  Säure,  $0,01 \pm 0,00 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  der  $C_{24}$  Säure und  $0,40 \pm 0,07 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  des  $C_{44}$  Esters nachgewiesen. Im Wachs der Pflanzen der ersten Freilandkultur wurden  $0,01 \pm 0,00 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  der  $C_{22}$  Säure,  $0,02 \pm 0,00 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  der  $C_{24}$  Säure und  $0,45 \pm 0,03 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  des  $C_{44}$  Esters festgestellt. Bei Ponticus war der Gehalt der Säuren insgesamt bei beiden Kulturen gleich (GH:  $0,21 \pm 0,03 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ , FK 1:  $0,23 \pm 0,04$ ). Bei Porthus und Akteur waren im Wachs der Pflanzen der Gewächshauskultur (Port:  $0,23 \pm 0,03 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ , Akt:  $0,27 \pm 0,03 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) mehr Säuren enthalten als in dem der Freilandpflanzen (Port:  $0,19 \pm 0,03 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ , Akt:  $0,18 \pm 0,04 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ). Bei den Alkoholen wurden vereinzelt Unterschiede festgestellt, insgesamt waren die Alkoholgehalte bei allen drei Sorten in

beiden Kulturen gleich, auch die Reihenfolge der drei häufigsten Alkohole ( $C_{28}$ ,  $C_{26}$ ,  $C_{30}$ ) hat sich bei keiner Sorte verändert.

Wie bei den absoluten Werten war im Wachs der Sorte Akteur auch der relative Anteil des  $C_{28}$  Aldehyds bei den Pflanzen der Gewächshauskultur ( $3,71 \pm 0,54$  %) größer als bei den Pflanzen der Freilandkultur ( $3,02 \pm 0,29$  %). Bei Ponticus und Porthus war der relative Anteil des  $C_{28}$  Aldehyds jeweils nicht verschieden. Insgesamt unterschied sich der relative Anteile der Aldehyde der Gewächshauskultur (Pon:  $6,5 \pm 0,5$  %, Port:  $6,8 \pm 1,0$  %, Akt:  $7,3 \pm 0,8$  %) bei keiner der drei Sorten von dem der Freilandkultur (Pon:  $6,6 \pm 0,8$  %, Port:  $6,4 \pm 0,5$  %, Akt:  $6,8 \pm 0,3$  %). Auch der Anteil der Hauptkomponente war in allen drei Sorten in beiden Kulturen gleich (Ponticus:  $74,64 \pm 0,56$  % (GH) und  $74,66 \pm 0,93$  % (FK 1); Porthus:  $71,18 \pm 1,28$  % (GH) und  $70,76 \pm 1,24$  % (FK 1); Akteur:  $76,68 \pm 0,74$  % (GH) und  $77,38 \pm 0,72$  % (FK 1). In allen drei Sorten war der Anteil des  $C_{30}$  Aldehyds, der  $C_{22}$  und der  $C_{30}$  Säure in der Gewächshauskultur größer als in der Freilandkultur. Im Wachs der Gewächshauspflanzen der Sorte Ponticus betrug der Anteil des  $C_{30}$  Aldehyds beispielsweise  $0,41 \pm 0,07$  %, der  $C_{22}$  Säure  $0,15 \pm 0,01$  % und der  $C_{30}$  Säure  $0,26 \pm 0,06$  %. Im Wachs der Freilandpflanzen machten der  $C_{30}$  Aldehyd  $0,32 \pm 0,04$  %, die  $C_{22}$  Säure  $0,07 \pm 0,02$  % und die  $C_{30}$  Säure  $0,13 \pm 0,02$  % des Gesamtwachses aus. Bei Porthus und Akteur waren die Anteile der Säuren im Wachs der Freilandpflanzen (Port:  $1,2 \pm 0,1$  %, Akt:  $1,1 \pm 0,3$  %) im Vergleich zu denen der Gewächshauspflanzen (Port:  $1,5 \pm 0,4$  %, Akt:  $1,6 \pm 0,5$  %) geringfügig reduziert. Die Anteile der Ester haben ganz leicht zugenommen (Port:  $+1,2$  %, Akt:  $+0,3$  %). Bei Ponticus wurden bei diesen Substanzklassen keine Unterschiede festgestellt (Abbildung 2.14b).



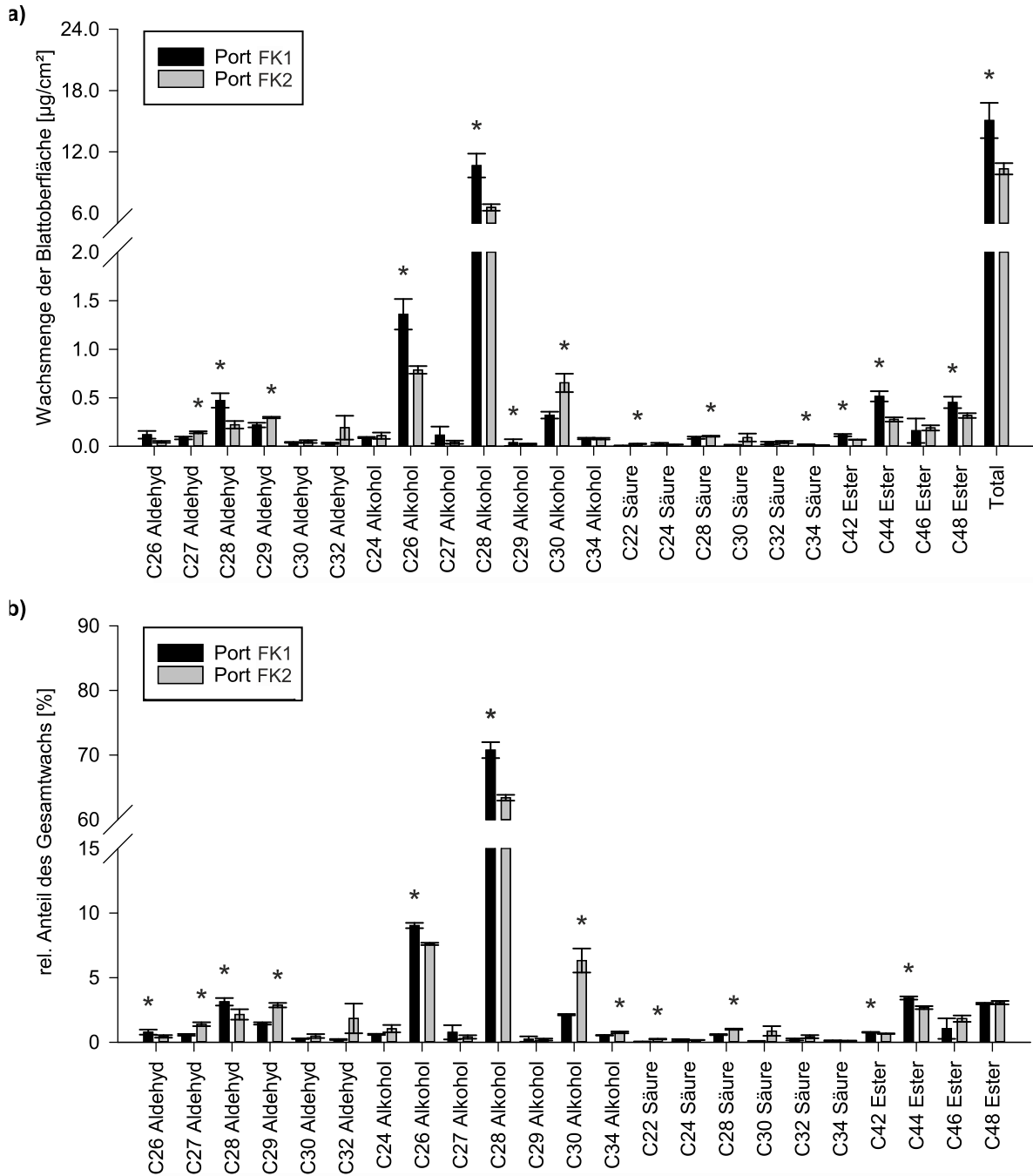
**Abbildung 2.14: Vergleich der Wachszusammensetzung der Gewächshaus- und der ersten Freilandkultur der Weizensorte Ponticus;** a) absolute Zusammensetzung und b) relative Zusammensetzung (Pon: Ponticus, GH: Gewächshausversuch, FK 1: Freilandkultur 1); Sternchen kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Mengen bzw. Anteilen der jeweiligen Wachskomponente ( $p < 0,05$ , getestet durch einen t-Test).

### ***Vergleich der ersten und zweiten Freilandkultur***

Auch die Zusammensetzung der Wachskemie der Pflanzen der ersten und zweiten Freilandkultur wurde miteinander verglichen, um zu überprüfen, ob es Unterschiede zwischen den beiden Aussaaten gab. In allen drei Sorten war der Gesamtwachsgehalt bei der ersten Freilandkultur höher als bei der Zweiten. Die Graphen zu Ponticus und Akteur werden in Abbildung 10.5 und Abbildung 10.6 im Anhang gezeigt. Abbildung 2.15 zeigt beispielhaft die Gegenüberstellung der Wachszusammensetzungen der Pflanzen der ersten und zweiten Freilandkultur der Sorte Porthus. Bei dieser Sorte betragen die Gesamtwachsmengen der Pflanzen der ersten Aussaat  $15,06 \pm 1,72 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ , die der Zweiten  $10,35 \pm 0,55 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ . Auch die Menge des  $\text{C}_{28}$  Alkohols und des  $\text{C}_{28}$  Aldehyds war in allen drei Sorten in der ersten Kultur um  $4 - 6 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  ( $\text{C}_{28}$  Alkohol) und um  $0,3 - 0,4 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  ( $\text{C}_{28}$  Aldehyd) höher als in der Zweiten. Bei allen drei Sorten wurde darüber hinaus nur bei dem  $\text{C}_{26}$  Alkohol, bei der  $\text{C}_{34}$  Säure und bei dem  $\text{C}_{48}$  Ester in der ersten Kultur größere Mengen festgestellt als in der Zweiten. Alle Substanzen wurden in geringen Mengen detektiert. Bei Porthus wurden beispielsweise in dem Wachs der Pflanzen der ersten Kultur  $1,36 \pm 0,16 \mu\text{g}/\text{cm}^2$   $\text{C}_{26}$  Alkohol,  $0,02 \pm 0,00 \mu\text{g}/\text{cm}^2$   $\text{C}_{34}$  Säure und  $0,45 \pm 0,06 \mu\text{g}/\text{cm}^2$   $\text{C}_{48}$  Ester nachgewiesen. Im Wachs der zweiten Freilandkultur waren es  $0,79 \pm 0,04 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  ( $\text{C}_{26}$  Alkohol),  $0,01 \pm 0,00 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  ( $\text{C}_{34}$  Säure) und  $0,32 \pm 0,02 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  ( $\text{C}_{48}$  Ester). Der Gehalt des  $\text{C}_{30}$  Alkohols war in der ersten Freilandkultur mit  $0,32 \pm 0,04 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  niedriger als in der zweiten mit  $0,65 \pm 0,09 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ . Bei den übrigen Substanzen zeigten jeweils nur zwei Sorten eine ähnliche Veränderung. Bei den Aldehyden beispielsweise wurden bei Ponticus und Porthus im Wachs der ersten Kultur weniger des  $\text{C}_{27}$  und des  $\text{C}_{29}$  Aldehyds nachgewiesen als in der Zweiten. Der Gehalt des  $\text{C}_{27}$  Aldehyds stieg bei Porthus von  $0,09 \pm 0,01 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  auf  $0,14 \pm 0,01 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ , der des  $\text{C}_{29}$  Aldehyds stieg von  $0,22 \pm 0,02 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  auf  $0,30 \pm 0,01 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  an. Bei Ponticus und Akteur war der Gehalt des  $\text{C}_{26}$  Aldehyds mit  $0,09 \pm 0,02 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  und  $0,06 \pm 0,03 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  in der ersten Kultur höher als in der zweiten mit  $0,06 \pm 0,09 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  und  $0,01 \pm 0,01 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ .

Die relativen Anteile des  $\text{C}_{28}$  Alkohols und des  $\text{C}_{28}$  Aldehyds waren im Wachs der Sorte Akteur bei den Pflanzen beider Kulturen gleich (Abbildung 2.15b). Bei Porthus war sowohl der Anteil des  $\text{C}_{28}$  Alkohols und der des  $\text{C}_{28}$  Aldehyds bei den Pflanzen der ersten

Kultur mit  $70,8 \pm 1,2 \%$  und  $3,1 \pm 0,3 \%$  höher als bei den Pflanzen der Zweiten mit  $63,4 \pm 0,5 \%$  und  $2,2 \pm 0,4 \%$ . Bei dem  $C_{30}$  Alkohol verhielt es sich umgekehrt: Der Anteil des  $C_{30}$  Alkohols war im Wachs der ersten Kultur ( $2,1 \pm 0,1 \%$ ) geringer als im Wachs der zweiten Kultur ( $6,3 \pm 0,9 \%$ ). Bei Ponticus war auch der Anteil des  $C_{28}$  Alkohols in der ersten Kultur mit  $74,7 \pm 0,9 \%$  höher als in der Zweiten mit  $56,7 \pm 3,1 \%$ . Der Anteil des  $C_{28}$  Aldehyds unterschied sich nicht. Daneben gab es bei Ponticus und Porthus drei weitere Gemeinsamkeiten: In dem Wachs der ersten Freilandkultur waren die Anteile der  $C_{28}$  Säure, des  $C_{27}$  und des  $C_{29}$  Aldehyds geringer als in dem der Zweiten. Bei Porthus machten beispielsweise die  $C_{28}$  Säure  $0,6 \pm 0,04 \%$ , der  $C_{27}$  Aldehyd  $0,6 \pm 0,07 \%$  und der  $C_{29}$  Aldehyd  $1,5 \pm 0,1 \%$  des Wachses der ersten Kultur aus. Im Wachs der zweiten Kultur betrug der Anteil der  $C_{28}$  Säure  $1,0 \pm 0,1 \%$ , des  $C_{27}$  Aldehyds  $1,4 \pm 0,2 \%$  und des  $C_{29}$  Aldehyds  $2,9 \pm 0,2 \%$ . Bei keiner der drei Sorten unterschieden sich die Anteile der Aldehyde der beiden Freilandkulturen. Die Gruppe der Alkohole zeigte bei Ponticus und bei Akteur keinen Unterschied. Bei Porthus war der Anteil der Alkohole in dem Wachs der ersten Freilandkultur mit  $84,1 \pm 0,9 \%$  höher als in dem der Zweiten mit  $79,7 \pm 1,3 \%$ .



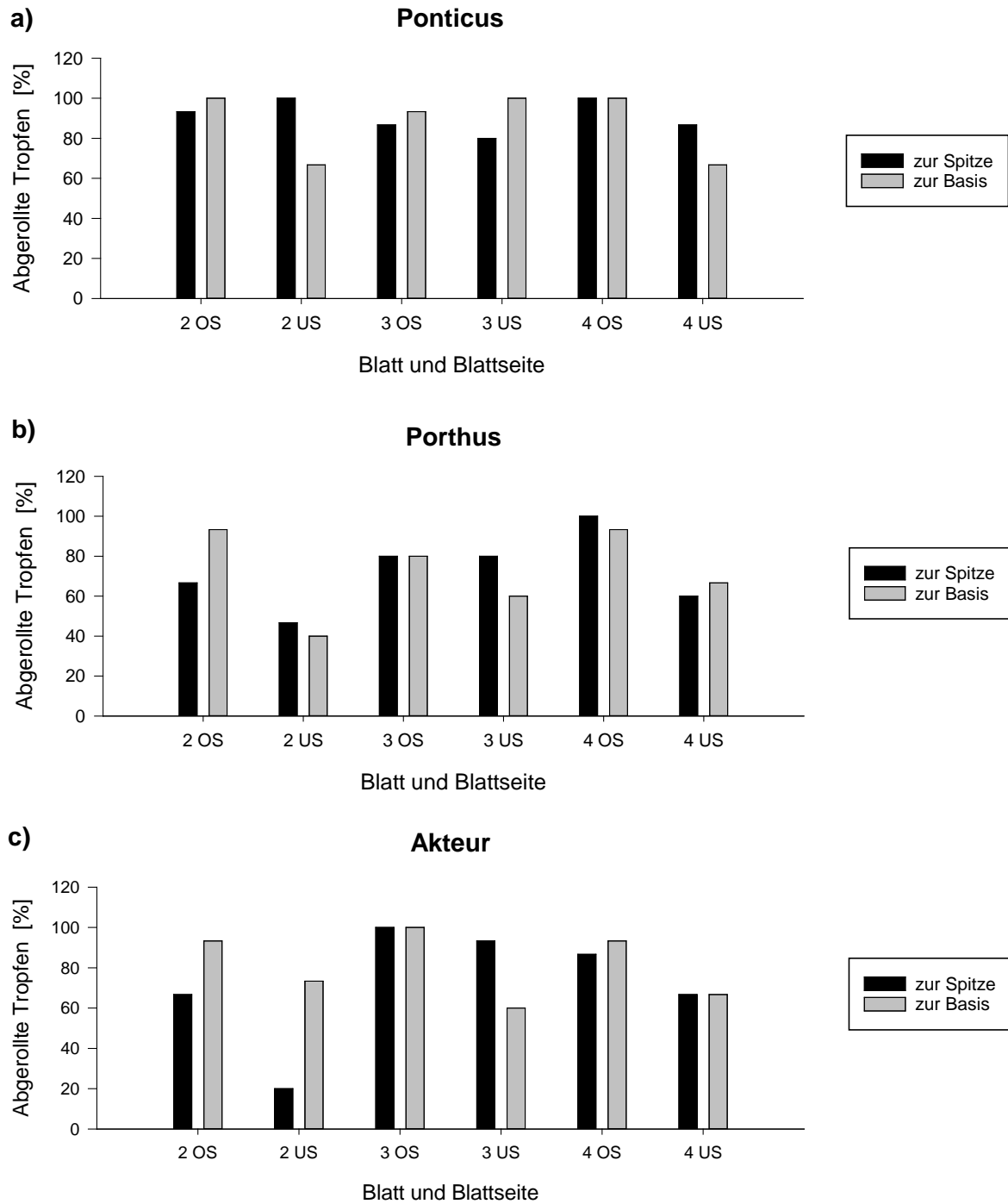
**Abbildung 2.15: Vergleich der Wachszusammensetzungen der beiden Freilandkulturen der Weizensorte Porthus;** a) absolute Zusammensetzung und b) relative Zusammensetzung (Port: Porthus, FK: Freilandkultur); Sternchen kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Mengen bzw. Anteilen der jeweiligen Wachskomponente ( $p < 0,05$ , getestet durch einen t-Test).

### **2.2.6 Untersuchung der Benetzungseigenschaften**

Die Benetzungseigenschaften der verschiedenen Sorten, Blattalter, Blattseiten und Blattrichtungen wurden untersucht, um zu ermitteln, ob es aufgrund dieser Merkmale Unterschiede in der Benetzbarkeit gibt.

Der Anteil der abgerollten Tropfen zur Blattbasis war teils gleich, teils größer und teils kleiner als der Anteil der abgerollten Tropfen zur Blattspitze (Abbildung 2.16). Bei den drei Sorten konnte kein einheitlicher Trend festgestellt werden. Nur auf Blatt 2 rollten bei allen drei Sorten auf der Oberseite zur Blattspitze weniger Tropfen ab als zur Blattbasis. Bei Ponticus war der Unterschied mit 93 % zu 100 % gering. Bei Porthus und Akteur war der Unterschied mit jeweils 67 % zu 93 % deutlicher. Für die folgenden Versuche wurde nicht weiter zwischen den beiden Längsrichtungen unterschieden.





**Abbildung 2.16: Abgerollte Tropfen der beiden Längsrichtungen;** a) auf Weizenblättern der Sorte Ponticus, b) der Sorte Porthus und c) der Sorte Akteur; 2 - 4: Blatt 2 - 4; OS: Blattoberseite, US: Blattunterseite

## Kontaktwinkel

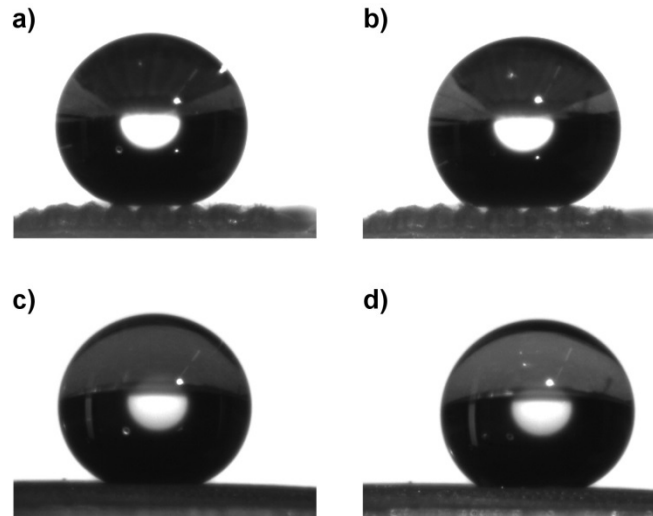
Die Weizenblätter waren kaum benetzbar. Die abgelegten Tropfen waren rund (Abbildung 2.17). Die Kontaktwinkel der Weizenblätter lagen alle um  $150^\circ$ , im hydrophoben oder superhydrophoben Bereich. Der niedrigste Kontaktwinkel wurde bei Ponticus (Pon\_4\_US\_quer) mit  $127,5 \pm 13,6^\circ$ , der höchste Kontaktwinkel mit  $164,7 \pm 15^\circ$  bei Akteur (Akt\_3\_US\_längs) gemessen (Abbildung 2.18)

Die Kontaktwinkel der verschiedenen Blickrichtungen waren oftmals unterschiedlich. Die Kontaktwinkel längs zur Blattaderung waren bei der Hälfte der Proben größer als die quer zur Blattaderung. Die Unterschiede zwischen den beiden Blickrichtungen lagen zwischen  $20,0^\circ$  (Pon\_4\_US) und  $9,7^\circ$  (Pon\_4\_OS).

Die Kontaktwinkel von Blatt 2, 3 und 4 waren bis auf eine Ausnahme gleich. Nur bei Ponticus auf der Blattunterseite in Blickrichtung quer zur Blattaderung war der Kontaktwinkel auf Blatt 4 mit  $127,5 \pm 13,6^\circ$  kleiner als der auf Blatt 2 mit  $139,8 \pm 17,5^\circ$  und der auf Blatt 3 mit  $140,5 \pm 15,6^\circ$ .

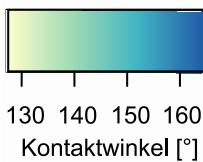
Auf der Blattober- und auf der Blattunterseite unterschieden sich die Kontaktwinkel in einigen Fällen. Bei allen gefundenen Unterschieden, war der Kontaktwinkel auf der Blattoberseite größer als der auf der Blattunterseite. Der größte Unterschied zwischen Blattober- und Blattunterseite betrug  $14,3^\circ$  (Pon\_4\_quer), der kleinste betrug  $7,1^\circ$  (Port\_4\_quer).

Bei knapp über der Hälfte der Proben unterschieden sich die Kontaktwinkel der verschiedenen Sorten. Die Kontaktwinkel auf den Blättern der Sorte Akteur waren fast immer höher als die auf den Blättern der beiden anderen Sorten. Nur auf der Unterseite des Blattes 3 in Blickrichtung quer zur Blattaderung war der Kontaktwinkel auf Akteur ( $147,7 \pm 12,2^\circ$ ) größer als der auf Porthus ( $137,9 \pm 11,2^\circ$ ), aber gleich zu dem auf Ponticus ( $140,5 \pm 15,6^\circ$ ). Auf der Unterseite des Blattes 4 in Blickrichtung längs zur Blattaderung war es umgekehrt. Hier unterschied sich der Kontaktwinkel auf Akteur ( $157,9 \pm 11,0^\circ$ ) nur von dem von Ponticus ( $147,7 \pm 7,3^\circ$ ) jedoch nicht von dem auf Porthus ( $151,8 \pm 7,8^\circ$ ) (Abbildung 2.18 und im Anhang Abbildung 10.7. bis Abbildung 10.12).

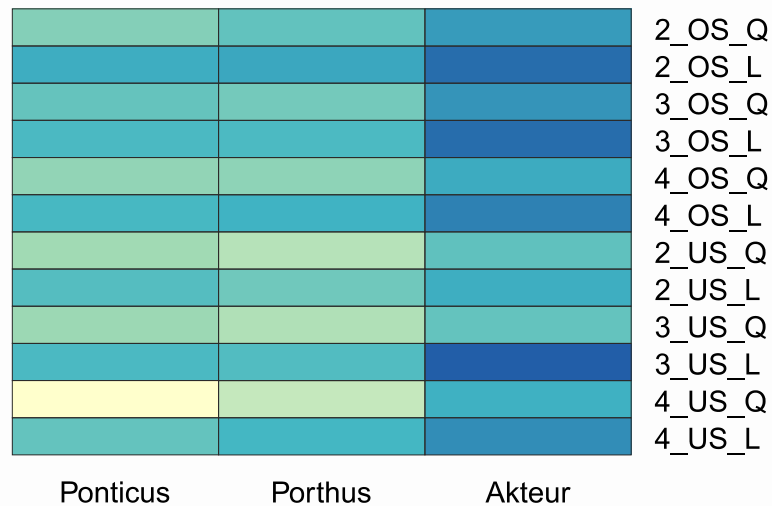


**Abbildung 2.17: Goniometer-Bilder von Wassertropfen auf Weizenblättern;** a) Bild zur Bestimmung des statischen Kontaktwinkels in Blickrichtung längs zur Blattaderung, b) Bild zur Bestimmung der Hysterese kurz vor Abrollen des Tropfen bei transversaler Kippung, c) Bild zur Bestimmung des statischen Kontaktwinkels in Blickrichtung quer zur Blattaderung, d) Bild zur Bestimmung der Hysterese kurz vor Abrollen des Tropfen bei longitudinaler Kippung; Das Tropfenvolumen betrug jeweils 5  $\mu$ l.

**Farbkodierung**



**Kontaktwinkel**



**Abbildung 2.18: Heatmap der Kontaktwinkel der verschiedenen Weizenblätter;** 2 - 4: Blatt 2 - 4, OS: Oberseite, US: Unterseite, Q: Blickrichtung quer, L: Blickrichtung längs

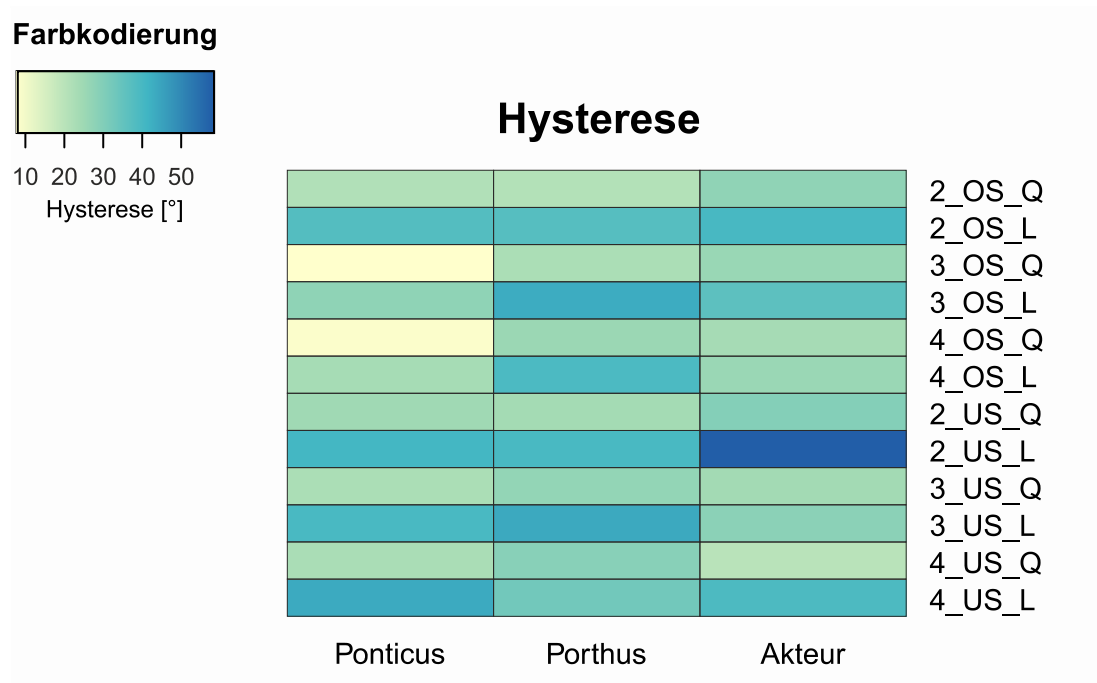
## Hysteresese

Die mittlere Hysteresese der Weizenblätter betrug  $30,5 \pm 10,2^\circ$ . Die höchste Hysteresese ( $58,3 \pm 7,4^\circ$ ) wurde auf der Unterseite des Blattes 2 der Sorte Akteur in Längsrichtung gemessen. Die niedrigste Hysteresese ( $8,2 \pm 8,3^\circ$ ) wurde auf der Oberseite des Blattes 3 der Sorte Ponticus in querer Blickrichtung festgestellt (Abbildung 2.19).

Bei der Mehrheit der Proben unterschieden sich die Hystereseen der zwei verschiedenen Richtungen voneinander: Die Hystereseen in Blickrichtung quer zur Blattaderung, bei longitudinaler Kippung, waren kleiner als die in Blickrichtung längs zur Blattaderung bei transversaler Kippung. Der Unterschied betrug durchschnittlich  $17,6 \pm 4,5^\circ$ . Der größte Unterschied von  $28,4^\circ$  wurde auf der Unterseite des Blattes 2 der Sorte Akteur festgestellt. Die verschieden alten Blätter unterschieden sich kaum in ihren Hystereseen. Nur bei drei Proben (Pon\_OS\_quer, Pon\_OS\_längs, Akt\_OS\_längs) wurden auf Blatt 2 höhere Hystereseen gemessen als auf Blatt 4. Die Hystereseen unterschieden sich jeweils um ca.  $14^\circ$ .

Die Hystereseen auf der Blattober- und auf der Blattunterseite waren ähnlich. Bei wenigen Proben waren die Hystereseen auf der Oberseite niedriger als die Hystereseen auf der Blattunterseite. Die Unterschiede zwischen den Blattseiten lagen zwischen  $12,1^\circ$  (PON\_3\_längs) und  $20,0^\circ$  (PON\_4\_längs).

Drei Viertel der Proben zeigten keine sortenspezifischen Unterschiede in den Hystereseen. Bei einem Drittel der Proben waren die Hystereseen auf den Blättern der Sorte Ponticus jeweils am niedrigsten. Bei zwei dieser Proben (B3\_OS\_längs, B4\_OS\_längs) waren die Hystereseen der Sorte Ponticus ( $28,1 \pm 8,1^\circ$  und  $23,9 \pm 11,9^\circ$ ) kleiner als die der Sorte Porthus ( $43,3 \pm 12,6^\circ$  und  $39,7 \pm 13,1^\circ$ ). Bei den anderen zwei Proben (B3\_OS\_quer, B4\_OS\_quer) waren die Hystereseen der Sorte Ponticus ( $8,2 \pm 8,3^\circ$  und  $9,0 \pm 8,3^\circ$ ) geringer als die der beiden anderen Sorten (Porthus:  $23,1 \pm 11,8^\circ$  und  $25,9 \pm 9,0^\circ$ ; Akteur:  $26,2 \pm 15,8^\circ$  und  $24,1 \pm 18,3^\circ$ ) (Abbildung 2.19 und im Anhang Abbildung 10.13. bis Abbildung 10.17).



**Abbildung 2.19: Heatmap der Hysteresen der verschiedenen Weizenblätter;** 2 - 4: Blatt 2 - 4, OS: Oberseite, US: Unterseite, Q: Blickrichtung quer, L: Blickrichtung längs

### Anteil abgerollter Tropfen

Auf den Weizenblättern rollten durchschnittlich  $76,2 \pm 19,8$  % der abgelegten Tropfen ab. Am wenigsten Tropfen rollten mit 33,3 % auf der Unterseite in transversaler Richtung auf Blatt 2 der Sorte Akteur und auf Blatt 3 der Sorte Porthus ab. Auf vier Proben (Pon\_3\_OS\_trans, Pon\_4\_OS\_long, Pon\_4\_OS\_trans, Akt\_3\_OS\_long) rollten alle Tropfen ab (Abbildung 2.20).

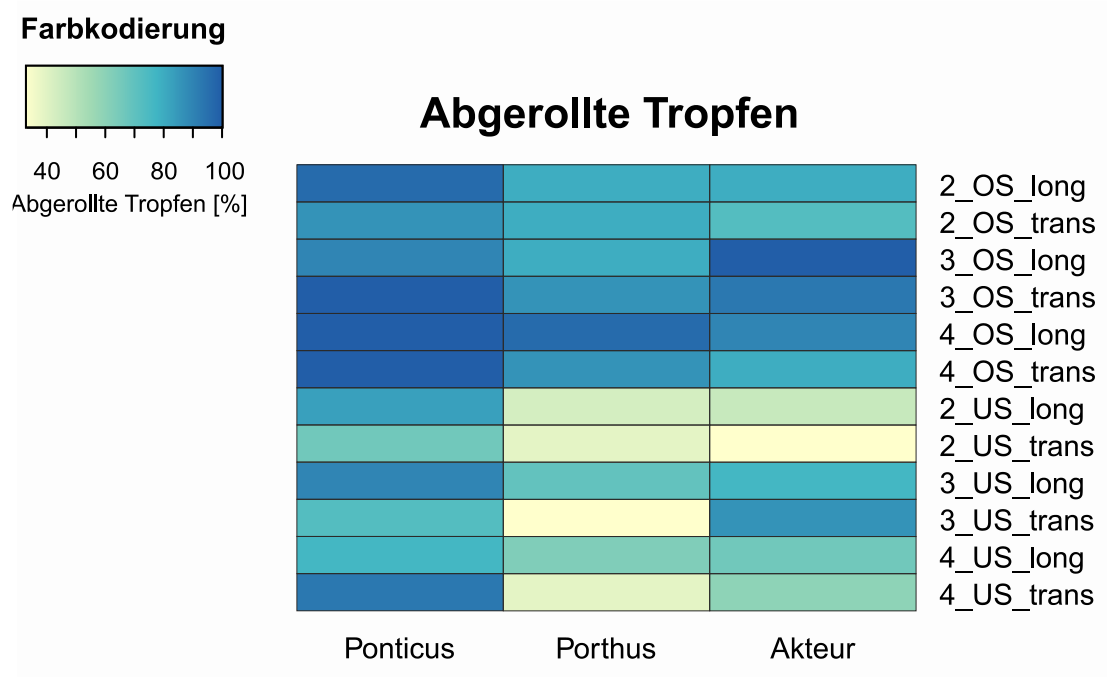
Mehr als die Hälfte der Tropfen rollte in longitudinaler Richtung besser ab als in transversaler Richtung. Die Unterschiede zwischen den beiden Richtungen lagen zwischen 36,7 % (Port\_3\_US) und 3,3 % (Port\_2\_US).

Bei den Anteilen der abgerollten Tropfen auf Blatt 2, 3 und 4 konnte kein gemeinsamer Trend festgestellt werden.

Bis auf eine Ausnahme rollten in allen Sorten die Tropfen auf den Blattoberseiten besser ab als auf den Blattunterseiten. Nur auf Blatt 3 der Sorte Ponticus rollten in longitudinaler Richtung auf der Blattoberseite genauso viele Tropfen ab wie auf der Blattunterseite

(90 %). Der größte Unterschied zwischen der Blattober- und der Blattunterseite von 53,3 % wurde auf Blatt 4 der Sorte Porthus in transversaler Richtung beobachtet. Die kleinsten Unterschiede mit 6,7 % wurden bei Ponticus auf Blatt 4, und bei Akteur auf Blatt 3 in transversaler Richtung festgestellt.

Auf den Blättern der Sorte Ponticus rollten in 10 von 12 Fällen die Tropfen überdurchschnittlich gut ab. Die Tropfen rollten bis auf zwei Ausnahmen (Pon\_3\_OS\_long, Pon\_3\_US\_long) immer besser ab als auf den Blättern der Sorte Porthus und Akteur (Abbildung 2.20).



**Abbildung 2.20: Heatmap der abgerollten Tropfen (% aller applizierter Tropfen) auf den verschiedenen Weizenblättern; 2 - 4: Blatt 2 - 4, OS: Oberseite, US: Unterseite, long: longitudinale Kipprichtung, trans: transversale Kipprichtung**

## Abrollwinkel

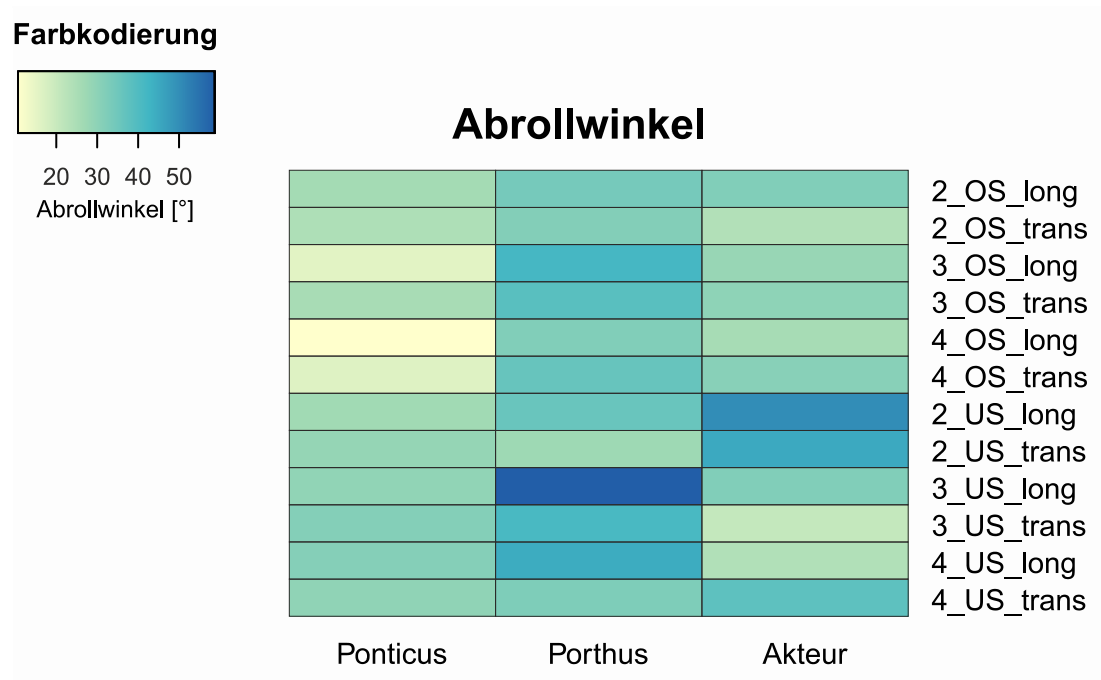
Im Durchschnitt rollten die Tropfen auf den Weizenblättern bei einem Kippwinkel von  $31,4 \pm 9,4^\circ$  ab. Der niedrigste Abrollwinkel von  $10,8 \pm 7,2^\circ$  wurde auf der Oberseite des Blattes 4 der Sorte Ponticus in longitudinaler Kipprichtung gemessen. Der höchste Abrollwinkel von  $58,7 \pm 28,2^\circ$  wurde auf der Unterseite des Blattes 3 der Sorte Porthus in longitudinaler Kipprichtung festgestellt (Abbildung 2.21).

Auf der Oberseite des Blattes 3 und 4 der Sorte Ponticus waren die Abrollwinkel in longitudinaler Kipprichtung ( $15,7 \pm 10,8^\circ$ ;  $10,8 \pm 7,3^\circ$ ) geringer als in transversaler ( $25,4 \pm 15,1^\circ$ ;  $16,3 \pm 8,8^\circ$ ). Auf der Unterseite des Blattes 4 der Sorte Akteur war der Abrollwinkel in longitudinaler Kipprichtung mit  $32,1 \pm 15,8^\circ$  größer als in transversaler mit  $20,8 \pm 10,2^\circ$ . Bei den übrigen Proben unterschieden sich die Abrollwinkel der beiden Kipprichtungen nicht.

Die Abrollwinkel der unterschiedlichen Blätter waren fast alle gleich, nur bei zwei Proben (Pon\_OS\_long, Akt\_US\_long) war der Abrollwinkel auf Blatt 2 ( $26,2 \pm 14,1^\circ$ ,  $44,9 \pm 17,4^\circ$ ) größer als auf Blatt 4 ( $10,8 \pm 7,3^\circ$ ,  $24,1 \pm 17,7^\circ$ ).

Bei einigen Proben waren die Abrollwinkel der Blattoberseiten geringer als die der Blattunterseiten. Die Unterschiede der Abrollwinkel lagen hier zwischen  $12,8^\circ$  (Akt\_2\_long) und  $26,2^\circ$  (Akt\_2\_trans).

Die Hälfte der Proben zeigte sortenspezifische Unterschiede bei den Abrollwinkeln. Meistens war der Abrollwinkel der Sorte Porthus größer als mindestens einer der beiden anderen Sorten. Beispielsweise war der Abrollwinkel auf der Unterseite des Blattes 4 in longitudinaler Richtung bei Porthus mit  $44,5 \pm 20,2^\circ$  größer als bei Akteur mit  $24,1 \pm 17,7^\circ$ . Eine Ausnahme bildete der Abrollwinkel der Unterseite des Blattes 2 in longitudinaler Richtung. Hier rollten die Tropfen bei Akteur erst bei einem höheren Abrollwinkel ( $44,9 \pm 17,4^\circ$ ) ab, als bei Porthus ( $27,3 \pm 14,8^\circ$ ) und bei Ponticus ( $28,6 \pm 14,0^\circ$ ) (Abbildung 2.21 und im Anhang Abbildung 10.19 bis Abbildung 10.25).

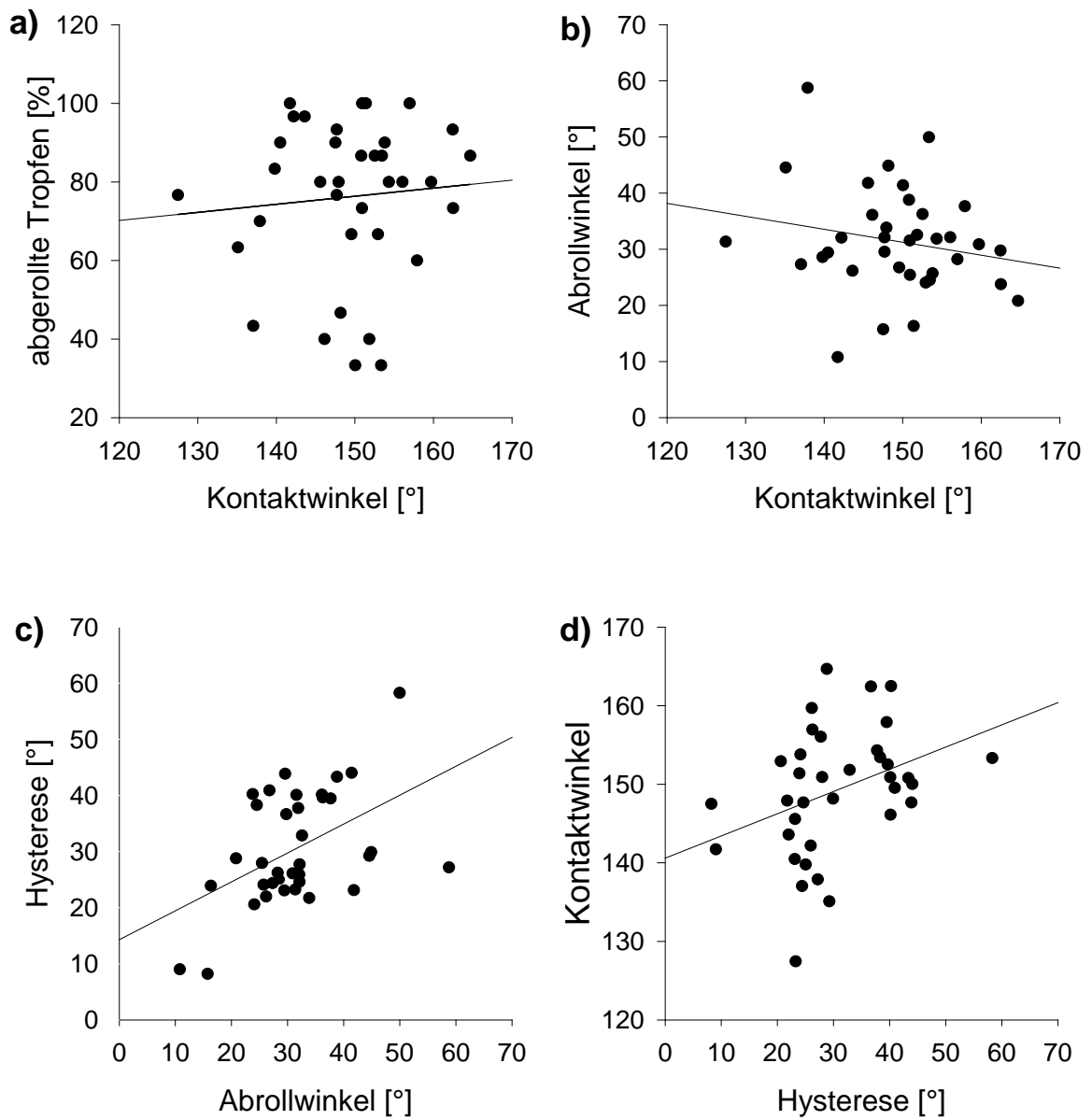


**Abbildung 2.21: Heatmap der Abrollwinkel auf den verschiedenen Weizenblättern;** 2 - 4: Blatt 2 - 4, OS: Oberseite, US: Unterseite, long: longitudinale Kipprichtung, trans: transversale Kipprichtung

### Korrelation der Benetzungseigenschaften

Um zu überprüfen, ob die Kontaktwinkel (Seite 67), die Hysteresen (Seite 69) und die Abrollwinkel (Seite 72) korrelieren, wurden Korrelationsberechnungen durchgeführt. Der Zusammenhang zwischen den Kontaktwinkeln und den relativen Anteilen der abgerollten Tropfen wurde ebenfalls untersucht. Es konnten keine Zusammenhänge nachgewiesen werden (Abbildung 2.22). Die Kontaktwinkel korrelierten weder mit den Anteilen der abgerollten Tropfen ( $r = 0,08$ ), noch mit den Abrollwinkeln ( $r = -0,19$ ). Die Abrollwinkel und die Hysteresen bedingten sich auch nicht gegenseitig ( $r = 0,47$ ). Die Hysteresen und die Kontaktwinkel zeigten ebenfalls keinen Zusammenhang ( $r = 0,35$ ).





**Abbildung 2.22: Korrelation der Benetzungseigenschaften der Blätter der Weizenpflanzen der ersten Freilandkultur;** a) Korrelation der Kontaktwinkel und der abgerollten Tropfen, b) Korrelation der Kontaktwinkel und der Abrollwinkel, c) Korrelation der Abrollwinkel und der Hysteresen, d) Korrelation der Hysteresen und der Kontaktwinkel; Die dargestellten Werte der Kontaktwinkel, Hysteresen und Abrollwinkel entsprechen den Mittelwerten ( $n = 15$ ); Aus Gründen der besseren Übersicht wurde auf die Darstellung der Fehlerbalken verzichtet.

### **Vergleichende Betrachtung der Benetzungseigenschaften**

Bei der gemeinsamen Betrachtung der Kontaktwinkel, der Hysteresen und der Abrollwinkel wurden zwischen Blatt 2, Blatt 3 und Blatt 4 die wenigsten Unterschiede festgestellt. Bei nur 6 von 36 Tests unterschieden sich die Werte der verschiedenen alten Blätter ( $p < 0,05$ , Tabelle 2.5 und im Anhang Abbildung 10.9, Abbildung 10.15, Abbildung 10.21 und Abbildung 10.22). Die Unterschiede hatten eine einheitliche Tendenz: Blatt 4 hatte niedrigere Werte als Blatt 2.

Bei dem Vergleich der Blattseiten wurden etwas mehr Unterschiede festgestellt (18 von 54,  $p < 0,05$ , Tabelle 2.5 und im Anhang Abbildung 10.10, Abbildung 10.11, Abbildung 10.16, Abbildung 10.17, Abbildung 10.23 und Abbildung 10.24). Die Unterschiede der einzelnen Merkmale folgten dem gleichen Muster: Die Hysteresen und Abrollwinkel waren auf der Blattoberseite kleiner als auf der Blattunterseite. Die Kontaktwinkel waren auf der Blattoberseite größer als auf der Blattunterseite.

Fast die Hälfte der Proben zeigte Unterschiede in den Benetzungseigenschaften zwischen den Sorten (17 von 36,  $p < 0,05$ , Tabelle 2.5 und im Anhang Abbildung 10.12, Abbildung 10.18 und Abbildung 10.25) und den Richtungen (26 von 54,  $p < 0,05$ , siehe Tabelle 2.5 und Abbildung 10.7, Abbildung 10.8, Abbildung 10.13, Abbildung 10.14, Abbildung 10.19 und Abbildung 10.20). Ponticus und Porthus hatten meist einen niedrigeren Kontaktwinkel als Akteur. Porthus und manchmal auch Akteur hatten eine höhere Hysterese als Ponticus.

Bei den gefundenen Unterschieden zwischen den Blickrichtungen quer und längs zur Blattaderung gab es auch Gemeinsamkeiten. Sowohl die Kontaktwinkel als auch die Hysteresen waren in Längsrichtung kleiner als die quer zur Blattaderung. Bei den meisten Proben unterschieden sich die Abrollwinkel in longitudinaler Richtung nicht von denen in transversaler Richtung.

Tabelle 2.5: Übersicht der signifikanten Unterschiede der Benetzungsparameter

	Richtung	Blattalter	Seite	Sorte	Kultur
<b>KW</b>	9/18 quer < längs	1/12 2 und 3 < 4	6/18 OS > US	8/12 Pon & Port < Akt (6x) Pon < Akt (1x) Port < Akt (1x)	FK 1 > FK 2
<b>Hyst</b>	14/18 quer < längs	3/12 2 < 3 und 4 (1x) 2 < 4 (2x)	5/18 OS < US	4/12 Pon < Port & Akt (2x) Pon < Port (2x)	Pon: FK 1 < FK 2 Akt: FK 1 > FK 2
<b>AW</b>	3/18 Long < trans (2x) Long > trans (1x)	2/12 2 < 3 und 4 2 < 4	7/18 OS < US	6/12 kein gemeinsamer Trend	Pon: FK 1 < FK 2 Port & Akt: FK 1 > FK 2
<b>%</b>	12/18* Long > trans	Kein gemeinsamer Trend	17/18* OS < US	10/12* Pon > Port & Akt	Port: FK 1 < FK 2* Akt: FK 1 > FK 2*

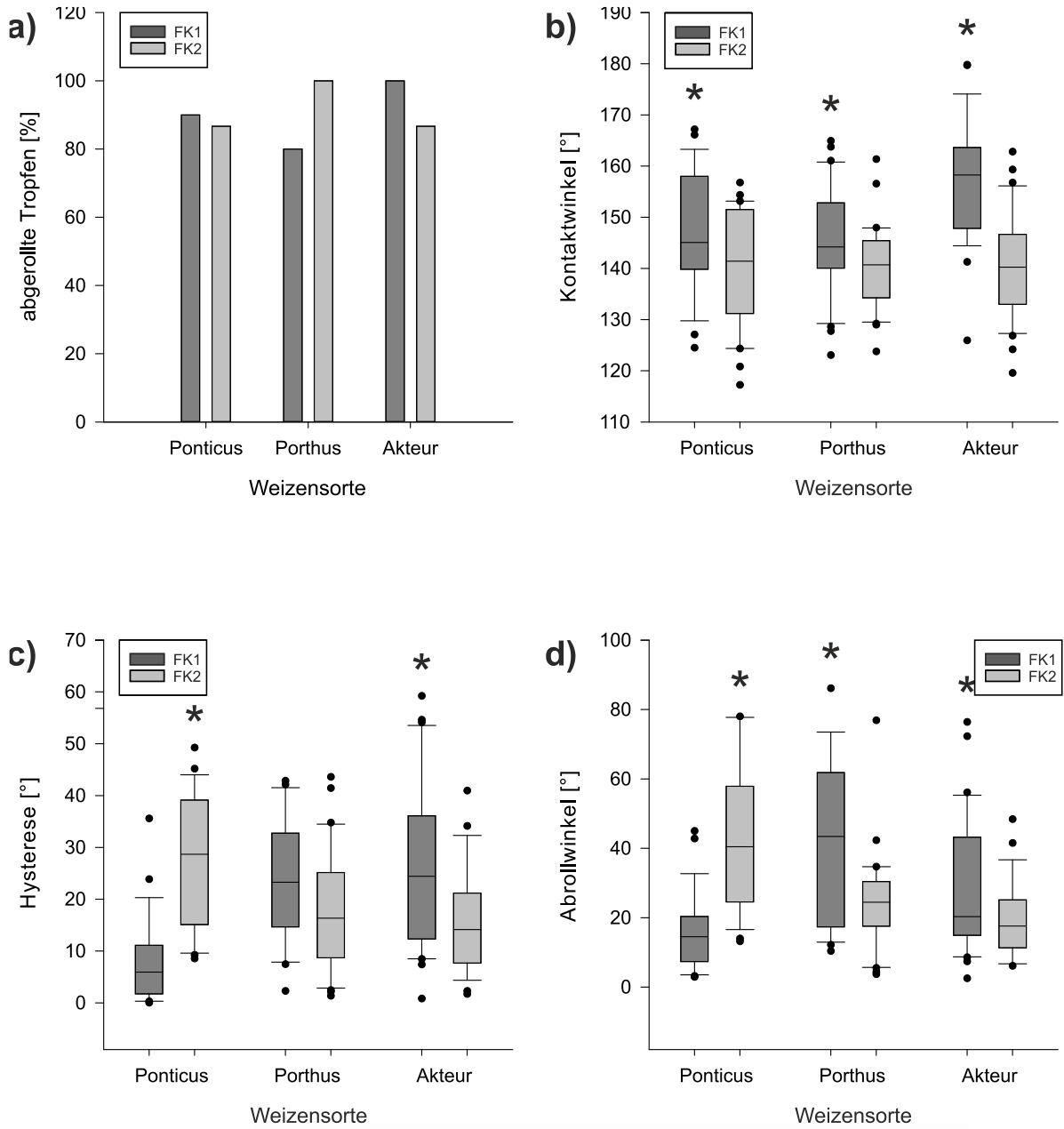
KW: Kontaktwinkel; Hyst: Hysterese; AW: Abrollwinkel; %: Anteil abgerollter Tropfen; Quotienten: Anzahl der gefundenen Unterschiede zu der Anzahl der Tests; Die Unterschiede waren alle signifikant ( $p < 0,05$ ) mit Ausnahme der mit dem \* gekennzeichneten Unterschiede bei der Anzahl der abgerollten Tropfen: Hier stand nur ein Datensatz zur Verfügung, sodass keine statistische Auswertung durchgeführt werden konnte. 2 - 4: Blatt 2 - 4, OS: Oberseite; US: Unterseite; FK 1: Freilandkultur 1; FK 2: Freilandkultur 2; Pon: Ponticus; Port: Porthus; Akt: Akteur

## Vergleich der Kulturen

Die Benetzbarkeit der Blätter der ersten und zweiten Freilandkultur wurde miteinander verglichen, um zu überprüfen, ob es Unterschiede zwischen den beiden Aussaaten gab (Tabelle 2.5 und Abbildung 2.23). Bei Ponticus rollten bei den Pflanzen der zweiten Aussaat mit 86,7 % fast genauso viele Tropfen ab wie bei den Pflanzen der ersten Aussaat mit 90 %. Bei Porthus rollten bei den Pflanzen der zweiten Aussaat alle Tropfen ab, bei der Ersten rollten mit 80 % weniger Tropfen ab. Bei Akteur war es umgekehrt: bei dieser Sorte rollten bei der zweiten Aussaat mit 86,7 % weniger Tropfen ab als bei der Ersten mit 100 % (Abbildung 2.23a).

Bei allen drei Sorten waren die Kontaktwinkel auf den Blättern der ersten Aussaat höher als bei der zweiten Aussaat. Am deutlichsten unterschieden sich die Kulturen der Sorte Akteur. Auf den Blättern der ersten Freilandkultur lagen die Kontaktwinkel bei  $157,0 \pm 11,9^\circ$  auf den Blättern der Zweiten lagen sie bei  $140,0 \pm 9,8^\circ$ . Die Kontaktwinkel der Sorten innerhalb der zweiten Kultur unterschieden sich nicht (Abbildung 2.23b).

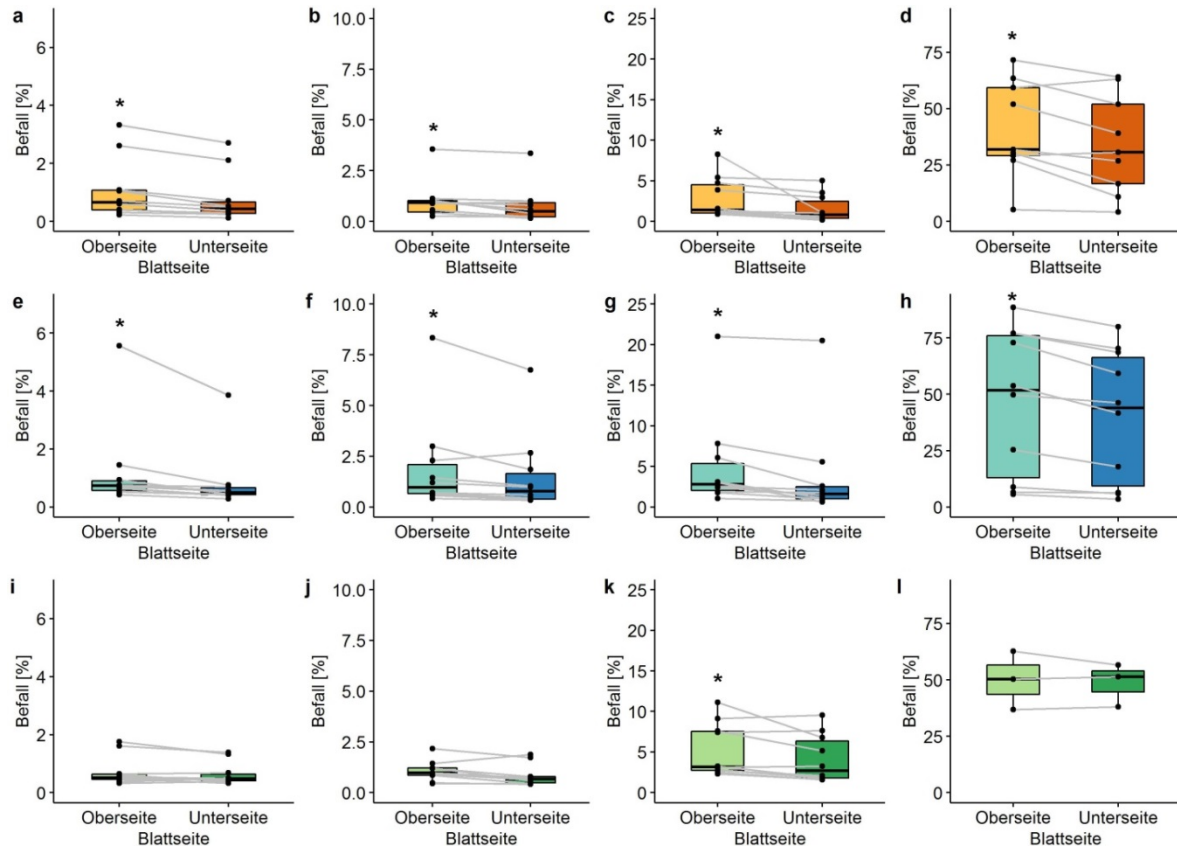
Bei den Hysteresen und bei den Abrollwinkeln waren die Unterschiede bei Ponticus umgekehrt zu denen bei Akteur (Abbildung 2.23c und d). Bei Akteur waren die Hysteresen und die Abrollwinkel auf den Blättern der ersten Freilandkultur (Hyst:  $26,2 \pm 15,8^\circ$ , AW:  $28,2 \pm 19,1^\circ$ ) größer als auf den Blättern der Zweiten (Hyst:  $15,7 \pm 10,3^\circ$ , AW:  $19,3 \pm 10,7^\circ$ ). Bei Ponticus waren beide Werte bei den Pflanzen der ersten Kultur niedriger (Hyst:  $8,2 \pm 8,3^\circ$ ; AW:  $15,7 \pm 10,8^\circ$ ) als bei den Pflanzen der zweiten Kultur (Hyst:  $27,2 \pm 12,6^\circ$ , AW:  $43,0 \pm 21,1^\circ$ ). Bei Porthus rollten, wie bei Akteur, die Tropfen auf den Blättern der ersten Freilandkultur erst bei höheren Kippwinkeln ( $41,8 \pm 23,3^\circ$ ) ab als auf den Blättern der zweiten Freilandkultur ( $24,2 \pm 13,9^\circ$ , Abbildung 2.23d).



**Abbildung 2.23: Benetzungseigenschaften der Weizenpflanzen der ersten und zweiten Freilandkultur;** a) Anteile der abgerollten Tropfen, b) Kontaktwinkel, c) Hysteresen und d) Abrollwinkel gemessen auf der Oberseite von Blatt 3; FK: Freilandkultur; Sternchen kennzeichnen signifikante Unterschiede der Werte ( $p < 0,05$ , getestet durch eine Wilcoxon Rangsummen Test).

### 2.2.7 Bestimmung der Krankheitsschwere

Bei allen drei Sorten wurde die Krankheitsschwere (Anteil der infizierten Fläche pro Blatt [%]) auf der Blattober- und auf der Blattunterseite des Fahnenblatts und darauffolgender Blätter untersucht. Die Pflanzen waren nicht nur von Mehltau, sondern auch von Rost und dem Getreidehähnchen befallen. Bei Ponticus und Porthus waren auf allen Blättern die Blattoberseiten stärker befallen als die Blattunterseiten (Abbildung 2.24a - d und e - h). Bei beiden Sorten wurde der größte Unterschied zwischen den Blattseiten mit 6,9 % (Ponticus) und 6,6 % (Porthus) auf dem dritten Blatt nach dem Fahnenblatt gefunden. Von Blatt -3 zu Blatt -1 wurden die Unterschiede geringer. So waren beispielsweise bei Ponticus auf dem zweiten Blatt  $2,9 \pm 2,5$  % (OS) und  $1,5 \pm 1,7$  % (US) befallen. Auf dem ersten Blatt waren es  $1,0 \pm 1,0$  % (OS) und  $0,8 \pm 0,9$  % (US). Bei der Sorte Akteur war nur auf dem zweiten Blatt nach dem Fahnenblatt die Oberseite stärker befallen ( $5,2 \pm 3,3$  %) als die Blattunterseite ( $4,1 \pm 2,9$  %) (Abbildung 2.24i - l). Bei dem Vergleich der einzelnen Sorten miteinander wurden bis auf eine Ausnahme, keine Unterschiede im Befall festgestellt. Nur auf der Blattunterseite des zweiten Blattes nach dem Fahnenblatt war Akteur mit  $4,1 \pm 2,9$  % stärker befallen als Ponticus ( $1,5 \pm 1,7$  %). Sortenübergreifend war das älteste Blatt (Blatt -3) auf beiden Blattseiten stärker befallen als die jüngeren Blätter. Auf den Blattoberseiten waren die Anteile der befallenen Fläche des Fahnenblattes (OS:  $1,1 \pm 1,2$ %) und des darauffolgenden Blattes (OS:  $1,4 \pm 1,8$  %) gleich. Auf den darauffolgenden Blättern nahm die befallene Fläche mit zunehmenden Blattalter zu (Blatt -2:  $3,8 \pm 4,4$  %, Blatt -3:  $44,8 \pm 25,6$  %). Auf den Blattunterseiten unterschied sich der Befall des ersten Blattes nach dem Fahnenblatt ( $1,1 \pm 1,5$  %) nicht von dem des Fahnenblattes ( $0,8 \pm 0,9$  %) und von dem des zweiten Blattes ( $2,6 \pm 4,3$  %). Das dritte Blatt nach dem Fahnenblatt war mit  $38,8 \pm 24,3$  % am stärksten befallen.



**Abbildung 2.24: Krankheitsschwere der Ober- und Unterseiten der einzelnen Blätter der verschiedenen Sorten;** a - d) Ponticus; e - h) Porthus; i - l) Akteur; a), e) und i) Fahnenblatt; b), f), und j) Blatt -1; c), g) und k) Blatt -2; d), h) und l) Blatt -3; Die Sterne indizieren einen signifikanten Unterschied der Krankheitsschwere der beiden Blattseiten ( $p < 0,05$ , getestet durch einen Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test). Die grauen Linien zeigen die verbunden Wertepaare an.

## 2.3 Diskussion

Pflanzliche Oberflächen besitzen durch die Kutikula und insbesondere durch die ihr aufgelagerten epikutikularen Wachse, spezifische physikochemische Eigenschaften, welche eine Rolle für die Keimung pathogener Pilze spielen können. Es stellt sich die Frage, ob sich die Oberflächen unterschiedlich anfälliger Sorten (Bundessortenamt 2016) einer Spezies in ihren physikochemischen Eigenschaften unterscheiden und ob diese durch die Anzuchtbedingungen beeinflusst werden. Das erste Kapitel dieser Arbeit beschäftigte sich daher mit der Charakterisierung der Wachsmorphologie, der Wachschemie und der Benetzbarkeit der Blattoberflächen dreier Weizensorten mit unterschiedlichen Anfälligkeiten gegenüber dem Erreger des Echten Mehltaus, welche in verschiedenen Kulturen angezogen wurden.

### 2.3.1 Untersuchung der Wachsmorphologie

Für Weizenblätter sind sowohl Schüppchen als auch Röhrrchen als Wachsstrukturen beschrieben (Adamski et al. 2013, Jeffree et al. 1975, Koch et al. 2006a, Netting und von Wettstein-Knowles 1973, Troughton und Hall 1967, von Wettstein-Knowles 1974). Es wurde daher zunächst die Morphologie der Wachskristalle der Weizenblätter untersucht, um zu prüfen welche der beiden Wachsstrukturen vorliegt. Auf den untersuchten Weizenblättern dieser Arbeit waren ausschließlich Schüppchen vorhanden (Abbildung 2.4). Dieses Ergebnis entsprach den Erwartungen, da Röhrrchen bei anderen Pflanzenorganen wie Blattscheiden, Halmen oder Spelzen (Netting und von Wettstein-Knowles 1973, von Wettstein-Knowles 1974, Wang et al. 2019, Wang et al. 2015) oder erst, auf den abaxialen Blattseiten der Fahnenblättern blaugrüner Pflanzen in einem späteren Entwicklungsstadium beschrieben sind (Netting und von Wettstein-Knowles 1973, von Wettstein-Knowles 1974).



### **Blattalter**

Es wurde überprüft, ob sich die Strukturen der untersuchten Blätter (Blatt 2, 3 und 4) unterscheiden: Die Wachsstrukturen können, abhängig von dem Blattalter oder dem Entwicklungsstadium der Pflanze, variieren (Troughton und Hall 1967). In der vorliegenden Arbeit wurden keine altersspezifischen Unterschiede in der Wachsmorphologie gefunden. Auf allen Blättern wurden jeweils nur Schüppchen gebildet (Abbildung 2.4). Das Fahnenblatt war noch nicht ausgebildet. Alle Blätter wurden zum selben Zeitpunkt, zum Ende der Bestockung, von einer Pflanze geerntet. Der Altersunterschied der Blätter betrug nur ca. 1 Woche. Alle Blätter befanden sich daher noch in einem ähnlichen Entwicklungsstadium, sodass keine altersbedingten Unterschiede in der Wachsmorphologie feststellbar waren.

### **Blattseiten**

Außerdem wurde untersucht, ob sich die Wachsstrukturen der beiden Blattseiten unterscheiden. Die Wachsstrukturen der abaxialen und adaxialen Blattseite der hier untersuchten Sorten unterschieden sich nicht, auf beiden Seiten wurden nur Schüppchen gebildet (Abbildung 2.4). Dies ist in Übereinstimmung mit anderen Studien über die Wachsstrukturen auf Weizenblättern: In Studien von Koch et al. (2006a) und Wang et al. (2015) wurden Pflanzen im gleichen Entwicklungsstadium untersucht wie in der vorliegenden Studie. Dort wurde ebenfalls ein Netzwerk aus dicht stehenden Wachs-schüppchen für beide Blattseiten beschrieben. In Studien von Troughton und Hall (1967), sowie von Netting und von Wettstein-Knowles (1973) und von von Wettstein-Knowles (1974) wurden auch auf beiden Blattseiten Schüppchen gefunden. Die Konturen der Schüppchenränder und die Verteilung der Wachsschüppchen waren aber auf beiden Seiten unterschiedlich. Gravierendere Unterschiede in der Wachsmorphologie zwischen der Blattoberseite und der Blattunterseite treten bei blaugrünen Sorten erst später im Laufe der Entwicklung auf. So wurden, im Gegensatz zur adaxialen Blattseite, auf der abaxialen Blattseite des Fahnenblattes Röhrchen identifiziert (Adamski et al. 2013, Bi et al. 2017, Netting und von Wettstein-Knowles 1973, Wang et al. 2019). In der Phase des Ährenschiebens können glänzende Sorten auf der abaxialen Blattseite sogar nur einen glatten Wachsfilm ohne dreidimensionale Wachsstrukturen aufweisen (Wang et al. 2015).

## Weizensorten

Da die Blattoberfläche und die, ihr aufgelagerten Wachse, den ersten Berührungspunkt zwischen einer Pilzspore und Pflanze darstellen, war es von besonderem Interesse, ob sich die Wachsstrukturen anfälliger Sorten und unanfälliger Sorten unterscheiden. Soweit bekannt, existiert keine Studie zum Vergleich der Morphologie der Wachsstrukturen auf Weizenblättern mit unterschiedlichen Anfälligkeiten gegenüber Mehltau. Bei den hier untersuchten Sorten wurden keine Unterschiede in der Wachsmorphologie festgestellt. Die Blattoberflächen der Sorten Ponticus (sehr geringe Anfälligkeit), Porthus (mittlere Anfälligkeit) und Akteur (hohe Anfälligkeit) zeigten alle Schüppchen (Abbildung 2.4). Eine ausführliche Studie über die Wachsmorphologie verschiedener Weizensorten wurde von Troughton und Hall bereits 1967 durchgeführt (Troughton und Hall 1967). Die Autoren schilderten neben Schüppchen auch Stäbchen auf den Blattoberflächen. Letztere wurden aber nicht auf jungen Blättern sondern auf Fahnenblättern beschrieben. Aufgrund der begrenzteren technischen Möglichkeiten waren aller Wahrscheinlichkeit nach die Öffnungen der Röhrchen in den REM Aufnahmen damals noch nicht zu erkennen.

In einigen Studien wurden, wie bereits erwähnt, sortenspezifische Unterschiede bei dem Vergleich zwischen blaugrünen und nicht blaugrünen bzw. glänzenden Sorten in späteren Entwicklungsstadien nachgewiesen. Die Unterschiede basierten auf der veränderten Wachsmorphologie der abaxialen Blattseite: Es konnte gezeigt werden, dass blaugüne Sorten auf den abaxialen Seiten Röhrchen bildeten. Nicht blaugüne Sorten bildeten keine Röhrchen (Adamski et al. 2013, Bi et al. 2016, Bi et al. 2017, Netting und von Wettstein-Knowles 1973, Wang et al. 2019, Wang et al. 2015, Zhang et al. 2013). Bei einer Studie von Lavergne et al. (2018) war es umgekehrt, dort bildete eine nicht blaugüne Sorte Röhrchen, die blaugüne Sorte bildete Schüppchen. Der blaugüne Phänotyp wurde vor dem Hintergrund der Trockenresistenz der Sorten betrachtet (Bi et al. 2016, Bi et al. 2017). Unterschiede in der Anfälligkeit gegenüber Pilzen bei blaugrünen und nicht blaugrünen Sorten wurden in keiner der genannten Studien beschrieben.

Im Gegensatz zu den genannten Studien waren die hier untersuchten Weizenpflanzen zum Zeitpunkt der Untersuchung noch in der vegetativen Entwicklungsphase und alle Blätter grün. Es passt daher ins Bild, dass keine Unterschiede festgestellt wurden. Das

frühe Entwicklungsstadium der Weizenpflanzen wurde gewählt, da je nach Befallsstärke in diesem Entwicklungsstadium ggf. die Erstbehandlung mit Fungiziden erfolgt (Rodemann 2009). Es war nicht auszuschließen, dass Unterschiede vorliegen, da Wachsstrukturen durchaus eine Rolle bei der Interaktion zwischen Pflanzen und Pathogenen spielen können. Eine Studie mit verschiedenen Zwiebelsorten (*Allium cepa*) zeigte auf den Sorten mit weniger Wachsstrukturen auf den Blättern eine höhere Resistenz gegenüber Zwiebelthripsen (*Thrips tabaci*) (Damon et al. 2014). Auch in der Interaktion mit Pilzen wurde ein Einfluss der Wachsstrukturen nachgewiesen: Bei Weidelgras (*Lolium* sp.) entwickelt sich Mehltau ausschließlich auf der Blattoberseite, welche Wachsschüppchen aufweist und nicht auf der Blattunterseite, die mit einer amorphen Wachsschicht bedeckt ist (Carver et al. 1990). Auch Studien mit Gerstenmutanten mit weniger epikutikularen Wachsstrukturen, zeigten den Einfluss der Wachsstrukturen auf die Interaktion mit Mehltau: Auf den Blättern der Pflanzen, die die Mutation trugen, wurde im Vergleich zu Blättern der Wildtyppflanzen eine verminderte Keimungsfähigkeit von *B. graminis* f. sp. *hordei* festgestellt (Li et al. 2018, Weidenbach et al. 2014).

## **Kulturen**

Abiotische Faktoren, wie Temperatur, Luftfeuchtigkeit, Luftverschmutzungen, und Strahlungsenergie, können Veränderungen in der Wachsmorphologie verursachen (Baker 1974, Jetter et al. 1996, Koch et al. 2006c). Daher wurden die Weizenpflanzen unter verschiedenen Bedingungen kultiviert und deren Wachsmorphologie untersucht. In der vorliegenden Arbeit wurde kein Einfluss der Kulturbedingungen auf die Wachsmorphologie beobachtet. Sowohl die Gewächshauspflanzen als auch beide Freilandpflanzen wiesen die gleichen Wachsstrukturen (Schüppchen) auf. Jedoch waren die Wachsstrukturen deutlich beschädigt. Die Schäden könnten durch den Abrieb durch Regentropfen oder durch das Aneinanderreiben der Blätter durch Wind verursacht worden sein. So zeigte beispielsweise eine Studie mit simulierten Regen eine Reduktion der Wachsmenge bis zu 50 % (Tanakamaru et al. 1998). Zudem waren die Pflanzen der Freilandkultur im Gegensatz zu den Pflanzen der Gewächshauskultur von Rostpilzen und Mehltau befallen. Nur die Gewächshauskultur ermöglichte eine Anzucht unter definierten

und geschützten Bedingungen. Die Aussaaten im Freiland boten allerdings den Vorteil die Pflanzen unter möglichst realistischen Kulturbedingungen anzuziehen.

Die Wachsmorphologie zeigte somit keine ökologische Variabilität, sondern scheint stark genetisch fixiert zu sein. Sowohl abiotische wie biotische Faktoren beeinflussten die Wachsmorphologie der Weizenblätter nicht.

### **2.3.2 Extraktion der Wachse**

Die Extraktionszeiten und Wachsausbeuten variieren von Spezies zu Spezies (Riederer und Markstädter 1996). Übliche Extraktionszeiten für epikutikulare Wachse liegen zwischen 10 und 30 s (Kolattukudy und Walton 1973). Bei langen Extraktionszeiten kann das Lösungsmittel in die Kutikula diffundieren und auch intrakutikuläre Wachse lösen. Bei dieser Arbeit standen jedoch die epikutikulären Wachse im Fokus, es wurden 20 s als Extraktionszeit gewählt. Die rasterelektronischen Aufnahmen der extrahierten Blätter zeigten eine Oberfläche frei von dreidimensionalen Wachsstrukturen (Abbildung 2.7). Die chemische Zusammensetzung epikutikularer Wachse kann durch eine mechanische Abhebung selektiv untersucht werden. So zeigten verschiedene Studien, dass sich das epikutikuläre Wachs chemisch von dem intrakutikulären Wachs unterscheidet (Buschhaus und Jetter 2011). Während zyklische Komponenten wie Triterpenoide hauptsächlich in intrakutikulären Wachsen nachgewiesen wurden, kommen aliphatische Kohlenwasserstoffe sowohl in intrakutikulären als auch in epikutikulären Wachsen vor (Jetter et al. 2000, Jetter und Schäffer 2001, Zeisler-Diehl et al. 2018, Zeisler und Schreiber 2015). Neben den REM Aufnahmen der extrahierten Blattoberflächen wurden daher die Ergebnisse der lösungsmittelbasierten Wachsanalyse mit den Ergebnissen der Wachsanalyse mechanisch abgehobener Wachse verglichen, um auszuschließen, dass ebenfalls intrakutikuläre Wachse gelöst wurden. Wie die Analyse mechanisch abgehobener Wachse zeigte die Analyse der extrahierten Wachse keine Hinweise auf intrakutikuläre Wachssubstanzen. Es wurden keine für intrakutikuläre Wachse typischen zyklischen Substanzen nachgewiesen. Zusammen mit den REM Aufnahmen der extrahierten Blätter legt dieses Ergebnis nahe, dass durch die 20 Sekunden lange Extraktion kein intrakutikuläres Wachs gelöst wurde. Eine Analyse des Restwachses nach der mechanischen Abhebung der epikutikulären Wachse könnte diese Annahme bestätigen.

Frühere Studien, die zum Vergleich der Wachskemie von Weizen herangezogen werden können, verwendeten meistens längere Extraktionszeiten und beschreiben daher eher die Zusammensetzung der gesamten kutikularen Wachse. Darunter waren einige wenige Studien (Adamski et al. 2013, Bi et al. 2017, Koch et al. 2006a, Racovita et al. 2016) die geringe Mengen zyklischer Substanzen als Weizenwachskomponenten beschrieben. Eine spezifische Untersuchung intrakutikularer und epikutikularer Weizenwachse liegt in der Literatur nicht vor. Eine Studie bei Gerste zeigte keine Unterschiede in der Wachszusammensetzung intra- und epikutikularer Wachse (Zabka et al. 2008).

Es ist zu erwähnen, dass der Anteil des C<sub>28</sub> Alkohols im abgehobenen Wachs etwas höher (4,4 %) war als in dem extrahierten Wachs (Abbildung 2.8). Bei der ersten Abhebung werden vor allem die äußersten, exponierten Strukturen des epikutikularen Wachses abgehoben. Bei Weizen sind das die Wachsschüppchen, dessen strukturgebende Komponente der C<sub>28</sub> Alkohol ist. Bei einer Extraktion hingegen kann das Lösungsmittel das epikutikulare Wachs sehr gleichmäßig mobilisieren. Das könnte ein Grund dafür sein, dass der Anteil des schüppchenbildenden Alkohols im Wachs, welches durch das Kollodium abgehoben wurde, leicht erhöht ist. Interessanterweise ist auch der Anteil des C<sub>28</sub> Aldehyds leicht erhöht (+3 %, Abbildung 2.8), das könnte ebenfalls für eine exponierte Lokalisation sprechen. Diese Vermutungen wurden im Rahmen dieser Arbeit nicht überprüft. Ausführliche Untersuchungen wie eine Extraktionskinetik, die Analyse mehrerer Abhebungen mit Kollodium oder eine selektive Abhebung der Wachsschüppchen durch gefrorenes Glycerol (Ensikat et al. 2000) könnten stichhaltigere Informationen dazu liefern.

### 2.3.3 Untersuchung der Wachszusammensetzung

Neben der Wachsmorphologie wurde die Wachszusammensetzung der Weizensorten untersucht, um zu prüfen, ob es sortenspezifische, alters- oder kulturbedingte Unterschiede in der Wachszusammensetzung gab.

Das extrahierte Weizenwachs setzte sich aus Alkoholen, Aldehyden Säuren und Estern zusammen. Alkohole stellten die größte Substanzklasse dar. Die Hauptkomponente bildete der C<sub>28</sub> Alkohol, 1-Octacosanol. Die Ergebnisse stimmen damit mit früheren

Studien über die Wachscheme von Weizen überein. (Hansjakob et al. 2010, Koch et al. 2006a, Netting und von Wettstein-Knowles 1973, Tulloch 1973).  $\beta$ -Diketone wurden nicht identifiziert. Das bestätigt die Ergebnisse der Morphologie Untersuchung (2.2.1).  $\beta$ -Diketone sind Komponenten röhrenbildender Wachse (Barthlott et al. 1998, Baum et al. 1989, Meusel et al. 2000). Auf den hier untersuchten Blättern wurden ausschließlich Schüppchen identifiziert, dessen strukturgebende Komponente 1-Octacosanol ist (Koch et al. 2006a).  $\beta$ -Diketone wurden nur in Wachsen von Blättern in späteren Entwicklungsstadien und anderer Pflanzenorgane nachgewiesen (Bi et al. 2017, Bianchi et al. 1980, Netting und von Wettstein-Knowles 1973, Racovita et al. 2016, Tulloch 1973, Wang et al. 2015, Zhang et al. 2015). Nur in einer Studie wurden  $\beta$ -Diketone auch bei der Wachszusammensetzung noch junger Weizenblätter aufgeführt (Almihanna und Lösel 1995). Auch Alkane, welche in einigen anderen Studien im Weizenwachs nachgewiesen wurden, waren hier kein Bestandteil des Wachses (Adamski et al. 2013, Bi et al. 2017, Bianchi et al. 1980, Hansjakob et al. 2010, Koch et al. 2006a, Wang et al. 2015). Bei den Studien wurden andere Sorten und andere Entwicklungsstadien untersucht. Beide Faktoren spielen eine Rolle bei der Wachszusammensetzung: Der Anteil der Alkane kann von Sorte zu Sorte variieren, und bei Trockenstress zunehmen (Bi et al. 2017). Auch im Laufe der Entwicklung kann der Anteil der Alkane steigen und die Verteilung einzelner Kettenlängen kann sich verändern (Bi et al. 2017).

### **Blattalter**

Ontogenetische Effekte können immer einen Einfluss auf die Wachszusammensetzung haben (Riederer und Markstädter 1996). Beispielsweise wurden für den Kirschlorbeer (*Prunus laurocerasus*) und für den Apfel (*Malus domestica*) Veränderungen der Wachszusammensetzung durch die Änderung der dominierenden Substanzklasse beschrieben (Bringe et al. 2006, Jetter und Schäffer 2001). Auch bei Weizen können die Anteile der Alkohole, der  $\beta$ -Diketone und der Alkane im Laufe der Entwicklung variieren (Tulloch 1973). Bei den Pflanzen der Gewächshauskultur wurde daher die Zusammensetzung der epikutikularen Wachse unterschiedlich alter Blätter analysiert, um zu testen, ob sie sich unterscheiden. Die Gesamtwachsmengen stiegen von Blatt 2 zu Blatt 4 an. Die Zunahme der Wachsmengen war gleichmäßig über alle Substanzklassen verteilt, sodass

es in der relativen Wachszusammensetzung keine nennenswerten Unterschiede gab. Die Anteile des C<sub>28</sub> Alkohols und des C<sub>28</sub> Aldehyds waren in allen drei Blättern gleich (Abbildung 2.10). Die Blätter zeigten keine Unterschiede in der Wachszusammensetzung. Das bestätigt die Ergebnisse der Untersuchung der Wachsmorphologie. Alle untersuchten Blätter (Blatt 2 - 4) bildeten Schüppchen. Die Blätter waren alle in einem frühen Entwicklungsstadium, in dem noch keine Veränderung der Wachszusammensetzung stattgefunden hatte. Änderungen der Wachszusammensetzung wurden bei Pflanzen beschrieben, die in einem höheren Reifestadium waren, als die hier untersuchten Pflanzen (Netting und von Wettstein-Knowles 1973, Tulloch 1973, Wang et al. 2015).

### **Weizensorten**

Die Wachszusammensetzung der drei verschiedenen Sorten wurde untersucht, um zu prüfen, ob sich die Wachszusammensetzungen anfälliger und unanfälliger Sorten voneinander unterscheiden. Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigten keine Unterschiede in der Wachskemie, die einen Zusammenhang mit den unterschiedlichen Anfälligkeiten erkennen ließen (Abbildung 2.11, Abbildung 2.12 und Abbildung 2.13).

Unterschiede zwischen den Sorten wurden oftmals bei nicht relevanten Stoffgruppen wie Säuren und Estern festgestellt. Diese Substanzklassen wurden nur in sehr niedrigen Mengen unter 0,5 µg/cm<sup>2</sup> nachgewiesen, ihnen wird keine signalgebende oder strukturbildende Funktion zugeschrieben (Hansjakob et al. 2010, Koch et al. 2006a). Die geringfügigen Unterschiede ließen keinen Zusammenhang zu dem Grad der Anfälligkeit erkennen. Zwar unterschied sich in manchen Substanzen Ponticus von den beiden anfälligeren Sorten, ebenso gab es aber auch Gemeinsamkeiten zwischen Ponticus und Akteur.

Die Gesamtwachsmengen und die Rangfolgen der Substanzklassen waren bei allen drei Sorten in allen drei Kulturen gleich. Das epikutulare Wachs der verschiedenen Sorten bestand größtenteils aus Alkoholen. Aldehyde bildeten bei allen drei Sorten die zweitstärkste Gruppe nach den Alkoholen (Abbildung 2.11, Abbildung 2.12 und Abbildung 2.13). Im Gegensatz dazu hat eine frühere Studie über die Wachszusammensetzung mehrerer Weizensorten, bei resistenten Sorten eine höhere Gesamtwachsmenge festgestellt als bei weniger resistenten Sorten (Almihanna und Lösel

1995). Auch die Zusammensetzung des Wachses war unterschiedlich, aber auch dort waren die Unterschiede nicht nach Anfälligkeiten abgestuft. Sowohl bei resistenten als auch bei anfälligen Sorten bestand das Wachs größtenteils aus Alkanen. Bei mäßig resistenten Sorten bildeten Alkohole die stärkste Substanzklasse.

In der vorliegenden Arbeit war bei allen drei Sorten der C<sub>28</sub> Alkohol mit Abstand die Hauptkomponente des Wachses, die jeweiligen Anteile dieses Alkohols waren aber verschieden. Akteur hatte in allen drei Sorten den höchsten Anteil des C<sub>28</sub> Alkohols. Neben dem C<sub>28</sub> Alkohol waren auch die Anteile des C<sub>26</sub> Alkohols in allen drei Kulturen unterschiedlich (Abbildung 2.11, Abbildung 2.12 und Abbildung 2.13). Interessanterweise wurde für den C<sub>26</sub> Alkohol auch eine positive Wirkung auf die Keimung von *B. graminis* f. sp. *hordei* beschrieben (Hansjakob et al. 2010). Von diesem Alkohol hatte die unanfälligste Sorte Akteur allerdings jeweils den niedrigsten Anteil. Die Wachsanalyse zeigte, dass mit dem höheren Anteil des C<sub>28</sub> Alkohols ein verringerter Anteil des C<sub>26</sub> Alkohols einherging. Bei Porthus wurde der umgekehrte Trend beobachtet: Die Reduktion des C<sub>28</sub> Alkohols trat gleichzeitig mit einem Anstieg des C<sub>26</sub> Alkohols auf (Abbildung 2.11, Abbildung 2.12 und Abbildung 2.13). Bei Ponticus ließen die Ergebnisse der Wachsuntersuchung der zweiten Freilandkultur erkennen, dass eine Reduktion des C<sub>28</sub> Alkohols von einem Anstieg des C<sub>30</sub> Alkohol begleitet wurde (Abbildung 2.13). Diese Beobachtungen weisen bei den verschiedenen Sorten auf eine Verschiebung der Kettenlängen der Alkohole hin.

Eine erfolgreiche Keimung stellt den Beginn einer Mehltauinfektion dar. Verschiedene Studien haben gezeigt, dass Aldehyde und insbesondere der C<sub>26</sub> Aldehyd und auch der C<sub>28</sub> Aldehyd die Keimentwicklung von *B. graminis* fördern (Hansjakob et al. 2010, Hansjakob et al. 2011, Kong und Chang 2018, Ringelmann et al. 2009, Simpson 2010, Tsuba et al. 2002, Wang et al. 2018, Weidenbach et al. 2014, Zabka et al. 2008). Das legte die Vermutung nahe, dass das Wachs anfälliger Sorten mehr signalgebende Komponenten wie dem C<sub>28</sub> Aldehyd oder dem C<sub>26</sub> Aldehyd enthält als das weniger anfälliger Sorten, sodass bei anfälligen Sorten eine erhöhte Keimung stattfindet, was schließlich zu einem schwereren Verlauf der Krankheit führt. Diese Vermutung konnte hier nicht bestätigt werden. Die absoluten Mengen des C<sub>28</sub> Aldehyds wurden bei den verschiedenen Sorten nur bei der ersten Freilandkultur in unterschiedlichen Mengen gefunden: Die höchste



Menge des C<sub>28</sub> Aldehyds wurde bei der unanfälligesten Sorte Ponticus festgestellt. Auch in Bezug auf die Gesamtwachsmenge wurde im Wachs der Sorte Ponticus ein höherer Anteil des C<sub>28</sub> Aldehyds festgestellt, als bei einer der beiden anderen Sorten (Abbildung 2.12). Die absoluten Mengen und die relativen Anteile des C<sub>26</sub> Aldehyds waren in der Gewächshauskultur bei allen drei Sorten, bei den Freilandkulturen bei jeweils zwei Sorten unterschiedlich. Die anfälligste Sorte Akteur hatte jeweils die niedrigste Menge und den niedrigsten Anteil dieses Aldehyds (Abbildung 2.11, Abbildung 2.12 und Abbildung 2.13). Auch das spricht gegen die eingangs gestellte Hypothese, dass das Wachs anfälliger Sorten mehr Botenstoffe enthält als das resistenter Sorten. Unter der Annahme, dass Aldehyde keiminduzierende Substanzen sind, würde die Keimung des Pilzes auf unanfälligen und auf anfälligen Sorten gleichermaßen angeregt. Somit wäre die Keiminduktion auf den Blättern resistenter Sorten nicht schwächer als auf den Blättern anfälliger Sorten. Daraus ließe sich schlussfolgern, dass bei resistenten Sorten die Widerstandskraft auf einer stärkeren Abwehrreaktion beruht und nicht auf einer abgeschwächten Keiminduktion. Bemerkenswerterweise haben Keimungsversuche von *B. graminis* f. sp. *tritici* auf Weizen und auf der Nicht-Wirtspflanze Gerste, trotz Unterschieden in der Wachszusammensetzung, keinen Unterschied im Keimerfolg gezeigt (Hansjakob et al. 2010). Die Kettenlängen der einzelnen Substanzklassen waren im Gerstenwachs meistens um zwei Kohlenstoffatome kürzer als im Weizenwachs. Daraus könnte wiederum abgeleitet werden, dass nur gravierende Unterschiede der Wachskemie das Keimverhalten beeinflussen oder, dass die Wachszusammensetzung nicht entscheidend für den Keimerfolg ist. Carver und Thomas (1990) nahmen nach Experimenten mit verschiedenen f. sp. auch an, dass nicht spezifische Eigenschaften der Kutikula entscheidend für die Erkennung sind.

### **Kulturen**

Wie in der Diskussion der Alkoholzusammensetzung der Wachse erwähnt, kann es von Bedeutung sein, welche der drei Weizenkulturen betrachtet wurde. Es wurde daher überprüft, ob es Unterschiede in der Wachszusammensetzung aufgrund der Anzuchtsbedingungen gab. Neben den Anzuchtsbedingungen könnte auch der unterschiedliche Gesundheitszustand der Pflanzen einen Einfluss auf die Wachszusammensetzung gehabt

haben, da die Pflanzen der Freilandaussaat stark mit Mehltau, Rost und dem Getreidehähnchen befallen waren. In einer früheren Studie wurde bei Weizenpflanzen nach einer Inokulation mit *B. graminis* bei anfälligen Sorten eine erhöhte Wachsmenge festgestellt (Almihanna und Lösel 1995). Eine mögliche Veränderung der Wachsbelegung oder Zusammensetzung durch den Pathogenbefall wurde in der vorliegenden Arbeit aber nicht festgestellt. Die Analysen zeigten kaum Unterschiede in der Wachskemie der Pflanzen der Gewächshauskultur und der der ersten Freilandkultur (Abbildung 2.14). Zur Absicherung wurde eine zweite Kultur im Freien angezogen. Die zweite Kultur wurde im Gegensatz zur ersten nicht im Frühjahr, sondern im Herbst ausgesät. Die Pflanzen dieser Aussaat waren weniger stark befallen als die der ersten Aussaat. Im Wachs der Pflanzen der zweiten Freilandkultur waren größere Mengen des C<sub>28</sub> Alkohols und des C<sub>28</sub> Aldehyds enthalten als in dem der Pflanzen der ersten Freilandkultur. Auch die Mengen einiger (Ponticus und Porthus) oder fast aller (Akteur) Substanzen war erhöht, sodass die Pflanzen der zweiten Freilandkultur insgesamt eine höhere Wachsbelegung hatten als die der Ersten (Abbildung 2.15). Studien haben gezeigt, dass höhere Temperaturen, eine verringerte Luftfeuchte, erhöhte UV-Strahlung oder Trockenstress zu einer erhöhten Wachsbelegung führen können (Baker 1974, Bi et al. 2017, Huggins et al. 2018, Mohammed et al. 2018). Da die Pflanzen der ersten Freilandkultur über die Sommermonate hinweg herangewachsen waren, könnten diese Faktoren die Wachsmengen der Pflanzen beeinflusst haben. Die Wachszusammensetzung der Pflanzen der ersten und zweiten Freilandkultur hatte sich teilweise verändert. Wie im vorangegangenen Abschnitt für die Alkohole bereits beschrieben, waren die Unterschiede aber von Sorte zu Sorte verschieden. Der Anteil des C<sub>28</sub> Aldehyds war nur bei Porthus im Wachs der zweiten Freilandkultur erhöht. Eine Verschiebung der prozentualen Anteile der Substanzklassen wurde in keiner der drei Sorten beobachtet. Im Einklang mit den Ergebnissen der Untersuchung der Wachsmorphologie scheint die Wachszusammensetzung von Weizen stark genetisch fixiert zu sein und wenig durch Umweltfaktoren beeinflusst zu sein, da biotische (Befall mit Krankheitserregern) und abiotische Faktoren (Anbauweise, Jahreszeit) kaum zu einer Veränderung geführt hatten.

### 2.3.4 Untersuchung der Benetzungseigenschaften

Die relative Luftfeuchte und die Oberflächenfeuchte spielen eine entscheidende Rolle bei der Entwicklung von Pilzkrankungen bei Pflanzen (Huber und Gillespie 1992). Daher wurde neben der Wachsmorphologie und der Wachschemie auch die Benetzbarkeit der verschiedenen Weizenblätter untersucht. Es wurde zudem überprüft inwieweit das Blattalter, die Blattseite, die Blattaderung oder die Weizensorte die Benetzbarkeit beeinflussten und ob das Benetzungsverhalten richtungsabhängig war. Oftmals werden zur Beschreibung der Benetzbarkeit nur die Kontaktwinkel verwendet. Die alleinige Angabe der Kontaktwinkel zur Beschreibung der Benetzbarkeit kann jedoch irreführend und unzureichend sein (Ras et al. 2017, Taylor 2011). Ein Tropfen mit hohem Kontaktwinkel kann beispielsweise je nach Benetzungszustand auf einer geneigten Oberfläche haften bleiben oder leicht abrollen. Daher wurden in der vorliegenden Arbeit auch die Kontaktwinkelhysterese, der Anteil der abgerollten Tropfen und die Abrollwinkel der Weizenblätter ermittelt.

Die hier untersuchten Weizenblätter hatten eine kaum benetzbare hydrophobe, teils superhydrophobe, Oberfläche. Die Kontaktwinkel lagen zwischen  $127,5 \pm 13,6^\circ$ , und  $164,7 \pm 15^\circ$  (Abbildung 2.18) und sind damit in Übereinstimmung mit früheren Studien (Dorr et al. 2015, Holloway 1970, Netting und von Wettstein-Knowles 1973, Peirce et al. 2016).

#### Selbstreinigung

Im Gegensatz zu Stosch et al. (2007) und Cerman (2007) können die hier untersuchten Weizenblätter nicht als selbstreinigende Oberflächen bezeichnet werden. Viele Blätter wiesen zwar Kontaktwinkel über  $150^\circ$  auf, jedoch erfüllten sie nicht die Bedingungen einer kleinen Hysterese und eines geringen Abrollwinkels unter  $10^\circ$ . Auf Blättern, die sehr geringe Hysteresen oder Abrollwinkel aufwiesen, lagen die Kontaktwinkel unter  $150^\circ$ . Die Hysteresen reichten von  $8,2 \pm 8,3^\circ$  bis hin zu  $58,3 \pm 7,4^\circ$  (Abbildung 2.19). Die Abrollwinkel lagen zwischen  $10,8 \pm 7,2^\circ$  und  $58,7 \pm 28,2^\circ$  (Abbildung 2.21). Vergleichbare Werte zu Abrollwinkeln auf Weizenblättern liegen in der Literatur leider nicht vor. Stosch et al. (2007) und Cerman (2007) bestimmten die Fähigkeit der Weizenblätter zur Selbstreinigung durch die Analyse der Restbeschmutzung der Oberflächen bei Ver-

schmutzungsversuchen. Vor dem Hintergrund der Wirkstoffapplikation und -aufnahme untersuchte eine weitere Studie die Retention applizierter Tropfen auf Weizenblättern (Peirce et al. 2016). Dort wurden ebenfalls hohe Kontaktwinkel und sehr geringe Hysteresen festgestellt, was für die Fähigkeit zur Selbstreinigung spricht. Die untersuchten Pflanzen wurden im Gegensatz zu den hier untersuchten Pflanzen nicht im Freiland sondern im Gewächshaus angezogen. Durch die Witterung verursachte Schadstellen auf den Blättern können möglicherweise die Ursache für die größeren Hysteresen und Abrollwinkel und deren hohen Standardabweichungen sein.

## **Richtungsabhängigkeit**

### ***Kontaktwinkel und Hysteresen***

Die Spannbreite der Werte der Benetzungsparameter war recht hoch. Die unterschiedlichen Werte lassen sich auch teilweise durch die Richtungsabhängigkeit der Messung der Benetzbarkeit der Weizenblätter erklären. So wurde beispielsweise die höchste Hysterese in Blickrichtung längs zur Blattaderung gemessen, die niedrigste in Blickrichtung quer. Wenigstens bei der Hälfte der Proben waren sowohl die Hysteresen als auch die Kontaktwinkel in Blickrichtung quer zur Blattaderung kleiner als in Blickrichtung längs zur Blattaderung. Auch die übrigen Proben zeigten einen ähnlichen Trend (Abbildung 2.18). Weizenblätter sind, durch die für Monokotyle typische parallele Blattnervatur und die elongierte Form der Epidermiszellen, anisotrope Oberflächen. Im Gegensatz zu isotropischen Oberflächen (gleich in alle Richtungen), ist die Benetzung auf anisotropen Oberflächen oftmals richtungsabhängig, sie kann sich, je nachdem aus welcher Richtung sie gemessen wurde, unterscheiden (Kubiak und Mathia 2014). Wie auch in dieser Arbeit beobachtet, ist der Kontaktwinkel senkrecht zur Struktur meist kleiner als der Kontaktwinkel parallel zur Struktur (Ma et al. 2013). Tropfen auf einer anisotropen Oberfläche nehmen eine andere Form an als Tropfen auf einer isotropen Oberfläche. Durch Kapillarkräfte sind die Tropfen in Blickrichtung quer zur Blattaderung in die Breite gezogen, in Blickrichtung längs zur Blattaderung sind sie gestaucht, wodurch sich die Kontaktwinkel der beiden Richtungen unterscheiden (Chen et al. 2005).

Auch das Abrollverhalten war anisotrop: Longitudinal rollten mehr Tropfen ab als transversal (Abbildung 2.20). Das passt zu der kleineren Hysterese (Blickrichtung quer) bei dieser Kipprichtung (Abbildung 2.19). Die Abrollrichtung entlang der Blattaderung entspricht der natürlichen Abrollrichtung eines Wassertropfens auf einem Weizenblatt. Durch die natürliche Biegung des Weizenblattes ist das Blatt zur Basis und zur Spitze geneigt. Dadurch rollen die Tropfen naturgemäß eher entlang der Blattaderung in Richtung eines Blattendes ab, als quer zur Blattaderung zur Seite des Blattes.

### ***Trichome***

Bei einigen Pflanzenarten sind Trichome entweder zur Blattbasis oder zur Blattspitze ausgerichtet (Vermeij 2015). Es wäre denkbar, dass dadurch Wasser auf der Blattoberfläche bevorzugt in eine Richtung abgeleitet wird. In der vorliegenden Studie ließ sich kein Einfluss der Trichome auf das Abrollverhalten der Tropfen erkennen. Die Weizenblätter verfügten über nadelförmige und hakenförmige Trichome. Mit bloßem Auge waren sie bei den hier untersuchten Blättern kaum sichtbar. Die REM Aufnahmen und die mikroskopischen Bilder des Goniometers der Weizenblätter lieferten kein eindeutiges Ergebnis zu deren Orientierung. Die applizierten Wassertropfen (Tropfenvolumen: 5  $\mu$ l) waren um ein Vielfaches größer als die Trichome. Es wirkte als wären die Trichome von dem Wassertropfen umschlossen. Bei einer Neigung der Oberfläche rollten die Tropfen über die Trichome hinweg. Dabei machte es keinen Unterschied, ob die Blätter zur Basis oder zur Spitze gekippt wurden (Abbildung 2.16). Bei sehr haarigen Blättern kann die Benetzbarkeit je nach Wachsbelegung der Trichome stark variieren. Bei Trichomen mit Wachsen kann das Wasser nicht zwischen die Trichome eindringen, sodass die Benetzbarkeit der Oberfläche stark reduziert ist. Im Gegensatz dazu kann bei Trichomen ohne Wachse Wasser nach kurzer Zeit die Behaarung durchdringen, sodass in manchen Fällen das gesamte Indument durchnässt wird (Koch und Barthlott 2009, Koch et al. 2009a, Neinhuis und Barthlott 1997).

### ***Abrollwinkel***

Einige Blütenblätter, Gräser und Reisblätter weisen ebenfalls eine anisotrope Benetzung auf. Allen gemein ist eine parallele Oberflächenstruktur (Koch et al. 2013, Wu et al. 2010,

Wu et al. 2011). Wie das Lotusblatt verfügen Reisblätter über eine superhydrophobe Oberfläche mit hierarchischen Strukturen (Nishimoto und Bhushan 2013). Auf Reisblättern sind die wenige Mikrometer großen Papillen im Gegensatz zu Lotus aber parallel zum Blattrand angeordnet (Feng et al. 2002), sodass die Bewegung der Tropfen in eine Richtung geleitet wird. Wassertropfen rollen also leichter entlang der parallelen Strukturen als senkrecht dazu; sie werden so zur Pflanze hin geleitet. Der Abrollwinkel der Tropfen, die sich entlang der Strukturen bewegten war geringer als derer, die sich senkrecht dazu bewegten (Wu et al. 2011). Bei den hier untersuchten Weizenblättern waren, trotz der parallelen Blattnervatur und der elongierten Zellform, die Abrollwinkel bis auf drei Ausnahmen jedoch bei beiden Kipprichtungen (longitudinal und transversal) gleich. Durchschnittlich rollten die Tropfen bei  $31,4 \pm 9,4^\circ$  ab (Abbildung 2.21). Weizenblätter stehen in einem spitzen Winkel zur Blattachse und beginnen sich ab einer gewissen Länge zu biegen. Die longitudinale Kipprichtung entspricht daher der natürlichen Neigung des Blattes. Die Hysteresen waren bei dieser Kipprichtung geringer als in transversaler Kipprichtung (Abbildung 2.19). Daher war es entgegen der Erwartungen, dass die Abrollwinkel der beiden Kipprichtungen gleich waren (Abbildung 2.21). Jedoch muss bedacht werden, dass bei transversaler Kipprichtung mehr Tropfen auf dem Blatt haften blieben als bei der longitudinalen Kipprichtung (Abbildung 2.20).

### ***Benetzungsstadium***

Auf Reisblättern sind Tropfen in einem Cassie-Benetzungsstadium, sodass sie leicht abrollen können (Wu et al. 2011). Auf Blütenblättern rollen Tropfen in der Regel jedoch nicht ab (Koch et al. 2013). Bei dem sogenannten „Petal effect“ weisen Tropfen sowohl hohe Kontaktwinkel als auch hohe Hysteresen auf, sodass die Tropfen selbst bei einem Kippwinkel von  $90^\circ$  haften bleiben. Dieses Phänomen beruht wie der Lotuseffekt auf einer hierarchischen Struktur. Jedoch dringt die Flüssigkeit teilweise in den Mikrostrukturen ein, nur die Nanostrukturen blieben trocken (Bormashenko 2017, Feng et al. 2008). Diese Art der Benetzung wird auch „Cassie impregnating“ genannt. Dieser Begriff wird jedoch auch für ein weiteres heterogenes Benetzungsstadium verwendet. Bei diesen füllt die Flüssigkeit ähnlich dem Wenzelstadium die Vertiefungen einer rauen Oberfläche komplett aus, allerdings ist auch der Festkörper außerhalb des Tropfen teilweise benetzt.

Auf den Weizenblättern rollten Tropfen im Allgemeinen gut ab. Die mikroskopischen Aufnahmen während der Benetzungsmessungen ließen erkennen, dass die Wassertropfen die Vertiefungen nicht komplett ausfüllten. Beide Beobachtungen deuten auf eine Cassie-Benetzung oder eine intermediäre Benetzung hin. Auch bei einer früheren Studie zur Benetzbarkeit an Weizenblättern wurde eine Cassie-Benetzung vermutet (Peirce et al. 2016). Bei einzelnen Proben blieben die Tropfen jedoch an der Oberfläche haften und rollten selbst bei einem Kippwinkel von  $90^\circ$  nicht ab. Wahrscheinlich war bei solchen Proben die Wachsschicht beschädigt oder verschmutzt. Beides kann zu einer Veränderung der Benetzbarkeit führen (Koch et al. 2013, Taylor 2011). Mit bloßem Auge waren keine Schäden oder Kontaminationen bei den verwendeten Blättern zu erkennen, die REM Aufnahmen der Blätter der Freilandkulturen zeigten aber zum Teil deutliche Schäden in der Wachsschicht und Pilzhyphen auf den Blattoberflächen (Abbildung 2.6). Vermutlich findet an beschädigten oder verschmutzten Stellen ein Übergang zu einer Wenzel-Benetzung statt, sodass die Tropfen nicht mehr abrollen. Bei einem Tropfen auf einer rauen Oberfläche wird Flüssigkeit durch den Laplace Druck zwischen die Vertiefungen gedrückt. Dringt die Flüssigkeit dabei soweit in die Vertiefungen vor, dass sie den Untergrund berührt, findet ein Übergang der Benetzungszustände statt (Taylor 2011). Ob ein Übergang stattfindet oder nicht wird durch die Form und durch die Maße der Stützstrukturen und durch die Tropfengröße beeinflusst (Bhushan und Jung 2008). In der vorliegenden Studie war die Tröpfchengröße immer gleich, jedoch können die benetzungsbestimmenden Strukturen zerstört oder durch Partikel maskiert gewesen sein, sodass ein Übergang stattfinden konnte.

### **Korrelation der Benetzungsparameter**

Aufgrund der Zellform, der Stomata, der Trichome und vorhandener Schadstellen ist die Oberfläche der Weizenblätter im Gegensatz zu einer technischen Oberfläche keine homogene Oberfläche. Durch diese Variabilität der natürlichen Oberfläche waren die Standardabweichungen der einzelnen Messungen recht hoch. Dies könnte ein Grund dafür sein, dass die Korrelation der einzelnen Benetzungsparameter keinen Zusammenhang gezeigt hatte. Die Vermutung, dass mit einem großen Kontaktwinkel eine kleine Hysterese und ein kleiner Abrollwinkel einhergehen wurde nicht bestätigt.

Xiong et al. (2018) stellte eine negative Korrelation zwischen den Kontaktwinkeln und der Wasserretention auf den Blattoberflächen verschiedener Kräuter fest. Die Autoren befanden die Benetzbarkeit als das beste Merkmal zur Vorhersage der Wasserretention. Im Unterschied zu der vorliegenden Studie wurde die Wasserretention, anhand der verbleibenden Wassermenge nach einer künstlichen Benetzung der Blätter und nicht die Wassertropfenretention mithilfe des Abrollwinkels bestimmt. Obwohl Kontaktwinkel-messungen und die Bestimmung der Abrollwinkel übliche Methoden sind, wurde der Zusammenhang dieser beiden Größen bisher nur in wenigen Studien erforscht (Holder 2020). Ein allgemeingültiger Zusammenhang lässt sich aus den Ergebnissen nicht ablesen. Einerseits zeigte eine frühere Studie kleinere Hysteresen und Abrollwinkel bei weniger benetzbaren als bei benetzbaren Pflanzenarten (Fritsch et al. 2013). Auch bei zwei weiteren Studien mit verschiedenen Spezies wurde eine positive Korrelation zwischen der Benetzbarkeit einer Oberfläche und Abrollwinkeln festgestellt (Brewer und Smith 1997, Brewer und Nunez 2007). Andererseits belegte eine Studie sinkende Abrollwinkel bei steigender Benetzung (Aryal und Neuner 2010). Matos und Rosado (2016) hingegen stellten keinen signifikanten Zusammenhang zwischen der Hydrophobizität und den Abrollwinkeln fest. Ein Unterschied der vorliegenden Studie zu den genannten Studien ist, dass die einzelnen Benetzungsparameter einer Art untersucht wurden und nicht die verschiedener Arten.

Zur Erörterung der Benetzungseigenschaften ist es empfehlenswert, Pflanzen einer Gewächshauskultur heranzuziehen, da deren Oberflächen weniger heterogen sind. Zwar haben die Versuche dieser Arbeit gezeigt, dass die Wachsmorphologie und die Wachszusammensetzung durch die Kulturbedingungen kaum beeinflusst wurden (2.2.1, 2.2.5, Seite 59). Dennoch sind die Pflanzen in der Gewächshauskultur besser vor Phytopathogenen und vor Wind, der durch das Aneinanderreiben der Blätter zu Schäden in der Wachsschicht führen kann, geschützt. In dieser Arbeit war die Benetzbarkeit jedoch vor dem Hintergrund der Interaktion mit phytopathogenen Pilzen interessant. Daher war es wichtig die Pflanzen unter möglichst realistischen Bedingungen heranzuziehen und so ein möglichst wirklichkeitstreu Bild der Benetzbarkeit der Weizenblätter zu bekommen. Die Benetzbarkeit kann durch verschiedene Merkmale der Pflanze, wie das Blattalter oder die Blattseite, als auch durch äußere Einflüsse, wie die Wachstumsbedingungen



beeinflusst werden (Xiong et al. 2018). So ist es auch bei Studien zu Retentionszeiten von Fungiziden ratsam den Einfluss der verschiedenen Blattalter, Blattseiten und Pflanzdichten zu berücksichtigen (Yao et al. 2014).

### **Blattalter**

Das Blattalter beeinflusste die Benetzungseigenschaften der hier untersuchten Blätter kaum. Die Kontaktwinkel von Blatt 2, 3 und 4 waren bis auf eine Ausnahme bei allen Sorten gleich (Abbildung 2.18, Abbildung 10.9). Auch die Hysteresen und Abrollwinkel waren fast alle gleich (Abbildung 2.19, Abbildung 2.21, Abbildung 10.15, Abbildung 10.22). Das entsprach den Erwartungen, da die Analyse der Wachschemie und der Wachsmorphologie, welche die Benetzbarkeit bestimmen, zuvor ebenfalls keine Unterschiede zwischen Blatt 2, 3 und 4 gezeigt hatten (Abbildung 2.4, Abbildung 2.10). Troughton und Hall (1967) stellten bei den ersten, zweiten und dritten Blättern von Weizenkeimlingen ebenfalls keine Unterschiede bei den Kontaktwinkeln fest. Allerdings unterschieden sich die Kontaktwinkel der Weizenkeimlinge von denen ausgereifter Weizenpflanzen. Auch bei einigen anderen Studien wurden bei älteren Blättern niedrigere Kontaktwinkel festgestellt als bei jüngeren Blättern (Bringe et al. 2006, Puente und Baur 2011, Troughton und Hall 1967, Xiong et al. 2018). Die Unterschiede in der Benetzbarkeit können verschiedene Ursachen haben: Im Laufe der Entwicklung können Veränderungen in der Wachschemie und -morphologie zu einer Veränderung der Benetzbarkeit führen (Baker und Hunt 1981, Puente und Baur 2011). Außerdem können durch Niederschlag und Schadstoffe in der Luft Schäden in der Wachsschicht entstehen (Baker und Hunt 1986, Burkhardt und Pariyar 2014, Cape 1983, Kardel et al. 2012, Klamerus-Iwan und Błońska 2016). Da ältere Blätter solchen Umweltfaktoren länger ausgesetzt sind als junge Blätter können ältere Blätter verstärkt Schäden der Wachsstrukturen aufweisen, sodass die Benetzbarkeit der Blattoberflächen ansteigt. Zudem kann die Besiedlung durch Mikroorganismen zu einer erhöhten Benetzbarkeit führen (Knoll und Schreiber 1998, Schreiber 1996, Taylor 2011). Veränderungen der Benetzbarkeit im Laufe der Entwicklung sind jedoch von Art zu Art verschieden. Nicht alle Arten zeigen Veränderungen, zudem kann die Benetzbarkeit auch abnehmen. So

zeigte beispielsweise eine Studie an Reis im Wachstumsverlauf steigende Kontaktwinkel (Zhu et al. 2014).

### **Blattseiten**

Die Wachszusammensetzung der beiden Blattseiten wurde nicht getrennt untersucht, die beiden Blattseiten zeigten aber die gleichen Wachsstrukturen (Abbildung 2.4), was auf eine gleiche Wachszusammensetzung hinweist. Daher entsprach es den Erwartungen, dass die Benetzbarkeiten der beiden Blattseiten ähnlich waren. Bei der Mehrheit der Proben waren die Hysteresen, Abrollwinkel und Kontaktwinkel der Blattober- und Unterseiten gleich (Abbildung 2.18, Abbildung 2.19, Abbildung 2.21). Dennoch rollten auf den Blattoberseiten bei fast allen Proben mehr Tropfen ab als auf den Blattunterseiten (Abbildung 2.20). Troughton und Hall (1967) stellten bei Weizen auf den adaxialen Seiten höhere Kontaktwinkel fest als auf den abaxialen Blattseiten, jedoch waren die Pflanzen in einem fortgeschritteneren Entwicklungsstadium, sodass sich die Wachsstrukturen der beiden Blattseiten unterschieden. Zudem wurden die Pflanzen in Wachstumskammern herangezogen. Im Freiland konnte kein Unterschied zwischen den Kontaktwinkeln festgestellt werden. Mehrere Studien haben hingegen bei verschiedenen Arten im Freiland auf den Oberseiten niedrigere Kontaktwinkel festgestellt als auf den Blattunterseiten (Brewer und Smith 1997, Brewer und Nunez 2007, Holder 2007, Klamerus-Iwan und Błońska 2016, Papierowska et al. 2018, Xiong et al. 2018). Ähnlich wie ältere Blätter sind die Blattoberseiten Umweltfaktoren, die die Benetzbarkeiten beeinflussen können, stärker ausgesetzt, sodass die Benetzbarkeit der Blattoberseiten zunehmen kann.

### **Sorten**

Studien mit künstlichen Substraten haben gezeigt, dass die ECM (Extrazelluläre Matrix) Freisetzung, welche die Keimung und die Differenzierung von Pilzsporen anregt, durch die Hydrophobizität der Oberfläche angeregt werden kann (Carver et al. 1999, Lee und Dean 1994, Nielsen et al. 2000, Zabka et al. 2008). So keimte *B. graminis* f. sp. *hordei* beispielsweise nur auf Oberflächen mit Kontaktwinkeln über 83°. Mit steigenden Kontaktwinkeln nahm die Differenzierungsrate zu (Zabka 2008). Daher war es

interessant, ob sich die Benetzbarkeiten der verschiedenen Sorten unterscheiden und ob sie deren Anfälligkeiten widerspiegeln. Bei verschiedenen Apfelsorten (*Malus domestica*) konnte ein Zusammenhang zwischen deren Anfälligkeiten gegenüber dem Erreger des Apfelschorfs (*Venturia inaequalis*) und deren Benetzbarkeit gezeigt werden (Leca et al. 2020). Bei den hier untersuchten Weizensorten unterschieden sich die einzelnen Parameter der Benetzungseigenschaften zum Teil. Jedoch ließen die Ergebnisse keine eindeutigen Rückschlüsse auf deren Anfälligkeiten gegenüber Mehltau zu. Bei den Kontaktwinkeln stach die anfälligste Sorte Akteur hervor. Auf den Blättern der Sorte Akteur waren die Kontaktwinkel fast immer höher als die der beiden anderen Sorten. Bis auf zwei Ausnahmen lagen alle Kontaktwinkel, die auf Blättern der Sorte Akteur gemessen wurden, im superhydrophoben Bereich. Bei Ponticus und Porthus hingegen lagen über die Hälfte der Werte im hydrophoben Bereich (Abbildung 2.18). Dementsprechend hatte Akteur die am wenigsten benetzbare Oberfläche. Jedoch rollten auf den Blättern der unanfälligsten Sorte Ponticus überdurchschnittlich viele Tropfen ab. Die Hälfte der Abrollwinkel und ein Drittel der Hysteresen waren bei dieser Sorte am niedrigsten. Demzufolge hafteten auf den Blättern der Sorte Ponticus Wassertropfen am schwächsten. Es ließ sich also kein klarer Zusammenhang zwischen dem Benetzungsverhalten der Sorten und deren Anfälligkeit gegenüber Mehltau erkennen. Verschmutzungsversuche auf den Blattoberflächen resistenter und nicht resistenter Weizensorten zeigten keine Unterschiede in deren Fähigkeit zur Selbstreinigung (Stosch et al. 2007), was ebenfalls gegen einen Zusammenhang der Benetzbarkeit und der Anfälligkeit der Sorten spricht. Die Kontaktwinkel der Sorten lagen dort alle im superhydrophoben Bereich. Im Gegensatz dazu stellten Troughton und Hall (1967) bei zwei gegenüber Rost (*Puccinia sp.*) anfälligen Sorten niedrigere Kontaktwinkel fest als bei den übrigen untersuchten Sorten. Die niedrigeren Kontaktwinkel wurden jedoch nur auf den Blattunterseiten und bei ausgereiften Pflanzen gemessen. Bei dem hier untersuchten Stadium gab es aber keine Hinweise darauf, dass die Anfälligkeiten der Sorten durch Unterschiede im Benetzungsverhalten begründet sind. Die Untersuchung der Wachschemie und -morphologie ließen keine Rückschlüsse auf die Anfälligkeiten der Sorten zu. Bei allen drei Sorten wurden die gleichen Substanzen in vergleichbaren

Mengen und die gleichen Strukturen festgestellt (2.2.1, 2.2.5, Seite 50). Es war daher überraschend, dass sich die Benetzbarkeiten der Sorten teilweise unterschieden.

### **Kultur**

Die Benetzbarkeiten der Blätter wurden auch bei den Pflanzen der zweiten Freilandaussaat bestimmt. Bei dem Vergleich der Blattseiten und Richtungen konnten die gleichen Trends festgestellt werden wie bei den Pflanzen der ersten Aussaat (Daten nicht gezeigt). Der Einfluss der Sorten konnte hier jedoch nicht im gleichen Maße wie bei den Pflanzen der ersten Aussaat, beobachtet werden. Die Kontaktwinkel der Blätter der zweiten Freilandaussaat waren bei allen drei Sorten niedriger als die der ersten Freilandaussaat (Abbildung 2.23). Die höheren Kontaktwinkel lassen sich durch die höhere Wachsbelegung der Pflanzen der ersten Freilandaussaat erklären. Bei Akteur war der Unterschied am größten, da bei dieser Sorte in der ersten Freilandkultur besonders hohe Kontaktwinkel gemessen wurden (Abbildung 2.18). Bei den Pflanzen der zweiten Aussaat konnte nicht bestätigt werden, dass die Blätter der Sorte Akteur höhere Kontaktwinkel aufweisen als die beiden anderen Sorten. Die Kontaktwinkel der drei Sorten waren alle gleich groß. Sie lagen alle im hydrophoben Bereich nahe der Grenze zum superhydrophoben Bereich (Abbildung 2.23). Bei den Pflanzen der zweiten Aussaat rollten bei Pontius auch nicht mehr Tropfen ab als auf den beiden anderen Sorten (Abbildung 2.23). Somit war weder bei den Pflanzen der ersten Freilandkultur noch bei den Pflanzen der zweiten ein Zusammenhang zwischen den Anfälligkeiten der Sorten und deren Benetzbarkeiten zu erkennen. Zur Untersuchung des Einflusses der Sorten auf die Benetzbarkeit wäre es interessant Weizenpflanzen, welche im Gewächshaus kultiviert wurden, zu untersuchen. So könnten Umweltfaktoren, wie verschiedene Vegetationsperioden, die die Benetzbarkeit beeinflussen können, weitgehend ausgeschlossen werden (Xiong et al. 2018).

### **2.3.5 Bestimmung der Krankheitsschwere**

Bei den Pflanzen, die im Freiland herangezogen wurden, war es nicht zu verhindern, dass sie mit Mehltau infiziert wurden. An ausgereiften Pflanzen wurde die Krankheitsschwere bestimmt, um zu untersuchen, ob die Blattseiten, die verschiedenen Blätter oder die

Sorten unterschiedlich stark befallen waren. Neben Mehltau wiesen sie teilweise auch Spuren von Rost und Fraßspuren der Larve des Getreidehähnchens auf (Abbildung 2.5). Die Krankheitsschwere eines Blattes wurde anhand von Farbwerten bestimmt. Dabei konnte präzise zwischen krankem und gesundem Gewebe unterschieden werden, jedoch nicht zwischen den einzelnen Krankheiten. Die Untersuchung zeigte auf den Blattoberseiten einen stärkeren Befall als auf den Blattunterseiten (Abbildung 2.24). Eine mögliche Erklärung ist die stärkere Exposition der Blattoberseiten, welche dadurch für die, durch Wind und Regen verbreiteten Sporen zugänglicher sind als die Blattunterseiten. Auch bei anderen Mehltauarten wurde auf den Blattoberseiten ein stärkerer Befall beobachtet (Carver et al. 1990, Gniwotta et al. 2005, Ringelmann et al. 2009). Die Autoren führten dies auf die unterschiedlichen physikochemischen Eigenschaften der beiden Blattseiten zurück. So entwickelte sich beispielsweise der Erreger des Mehltaus an Weidelgras (*Lolium perenne*), besser auf den hydrophoben Blattoberseiten, deren Wachse v.a. aus primären Alkoholen und Estern bestehen, als auf den benetzbaren Blattunterseiten, deren Wachse hauptsächlich aus n-Alkanen und Aldehyden zusammensetzt waren, jedoch kein 1-Hexacosanol aufwiesen (Carver et al. 1990, Ringelmann et al. 2009). Auch bei dem Erreger des Mehltaus bei Erbsen (*Erysiphe pisi*) wurde ein ähnliches Muster festgestellt (Gniwotta et al. 2005). Bei der Wirtspflanze Erbse (*Pisum sativum*) unterschieden sich ebenfalls die Struktur und die Chemie der adaxialen und der abaxialen Wachse. Neben der Blattseite spielte bei den in der vorliegenden Arbeit untersuchten Pflanzen auch das Blattalter eine Rolle: Die älteren Blätter waren stärker erkrankt als die jüngeren Blätter (Abbildung 2.24). Auch hier könnte eine längere Exposition der Blätter die Unterschiede erklären. Ein weiterer Grund könnten Unterschiede im Mikroklima sein. Denmead (1969) hatte gezeigt, dass bei weiter unten stehenden (älteren) Blättern eine höhere Luftfeuchtigkeit vorherrscht als bei weiter oben wachsenden (jungen) Blättern. Auch Last (1953) stellte bereits bei zunehmenden Blattalter eine zunehmende Infektion pro Blattfläche fest. Ob für die in der vorliegenden Studie festgestellten Unterschiede in der Krankheitsschwere auch Unterschiede in der Wachschemie und Wachsmorphologie verantwortlich sind, lässt sich nicht beurteilen. Die Ergebnisse der Wachsanalyse und der Untersuchung der Benetzungseigenschaften der jungen Weizenpflanzen gaben keine Hinweise darauf, dass sich die beiden Blattseiten in

ihren physikochemischen Eigenschaften unterscheiden (Abbildung 2.4 und Tabelle 2.5). Zur Klärung der Frage wäre es jedoch notwendig die Wachchemie und die Wachmorphologie der reifen Weizenpflanzen zum Zeitpunkt der Bonitur zu kennen, da sich beide, wie bereits im vorherigen Abschnitt beschrieben, im Laufe der Entwicklung ändern können. Auch ein Zusammenhang zwischen den Anfälligkeiten der Sorten und der Schwere der Mehltauerkrankung ließ sich aus den Ergebnissen nicht eindeutig ableiten, da es sich nicht um eine reine Mehltau Infektion gehandelt hatte und die Sorten sich auch in ihren Anfälligkeiten gegenüber Rost unterscheiden (Bundessortenamt 2016). Für eine richtige Einschätzung wäre es entscheidend, nicht den gesamten Befall, sondern die Schwere der einzelnen Krankheiten zu kennen.

## 3 Entwicklung und Charakterisierung der *in vitro* Testsysteme - Kapitel 2

### 3.1 Material und Methoden

Es wurden insgesamt fünf Testsysteme mit verschiedenen physikochemischen Eigenschaften entwickelt: Ein Testsystem, das sowohl über die gleichen Benetzungseigenschaften als auch über die gleichen chemischen Eigenschaften wie das Weizenblatt verfügt (Wachs-Testsystem), ein Testsystem, das nur über die gleichen Benetzungseigenschaften verfügt (C28OH-Testsystem), ein Testsystem, das nur über die gleichen chemischen Eigenschaften verfügt (Schmelze-Testsystem) und zwei Testsysteme, die die gleichen Benetzungseigenschaften besitzen und den potentiellen Signalstoff 1-Hexacosanal oder 1-Octacosanal enthalten (C26CHO- und C28CHO-Testsystem) (Tabelle 3.1).

#### 3.1.1 Verwendete Substanzen

Zur Herstellung des Wachs-Testsystems wurde das epikutikulare Wachs der drei Weizensorten Akteur, Ponticus und Porthus verwendet (Kapitel 1, 2.1.3). Für das C28OH-Testsystem wurde der Reinstoff 1-Octacosanol ( $\geq 99\%$  (GC), Sigma Aldrich Co, St. Louis, USA) genutzt (3.1.1). Für das Schmelze-Testsystem wurde das Wachs der Sorte Ponticus aus der Schmelze rekristallisiert (3.1.4, Seite 111). Zur Herstellung des C26CHO- und des C28CHO-Testsystems wurden 1-Octacosanol, 1-Hexacosanal und 1-Octacosanal verwendet (3.1.4, Seite 111). Die Aldehyde wurden zu diesem Zweck synthetisiert (folgender Abschnitt).

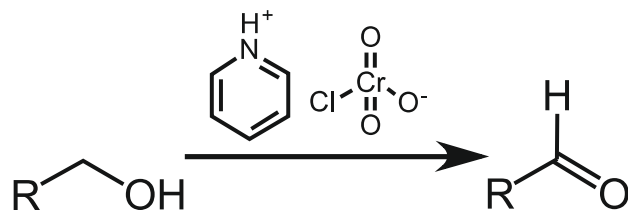
**Tabelle 3.1: Entwickelte Testsysteme**

Testsystem	nachgeahmte Eigenschaft(en)	Rekristallisation
Wachs	Benetzbarkeit und Chemie	Weizenwachs mit Struktur
C28OH	Benetzbarkeit	Alkohol mit Struktur
Schmelze	Chemie	Weizenwachs ohne Struktur
C26CHO	Benetzbarkeit und pot. Signalstoff 1-Hexacosanal	Alkohol und pot. Signalstoff mit Struktur
C28CHO	Benetzbarkeit und pot. Signalstoff 1-Octacosanal	Alkohol und pot. Signalstoff mit Struktur

C28OH: 1-Octacosanol, C26CHO: 1-Hexacosanal, C28CHO: 1-Octacosanal

### Synthese einzelner Wachskomponenten

Sehr langkettige Aldehyde stellen nur einen geringen Teil des Gesamtwachses von Weizen dar (Wang et al. 2015, diese Arbeit Kapitel 1, 2.2.5), sodass es nicht möglich ist, Aldehyde in großen Mengen aus dem Wachsextrakt zu isolieren. Daher war es notwendig Aldehyde zu synthetisieren, um ausreichende Mengen für die folgenden Rekristallisationsversuche zur Verfügung zu haben. Nach Corey und Suggs (1975) wurden 1-Hexacosanol ( $\geq 97\%$  (GC), Sigma Aldrich Co, St. Louis, MO, USA) und 1-Octacosanol ( $\geq 99\%$  (GC), Sigma Aldrich Co, St. Louis, MO, USA) mit Pyridiniumchlorchromat (PCC, 98%, Sigma Aldrich Co, St. Louis, MO, USA) zu 1-Hexacosanal und 1-Octacosanal oxidiert (Abbildung 3.1).



**Abbildung 3.1: Oxidation eines primären Alkohols zu einem Aldehyd mittels PCC; 1-Hexacosanal Synthese;  $R=C_{25}H_{51}$ , 1-Octacosanal Synthese  $R=C_{27}H_{55}$**

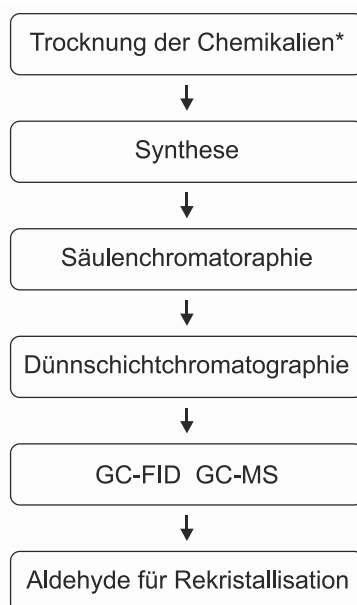


Es wurden zwei 1-Octacosanal Synthesen und eine 1-Hexacosanal Synthese durchgeführt (Tabelle 3.2, Abbildung 3.2). Im ersten Ansatz der 1-Octacosanalsynthese wurden eine PCC Suspension (0,28 mmol, gelöst in 10 ml Dichlormethan ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , stabilisiert mit 0,2 % Ethanol, VWR International, LLC., Radnor, PA, USA) und eine 1-Octacosanol Suspension (0,24 mmol, gelöst in 20 ml  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) unter Rühren auf Eis zusammengegeben. Zu dem Gemisch wurde etwas Celite (Celite 545, Partikelgröße: 0,02 - 0,1 mm, Merck KGaA, Darmstadt) als molekularer Sieb hinzugefügt. Nach kontinuierlichem Rühren über Nacht, auf Eis und mit einem Rückflusskühler, wurde die entstandene braune Masse mithilfe einer Säulenchromatographie (selbst befüllt, ca. 400 mm x 2,4 mm, silica gel 60A400, mesh 40 - 63  $\mu\text{m}$ ) aufgetrennt und anschließend händisch fraktioniert (63 Fraktionen à 20 ml, Abbildung 3.3).  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  wurde als Elutionsmittel verwendet. Es wurden insgesamt 34 Einheiten mit jeweils ca. 12 ml fraktioniert. Zur Kontrolle der entstandenen Produkte wurden Proben der einzelnen Fraktionen, die Edukte und ein Aliquot der Rohprodukte per Dünnschichtchromatographie (engl.: thin layer chromatography, TLC, DC Kieselgel 60 F 254, Merck KGaA, Darmstadt) aufgetrennt.  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  diente hierbei als Laufmittel. Mithilfe von 50%iger Schwefelsäure und Hitze durch einen Heißluftföhn wurden die Analyte detektiert. Die Retentionsfaktoren ( $R_f$ -Werte) der aufgetrennten Substanzen wurden durch den Quotienten aus der Strecke zwischen der Startlinie und der Substanzzone und der Strecke zwischen der Startlinie und der Laufmittelfront berechnet (Abbildung 3.4). Die Fraktionen, bei denen die Ergebnisse der TLC darauf hinwiesen Aldehyde zu enthalten, wurden vereinigt und mithilfe eines Rotationsverdampfers (RV 10, IKA, Stauffen) eingeeengt, bis das Lösungsmittel komplett verdampft war. Zur Bestimmung der Mengen der gewonnenen Produkte wurden die gepoolten Fraktionen gewogen. Mittels GC-FID und GC-MS wurden die Substanzen der Fraktionen identifiziert und deren Reinheit überprüft (Kapitel 1; 2.1.5). Hierfür wurden einige mg als Aliquot der Fraktionen in Chloroform gelöst ( $c = 0,2 \text{ mg/ml}$ ) und mit 50  $\mu\text{l}$  Tetracosan ( $c = 0,2 \text{ mg/ml}$ ) als interner Standard versetzt. Die Synthese und Aufreinigung der zweiten 1-Octacosanalsynthese und der 1-Hexacosanalsynthese wurde analog mit zuvor getrockneten Chemikalien unter Schutzgas durchgeführt. Als Trocknungsmittel für  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  wurde Kaliumcarbonat verwendet, als Schutzgas diente Argon. Für die 1-Octacosanolsynthese wurden 0,25 mmol PCC in 3 ml  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  und 0,21 mmol 1-Octacosanol in 3 ml  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$

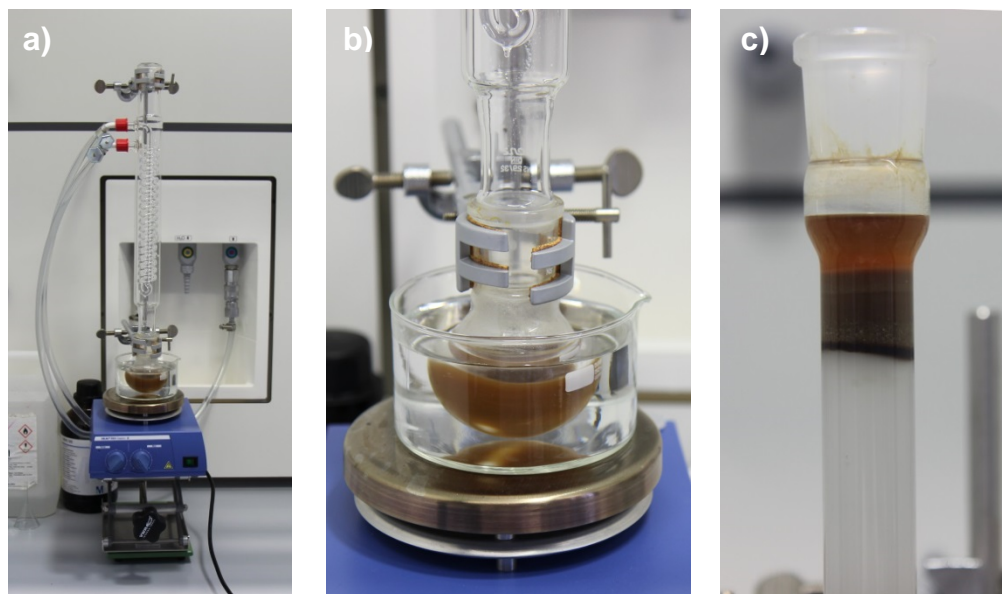
gelöst und zusammengeben. Für die 1-Hexacosanalsynthese wurden 0,31 mmol PCC, gelöst in 3 ml  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , und 0,26 mmol 1-Hexacosanol, gelöst in 3 ml  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , verwendet. Bei der 1-Octacosanal Synthese wurden 63 Fraktionen, bei der 1-Hexacosanal Synthese wurden 60 Fraktionen (ca. 20 ml/Fraktion) gewonnen. Die Syntheseprodukte wurden wie im ersten Ansatz mittels TLC und GC-FID und GC-MS identifiziert.

**Tabelle 3.2: Chemikalien für die Synthesen der Aldehyde**

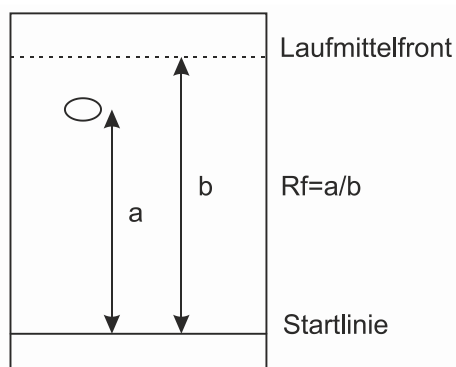
Synthese	PCC	Alkohol	Verhältnis PCC : Alkohol	unter Schutzgas, m. wasserfreien Chemikalien
1-Octacosanal (1. Ansatz)	0,28 mmol in 10 ml	0,24 mmol in 20 ml	1,2 : 1	nein
1-Octacosanal (2. Ansatz)	0,25 mmol in 3 ml	0,21 mmol in 3 ml	1,2 : 1	ja
1-Hexacosanal	0,31 mmol in 3 ml	0,26 mmol in 3 ml	1,2 : 1	ja



**Abbildung 3.2: Zusammenfassende Darstellung der Arbeitsschritte zur Synthese und Aufreinigung der Aldehyde; \*:** wurde nicht bei der ersten 1-Octacosanalsynthese durchgeführt



**Abbildung 3.3: Apparaturen zur Synthese und zur Auftrennung der Aldehyde;** a) Rundkolben mit Rückflusskühler auf Magnetrührer, b) Rundkolben mit Syntheseprodukt auf geschmolzenem Eis nach Rühren ü. N., c) Rohprodukt der Synthese, aufgetragen auf der Säule zur Auftrennung



**Abbildung 3.4: Parameter eines Dünnschichtchromatogramms zur Berechnung des Retentionsfaktors ( $R_f$ );** a) Strecke zwischen der Startlinie und der Substanzzone, b) Strecke zwischen der Startlinie und der Laufmittelfront

### 3.1.2 Verwendete Substrate

Als Substrate für die Bedampfungen wurden Glas (Deckgläschen, 18 x 18 mm) und Epoxidharzrepliken von einem Glas Objektträger (folgender Abschnitt) verwendet. Das Glas wurde vor jeder Bedampfung mit einem Ethanol (70 %) befeuchtetem Papier gereinigt und trocken gewischt.

### **Herstellung der Repliken**

Repliken dienen dazu die Struktur einer Oberfläche abzuformen, ohne jedoch die chemischen Eigenschaften zu übertragen. Zum Abformen der Strukturen wird zunächst ein Negativ hergestellt, welches mit Epoxidharz aufgefüllt wird, um wieder ein Positiv der abgeformten Struktur zu erhalten. Eine frühere Studie hatte gezeigt, dass sich auf Glas (polar) keine Schüppchen gebildet hatten (Koch et al. 2006a). Daher wurden Repliken der Glasoberflächen aus weniger polarem Harz angefertigt.

Das verwendete Epoxidharz (Toolcraft, Conrad Electronics SE, Hirschau) ist ein Gemisch aus dem Harz und einem Härter. Nachdem das Harz und der Härter in einem 10 : 4 Verhältnis zusammengegeben und vermengt wurden, wurde das Gemisch für 1 min bei 600 rpm zentrifugiert, um Luftblasen zu entfernen, die beim Vermischen der Substanzen entstanden waren. Zur Herstellung einer Replik einer Glasoberfläche wurde mit einem Abformmaterial aus Polyvinylsiloxan (President light body, Coltene, Altstätten, Schweiz) zunächst ein Negativabdruck von einem Objektträger hergestellt. Nach Aushärten des Negativs (ca. 5 min) wurden 2 - 3 Tropfen des Epoxidharzes mit einer Spritze auf das Negativ gegeben. Anschließend wurde ein Deckgläschen auf die Harztropfen niedergelassen. Durch die Kohäsionskräfte zieht sich das Harz gleichmäßig unter das Deckgläschen, sodass eine ebene Fläche entsteht. Nach Aushärten des Harzes (ca. 24 h bei RT) konnten die Repliken für die Bedampfungen verwendet werden.

### **3.1.3 Bestimmung des Schmelzpunkts des Weizenwachses mittels DSC**

Bei der Rekristallisation aus der Schmelze wird das Wachs ca. 20 °C über den Schmelzpunkt erhitzt, um es zu schmelzen (3.1.4, Seite 111). Der Schmelzpunkt des Ponticus Wachsextraktes wurde daher mittels dynamischer Differenzkalorimetrie (engl.: differential scanning calorimetry, DSC, DSC 8000, PerkinElmer, Waltham, USA) in einer Messung experimentell bestimmt. Hierfür wurden 3,581 mg des Ponticus Wachsextraktes (Kapitel 1, 2.1.3) in einen Aluminium Tiegel gegeben, der Referenztiegel blieb leer. Der Temperaturbereich des Heizprogramms lag zwischen 0 °C und 150 °C (Tabelle 3.3). Als Spülgas wurde Stickstoff verwendet (Flussrate: 20 mL/min).

**Tabelle 3.3: Temperaturprogramm zur Bestimmung des Schmelzpunktes mittels DSC**

<b>Schritt</b>	<b>Temperatur</b>
Halten der Temperatur für 1 Min	0 °C
Heizen mit 10 °C/Min auf	150 °C
Halten der Temperatur für 1 Min	150 °C
Abkühlen mit 10 °C/Min auf	0 °C
Halten der Temperatur für 1 Min	0 °C

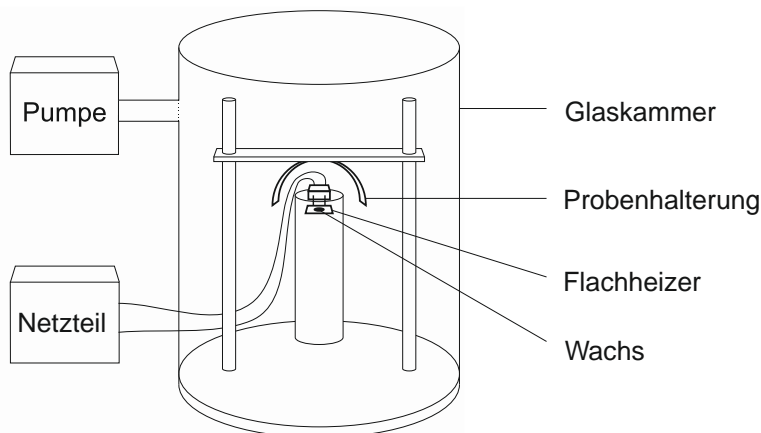
### **3.1.4 Rekristallisation mittels physikalischer Dampfphasenabscheidung**

Zur Beschichtung der Proben mit dem Wachs und einzelnen Wachskomponenten wurde das Verfahren der physikalischen Dampfphasenabscheidung genutzt (engl.: physical vapor deposition, PVD). Dieses Verfahren bietet gegenüber anderen Verfahren, wie z.B. der Rekristallisation aus einer Lösung, den Vorteil, dass eine homogene Oberflächenbeschichtung erzeugt werden kann.

Die Apparatur für dieses Verfahren wurde selbst hergestellt. Sie besteht aus einer Glaskammer, Halterungen für einen Flachheizer und für die zu bedampfenden Proben, einem Flachheizer aus Hochleistungskeramik, einem Labornetzgerät und zwei Vakuumpumpen (Abbildung 3.5)

Nach Entwerfen der Konstruktion, erfolgte die Herstellung der Halterungen für die Proben und den Flachheizer in der mechanischen Werkstatt der Hochschule Rhein-Waal. Die Beschichtung der Proben mittels PVD funktioniert folgendermaßen: Das Wachsgemisch oder die einzelnen Wachskomponenten werden auf die Heizplatte gegeben. Die zu beschichtenden Proben werden an der halbkreisförmigen Probenhalterung über der Heizplatte befestigt. Nach der Erzeugung eines Vakuums wird die Heizplatte erhitzt, das Wachs verdampft und schlägt sich auf den Proben nieder. Nach den ersten Testbedampfungen erfolgten verschiedene Experimente zur Optimierung der Verdampfungsparameter, um eine homogene Verteilung der aufgedampften Wachsmasse zu erreichen. Es wurden verschiedene Probenbefestigungen, Probenabstände, Temperaturanstiege und Abpumpzeiten getestet (Daten nicht dargestellt). Nachdem die Parameter für eine homogene Beschichtung gefunden worden waren, wurden alle

Verdampfungen mit diesen Einstellungen durchgeführt: Der Probenabstand betrug 4 cm, die Abpumpdauer betrug 30 min und die mithilfe des Netzteils angelegte Spannung der Heizplatte betrug 30 V. Die Beschichtung erfolgte bei laufenden Pumpen.



**Abbildung 3.5: Schematische Zeichnung der Apparatur für die Beschichtung der Proben mittels PVD**

### **Rekristallisationsbedingungen der verschiedenen Testsysteme**

Das Wachs und der Reinstoff 1-Octacosanol wurden unter verschiedenen Bedingungen rekristallisiert (Tabelle 3.4), um die Parameter zu finden, bei denen Strukturen entstehen, die den Testsystemen vergleichbare Benetzungseigenschaften wie denen des Weizenblattes verleihen. Für die Wachs-Testsysteme wurden 700 µg, 1400 µg und 2800 µg des Wachsextraktes verdampft. Da das Weizenwachs zu ca. 70 % aus 1-Octacosanol besteht, wurden 70 % der verwendeten Massen des Wachs-Testsystems für die Bedampfungen mit 1-Octacosanol verwendet, um auf beiden Testsystemen die gleiche Menge 1-Octacosanol zu erhalten. Für die 1-Octacosanol-Testsysteme wurden daher 500 µg 1000 µg und 2000 µg des Reinstoffs verdampft. Neben der Masse wurden das Substrat (Glas, Replik) und die Rekristallisationstemperatur (RT, 50 °C) variiert. Die Rekristallisationsdauer betrug jeweils drei Tage. Insgesamt wurden zehn verschiedene Wachs- und zehn verschiedene 1-Octacosanol-Testsysteme hergestellt (Tabelle 3.5).

Für die Rekristallisation aus der Schmelze wurden 1400 µg des Ponticus Wachses verdampft. Als Substrat diente eine Replik. Nach der Bedampfung wurden die Proben über Nacht in einen Ofen auf 100 °C erhitzt und anschließend auf 4 °C abgekühlt.

Zur Entwicklung der zwei Aldehyd-Testsysteme wurden 1520 µg 1-Hexacosanal, 1160 µg 1-Octacosanal und 30,07 mg 1-Octacosanol zunächst in 10 ml Chloroform gelöst. Anschließend wurden die Suspensionen so gemischt, dass ein vergleichbares Verhältnis der Substanzen wie im Gesamtwachs erzielt wurde (1-Hexacosanal: 0,5 %; 1-Octacosanal: 4,2 %; 1-Octacosanol: 74,7 % des Gesamtwachs, siehe Kapitel 1, 2.2.5). Das Lösungsmittel der Alkohol-Aldehyd Gemische wurde unter einem Abzug vollständig verdampft. Zur Rekrystallisation wurden jeweils 1000 µg der Alkohol-Aldehyd-Gemische verwendet. Als Substrat diente Glas. Die Aldehydproben rekrystallisierten drei Tage bei 50 °C.

**Tabelle 3.4: Rekrystallisationsbedingungen der verschiedenen Testsysteme**

Testsystem	Substanz	Masse [µg]	Substrate	Temperaturen	Struktur
Wachs	Wachsextrakt	700	Glas Replik	RT 50 °C	+
		1400			
		2800			
C28OH	Reinstoff	500	Glas Replik	RT 50 °C	+
		1000			
		2000			
Schmelze	Wachsextrakt	1400	Replik	100 °C und 4 °C	-
C26CHO	Aldehyd- Alkoholgemisch	1000	Glas	RT	+
C28CHO	Aldehyd- Alkoholgemisch	1000	Glas	RT	+

+ Bildung dreidimensionaler Strukturen, - keine Bildung dreidimensionaler Strukturen

Außer bei dem Schmelze-Testsystem setzte sich die Benennung der Proben aus der verdampften Substanz (z.B. 1-Octacosanol = C28OH), der verdampften Menge (z.B. 1000 µg), dem Substrat (z.B. Glas = G) und der Rekrystallisationstemperatur (z.B. RT) zusammen. So beschreibt z.B. der Probenname „C28OH\_1000\_G\_RT“ ein Testsystem auf Glas, das durch die Verdampfung von 1-Octacosanol beschichtet und bei Raumtemperatur rekrystallisiert wurde.

Tabelle 3.5: Liste der hergestellten Testsysteme

Wachs-Testsysteme	• Pon_700_G_50	1-Octacosanol-Testsysteme	• C28OH_1000_G_50	• Schmelze
	• Pon_700_G_RT		• C28OH_1000_G_RT	• C26CHO_1000_G_RT
	• Pon_700_R_50		• C28OH_1000_R_50	• C28CHO_1000_G_RT
	• Pon_700_R_RT		• C28OH_1000_R_RT	
	• Pon_1400_G_50		• C28OH_2000_G_50	
	• Pon_1400_G_RT		• C28OH_2000_G_RT	
	• Pon_1400_R_50		• C28OH_500_G_50	
	• Pon_1400_R_RT		• C28OH_500_G_RT	
	• Pon_2800_G_50		• C28OH_500_R_50	
	• Pon_2800_G_RT		• C28OH_500_R_RT	

Pon: Ponticus Wachsextrakt, C28OH: 1-Octacosanol, C26CHO: 1-Hexacosanal, C28CHO: 1-Octacosanal, 500 - 2800: verwendete Massen der Wachsgemische und des Reinstoffs in  $\mu\text{g}$ , G: Glas, R: Replik, RT: Raumtemperatur, 50: 50 °C



### 3.1.5 Charakterisierung der entwickelten Testsysteme

#### Überprüfung der chemischen Zusammensetzung des Wachsextraktes

Mittels GC-FID und GC-MS (Kapitel 1, 2.1.5) wurde überprüft, ob sich die Wachszusammensetzung durch die Extraktionsweise im größeren Maßstab (siehe Kapitel 1, 2.1.3) verändert hatte. Zu diesem Zweck wurden jedem Wachsextrakt für die Rekristallisationsversuche (3.1.4) ein Aliquot entnommen (Ponticus: 83  $\mu$ l, Akteur: 94  $\mu$ l, Porthus: 140  $\mu$ l). Die Aliquots wurden mit Chloroform (Rotisolv HPLC, Carl Roth GmbH, Karlsruhe) auf 5 ml verdünnt und mit jeweils 50  $\mu$ l Tetracosan ( $c = 0,2$  mg/ml) als interner Standard versetzt. Anschließend wurden die Aliquots wie in Kapitel 1 beschreiben derivatisiert und analysiert (2.1.5, Seite 31 ff.). Die Zusammensetzungen der Wachsextrakte für die Rekristallisation wurden mit den Zusammensetzungen der Wachsextrakte für die chemische Analyse verglichen.

Es wurde auch überprüft, ob sich die Wachszusammensetzung während des Verdampfungsprozesses verändert hatte. Nach der Bedampfung mit 1400  $\mu$ g Wachs wurde hierfür die Beschichtung eines Gläschens mit Kollodium (4 %, Merck KGaA, Darmstadt) abgehoben. Der Kollodiumabzug wurde in 10 ml Chloroform gegeben und 100  $\mu$ l Tetracosan als interner Standard hinzugefügt. Nach der Derivatisierung der Probe wurde sie, wie in Kapitel 1 dargestellt, analysiert (2.1.5, Seite 31 ff.). Die chemische Zusammensetzung des abgehobenen Wachses wurde mit der des Wachsextrakts für die Rekristallisation verglichen.

#### Rasterelektronenmikroskopische Untersuchung der Morphologie rekristallisierter Strukturen

Die rekristallisierten Strukturen auf den verschiedenen Testsystemen wurden mithilfe eines Rasterelektronenmikroskops (REM, Gemini Supra 40VP, Zeiss, Oberkochen) untersucht ( $n = 3$ ). Die Testsysteme wurden hierfür mit Leitkohlepaden (Plano GmbH, Wetzlar) auf Aluminium Proben Tellern (Plano GmbH, Wetzlar) befestigt und anschließend bei 30 mA für 60 s mit einem Sputtercoater (Cressington 108 auto SE, Elektronen-Optik-Service GmbH, Dortmund) mit Gold (99,9 %) beschichtet. Die Proben wurden mit einem

Arbeitsabstand von 5 mm untersucht. Die Spannung betrug 10 kV. Die Blende war 30  $\mu\text{m}$  groß.

### **Rasterkraftmikroskopische Untersuchung der Schichtdicke rekristallisierter Strukturen**

Die Dicke der Beschichtung eines Wachs-Testsystems (Pon\_1400\_G\_50) wurde mithilfe eines Rasterkraftmikroskops (engl. Atomic force microscope, AFM, NanoWizard II, JPK instruments, Berlin) untersucht. Hierfür wurde der Beschichtung zunächst mit einer Rasierklinge ein Kratzer zugefügt. Für die AFM Messung wurde das Testsystem mit doppelseitigem Klebeband auf einem Objektträger befestigt. Die AFM Aufnahmen wurden im Tapping Modus (Amplitude 0,05 V; Frequenz: 302,9 kHz) mit Tapping Cantilevern (Tap300-G, Budget Sensors, Sofia, Bulgaria) mit einer Zeilenrate von 0,3 Hz und einem Sollwert von 940 mV durchgeführt. Die aufgenommenen Höhen- und Amplitudenbilder (50 x 50  $\mu\text{m}$ ) wurden mit der JPK Datenanalyse Software (JPK Data Processing, Version 4.2.62) bearbeitet und analysiert. An der Kante des Kratzers wurden mithilfe des Querschnittwerkzeugs die Höhenunterschiede zur intakten Beschichtung gemessen (n = 20).

### **Untersuchung der Benetzungseigenschaften der künstlichen Oberflächen**

Die Benetzungseigenschaften (der Kontaktwinkel, die Kontaktwinkelhysterese und der Abrollwinkel) der entwickelten Testsysteme wurde mithilfe eines Goniometers (OCA 35, DataPhysics Instruments GmbH, Filderstadt) untersucht (n = 15). Wenn ein Tropfen (5  $\mu\text{l}$ ) nach dem Ablegen direkt von der Oberfläche abgerollt war, konnte weder ein Kontaktwinkel noch eine Hysterese gemessen werden. Der Kippwinkel wurde in diesen Fällen auf 0,1° gesetzt.

Zunächst wurden die Benetzungseigenschaften der 1-Octacosanol-Testsysteme mit den Benetzungseigenschaften der Weizenblätter der drei verschiedenen Sorten (Kapitel 1, 2.2.6) verglichen. Als Vergleichswert wurden die Kontaktwinkel, Abrollwinkel und die Hysterese Werte der Blattoberfläche von Blatt 3 in Längsrichtung herangezogen. Der Vergleich sollte zeigen, ob es möglich ist, mit einem der 1-Octacosanol-Testsysteme die Benetzungseigenschaften der Blätter einer der Weizensorten zu erreichen. Für die

Rekristallisationen mit dem Wachs wurde der Wachsextrakt der Weizensorte gewählt, von der sich das 1-Octacosanol-Testsystem in den Benetzungseigenschaften nicht unterschied. Aus den Wachs-Testsystemen wurde ein Testsystem ausgewählt, das die gleichen Benetzungseigenschaften aufwies wie das Weizenblatt. Zuletzt wurden die Benetzungseigenschaften der Aldehyd-Testsysteme und des Schmelze-Testsystems denen des ausgewählten 1-Octacosanol-Testsystems, des Wachs-Testsystems und des Weizenblatts gegenübergestellt.

### **Datenanalyse**

Die Ergebnisse der Untersuchung der Benetzungseigenschaften sind als Mittelwerte und deren Standardabweichungen ( $\pm$ ) angegeben. Zur statistischen Auswertung der Daten wurde die Software R Studio (R Studio Inc., ver. 1.1.383, Boston, USA) verwendet. Die Normalverteilung der Daten und die Homogenität der Varianzen wurde mithilfe des Shapiro Wilk Tests und des Levene Tests geprüft. Signifikante Unterschiede ( $p < 0,05$ ) wurden mit einer ANOVA mit anschließendem *Post Hoc* Tukey Test oder mit einem Kruskal Wallis Test mit anschließendem *Post Hoc* Dunn Bonferroni Test durchgeführt. Die Graphen wurden mit Sigmaplot (Version 13.0 Systat Software GmbH, Erkrath) erstellt. Die einzelnen Benetzungsparameter der Testsysteme wurden gegeneinander aufgetragen, um zu überprüfen, ob es einen Zusammenhang zwischen den Kontaktwinkeln, den Hysteresen, den Abrollwinkeln und der Anzahl der abgerollten Tropfen gibt.

## 3.2 Ergebnisse

### 3.2.1 Synthese einzelner Wachskomponenten

Die Synthese von 1-Hexacosanal ( $C_{26}$  Aldehyd) und 1-Octacosanal ( $C_{28}$  Aldehyd) erfolgte durch die Oxidation von 1-Hexacosanol ( $C_{26}$  Alkohol) bzw. 1-Octacosanol ( $C_{28}$  Alkohol). Die Tabelle 3.6 zeigt die Rf-Werte (Rf: Retentionsfaktor) der aufgetragenen Fraktionen und die enthaltenen, mittels GC-MS identifizierten Substanzen. Die Produkte der drei Synthesen zeigten in den Dünnschichtchromatographien jeweils Banden mit größeren Rf-Werten als die eingesetzten Edukte. Mittels GC-MS wurden diese als Aldehyde identifiziert (Abbildung 3.6, Abbildung 3.7 und Abbildung 3.8). Die Massenspektren zeigten ein für Aldehyde typisches Zerfallsmuster und spezifische Fragmente mit einem Masse zu Ladungsverhältnis ( $m/z$ ) von 82 und 96.

1-Octacosanal wurde anhand des Fragments mit 390  $m/z$  identifiziert. Im ersten Ansatz der 1-Octacosanalsynthese ohne Schutzgas konnten 33,6 mg 1-Octacosanal gewonnen werden (Ausbeute 33,6 %). Die Ausbeute der 1-Octacosanalsynthese im zweiten Ansatz mit Schutzgas war mit 7,0 % (6 mg) geringer. Beide Produkte waren zu 10 % mit 1-Heptacosanal ( $C_{27}$  Aldehyd, 376  $m/z$ ) verunreinigt. Daneben wurde im Produkt des zweiten Ansatzes außerdem 1-Triacontanol ( $C_{30}$  Alkohol, 8,2 %) nachgewiesen (57  $m/z$ , 75  $m/z$ , 103  $m/z$ , 496  $m/z$ ). Für die Rekristallisationen mit 1-Octacosanal wurde daher nur das Produkt aus dem ersten Ansatz verwendet.

Die Oxidation von 1-Hexacosanol ergab 79,8 mg 1-Hexacosanal (Ausbeute: 79,8 %). 1-Hexacosanal wurde anhand des Fragments mit 362  $m/z$  identifiziert. Die massenspektrometrische Analyse zeigte zudem eine 1,7%ige Verunreinigung des Produkts mit 1-Pentacosanal ( $C_{25}$  Aldehyd, 348  $m/z$ ).

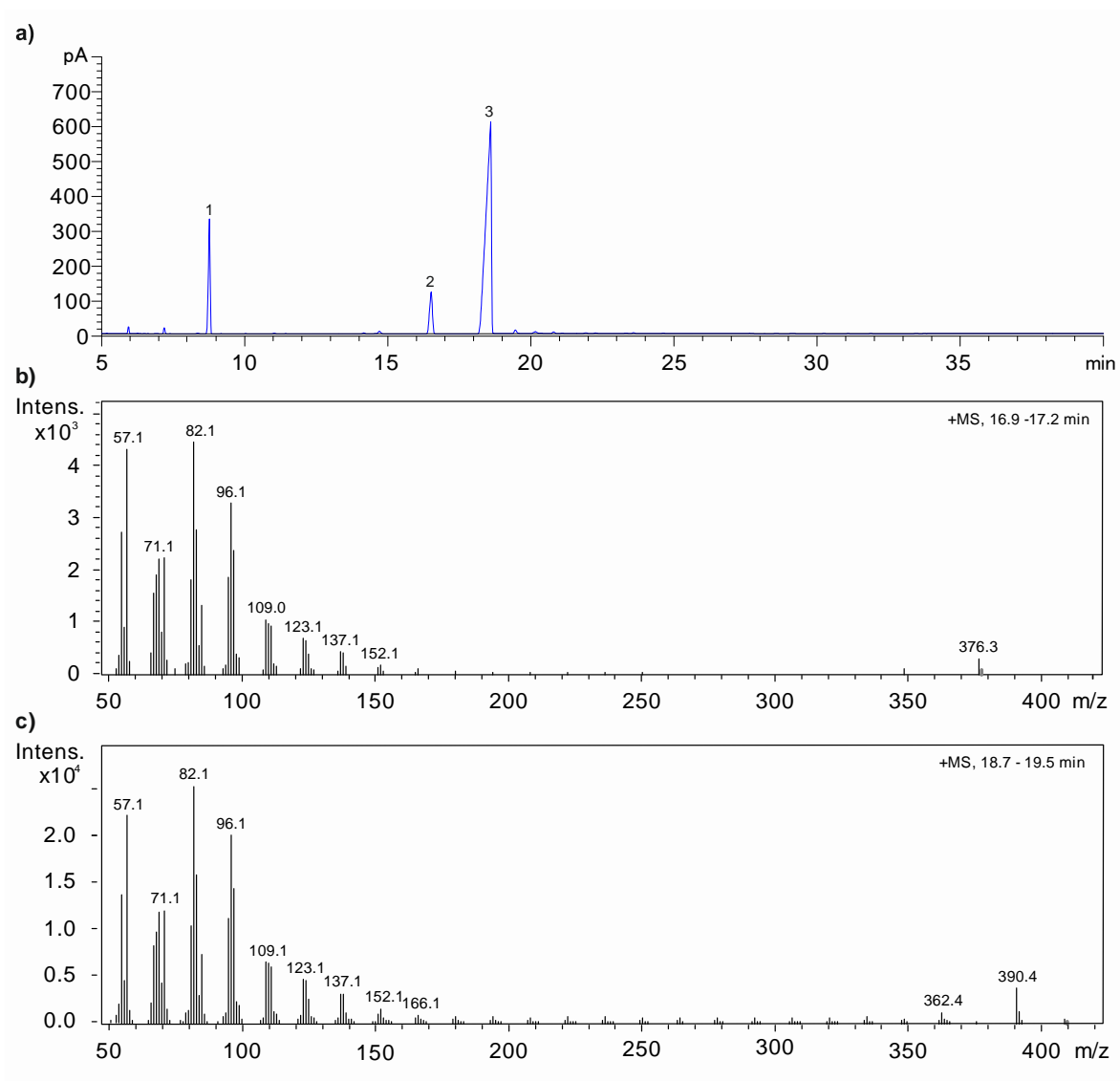
Die Dünnschichtchromatographien der zweiten 1-Octacosanal und der 1-Hexacosanal Synthese zeigten auch Banden, die auf derselben Höhe liefen wie der eingesetzte Alkohol. In den aufgetragenen Fraktionen wurde massenspektrometrisch das jeweilige Edukt nachgewiesen (Daten nicht gezeigt). Bei der 1-Octacosanalsynthese wurden 57,2 mg nicht umgesetzt. In den Fraktionen der 1-Hexacosanalsynthese waren insgesamt noch 15,7 mg

1-Hexacosanol enthalten. Bei der ersten 1-Octacosanal Synthese ohne Schutzgas wurden die Fraktionen, die keine Aldehyde enthielten, nicht weiter aufgetrennt und analysiert.

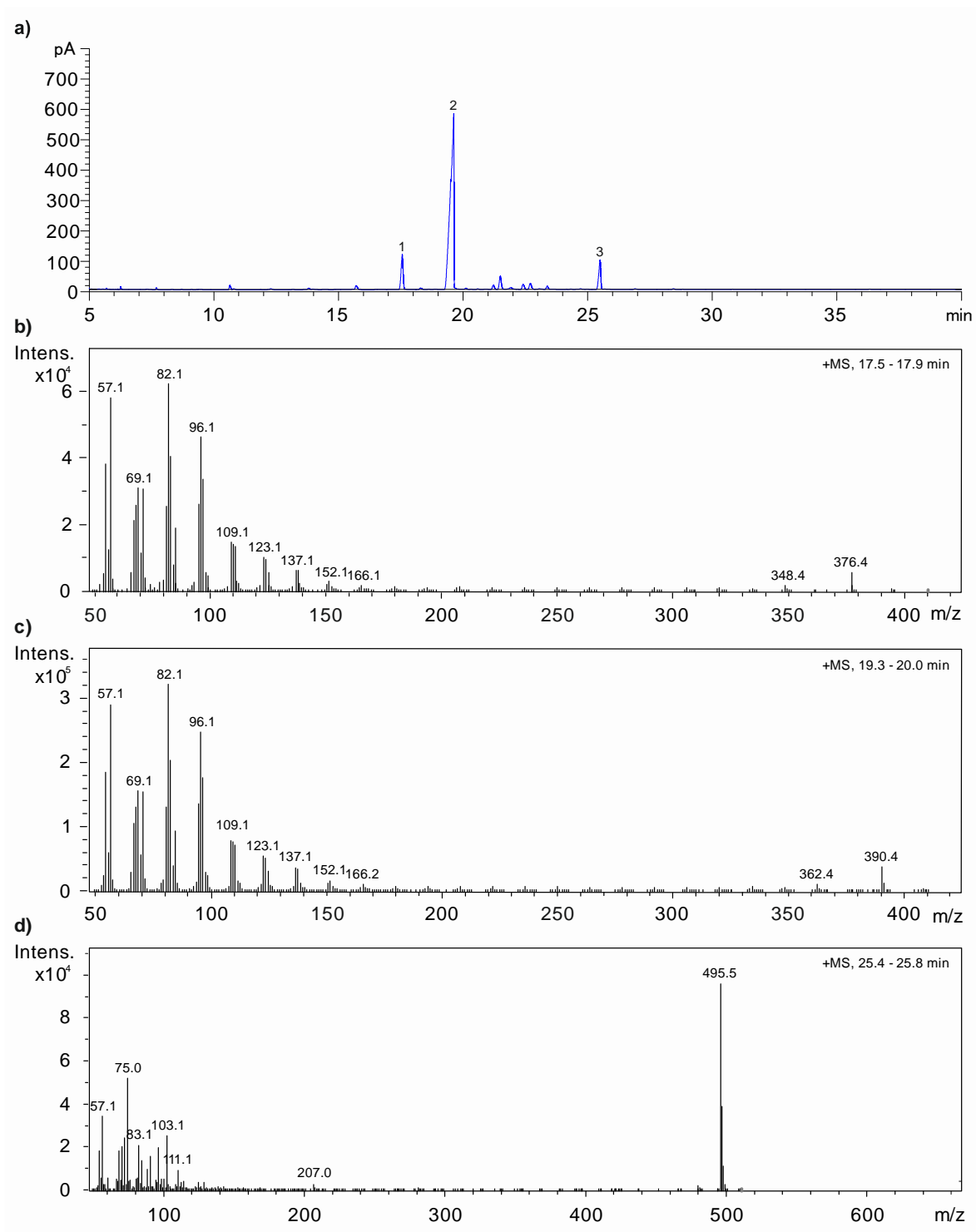
**Tabelle 3.6: Ergebnisse der Aldehydsynthesen**

	<b>Rf-Wert</b>	<b>Substanz</b>
<b>1-Octacosanal Synthese (1. Ansatz)</b>		
Edukt	0,2	1-Octacosanol
F3 - F8	0,7	1-Octacosanal, unrein
<b>1-Octacosanal Synthese (2. Ansatz)</b>		
Edukt	0,3	1-Octacosanol
F9 - F11	0,7	1-Octacosanal, unrein
F35 - F55	0,3	1-Octacosanol
<b>1-Hexacosanal Synthese</b>		
Edukt	0,3	1-Hexacosanol
F12 - F22	0,7	1-Hexacosanal, unrein
F44 - F58	0,3	1-Hexacosanol

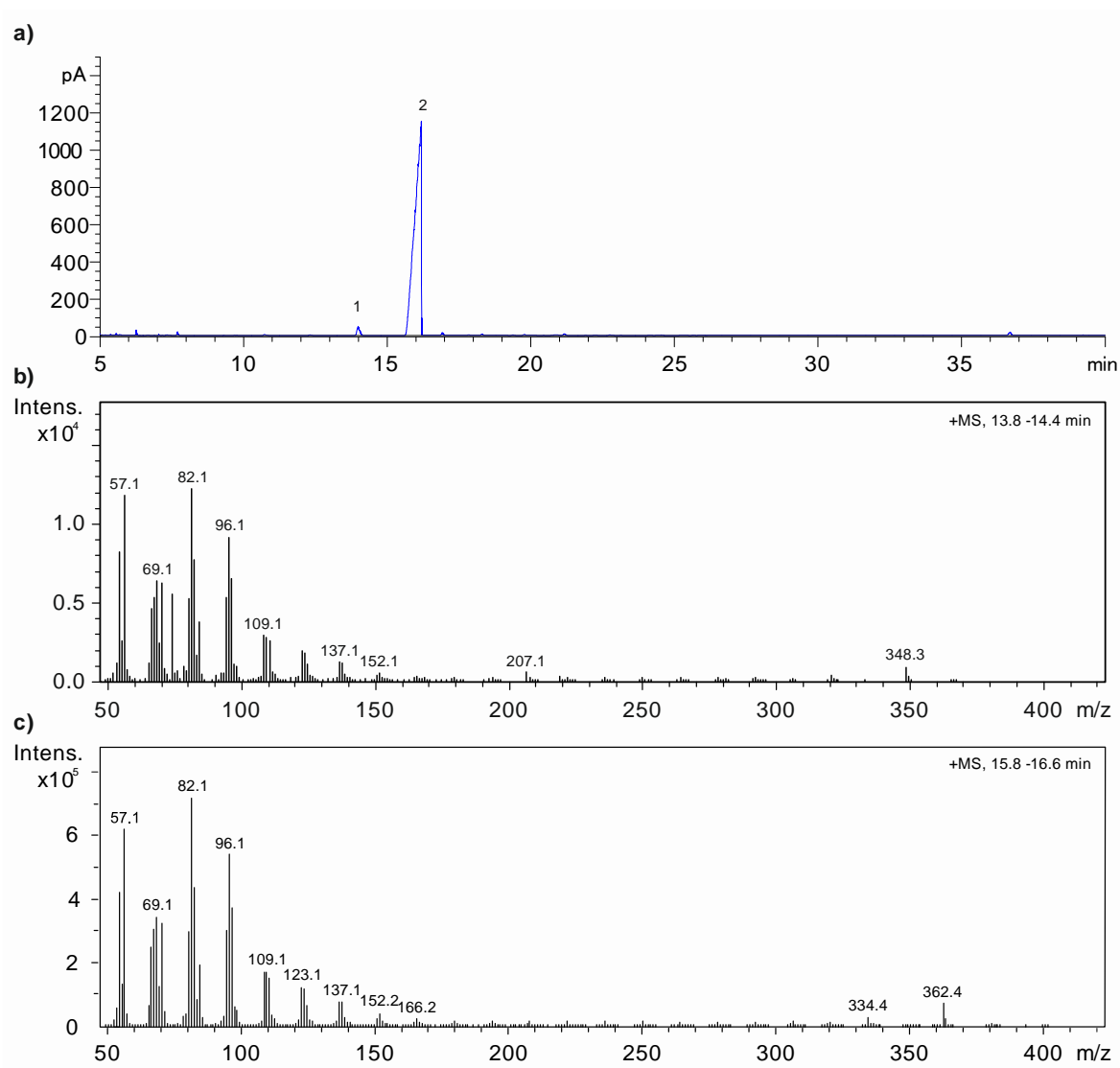
F: Fraktion; Die zweite 1-Octacosanal Synthese und die 1-Hexacosanal Synthese wurden unter Schutzgas mit wasserfreien Chemikalien durchgeführt.



**Abbildung 3.6: Ergebnisse der gaschromatographischen Auftrennung des Produkts des ersten Ansatzes der 1-Octacosanal Synthese; a) Chromatogramm der GC-FID Analyse, 1) interner Standard, 2) 1-Heptacosanal, 3) 1-Octacosanal, b) zugehöriges Massenspektrum von 1-Heptacosanal, c) zugehöriges Massenspektrum von 1-Octacosanal**



**Abbildung 3.7: Ergebnisse der gaschromatographischen Auftrennung des Produkts der zweiten 1-Octacosanal Synthese mit Schutzgas;** a) Chromatogramm der GC-FID Analyse, 1) 1-Heptacosanal, 2) 1-Octacosanal, 3) 1-Triacontanol, b) zugehöriges Massenspektrum von 1-Heptacosanal, c) von 1-Octacosanal und d) von 1-Triacontanol



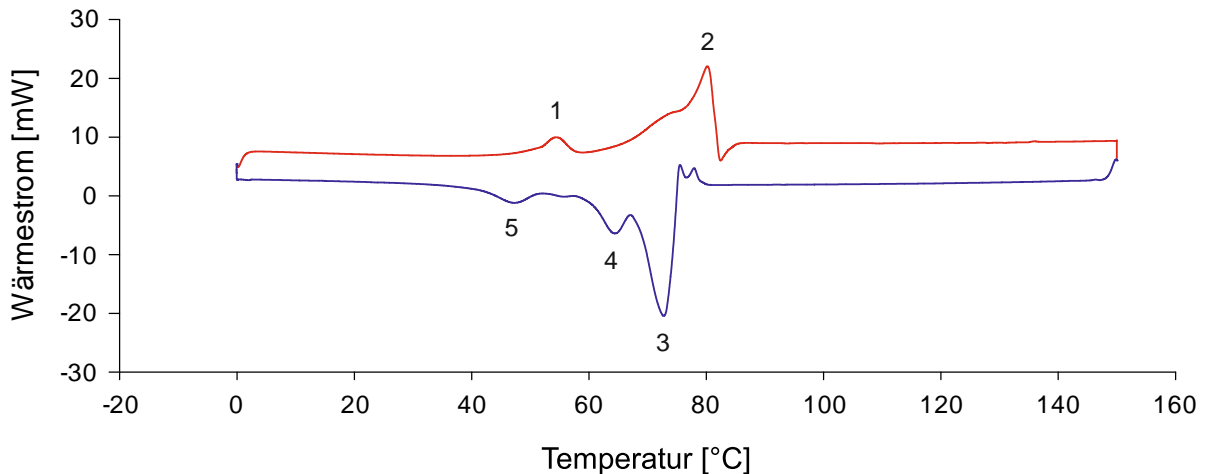
**Abbildung 3.8: Ergebnisse der gaschromatographischen Auftrennung des Produkts der 1-Hexacosanal Synthese;** a) Chromatogramm der GC-FID Analyse, 1) 1-Pentacosanal, 2) 1-Hexacosanal, b) zugehöriges Massenspektrum von 1-Pentacosanal, c) zugehöriges Massenspektrum von 1-Hexacosanal

### 3.2.2 Bestimmung des Schmelzpunkts des Weizenwachses mittels DSC

Der Schmelzpunkt des Weizenwachses wurde mittels dynamischer Differenzkalorimetrie (engl.: differential scanning calorimetry: DSC) ermittelt (Abbildung 3.9). Der Schmelzprozess hatte zwei Temperaturspitzen. Bei 54,6 °C zeigte ein kleinerer Peak bereits eine Phasenumwandlung an (Peak 1). Der Schmelzpunkt lag bei 80 °C, angezeigt durch einen



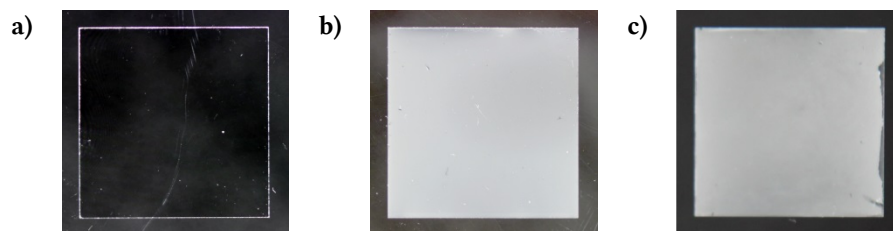
größeren Peak mit einer leichten Schulter (Peak 2). Der Erstarrungsprozess war in drei Peaks aufgespalten: Ein Hauptpeak (Peak 3) zeigte eine Kristallisation bei 72,4 °C an. Zwei kleinere Peaks (Peak 4 und 5) markierten Phasenumwandlungen bei 64,1 °C und 47,0 °C.



**Abbildung 3.9: Ergebnisse der DSC des Weizenwachsgemisches;** rot: Heizkurve; blau: Kühlkurve; Peak 1 und 2 zeigen Schmelztemperaturen an. Peak 3 bis 5 zeigen Kristallisationstemperaturen an.

### 3.2.3 Charakterisierung der entwickelten Testsysteme

Durch das Verfahren der thermischen Verdampfung konnte eine homogene Beschichtung der Substrate erzeugt werden. Nach dem Bedampfen mit dem Weizenwachs, dem Reinstoff 1-Octacosanol, dem Gemisch aus dem Alkohol und den Aldehyden war die Oberfläche der Glasplättchen und der Repliken gleichmäßig mit einer milchig aussenden Schicht überzogen (Abbildung 3.10).



**Abbildung 3.10: Fotografien der Glasplättchen vor und nach dem Bedampfen;** a) pures Glas (18 x 18 mm), b) mit dem Weizenwachs beschichtetes Glas, c) mit 1-Octacosanol beschichtetes Glas

## Überprüfung der chemischen Zusammensetzung des Wachsextraktes und der Wachsbeschichtung

Es wurde überprüft, ob sich die Wachszusammensetzung durch die Extraktionsweise im größeren Maßstab verändert hatte. Hierfür wurde die chemische Zusammensetzung des Wachsextrakts für die Rekrystallisation mit der des Wachsextraktes für die chemische Analyse verglichen. Abbildung 3.11 zeigt den Vergleich der Sorte Akteur. Die Vergleiche der beiden anderen Sorten sind im Anhang beigefügt (Abbildung 10.26 und Abbildung 10.27). In allen drei Extrakten für die Rekrystallisationen wurden die gleichen Substanzen in vergleichbaren Mengen gefunden, wie in der vorangegangenen Analyse der Freilandpflanzen. Eine statistische Auswertung konnte nicht durchgeführt werden, da jeweils nur ein Extrakt pro Sorte für die Rekrystallisationen zur Verfügung stand.

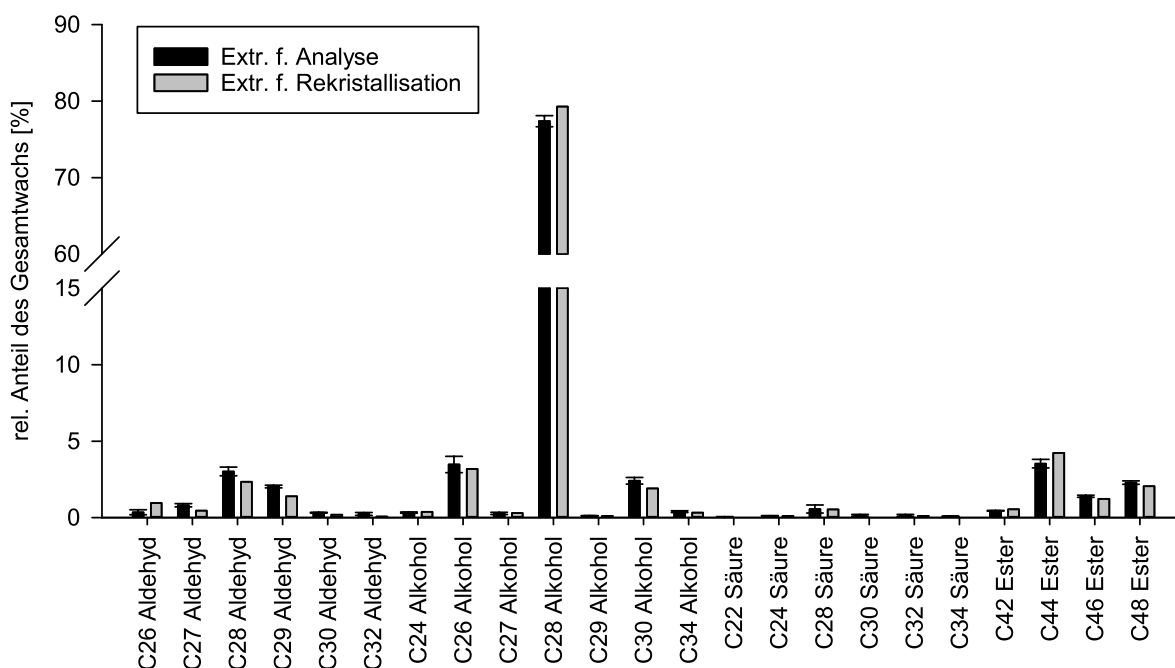
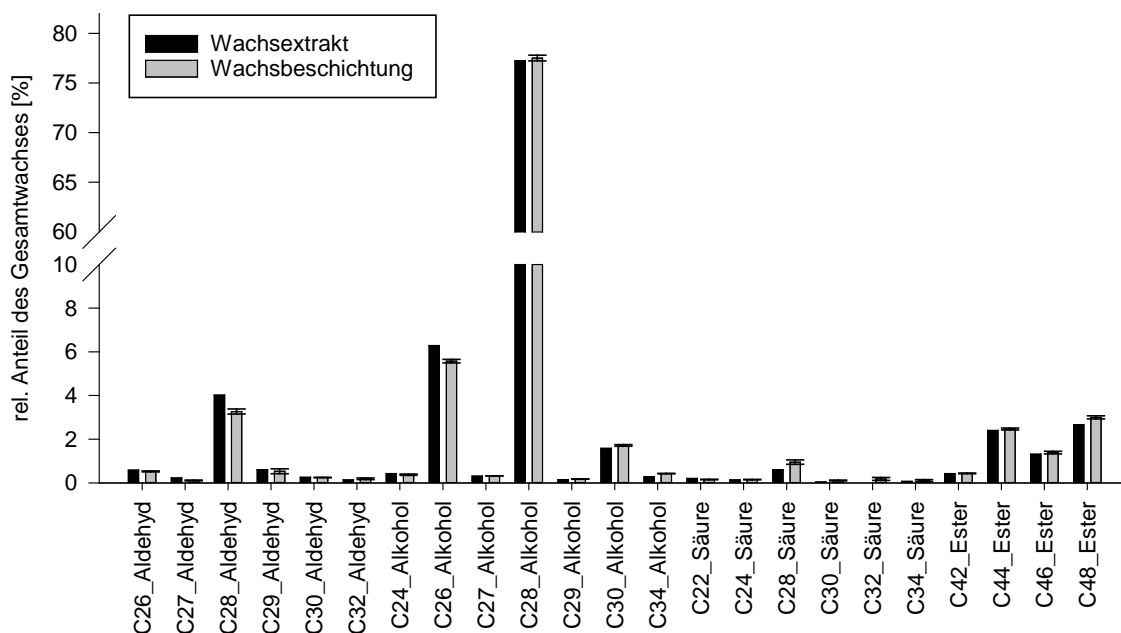


Abbildung 3.11: Zusammensetzung des Wachsextrakts für die chemische Analyse der Freilandpflanzen und des Wachsextraktes für die Rekrystallisation der Sorte Akteur

Die Zusammensetzung der Wachsbeschichtung wurde ebenfalls untersucht. Die Analyse der Wachsbeschichtung eines mit Ponticus Wachs bedampfen Gläschens ergab eine Gesamtwachsmenge von  $15,7 \pm 2,6 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ . Abbildung 3.12 zeigt den Vergleich der chemischen Zusammensetzung der Wachsbeschichtung mit der des Extraktes. Es wurden keine Unterschiede deutlich: Es wurden alle Komponenten des Weizenwachses in vergleichbaren Mengen wie in dem Wachsextrakt gefunden. Die Hauptkomponente war mit  $12,1 \pm 2,6 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  ( $77,5 \pm 2,6 \%$ ) 1-Octacosanol. Unter den Aldehyden hatte 1-Octacasanal mit  $0,5 \pm 0,1 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  ( $3,3 \pm 0,1 \%$ ) den größten Anteil.



**Abbildung 3.12: Relative Wachszusammensetzung des Wachsextrakts und der Wachsbeschichtung der Sorte Ponticus; Wachsextrakt (n = 1), Wachsbeschichtung (n = 4)**

### Rasterelektronenmikroskopische Untersuchung der Morphologie rekristallisierter Strukturen

Die REM Untersuchung der bedampften Oberflächen zeigte eine gleichmäßige Beschichtung der Substrate. Bei höherer Vergrößerung (mind. 5000 x) wurden auf allen Testsystemen, außer auf dem Schmelze-Testsystem, dreidimensionale, rekristallisierte Strukturen sichtbar (Abbildung 3.13 bis Abbildung 3.18). Mit steigender Masse nahmen

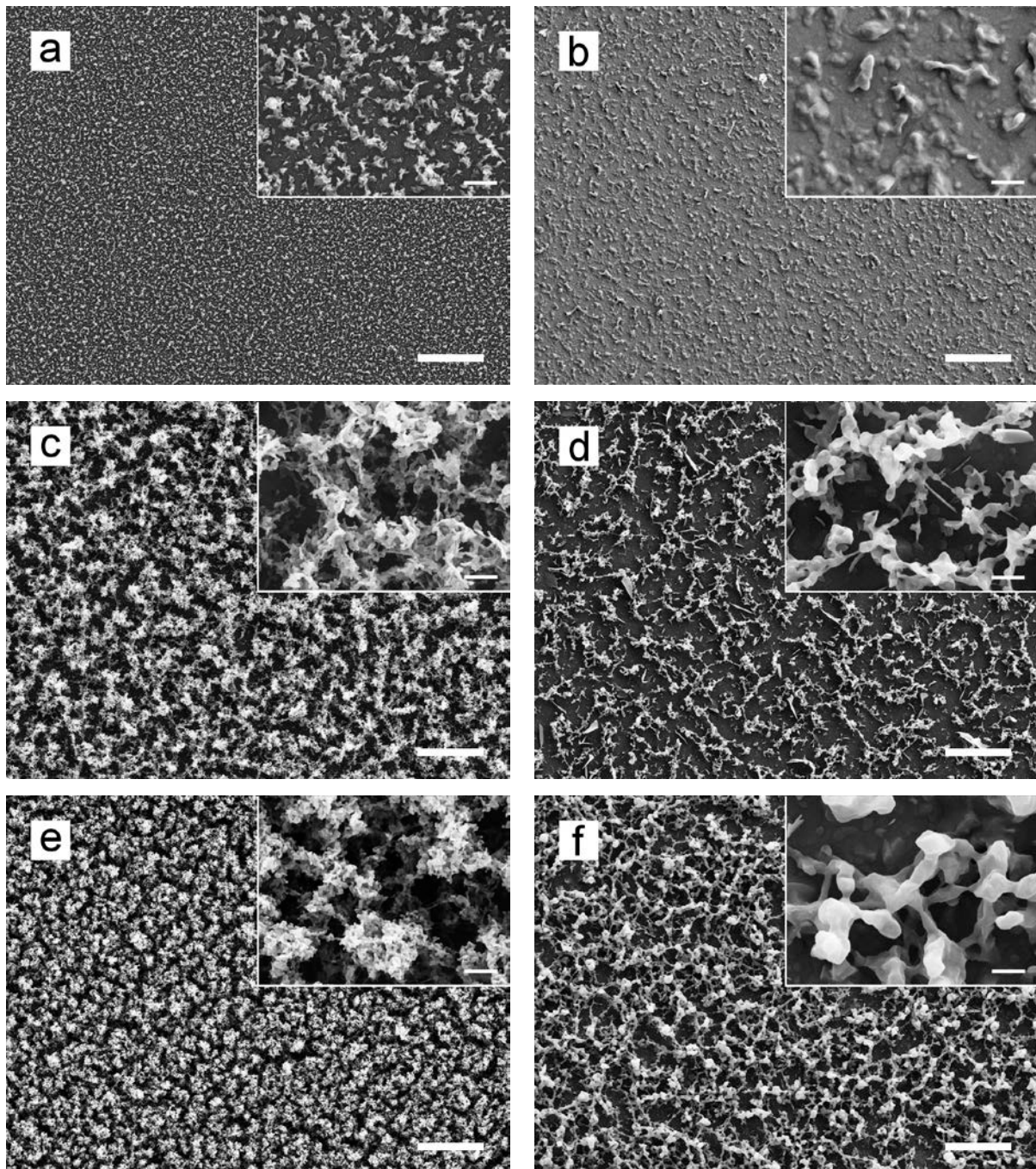
die Dichte und vor allem die Schichtdicke der gebildeten Strukturen zu. Bei 50 °C rekristallisierten weniger, aber größere Strukturen als bei RT (Abbildung 3.13 bis Abbildung 3.17). Auf den Repliken bildeten sich ähnliche Strukturen wie auf Glas. Eine exakte Kopie der Strukturen der Blattoberfläche (Abbildung 2.4) konnte durch keine der Rekristallisationen hergestellt werden.

Auf den Wachs-Testsystemen bildeten sich bei RT Akkumulationen aus miteinander verbundenen granulären Strukturen und Schüppchen aus (Abbildung 3.13a, c, e und Abbildung 3.14a, c). Die Schüppchen hatten teils ganzrandige, teils irreguläre Ränder. Der Übergang zwischen miteinander verbundenen Schüppchen und granulären Strukturen war fließend und die Strukturen nicht eindeutig voneinander abgrenzbar. Bei wenig Masse (700 µg) waren einzelne Schüppchen mit irregulären Rändern gut sichtbar. Bei 50 °C bildeten sich granulaartige Strukturen, die mit zunehmender Masse miteinander verbunden waren und ein Geflecht bildeten. Bei wenig aufgedampfter Masse und zwischen dem Geflecht waren vereinzelt Schuppen sichtbar (Abbildung 3.13b, d, f und Abbildung 3.14b, d).

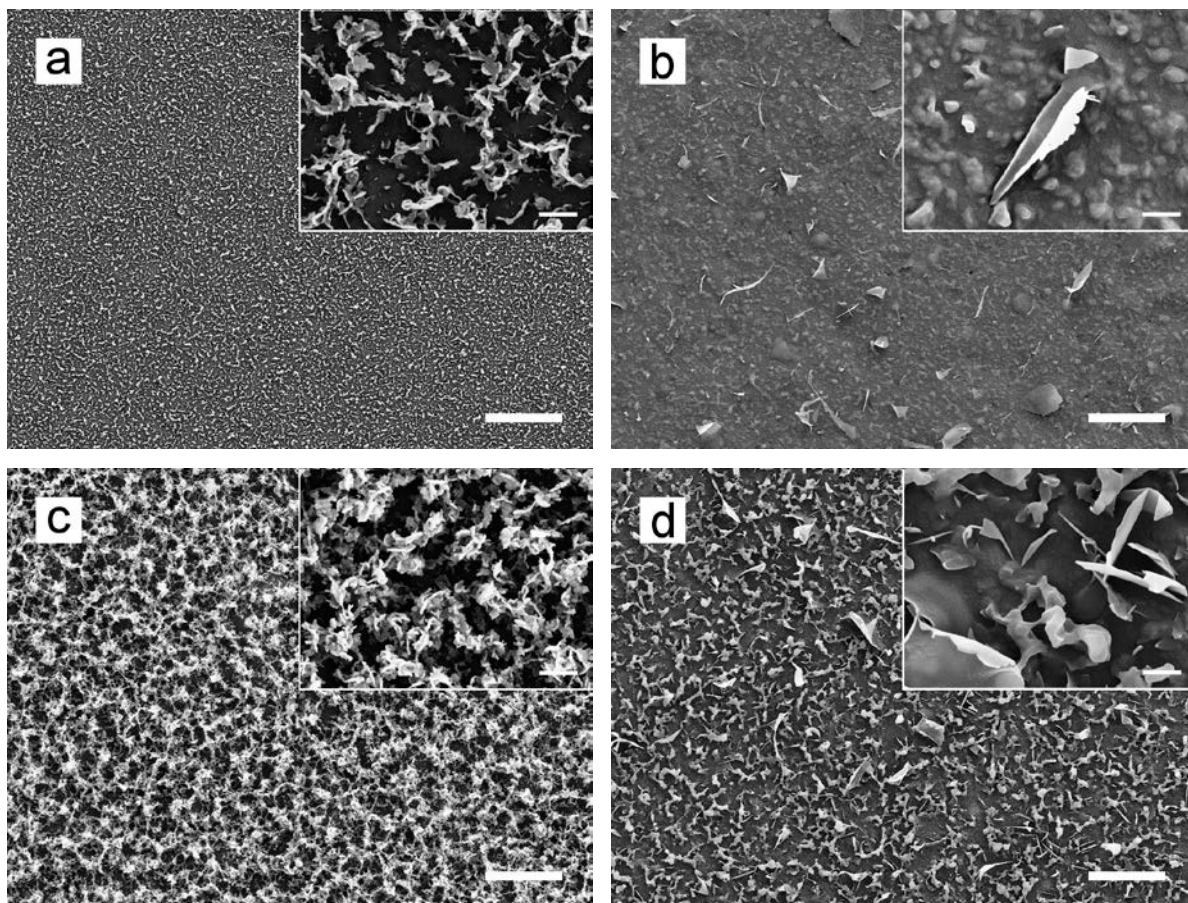
Bei der Rekristallisation von 1-Octacosanol bildeten sich ausschließlich Schüppchen und Schuppen (Abbildung 3.15). Bei RT waren ganzrandige Schüppchen zu Ketten verknüpft und bildeten mit zunehmender Masse ein immer dichter werdendes Netzwerk (Abbildung 3.15a, c, e und Abbildung 3.16a, c). Bei 50 °C rekristallisierten größere ganzrandige Schuppen. Auf flachliegenden Plättchen bildeten sich dazu senkrecht stehende Schuppen (Abbildung 3.15b, d, f und Abbildung 3.16b, d). Mit zunehmender Masse bildeten die Schuppen Akkumulationen, aber keine Ketten wie bei RT.

Die rekristallisierten Strukturen des 1-Hexacosanal und 1-Octacosanal-Alkohol-Gemischs waren gleich. Auf den Testsystemen, die mit den Aldehyd-Alkohol-Gemischen bedampft wurden, bildeten sich Schüppchen mit ganzrandigen Rändern (Abbildung 3.17). Sie ähnelten sehr den Strukturen, die durch die Rekristallisation des reinen Alkohols gebildet wurden (Abbildung 3.15 und Abbildung 3.16). Die Schüppchen hatten ganzrandige Ränder, akkumulierten mit zunehmender Masse und waren miteinander verknüpft.

Die Rekristallisation aus der Schmelze erzeugte keine dreidimensionalen Strukturen. Das Wachs bildete eine dünne Schicht, die erst nach deren Abhebung mit Kollodium deutlich erkennbar war (Abbildung 3.18).

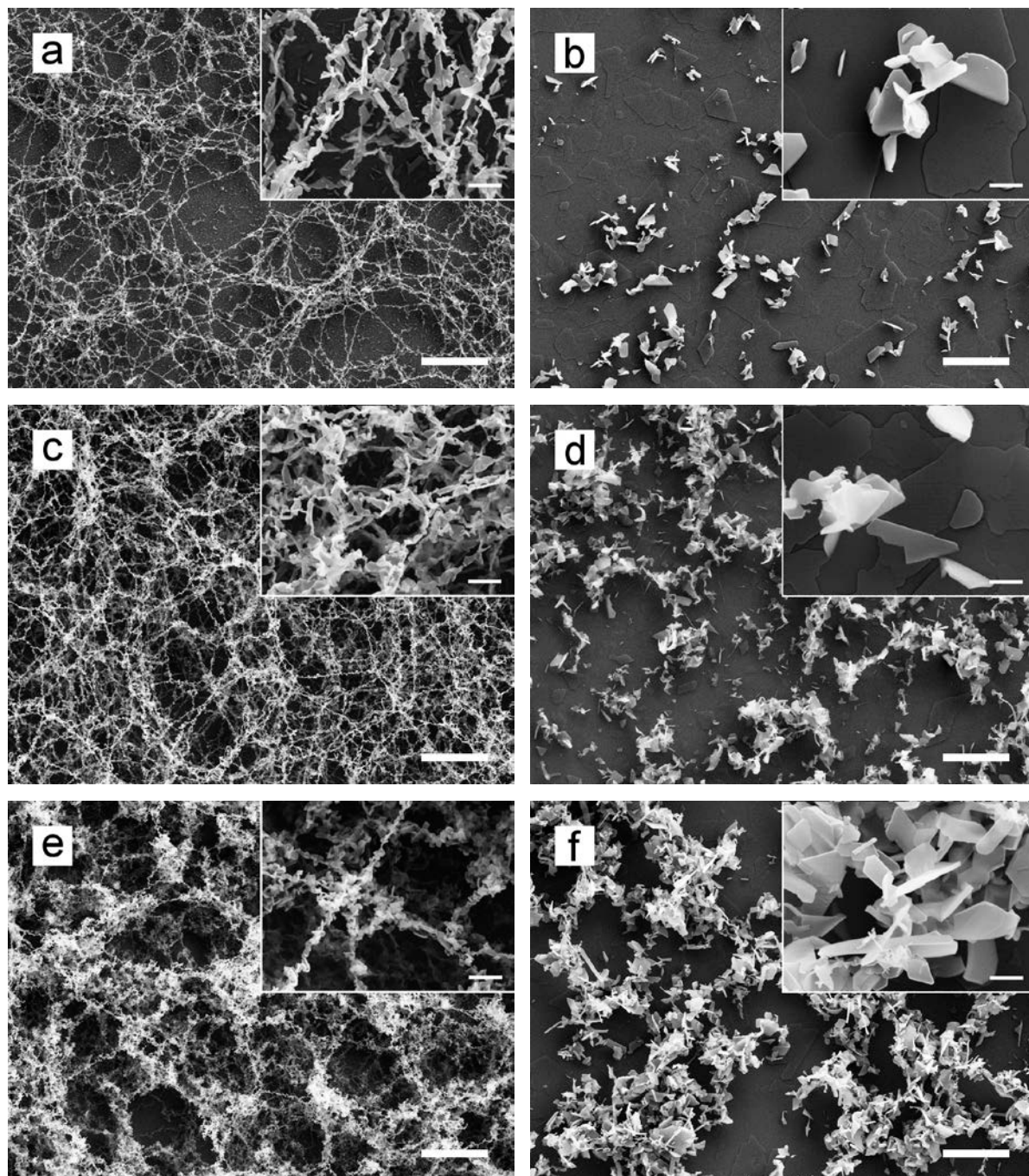


**Abbildung 3.13: REM Mikrographien rekristallisierter Strukturen aus Weizenwachs auf Glas;** linke Spalte: Rekristallisationen bei RT; rechte Spalte: Rekristallisationen bei 50 °C; von oben nach unten: zunehmende rekristallisierende Masse; a) 700 µg Wachs bei RT, Akkumulationen aus granulären Strukturen und Schüppchen; b) 700 µg Wachs bei 50 °C, granuläre Strukturen; c) 1400 µg Wachs bei RT, Geflecht aus granulären Strukturen und Schüppchen; d) 1400 µg Wachs bei 50 °C, Geflecht aus granulären Strukturen mit einzelnen dazwischen stehenden Schuppen; e) 2800 µg Wachs bei RT, Geflecht aus granulären Strukturen und Schüppchen; f) 2800 µg Wachs bei 50 °C, Geflecht aus granulären Strukturen; Die Rekristallisationsdauer betrug jeweils drei Tage. Größenbalken: 10 µm; Größenbalken Detailaufnahmen: 1 µm

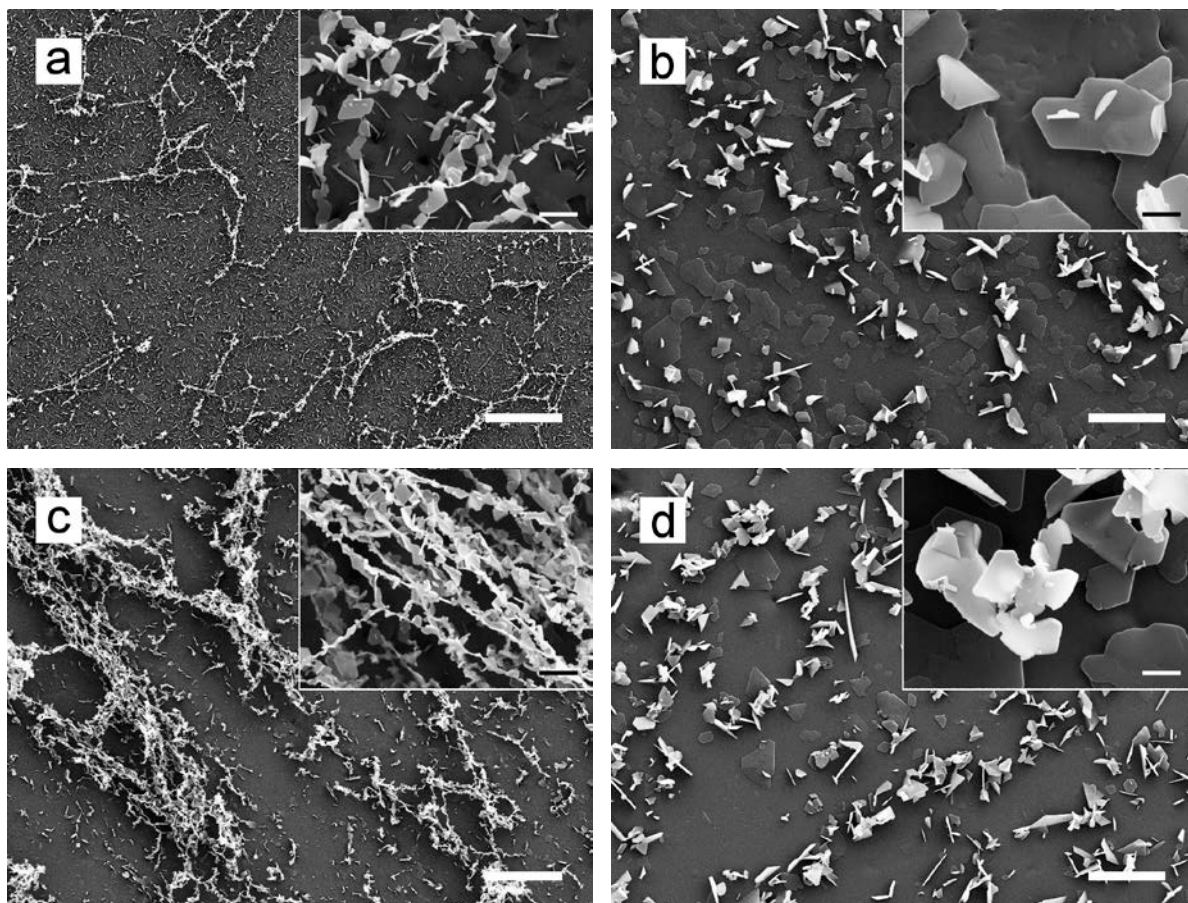


**Abbildung 3.14: REM Mikrographien rekristallisierter Strukturen aus Weizenwachs auf Repliken;** linke Spalte: Rekristallisationen bei RT; rechte Spalte: Rekristallisationen bei 50 °C; von oben nach unten: zunehmende rekristallisierende Masse; a) 700 µg Wachs bei RT, Akkumulationen aus granulären Strukturen und Schüppchen; b) 700 µg Wachs bei 50 °C, vereinzelte Schuppen auf granulären Strukturen; c) 1400 µg Wachs bei RT, Geflecht aus granulären Strukturen und Schüppchen; d) 1400 µg Wachs bei 50 °C, granuläre Strukturen mit einzelnen dazwischen stehenden Schuppen; Die Rekristallisationsdauer betrug jeweils drei Tage. Größenbalken: 10 µm; Größenbalken Detailaufnahmen: 1 µm



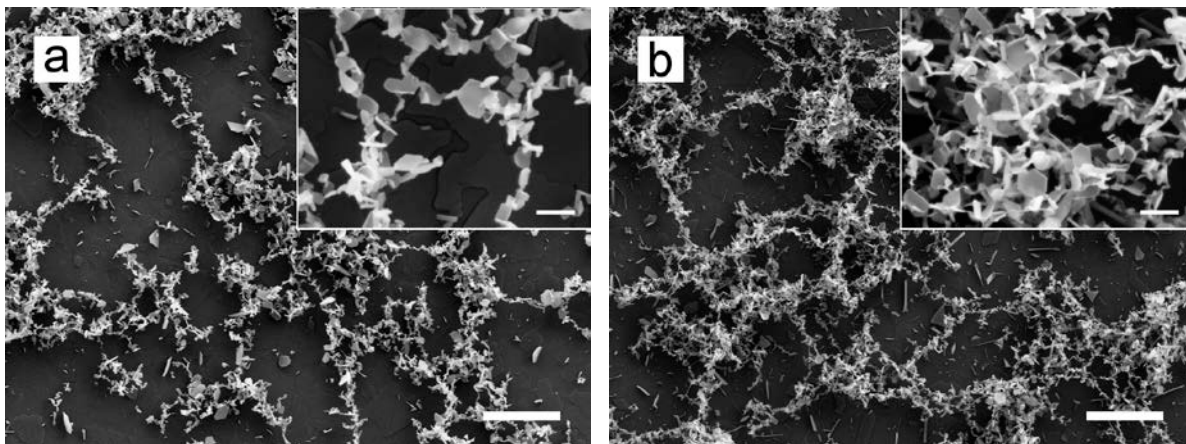


**Abbildung 3.15: REM Mikrographien rekristallisierter Strukturen aus 1-Octacosanol auf Glas;** linke Spalte: Rekristallisationen bei RT; rechte Spalte: Rekristallisationen bei 50 °C; von oben nach unten: zunehmende rekristallisierende Masse; a) 500 µg 1-Octacosanol bei RT, Netzwerk aus ganzrandigen Schüppchenketten; b) 500 µg 1-Octacosanol bei 50 °C, ganzrandige Schuppen auf flachliegenden Platten; c) 1000 µg 1-Octacosanol bei RT, Netzwerk aus ganzrandigen Schüppchenketten; d) 1000 µg 1-Octacosanol bei 50 °C, Akkumulationen aus ganzrandigen Schuppen; e) 2000 µg 1-Octacosanol bei RT, Netzwerk aus ganzrandigen Schüppchenketten; f) 2000 µg 1-Octacosanol bei 50 °C, Geflecht aus ganzrandigen Schuppen; Die Rekristallisationsdauer betrug jeweils drei Tage. Größenbalken: 10 µm; Größenbalken Detailaufnahmen: 1 µm

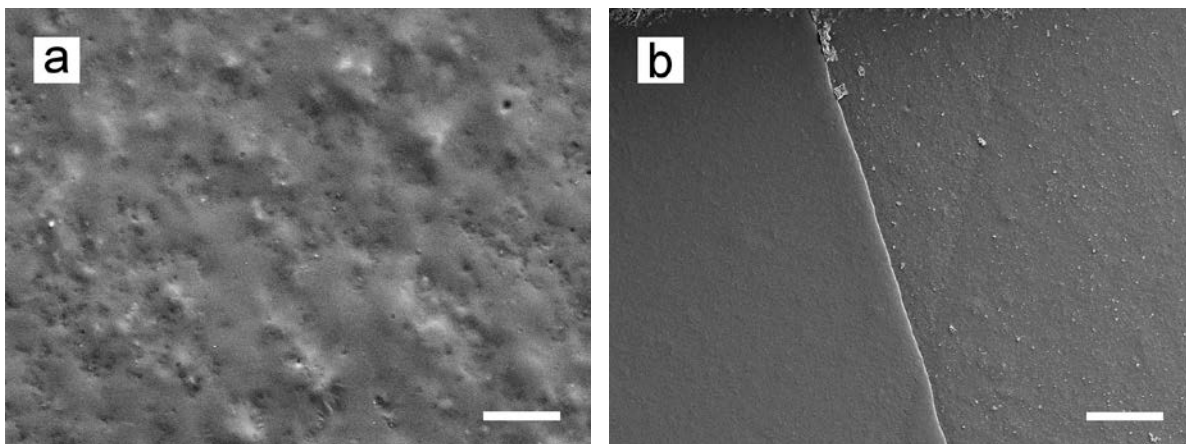


**Abbildung 3.16: REM Mikrographien rekristallisierter Strukturen aus 1-Octacosanol auf Repliken;** linke Spalte: Rekristallisationen bei RT; rechte Spalte: Rekristallisationen bei 50 °C; von oben nach unten: zunehmende rekristallisierende Masse; a) 500 µg 1-Octacosanol bei RT, zu Ketten verknüpfte ganzrandige Schüppchen, b) 500 µg 1-Octacosanol bei 50 °C, ganzrandige Schuppen auf flachliegenden Platten; c) 1000 µg 1-Octacosanol bei RT: Netzwerk aus ganzrandigen Schüppchenketten; d) 1000 µg 1-Octacosanol bei 50 °C, ganzrandige Schuppen auf flachliegenden Platten; Die Rekristallisationsdauer betrug jeweils drei Tage. Größenbalken: 10 µm; Größenbalken Detailaufnahmen: 1 µm





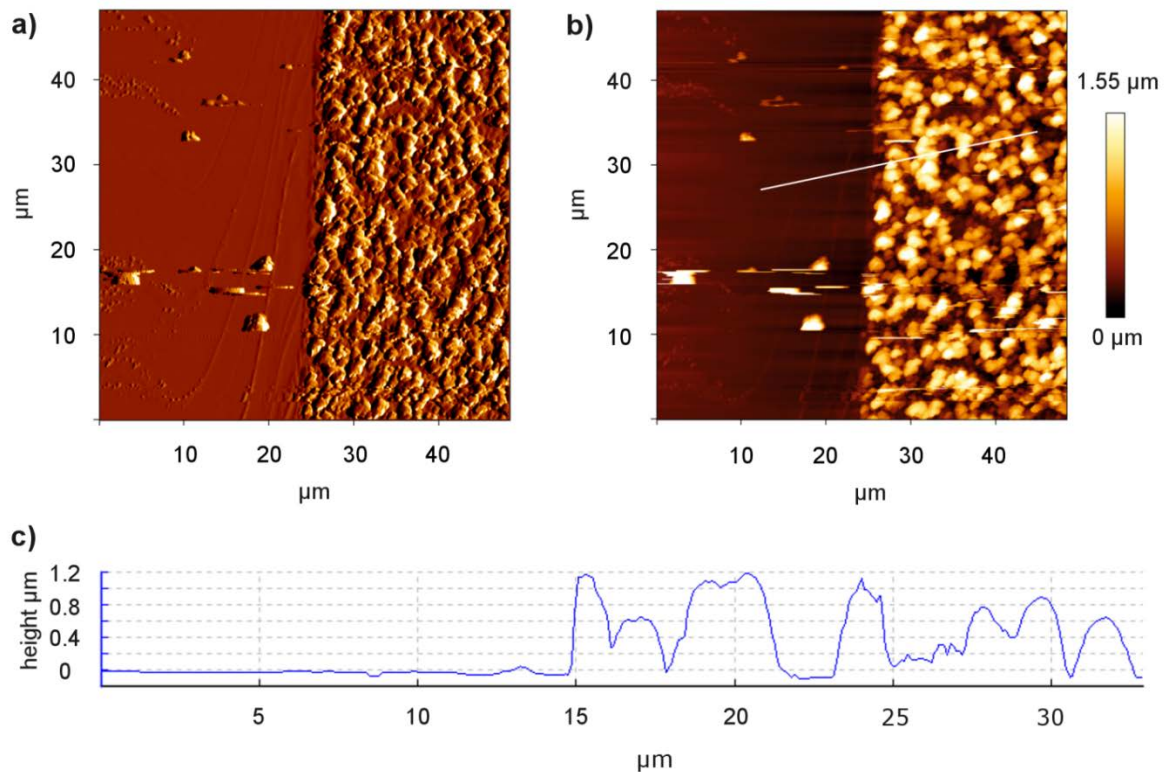
**Abbildung 3.17: REM Mikrographien rekristallisierter Strukturen aus den Alkohol-Aldehyd-Gemischen auf Glas;** a) 1400 µg 1-Hexacosanal-1-Octacosanol, Netzwerk aus ganzrandigen Schüppchen; b) 1400 µg 1-Octacosanal-1-Octacosanol, Netzwerk aus ganzrandigen Schüppchen; Die Rekrystallisation fand bei Raumtemperatur statt. Die Rekrystallisationsdauer betrug jeweils drei Tage. Größenbalken: 10 µm, Größenbalken Detailaufnahmen: 1 µm;



**Abbildung 3.18: REM Mikrographien des Schmelze-Testsystems;** a) Wachsschicht auf der Replik nach dem Schmelzen des Weizenwachses; b) Kante der Wachsschichtung zur Replik nach Abnahme mit Kollodium, links Wachsschicht, rechts pure Replik. Nach der Bedampfung wurden die Proben ü. N. auf 100 °C erhitzt und anschließend auf 4 °C abgekühlt. Die Rekrystallisationsdauer betrug drei Tage. Größenbalken in a): 10 µm; Größenbalken in b): 100 µm

## Rasterkraftmikroskopische Untersuchung der Schichtdicke rekristallisierter Strukturen

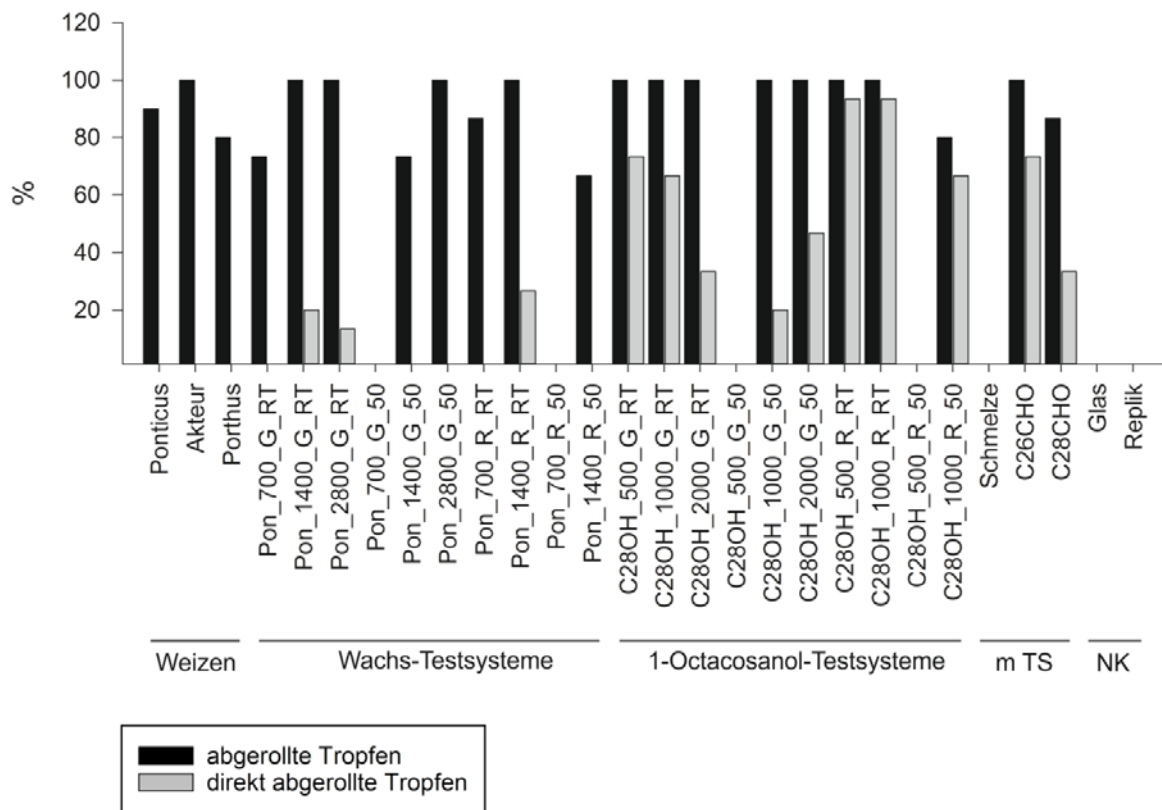
Die AFM Messung zeigte dreidimensionale, granulaartige Strukturen auf dem mit Weizenwachs beschichteten Testsystem (Pon\_1400\_G\_50, Abbildung 3.19). Mit einer Rasierklinge konnte die Beschichtung gut abgetragen werden, sodass eine klare Kante entstand an der die Höhe der Beschichtung messbar war. Die Wachsschicht des untersuchten Weizenwachs-Testsystems war  $1,12 \pm 0,23 \mu\text{m}$  dick.



**Abbildung 3.19: Ergebnisse der AFM Untersuchung der Schichtdicke eines Weizenwachs-Testsystems;** in allen drei Bildern links: Glas ohne Beschichtung, rechts Strukturen der Wachsbeschichtung; a) Amplitudenbild, b) Höhenbild (weißer Strich: Kennzeichnung des Querschnitts), c) Querschnitt des Höhenbildes b)

### **Untersuchung der Benetzungseigenschaften der Testsysteme**

Durch die Messungen des Kontaktwinkels, des Kippwinkels und der Hysterese auf den verschiedenen Testsystemen sollte das Testsystem identifiziert werden, auf dem die gleichen Benetzungseigenschaften vorliegen wie auf der natürlichen Blattoberfläche. Abbildung 3.20 zeigt den Anteil der abgerollten Tropfen auf den verschiedenen Testsystemen. Auf dem Schmelze-Testsystem und bei den Testsystemen mit wenig aufgedampfter Masse, die bei 50 °C rekristallisiert wurden, rollten die abgelegten Tropfen wie auf den Negativkontrollen nicht ab. Auf sechs der 23 Testsysteme rollten wie auf der Blattoberfläche von Ponticus (90 %) und Porthus (80 %) die Mehrheit der abgelegten Tropfen ab. Wie auf der Blattoberfläche von Akteur rollten auf zwölf Testsystemen 100 % der abgelegten Tropfen ab. Bei 13 dieser Testsysteme rollten einige der Tropfen direkt nachdem sie abgelegt wurden ab, sodass ein statischer Kontaktwinkel nicht bestimmt werden konnte. Auf den beiden 1-Octacosanol-Testsystemen, die auf einer Replik bei RT rekristallisiert wurden rollten fast alle Tropfen direkt ab. Bei einem weiteren 1-Octacosanol-Testsystem (C28OH\_1000\_R\_50) und bei dem 1-Octacosanal-Testsystem rollten 80,0 % und 86,7 % der Tropfen ab, wovon 66,7 % und 33,3 % direkt abrollten.



**Abbildung 3.20: Anteile abgerollter und direkt abgerollter Tropfen auf den Weizenblättern und auf den verschiedenen Testsystemen;** m TS: modifizierte Testsysteme; NK: Negativkontrolle; direkt abgerollte Tropfen: Tropfen, die direkt nach dem Ablegen ohne Kippen der Probe abgerollt waren

***Benetzungseigenschaften der 1-Octacosanol-Testsysteme und der Weizenblätter***

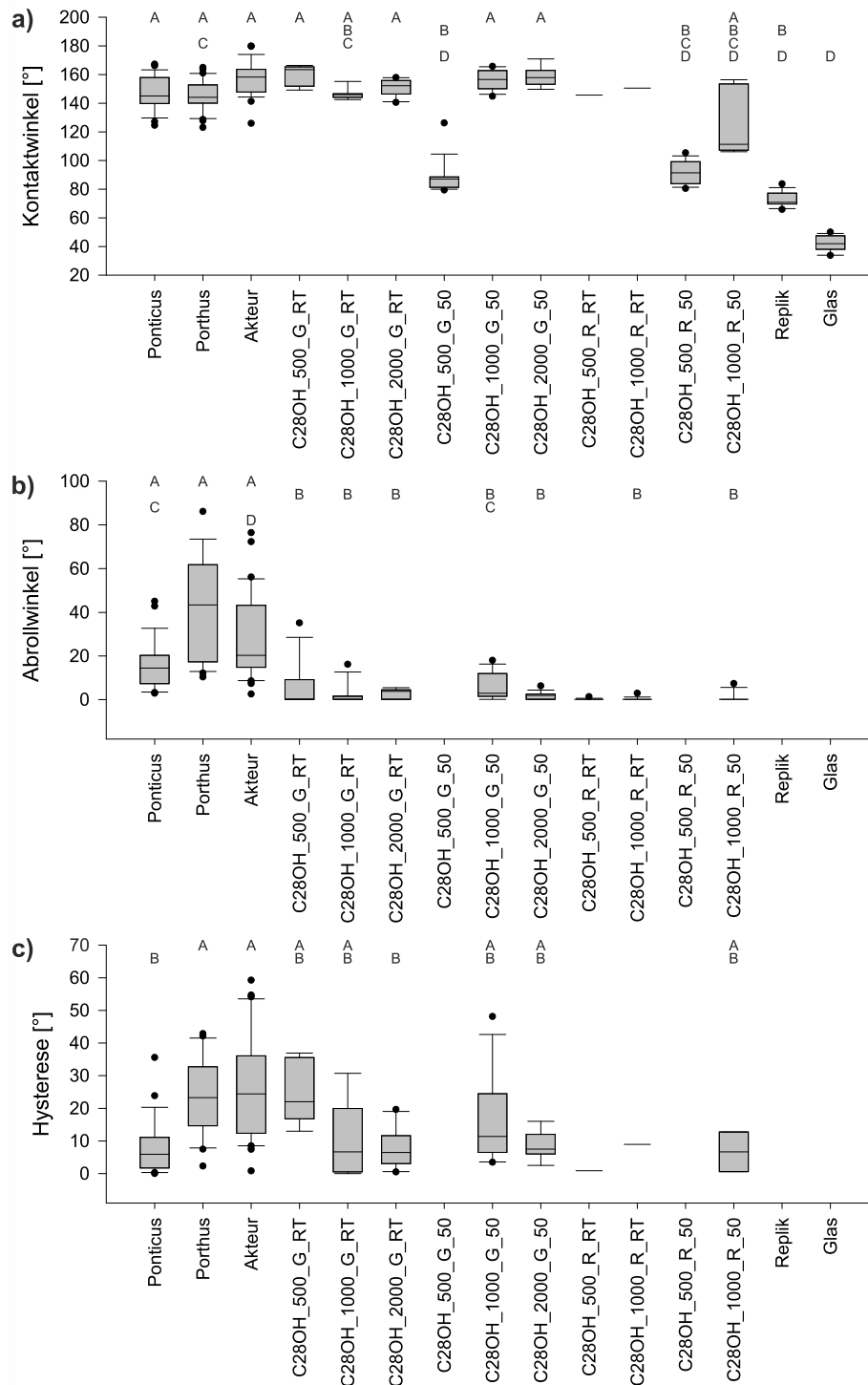
Abbildung 3.21 zeigt die Benetzungseigenschaften der 1-Octacosanol-Testsysteme im Vergleich zu den Weizenblättern. Die Kontaktwinkel fast aller 1-Octacosanol-Testsysteme unterschieden sich nicht von den Kontaktwinkeln der Weizenblätter (Abbildung 3.21a). Wie auf den Weizenblättern der Sorte Akteur ( $157,0 \pm 11,9^\circ$ ) lagen die Kontaktwinkel mehrerer Testsysteme (C28OH\_1000\_G\_50, C28OH\_1000\_R\_RT, C28OH\_2000\_G\_RT, C28OH\_1000\_G\_50, C28OH\_2000\_G\_50, C28OH\_2000\_G\_RT und C28OH\_500\_G\_RT) im superhydrophoben Bereich ( $KW > 150^\circ$ ). Auf dem C28OH\_1000\_R\_50- ( $126,6 \pm 24,8^\circ$ ), dem C28OH\_1000\_G\_RT- ( $146,4 \pm 3,8^\circ$ ) und auf dem C28OH\_500\_R\_RT-Testsystem ( $145,7^\circ$ ) lagen die Kontaktwinkel wie auf den Blättern der Sorten Ponticus ( $147,5 \pm 11,7^\circ$ ) und Porthus ( $145,6 \pm 10,3^\circ$ ) im oberen hydrophoben Bereich. Die Ausnahmen bildeten die beiden Testsysteme, die mit wenig 1-Octacosanol ( $500 \mu\text{g}$ ) bedampft und bei  $50^\circ\text{C}$  rekristallisiert worden waren: Das C28OH\_500\_G\_50-Testsystem hatte einen kleineren Kontaktwinkel als die drei Weizensorten. Er unterschied sich mit  $88,1^\circ \pm 11,1^\circ$  nicht von den Kontaktwinkeln der Negativkontrollen (Glas und Replik) und lag als einziger im hydrophilen Bereich. Das C28OH\_500\_R\_50-Testsystem hatte einen deutlich niedrigeren Kontaktwinkel als die Blattoberflächen von Ponticus und Akteur. Mit  $91,9^\circ \pm 8,0^\circ$  lag der Kontaktwinkel knapp im hydrophoben Bereich. Auf den beiden 1-Octacosanol-Testsystemen, die auf einer Replik bei RT rekristallisiert wurden, konnte nur ein Wert für den Kontaktwinkel bestimmt werden, da, bis auf einen Tropfen, alle Tropfen direkt abgerollt waren (siehe oben).

Die Abrollwinkel konnten auf den Negativkontrollen und auf den beiden 1-Octacosanol-Testsystemen, die mit niedriger Masse bedampft und bei  $50^\circ\text{C}$  rekristallisiert worden waren, nicht bestimmt werden, da die Tropfen auch bei einer maximalen Kippung von  $90^\circ$  nicht abgerollt waren. Die Abrollwinkel der übrigen 1-Octacosanol-Testsysteme lagen alle unter  $10^\circ$  (Abbildung 3.21b). Auf den Weizenblättern rollten die Tropfen erst bei höheren Kippwinkeln ab. Nur auf dem C28OH\_1000\_G\_50-Testsystem ( $5,7 \pm 6,1^\circ$ ) und der Blattoberfläche der Sorte Ponticus ( $15,7 \pm 15,1^\circ$ ) unterschieden sich die Abrollwinkel nicht.

Die Hysteresen der 1-Octacosanol-Testsysteme glichen denen der Weizenblätter (Abbildung 3.21c): Die Hysteresen des C28OH\_1000\_G\_50- ( $16,2 \pm 13,1^\circ$ ), des

C28OH\_1000\_G\_RT- ( $9,7 \pm 11,4^\circ$ ), des C28OH\_1000\_R\_50- ( $6,7 \pm 8,6^\circ$ ), des C28OH\_500\_G\_RT- ( $25,3 \pm 10,0^\circ$ ) und des C28OH\_2000\_G\_50-Testsystems ( $8,5 \pm 4,2^\circ$ ) unterschieden sich von keiner der Hysterese der drei Weizensorten. Das C28OH\_2000\_G\_RT-Testsystem hatte mit  $7,8 \pm 5,9^\circ$  die gleiche Hysterese wie das Ponticus Blatt mit  $8,2 \pm 8,3^\circ$ . Wie bei den Kontaktwinkelmessungen konnte die Hysterese auf den 1-Octacosanol-Testsystemen, die auf einer Replik rekristallisiert wurden, jeweils nur an einem Tropfen gemessen werden, da die übrigen Tropfen direkt abgerollt waren (Abbildung 3.20). Auf den Negativkontrollen und auf den Testsystemen, auf denen die Tropfen nicht abgerollt waren (C28OH\_500\_G\_50, C28OH\_500\_R\_50), konnten wie bei den Abrollwinkeln keine Hysterese bestimmt werden.

Die verschiedenen Testsysteme hatten alle bis auf das C28OH\_500\_G\_50-Testsystem die gleichen Kontaktwinkel wie die Weizenblätter. Die Hysterese messungen zeigten auch bei mehreren Testsystemen (C28OH\_500\_G\_RT, C28OH\_1000\_G\_RT, C28OH\_1000\_G\_50, C28OH\_2000\_G\_50, C28OH\_1000\_R\_50) keinen Unterschied zu den Blattoberflächen. Nur bei den Abrollwinkeln zeigte einzig das C28OH\_1000\_G\_50-Testsystem keinen Unterschied zu dem Weizenblatt der Sorten Ponticus. Das C28OH\_1000\_G\_50-Testsystem war somit das einzige Testsystem mit dem der gleiche Kontaktwinkel, der gleiche Kippwinkel und die gleiche Hysterese wie auf einer Blattoberfläche erreicht wurden. Daher wurden für die folgenden Experimente das C28OH\_1000\_G\_50-Testsystem als 1-Octacosanol-Testsystem, die Blätter der Sorte Ponticus als Positivkontrolle und der Wachsextrakt der Sorte Ponticus für die Rekristallisationen mit dem Weizenwachs ausgewählt.



**Abbildung 3.21: Benetzungseigenschaften der 1-Octacosanol-Testsysteme;** a) Kontaktwinkel, b) Abrollwinkel, c) Hysterese der verschiedenen Oberflächen (n = 15); Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede der Kontaktwinkel, Abrollwinkel und Hysterese der verschiedenen Oberflächen (p < 0,05, getestet durch einen Kruskal Wallis Test mit anschließendem *Post Hoc* Dunn Bonferroni Test)

***Benetzungseigenschaften der Weizenwachs-Testsysteme und des Weizenblattes***

Die Mehrheit der Weizenwachs-Testsysteme hatten die gleichen Kontaktwinkel wie das Weizenblatt (Abbildung 3.22a). Nur die Testsysteme, die mit wenig Wachs bedampft und bei 50 °C rekristallisiert wurden (Pon\_700\_G\_50, Pon\_700\_R\_50) hatten mit  $110 \pm 12^\circ$  und  $103 \pm 14,3^\circ$  niedrigere Kontaktwinkel als das Weizenblatt mit  $147,5 \pm 11,7^\circ$ . Die Oberflächen dieser Testsysteme und zwei weiterer Testsysteme (Pon\_1400\_R\_50:  $139,6 \pm 15,3^\circ$ ; Pon\_2800\_G\_50:  $148,5 \pm 4,7^\circ$ ) hatten hydrophobe Eigenschaften. Die meisten der entwickelten Testsysteme hatten superhydrophobe Oberflächen mit Kontaktwinkeln über 150 °C.

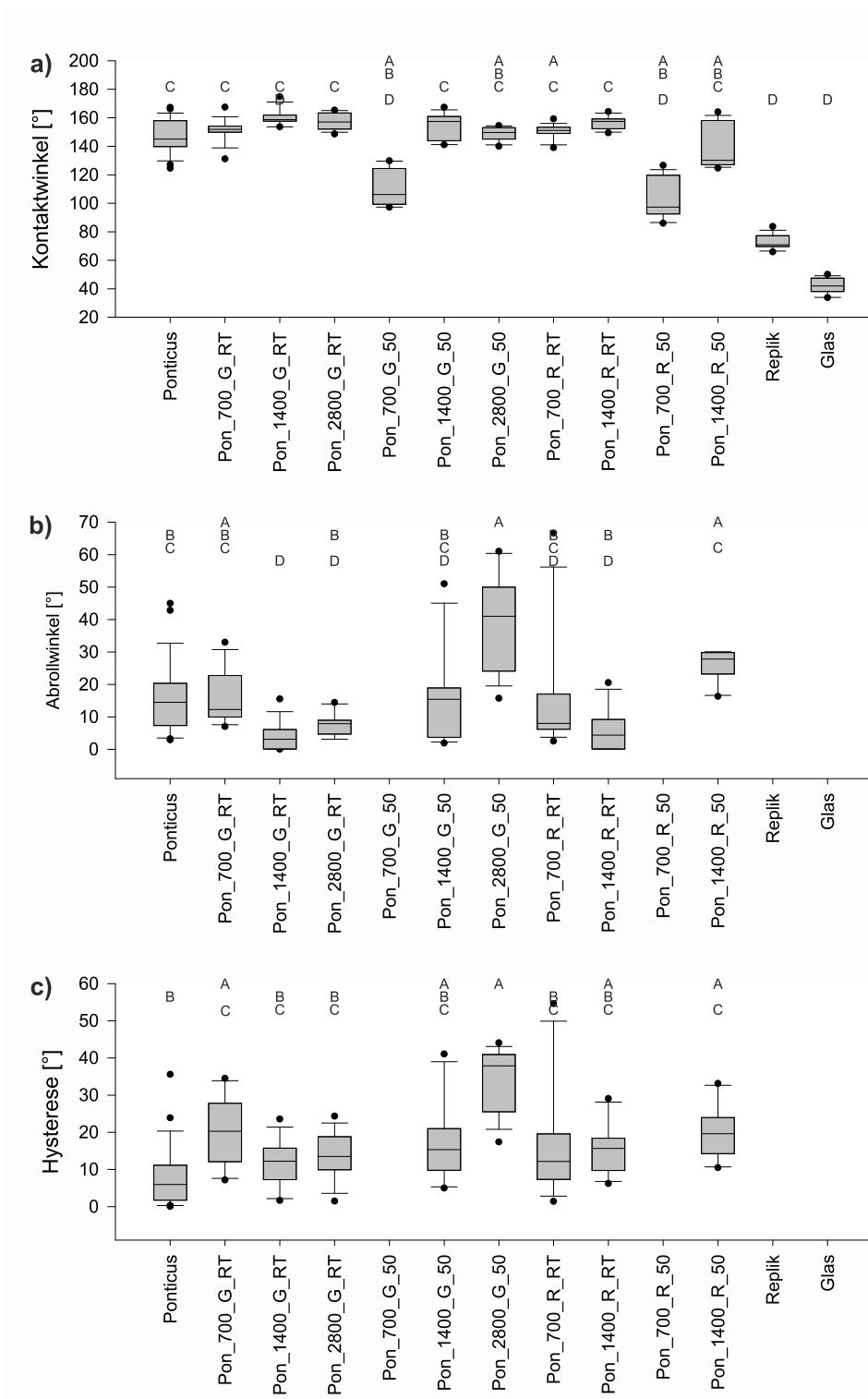
Auf den beiden Testsystemen, die mit wenig Masse bedampft und bei 50 °C rekristallisiert worden waren, rollten, wie auf den Negativproben, die Tropfen nicht ab. Es konnte daher kein Abrollwinkel bestimmt werden. Auf dem Pon\_2800\_G\_50-Testsystem rollten die Tropfen erst bei höheren Kippwinkeln ab ( $38,9 \pm 14,6^\circ$ ) als auf dem Weizenblatt ( $15,7 \pm 15,1^\circ$ ). Das Pon\_1400\_G\_RT-Testsystem hatte mit  $4,3 \pm 4,3^\circ$  einen niedrigeren Abrollwinkel als das Weizenblatt. Auch auf dem C28OH\_2000\_G\_RT und dem Pon\_1400\_R\_RT-Testsystem rollten die Tropfen bei einem Kippwinkel unter 10° ab, hier waren die Unterschiede zu dem Abrollwinkel des Weizenblattes aber nicht signifikant. Die Abrollwinkel der übrigen Weizenwachs-Testsysteme unterschieden sich alle nicht von dem des Weizenblattes (Abbildung 3.22b).

Auf den Testsystemen die mit wenig Masse bedampft und bei 50 °C rekristallisiert worden waren und bei den Negativproben konnte keine Hysterese gemessen werden, da die abgelegten Tropfen auf diesen Oberflächen nicht abgerollt waren. Das Pon\_1400\_R\_50- ( $19,8 \pm 7,1^\circ$ ), das Pon\_2800\_G\_50- ( $33,5 \pm 8,8^\circ$ ) und das Pon\_700\_G\_RT-Testsystem ( $19,9 \pm 9,0^\circ$ ) hatten größere Hysteresen als das Weizenblatt ( $8,2 \pm 8,3^\circ$ ). Die anderen Wachs-Testsysteme hatten die gleichen Hysteresen wie das Weizenblatt (Abbildung 3.22c).

Der Vergleich der Benetzungseigenschaften des Weizenblattes und der Weizenwachs-Testsysteme zeigte nur bei zwei Testsystemen (Pon\_700\_G\_50 und Pon\_700\_R\_50) keine Übereinstimmung in den Kontaktwinkeln. Auf diesen beiden Testsystemen rollten die Tropfen nicht ab, sie wurden für die folgenden Versuche nicht weiter in Betracht gezogen. Auf sechs der verbleibenden acht Weizenwachs-Testsysteme rollten die Tropfen



bei den gleichen Kippwinkeln ab wie auf dem Weizenblatt. Fünf dieser Testsysteme (PON\_700\_R\_RT, Pon\_1400\_G\_50, Pon\_1400\_R\_50, Pon\_1400\_R\_RT, Pon\_2800\_G\_RT) stimmten auch in der Hysterese mit den Weizenblättern überein und waren als Weizenwachs-Testsystem denkbar. Aus den möglichen Weizenwachs-Testsystemen wurde das Pon\_1400\_G\_50-Testsystem gewählt, da es dem ausgewählten 1-Octacosanol-Testsystem (C28OH\_1000\_G\_50), am ähnlichsten war. Das Pon\_1400\_G\_50-Testsystem wurde mit einer vergleichbaren Masse beschichtet wie das 1-Octacosanol-Testsystem, zudem wurden das gleiche Substrat und die gleiche Rekristallisationstemperatur verwendet.



**Abbildung 3.22: Benetzungseigenschaften der Weizenwachs-Testsysteme;** a) Kontaktwinkel, b) Abrollwinkel, c) Hysterese der verschiedenen Oberflächen (n = 15); Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede der Kontaktwinkel, Abrollwinkel und Hysterese der verschiedenen Oberflächen (p < 0,05, getestet durch Kruskal Wallis Test mit anschließendem Post Hoc Dunn Bonferroni Test)

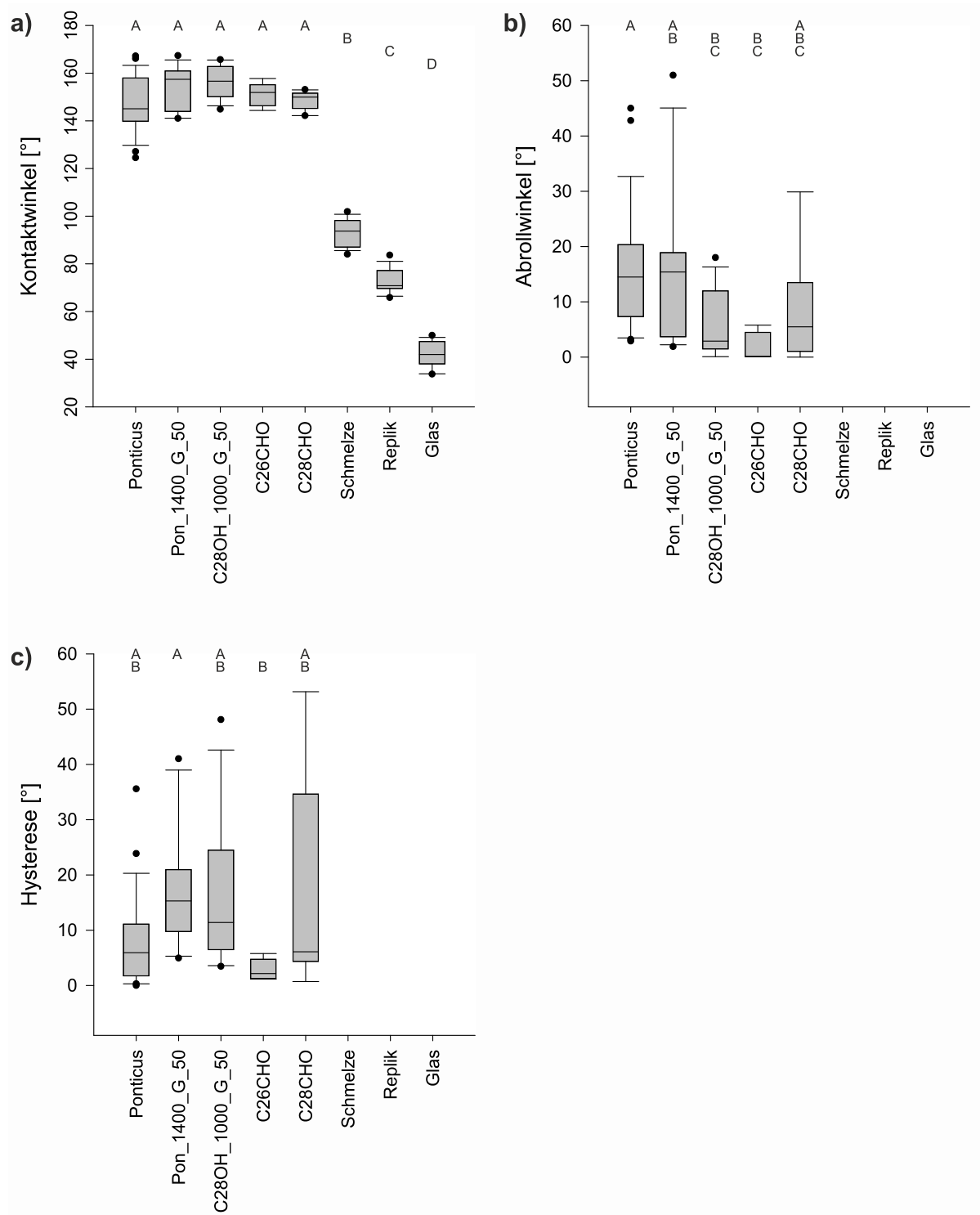
### ***Benetzungseigenschaften der ausgewählten Testsysteme und der modifizierten Testsysteme***

Zur Modifizierung der Testsysteme wurden neben dem 1-Octacoanol- und dem Wachs-Testsystem noch ein Wachs-Testsystem aus der Schmelze und zwei Aldehyd-Testsysteme hergestellt. Die Kontaktwinkel der Aldehyd-Testsysteme unterschieden sich nicht von denen des 1-Octacosanol-, des Weizenwachs-Testsystems und des Weizenblattes. Die Testsysteme mit dreidimensionalen Strukturen hatten alle Kontaktwinkel nahe  $150^\circ$ . Der Kontaktwinkel des C28CHO-Testsystem lag mit  $148,7 \pm 3,9^\circ$ , wie der des Weizenblatts knapp unter der Grenze zum superhydrophoben Bereich. Der Kontaktwinkel des C26CHO-Testsystems lag mit  $151,0 \pm 5,0^\circ$  wie die Kontaktwinkel des 1-Octacosanol-Testsystems und des Wachs-Testsystems knapp über der Grenze zum superhydrophoben Bereich. Das Schmelze-Testsystem ohne dreidimensionale Strukturen hatte einen niedrigeren Kontaktwinkel als die übrigen Testsysteme und das Weizenblatt. Der Kontaktwinkel des Schmelze-Testsystems lag mit  $93,0 \pm 5,6^\circ$  knapp im unteren hydrophoben Bereich. Der Kontaktwinkel des Schmelze-Testsystem unterschied sich auch von denen der beiden Negativkontrollen. Sowohl die Replik als auch das Glas hatten hydrophile Oberflächen. Der Kontaktwinkel der Replik war mit  $72,9 \pm 5,1^\circ$  größer als der von Glas mit  $42,2 \pm 5,5^\circ$  (Abbildung 3.23a).

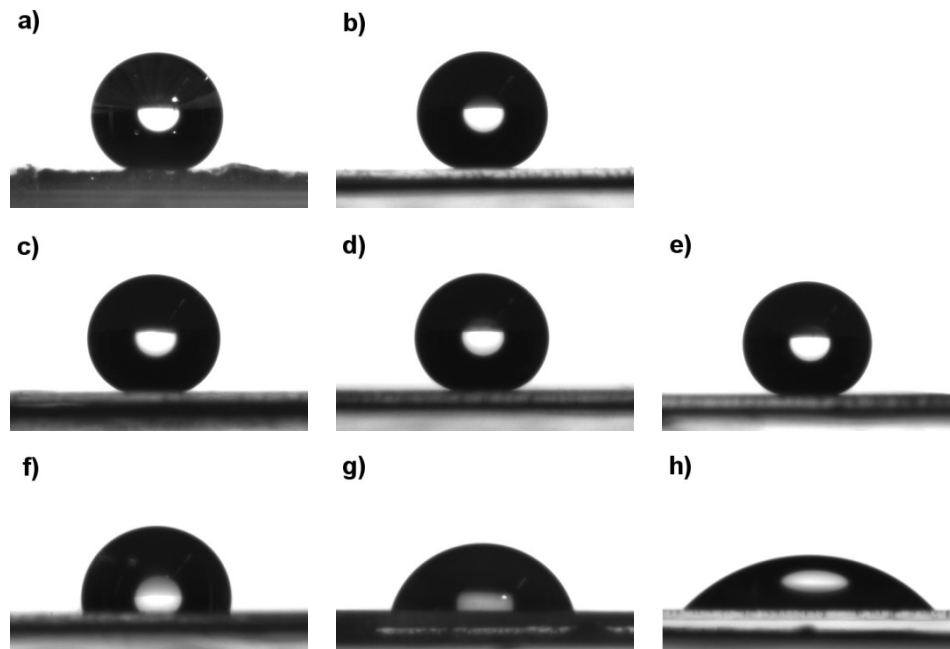
Auf dem Schmelze-Testsystem waren, wie auf den Negativkontrollen, die Tropfen nicht abgerollt. Daher konnte weder ein Abrollwinkel noch eine Hysterese gemessen werden. Die Abrollwinkel der Aldehyd-Testsysteme unterschieden sich nicht von denen des Alkohol-Testsystems. Beim Vergleich der fünf Oberflächen rollten die Tropfen auf dem C28OH-Testsystem ( $5,7 \pm 6,1^\circ$ ) und dem C26CHO-Testsystem ( $1,5 \pm 2,5^\circ$ ) bei einem niedrigeren Kippwinkel als auf dem Weizenblatt ( $15,7 \pm 15,1^\circ$ ) ab. Der Kippwinkel des C28CHO-Testsystems ( $8,8 \pm 9,9^\circ$ ) unterschied sich nicht von dem des Weizenblattes (Abbildung 3.23b).

Auf allen ausgewählten Testsystemen mit Struktur, stimmten die Hysteresen mit denen des Weizenblattes überein. Die Hysterese des C28CHO-Testsystems ( $19,4 \pm 20,5^\circ$ ) unterschied sich weder von der des 1-Octacosanol-Testsystems ( $16,2 \pm 13,1^\circ$ ) noch von der des Weizenwachs-Testsystems ( $28,0 \pm 8,1$ ). Die Hysterese des C26CHO-Testsystems war mit  $2,9 \pm 1,9^\circ$  niedriger als die des Weizenwachs-Testsystems (Abbildung 3.23c).

Abbildung 3.24 zeigt Aufnahmen der Wassertropfen auf den ausgewählten Testsystemen im Vergleich zu Aufnahmen von Wassertropfen auf den Weizenblättern und auf den Negativkontrollen.



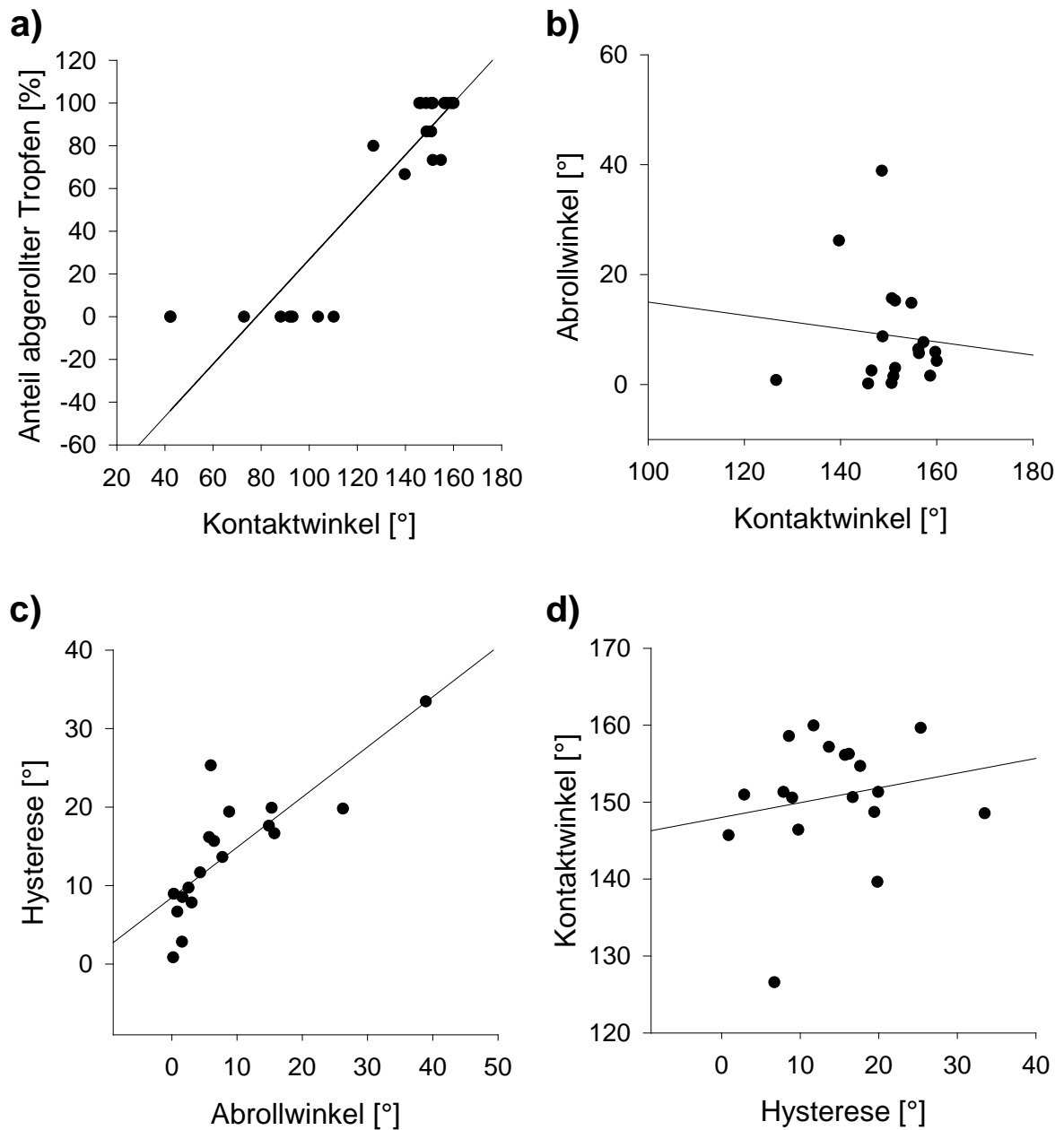
**Abbildung 3.23: Benetzungseigenschaften der ausgewählten Testsysteme;** a) Kontaktwinkel, b) Abrollwinkel, c) Hysterese der verschiedenen Oberflächen (n = 15); Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede der Kontaktwinkel, Abrollwinkel und Hysterese der verschiedenen Oberflächen (p < 0,05; a) getestet durch eine ANOVA mit anschließendem *Post Hoc* Tukey Test, b) und c) getestet durch Kruskal Wallis Test mit anschließendem *Post Hoc* Dunn Bonferroni Test)



**Abbildung 3.24: Tropfen auf den verschiedenen Oberflächen;** a) Weizenblatt, b) Wachs-Testsystem, c) C28OH-Testsystem, d) C26CHO-Testsystem, e) C28CHO-Testsystem, f) Schmelze-Testsystem, g) Replik, h) Glas

### ***Korrelation der Benetzungseigenschaften***

Es wurden Korrelationsberechnungen durchgeführt, um zu testen, ob zwischen den Benetzungsparametern ein Zusammenhang besteht. Die Kontaktwinkel und die Anteile der abgerollten Tropfen zeigten eine positive Korrelation ( $r = 0,91$ ). Je größer die Kontaktwinkel waren, desto mehr Tropfen rollten ab (Abbildung 3.25a). Die Kontaktwinkel und die Abrollwinkel korrelierten nicht miteinander ( $r = 0,10$ , Abbildung 3.25b). Zwischen den Abrollwinkeln und den Hysteresen bestand ein schwach positiver Zusammenhang ( $r = 0,81$ ): Wenn die Abrollwinkel zunahmen, nahmen auch die Hysteresen zu (Abbildung 3.25c). Zwischen den Hysteresen und den Kontaktwinkeln konnte kein Zusammenhang nachgewiesen werden ( $r = 0,19$ , Abbildung 3.25d).



**Abbildung 3.25: Korrelation der Benetzungseigenschaften der Testsysteme;** a) Korrelation der Abrollwinkel und der abgerollten Tropfen, b) Korrelation der Kontaktwinkel und der Abrollwinkel, c) Korrelation der Abrollwinkel und der Hysteresen, d) Korrelation der Hysteresen und der Kontaktwinkel; Die dargestellten Werte der Kontaktwinkel, Hysteresen und Abrollwinkel entsprechen den Mittelwerten (n = 15). Aus Gründen der besseren Übersicht wurde auf die Darstellung der Fehlerbalken verzichtet.

### 3.3 Diskussion

Nachdem im ersten Kapitel die physikochemischen Eigenschaften der Weizenblätter charakterisiert wurden widmete sich das zweite Kapitel der Übertragung dieser Eigenschaften auf technische Oberflächen. Es wurden verschiedene Testsysteme entwickelt, die es erlauben die Keimentwicklung von *B. graminis in vitro* zu untersuchen. In früheren Studien wurden oftmals technische Oberflächen verwendet, die in ihren Oberflächeneigenschaften nur teilweise denen der natürlichen Oberfläche entsprachen. In der vorliegenden Arbeit sollte erstmals ein Testsystem entwickelt werden, das in seinen chemischen Eigenschaften und in seiner Benetzbarkeit der pflanzlichen Grenzfläche entspricht. Des Weiteren sollte dieses Testsystem so modifiziert werden, dass es einzelne Parameter, wie die Chemie der Wachse oder die Benetzbarkeit der Oberfläche widerspiegelt, um deren Einfluss auf das Keimungsverhalten untersuchen zu können. Zur Herstellung dieser Testsysteme wurden technische Oberflächen mithilfe des Verfahrens der thermischen Verdampfung mit dem Wachsextrakt oder mit einzelnen Wachskomponenten beschichtet.

#### 3.3.1 Synthese einzelner Wachskomponenten

Langkettige Aldehyde sind nicht käuflich zu erwerben, daher war es notwendig diese Substanzen für die späteren Rekristallisationen zu synthetisieren. Insgesamt konnten 79,8 mg 1-Hexacosanal, 33,6 mg (1. Ansatz) und 6 mg (2. Ansatz) 1-Octacosanal gewonnen werden (3.2.1). Die Ausbeuten waren sehr unterschiedlich. Das Oxidationsmittel PCC (Pyridiniumchlorochromat) soll gerade bei schwierigen Synthesen gute Ergebnisse gewährleisten (Tojo und Fernandez 2006). Wie üblich wurde auch in der vorliegenden Arbeit mit einem leichten Überschuss an PCC gearbeitet. Dennoch wurde ein relativ großer Anteil der eingesetzten Alkohole nicht umgesetzt. Nachdem die erste Synthese nur 33 % Ausbeute lieferte, wurden die folgenden Synthesen mit getrockneten Chemikalien, unter Schutzgas und mit weniger Lösungsmittel durchgeführt. Bei der 1-Hexacosanal-Synthese konnte so die Ausbeute auf 76 % gesteigert werden. Bei der zweiten 1-Octacosanalsynthese wurde dagegen die niedrigste Ausbeute mit nur 7 %



erzielt (3.2.1). In der Regel werden mit kommerziellem PCC zufriedenstellende Ergebnisse erzielt, manchmal können jedoch mit frisch hergestellten PCC bessere Ergebnisse erzielt werden als mit kommerziellen PCC (Tojo und Fernandez 2006). So wurden beispielsweise bei einer Ketonsynthese mit kommerziellem PCC nur 40 % bis 50 % Ausbeute erreicht (Denholm et al. 1995). Ein Vergleichswert zu langkettigen Aldehyden liegt in der Literatur leider nicht vor. Zwar wurden in einigen Studien ebenfalls langkettige Aldehyde synthetisiert (Hansjakob et al. 2010, Tsuba et al. 2002, Zabka et al. 2008), jedoch wurden keine Angaben zu den Ausbeuten der Synthesen gemacht. Die ursprünglich verwendeten, hohen Konzentrationen von Corey und Suggs (1975) konnten in der vorliegenden Arbeit aus technischen Gründen nicht erreicht werden. Auch Rf-Werte der Produkte mit den hier verwendeten Lösungsmitteln langen in der Literatur leider nicht vor. Die Dünnschichtchromatographien der aufgetrennten Syntheseprodukte zeigten aber eindeutig Produkte, die eine höher laufende Bande bildeten als die eingesetzten Edukte. Aufgrund der geringeren Polarität interagieren Aldehyde im Vergleich mit den Alkoholen schwächer mit der polaren stationären Phase, sodass sie sich länger in der mobilen Phase befinden und eine weitere Laufstrecke haben als die Alkohole. Die Trennleistung der Dünnschicht Chromatographie ist jedoch nicht hoch genug, um zwischen den einzelnen Aldehyden zu unterscheiden. Durch die massenspektrometrische Analyse konnte die Identität der Aldehyde schließlich bestätigt werden (Abbildung 3.6, Abbildung 3.7 und Abbildung 3.8). Sie zeigte jedoch bei beiden 1-Octacosanal-synthesen auch eine ca. 10%ige Verunreinigung mit 1-Heptacosanal (Abbildung 3.6 und Abbildung 3.7). Die Verunreinigung entstand wiederholt bei zwei voneinander unabhängigen Synthesen. Auch bei der 1-Hexacosanal-synthese entstand ein geringer Anteil 1-Heptacosanal (1,7 %) (Abbildung 3.8). Der Reinheitsgrad des eingesetzten Alkohols, 1-Hexacosanol war laut Herstellerangabe  $\geq 97\%$ . Möglicherweise enthielt dieses Edukt auch einen geringen Anteil 1-Heptacosanol, welches zu 1-Heptacosanal umgesetzt wurde. Die 10%ige Verunreinigung des  $C_{28}$  Aldehyds mit dem  $C_{27}$  Aldehyd lässt sich nicht durch eine Verunreinigung des Eduktes erklären. Der eingesetzte  $C_{28}$  Alkohol war laut Herstellerangabe zu  $\geq 99\%$  rein. Vermutlich ist es im Verlauf des Syntheseprozesses zu einer Abspaltung einer Methylgruppe gekommen. Die Ursache hierfür ist allerdings unklar. Bei einer der 1-Octacosanal-synthesen wurde im Produkt auch eine

Verunreinigung mit 1-Triacontanol ( $C_{30}$  Alkohol) festgestellt. Diese stammt wahrscheinlich von einer Kontamination durch eine zur gleichen Zeit bearbeitete Probe, welche den  $C_{30}$  Alkohol enthielt. Dieses Produkt wurde für die Rekristallisation nicht verwendet.

### 3.3.2 Bestimmung des Schmelzpunkts des Weizenwachses mittels DSC

Bei der Rekristallisation aus der Schmelze wird die Probe nach der Bedampfung auf ca. 20 °C über den Schmelzpunkt des Wachsgemisches erhitzt, um die rekristallisierten dreidimensionalen Wachsstrukturen wieder aufzulösen. Für die Rekristallisation aus der Schmelze war es daher entscheidend die Schmelztemperatur des Weizenwachsgemisches zu kennen. Diese wurde mittels DSC ermittelt: Sie lag bei 80 °C (Abbildung 3.9). Diese Schmelztemperatur lässt sich durch den hohen 1-Octacosanol Anteil im Weizenwachs (75 %, Kapitel 1, 2.2.5) erklären. Der Schmelzpunkt des Reinstoffs 1-Octacosanol liegt mit 83,3 °C wenige Grad über dem des Wachsgemischs (HMD 2020). Da es sich bei dem Weizenwachs um ein Stoffgemisch handelte, bildeten sich noch weitere Peaks. Bereits bei geringerer Temperatur fand eine Phasenumwandlung statt, welche durch einen kleineren Peak in der Heizkurve erkennbar war, zudem lief dem Hauptpeak eine kleine Schulter voran. Die Schmelz- und die Kristallisationstemperaturen stimmten nicht ganz überein (thermische Hysterese), was auf eine Unterkühlung der Lösung hindeutet (Niemietz 2011). Ein ganz ähnliches Schmelzverhalten und Kristallisationsverhalten wurde bei den Wachsgemischen von Lauch (*Allium porrum*), Kapuzinerkresse (*Tropaeolum majus*) und Gerste (*Hordeum vulgare*) in früheren Studien beobachtet (Niemietz 2011, Reynhardt und Riederer 1994, Schreiber et al. 1997). Bei der Untersuchung des thermischen Verhaltens des Lauchwachses wurde ebenfalls beobachtet, dass der Schmelzpunkt des Wachsgemisches wenige Grad unter dem der Hauptkomponenten lag (Niemietz 2011).

### 3.3.3 Charakterisierung der entwickelten Testsysteme

Die Morphologie der rekristallisierten Strukturen und die Benetzbarkeiten aller erzeugter Testsysteme wurden untersucht, um sie mit denen der Blattoberflächen vergleichen zu können.

#### Überprüfung der chemischen Stabilität der Wachse

Es wird vermutet, dass Aldehyde zu Säuren oxidieren können (Riederer und Markstädter 1996). Daher wurde zunächst die chemische Stabilität des Wachsgemisches überprüft. Der größere Extraktionsmaßstab hatte keinen Einfluss auf die Wachszusammensetzung. Das Verdampfen des Lösungsmittels dauerte zwar wesentlich länger als bei den üblichen kleinen Volumina zur Wachsanalyse, aber in dieser Zeit hatte keine Umwandlung der Stoffe stattgefunden. Das Wachs, das im großen Maßstab extrahiert wurde, setzte sich aus den gleichen Komponenten zusammen wie das Wachs, das im kleinen Maßstab für die Analyse extrahiert wurde (Abbildung 3.11). Die Wachszusammensetzung wurde auch nach dem Bedampfungsprozess untersucht, um sicherzustellen, dass während der Phasenübergänge keine Veränderung stattgefunden hatte. In dem Wachsniederschlag auf dem bedampften Gläschen wurden die gleichen Substanzen, in den gleichen Mengen detektiert wie in dem Wachs das verdampft wurde (Abbildung 3.12). In einer früheren Studie erwies sich die Wachszusammensetzung von Lauchwachs auch als thermisch stabil (Niemietz 2011). Da sich die verdampften Substanzen im Vakuum von der Punktquelle gleichförmig ausbreiten und die Proben in einem Bogen über der Substanzquelle angebracht waren, wurde in früheren Studien, die Wachsbelegung annähernd aus dem Quotienten der verdampften Massen und der Oberfläche einer Halbkugel berechnet (Bhushan et al. 2008a, Bhushan und Jung 2011, Niemietz et al. 2009, Niemietz 2011). Die Analyse der Wachsbeschichtung der bedampften Oberfläche erlaubte hingegen eine präzise Messung der Wachsbelegung. Sie glich mit  $15,7 \pm 2,6 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  der Wachsbelegung eines Weizenblattes (Kapitel 1, Abbildung 2.12). Die Wachsbeschichtung der technischen Oberfläche entsprach somit in ihren chemischen Eigenschaften sowohl qualitativ als auch quantitativ der Wachsbeschichtung der natürlichen Oberfläche.

### **Morphologie der rekristallisierten Strukturen**

Für die folgenden Keimungsexperimente ist es eine entscheidende Voraussetzung, dass die Testsysteme eine homogene Beschichtung und damit einhergehend eine gleichmäßige Verteilung der chemischen Substanzen und eine einheitliche Benetzbarkeit aufweisen. Eine Variabilität der Oberflächeneigenschaften, welche das Keimungsverhalten der Konidien beeinflussen könnte, galt es zu vermeiden. Frühere Rekristallisationsstudien haben gezeigt, dass durch das Verfahren der thermischen Verdampfung eine homogene Beschichtung erzeugt werden kann (Bhushan et al. 2008a, b, Bhushan et al. 2009b, Bhushan et al. 2009c, Koch et al. 2009b). Auch in der vorliegenden Arbeit wurde durch das Verfahren eine regelmäßige Beschichtung erreicht. Nach dem Verdampfungsprozess war auf den Substraten eine gleichmäßige, milchig trübe Schicht mit bloßem Auge erkennbar (Abbildung 3.10). Auf den REM Mikrographien waren dreidimensionale Strukturen sichtbar. Aus dem Wachsgemisch hatten sich bei RT Wachsschüppchen gebildet. Sie ähnelten denen der Weizenoberfläche, sie waren jedoch nur ein Viertel so groß und ihre Anordnung entsprach nicht der natürlichen Oberfläche. Anstelle eines geschlossenen Schüppchen-Teppichs bildeten sich Akkumulationen aus einzelnen Schüppchen, die in die Höhe wuchsen. Es wirkte als hätten sich neue Wachskristalle an bereits existierende angelagert (Abbildung 3.13 und Abbildung 3.14).

Ein ähnliches Bild boten die rekristallisierten Strukturen aus 1-Octacosanol. 1-Octacosanol gilt als die strukturgebende Komponente der Wachsschüppchen (Koch et al. 2006a). Wie in früheren Studien bildete der Reinstoff auch in der vorliegenden Studie ausschließlich ganzrandige Schüppchen (Hommes 2010, Koch et al. 2006a, Niemietz 2011). Diese waren bereits bei der geringsten Masse zu Ketten verknüpft, welche mit zunehmender Masse zu einem dichten Netzwerk heranwuchsen. Wie die Wachsschüppchen scheinen sich neue 1-Octacosanol-Schüppchen an bereits existierenden Schüppchen zu bilden. Bei wenig aufgedampfter Masse und an manchen Stellen zwischen den Schüppchenkettens waren auf dem Substrat flach liegende Plättchen erkennbar, auf denen sich weitere aufrechtstehende Schüppchen bildeten (Abbildung 3.15 und Abbildung 3.16).

Ein ähnliches Wachstum wurde bei Rekristallisationen von 1-Octacosanol auf Si-Wafern beschrieben (Niemietz 2011). Bei beiden Substraten handelt es sich um polare

Oberflächen, was die Ähnlichkeit der gebildeten Strukturen erklären kann. Verschiedene Rekristallisationsstudien haben gezeigt, dass die gebildeten Strukturen durch die Polarität und Kristallinität des Substrates beeinflusst werden können (Huth 2015, Koch et al. 2006a, Koch et al. 2006b, Niemietz 2011). Die Anordnung der kristallisierenden Moleküle wird dabei durch die Wechselwirkungen zwischen den Molekülen des Substrates und den kristallisierenden Substanzen bestimmt (Cyr et al. 1996, De Feyter und De Schryver 2005). Im Gegensatz zu den polaren Oberflächen bildeten sich auf apolarem, kristallinen HOPG (highly oriented pyrolytic graphite), direkt aufrechtstehende Schüppchen, die in ihrer Anordnung der Kristallstruktur des Substrates folgten. In einer früheren Studie von Koch et al. (2006a) konnte ein Schüppchen-Wachstum nur auf HOPG und nicht auf Glas beobachtet werden. Eine mögliche Erklärung für die unterschiedlichen Ergebnisse könnten die verwendeten Rekristallisationsmethoden sein. Koch et al. (2006a) rekristallisierte nicht mittels PVD, sondern aus der Lösung. Wahrscheinlich ging damit eine geringere kristallisierende Masse einher, sodass sich nur die flach liegenden Strukturen bilden konnten. Dementsprechend bildeten sich auch keine in die Höhe wachsenden Schüppchen-Netzwerke.

Neben der Hauptkomponente spielen die übrigen Wachskomponenten nur eine untergeordnete Rolle in der Strukturbildung (Koch et al. 2006a), jedoch scheinen sie zu den irregulären Rändern der Wachsschüppchen zu führen. Auch in der früheren Studie von Koch et al. (2006a) rekristallisierte Wachs zu Schüppchen mit irregulären Rändern und 1-Octacosanol zu Schüppchen mit ganzrandigen Kanten.

Die Beimischung der einzelnen Aldehyde in der vorliegenden Studie führte aber zu keinen irregulären Rändern. Die rekristallisierten Strukturen der Alkohol-Aldehyd-Gemische glichen den Strukturen, die aus reinem Alkohol entstanden waren (Abbildung 3.17). Der beigemischte Anteil der Aldehyde entsprach dem Anteil der Aldehyde im Gesamtwachs und betrug daher nur wenige Prozent.

Rekristallisationsstudien mit Röhrcchen-Wachsen haben gezeigt, dass sich Röhrcchen nur bei einer ausreichend hohen Temperatur bildeten (Koch et al. 2009c, Niemietz 2011). Bei den Schüppchen-Wachsen war eine höhere Temperatur zur Bildung der Schüppchen nicht nötig. Wie bereits erwähnt, bildeten sich bereits bei Raumtemperatur Schüppchen. Bei dem Wachsgemisch wirkte sich die hohe Temperatur sogar negativ auf die

Schüppchenbildung aus. Sowohl bei den Wachsproben als auch bei den 1-Octacosanol-Proben bildeten sich bei 50 °C insgesamt weniger, aber dafür größere Strukturen als bei RT. Statt Schüppchen bildeten sich Schuppen (Abbildung 3.13 bis Abbildung 3.16). Möglicherweise wurden bei der höheren Temperatur weniger Kristallisationskeime gebildet, an die sich durch die erhöhte Mobilität jedoch viele Moleküle anlagerten. Neben dieser Gemeinsamkeit ähnelten sich die gebildeten Strukturen aus Wachs und 1-Octacosanol nicht. Es wirkte, als hätten sich die unterschiedlichen Tendenzen, der bei RT gebildeten Strukturen durch die höhere Temperatur verstärkt. Das Wachs rekristallisierte zu granulären Strukturen mit vereinzelt, zwischen dem Granulageflecht stehenden Schuppen. Bei der niedrigsten Masse wurden fast keine Schuppen gebildet. Bei den einzelnen Schuppen war gut erkennbar, dass sie nicht direkt auf dem Substrat gebildet wurden, sondern auf einer granulären Schicht standen. Der Reinstoff 1-Octacosanol bildete auch bei 50 °C ausschließlich ganzrandige Schuppen.

Durch die Rekristallisation aus der Schmelze war es möglich eine homogene Wachsbeschichtung ohne dreidimensionale Strukturen zu erhalten (Abbildung 3.18). Dies gelang nur mit Repliken als Substrat. Auf Glas bildete sich nach der Schmelze keine durchgängige Wachsschicht (Daten nicht gezeigt). Das flüssige apolare Wachs konnte das polare Glas nicht vollständig benetzen. Es entstanden Tropfen auf den Glasoberflächen, die nach dem Abkühlen auf dem Glas verblieben (Daten nicht gezeigt). Auf den etwas weniger polaren Repliken konnte das flüssige Wachs spreiten, sodass sich eine dünne Wachsschicht bildete. Durch das rasche Abkühlen nach dem Schmelzprozess wurde die Kristallisation unterbunden, sodass sich keine Schüppchen bilden konnten. Die dünne Schicht war schwer zu erkennen. Erst nach einer teilweisen Abhebung der Schicht zeigte eine Kante eindeutig deren Existenz an (Abbildung 3.18).

Bei den übrigen Testsystemen mit dreidimensionalen Strukturen ähnelten sich die Strukturen, die auf Glas und die auf den Repliken gebildet wurden sehr (Abbildung 3.13 bis Abbildung 3.16). Es war kein Substrateffekt auf die gebildeten Strukturen erkennbar. Vermutlich bildeten sich auf den beiden amorphen Substraten ähnliche Kristallisationskeime, sodass sich ähnliche Strukturen entwickeln konnten. Die Tatsache, dass auch auf den Repliken unter geeigneten Rekristallisationsbedingungen Schüppchen aus dem Wachs und aus 1-Octacosanol rekristallisiert werden konnten, eröffnet weitere

Möglichkeiten in der Erzeugung biomimetischer Oberflächen: Durch die Abformung einer strukturierten Oberflächen und anschließender Bedampfung mit Wachs oder 1-Octacosanol könnten hierarchische Oberflächen geschaffen werden. Das Abformen ist eine kostengünstige und verlässliche Methode Mikrostrukturen nachzubilden. Durch das sogenannte „Biotemplating“ gelang es beispielsweise auch schon die Spinulen (dünne elastische Haare) einer Geckohaut nachzubilden und dadurch künstliche Oberflächen mit vergleichbaren wasserabweisenden und dekontaminierenden Eigenschaften zu kreieren (Green et al. 2017). Durch die Abformung mikrostrukturierter, natürlicher und technischer Oberflächen und anschließender Nanostrukturierung mittels verdampfter Wachse, gelang es auch schon hierarchische superhydrophobe Oberflächen herzustellen (Bhushan et al. 2008a, b, Bhushan et al. 2009b, Bhushan et al. 2009c, Koch et al. 2009b).

Es ist festzuhalten, dass es durch das Verfahren der thermischen Verdampfung gelungen ist eine homogene Beschichtung zu erzielen. Sowohl das Wachs als auch die Reinsubstanz 1-Octacosanol rekristallisierten als Schüppchen (Abbildung 3.13 bis Abbildung 3.16). Dies belegt erneut, dass sich Wachskristalle durch Selbstassemblierung bilden können und dass auch allein die Hauptkomponente 1-Octacosanol ausreicht, um Schüppchen zu erhalten. Die kristallisierten Wachsstrukturen ähnelten den nativen Wachskristallen, jedoch entsprachen sie ihnen nicht exakt. Eine alternative Methode zur Rekristallisation ist das Verfahren des Spincoatings. Mithilfe dessen konnten ebenfalls keine genauen Kopien der nativen Strukturen erzielt werden (Pambou et al. 2016). Das wirft erneut die seit langer Zeit ungeklärte Frage auf, wie die komplexen dreidimensionalen Strukturen *in situ* rekristallisieren. Verschiedene Theorien darüber wurden in der Vergangenheit diskutiert: Die Bildung der Strukturen durch Poren stand zur Debatte (Hall und Donaldson 1962, Hall 1967, Mueller et al. 1954, von Wettstein-Knowles 1974). Mit hochauflösenden Mikroskopietechniken konnten jedoch keine Poren nachgewiesen werden. REM Aufnahmen der Kutikula gaben keine Hinweise auf Strukturen, die dem Transport und der Strukturbildung durch Extrusion dienen könnten (Jarvis und Wardrop 1974, Jeffree 2006). Auch AFM Aufnahmen sich entwickelnder Wachsstrukturen im Rahmen von Regenerationsstudien gaben keine Hinweise auf den Ursprung der Wachsstrukturen (Huth et al. 2018, Koch et al. 2004). Eine weitere Theorie besagt, dass die Wachsmoleküle mit einem Lösungsmittel an die Oberfläche gelangen, sodass das Wachs,

nachdem das Lösungsmittel verdampft ist, kristallisieren kann (Chambers et al. 1976, Wiesner 1871). Diese Hypothese konnte bisher weder eindeutig belegt noch widerlegt werden (Jeffree 2006). Sie wird von neueren Studien unterstützt in denen Wasser als mögliches Lösungs- und Transportmittel in Erwägung gezogen wird (Dora et al. 2018, Neinhuis et al. 2001).

### **Benetzungseigenschaften der entwickelten Testsysteme**

Wie bei der Charakterisierung der nativen Oberflächen wurden auch bei den technischen Oberflächen die Benetzungseigenschaften der verschiedenen technischen Oberflächen untersucht.

Es sollten mehrere Testsysteme mit verschiedenen Oberflächeneigenschaften entwickelt werden. Zum einen sollte ein Testsystem geschaffen werden, das in seinen Benetzungseigenschaften den pflanzlichen Oberflächen entspricht, jedoch nicht die Chemie der epikutikularen Wachse abdeckt. Dieses Ziel wurde durch die alleinige Bedampfung mit 1-Octacosanol erreicht. Durch die gebildeten Schüppchen bei der Bedampfung mit 1000 µg 1-Octacosanol auf Glas bei einer Rekristallisationstemperatur von 50 °C konnten die gleichen Kontaktwinkel, Abrollwinkel und Hysteresen wie auf dem Weizenblatt erzielt werden (Abbildung 3.21). Im Gegensatz dazu lagen die Benetzbarkeiten der technischen Oberflächen (z.B. silanisiertes Glas, FEP Folie), die in früheren Studien als relativ hydrophobe Oberflächen herangezogen wurden, deutlich über der Benetzbarkeit der Weizenblätter (Carver et al. 1999, Meguro et al. 2001, Wright et al. 2000, Zabka et al. 2008).

Zum anderen sollte ein Testsystem entwickelt werden, das die gleiche Benetzbarkeit aufweist und die chemische Zusammensetzung der epikutikularen Wachse widerspiegelt. Dieses "künstliche Blatt" konnte durch die Bedampfungen mit dem Wachsgemisch geschaffen werden. Bedampfungen mit verschiedenen Rekristallisationsparametern resultierten in Oberflächen, deren Benetzungseigenschaften denen des Weizenblattes entsprachen (Abbildung 3.22). Das belegt, dass durch das Verfahren der thermischen Verdampfung die Übertragung der Oberflächeneigenschaften der nativen Oberfläche auf die technische Oberfläche möglich war. Soweit bekannt, existiert bisher keine technische Oberfläche, die neben der Chemie der epikutikularen Wachse auch die



Benetzungseigenschaften widerspiegelt. Zur Untersuchung der Keimentwicklung phytopathogener Pilze wurden in früheren Studien oft mit Wachsgemischen oder mit einzelnen Wachsbestandteilen versehene Oberflächen genutzt. Diese wiesen zwar eine ähnliche Oberflächenchemie, nicht jedoch die gleiche Benetzbarkeit auf (Hansjakob et al. 2010, Hansjakob et al. 2011, Ringelmann et al. 2009, Zabka et al. 2008). Auch in der vorliegenden Arbeit sollte ein Testsystem etabliert werden, das es erlaubt nur den Einfluss der Wachschemie der epikutikularen Wachse auf das Keimungsverhalten phytopathogener Pilze zu untersuchen. Dies wurde durch die Rekristallisation aus der Schmelze erreicht. Durch das Erhitzen der Proben über die Schmelztemperatur der Wachse entstand eine gleichmäßige Wachsschicht ohne dreidimensionale Strukturen, sodass die Benetzbarkeit mit einem Kontaktwinkel von nur  $93,0 \pm 5,5^\circ$  deutlich unter der der Weizenblätter lag (Abbildung 3.23).

Des Weiteren sollte auch ein Testsystem etabliert werden, das über eine der Blattoberfläche entsprechende Benetzbarkeit verfügt und Aldehyde auf seiner Oberfläche trägt, deren Mengen den Aldehydmengen im Weizenwachs gleichkommen.

Die Morphologieuntersuchung hatte gezeigt, dass sich auch bei der Rekristallisation der Aldehyd-Alkohol-Gemische, wie bei der Rekristallisation der Alkohole, Schüppchen gebildet hatten. Daher entsprach es den Erwartungen, dass auch auf den Aldehyd-Testsystemen hohe Kontaktwinkel erreicht wurden (Abbildung 3.23). Die mit dem Aldehyd-Alkohol-Gemisch bedampften Oberflächen bieten somit die Möglichkeit die Signalwirkung der Aldehyde auf einer Oberfläche mit der gleichen Benetzbarkeit wie auf der Pflanze zu untersuchen.

Es ist festzuhalten, dass auf den Testsystemen mit dreidimensionalen Strukturen die gleichen Benetzbarkeiten erzielt werden konnten wie auf den Weizenblättern. Auf dem Schmelze-Testsystem ohne dreidimensionale Strukturen lag die Benetzbarkeit der Testsysteme deutlich über der der Weizenblätter (Abbildung 3.23). Wie auf den Negativkontrollen rollten die Tropfen nicht ab. Das belegt, wie entscheidend die dreidimensionalen Wachsstrukturen für die geringe Benetzbarkeit der Blattoberflächen sind, die Wachschemie allein reicht demnach nicht aus. In einer früheren Studie resultierte die Verdampfung unterschiedlicher Mengen 1-Hentriakontan ( $C_{31}$  Alkan) ebenfalls in Schüppchen. Zur Erzeugung eines dünnen Films wurde auch die Methode der

Rekristallisation aus der Schmelze angewandt. Wie in der vorliegenden Studie lagen die Kontaktwinkel der Oberflächen ohne dreidimensionale Strukturen deutlich unter denen der Oberflächen mit dreidimensionalen Strukturen (Bhushan et al. 2008a). Auch bei den Testsystemen mit nur wenigen dreidimensionalen Strukturen (wenig Masse und 50 °C Rekristallisationstemperatur) rollten die Tropfen nicht ab (Abbildung 3.21 und Abbildung 3.22). Vermutlich sind die Lücken zwischen den Strukturen zu groß, sodass die Wassertropfen, nicht auf den Strukturen aufsitzen sondern zwischen den Strukturen einsinken, sodass eine Wenzel-Benetzung vorliegt (Wenzel 1936). Auf mikrostrukturierten Si-wafern konnte gezeigt werden, dass, abhängig von der Höhe und dem Abstand der Stützsäulen der Oberfläche, ein Übergang von einer Cassie-Benetzung zu einer Wenzel-Benetzung stattfindet. Diese und weitere Kriterien, wann ein Übergang der Benetzungsstadien stattfindet, werden von Bhushan und Jung (2011) zusammengefasst.

Die Wachsbeschichtungen, die durch die Verdampfung der hohen Massen (2000 µg und 2800 µg) entstanden waren, erschienen instabil und damit ungeeignet für die folgenden Keimungsexperimente. Abrollende Tropfen hinterließen eine leichte Spur in der Beschichtung (Daten nicht gezeigt). Es wirkte so, als sei etwas Material von den obersten Schichten durch den Wassertropfen abgetragen worden, jedoch nicht so viel, dass das pure Substrat darunter sichtbar geworden war. In einer früheren Studie wurde gezeigt, dass die Wachsbeschichtung mit Lotuswachs bedampfter Oberflächen durch einen starken Wasserstrahl beschädigt werden kann und die Benetzbarkeit der Oberfläche ansteigt (Jung und Bhushan 2009). In der vorliegenden Arbeit wirkte kein starker Wasserdruck auf die Proben ein, jedoch war bei den Proben, die mit viel Masse bedampft wurden die Schichtdicke so hoch, dass selbst eine geringe Kraft zu einem Abrieb führte. Bei den Testsystemen, die mit weniger Masse bedampft wurden, wurde keine Abtragung beobachtet.

Teilweise waren die bedampften Oberflächen noch hydrophober als die natürlichen Oberflächen. Bei den C28OH-Testsystemen lagen die Kippwinkel zudem unter 10° (Abbildung 3.21). Die entwickelten biomimetischen Oberflächen erfüllten damit die Voraussetzung selbstreinigender Oberflächen (Bhushan et al. 2009a, Koch et al. 2008, Zhang et al. 2008). Superhydrophobe Oberflächen entstehen nicht durch die Oberflächenchemie allein, sondern werden maßgeblich durch die Strukturierung

hydrophober Oberflächen verursacht (Bico et al. 1999, Öner und McCarthy 2000). Daher konnten in den letzten Jahrzehnten verschiedene biomimetische Oberflächen mit superhydrophoben Eigenschaften entwickelt werden (Bhushan et al. 2009b, Tuteja et al. 2007, Watson et al. 2010). Interessanterweise wurde bei den in der vorliegenden Arbeit geschaffenen Oberflächen die Superhydrophobie der Oberflächen ohne eine zweite Strukturebene erreicht. In einer früheren Studie mit 1-Hentriacontan ( $C_{31}$  Alkan) führten die gebildeten Nanostrukturen nur in Kombination mit einer Mikrostruktur zu ausreichend hohen Kontaktwinkeln und niedrigen Abrollwinkeln. Das Alkan bildete ebenfalls dreidimensionale Schüppchen. Auf unstrukturierten Oberflächen resultierte die Nanostrukturierung jedoch nur in hydrophoben Oberflächeneigenschaften (Bhushan et al. 2008a, b).

Durch die Vielzahl der Tropfen, die bei den Messungen der Benetzungseigenschaften direkt abgerollt waren, wurde die Anzahl der Tropfen bei denen ein statischer Kontaktwinkel gemessen werden konnte reduziert (Abbildung 3.20). Die tatsächlichen Kontaktwinkel der in vorliegenden Arbeit untersuchten Oberflächen, liegen vermutlich sogar noch etwas höher als die gemessenen Werte. Die Abrollwinkel erscheinen daher als verlässlichster Wert zum Vergleich der Benetzungseigenschaften der nativen und technischen Oberflächen. Bei kaum benetzbaren Oberflächen ist die Bestimmung des Kontaktwinkels mit purem Wasser oftmals schwierig (Taylor 2011). Gaskin et al. (2005) bestimmten die Kontaktwinkel verschiedener Pflanzenarten stattdessen mit einer 20%igen Aceton Lösung (v/v, in Wasser). Da es sich um ein organisches Lösungsmittel handelt, müsste allerdings sichergestellt werden, dass dadurch die Wachsstrukturen nicht angegriffen und somit die Benetzbarkeit beeinflusst würde.

Die Korrelation der Benetzungseigenschaften zeigte zwischen den Kontaktwinkeln und der Anzahl der abgerollten Tropfen einen positiven Zusammenhang (Abbildung 3.25). Wie erwartet rollten auf den Oberflächen mit höheren Kontaktwinkeln mehr Tropfen ab, als auf denen mit geringeren Kontaktwinkeln. Auch die Hysteresen und die Abrollwinkel zeigten einen schwach positiven Zusammenhang. Die Hysterese gilt als ein Maß dafür, wie leicht ein Tropfen von einer Oberfläche abrollt (Roach et al. 2008). Daher entsprach es den Erwartungen, dass bei zunehmenden Hysteresen die Tropfen erst bei einem höheren Kippwinkel abrollten.

Abschließend ist festzuhalten, dass es durch die Bedampfung mit dem Wachsgemisch gelungen ist, die Oberflächeneigenschaften des Weizenblattes zu übertragen. Die gebildeten Nanostrukturen wurden nicht 1:1 kopiert. Die Funktionalität wurde dennoch übertragen. Auch alleine durch die Bedampfung mit dem C<sub>28</sub> Alkohol konnte die gleiche Benetzbarkeit erzielt werden wie auf der natürlichen Oberfläche. Das bietet vielversprechende Möglichkeiten Grenzflächenphänomene auf diesen biomimetischen Oberflächen *in vitro* anstatt auf Pflanzen zu untersuchen. Mit dem Wachs-Testsystem steht erstmalig ein Testsystem zur Verfügung, das sowohl über die chemischen als auch über die Benetzungseigenschaften der pflanzlichen Oberfläche verfügt. Die modifizierten Testsysteme bieten darüber hinaus die Möglichkeit, den Einfluss der Chemie der epikutikularen Wachse und der Benetzbarkeit gesondert zu untersuchen. Neben der hier folgenden Untersuchung der Keimentwicklung phytopathogener Pilze wären beispielweise die Untersuchung von Wirkstoffapplikationen und -retentionen denkbare Anwendungen.

## 4 Anwendung der *in vitro* Testsysteme – Kapitel 3

### 4.1 Material und Methoden

#### 4.1.1 Kultivierung von *Blumeria graminis* f. sp. *tritici*

Mit *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* infizierte Weizenpflanzen wurden von Prof. Ulrich Schaffrath (RWTH Aachen) zur Verfügung gestellt. Durch Ausschütteln der mit Mehltau befallenen Blätter über jungen Weizenpflanzen der Sorte Akteur wurde der Pilz erstmalig übertragen. Der Pilz wurde bei 20 °C (12h/12h Tag/Nacht Rhythmus) auf den Weizenpflanzen kultiviert und wöchentlich auf eine Woche alte Weizenpflanzen zur Erhaltung der Kultur übertragen.

#### 4.1.2 Verwendete Oberflächen

Zur Bestimmung des Keimerfolgs auf der natürlichen Oberfläche wurden Blätter der Weizensorten Ponticus (sehr geringe bis geringe Anfälligkeit), Porthus (mittlere Anfälligkeit) und Akteur (starke bis sehr starke Anfälligkeit) genutzt (Kapitel 1, Tabelle 2.1). Der Keimerfolg wurde auf unterschiedlich anfälligen Sorten untersucht, um zu testen, ob es aufgrund der Sorten Unterschiede in der Differenzierung des Pilzes gibt. Der Keimerfolg wurde auf der adaxialen Seite von Blatt 3 von Pflanzen im 5 Blatt Stadium bestimmt. Als künstliche Oberflächen wurden verschiedene Testsysteme mit unterschiedlichen chemischen und physikalischen Eigenschaften herangezogen, um deren Einfluss auf den Keimerfolg zu testen. Folgende Testsysteme wurden verwendet: das Weizenwachs-Testsystem (Wachs; gleiche Chemie, gleiche Benetzungseigenschaften wie das Weizenblatt), das 1-Octacosanol-Testsystem (C<sub>28</sub>OH; andere Chemie, gleiche Benetzungseigenschaften), das Wachs-aus-der-Schmelze-Testsystem (Schmelze; gleiche Chemie, andere Benetzungseigenschaften), das 1-Hexacosanal-Testsystem (C<sub>26</sub>CHO;

gleiche Benetzung, potentieller Signalstoff) und das 1-Octacosanal-Testsystem (C28CHO, gleiche Benetzung, potentieller Signalstoff) (Tabelle 4.1, Tabelle 4.2 und Kapitel 2).

**Tabelle 4.1: Verwendete Substrate für die Keimungsexperimente**

<b>Substrat</b>	<b>Funktion/nachgeahmte Eigenschaft(en)*</b>
Weizenblatt	Positivkontrolle
Wachs-Testsystem	Benetzung und Chemie
C28OH-Testsystem	Benetzung
Schmelze-Testsystem	Chemie
C26CHO-Testsystem	Benetzung u. pot. Signalstoff
C28CHO-Testsystem	Benetzung u. pot. Signalstoff
Glas	Negativkontrolle
Replik	Negativkontrolle

\*der Oberfläche des Weizenblattes

**Tabelle 4.2: Benetzungseigenschaften der Substrate für die Keimungsexperimente**

<b>Substrat</b>	<b>Abrollrate [%]</b>	<b>KW [°]</b>	<b>AW [°]</b>	<b>Hysteresis [°]</b>
Weizenblatt	90,0	147,5 ± 11,7	15,7 ± 10,8	8,2 ± 8,3
Wachs-Testsystem	73,3	154,7 ± 8,8	14,9 ± 13,8	17,6 ± 10,6
C28OH-Testsystem	100,0	156,3 ± 7,0	5,8 ± 6,1	16,2 ± 13,1
Schmelze-Testsystem	0,0	93,0 ± 5,6	NA	NA
C26CHO-Testsystem	100,0	151,0 ± 5,0	1,5 ± 2,5	2,8 ± 1,9
C28CHO-Testsystem	86,7	148,7 ± 3,9	8,8 ± 9,8	19,4 ± 20,5
Glas	0,0	42,2 ± 5,5	NA	NA
Replik	0,0	72,9 ± 5,1	NA	NA

KW: Kontaktwinkel, AW: Abrollwinkel, NA: not available, nicht vorhanden (Kapitel 2, 3.2.3, Seite 140)

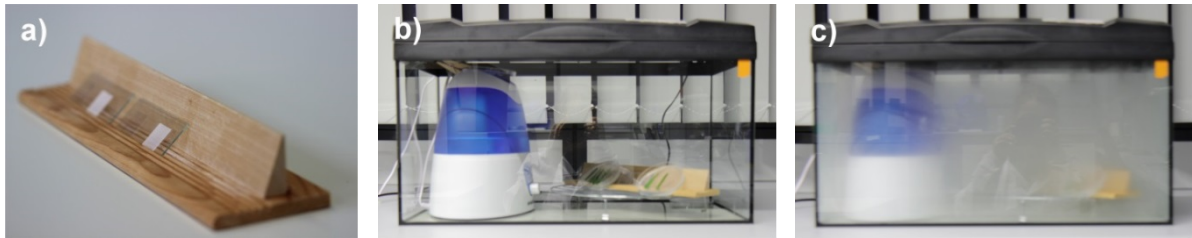
### 4.1.3 Inokulationen der Oberflächen

Zur Inokulation der Blätter und der Testsysteme wurden diese auf den Boden eines Inokulationsturms platziert. Pflanzen, deren Blätter deutlich Mehltaupusteln zeigten, wurden anschließend über den Oberflächen ausgeschüttelt. Die Pflanzen, die zur Inokulation herangezogen wurden, wurden immer einen Tag vor der Inokulation geschüttelt, um ausschließlich frische Konidien zu übertragen. Nach 1 h wurden die inokulierten Oberflächen aus dem Inokulationsturm entnommen und unter den jeweiligen Keimungsbedingungen inkubiert. Neben den zu inokulierenden Oberflächen wurde auch immer eine Zelläskammer (Thoma Zählkammer, Paul Marienfeld GmbH & Co. KG, Lauda-Königshofen) beimpft, um die Keimdichte bestimmen zu können.

### 4.1.4 Etablierung der Keimungsbedingungen

Die Keimungsexperimente sollten unter möglichst optimalen Keimungsbedingungen stattfinden. Um diese festlegen zu können, wurden mehrere Tests, bei verschiedenen relativen Luftfeuchten auf Blättern der Sorte Akteur durchgeführt. Hierfür wurde das Weizenblatt in ca. 5 cm lange Stücke geschnitten. Nach Inokulation wurden die Blattstücke in eine Petrischale mit Wasser-Agar gegeben. Anschließend wurden die Proben bei 75 % und 90 % relativer Luftfeuchte (rel. LF) in einer Konstantklimakammer (HPP 110, Memmert GmbH+CoKG, Schwabach) bei 20 °C inkubiert. Daneben wurden die Blattstücke in einer Glaspetrischale auf feuchtem Papier in einem Thermostatschrank (ET 650-8/385 L, Lovibond Tintometer GmbH, Dortmund) bei 20 °C inkubiert, um eine relative Luftfeuchte von annähernd 100 % zu erzielen. Außerdem wurde geprüft, welchen Einfluss zusätzliches Wasser auf das Keimungsverhalten hat. Hierfür wurden die Proben bei 75 und 90 % rel. LF mit und ohne Nebeln inkubiert. Zur Nebelung der Proben wurden diese in ein geschlossenes System mit einem Luftbefeuchter (30W 3l, Basetech, Conrad Electronics SE, Hirschau, Abbildung 4.1) gestellt. Nach einer Nebelungsdauer von 5 Minuten wurden die Proben entnommen und unter den jeweiligen Keimungsbedingungen inkubiert. Neben den Blattstücken wurden auch pures Glas, als Negativkontrolle und das Wachs-Testsystem nach Inokulation unter den gleichen Bedingungen inkubiert, um den Keimerfolg auf den künstlichen Oberflächen zu testen. Alle Proben

wurden bei jedem Versuch in einem 45° Winkel inkubiert (Abbildung 1), um ein Abrollen gebildeter Tropfen zu ermöglichen. Die Versuche wurden jeweils drei Mal wiederholt.



**Abbildung 4.1: Nebelung der Proben in einem geschlossenem System mit einem Ultraschallverdampfer;** a) Probenhalterung für das Nebeln in einem 45° Winkel, b) vor Nebeln, c) nach 5 Minuten Nebeln

#### 4.1.5 Untersuchung des Keimerfolgs

Zur Untersuchung des Keimerfolgs von *B. graminis* wurden die natürlichen und künstlichen Oberflächen nach Inokulation bei 20 °C auf feuchtem Papier im Dunkeln 16 h inkubiert. Auf den Weizenblättern wurde der Keimerfolg in fünf, auf den verschiedenen Testsystemen in zehn Wiederholungen untersucht. Bei den Keimungsexperimenten auf den verschiedenen Testsystemen diente ein Weizenblatt als Positivkontrolle, pures Glas und eine Harzreplik als Negativkontrollen.

Der Keimerfolg auf den unterschiedlichen Oberflächen wurde mithilfe eines digitalen Mikroskops (VHX-600 DSO, Keyence, Osaka, Japan) untersucht. Die Blattstücke wurden zuvor mit Ethanol/Essigsäure (3/1, v/v) ü. N. entfärbt bis die Blätter gebleicht waren (ca. 24 h). Hierfür wurden die Blattstücke auf mit Ethanol/Essigsäure getränkte Papiere gelegt. Zur Fixierung der Strukturen wurden die Blattstücke anschließend auf mit Lactoglycerol (Milchsäure/Glycerol/H<sub>2</sub>O, 1/1/1,3, v/v/v) getränkte Papiere für ca. 3 h übertragen. Anschließend wurden die Pilzstrukturen mit Trypanblau (0,05 % in Lactoglycerol) durch direktes Auftropfen gefärbt. Die Keimentwicklung wurde in folgende Entwicklungsstadien unterteilt: nicht gekeimt (nk), Ausbildung eines primären Keimschlauches (1Ks), Ausbildung eines sekundären Keimschlauches (2Ks), abnormale Entwicklung (drei oder mehr Keimschläuche, abn), Ausbildung eines appressorialen Keimschlauches (aKs), und die Entwicklung eines Appressoriums (App). Bei den Versuchen zur Etablierung der Keimungsbedingungen wurden die Entwicklungsstadien



aKs und App als differenzierte Konidien (diff) zusammengefasst. Auf jeder Probe wurden jeweils 100 einzelne Konidien ausgezählt. Konidien in der Kette oder in Akkumulationen wurden nicht gezählt. Geplatze Konidien wurden wie pralle Konidien ausgewertet, sofern der Entwicklungszustand eindeutig erkennbar war (Auszählmethode 1). Auf den künstlichen Oberflächen wurde eine weitere Methode zur Auszählung angewandt. Hier wurden geplatze Konidien als tot gewertet (Auszählmethode 2), um den Einfluss der Oberflächen auf die Mortalität der Konidien untersuchen zu können.

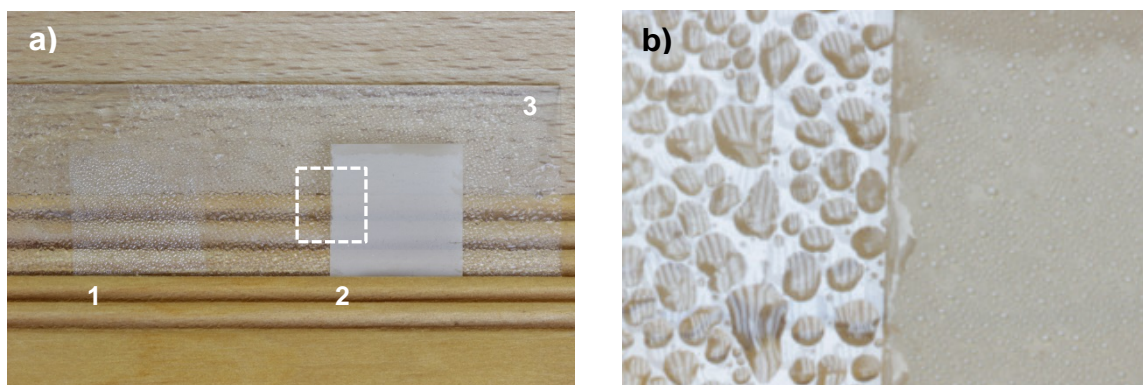
#### **4.1.6 Datenanalyse**

Die Ergebnisse sind als Mittelwerte  $\pm$  die Standardabweichung angegeben. Die gewonnenen Daten wurden mit Excel (2010, Version 14, Microsoft, Redmond, USA) und der Open-Source-Software R Studio (R Studio Inc., Ver. 1.1.383, Boston, USA) ausgewertet. Bei der Etablierung des Keimerfolgs wurden signifikante Unterschiede des Keimerfolgs unter Annahme der Normalverteilung der Daten durch eine ANOVA und einem *Post Hoc* Tukey Test bestimmt. Der Keimerfolg wurde zunächst auf den Blättern der drei verschiedenen Weizensorten untersucht. Als nächstes wurde der Keimerfolg auf den unterschiedlichen Testsystemen analysiert. Schließlich wurde der Keimerfolg auf den verschiedenen Testsystemen mit dem auf den Kontrollen einzeln verglichen. Die Normalverteilung der Werte der Untersuchung des Keimerfolgs wurde mit dem Shapiro Wilk Test überprüft, die Homogenität der Varianzen mit dem Levene Test. Zur Überprüfung signifikanter Unterschiede wurde eine ANOVA mit einem anschließenden *Post Hoc* Tukey Test oder ein Kruskal Wallis Test mit einem anschließenden *Post Hoc* Dunn Bonferroni Test durchgeführt. Um signifikante Unterschiede zwischen den Proben und den Positiv- und Negativkontrollen zu finden, wurde der Dunnett Test verwendet. Das Signifikanzniveau betrug in allen Tests 0,05. Zur graphischen Darstellung der Daten wurde SigmaPlot (Version 13.0, Systat Software Inc., San Jose, USA) genutzt.

## 4.2 Ergebnisse

### 4.2.1 Etablierung der Keimungsbedingungen

Zur Etablierung der Keimungsbedingungen wurden Inokulationsexperimente bei verschiedenen Luftfeuchten mit und ohne Benebeln durchgeführt, um den Einfluss dieser Faktoren auf den Keimerfolg von *B. graminis* zu testen. Nach Benebeln verblieben auf den Proben kleine Wassertröpfchen. Auf dem Wachs-Testsystem waren die Tropfen kleiner und runder als auf Glas (Abbildung 4.2). Nach der Inkubationszeit von 16 h waren die Proben trocken.



**Abbildung 4.2: Benebelung künstlicher Oberflächen;** a) nach 5 minütiger Benebelung; 1) Glas, 2) Wachs-Testsystem, 3) Objektträger; b) Tröpfchenbildung auf Glas (links) und auf dem Wachs-Testsystem (rechts); Detailaufnahme aus Bild a) (gekennzeichnet durch das Quadrat)

Auf den Weizenblättern waren die Keimungsraten bei allen Bedingungen hoch. Bei 100 % rel. LF wurde mit 75 % die niedrigste Keimrate festgestellt. Bei den übrigen Bedingungen keimten mindestens 90 % der Konidien. Bei allen Bedingungen war die Mehrheit der Konidien im differenzierten Stadium. Auf den Proben, die ohne Benebeln kultiviert wurden, differenzierten bei 100 % rel. LF ( $57 \pm 5$ ) weniger Konidien als bei 75 und 90 % rel. LF ( $79 \pm 9$  und  $80 \pm 11$ ). Die Proben, die benebelt wurden, zeigten keinen Unterschied in der Anzahl der differenzierten Konidien bei den verschiedenen relativen Luftfeuchten. Hier differenzierten bei 75 % rel. LF  $63 \pm 7$  und bei 90 % rel. LF  $60 \pm 7$  Konidien.

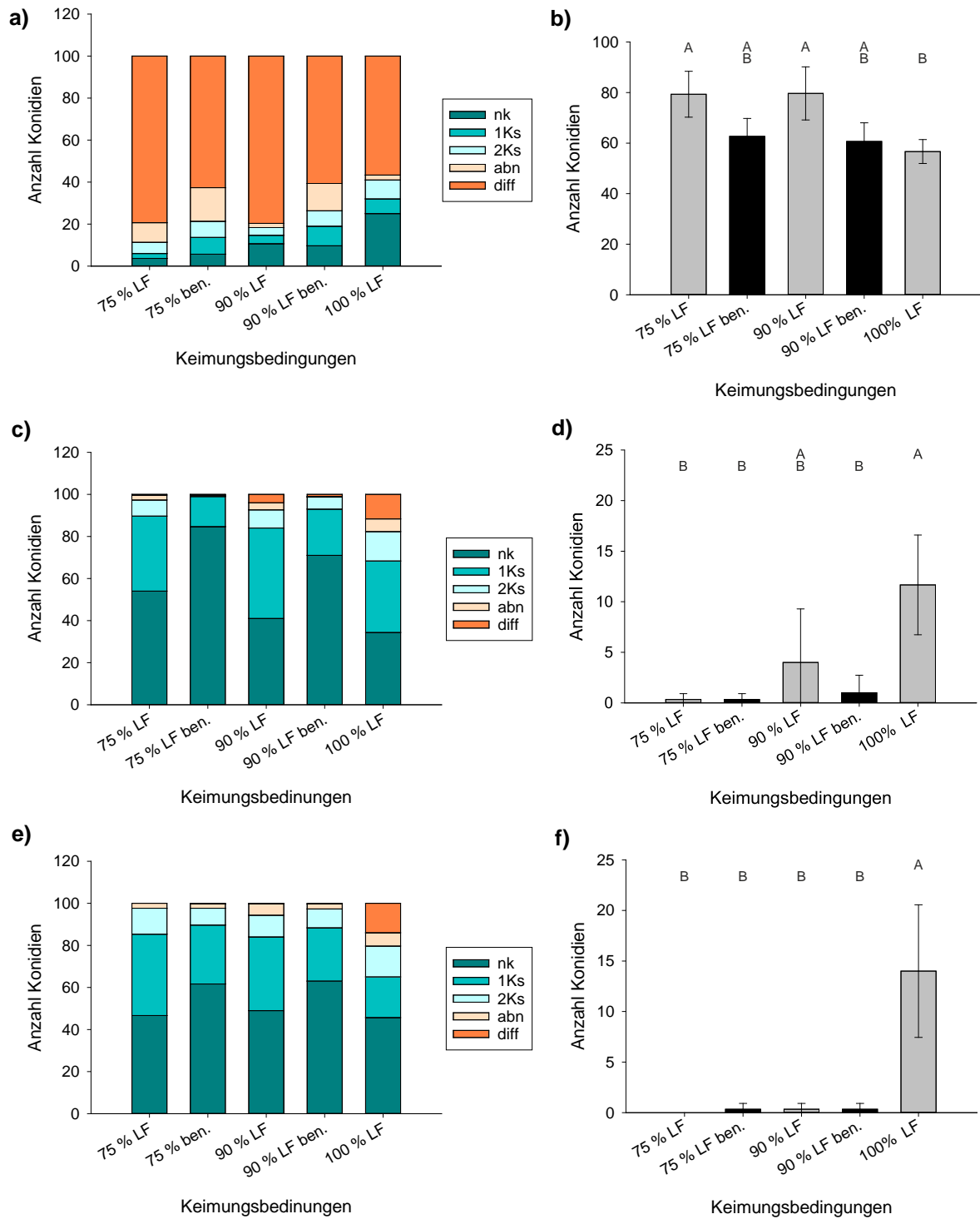
Auf den künstlichen Oberflächen waren die Keimungsraten geringer als auf den Weizenblättern. Im Gegensatz zu dem Keimungsverhalten auf den Weizenblättern war

auf den künstlichen Oberflächen die Mehrheit der Sporen nicht gekeimt (Abbildung 4.3). Auf dem Wachs-Testsystem war die Keimrate bei 100 % rel. LF ohne Benebeln mit 65 % am höchsten. Bei 75 und 90 % rel. LF schienen auf den benebelten Proben weniger Konidien gekeimt zu sein als auf den nicht benebelten Proben: Auf dem Wachs-Testsystem keimten bei 75 und 90 % rel. LF mit Benebelung  $15 \pm 9$  und  $29 \pm 20$  Konidien. Ohne Benebelung keimten  $46 \pm 20$  (75 % rel. LF) und  $59 \pm 22$  Konidien (90 % rel. LF). Diese Unterschiede in den Keimungsraten waren aber nicht signifikant. Die Anzahl der differenzierten Konidien war auf den künstlichen Oberflächen wesentlich geringer als auf den Weizenblättern. Die meisten Konidien differenzierten bei 100 % rel. LF und bei 90 % rel. LF ohne Benebelung ( $12 \pm 5$  und  $4 \pm 5$ ) auf dem Wachs-Testsystem. Bei den anderen Bedingungen fand kaum eine Differenzierung statt. Auch auf Glas differenzierten bei 100 % rel. LF die meisten Konidien ( $14 \pm 7$ ).

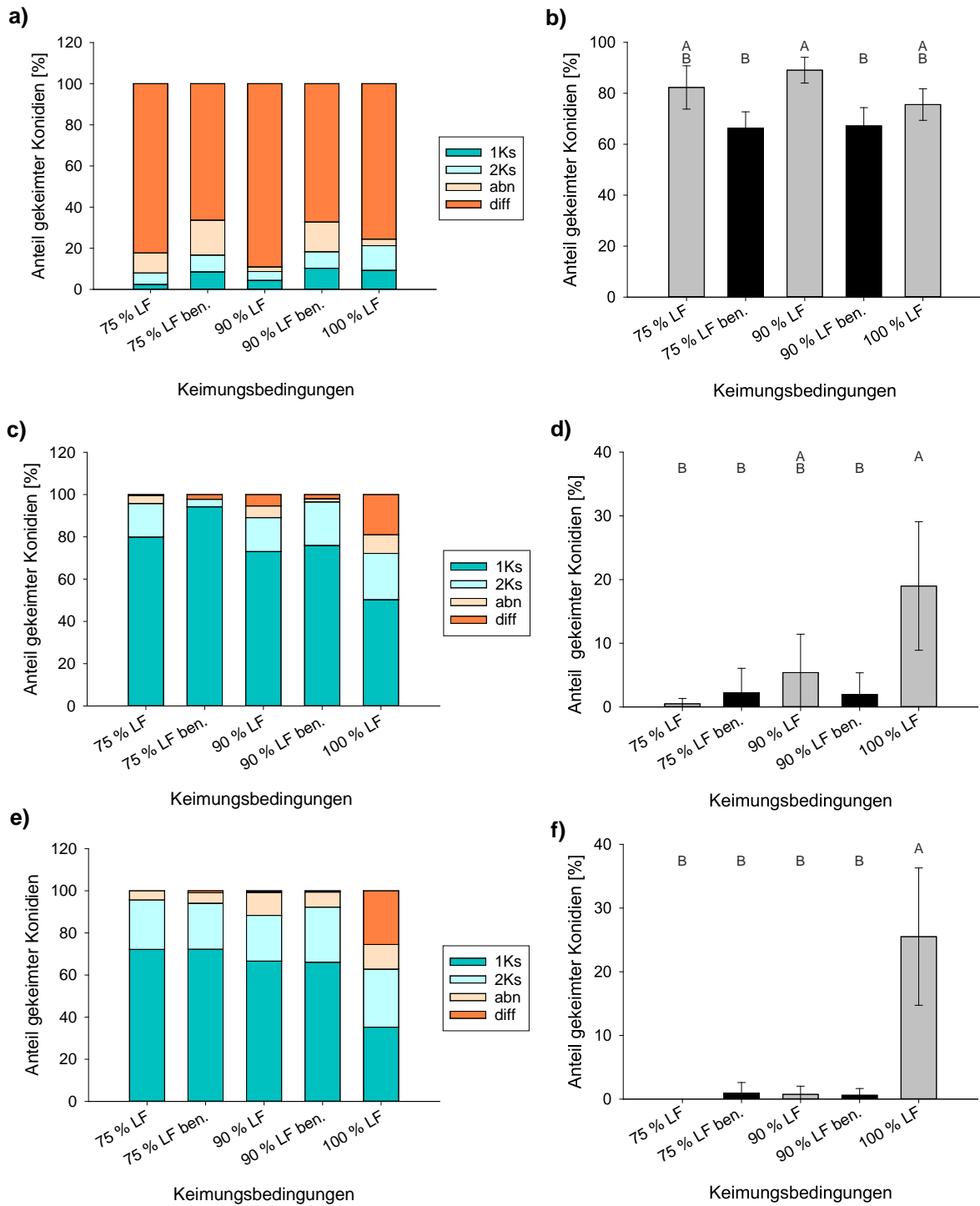
Unabhängig von der Keimungsbedingung bildeten auf den Weizenblättern die differenzierten Konidien den größten Anteil aller gekeimter Konidien (Abbildung 4.4a, b). Nur bei 90 % rel. LF machte es einen Unterschied, ob die Proben mit oder ohne Benebelung inkubiert wurden. Mit Benebelung war die Differenzierungsrate mit  $67 \pm 7$  % etwas geringer als ohne Benebelung mit  $89 \pm 5$  %. Bei 100 % rel. LF differenzierten in der relativen Betrachtung genauso viele Konidien ( $76 \pm 6$  %) wie bei den anderen Bedingungen. Auf den künstlichen Oberflächen hingegen haben die meisten der gekeimten Konidien nur einen primären Keimschlauch entwickelt (Abbildung 4.4c - f). Der größte Anteil der differenzierten Konidien konnte auf Glas bei 100 % rel. LF ( $25 \pm 10$  %) und auf dem Wachs-Testsystem bei 100 % rel. LF ( $19 \pm 10$  %) und bei 90 % rel. LF ohne Benebeln ( $5 \pm 6$  %) festgestellt werden. Bei den anderen Bedingungen ging die Differenzierungsrate gegen Null.

Die Experimente zur Etablierung der Keimungsexperimente haben gezeigt, dass auf den Weizenblättern unter allen getesteten Bedingungen der Großteil der Konidien differenzierte. Auf dem Wachs-Testsystem konnten so hohe Differenzierungsraten nicht erreicht werden. Bei Benebelung und niedriger LF sind kaum Konidien differenziert. Bei höheren Luftfeuchtigkeiten konnte auf den künstlichen Oberflächen eine Differenzierung beobachtet werden. Auf dem Wachs-Testsystem erschien die Differenzierung bei 100 % rel. LF mit  $12 \pm 5$  differenzierten Konidien am höchsten, auch wenn der Unterschied zu

90 % ohne Benebeln mit  $4 \pm 5$  differenzierten Konidien nicht signifikant war. Daher wurden die folgenden Experimente zur Keimentwicklung bei 100 % LF ohne benebeln durchgeführt.



**Abbildung 4.3: Absolute Keimentwicklung der Mehltaukonidien unter verschiedenen Keimungsbedingungen;** linke Spalte: Übersicht der Keimentwicklung, rechte Spalte: Differenzierung der Konidien, a) und b) auf dem Weizenblatt, c) und d) auf dem Wachs-Testsystem, e) und f) auf Glas; LF: rel. Luftfeuchte; ben: benebelt; nk: nicht gekeimt, 1Ks: primärer Keimschlauch, 2Ks: sekundärer Keimschlauch, abn: abnormale Entwicklung, diff: differenziert; Es wurden jeweils 100 Konidien ausgezählt (n = 3). Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Bedingungen (p < 0,05, getestet durch eine ANOVA mit anschließendem *Post Hoc* Tukey Test).

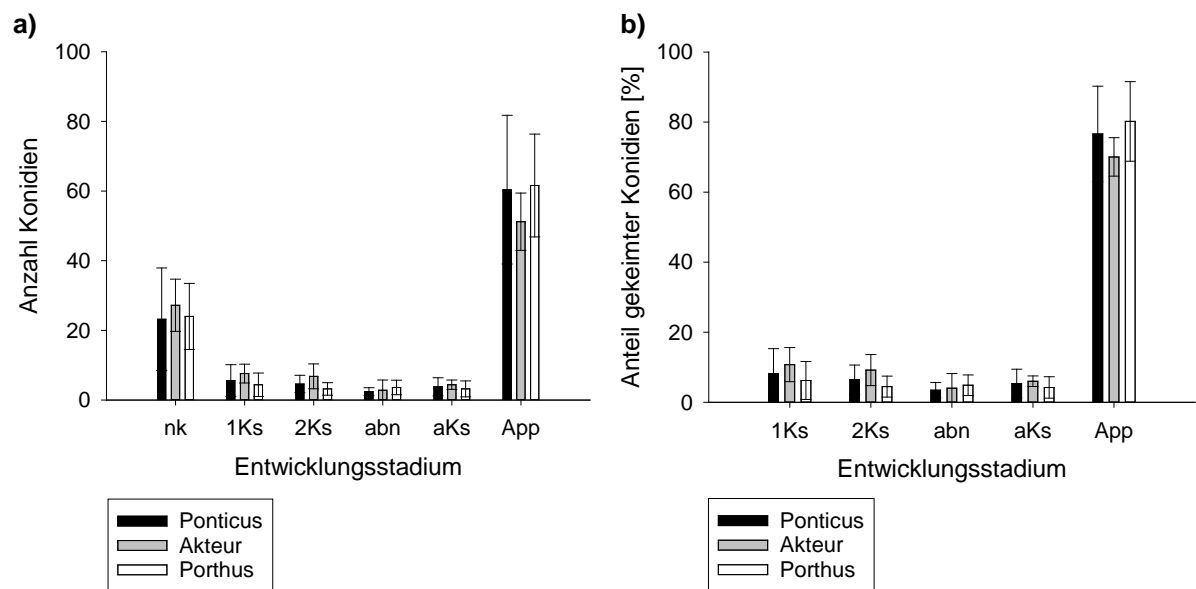


**Abbildung 4.4: Relative Keimentwicklung der Mehltaukonidien unter verschiedenen Keimungsbedingungen;** linke Spalte: Übersicht der Keimentwicklung, rechte Spalte: Differenzierung der Konidien; a) und b) auf dem Weizenblatt, c) und d) auf dem Wachs-Testsystem, e) und f) auf Glas; LF: rel. Luftfeuchte, ben: benebelt, nk: nicht gekeimt, 1Ks: primärer Keimschlauch, 2Ks: sekundärer Keimschlauch, abn: abnormale Entwicklung, diff: differenziert; Es wurden jeweils 100 Konidien ausgezählt (n = 3). Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Bedingungen (p < 0,05, getestet durch eine ANOVA mit anschließendem *Post Hoc* Tukey Test).

## 4.2.2 Untersuchung des Keimerfolgs

### Untersuchung des Keimerfolgs auf den Blättern der verschiedenen Weizensorten

Die Keimentwicklung von *B. graminis* f. sp. *tritici* wurde auf drei verschiedenen, unterschiedlich anfälligen Weizensorten untersucht. Das Keimungsverhalten des Pilzes zeigte auf Blättern der unanfälligen Sorte Ponticus und den anfälligeren Sorten Akteur und Porthus keinen Unterschied (Abbildung 4.5). Mit ca. 60 Konidien, die ca. 80 % der gekeimten Sporen entsprachen, haben die meisten Sporen ein Appressorium gebildet. Die zweit stärkste Gruppe bildeten bei allen Sorten die nicht gekeimten Konidien: ca.  $\frac{1}{4}$  der Konidien keimte nicht. Die Anzahl der übrigen Konidien war gleichmäßig über die anderen Entwicklungsstadien verteilt und lag bei allen Sorten jeweils unter 10.



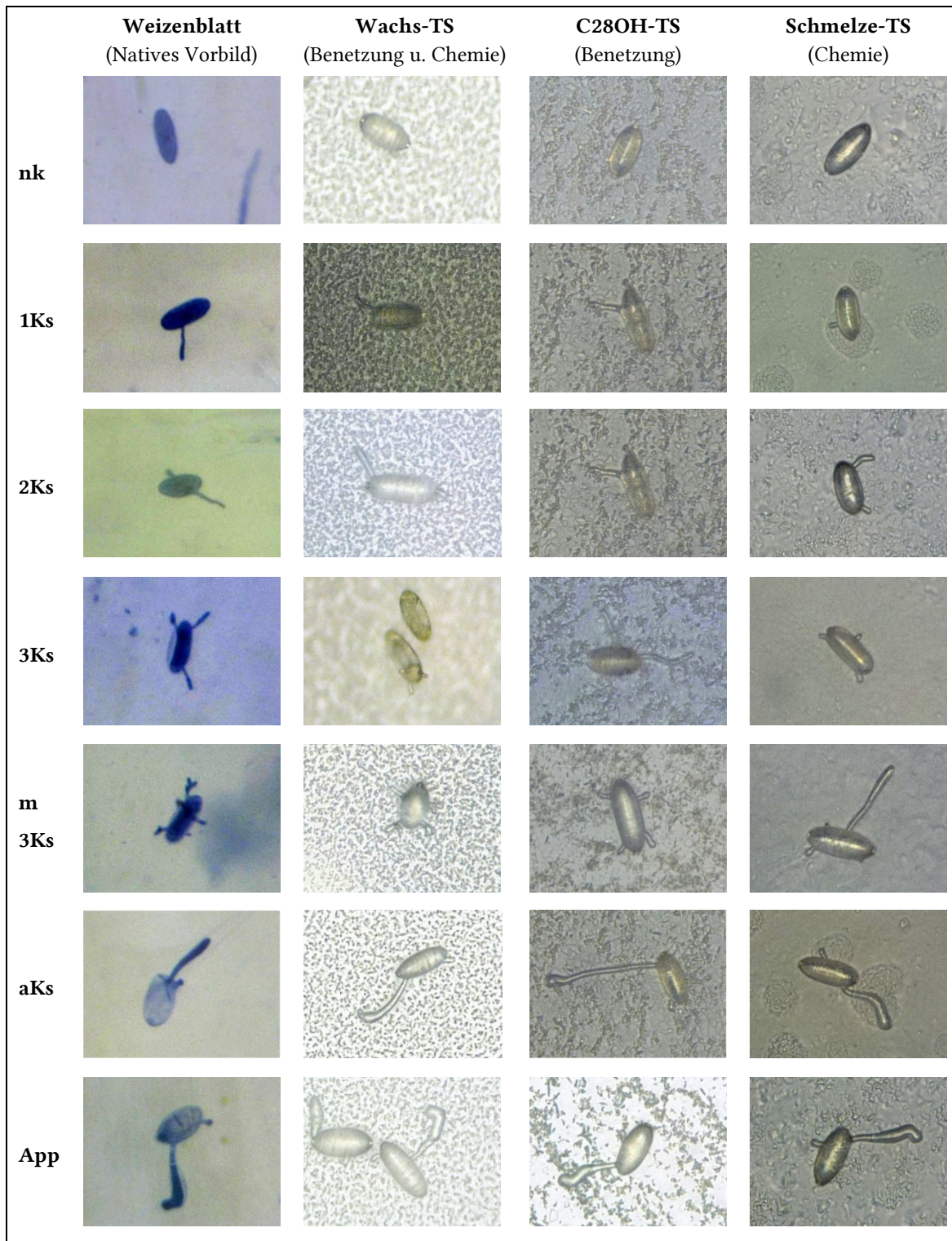
**Abbildung 4.5: Keimentwicklung von *B. graminis* auf den Blattoberflächen verschiedener Weizensorten;** a) absolute Keimentwicklung, b) relative Keimentwicklung; nk: nicht gekeimt, 1Ks: primärer Keimschlauch, 2Ks: sekundärer Keimschlauch, abn: abnormale Entwicklung, aKs: appressorialer Keimschlauch, App: Appressorium; Es wurden jeweils 100 Konidien ausgezählt (n = 5).

### Untersuchung des Keimerfolgs auf den Testsystemen

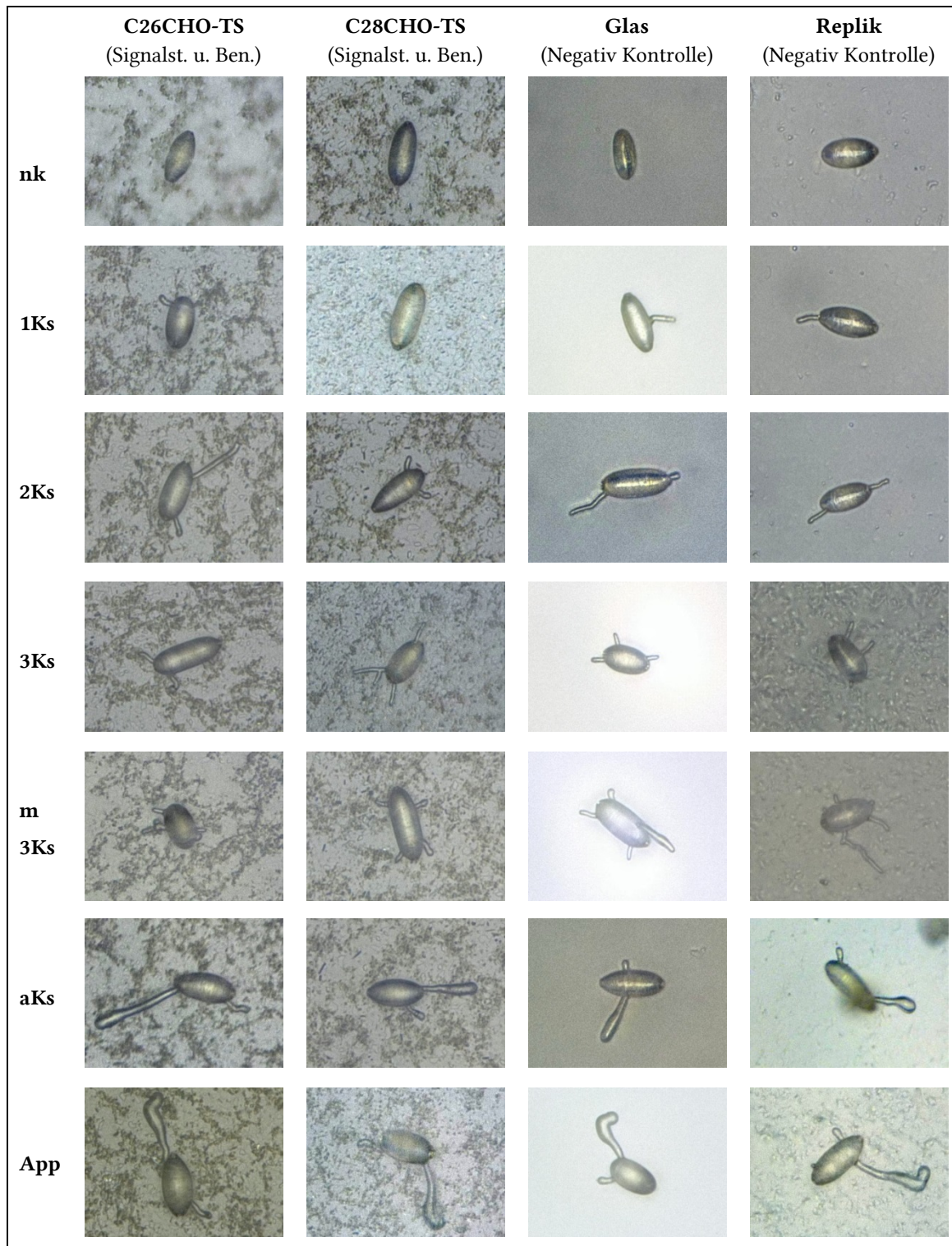
Im Vergleich zur natürlichen Blattoberfläche wurde die Keimung von *B. graminis* auf den verschiedenen Testsystemen mit unterschiedlichen physikochemischen Eigenschaften untersucht, um mögliche keiminduzierende Faktoren identifizieren zu können. Auf allen Testsystemen konnten die jeweiligen Entwicklungsstadien eindeutig identifiziert werden. Abbildung 4.6 und Abbildung 4.7 zeigen verschiedene Stadien der Keimentwicklung von *B. graminis* auf der Blattoberfläche und auf den verschiedenen künstlichen Oberflächen. Die Keimungsraten waren sehr unterschiedlich (Abbildung 4.8a und Abbildung 10.28): Auf dem Weizenblatt keimten mit 77 % mehr Konidien als auf allen Testsystemen. Auf den Testsystemen keimte der Großteil der Konidien nicht aus, hier lagen die Keimungsraten bei maximal 53 % auf dem C26CHO-Testsystem. Mit nur einer Ausnahme, auf dem C28CHO-Testsystem, sank die Anzahl der Konidien mit fortschreitendem Entwicklungsstadium. Nur wenige Konidien (maximal  $7 \pm 3$  auf dem C26CHO-Testsystem) bildeten ein Appressorium aus. Im Vergleich zu allen Testsystemen bildeten auf dem Weizenblatt mehr Konidien ein Appressorium aus, hier bildeten sie die größte Gruppe mit  $60 \pm 20$  Konidien. Bis zu den differenzierten Stadien nimmt auch auf dem Weizenblatt die Anzahl der Konidien mit fortschreitender Entwicklung ab. Die Anzahl der abnormal entwickelten Konidien war auf allen untersuchten Oberflächen gleich: weniger als 5 Konidien zeigten eine abnormale Entwicklung.

Auch in der relativen Betrachtung unterschied sich das Keimverhalten von *B. graminis* auf dem Weizenblatt von dem auf den Testsystemen (Abbildung 4.8b und Abbildung 10.29). Auf den Weizenblättern bildeten die Konidien, die ein Appressorium ausgebildet hatten, mit  $77 \pm 13$  %, den größten Anteil der gekeimten Konidien. Auf den Testsystemen bildeten nur ca. 10 % (maximal  $13 \pm 4$  % auf dem C26CHO-Testsystem) ein Appressorium. Ca. die Hälfte der gekeimten Konidien verblieb auf den Testsystemen im Stadium des ersten Keimschlauchs. Auf allen Testsystemen bildeten mehr als 20 % einen sekundären Keimschlauch aus. Damit war der Anteil der Konidien mit primären und sekundären Keimschlauch höher als auf dem Weizenblatt mit  $8 \pm 7$  % und  $6 \pm 3$  %.



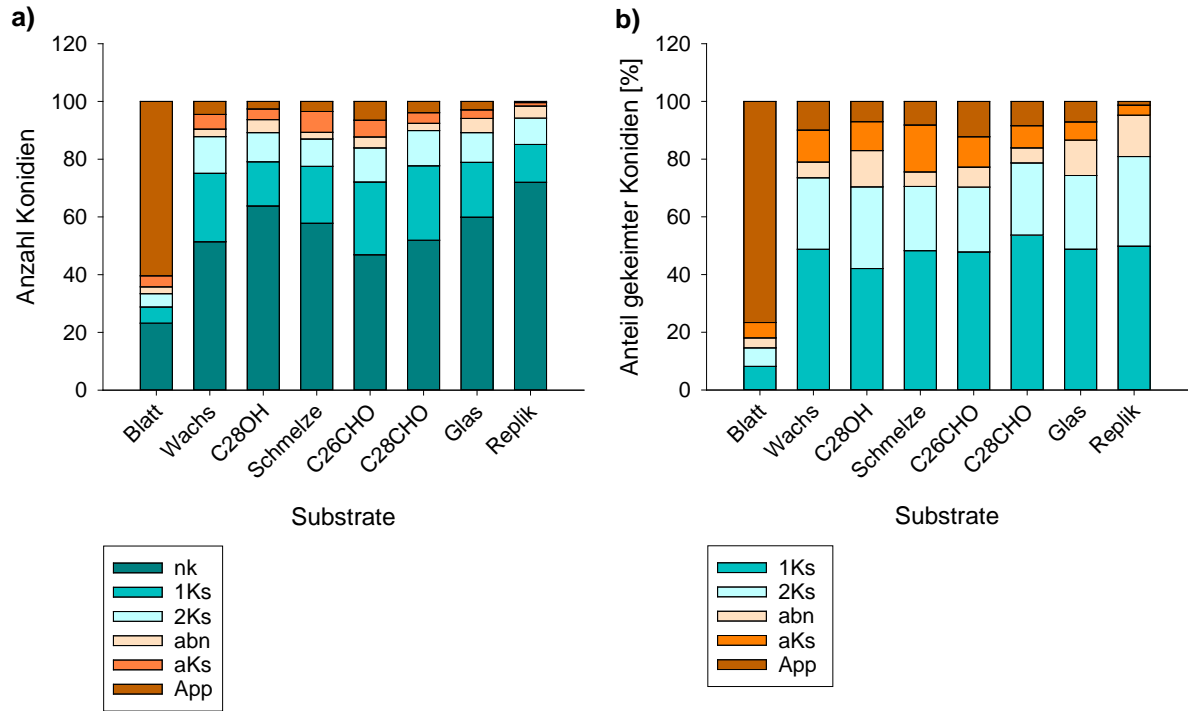


**Abbildung 4.6: Entwicklungsstadien der *B. graminis* Konidien auf dem Weizenblatt und auf den Testsystemen;** TS: Testsystem, nk: nicht gekeimt, 1Ks: primärer Keimschlauch, 2Ks: sekundärer Keimschlauch, 3Ks: drei Keimschläuche, m3Ks: mehr als drei Keimschläuche, aKs: appressorialer Keimschlauch, App: Appressorium; in Klammern: Eigenschaften der Testsysteme und Funktionen der Oberflächen; Aufnahmen aus 1000-facher Vergrößerung



**Abbildung 4.7: Entwicklungsstadien der *B. graminis* Konidien auf den Testsystemen und auf den Negativkontrollen;** TS: Testsystem, nk: nicht gekeimt, 1Ks: primärer Keimschlauch, 2Ks: sekundärer Keimschlauch, 3Ks: drei Keimschläuche, m3Ks: mehr als drei Keimschläuche, aKs: appressorialer Keimschlauch, App: Appressorium; in Klammern: Eigenschaften der Testsysteme und Funktionen der Oberflächen; Aufnahmen aus 1000-facher Vergrößerung

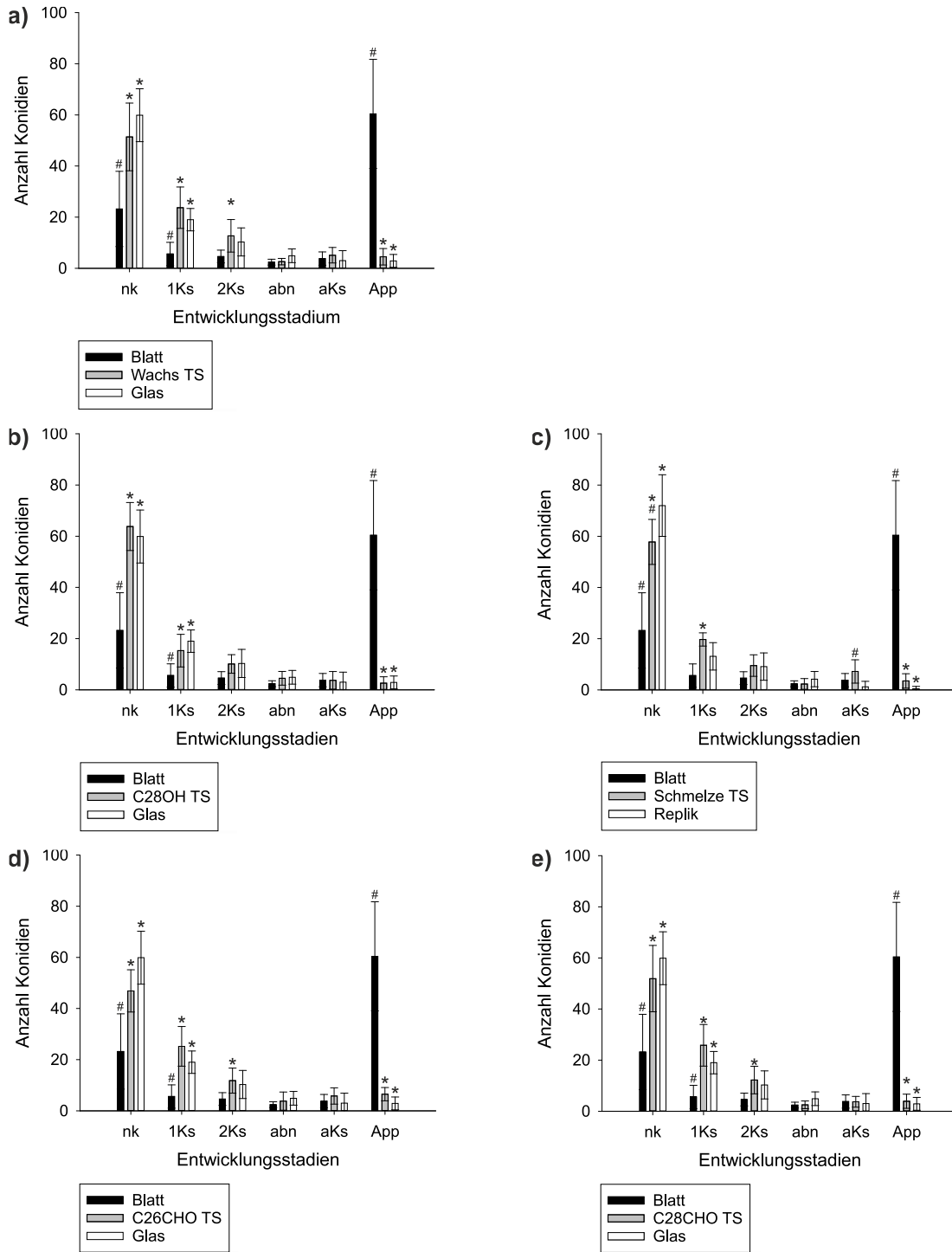




**Abbildung 4.8: Übersicht der Keimentwicklung der Mehltaukonidien auf dem Weizenblatt und den Testsystemen;** a) absolute Keimentwicklung, b) relative Keimentwicklung; nk: nicht gekeimt, 1Ks: primärer Keimschlauch, 2Ks: sekundärer Keimschlauch, abn: abnormale Entwicklung, aKs: appressorialer Keimschlauch, App: Appressorium; Es wurden jeweils die Entwicklungsstadien von 100 Konidien bestimmt (n = 10).

***Untersuchung des Keimerfolgs auf den Testsystemen im Vergleich zu den Kontrollen***

Der Keimerfolg auf den Testsystemen wurde mit dem Keimerfolg auf dem Weizenblatt, das als Positivkontrolle diente, und dem Keimerfolg auf Glas bzw. auf Harz Repliken, welche als Negativkontrollen dienten, verglichen. Die Untersuchungen zeigten bei allen entwickelten Testsystemen ein abweichendes Keimungsverhalten gegenüber dem auf dem Weizenblatt (Abbildung 4.9). So unterschied sich die Anzahl der Appressorien, die auf dem Wachs- ( $5 \pm 3$ ), dem C28OH- ( $3 \pm 3$ ), dem C26CHO- und dem C28CHO-Testsystem ( $7 \pm 3$  und  $4 \pm 3$ ) von der Anzahl der Konidien auf dem Weizenblatt ( $60 \pm 21$ ), nicht jedoch von der auf Glas ( $3 \pm 3$ ). Auch auf dem Schmelze-Testsystem bildeten sich weniger Appressorien ( $4 \pm 3$ ) als auf dem Weizenblatt, aber genauso wenige wie auf der Replik ( $0 \pm 1$ ). Auf allen Testsystemen waren mehr Konidien nicht gekeimt als auf dem Weizenblatt. Auf allen Testsystemen wurden auch mehr Konidien mit einem primären Keimschlauch gezählt als auf den Weizenblättern. Die Konidien entwickelten sich auf den Testsystemen und auf den Negativkontrollen fast immer gleich. Nur bei auf dem Schmelze-Testsystem keimten mehr Konidien ( $42 \pm 9$ ) als auf der Replik ( $28 \pm 12$ ) und es bildeten mehr Konidien einen appressorialen Keimschlauch ( $7 \pm 5$ ) als auf der Replik ( $1 \pm 2$ ). Die Anzahl der appressorialen Keimschläuche war sonst auf allen Oberflächen gleich. Beispielsweise entwickelten auf dem Weizenblatt  $4 \pm 3$ , auf dem Wachs-Testsystem  $5 \pm 3$  und auf Glas  $3 \pm 4$  Konidien einen appressorialen Keimschlauch. Auch die Anzahl der abnormal entwickelten Keimschläuche war auf allen Oberflächen gleich.



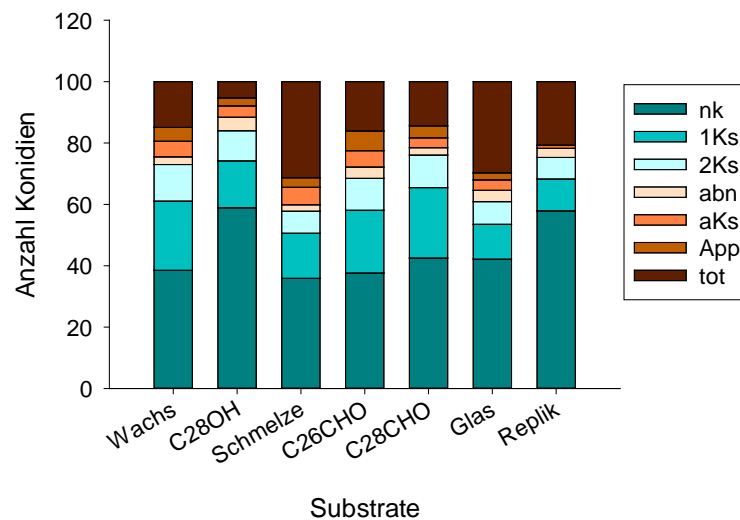
**Abbildung 4.9: Keimentwicklung der Mehltaukonidien auf den Testsystemen im Vergleich zu den Kontrollen;** a) Entwicklung auf dem Wachs-Testsystem, b) auf dem C28OH-Testsystem, c) auf dem Schmelze-Testsystem, d) auf dem C26CHO-Testsystem und e) auf dem C28CHO-Testsystem; nk: nicht gekeimt, 1Ks: primärer Keimschlauch, 2Ks: sekundärer Keimschlauch, abn: abnormale Entwicklung, aKs: appressorialer Keimschlauch, App: Appressorium; Es wurden jeweils 100 Konidien ausgezählt (n = 10). # kennzeichnen signifikante Unterschiede zu der Negativkontrolle, \* kennzeichnen signifikante Unterschiede zu der Positivkontrolle (p < 0,05, getestet durch einen Dunnett Test).

### **Untersuchung des Keimerfolgs unter Berücksichtigung der toten Konidien**

Auf den Testsystemen wurde mit einer weiteren Auszählmethode die Sterblichkeit der Konidien untersucht (Auszählmethode 2). Abbildung 4.10 zeigt Konidien, welche als tote Konidien gewertet wurden. Auf allen Testsystemen sind die meisten Konidien nicht gekeimt (Abbildung 4.11 und Abbildung 10.30). Auf dem C28OH-Testsystem und auf der Replik waren mit  $59 \pm 8$  und  $58 \pm 10$  mehr Konidien nicht gekeimt als auf dem C26CHO-, dem Wachs- und dem Schmelze-Testsystem mit  $38 \pm 9$ ,  $39 \pm 13$  und  $36 \pm 8$  Konidien. Auf dem Wachs-, auf dem C26CHO- und auf dem C28CHO-Testsystem bildeten mit  $20 \pm 8$  und  $23 \pm 9$  mehr Konidien einen primären Keimschlauch als auf der Replik mit  $10 \pm 4$ . Die Anzahl der Konidien mit einem sekundären Keimschlauch war auf allen untersuchten Testsystemen gleich, sie lag bei ca. 10 Konidien. Auch die Anzahl der abnormal entwickelten Konidien zeigte keine Unterschiede. Im Durchschnitt zeigten ca. 9 Konidien eine abnormale Entwicklung. Auf dem Wachs-, dem C26CHO- und dem Schmelze-Testsystem wurden mit  $5 \pm 3$ ,  $5 \pm 3$  und  $6 \pm 5$  mehr Konidien mit appressorialen Keimschläuchen gezählt als auf der Replik mit  $1 \pm 2$  Konidien. Auch die Anzahl der Konidien, die ein Appressorium gebildet hatten, war auf dem Wachs- ( $5 \pm 3$ ), auf dem C26CHO- ( $6 \pm 3$ ) und auf dem C28CHO-Testsystem ( $4 \pm 3$ ) höher als auf der Replik. Dort wurde keine Konidie mit einem Appressorium gezählt. Auf dem C28OH-Testsystem starben weniger Konidien ( $5 \pm 4$ ) als auf dem Schmelze-Testsystem ( $31 \pm 10$ ) auf dem Glas ( $30 \pm 13$ ) und auf der Replik ( $21 \pm 5$ ).



**Abbildung 4.10: Mikroskopische Aufnahme toter Konidien auf Glas;** 1) tote Konidie mit einem primären Keimschlauch, 2) tote nicht gekeimte Konidien, 3) vitale nicht gekeimte Konidie; Um die toten Konidien herum war ein eingetrockneter Kondensationstropfen sichtbar (gekennzeichnet durch die Pfeile); Vergrößerung: 500 x

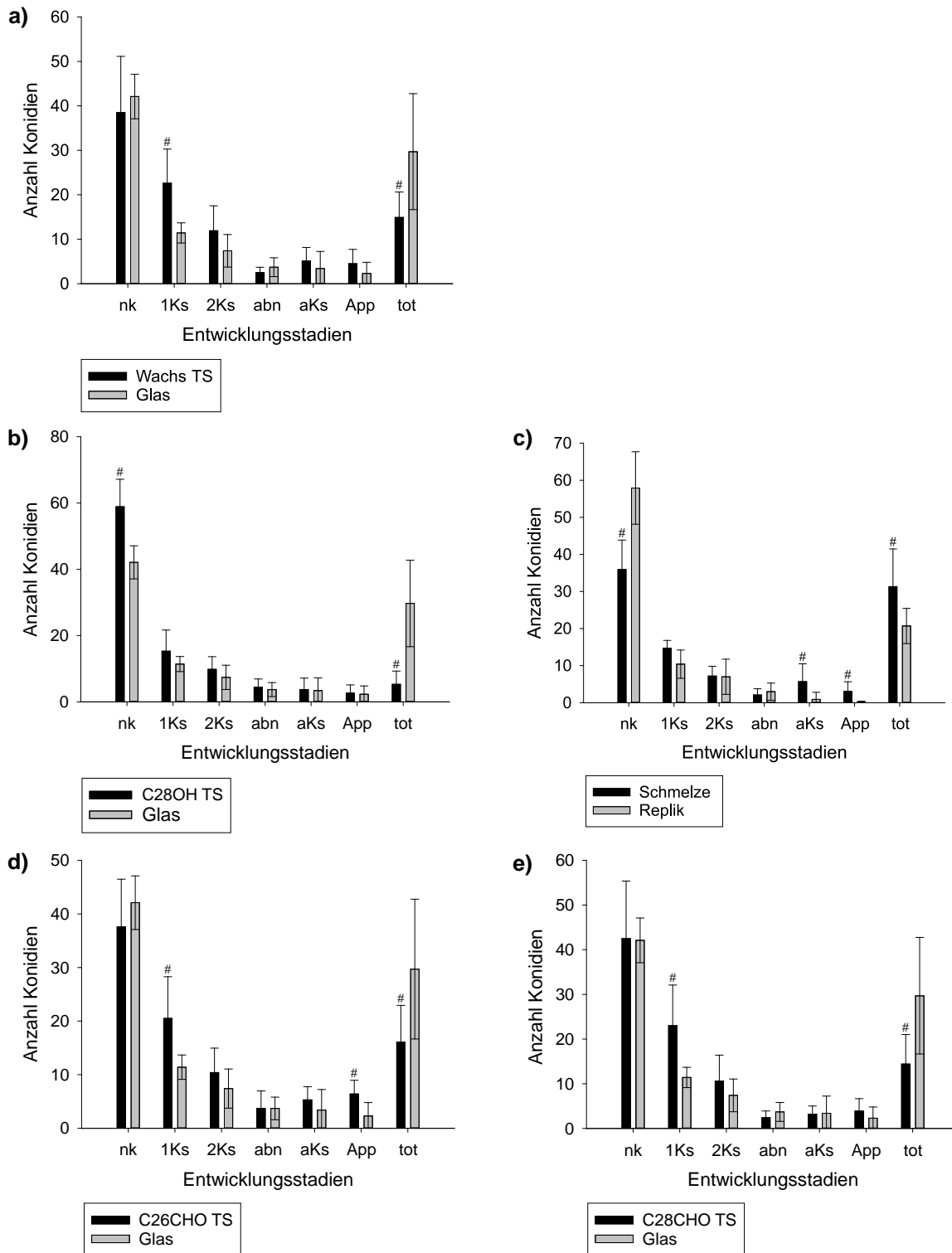


**Abbildung 4.11: Übersicht der Keimentwicklung der Mehltaukonidien auf den Testsystemen unter Berücksichtigung der toten Konidien;** nk: nicht gekeimt, 1Ks: primärer Keimschlauch, 2Ks: sekundärer Keimschlauch, abn: abnormale Entwicklung, aKs: appressorialer Keimschlauch, App: Appressorium, tot: tote Konidien; Es wurden jeweils die Entwicklungsstadien von 100 Konidien bestimmt (n = 10).

### ***Untersuchung des Keimerfolgs unter Berücksichtigung der toten Konidien im Vergleich zu den Kontrollen***

Der Vergleich zwischen dem Keimerfolg auf den Testsystemen und den jeweiligen Negativkontrollen sollte Aufschluss über den Einfluss der physikochemischen Eigenschaften der Oberflächen auf die Sterblichkeit der Konidien geben: Die Untersuchung zeigte auf allen Testsystemen Unterschiede in der Anzahl der toten Konidien zur Negativkontrolle (Abbildung 4.12): Auf dem Wachs- ( $14 \pm 6$ ), auf dem C28OH- ( $5 \pm 4$ ), auf dem C26CHO ( $16 \pm 7$ ) und auf dem C28CHO-Testsystem ( $14 \pm 7$ ) starben weniger Konidien als auf Glas ( $30 \pm 13$ ). Auf dem Schmelze-Testsystem starben mit  $31 \pm 10$  mehr Konidien als auf der Replik mit  $21 \pm 5$ . Bei den Keimungsraten gab es sowohl Unterschiede als auch Gemeinsamkeiten zwischen den Testsystemen und den Negativkontrollen: Auf dem Wachs-, dem C26CHO- und auf dem C28CHO-Testsystem sind mit  $39 \pm 13$ , mit  $38 \pm 9$  und mit  $43 \pm 13$  genauso viele Konidien nicht gekeimt wie auf Glas mit  $42 \pm 5$ . Auf dem C28OH-Testsystem keimten mit  $59 \pm 8$  mehr Konidien nicht, als auf Glas mit  $43 \pm 13$ . Auf dem Schmelze-Testsystem keimten mit  $36 \pm 8$  weniger Konidien nicht, als auf der Replik mit  $58 \pm 10$ . Auf den meisten Testsystemen, bildeten mehr Konidien einen primären Keimschlauch aus als auf der Negativkontrolle. Auf dem C28OH-Testsystem ( $15 \pm 6$ ) und auf dem Schmelze-Testsystem ( $15 \pm 2$ ) unterschied sich die Anzahl der Konidien mit einem primären Keimschlauch nicht von der der jeweiligen Negativkontrolle (Glas:  $11 \pm 2$ , Replik:  $10 \pm 4$ ). Bei der Anzahl der Konidien, die einen sekundären Keimschlauch ausgebildet hatten und bei der Anzahl der abnormal entwickelten Konidien konnte auf keinem der Testsysteme ein Unterschied zu den Negativkontrollen festgestellt werden. Auf dem Schmelze-Testsystem bildeten mehr Konidien ( $6 \pm 5$ ) einen appressorialen Keimschlauch aus als auf der Replik ( $1 \pm 2$ ). Ebenfalls auf dem Schmelze-Testsystem und auf dem C26CHO-Testsystem bildeten mehr Konidien ein Appressorium aus als auf jeweiligen Negativkontrolle. Auf dem Schmelze-Testsystem wurden  $3 \pm 3$  Konidien mit einem Appressorium gezählt, auf der Replik bildete kein Konidium ein Appressorium. Auf dem C26CHO-Testsystem bildeten  $6 \pm 3$  Konidien ein Appressorium, auf dem Glas nur  $2 \pm 3$ .





**Abbildung 4.12: Keimentwicklung der Mehltaukonidien mit toten Konidien auf den Testsystemen im Vergleich zu den Kontrollen;** a) Entwicklung auf dem Wachs-Testsystem, b) auf dem C28OH-Testsystem, c) auf dem Schmelze-Testsystem, d) auf dem C26CHO-Testsystem und e) auf dem C28CHO-Testsystem; Es wurden jeweils 100 Konidien ausgezählt (n = 10). # kennzeichnen signifikante Unterschiede zu der Negativkontrolle (p < 0,05, getestet durch einen Dunnett Test).

## 4.3 Diskussion

Die Überlebensfähigkeit einer Pilzspore ist begrenzt. Nachdem eine Pilzspore auf einer pflanzlichen Oberfläche gelandet ist, ist es für sie existentiell zu keimen und in die Pflanzenzelle einzudringen, um sich von ihr ernähren zu können (Juniper 1991). Die Kutikula stellt dabei einerseits eine wichtige Barriere dar, andererseits entwickelten viele Pilze auch eine Abhängigkeit gegenüber Signalen, die von der Oberfläche der Wirtspflanze ausgehen, die für die Einleitung des Infektionsprozesses ausschlaggebend sind (Carver und Gurr 2006). Die epikutikularen Wachse bilden die äußerste Grenzschicht der pflanzlichen Kutikula und stellen den ersten Berührungspunkt zwischen dem Pilz und der Pflanze dar (Carver et al. 1999). In diesem Kapitel wurde mithilfe der in Kapitel 2 entwickelten *in vitro* Testsysteme untersucht, welchen Einfluss die Chemie und die Struktur der Wachskristalle und die damit verbundene Benetzbarkeit der Oberfläche auf den Keimungsprozess von *B. graminis* hat. Außerdem wurde der Einfluss langkettiger Aldehyde, welche in früheren Studien eine keiminduzierende Wirkung gezeigt hatten (Hansjakob et al. 2010, Hansjakob et al. 2011, Kong und Chang 2018, Ringelmann et al. 2009, Simpson 2010, Tsuba et al. 2002, Wang et al. 2018), bei einer vergleichbaren Benetzbarkeit wie auf dem Blatt getestet.

### 4.3.1 Etablierung der Keimungsbedingungen

Umweltfaktoren wie die Temperatur und die Luftfeuchtigkeit können die Entwicklung des Mehltaus beeinflussen (Cherewick 1944, Ellingboe 1972). Vor dem Hintergrund der Benetzbarkeit und der damit verbundenen Wasserverfügbarkeit sollten zunächst die Keimungsbedingungen für die folgenden *in vitro* Experimente gefunden werden. In früheren Studien wurden Keimungsexperimente auf künstlichen Oberflächen in einer gesättigten Atmosphäre durchgeführt (Carver et al. 1999, Francis et al. 1996, Hansjakob et al. 2010, Hansjakob et al. 2011, Meguro et al. 2001, Wright et al. 2000, Zabka et al. 2008). Unter natürlichen Umständen keimt *B. graminis* auch bei niedrigeren rel. Luftfeuchtigkeiten ab ca. 60 % (Mehta 2014, Trigiano 2007). In den Vorversuchen sollte daher untersucht werden, wie sich verschiedene Luftfeuchtigkeiten und eine zusätzliche

Wasserzufuhr durch Benebeln auf das Keimverhalten von *B. graminis* auf künstlichen Oberflächen auswirkt.

Sowohl auf den natürlichen als auch auf den technischen Oberflächen keimten die Konidien auch bei niedrigen Luftfeuchten (Abbildung 4.3). Auf dem Weizenblättern keimten sogar mehr Konidien bei 75 % und 90 % als bei 100 % rel. LF. Auf den technischen Oberflächen keimten bei allen drei Luftfechtigkeiten gleich viele Konidien (Abbildung 4.3). Yarwood (1950) erkannte, dass *B. graminis* Konidien mehr Wasser enthalten als die Sporen anderer Pilze, was ihnen erlaubt auch bei niedrigen rel. Luftfechtigkeiten zu keimen. Selbst bei 0 % rel. LF konnten auf Glas *B. graminis* Konidien gut keimen (Cherewick 1944). In der vorliegenden Arbeit war auf den Weizenblättern auch keine hohe LF für die Differenzierung notwendig. Im Gegensatz dazu differenzierten auf den technischen Oberflächen bei der niedrigsten Luftfechtigkeiten fast keine Konidien. Bei 100 % rel. LF war die Differenzierungsrate wesentlich höher. Bei 90 % LF war der Unterschied zu 100 % rel. LF zwar nicht signifikant, jedoch differenzierten auch bei diesen Bedingungen auf dem Wachs-Testsystem nur halb so viele Konidien (Abbildung 4.3 und Abbildung 4.4).

In einer Studie von (Carver et al. 1996) differenzierten bei rel. Luftfechtigkeiten unter 100 % ebenfalls nur sehr wenige Konidien auf künstlichen Oberflächen. In einer gesättigten Atmosphäre konnten die Konidien, wie hier, häufiger Appressorien bilden. Auf Blättern könnte bei einer niedrigen LF Wasser über den primären Keimschlauch aus der Pflanzenzelle aufgenommen werden (Carver und Bushnell 1983), auf den technischen Oberflächen hingegen nicht. Daher vermuteten die Autoren, dass auf den künstlichen Oberflächen die Entwicklung aufgrund eines Wassermangels eingeschränkt ist (Carver et al. 1996).

Zu viel Wasser kann sich allerdings auch negativ auf die Entwicklung von *B. graminis* auswirken. In der Gegenwart von freiem Wasser können Konidien zerbersten oder von der Blattoberfläche heruntergewaschen werden (Manners und Hossain 1963, Merchán und Kranz 1986b, Sivapalan 1994, Stosch et al. 2007). Manche Autoren stellten in der Gegenwart von freiem Wasser zudem eine verminderte Keimung und abnormale Entwicklung der Konidien fest (Hossain und Manners 1964, Sivapalan 1994). Andere

wiederum konnten keine Beeinträchtigung der Keimung und Differenzierung feststellen (Merchán und Kranz 1986a).

Aufgrund der widersprüchlichen Ergebnisse sollte auch in der vorliegenden Studie die Rolle des freien Wassers auf das Keimverhalten untersucht werden. Eine frühere Studie hatte gezeigt, dass durch Benebelung weniger Konidien heruntergewaschen werden als durch eine künstliche Beregnung (Stosch et al. 2007). Daher wurden die natürlichen und technischen Oberflächen benebelt, um ein Herunterwaschen der Konidien möglichst zu verhindern.

Nach dem Benebeln kondensierten Wassertropfen auf allen Oberflächen. Auf den Weizenblättern und auf dem Wachs-Testsystem bildeten sich kugelige, dicht stehende Tropfen. Auf dem unbeschichteten Glas waren die Tropfen größer und unförmiger (Abbildung 4.2). Dieses Bild bestätigt die Ergebnisse der Bestimmung der Benetzungseigenschaften. Die Benetzbarkeit des Wachs-Testsystems und der Weizenblätter war gleich (Kapitel 2, Abbildung 3.23). Beispielsweise waren die Kontaktwinkel beider Oberflächen groß. Auf dem reinen Glas hingegen waren die Kontaktwinkel klein, sodass das Wasser spreitete und sich eher große flachere Tropfen bildeten.

Bei den Weizenblättern spielte es keine Rolle, ob die Proben mit oder ohne Benebeln inkubiert wurden: Unter beiden Bedingungen keimten und differenzierten gleich viele Konidien (Abbildung 4.3). Eine Ausnahme bildeten die Proben, die bei 90 % rel. LF inkubiert wurden. Hier war in der relativen Betrachtung die Differenzierungsrate auf den Proben mit Benebelung niedriger als auf den Proben, die ohne Benebelung inkubiert wurden. Jedoch waren auch auf diesen Proben, wie bei den anderen Proben, die meisten Konidien differenziert (Abbildung 4.4).

Auch auf den technischen Oberflächen zeigte die Benebelung keine Wirkung auf das Keimverhalten. Durch die Benebelung wurde die Differenzierung weder gesteigert noch gehemmt. Wie bei den Proben die nicht benebelt wurden, konnte bei 75 % und 90 % rel. LF mit Benebelung fast keine Differenzierung beobachtet werden (Abbildung 4.3 und Abbildung 4.4). Bei den Keimungsraten deutete sich ein negativer Effekt an, sie waren auf den benebelten Proben niedriger als auf den nicht benebelten Proben. Diese Unterschiede waren jedoch nicht signifikant (Abbildung 4.3).

Entgegen der Erwartungen spielte dabei die Benetzbarkeit der technischen Oberflächen anscheinend keine Rolle. Das Keimverhalten auf Glas und auf dem Wachs-Testsystem war ähnlich (Abbildung 4.3 und Abbildung 4.4). Die Differenzierungsraten waren jedoch auch ohne Benebelung bei den beiden Oberflächen bereits so niedrig, dass eine weitere Reduktion aufgrund der Oberflächennässe kaum möglich war. Hier wäre es interessant, wie sich die unterschiedlichen Benetzbarkeiten auf die Wasserretention der Oberflächen und die Verdunstungsdauer des Wassers auswirken. Dies ließ sich aus dem hier verwendeten Versuchsaufbau der Vorversuche nicht entnehmen und bedarf eigener Untersuchungen. Es ist sehr wahrscheinlich, dass sich die beiden technischen Oberflächen deutlich in diesen Größen unterscheiden. So hat eine frühere Studie einen negativen Zusammenhang zwischen der Benetzbarkeit und der Wasserretention auf pflanzlichen Oberflächen festgestellt (Xiong et al. 2018). Daher ist die Wasserretention auf dem Wachs-Testsystem vermutlich niedriger als auf dem Glas. Auch die Verdunstungsdauer wird durch die Tropfenform und somit durch die Benetzbarkeit bestimmt. Auf dem Feld können unterschiedliche Benetzbarkeiten zu bis zu 6 h Differenz in den Feuchtigkeitsdauern benachbarter Pflanzenarten führen (Huber und Gillespie 1992).

Zum Zeitpunkt der Probenuntersuchung (15 h nach Benebelung) war auf allen Proben das Wasser verdunstet. Bei einer Benebelung bei 100 % rel. LF konnten die Tropfen hingegen nicht verdunsten, sodass die Proben zum Zeitpunkt der Untersuchung noch feucht waren. Auf diesen Proben führte das zusätzliche Wasser zu Schäden in der Wachsschicht, sowie zu häufigem Bersten und einer vermehrten Akkumulation der Konidien (Daten nicht gezeigt). Diese Umstände machten die weitere Untersuchung des Keimverhaltens unmöglich.

Aufgrund der kaum vorhandenen Differenzierungsraten bei 75 und 90 % rel. LF und keines messbaren Effekts der Benebelung wurden diese Bedingungen als mögliche Inkubationsbedingungen für die folgenden Experimente verworfen. Die Proben wurden in den folgenden Experimenten, wie in früheren Studien, bei 100 % rel. LF inkubiert, da nur diese Bedingung die Untersuchung des Keimerfolgs auf den technischen Oberflächen erlaubte.

### 4.3.2 Untersuchung des Keimerfolgs

#### **Untersuchung des Keimerfolgs auf den Blättern der verschiedenen Weizensorten**

Zunächst wurde geprüft, ob sich die unterschiedlichen Anfälligkeiten der verschiedenen Sorten im Keimungsverhalten erkennen ließen. Es konnten keine Unterschiede festgestellt werden: Auf allen drei Sorten keimten und differenzierten gleich viele Konidien (Abbildung 4.5). Das ist in Übereinstimmung mit früheren Studien zur Untersuchung des Keimverhaltens mit kompatiblen und nicht kompatiblen Wirt-Pathogen-Systemen (Komáromi et al. 2016, Willems 2003, Yang und Ellingboe 1972). In der frühen Phase der Pathogenese vor der Penetration wurden dort ebenfalls keine Unterschiede festgestellt. Erst bei der Haustorienbildung waren Unterschiede ersichtlich: Auf kompatiblen Wirt-Pathogen-Systemen wurden mehr Haustorien gebildet als auf inkompatiblen (Willems 2003).

Die Ergebnisse geben keine Hinweise darauf, dass die Resistenzen der Weizensorten in einer verminderten Keimfähigkeit oder einer geringeren Differenzierung des Pilzes begründet sind. Vielmehr tragen verschiedene postinfektionelle Abwehrmechanismen zur Resistenzbildung bei (Eichmann und Hückelhoven 2008). Beispielsweise wird die Penetration des Mehltaus durch die Bildung der Papillen (Zellwandappositionen) abgewehrt (von Röpenack et al. 1998, Zeyen et al. 2002). Die Geschwindigkeit der Papillenbildung und die chemische Zusammensetzung der Papillen scheinen dabei eine entscheidende Rolle zu spielen (Aist und Bushnell 1991, Assaad et al. 2004, Willems 2003). Gegen den Erreger des Gerstenmehltaus produzieren anfällige Sorten nur ineffektive Papillen. Resistente Sorten bilden dagegen effiziente Papillen, die die Penetration des Pilzes verhindern können. Bei manchen resistenten Sorten wird bei einer Infektion außerdem die hypersensitive Reaktion (HR) eingeleitet, sodass die Zellen absterben (Hückelhoven et al. 1999). Da Mehltau aufgrund seiner biotrophen Lebensweise auf lebende Wirtszellen angewiesen ist, stellt die HR ebenfalls einen sehr effizienten Abwehrmechanismus dar (Poehling und Verreet 2013).

### **Untersuchung des Keimerfolgs auf den Testsystemen**

Der erste entscheidende Schritt der Pathogenese ist, dass der Pilz die Wirtspflanze erkennt, nur dann werden strukturelle und biochemische Mechanismen eingeleitet, die eine Infektion möglich machen (Poehling und Verreet 2013). Um zu prüfen welche Signale bei *B. graminis* der Wirtserkennung dienen, wurden Keimungsexperimente auf verschiedenen *in vitro* Testsystemen durchgeführt, welche verschiedene charakteristische Parameter der pflanzlichen Oberfläche widerspiegeln.

Das Keimverhalten auf den unterschiedlichen Testsystemen war ähnlich. Von dem auf dem Weizenblatt unterschied es sich jedoch deutlich. Auf den Blättern der Wirtspflanze waren die Keimungsraten hoch und die meisten Konidien bildeten ein Appressorium aus. Auf den Testsystemen waren die meisten Konidien nicht gekeimt. Die Konidien, die gekeimt waren entwickelten einen primären und sekundären Keimschlauch aber kaum appressoriale Keimschläuche oder Appressorien (Abbildung 4.8). Weder die Hydrophobizität, noch die Wachskemie, noch die Aldehyde schienen eine anregende Wirkung auf den Prepenetrationsprozess von *B. graminis* gehabt zu haben.

### ***Einfluss der Hydrophobizität auf die Keimentwicklung***

Das C28OH-Testsystem verfügte über die gleichen Benetzungseigenschaften wie das Weizenblatt (Kapitel 2, Abbildung 3.23). Dieses Testsystem wurde dazu verwendet, um den Einfluss der Hydrophobizität auf den Keimerfolg von *B. graminis* zu untersuchen.

Die Keimungs- und Differenzierungsraten waren auf dem C28OH-Testsystem nicht höher als die auf Glas, das eine abweichende Benetzbarkeit aufwies (Abbildung 4.9b). Entgegen der Erwartungen, schien sich die Hydrophobizität, daher nicht positiv auf das Keimungsverhalten auszuwirken.

Im Vergleich zur Benebelung war die zugeführte Wassermenge bei der Inkubation bei 100 % LF niedriger. Mit bloßem Auge war kein Unterschied im Benetzungsverhalten zwischen dem C28OH-Testsystem und dem Glas nach der Inkubation bei 100 % rel. LF erkennbar. Es ist jedoch anzunehmen, dass in einer gesättigten Atmosphäre mikroskopische Wassertropfen entstehen, deren Formen sich aufgrund der verschiedenen Benetzbarkeiten unterscheiden. Daher sind vermutlich auch bei dieser Inkubations-

bedingung die Wasserretention und die Verdunstungsdauern der beiden Oberflächen unterschiedlich.

Frühere Studien hatten durchaus Unterschiede im Keimverhalten auf unterschiedlich benetzbaren Oberflächen gezeigt. Auf hydrophilen Oberflächen wie Agarose oder Glas keimten weniger Konidien und es fand keine Appressorienbildung statt (Meguro et al. 2001, Wright et al. 2000, Yang und Ellingboe 1972, Zabka et al. 2008). Diese Oberflächen werden üblicherweise als nicht-induktive Oberflächen bezeichnet (Both und Spanu 2004). Auf weniger benetzbaren Oberflächen, wie silanisierendem Glas oder FEP Folien konnte, dagegen eine vermehrte Keimung und Appressorienbildung beobachtet werden (Meguro et al. 2001, Wright et al. 2000, Zabka et al. 2008). Auch bei anderen Pilzen, wie beispielsweise dem Erreger des Reisbrands (*Magnaporthe grisea*) und dem Erreger des Grauschimmels (*Botrytis cinerea*) konnte eine induktive Wirkung relativ hydrophober Oberflächen auf die Keimentwicklung gezeigt werden (Doehlemann et al. 2006, Lee und Dean 1994).

Die als hydrophobe Oberflächen herangezogenen Substrate waren deutlich weniger hydrophob als die natürliche Oberfläche (Carver et al. 1999, Meguro et al. 2001, Wright et al. 2000, Zabka et al. 2008). Wenn die Hydrophobizität der Blattoberfläche ein entscheidender Faktor für die Keimentwicklung ist, wären auf dem C28OH-Testsystem, das ebenso wenig benetzbar ist wie das Blatt, wesentlich mehr Konidien in einem fortgeschrittenen Entwicklungsstadium zu erwarten gewesen. Dies war nicht eingetreten. Daher geben die Ergebnisse dieser Arbeit einen Hinweis darauf, dass die Hydrophobizität der pflanzlichen Oberfläche allein keine induktive Wirkung auf die Keimentwicklung von *B. graminis* hat.

Eine hemmende Wirkung des eingesetzten Alkohols zur Strukturbildung ist unwahrscheinlich, da er die Hauptkomponente des Weizenwachses ist. Zudem hatte eine frühere Studie mit langkettigen Alkoholen keinen Effekt des C<sub>28</sub> Alkohols auf das Keimverhalten von *B. graminis* gezeigt (Hansjakob et al. 2010). Die Beschichtung mit dem Alkohol war homogen und dicht, es ist daher auch nicht anzunehmen, dass die Konidien mit dem darunter liegendem Glas, in Kontakt getreten sind.



### ***Einfluss der Wachskemie auf die Keimentwicklung***

Das Schmelze-Testsystem wurde herangezogen, um den Einfluss der Wachskemie auf den Keimerfolg zu prüfen. Die Ergebnisse gaben keinen Hinweis darauf, dass die Wachskemie ein entscheidender Signalgeber ist. Zwar waren die Keimungsraten auf dem Schmelze-Testsystem ca. 15 % höher als auf der reinen Replik, jedoch keimten auch auf dem Schmelze-Testsystem über die Hälfte der Konidien nicht. Die Anzahl der Konidien auf dem Schmelze-Testsystem und auf der Replik, die ein Appressorium gebildet hatten unterschieden sich nicht voneinander, auf beiden Oberflächen hatten weniger als drei Konidien ein Appressorium ausgebildet (Abbildung 4.9c).

Der Einfluss der Wachse auf die Keimentwicklung wird in der Literatur unterschiedlich bewertet. Wie die Ergebnisse der vorliegenden Studien sprechen die Ergebnisse einiger früherer Studien gegen einen Einfluss der Wachskemie. So war die Entwicklung der Konidien auf Blättern und Epidermisabzügen nach Entfernung der epikutikularen Wachse nicht beeinträchtigt (Carver et al. 1995b, Carver et al. 1999, Carver und Thomas 1990, Hibberd et al. 1996, Wright et al. 2000, Zabka et al. 2008). Das spricht jedoch nicht nur gegen den Einfluss der Wachskemie, sondern auch gegen den Einfluss der Wachstruktur und der Benetzbarkeit der pflanzlichen Oberfläche, welche durch das Entfernen der Wachse verändert wurde.

Andere Studien hingegen sahen einen Einfluss der spezifischen Wachszusammensetzung auf die Keimentwicklung von *B. graminis*. Die Autoren vermuteten jedoch keine anregende, sondern eine hemmende Wirkung spezieller Wachssubstanzen und -strukturen (Carver et al. 1990). Die Ergebnisse anderer Studien legten Gegenteiliges nahe: Die Keimung und Appressorienentwicklung von *Colletotrichum gloeosporioides*, dem Erreger von Anthracnose tropischer Früchte, wurde nur durch das Wachs der Wirtspflanze angeregt, nicht jedoch von Wachsen von Nicht-Wirtspflanzen (Podila et al. 1993). Auch bei *B. graminis* konnte die spezifische Wirkung der Wachse der Wirtspflanzen auf die Keimentwicklung gezeigt werden (Tsuba et al. 2002). Studien mit Wachsmutanten und verschiedenen natürlichen Oberflächen mit und ohne Wachse deuteten auch auf eine entscheidende Rolle der Wachskemie in der Wirtserkennung hin. Auf den Blättern der Wildtyppflanzen und der natürlichen Oberflächen mit Wachsen war die Appressorienbildung höher als auf den Blättern der Pflanzen mit einer veränderten

Wachskemie, und auf den natürlichen Oberflächen ohne Wachse (Rubiales et al. 2001, Yang und Ellingboe 1972). Auch hier war jedoch nicht nur die Wachskemie, sondern vermutlich auch die Benetzung der Blätter verändert. In früheren Studien konnte im Gegensatz zur vorliegenden Studie auch auf künstlichen Substraten eine Induktion der Keimung und die Differenzierung durch die Wachskemie alleine festgestellt werden (Feng et al. 2009, Simpson 2010, Tsuba et al. 2002, Yang und Ellingboe 1972). Die Entwicklung der Konidien war auf den mit Wachsen versetzten Oberflächen weiter fortgeschritten als auf Glas. Sie blieb dennoch hinter der Entwicklung der Konidien auf den Blättern der Wirtspflanze zurück. Andere Faktoren der Blätter, die durch die Wachsextrakte nicht repräsentiert wurden, scheinen daher für die vollständige Entwicklung des Pilzes verantwortlich zu sein.

### ***Einfluss langkettiger Aldehyde auf die Keimentwicklung***

Insbesondere die positive Wirkung langkettiger Aldehyde konnte auf das Keimungsverhalten gezeigt werden (Hansjakob et al. 2010, Hansjakob et al. 2011, Kong und Chang 2018, Ringelmann et al. 2009, Tsuba et al. 2002, Wang et al. 2018, Weidenbach et al. 2014). Besonders der C<sub>26</sub> Aldehyd regte die Differenzierung der Konidien an.

Die Bedeutung des C<sub>26</sub> Aldehyds und der Benetzbarkeit wurde beispielsweise bei dem Weidelgras (*Lolium perenne*) deutlich. Die Blattunterseiten des Weidelgrases, deren Wachs den C<sub>26</sub> Aldehyd nicht enthält, werden nicht durch Mehltau befallen. Zudem sind die abaxialen Blattseiten besser benetzbar als die adaxialen (Carver et al. 1990, Ringelmann et al. 2009). Durch Keimungsexperimente auf technischen Oberflächen, welche mit dem C<sub>26</sub> Aldehyd beschichtet wurden, konnte ebenfalls die anregende Wirkung dieser Wachskomponente gezeigt werden (Simpson 2010, Tsuba et al. 2002, Zabka et al. 2008).

Zabka et al. (2008) stellten in *in vitro* Versuchen auf verschiedenen, mit dem C<sub>26</sub> Aldehyd beschichteten, Oberflächen fest, dass die Entwicklung des Pilzes auf den Oberflächen mit niedrigerer Benetzung stärker angeregt wurde als auf den Oberflächen mit höheren Benetzbarkeiten. Die Autoren vermuteten, dass Oberflächen mit höheren Kontaktwinkeln die Differenzierung noch stärker anregen würden. In späteren *in vitro* Experimenten mit einem weiterentwickelten *in vitro* Testsystem wurde die Wirkung verschiedener sehr

langkettiger Aldehyde in Verbindung mit höheren Kontaktwinkeln untersucht. Die stärkste Aktivierung des Prepenetrationsprozesses wurde hier bei dem C<sub>26</sub> Aldehyd festgestellt, der C<sub>28</sub> Aldehyd hatte eine geringere anregende Wirkung (Hansjakob et al. 2010). Die Differenzierungsraten auf dem mit dem C<sub>26</sub> Aldehyd versetzten Testsystem lagen über denen in der Studie von Zabka et al. (2008). Die differenzierten Konidien verblieben aber zum Großteil in dem Stadium des appressorialen Keimschlauchs.

Die erreichten Benetzbarkeiten der verwendeten Testsysteme lagen noch unter der Benetzbarkeit der natürlichen Blattoberfläche. Mithilfe der in der vorliegenden Studie entwickelten C<sub>26</sub>CHO- und des C<sub>28</sub>CHO-Testsysteme konnte die Signalwirkung des C<sub>26</sub> und des C<sub>28</sub> Aldehyds auf den Prepenetrationsprozess erstmalig in Kombination mit einer ebenso niedrigen Benetzbarkeit wie auf dem Blatt untersucht werden. Die Ergebnisse der Keimungsexperimente konnten die anregende Wirkung der Aldehyde nicht bestätigen. Die geringere Benetzbarkeit zeigte keinen positiven Effekt auf die Keimentwicklung. Die Keimungsraten waren gleich groß (C<sub>28</sub>CHO-Testsystem) oder sogar geringer als auf Glas (C<sub>26</sub>CHO-Testsystem). Die Appressorienbildung wurde durch die Aldehyde und die geringe Benetzbarkeit nicht gesteigert. Wie auf Glas entwickelten auf den Aldehyd-Testsystemen nur wenige Konidien ein Appressorium (Abbildung 4.9d, e).

In der vorliegenden Studie wurde die Signalwirkung an *B. graminis* f. sp. *trititici* (Bgt) untersucht. In vielen der früheren Studien wurde *B. graminis* f. sp. *hordei* (Bgh) untersucht. Die Wachschemie von Gerste und Weizen unterscheidet sich in der Verteilung der Kettenlängen um zwei Kohlenstoffatome (Kapitel 1, 2.2.5; Hansjakob et al. 2010). Dennoch keimen und differenzieren die beiden f. sp. auch auf der jeweiligen Nicht-Wirtspflanze (Hansjakob et al. 2010, Simpson 2010, Yang und Ellingboe 1972).

Der Hauptaldehyd des Weizenwachses ist der C<sub>28</sub> Aldehyd, bei Gerste ist es der C<sub>26</sub> Aldehyd (siehe Kapitel 1, 2.2.5; Hansjakob et al. 2010, Koch et al. 2006a, Tsuba et al. 2002). In der Studie von Hansjakob et al. (2010) wurde zwar Bgt durch den C<sub>28</sub> Aldehyd etwas stärker angeregt als Bgh, dennoch wurde auch bei Bgt die Keimentwicklung am stärksten durch den C<sub>26</sub> Aldehyd angeregt. Die verschiedenen f. sp. scheinen also nicht an ein spezielles Aldehydspektrum angepasst zu sein. Für eine Koevolution zwischen den verschiedenen f. sp. und deren Wirtspflanzen gibt es keine eindeutigen Beweise (Inuma et al. 2007, Wyand und Brown 2003). Weidenbach et al. (2014) beobachtete bei Keimungs-

experimenten an Gerste, dass die Entwicklung verschiedener f. sp. auf Blättern der Wachsmutanten, deren Wachs weniger langkettige Fettsäurederivate enthielt, eingeschränkt war. Die Autoren vermuteten daher, dass spezifische Wachskomponenten, wie 1-Hexacosanal, eine generelle Bedingung für eine normale Keimung der Mehltaukonidien sind.

Sowohl bei bgh als auch bei bgt konnte auch *in vivo* der positive Effekt des C<sub>26</sub> Aldehyds auf die Keimung des Pilzes gezeigt werden. Durch das Besprühen mit aldehydhaltigen Lösungen keimten die Konidien in ähnlichem Maße wie auf den Blättern der Wildtyppflanzen (Hansjakob et al. 2011, Kong und Chang 2018, Wang et al. 2018). Bei bgh konnte so auch ein positiver Effekt auf die Differenzierungsraten des Aldehyds gezeigt werden (Hansjakob et al. 2011). Auch bei der Acker-Schmalwand (*Arabidopsis thaliana*) konnte ein Defizit in der Entwicklung des Mehltaus (*Erysiphe cruciferarum*) auf Blättern der Wachsmutanten mit weniger langkettigen Aldehyden durch die chemische Komplementation mit dem C<sub>26</sub> Aldehyd wieder ausgeglichen werden (Weis et al. 2014).

In der vorliegenden Arbeit konnte jedoch kein positiver Einfluss der Aldehyde auf das Keimverhalten von Bgt beobachtet werden (Abbildung 4.9d, e). Vorausgesetzt Aldehyde haben eine induzierende Wirkung würde dies entweder bedeuten, dass die Keimentwicklung in der vorliegenden Studie durch einen anderen Faktor gehemmt wurde, oder dass, der Stoff für die Konidien nicht zugänglich war. Die Hydrophobizität der hier verwendeten Testsysteme war wesentlich höher als die der in der Vergangenheit verwendeten Testsysteme und die der mit Aldehyden besprühten Blätter verschiedener Wachsmutanten. Eine inhibitorische Wirkung der hohen Hydrophobizität ist höchst unwahrscheinlich, da sie der Benetzbarkeit der natürlichen Blattoberfläche entspricht.

Durch das Besprühen der Blätter mit purem Chloroform wurden die Wachsstrukturen und die Benetzbarkeit der Blätter verändert (Hansjakob et al. 2011). Die Keimentwicklung wurde durch diese Behandlung in den verschiedenen *in vivo* Studien nicht beeinflusst (Hansjakob et al. 2011, Kong und Chang 2018, Wang et al. 2018, Weis et al. 2014). Dies könnte darauf hinweisen, dass die Wachsstrukturen und die Benetzbarkeit keine entscheidenden Signale für die Keimentwicklung sind. Es ist aber auch nicht ausgeschlossen, dass durch das Besprühen der pflanzlichen Oberflächen mit organischen

Lösungsmitteln auch andere potentiell anregende Stoffe, wie Kutinmonomere oder Zellwandbestandteile freigesetzt wurden.

Die Lokalisation der Aldehyde ist weder auf der natürlichen noch auf der technischen Oberfläche bekannt. Aldehyde machen im Vergleich zu dem Alkohol nur einen Bruchteil des Weizenwachses aus (siehe Kapitel 1, 2.2.5). Um ihre Signalwirkung zu entfalten, müssten Aldehyde auf der Blattoberfläche so exponiert sein, dass der Pilz mit ihnen direkt zu Beginn des Keimungsprozesses in Kontakt kommt. Carver et al. (1999) hatte gezeigt, dass die einzigen Berührungspunkte einer Konidie die hervorstehenden Kanten der epikutikularen Wachsschüppchen sind. Folglich müssten Aldehyde Bestandteile der Wachsschüppchen sein. Die Schüppchenstruktur konnte durch die Verdampfung des C<sub>28</sub> Alkohols nachgeahmt werden. Möglicherweise sind die Aldehyde auf dem Testsystem anders lokalisiert oder von den Alkoholen maskiert, sodass die Pilze das Signal nicht wahrnehmen konnte.

#### ***Einfluss der Hydrophobizität und der Wachschemie auf die Keimentwicklung***

Selbst bei den *in vitro* Studien, die eine anregende Wirkung verschiedener Oberflächen gezeigt hatten, blieben die Appressorienbildungsraten hinter denen auf der pflanzlichen Oberfläche zurück. Das unterstützt die These, dass Pilze eine Kombination an Signalen wahrnehmen müssen, um sich voll entwickeln zu können (Reisige et al. 2006). In der Vergangenheit existierte kein Testsystem, das sowohl die chemischen als auch die Benetzungseigenschaften der Blattoberfläche gänzlich repräsentierte. Das Wachs-Testsystem erlaubte erstmalig den Einfluss der Wachschemie und der Hydrophobizität in Kombination auf die Keimentwicklung von *B. graminis in vitro* zu untersuchen. Das Testsystem war mit dem Wachsgemisch des Weizenblattes beschichtet und war wie das natürliche Vorbild kaum benetzbar (Abbildung 3.23). Auch die aufgebrachte Wachsmenge entsprach der der natürlichen Blattoberfläche (3.2.3, Seite 123). Dennoch wurden auch auf diesem Testsystem die Keimung und die Appressorienbildung nicht angeregt (Abbildung 4.9a). Anscheinend bot das Testsystem nicht alle notwendigen Signale für die Keimentwicklung.

Vorausgesetzt, dass die Hydrophobizität und die Wachschemie entscheidende Faktoren für die Keimentwicklung von *B. graminis* sind, wären auf dem hier verwendeten Wachs-

Testsystem eine deutlich höhere Anzahl gekeimter und differenzierter Konidien zu erwarten gewesen. Die Ergebnisse dieser Arbeit deuteten jedoch darauf hin, dass die Hydrophobizität und die Wachskemie alleine keine entscheidenden Faktoren für das Fortschreiten der Entwicklung von *B. graminis* sind. Da auch die Kombination der beiden Parameter keinen Effekt auf das Keimverhalten gezeigt hatte, wirft das erneut die Frage auf, was das entscheidende Signal oder die entscheidenden Signale für den Pilz sind.

Interessanterweise war die Anzahl der abnormal entwickelten Konidien auf allen Oberflächen inklusive der natürlichen Blattoberfläche ähnlich. Obwohl der primäre Keimschlauch auf den künstlichen Oberflächen scheinbar keine induktive Oberfläche wahrgenommen hatte, hatten sich trotzdem nicht mehr kurze, subsidiäre Keimschläuche gebildet als auf den Weizenblättern, die eine induktive Oberfläche darstellten.

#### ***Keimentwicklung auf den Testsystemen unter Berücksichtigung der Mortalität***

Neben den unterschiedlichen Beschichtungsmethoden, aufgetragenen Wachsmengen, und Benetzbarkeiten der Oberflächen ist der Vergleich einzelner Ergebnisse der verschiedenen Studien zum Teil schwierig, da oft unterschiedliche Methoden zur Erfassung der Entwicklungsstadien angewandt wurden. Obwohl die Entwicklungsstadien klar voneinander abgrenzbar sind, existiert keine standardisierte Auszählmethode. Der Umgang mit nicht gekeimten, abnormal entwickelten und nicht mehr lebenden Konidien ist unterschiedlich.

Bei der hier angewandten Auszählmethode wurden geplatze Konidien nicht ausgeschlossen, sondern das Entwicklungsstadium in dem sie vorlagen erfasst. Um dennoch die Sterblichkeit der Konidien auf den verschiedenen Testsystemen zu erfassen, wurde eine zweite Auszählmethode angewandt.

Beide Auszählmethoden zeigten eine ähnliche Verteilung der Entwicklungsstadien. So waren auch hier die meisten Konidien nicht gekeimt. Die Anzahl der Konidien, die einen zweiten Keimschlauch entwickelten oder eine abnormale Entwicklung zeigten, waren, wie auch bei der ersten Auszählung, gleich. Ebenso wurden hier nur sehr wenige Konidien, die einen appressorialen Keimschlauch oder ein Appressorium gebildet hatten, gezählt (Abbildung 4.11).

Auf dem C28OH-Testsystem starben nur sehr wenige Konidien. Auf dem Schmelze-Testsystem starben hingegen fast ein Drittel der Konidien. Der direkte Vergleich der Anzahl der toten Konidien auf den Testsystemen mit der auf den Negativkontrollen zeigte, dass auf dem Wachs- dem C28OH- und auf dem C26CHO-Testsystem weniger Konidien starben als auf Glas (Abbildung 4.12a, b, d). Alle drei Testsysteme verfügten über dreidimensionale Wachsstrukturen und waren weniger benetzbar als Glas. Durch die hohe Hydrophobizität war vermutlich weniger freies Wasser auf den Oberflächen vorhanden, welches das Bersten der Konidien verursachen kann (Manners und Hossain 1963, Merchán und Kranz 1986b, Sivapalan 1994). Die durch die Nanostrukturen verliehene Hydrophobizität der Oberflächen scheint daher zum Überleben der Konidien beizutragen.

Bei dem Schmelze-Testsystem und auf dem C26CHO-Testsystem konnte eine höhere Appressorienbildung beobachtet werden als auf den jeweiligen Negativkontrollen (Abbildung 4.12c, d). Dies könnte im Gegensatz zur ersten Auszählmethode ein Hinweis darauf sein, dass die Wachschemie und der C<sub>26</sub> Aldehyd doch eine Rolle in der Keimentwicklung spielen. Jedoch waren die Zahlen auch hier sehr niedrig, sodass es fraglich ist, ob von einer anregenden Wirkung auf die Differenzierung gesprochen werden kann. Dagegen spricht, dass auf dem Wachs-Testsystem, das ebenfalls über die chemischen Signale verfügt, keine vermehrte Anzahl an Appressorien festgestellt wurde.

Zusammenfassend betrachtet hat sich die Entwicklung des Pilzes auf den verschiedenen Testsystemen entgegen der Erwartungen kaum von der auf den Negativkontrollen unterschieden. Trotz der chemischen Signale und der gleichen Benetzbarkeit wie auf dem Blatt konnte auf den Testsystemen keine wesentliche Förderung der Entwicklung beobachtet werden.

Auf der pflanzlichen Oberfläche scheinen andere Signale die durch die Testsysteme nicht repräsentiert wurden, den Prepenetrationsprozess des Pilzes einzuleiten. Die Morphologie der dreidimensionalen Wachsstrukturen auf den Testsystemen entsprach nicht eins zu eins der Wachsmorphologie der natürlichen Oberfläche. Auch wurden neben den Wachsen keine weiteren chemischen Signale der pflanzlichen Oberfläche, wie Kutinmonomere oder Zellwandbestandteile, denen ebenfalls eine Rolle in der Keimentwicklung zugeschrieben wird, angeboten (Francis et al. 1996, Kinane et al. 2000,

Kobayashi et al. 1991, Nicholson et al. 1993, Simpson 2010). Auf natürlichen Oberflächen wie Epidermisabzügen oder isolierten Kutikeln konnten im Gegensatz zu verschiedenen technischen Oberflächen hohe Differenzierungsraten beobachtet werden (Wright et al. 2000, Yang und Ellingboe 1972). Auch bei dem Besprühen der Blätter verschiedener Wachsmutanten mit wachshaltigen Lösungen sind weitere zusätzliche Signale der lebenden Pflanze präsent, die zur vollen Entwicklung der Pilze beitragen könnten. Simpson (2010) vermutete beispielsweise, dass durch die Kutikula transportierte primäre oder sekundäre Pflanzenmetabolite weitere Signale für die Keimentwicklung liefern könnten. Zu der Komplexität der chemischen und physikalischen Signale kommen die verschiedenen Entwicklungsstadien des Pilzes hinzu, welche zeitlich und räumlich auf unterschiedliche Signale reagieren oder angewiesen sein können. Mithilfe der hier entwickelten *in vitro* Testsysteme konnte weder die Wachschemie, noch die Hydrophobizität, noch die Kombination dieser Faktoren als notwendige Signale für die Keimentwicklung von *B. graminis* identifiziert werden. Es bleibt offen, anhand welcher Signale *B. graminis* seine Wirtspflanze erkennt, sodass der Prepenetrationsprozess eingeleitet wird.



## 5 Schlussfolgerungen

Es wurde geprüft, ob die Oberflächeneigenschaften von Weizenblättern der Sorten Ponticus (geringe Anfälligkeit), Porthus (mittlere Anfälligkeit) und Akteur (starke Anfälligkeit) Unterschiede aufweisen, welche die Keimentwicklung von *B. graminis* beeinflussen könnten. Die Infektion mit Mehltau beginnt in einem Milieu von epikutikularen Wachsen. Dennoch ist dies, soweit bekannt, die erste Studie, die die Wachsmorphologie, die Wachschemie und die Benetzbarkeit unterschiedlich anfälliger Sorten gegenüber Mehltau untersucht, um basierend auf diesen Eigenschaften ein *in vitro* Testsystem zu entwickeln. Es wurden keine sortenspezifischen Unterschiede der Oberflächeneigenschaften festgestellt: Auf den Blattoberflächen der drei Sorten waren ausschließlich Wachsschüppchen,  $\beta$ -Diketon Röhren waren nicht vorhanden. Die Analyse der Wachszusammensetzung zeigte keine gravierenden Unterschiede zwischen den drei Sorten. Bei allen drei Sorten dominierte der  $C_{28}$  Alkohol das Weizenwachs. Die einzelnen Benetzungsparameter der drei Sorten unterschieden sich nur zum Teil. Ein klarer Zusammenhang zwischen dem Benetzungsverhalten und der Anfälligkeit der Sorte ließ sich nicht erkennen. Von den Oberflächen der unterschiedlich anfälligen Sorten sollten demnach die gleichen Signale ausgehen, sodass eine Mehltaukonidie in der frühen Phase der Pathogenese vermutlich nicht zwischen den einzelnen Sorten unterscheiden kann. Dementsprechend hatten auch die Keimungsexperimente auf den drei Weizensorten keine Unterschiede in dem Prepenetrationsprozess von *B. graminis* gezeigt. Es machte innerhalb der jeweiligen Sorte keinen Unterschied, ob Blatt 2, 3 oder 4 betrachtet wurde: Die Blätter trugen die gleichen Wachsstrukturen, die Wachszusammensetzung war gleich und auch die Benetzbarkeit der drei Blätter unterschied sich kaum. Ontogenetische Effekte, die zu einer Veränderung der Oberflächeneigenschaften führen können, waren nicht erkennbar. Folglich wurde das Wachs aller drei Blätter für die Rekrystallisation extrahiert. Auch die Blattseiten zeigten keine Unterschiede in ihrer Wachsmorphologie oder in ihren Benetzungseigenschaften. Dementsprechend konnte die Blattseite bei der Entwicklung des *in vitro* Testsystems ebenfalls vernachlässigt werden.

Auch die Kulturbedingungen beeinflussten die Oberflächeneigenschaften nur geringfügig. Weder biotische noch abiotische Faktoren schienen die Wachskemie und die damit verbundene Wachsmorphologie zu beeinflussen. Die ökologische Variabilität war somit gering. Durch die Kultivierung im Freiland wurde die Wachsschicht der Blätter jedoch z.T. beschädigt. Dies spiegelte sich vor allem in den Messungen der Benetzbarkeit der Blätter wider. Neben der Heterogenität der biologischen Oberfläche führten die Schadstellen im Wachs zu hohen Standardabweichungen. Für eine Studie, die sich ausschließlich mit den Benetzungseigenschaften von Weizen beschäftigt, wäre daher die Untersuchung an Gewächshauspflanzen empfehlenswert. Die Benetzbarkeit wurde hier jedoch vor dem Hintergrund der Infektion mit Pilzen untersucht. Daher wurde die Untersuchung auf Blättern von Freilandpflanzen durchgeführt, um ein möglichst wirklichkeitstreues Bild der Benetzbarkeit der Weizenblätter gewinnen zu können.

Im Gegensatz zu früheren Studien wurden neben den Kontaktwinkeln auch die Abrollwinkel und die Kontaktwinkelhysteresen bestimmt, um die Benetzbarkeit vollständig beschreiben zu können. Die Weizenblätter waren hydrophob bis superhydrophob. Eine Fähigkeit zur Selbstreinigung konnte nicht nachgewiesen werden, da die Werte der Hysteresen und Abrollwinkel im Durchschnitt zu hoch waren, um der Definition selbstreinigender Oberflächen zu entsprechen. Dies lag zum Teil auch an der großen Spannbreite der Hysteresen und der Abrollwinkel. Die Korrelation der Benetzungsparameter ergab keinen Zusammenhang der einzelnen Größen, sodass sich aus den gewonnenen Daten keiner der drei Werte von einem der anderen ableiten ließ. Die Analyse der Benetzungsparameter hat gezeigt, dass die Werte, in Abhängigkeit der Messrichtung stark variieren können. Bei Pflanzen mit anisotroper Benetzung sollte daher die Richtungsabhängigkeit der Messungen beachtet und bedacht werden, welche Kipprichtung der natürlichen Abrollrichtung der Wassertropfen auf dem Blatt am ehesten entspricht.

Für die Keimungsexperimente war die Entwicklung mehrerer Testsysteme erforderlich, welche die Oberflächeneigenschaften der Weizenblätter ganz oder zum Teil nachbildeten. Alle angestrebten Testsysteme konnten erfolgreich entwickelt werden. Das Verfahren der thermischen Verdampfung ermöglichte eine homogene Beschichtung der technischen Oberflächen, je nach Rekristallisationsbedingung mit oder ohne dreidimensionale

Strukturen. Die Oberflächeneigenschaften der Weizenblätter konnten so erfolgreich auf eine technische Oberfläche übertragen werden. Durch die Beschichtung mit dem Wachsextrakt und der Bildung dreidimensionaler Strukturen stand somit erstmals ein Testsystem zur Verfügung, das sowohl die chemischen Signale der Wachse als auch die Benetzbarkeit der pflanzlichen Oberfläche repräsentierte. Eine solche Oberfläche ist nicht nur für Keimungsexperimente besonders interessant, sondern kann auch für weitere Experimente zur Untersuchung von Grenzflächenphänomenen der Pflanze herangezogen werden.

Durch die Modifikation der Rekristallisationsparameter konnten auch Testsysteme realisiert werden, die nur ausgewählte Eigenschaften der Blattoberfläche repräsentierten, sodass deren Einfluss auf die Keimentwicklung von *B. graminis* auch separat untersucht werden konnte.

Mit dem C28OH-Testsystem wurde eine technische Oberfläche geschaffen, die die gleichen Benetzungseigenschaften, aber nicht die gleiche Oberflächenchemie wie das Weizenblatt aufwies. Die Rekristallisationsstudien mit dem Reinstoff konnten bestätigen, dass 1-Octacosanol die strukturgebende Komponente des Weizenwachses ist. Allein durch die Rekristallisation des Reinstoffs wurden Schüppchen gebildet.

Die Zugabe der Aldehyde beeinflusste die gebildeten Strukturen nicht. So bot das C26CHO- und das C28CHO-Testsystem erstmalig die Möglichkeit die Signalwirkung der Aldehyde unter Berücksichtigung der Benetzbarkeit *in vitro* zu untersuchen.

Durch die Rekristallisation aus der Schmelze konnte ein Testsystem geschaffen werden, das die Wachschemie, aber nicht die hohe Benetzbarkeit der Weizenblätter, abbildete. Ohne die dreidimensionalen Strukturen lag die Benetzbarkeit deutlich über der der Weizenblätter. Zusammen mit den wasserabweisenden Eigenschaften des C28OH-Testsystems verdeutlicht dies, dass nicht allein die Wachschemie für die Hydrophobizität der Blattoberfläche verantwortlich ist, sondern die Nanostrukturen entscheidend sind.

Während der Entwicklung der Testsysteme wurde zudem festgestellt, dass auch bei geringer aufgedampfter Masse die Benetzbarkeit noch zu hoch war. Die Bedampfung mit einer großen Menge resultierte dagegen in zu dicken, instabilen Schichten. Daher waren die mittleren Massen zur Herstellung der Testsysteme am besten geeignet.

Mit den hier entwickelten Testsystemen standen verschiedene Oberflächen zur Verfügung, um den Prepenetrationsprozess von *B. graminis* in Abhängigkeit der verschiedenen Parameter *in vitro* untersuchen zu können.

Durch die Keimungsexperimente auf den Testsystemen konnten keine entscheidenden Signale für die Entwicklung von *B. graminis* identifiziert werden. Auf den künstlichen Oberflächen wurde der Prepenetrationsprozess weder durch die Hydrophobizität noch durch die Wachskemie angeregt. Auch die Kombination der Wachskemie oder der Aldehyde mit einer niedrigen Benetzbarkeit führte nicht zu einer Anregung der Keimung oder der Differenzierung.

Die Frage, welche Eigenschaften der pflanzlichen Oberflächen die entscheidenden Signale für *B. graminis* sind, bleibt daher ein spannender Forschungsbereich. Vermutlich trägt auf der Pflanze eine Summe verschiedener Signale zur vollen Keimentwicklung bei. Durch das Verfahren der thermischen Verdampfung steht ein variables Werkzeug zur Verfügung, um den Einfluss verschiedener Faktoren auf den Keimerfolg untersuchen zu können. Beispielsweise können durch die Abformung der Epidermisoberflächen und anschließender Bedampfung die Topographie der Blattoberfläche in die Untersuchung einbezogen werden oder isolierte Kutikeln als Substrat genutzt werden. Des Weiteren kann auch der Keimerfolg anderer phytopathogener Pilze mithilfe der Testsysteme untersucht werden.

## 6 Literaturverzeichnis

- ADAMSKI, N. M., BUSH, M. S., SIMMONDS, J., TURNER, A. S., MUGFORD, S. G., JONES, A., FINDLAY, K., PEDENTCHOUK, N., VON WETTSTEIN-KNOWLES, P. UND UAUY, C. (2013). "The Inhibitor of wax 1 locus (*lw1*) prevents formation of  $\beta$ - And OH- $\beta$ -diketones in wheat cuticular waxes and maps to a sub-cM interval on chromosome arm 2BS." *Plant Journal* 74(6): 989-1002.
- AIST, J. R. UND BUSHNELL, W. R. (1991). *Invasion of plants by powdery mildew fungi, and cellular mechanisms of resistance. The fungal spore and disease initiation in plants and animals.* Cole, G. T. und Hoch, H. C. New York (USA), Plenum Press. 1: 321-345.
- ALAM, M. A., XUE, F., WANG, C. UND Ji, W. (2011). "Powdery mildew resistance genes in wheat: identification and genetic analysis." *Journal of Molecular Biology Research* 1(1): 20-39.
- ALMIHANNA, A. UND LÖSEL, D. (1995). *Effects of powdery mildew on the leaf surface waxes of wheat. Plant Lipid Metabolism.* Kader, J.-C. und Mazliak, P. New York, Springer Science & Business Media 1: 414-416.
- ARYAL, B. UND NEUNER, G. (2010). "Leaf wettability decreases along an extreme altitudinal gradient." *Oecologia* 162(1): 1-9.
- ASSAAD, F. F., QIU, J.-L., YOUNGS, H., EHRHARDT, D., ZIMMERLI, L., KALDE, M., WANNER, G., PECK, S. C., EDWARDS, H., RAMONELL, K., SOMERVILLE, C. R. UND THORDAL-CHRISTENSEN, H. (2004). "The PEN1 syntaxin defines a novel cellular compartment upon fungal attack and is required for the timely assembly of papillae." *Molecular Biology of the Cell* 15(11): 5118-5129.
- AZAD, M., BARTHLOTT, W. UND KOCH, K. (2015). "Hierarchical surface architecture of plants as an inspiration for biomimetic fog collectors." *Langmuir* 31(48): 13172-13179.
- BAKER, E. (1974). "The influence of environment on leaf wax development in *Brassica oleracea* var. *gemmifera*." *New Phytologist* 73(5): 955-966.
- BAKER, E. UND HUNT, G. M. (1981). "Developmental changes in leaf epicuticular waxes in relation to foliar penetration." *New Phytologist* 88(4): 731-747.
- BAKER, E. UND HUNT, G. M. (1986). "Erosion of waxes from leaf surfaces by simulated rain." *New Phytologist* 102(1): 161-173.
- BARGEL, H., BARTHLOTT, W., KOCH, K., SCHREIBER, L. UND NEINHUIS, C. (2004). *Plant cuticles: multifunctional interfaces between plant and environment. Evolution of plant physiology.* Hemsley, A. R. und Poole, I. London, Elsevier's Academic Press 1: 171-194.
- BARNES, J. D., PERCY, K. E., PAUL, N. D., JONES, P., MCLAUGHLIN, C. K., MULLINEAUX, P. M., CREISSEN, G. UND WELLBURN, A. R. (1996). "The influence of UV-B radiation on the physicochemical nature of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) leaf surfaces." *Journal of Experimental Botany* 47(1): 99-109.
- BARTHLOTT, W. UND EHLER, N. (1977). *Raster-Elektronenmikroskopie der Epidermis-Oberflächen von Spermatophyten.* Mainz, Akademie der Wissenschaften u. d. Literatur; Wiesbaden: Franz Steiner Verlag GmbH.
- BARTHLOTT, W. UND NEINHUIS, C. (1997). "Purity of the sacred lotus, or escape from contamination in biological surfaces." *Planta* 202: 1-8.
- BARTHLOTT, W., NEINHUIS, C., CUTLER, D., DITSCH, F., MEUSEL, I., THEISEN, I. UND WILHELMI, H. (1998). "Classification and terminology of plant epicuticular waxes." *Botanical Journal of the Linnean Society* 126(3): 237-260.

- BARTHOLOTT, W., MAIL, M. UND NEINHUIS, C. (2016). "Superhydrophobic hierarchically structured surfaces in biology: evolution, structural principles and biomimetic applications." *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences* 374(2073): 1-41.
- BARTHOLOTT, W., MAIL, M., BHUSHAN, B. UND KOCH, K. (2017). "Plant surfaces: structures and functions for biomimetic innovations." *Nano-Micro Letters* 9(2): 1-40.
- BAUM, B. R., TULLOCH, A. P. UND BAILEY, L. G. (1989). "Epicuticular waxes of the genus *Hordeum*: a survey of their chemical composition and ultrastructure." *Canadian Journal of Botany* 67(11): 3219-3226.
- BHUSHAN, B. UND JUNG, Y. C. (2008). "Wetting, adhesion and friction of superhydrophobic and hydrophilic leaves and fabricated micro/nanopatterned surfaces." *Journal of Physics: Condensed Matter* 20(22): 1-24.
- BHUSHAN, B., KOCH, K. UND JUNG, Y. C. (2008a). "Nanostructures for superhydrophobicity and low adhesion." *Soft Matter* 4(9): 1799-1804.
- BHUSHAN, B., KOCH, K. UND JUNG, Y. C. (2008b). "Biomimetic hierarchical structure for self-cleaning." *Applied Physics Letters* 93(9): 1-3.
- BHUSHAN, B., JUNG, Y. C. UND KOCH, K. (2009a). "Micro-, nano- and hierarchical structures for superhydrophobicity, self-cleaning and low adhesion." *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* 367(1894): 1631-1672.
- BHUSHAN, B., JUNG, Y. C., NIEMIETZ, A. UND KOCH, K. (2009b). "Lotus-like biomimetic hierarchical structures developed by the self-assembly of tubular plant waxes." *Langmuir* 25(3): 1659-1666.
- BHUSHAN, B., KOCH, K. UND JUNG, Y. C. (2009c). "Fabrication and characterization of the hierarchical structure for superhydrophobicity and self-cleaning." *Ultramicroscopy* 109(8): 1029-1034.
- BHUSHAN, B. UND JUNG, Y. C. (2011). "Natural and biomimetic artificial surfaces for superhydrophobicity, self-cleaning, low adhesion, and drag reduction." *Progress in Materials Science* 56(1): 1-108.
- BI, H., LUANG, S., LI, Y., BAZANOVA, N., MORRAN, S., SONG, Z., PERERA, M. A., HRMOVA, M., BORISJUK, N. UND LOPATO, S. (2016). "Identification and characterization of wheat drought-responsive MYB transcription factors involved in the regulation of cuticle biosynthesis." *Journal of Experimental Botany* 67(18): 5363–5380.
- BI, H., KOVALCHUK, N., LANGRIDGE, P., TRICKER, P. J., LOPATO, S. UND BORISJUK, N. (2017). "The impact of drought on wheat leaf cuticle properties." *BMC Plant Biology* 17(1): 85-85.
- BIANCHI, G., LUPOTTO, E., BORGHI, B. UND CORBELLINI, M. (1980). "Cuticular wax of wheat." *Planta* 148(4): 328-331.
- BICO, J., MARZOLIN, C. UND QUÉRÉ, D. (1999). "Pearl drops." *Europhysics Letters* 47(2): 220-226.
- BIXLER, G. D., THEISS, A., BHUSHAN, B. UND LEE, S. C. (2014). "Anti-fouling properties of microstructured surfaces bio-inspired by rice leaves and butterfly wings." *Journal of Colloid and Interface Science* 419(2014-04-01): 114-133.
- BOBZIN, K. (2013). *Oberflächentechnik für den Maschinenbau*. Weinheim, John Wiley & Sons.
- BOHN, H. F. UND FEDERLE, W. (2004). "Insect aquaplaning: *Nepenthes* pitcher plants capture prey with the peristome, a fully wetttable water-lubricated anisotropic surface." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 101(39): 14138-14143.
- BORMASHENKO, E. Y. (2017). *Physics of wetting: Phenomena and applications of fluids on surfaces*. Berlin, Walter de Gruyter.
- BÖRNER, H. UND SCHLÜTER, K. (2009). *Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*. Berlin [u.a.], Springer.

- BOTH, M. UND SPANU, P. D. (2004). *Blumeria graminis* f. sp. *hordei*, an obligate pathogen of barley. Annual Plant Reviews, Plant-Pathogen Interactions. Talbot, N. J. Oxford, Wiley-Blackwell. 11: 202-218.
- BOTH, M., CSUKAI, M., STUMPF, M. P. H. UND SPANU, P. D. (2005). "Gene expression profiles of *Blumeria graminis* indicate dynamic changes to primary metabolism during development of an obligate biotrophic pathogen." The Plant Cell 17(7): 2107-2122.
- BRAUN, U., COOK, R., INMAN, A. UND SHIN, H. (2002). The taxonomy of the powdery mildew fungi. The powdery mildews: a comprehensive treatise. Bushnell, W. R., Dik, A. J., Carver, T. L. W. und Belanger, R. R. St. Paul, APS Press: 13-55.
- BREWER, C. UND SMITH, W. (1997). "Patterns of leaf surface wetness for montane and subalpine plants." Plant, Cell & Environment 20(1): 1-11.
- BREWER, C. UND NUNEZ, C. (2007). "Patterns of leaf wettability along an extreme moisture gradient in Western Patagonia, Argentina." International Journal of Plant Sciences 168(5): 555-562.
- BRINGE, K., SCHUMACHER, C. F. A., SCHMITZ-EIBERGER, M., STEINER, U. UND OERKE, E. C. (2006). "Ontogenetic variation in chemical and physical characteristics of adaxial apple leaf surfaces." Phytochemistry 67(2): 161-170.
- BUNDESSORTENAMT (2016). Beschreibende Sortenliste Getreide, Mais, Öl- und Faserpflanzen, Leguminosen, Rüben, Zwischenfrüchte.
- BURKHARDT, J. UND PARIYAR, S. (2014). "Particulate pollutants are capable to 'degrade' epicuticular waxes and to decrease the drought tolerance of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.)." Environmental Pollution 184: 659-667.
- BUSCHHAUS, C. UND JETTER, R. (2011). "Composition differences between epicuticular and intracuticular wax substructures: How do plants seal their epidermal surfaces?" Journal of Experimental Botany 62(3): 841-853.
- BUTLER, D. R. (1996). The presence of water on leaf surfaces and its importance for microbes and insects. Plant cuticles: an integrated approach. Kerstiens, G. Oxford, Bios Scientific Publishers Ltd. 1: 267-282.
- CAPE, J. (1983). "Contact angles of water droplets on needles of scots pine (*Pinus sylvestris*) growing in polluted atmospheres." New Phytologist 93(2): 293-299.
- CARVER, T., INGERSON-MORRIS, S., THOMAS, B. UND ZEYEN, R. (1995a). "Early interactions during powdery mildew infection." Canadian Journal of Botany 73(S1): 632-639.
- CARVER, T., THOMAS, B. UND INGERSON-MORRIS, S. (1995b). "The surface of *Erysiphe graminis* and the production of extracellular material at the fungus-host interface during germling and colony development." Canadian Journal of Botany 73(2): 272-287.
- CARVER, T. (1996). "Influences of host surface features on development of *Erysiphe graminis* and *Erysiphe pisi*." Plant Cuticles: an integrated functional approach.
- CARVER, T., KUNOH, H., THOMAS, B. UND NICHOLSON, R. (1999). "Release and visualization of the extracellular matrix of conidia of *Blumeria graminis*." Mycological Research 103(5): 547-560.
- CARVER, T. L. UND GURR, S. J. (2006). Filamentous fungi on plant surfaces. Annual plant reviews, biology of the plant cuticle. Riederer, M. und Müller, C. Oxford, Blackwell Publishing Ltd: 368-397.
- CARVER, T. L. W. UND BUSHNELL, W. R. (1983). "The probable role of primary germ tubes in water uptake before infection by *Erysiphe graminis*." Physiological Plant Pathology 23(2): 229-240.

- CARVER, T. L. W. UND INGERSON, S. M. (1987). "Responses of *Erysiphe graminis* germings to contact with artificial and host surfaces." *Physiological and Molecular Plant Pathology* 30(3): 359-372.
- CARVER, T. L. W. UND ADAIGBE, M. E. (1990). "Effects of oat host genotype, leaf age and position and incubation humidity on germination and germling development by *Erysiphe graminis* f. sp. *avenae*." *Mycological Research* 94(1): 18-26.
- CARVER, T. L. W. UND THOMAS, B. J. (1990). "Normal germling development by *Erysiphe graminis* on cereal leaves freed of epicuticular wax." *Plant Pathology* 39(3): 367-375.
- CARVER, T. L. W., THOMAS, B. J., INGERSON-MORRIS, S. M. UND RODERICK, H. W. (1990). "The role of the abaxial leaf surface waxes of *Lolium* spp. in resistance to *Erysiphe graminis*." *Plant Pathology* 39(4): 573-583.
- CARVER, T. L. W., INGERSON, S. M. UND THOMAS, B. J. (1996). Influences of host surface features on development of *Erysiphe graminis* and *Erysiphe pisi*. *Plant Cuticles: an integrated functional approach*. Kerstiens, G. Oxford, Bios Scientific Publishers Ltd. 1: 255-266.
- CASSIE, A. UND BAXTER, S. (1944). "Wettability of porous surfaces." *Transactions of the Faraday Society* 40: 546-551.
- CERMAN, Z. (2007). Superhydrophobie und Selbstreinigung: Wirkungsweise, Effizienz und Grenzen bei der Abwehr von Mikroorganismen. Dr. rer. nat. Dissertation, Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn.
- CHAMBERS, T. C., RITCHIE, I. M. UND BOOTH, M. A. (1976). "Chemical models for plant wax morphogenesis." *New Phytologist* 77(1): 43-49.
- CHAURE, P., GURR, S. J. UND SPANU, P. (2000). "Stable transformation of *Erysiphe graminis* an obligate biotrophic pathogen of barley." *Nature Biotechnology* 18(2): 205-207.
- CHEN, Y., HE, B., LEE, J. UND PATANKAR, N. A. (2005). "Anisotropy in the wetting of rough surfaces." *Journal of Colloid and Interface Science* 281(2): 458-464.
- CHEREWICK, W. J. (1944). "Studies on the biology of *Erysiphe graminis* DC." *Canadian Journal of Research* 22(2): 52-86.
- CHOW, T. (2003). "Size-dependent adhesion of nanoparticles on rough substrates." *Journal of Physics: Condensed Matter* 15(2): L83-L87.
- CHOW, T. (2007). "Nanoscale surface roughness and particle adhesion on structured substrates." *Nanotechnology* 18(11): 1-4.
- CHRISTEN, O. (2009a). *Biologische Grundlagen. Winterweizen: das Handbuch für Profis*. Christen, O. Frankfurt am Main, DLG-Verlag. 1: 51-62.
- CHRISTEN, O. (2009b). *Winterweizen: das Handbuch für Profis*. Frankfurt am Main, DLG-Verlag.
- CONNER, R., KUZYK, A. UND SU, H. (2003). "Impact of powdery mildew on the yield of soft white spring wheat cultivars." *Canadian Journal of Plant Science* 83(4): 725-728.
- COREY, E. J. UND SUGGS, J. W. (1975). "Pyridinium chlorochromate. An efficient reagent for oxidation of primary and secondary alcohols to carbonyl compounds." *Tetrahedron Letters* 16(31): 2647-2650.
- CYR, D., VENKATARAMAN, B. UND FLYNN, G. (1996). "STM investigations of organic molecules physisorbed at the liquid-solid interface." *Chemistry of materials* 4756(96): 1600-1615.
- DAMON, S. J., GROVES, R. L. UND HAVEY, M. J. (2014). "Variation for epicuticular waxes on onion foliage and impacts on numbers of onion thrips." *Journal of the American Society for Horticultural Science* 139(4): 495-501.
- DE BARY, A. (1871). "Über die Wachsüberzüge der Epidermis." *Botanische Zeitung* 29(9): 130-139.
- DE FEYTER, S. UND DE SCHRUYVER, F. C. (2005). "Self-assembly at the liquid/solid interface: STM reveals." *The Journal of Physical Chemistry B* 109(10): 4290-4302.



- DEACON, J. W. (2006). Fungal biology. Malden, Blackwell Publishing Ltd.
- DEAN, R., VAN KAN, J. A., PRETORIUS, Z. A., HAMMOND-KOSACK, K. E., DI PIETRO, A., SPANU, P. D., RUDD, J. J., DICKMAN, M., KAHMANN, R., ELLIS, J. UND FOSTER, G. D. (2012). "The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology." *Molecular Plant Pathology* 13(4): 414-430.
- DEEGAN, R. D., BAKAJIN, O., DUPONT, T. F., HUBER, G., NAGEL, S. R. UND WITTEN, T. A. (1997). "Capillary flow as the cause of ring stains from dried liquid drops." *Nature* 389(6653): 827-829.
- DELVENTHAL, R., FALTER, C., STRUGALA, R., ZELLERHOFF, N. UND SCHAFFRATH, U. (2014). "Ectoparasitic growth of *Magnaporthe* on barley triggers expression of the putative barley wax biosynthesis gene CYP96B22 which is involved in penetration resistance." *BMC Plant Biology* 14(1): 1-14.
- DENHOLM, A. A., JENNENS, L., LEY, S. V. UND WOOD, A. (1995). "Chemistry of insect antifeedants from *Azadirachta Indica* (Part 19): A potential relay route for the synthesis of azadirachtin." *Tetrahedron* 51(23): 6591-6604.
- DENMEAD, O. T. (1969). "Comparative micrometeorology of a wheat field and a forest of *Pinus radiata*." *Agricultural Meteorology* 6(5): 357-371.
- DOEHLEMANN, G., BERNDT, P. UND HAHN, M. (2006). "Different signalling pathways involving a Gα protein, cAMP and a MAP kinase control germination of *Botrytis cinerea* conidia." *Molecular microbiology* 59(3): 821-835.
- DORA, S. K., KOCH, K., BARTHLOTT, W. UND WANDELT, K. (2018). "Kinetics of solvent supported tubule formation of Lotus (*Nelumbo nucifera*) wax on highly oriented pyrolytic graphite (HOPG) investigated by atomic force microscopy." *Beilstein Journal of Nanotechnology* 9: 468-481.
- DORR, G. J., WANG, S., MAYO, L. C., MCCUE, S. W., FORSTER, W. A., HANAN, J. UND HE, X. (2015). "Impaction of spray droplets on leaves: influence of formulation and leaf character on shatter, bounce and adhesion." *Experiments in Fluids* 56(7): 143.
- EDWARDS, H. (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(10): 1121-1125.
- EICHMANN, R. UND HÜCKELHOVEN, R. (2008). "Accommodation of powdery mildew fungi in intact plant cells." *Journal of Plant Physiology* 165(1): 5-18.
- EIGENBRODE, S. D. UND ESPELIE, K. E. (1995). "Effects of Plant Epicuticular Lipids on Insect Herbivores." *Annual Review of Entomology* 40(1): 171-194.
- EIGENBRODE, S. D. (2004). "The effects of plant epicuticular waxy blooms on attachment and effectiveness of predatory insects." *Arthropod Structure and Development* 33(1): 91-102.
- ELLINGBOE, A. H. (1972). "Genetics and physiology of primary infection by *Erysiphe graminis*." *Phytopathology* 62(4): 401-406.
- ENSİKAT, H. J. UND BARTHLOTT, W. (1993). "Liquid substitution: a versatile procedure for SEM specimen preparation of biological materials without drying or coating." *Journal of Microscopy* 172(3): 195-203.
- ENSİKAT, H. J., NEINHUIS, C. UND BARTHLOTT, W. (2000). "Direct access to plant epicuticular wax crystals by a new mechanical isolation method." *International Journal of Plant Sciences* 161(1): 143-148.
- ENSİKAT, H. J., BOESE, M., MADER, W., BARTHLOTT, W. UND KOCH, K. (2006). "Crystallinity of plant epicuticular waxes: electron and X-ray diffraction studies." *Chemistry and Physics of Lipids* 144(1): 45-59.
- EVERTS, K. L., LEATH, S. UND FINNEY, P. L. (2001). "Impact of powdery mildew and leaf rust on milling and baking quality of soft red winter wheat." *Plant Disease* 85(4): 423-429.
- FAO. (2018). Retrieved 10.07.20, from <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>.

- FEDERLE, W., MASCHWITZ, U., FIALA, B., RIEDERER, M. UND HÖLLDOBLER, B. (1997). "Slippery ant-plants and skilful climbers: selection and protection of specific ant partners by epicuticular wax blooms in *Macaranga* (Euphorbiaceae)." *Oecologia* 112(2): 217-224.
- FENG, J., WANG, F., LIU, G., GREENSHIELDS, D., SHEN, W., KAMINSKYJ, S., HUGHES, G. R., PENG, Y., SELVARAJ, G., ZOU, J. UND WEI, Y. (2009). "Analysis of a *Blumeria graminis*-secreted lipase reveals the importance of host epicuticular wax components for fungal adhesion and development." *Molecular plant-microbe interactions* 22(12): 1601-1610.
- FENG, L., LI, S., LI, Y., LI, H., ZHANG, L., ZHAI, J., SONG, Y., LIU, B., JIANG, L. UND ZHU, D. (2002). "Superhydrophobic surfaces: from natural to artificial." *Advanced Materials* 14(24): 1857-1860.
- FENG, L., ZHANG, Y., XI, J., ZHU, Y., WANG, N., XIA, F. UND JIANG, L. (2008). "Petal effect: A superhydrophobic state with high adhesive force." *Langmuir* 24(8): 4114-4119.
- FORSBERG, P. S., PRIEST, C., BRINKMANN, M., SEDEV, R. UND RALSTON, J. (2010). "Contact line pinning on microstructured surfaces for liquids in the Wenzel state." *Langmuir* 26(2): 860-865.
- FRANCIS, S. A., DEWEY, F. M. UND GURR, S. J. (1996). "The role of cutinase in germling development and infection by *Erysiphe graminis* f.sp. *hordei*." *Physiological and Molecular Plant Pathology* 49(3): 201-211.
- FRITSCH, A., WILLMOTT, G. R. UND TAYLOR, M. (2013). "Superhydrophobic New Zealand leaves: contact angle and drop impact experiments." *Journal of the Royal Society of New Zealand* 43(4): 198-210.
- FUJITA, K., SUZUKI, T., KUNOH, H., CARVER, T. L., THOMAS, B. J., GURR, S. UND SHIRAIISHI, T. (2004). "Induced inaccessibility in barley cells exposed to extracellular material released by non-pathogenic powdery mildew conidia." *Physiological and Molecular Plant Pathology* 64(4): 169-178.
- FÜRSTNER, R., BARTHLOTT, W., NEINHUIS, C. UND WALZEL, P. (2005). "Wetting and self-cleaning properties of artificial superhydrophobic surfaces." *Langmuir* 21(3): 956-961.
- GASKIN, R., STEELE, K. UND FORSTER, W. (2005). "Characterising plant surfaces for spray adhesion and retention." *New Zealand Plant Protection* 58: 179-183.
- GILBERT, R. D., JOHNSON, A. M. UND DEAN, R. A. (1996). "Chemical signals responsible for appressorium formation in the rice blast fungus *Magnaporthe grisea*." *Physiological and Molecular Plant Pathology* 48(5): 335-346.
- GNIWOTTA, F., VOGG, G., GARTMANN, V., CARVER, T. L., RIEDERER, M. UND JETTER, R. (2005). "What do microbes encounter at the plant surface? Chemical composition of pea leaf cuticular waxes." *Plant Physiology* 139(1): 519-530.
- GORB, E., HAAS, K., HENRICH, A., ENDERS, S., BARBAKADZE, N. UND GORB, S. (2005). "Composite structure of the crystalline epicuticular wax layer of the slippery zone." *The Journal of Experimental Biology* 208(24): 4651-4662.
- GORB, E., BOHM, S., JACKY, N., MAIER, L. P., DENING, K., PECHOOK, S., POKROY, B. UND GORB, S. (2014). "Insect attachment on crystalline bioinspired wax surfaces formed by alkanes of varying chain lengths." *Beilstein Journal of Nanotechnology* 5: 1031-1041.
- GOYAL, A. UND PRASAD, R. (2010). Some important fungal diseases and their impact on wheat production. Management of fungal plant pathogens. Arya, A. und Perelló, A. E. Oxfordshire, CAB international: 362-373.
- GRANT, R., JENKS, M., RICH, P., PETERS, P. UND ASHWORTH, E. (1995). "Scattering of ultraviolet and photosynthetically active radiation by *Sorghum bicolor*: influence of epicuticular wax." *Agricultural and Forest Meteorology* 75(4): 263-281.
- GREEN, D. W., LEE, K. K.-H., WATSON, J. A., KIM, H.-Y., YOON, K.-S., KIM, E.-J., LEE, J.-M., WATSON, G. S. UND JUNG, H.-S. (2017). "High quality bioreplication of intricate nanostructures from a fragile gecko skin surface with bactericidal properties." *Scientific reports* 7(41023): 1-4.

- GUPTA, V. K. UND PAUL, Y. (2002). Diseases of field crops. New Delhi, Indus Publishing.
- HAAS, K. UND RENTSCHLER, I. (1984). "Discrimination between epicuticular and intracuticular wax in blackberry leaves: Ultrastructural and chemical evidence." *Plant Science Letters* 36(2): 143-147.
- HACK, H., BLEIHOLDER, H., BUHR, L., MEIER, U., SCHNOCK-FRICKE, U., WEBER, E. UND WITZENBERGER, A. (1992). "Die erweiterte BBCH-Skala." *Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes* 44 (12): 265-270.
- HAGEDORN, O., FLEUTE-SCHLACHTER, I., MAINX, H. G., ZEISLER-DIEHL, V. UND KOCH, K. (2017). "Surfactant-induced enhancement of droplet adhesion in superhydrophobic soybean (*Glycine max* L.) leaves." *Beilstein Journal of Nanotechnology* 8: 2345-2356.
- HALL, D. M. UND DONALDSON, L. A. (1962). "Secretion from pores of surface wax on plant leaves." *Nature* 194(4834): 1196-1196.
- HALL, D. M. (1967). "The ultrastructure of wax deposits on plant leaf surfaces: II. Cuticular pores and wax formation." *Journal of ultrastructure research* 17(1): 34-44.
- HAN, S., YANG, R., LI, C. UND YANG, L. (2019). "The wettability and numerical model of different silicon microstructural surfaces." *Applied Sciences* 9(3): 1-16.
- HANSJAKOB, A., BISCHOF, S., BRINGMANN, G., RIEDERER, M. UND HILDEBRANDT, U. (2010). "Very-long-chain aldehydes promote in vitro prepenetration processes of *Blumeria graminis* in a dose- and chain length-dependent manner." *New Phytologist* 188(4): 1039-1054.
- HANSJAKOB, A., RIEDERER, M. UND HILDEBRANDT, U. (2011). "Wax matters: Absence of very-long-chain aldehydes from the leaf cuticular wax of the *glossy11* mutant of maize compromises the prepenetration processes of *Blumeria graminis*." *Plant Pathology* 60(6): 1151-1161.
- HAO, Y., PARKS, R., COWGER, C., CHEN, Z., WANG, Y., BLAND, D., MURPHY, J. P., GUEDIRA, M., BROWN-GUEDIRA, G. UND JOHNSON, J. (2015). "Molecular characterization of a new powdery mildew resistance gene Pm54 in soft red winter wheat." *Theoretical and Applied Genetics* 128(3): 465-476.
- HEGDE, Y. UND KOLATTUKUDY, P. E. (1997). "Cuticular waxes relieve self-inhibition of germination and appressorium formation by the conidia of *Magnaporthe grisea*." *Physiological and Molecular Plant Pathology* 51(2): 75-84.
- HIBBERD, J. M., WHITBREAD, R. UND FARRAR, J. F. (1996). "Effect of elevated concentrations of CO<sub>2</sub> on infection of barley by *Erysiphe graminis*." *Physiological and Molecular Plant Pathology* 48(1): 37-53.
- HMD. (2020). Retrieved 06.06.20, 2020, from <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0034380>.
- HOLDER, C. D. (2007). "Leaf water repellency as an adaptation to tropical montane cloud forest environments." *Biotropica* 39(6): 767-770.
- HOLDER, C. D. (2020). *Advances and future research directions in the study of leaf water repellency. Forest-Water Interactions.* Levia, D. F. Cham, Springer: 261-278.
- HOLLOWAY, P. J. (1970). "Surface factors affecting the wetting of leaves." *Pesticide Science* 1(4): 156-163.
- HOMMES, A. (2010). *Untersuchungen zum Adsorptionsverhalten molekularer Filme epikutikularer Wachse auf artifiziellen Oberflächen.* Dr. rer. nat. Dissertation, Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn.
- HOSSAIN, S. M. M. UND MANNERS, J. G. (1964). "Relationship between internal characters of the conidium and germination in *Erysiphe graminis*." *Transactions of the British Mycological Society* 47(1): 39-44.
- HUBER, L. UND GILLESPIE, T. (1992). "Modeling leaf wetness in relation to plant disease epidemiology." *Annual Review of Phytopathology* 30(1): 553-577.

- HÜCKELHOVEN, R., FODOR, J., PREIS, C. UND KOGEL, K.-H. (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(4): 1251-1260.
- HUGGINS, T., MOHAMMED, S., SENGODON, P., IBRAHIM, A., TILLEY, M. UND HAYS, D. (2018). "Changes in leaf epicuticular wax load and its effect on leaf temperature and physiological traits in wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.) exposed to high temperatures during anthesis." *Journal of agronomy and crop science* 204(1): 49-61.
- HUTH, M. A. (2015). Regeneration and self-assembly of epicuticular waxes in *Eucalyptus gunnii*. M. Sc. Master Thesis, University of Cologne.
- HUTH, M. A., HUTH, A. UND KOCH, K. (2018). "Morphological diversity of  $\beta$ -diketone wax tubules on *Eucalyptus gunnii* leaves and real time observation of self-healing of defects in the wax layer." *Australian Journal of Botany* 66(4): 313-324.
- INUMA, T., KHODAPARAST, S. A. UND TAKAMATSU, S. (2007). "Multilocus phylogenetic analyses within *Blumeria graminis*, a powdery mildew fungus of cereals." *Molecular phylogenetics and evolution* 44(2): 741-751.
- JAMES, W. UND SHIH, C. (1973). "Relationship between incidence and severity of powdery mildew and leaf rust." *Phytopathology* 63: 183-187.
- JARVIS, L. R. UND WARDROP, A. B. (1974). "The development of the cuticle in *Phormium tenax*." *Planta* 119(2): 101-112.
- JEFFREE, C. E., BAKER, E. A. UND HOLLOWAY, P. J. (1975). "Ultrastructure and recrystallisation of plant epicuticular waxes." *New Phytologist* 75(3): 539-549.
- JEFFREE, C. E. (2006). The fine structure of the plant cuticle. *Biology of the plant cuticle*. M Riederer, C. M. Oxford, Blackwell Publishing Ltd: 11-125.
- JETTER, R. UND RIEDERER, M. (1994). "Epicuticular crystals of nonacosan-10-ol: *In-vitro* reconstitution and factors influencing crystal habits." *Planta* 195(2): 257-270.
- JETTER, R. UND RIEDERER, M. (1995). "*In vitro* reconstitution of epicuticular wax crystals: formation of tubular aggregates by long-chain secondary alkanediols." *Botanica Acta* 108(2): 111-120.
- JETTER, R., RIEDERER, M. UND LENDZIAN, K. J. (1996). "The effects of dry O<sub>3</sub>, SO<sub>2</sub> and NO<sub>2</sub> on reconstituted epicuticular wax tubules." *New Phytologist* 133(2): 207-216.
- JETTER, R., SCHÄFFER, S. UND RIEDERER, M. (2000). "Leaf cuticular waxes are arranged in chemically and mechanically distinct layers: evidence from *Prunus laurocerasus* L." *Plant, Cell & Environment* 23(6): 619-628.
- JETTER, R. UND SCHÄFFER, S. (2001). "Chemical composition of the *Prunus laurocerasus* leaf surface. Dynamic changes of the epicuticular wax film during leaf development." *Plant Physiology* 126(4): 1725-1737.
- JETTER, R., KUNST, L. UND SAMUELS, A. (2006). Composition of plant cuticular waxes. *Biology of the plant cuticle*. Riederer, M. und Müller, C. Oxford, Blackwell Publishing Ltd: 145–181.
- JUNG, Y. C. UND BHUSHAN, B. (2009). "Mechanically durable carbon nanotube– composite hierarchical structures with superhydrophobicity, self-cleaning, and low-drag." *ACS Nano* 3(12): 4155-4163.
- JUNIPER, B. E. (1991). The leaf from the inside and the outside: A microbe's perspective. *Microbial ecology of leaves*. Andrews, J. H. und Hirano, S. S. New York, Springer: 21-42.
- KARDEL, F., WUYTS, K., BABANEZHAD, M., WUYTACK, T., ADRIAENSSENS, S. UND SAMSON, R. (2012). "Tree leaf wettability as passive bio-indicator of urban habitat quality." *Environmental and Experimental Botany* 75: 277-285.

- KAVALENKA, M. N., VÜLLERS, F., KUMBERG, J., ZEIGER, C., TROUILLET, V., STEIN, S., AVA, T. T., LI, C., WORGULL, M. UND HÖLSCHER, H. (2017). "Adaptable bioinspired special wetting surface for multifunctional oil/water separation." *Scientific reports* 7(39970): 1-10.
- KERSTIENS, G. (1996). "Plant cuticles—an integrated functional approach." *Journal of Experimental Botany* 47: 50-60.
- KIM, P., KREDER, M. J., ALVARENGA, J. UND AIZENBERG, J. (2013). "Hierarchical or not? Effect of the length scale and hierarchy of the surface roughness on omniphobicity of lubricant-infused substrates." *Nano Letters* 13(4): 1793-1799.
- KINANE, J., DALVIN, S., BINDSLEV, L., HALL, A., GURR, S. UND OLIVER, R. (2000). "Evidence that the cAMP pathway controls emergence of both primary and appressorial germ tubes of barley powdery mildew." *Molecular plant-microbe interactions* 13(5): 494-502.
- KLAMERUS-IWAN, A. UND BŁOŃSKA, E. (2016). "Seasonal variability of interception and water wettability of common oak leaves." *Annals of Forest Research* 60(1): 63-73.
- KNOLL, D. UND SCHREIBER, L. (1998). "Influence of epiphytic micro-organisms on leaf wettability: wetting of the upper leaf surface of *Juglans regia* and of model surfaces in relation to colonization by micro-organisms." *The New Phytologist* 140(2): 271-282.
- KOBAYASHI, I., TANAKA, C., YAMAOKA, N. UND KUNOH, H. (1991). "Morphogenesis of *Erysiphe graminis* conidia on artificial membranes." *Transactions of the Mycological Society of Japan* 32(1991).
- KOCH, K., NEINHUIS, C., ENSIKAT, H. J. UND BARTHLOTT, W. (2004). "Self assembly of epicuticular waxes on living plant surfaces imaged by atomic force microscopy (AFM)." *Journal of Experimental Botany* 55(397): 711-718.
- KOCH, K., BARTHLOTT, W., KOCH, S., HOMMES, A., WANDEL, K., MAMDOUH, W., DE-FEYTER, S. UND BROEKMANN, P. (2006a). "Structural analysis of wheat wax (*Triticum aestivum*, c.v. 'Naturastar' L.): from the molecular level to three dimensional crystals." *Planta* 223(2): 258-270.
- KOCH, K., DOMMISSE, A. UND BARTHLOTT, W. (2006b). "Chemistry and crystal growth of plant wax tubules of Lotus (*Nelumbo nucifera*) and Nasturtium (*Tropaeolum majus*) leaves on technical substrates." *Crystal Growth & Design* 6(11): 2571-2578.
- KOCH, K., HARTMANN, K. D., SCHREIBER, L., BARTHLOTT, W. UND NEINHUIS, C. (2006c). "Influences of air humidity during the cultivation of plants on wax chemical composition, morphology and leaf surface wettability." *Environmental and Experimental Botany* 56(1): 1-9.
- KOCH, K., BHUSHAN, B. UND BARTHLOTT, W. (2008). "Diversity of structure, morphology and wetting of plant surfaces." *Soft Matter* 4(10): 1943-1963.
- KOCH, K. UND ENSIKAT, H. J. (2008). "The hydrophobic coatings of plant surfaces: epicuticular wax crystals and their morphologies, crystallinity and molecular self-assembly." *Micron* 39(7): 759-772.
- KOCH, K. UND BARTHLOTT, W. (2009). "Superhydrophobic and superhydrophilic plant surfaces: an inspiration for biomimetic materials." *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* 367(1893): 1487-1509.
- KOCH, K., BHUSHAN, B. UND BARTHLOTT, W. (2009a). "Multifunctional surface structures of plants: An inspiration for biomimetics." *Progress in Materials Science* 54(2): 137-178.
- KOCH, K., BHUSHAN, B., JUNG, Y. C. UND BARTHLOTT, W. (2009b). "Fabrication of artificial Lotus leaves and significance of hierarchical structure for superhydrophobicity and low adhesion." *Soft Matter* 5(7): 1386.

- KOCH, K., DOMMISSE, A., NIEMIETZ, A., BARTHLOTT, W. UND WANDEL, K. (2009c). "Nanostructure of epicuticular plant waxes: Self-assembly of wax tubules." *Surface Science* 603(10-12): 1961-1968.
- KOCH, K., BHUSHAN, B. UND BARTHLOTT, W. (2010). Multifunctional plant surfaces, smart materials. *Handbook of Nanotechnology*. Bhushan, B. Berlin, Heidelberg, Springer Berlin Heidelberg: 1399-1436.
- KOCH, K., BENNEMANN, M., BOHN, H. F., ALBACH, D. C. UND BARTHLOTT, W. (2013). "Surface microstructures of daisy florets (Asteraceae) and characterization of their anisotropic wetting." *Bioinspiration & Biomimetics* 8(3): 036005.
- KOCH, K. UND GRICHNIK, R. (2016). "Influence of surface structure and chemistry on water droplet splashing." *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences* 374(2073): 20160183.
- KOLATTUKUDY, P. E. UND WALTON, T. J. (1973). The biochemistry of plant cuticular lipids. *Progress in the Chemistry of Fats and other Lipids*. Holman, R. T. Oxford, Pergamon Press. 13: 119-175.
- KOLATTUKUDY, P. E. (1980). "Biopolyester membranes of plants: cutin and suberin." *Science* 208(4447): 990-1000.
- KOMÁROMI, J., JANKOVICS, T., FÁBIÁN, A., PUSKÁS, K., ZHANG, Z., ZHANG, M., LI, H., JÄGER, K., LÁNG, L. UND VIDA, G. (2016). "Powdery mildew resistance in wheat cultivar Mv Hombar is conferred by a new gene, *PmHo*." *Phytopathology* 106(11): 1326-1334.
- KONG, L. UND CHANG, C. (2018). "Suppression of wheat TaCDK8/TaWIN1 interaction negatively affects germination of *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* by interfering with very-long-chain aldehyde biosynthesis." *Plant molecular biology* 96(2018): 165-178.
- KORHONEN, J. T., HUHTAMÄKI, T., IKKALA, O. UND RAS, R. H. (2013). "Reliable measurement of the receding contact angle." *Langmuir* 29(12): 3858-3863.
- KUBIAK, K. UND MATHIA, T. (2014). "Anisotropic wetting of hydrophobic and hydrophilic surfaces—modelling by Lattice Boltzmann method." *Procedia Engineering* 79: 45-48.
- KUNOH, H., ITOH, O., KOHNO, M. UND ISHIZAKI, H. (1979). "Are primary germ tubes of conidia unique to *Erysiphe graminis*?" *Japanese Journal of Phytopathology* 45(5): 675-682.
- KUNOH, H., NICHOLSON, R. L., YOSIOKA, H., YAMAOKA, N. UND KOBAYASHI, I. (1990). "Preparation of the infection court by *Erysiphe graminis*: degradation of the host cuticle." *Physiological and Molecular Plant Pathology* 36(5): 397-407.
- KUNST, L. UND SAMUELS, A. L. (2003). "Biosynthesis and secretion of plant cuticular wax." *Progress in lipid research* 42(1): 51-80.
- KWS. (2020). Retrieved 17.07.20, from <https://www.kws.com/de/de/beratung/bestandesfuehrung/entwicklung/>.
- LAST, F. (1953). "Some effects of temperature and nitrogen supply on wheat powdery mildew." *Annals of Applied Biology* 40(2): 312-322.
- LATSCHA, H. P. UND KAZMAIER, U. (2008). *Chemie für Biologen*. Berlin, Heidelberg, Springer.
- LAVERGNE, F., BROECKLING, C., COCKRELL, D., HALEY, S., PEAIRS, F., JAHN, C. UND HEUBERGER, A. (2018). "GC-MS metabolomics to evaluate the composition of plant cuticular waxes for four *Triticum aestivum* cultivars." *International Journal of Molecular Sciences* 19(249): 1-21.
- LAW, K.-Y. UND ZHAO, H. (2016). *Surface wetting: characterization, contact angle, and fundamentals*. Cham, Springer Switzerland.
- LECA, A., ROUBY, F., SAUDREAU, M. UND LACOINTE, A. (2020). "Apple leaf wettability variability as a function of genotype and apple scab susceptibility." *Scientia Horticulturae* 260: 1-9.

- LEE, Y.-H. UND DEAN, R. A. (1994). "Hydrophobicity of contact surface induces appressorium formation in *Magnaporthe grisea*." FEMS Microbiology Letters 115(1): 71-75.
- LI, C., HASLAM, T. M., KRÜGER, A., SCHNEIDER, L. M., MISHINA, K., SAMUELS, L., YANG, H., KUNST, L., SCHAFFRATH, U., NAWRATH, C., CHEN, G., KOMATSUDA, T. UND VON WETTSTEIN-KNOWLES, P. (2018). "The  $\beta$ -ketoacyl-CoA synthase *HvKCS1*, encoded by *Cer-zh*, plays a key role in synthesis of barley leaf wax and germination of barley powdery mildew." Plant and Cell Physiology 59(4): 811-827.
- LI, L., DU, Y., HE, C., DIETRICH, C. R., LI, J., MA, X., WANG, R., LIU, Q., LIU, S. UND WANG, G. (2019). "Maize *glossy6* is involved in cuticular wax deposition and drought tolerance." Journal of Experimental Botany 70(12): 3089-3099.
- LINDHAUER, G. (2009). Weizen als Lebensmittel. Winterweizen—Das Handbuch für Profis (Winter Wheat Handbook). Christen, O. Frankfurt am Main, DLG Verlag. 317-317.
- LIU, K. UND JIANG, L. (2011). "Bio-inspired design of multiscale structures for function integration." Nano Today 6(2): 155-175.
- LIU, N., BAI, G., LIN, M., XU, X. UND ZHENG, W. (2017). "Genome-wide association analysis of powdery mildew resistance in U.S. winter wheat." Scientific reports 7(11743): 1-11.
- MA, C., BAI, S., PENG, X. UND MENG, Y. (2013). "Anisotropic wettability of laser micro-grooved SiC surfaces." Applied Surface Science 284: 930-935.
- MACDOUGALL, G. UND OCKRENT, C. (1942). "Surface energy relations in liquid/solid systems I. The adhesion of liquids to solids and a new method of determining the surface tension of liquids." Proceedings of the Royal Society of London. Series A. Mathematical and Physical Sciences 180(981): 151-173.
- MANNERS, J. G. UND HOSSAIN, S. M. M. (1963). "Effects of temperature and humidity on conidial germination in *Erysiphe graminis*." Transactions of the British Mycological Society 46(2): 225-IN222.
- MARCHAL, É. (1902). "De la specialisation du parasitisme chez *Erysiphe graminis*." Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l'Académie des Sciences 135: 210-212.
- MARMUR, A. (2003). "Wetting on hydrophobic rough surfaces: To be Heterogeneous or not to be?" Langmuir 19(20): 8343-8348.
- MATAS, A. J., SANZ, M. J. UND HEREDIA, A. (2003). "Studies on the structure of the plant wax nonacosan-10-ol, the main component of epicuticular wax conifers." International Journal of Biological Macromolecules 33(1-3): 31-35.
- MATOS, I. S. UND ROSADO, B. H. P. (2016). "Retain or repel? Droplet volume does matter when measuring leaf wetness traits." Annals of Botany 117(6): 1045-1052.
- MEGURO, A., FUJITA, K., KUNOH, H., CARVER, T. L. UND NICHOLSON, R. L. (2001). "Release of the extracellular matrix from conidia of *Blumeria graminis* in relation to germination." Mycoscience 42(2): 201-209.
- MEHROTRA, R. UND AGGARWAL, A. (2003). Plant Pathology. New Delhi, Tata McGraw-Hill Education Private Limited.
- MEHTA, Y. R. (2014). Powdery mildews. Wheat diseases and their management. Cham, Springer International Publishing: 146-160.
- MENDOZA-MENDOZA, A., BERNDT, P., DJAMEI, A., WEISE, C., LINNE, U., MARAHIEL, M., VRANEŠ, M., KÄMPER, J. UND KAHMANN, R. (2009). "Physical-chemical plant-derived signals induce differentiation in *Ustilago maydis*." Molecular microbiology 71(4): 895-911.
- MERCHÁN, V. M. UND KRANZ, J. (1986a). "Wirkung der Blattnäse auf den asexuellen Zyklus des Weizenmehltaus *Erysiphe graminis* DC. f. sp. *tritici* Marchal " Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz 93(3): 246-254.

- MERCHÁN, V. M. UND KRANZ, J. (1986b). "Die Wirkung des Regens auf die Entwicklung des Weizenmehltaus (*Erysiphe graminis* DC. f. sp. *tritici* Marchal)." Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz 93(3): 262-270.
- MERIDA, T., SCHÖNHERR, J. UND SCHMIDT, H. (1981). "Fine structure of plant cuticles in relation to water permeability: the fine structure of the cuticle of *Clivia miniata* Reg. leaves." Planta 152(3): 259-267.
- MEUSEL, I., LEISTNER, E. UND BARTHLOTT, W. (1994). "Chemistry and micromorphology of compound epicuticular wax crystalloids (*Strelitzia* type)." Plant Systematics and Evolution 193(1-4): 115-123.
- MEUSEL, I., NEINHUIS, C., MARKSTÄDTER, C. UND BARTHLOTT, W. (2000). "Chemical composition and recrystallization of epicuticular waxes: Coiled rodlets and tubules." Plant Biology 2(4): 462-470.
- MING, W., WU, D., VAN BENTHEM, R. UND DE WITH, G. (2005). "Superhydrophobic films from raspberry-like particles." Nano Letters 5(11): 2298-2301.
- MOHAMMED, S., HUGGINS, T. D., BEECHER, F., CHICK, C., SENGODON, P., MONDAL, S., PAUDEL, A., IBRAHIM, A. M. H., TILLEY, M. UND HAYS, D. B. (2018). "The role of leaf epicuticular wax in the adaptation of wheat (*Triticum aestivum* L.) to high temperatures and moisture deficit conditions." Crop Science 58(2): 679-689.
- MUELLER, L. E., CARR, P. H. UND LOOMIS, W. E. (1954). "The submicroscopic structure of plant surfaces." American Journal of Botany 41(7): 593-600.
- MÜLLER, C. UND RIEDERER, M. (2005). "Plant surface properties in chemical ecology." Journal of Chemical Ecology 31(11): 2621-2651.
- NAWRATH, C. (2006). "Unraveling the complex network of cuticular structure and function." Current opinion in plant biology 9(3): 281-287.
- NEINHUIS, C. UND BARTHLOTT, W. (1997). "Characterization and distribution of water-repellent, self-cleaning plant surfaces." Annals of Botany 79(6): 667-677.
- NEINHUIS, C., KOCH, K. UND BARTHLOTT, W. (2001). "Movement and regeneration of epicuticular waxes through plant cuticles." Planta 213(3): 427-434.
- NEINHUIS, C., GROß, F., ELFENTHAL, L., BLÖB, S., GRAU, R., FLEISCH, M. UND BAHNEMANN, D. (2014). "Reinigen mit Licht und Regen." Chemie in unserer Zeit 48(2): 92-100.
- NETTING, A. G. UND VON WETTSTEIN-KNOWLES, P. (1973). "The physico-chemical basis of leaf wettability in wheat." Planta 114(4): 289-309.
- NICHOLSON, R. L., YOSHIOKA, H., YAMAOKA, N. UND KUNOH, H. (1988). "Preparation of the infection court by *Erysiphe graminis*: II. Release of esterase enzyme from conidia in response to a contact stimulus." Experimental Mycology 12(4): 336-349.
- NICHOLSON, R. L., KUNOH, H., SHIRAIISHI, T. UND YAMADA, T. (1993). "Initiation of the infection process by *Erysiphe graminis*: Conversion of the conidial surface from hydrophobicity to hydrophilicity and influence of the conidial exudate on the hydrophobicity of the barley leaf surface." Physiological and Molecular Plant Pathology 43(4): 307-318.
- NIELSEN, K. A., NICHOLSON, R. L., CARVER, T. L. W., KUNOH, H. UND OLIVER, R. P. (2000). "First touch: An immediate response to surface recognition in conidia of *Blumeria graminis*." Physiological and Molecular Plant Pathology 56(2): 63-70.
- NIEMIETZ, A., WANDEL, K., BARTHLOTT, W. UND KOCH, K. (2009). "Thermal evaporation of multi-component waxes and thermally activated formation of nanotubules for superhydrophobic surfaces." Progress in Organic Coatings 66(3): 221-227.
- NIEMIETZ, A. (2011). Molekulare Architektur epikutikularer Wachskristalle und die Generierung biomimetischer Oberflächen zur Analyse von Grenzflächeninteraktionen in mikro- und



- nanoskaligen Dimensionen. Dr. rer. nat. Dissertation, Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn.
- NISHIMOTO, S. UND BHUSHAN, B. (2013). "Bioinspired self-cleaning surfaces with superhydrophobicity, superoleophobicity, and superhydrophilicity." *Rsc Advances* 3(3): 671-690.
- NOSONOVSKY, M. UND BHUSHAN, B. (2008). "Roughness-induced superhydrophobicity: a way to design non-adhesive surfaces." *Journal of Physics: Condensed Matter* 20(22): 225009.
- NURAJE, N., KHAN, W. S., LEI, Y., CEYLAN, M. UND ASMATULU, R. (2013). "Superhydrophobic electrospun nanofibers." *Journal of Materials Chemistry A* 1(6): 1929-1946.
- OKU, T., YAMASHITA, S., DOI, Y. UND NISHIHARA, N. (1985). "Host range and forma specialis of cocksfoot powdery mildew fungus (*Erysiphe graminis* DC.) found in Japan." *Japanese Journal of Phytopathology* 51(5): 613-615.
- ÖNER, D. UND MCCARTHY, T. J. (2000). "Ultrahydrophobic surfaces. Effects of topography length scales on wettability." *Langmuir* 16(20): 7777-7782.
- PAMBOU, E., LI, Z., CAMPANA, M., HUGHES, A., CLIFTON, L., GUTFREUND, P., FOUNDLING, J., BELL, G. UND LU, J. R. (2016). "Structural features of reconstituted wheat wax films." *Journal of The Royal Society Interface* 13(120): 20160396.
- PAPIEROWSKA, E., SZPORAK-WASILEWSKA, S., SZEWIŃSKA, J., SZATYŁOWICZ, J., DEBAENE, G. UND UTRATNA, M. (2018). "Contact angle measurements and water drop behavior on leaf surface for several deciduous shrub and tree species from a temperate zone." *Trees* 32(5): 1253-1266.
- PASCHOLATI, S. F., YOSHIOKA, H., KUNOH, H. UND NICHOLSON, R. L. (1992). "Preparation of the infection court by *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*: cutinase is a component of the conidial exudate." *Physiological and Molecular Plant Pathology* 41(1): 53-59.
- PECHOOK, S. UND POKROY, B. (2012). "Self-assembling, bioinspired wax crystalline surfaces with time-dependent wettability." *Advanced Functional Materials* 22(4): 745-750.
- PEIRCE, C. A., PRIEST, C., MCBEATH, T. M. UND MCLAUGHLIN, M. J. (2016). "Uptake of phosphorus from surfactant solutions by wheat leaves: spreading kinetics, wetted area, and drying time." *Soft Matter* 12(1): 209-218.
- PERNEZNY, K., ELLIOTT, M., PALMATEER, A. UND HAVRANEK, N. (2008). "Guidelines for identification and management of plant disease problems: Part II. Diagnosing plant diseases caused by fungi, bacteria and viruses." *EDIS* 2008(2): 1-8.
- PIETRUSIŃSKA, A. UND TRATWAL, A. (2020). "Characteristics of powdery mildew and its importance for wheat grown in Poland." *Plant Protection Science* 56(3): 141-153.
- PODILA, G. K., ROGERS, L. M. UND KOLATTUKUDY, P. E. (1993). "Chemical signals from avocado surface wax trigger germination and appressorium formation in *Colletotrichum gloeosporioides*." *Plant Physiology* 103(1): 267-272.
- POEHLING, H. M. UND VERREET, J. A. (2013). *Lehrbuch der Phytomedizin*. Stuttgart, Verlag Eugen Ulmer.
- POST-BEITTENMILLER, D. (1996). "Biochemistry and molecular biology of wax production in plants." *Annual review of plant physiology and plant molecular biology* 47: 405-430.
- PRYCE-JONES, E., CARVER, T. I. M. UND GURR, S. J. (1999). "The roles of cellulase enzymes and mechanical force in host penetration by *Erysiphe graminis* f.sp.*hordei*." *Physiological and Molecular Plant Pathology* 55(3): 175-182.
- PUENTE, D. W. M. UND BAUR, P. (2011). "Wettability of soybean (*Glycine max* L.) leaves by foliar sprays with respect to developmental changes." *Pest management science* 67(7): 798-806.
- RACOVITA, R. C., HEN-AVIVI, S., FERNANDEZ-MORENO, J.-P., GRANELL, A., AHARONI, A. UND JETTER, R. (2016). "Composition of cuticular waxes coating flag leaf blades and peduncles of *Triticum aestivum* cv. Bethlehem." *Phytochemistry* 130: 182-192.

- RAS, R. H., TIAN, X. UND BAYER, I. S. (2017). Superhydrophobic and superoleophobic nanostructured cellulose and cellulose composites. Handbook of Nanocellulose and Cellulose Nanocomposites Hanieh, K., Ishak, A., Sabu, T. und Alain, D. Weinheim, Wiley-VCH: 731-760.
- REINA-PINTO, J. J. UND YEPHREMOV, A. (2009). "Surface lipids and plant defenses." Plant Physiology and Biochemistry 47(6): 540-549.
- REISIGE, K., GORZELANNY, C., DANIELS, U. UND MOERSCHBACHER, B. M. (2006). "The C28 aldehyde octacosanal is a morphogenetically active component involved in host plant recognition and infection structure differentiation in the wheat stem rust fungus." Physiological and Molecular Plant Pathology 68: 33-40.
- RENTEL, D. (2009). Saatgutqualität. Winterweizen: das Handbuch für Profis. Christen, O. Frankfurt am Main, DLG-Verlag: 45-50.
- REYNHARDT, E. C. UND RIEDERER, M. (1994). "Structures and molecular dynamics of plant waxes." European Biophysics Journal: 59-70.
- RIEDEL, M., EICHNER, A. UND JETTER, R. (2003). "Slippery surfaces of carnivorous plants: Composition of epicuticular wax crystals in *Nepenthes alata* Blanco pitchers." Planta 218(1): 87-97.
- RIEDERER, M. UND SCHREIBER, L. (1995). Waxes-The transport barriers of plant cuticles. Waxes chemistry, molecular biology and functions. Hamilton, R. J. Dundee, Oily Press.
- RIEDERER, M. UND MARKSTÄDTER, C. (1996). Cuticular waxes: a critical assessment of current knowledge. Plant cuticles. Kerstiens, G.: 189-200.
- RIEDERER, M. UND SCHREIBER, L. (2001). "Protecting against water loss: analysis of the barrier properties of plant cuticles." Journal of Experimental Botany 52(363): 2023-2032.
- RINGELMANN, A., RIEDEL, M., RIEDERER, M. UND HILDEBRANDT, U. (2009). "Two sides of a leaf blade: *Blumeria graminis* needs chemical cues in cuticular waxes of *Lolium perenne* for germination and differentiation." Planta 230(1): 95-105.
- ROACH, P., SHIRTCLIFFE, N. J. UND NEWTON, M. I. (2008). "Progress in superhydrophobic surface development." Soft Matter 4(2): 224-240.
- RODEMANN, B. (2009). Krankheiten durch pilzliche Pathogene im Weizen. Winterweizen: das Handbuch für Profis. Christen, O. Frankfurt am Main, DLG-Verlag: 177-235.
- RUBIALES, D., RAMIREZ, M. C., CARVER, T. L. W. UND NIKS, R. E. (2001). "Abnormal germling development by brown rust and powdery mildew on cereals barley mutants." Hereditas 135(2-3): 271-276.
- RYDER, L. S. UND TALBOT, N. J. (2015). "Regulation of appressorium development in pathogenic fungi." Current opinion in plant biology 26: 8-13.
- SAVARY, S., WILLOCQUET, L., PETHYBRIDGE, S. J., ESKER, P., MCROBERTS, N. UND NELSON, A. (2019). "The global burden of pathogens and pests on major food crops." Nature Ecology & Evolution 3(3): 430-439.
- SCHREIBER, L. (1996). "Wetting of the upper needle surface of *Abies grandis*: influence of pH, wax chemistry and epiphyllic microflora on contact angles." Plant, Cell & Environment 19(4): 455-463.
- SCHREIBER, L., SCHORN, K. UND HEIMBURG, T. (1997). "<sup>2</sup>H NMR study of cuticular wax isolated from *Hordeum vulgare* L. leaves: identification of amorphous and crystalline wax phases." European Biophysics Journal 26(5): 371-380.
- SCHUMANN, G. L. UND D'ARCY, C. J. (2010). Essential plant pathology. St Paul, The American Phytopathology Society.
- SHIN, S., SEO, J., HAN, H., KANG, S., KIM, H. UND LEE, T. (2016). "Bio-inspired extreme wetting surfaces for biomedical applications." Materials 9(2): 116.

- SIMPSON, T. G. (2010). The regulation of surface responsive genes in *Blumeria graminis* f. sp. *hordei*. Doctor of Philosophy, Imperial College London.
- SIVAPALAN, A. (1994). "Development of powdery mildew fungi on leaves submerged under water." *Journal of Phytopathology* 140(1): 82-90.
- STOSCH, A. K., SOLGA, A., STEINER, U., OERKE, E. C., BARTHLOTT, W. UND CERMANN, Z. (2007). "Efficiency of self-cleaning properties in wheat (*Triticum aestivum* L.)." *Journal of applied botany and food quality* 81(1): 49-55.
- SUN, T., FENG, L., GAO, X. UND JIANG, L. (2005). "Bioinspired surfaces with special wettability." *Accounts of Chemical Research* 38(8): 644-652.
- SUZUKI, S., KOMIYA, Y., MITTSUI, T., TSUYUMU, S., KUNOH, H., CARVER, T. L. UND NICHOLSON, R. L. (1998). "Release of cell wall degrading enzymes from conidia of *Blumeria graminis* on artificial substrata." *Japanese Journal of Phytopathology* 64(3): 160-167.
- TANAKAMARU, S., TAKEHANA, T. UND KIMURA, K. (1998). "Effect of rainfall exposure on leaf wettability in near-isogenic barley lines with different leaf wax content." *Journal of Agricultural Meteorology* 54(2): 155-160.
- TAVANA, H., AMIRFAZLI, A. UND NEUMANN, A. (2006). "Fabrication of superhydrophobic surfaces of n-hexatriacontane." *Langmuir* 22(13): 5556-5559.
- TAYLOR, P. (2011). "The wetting of leaf surfaces." *Current Opinion in Colloid & Interface Science* 16(4): 326-334.
- TOJO, G. UND FERNANDEZ, M. I. (2006). Oxidation of alcohols to aldehydes and ketones: a guide to current common practice, Springer Science & Business Media.
- TRICINCI, O., TERCENIO, T., MAZZOLAI, B., PUGNO, N. M., GRECO, F. UND MATTOLI, V. (2015). "3D micropatterned surface inspired by *Salvinia molesta* via direct laser lithography." *ACS applied materials & interfaces* 7(46): 25560-25567.
- TRIGIANO, R. N. (2007). Plant pathology concepts and laboratory exercises. Boca Raton, CRC press.
- TROCH, V., AUDENAERT, K., WYAND, R. A., HAESAERT, G., HÖFTE, M. UND BROWN, J. K. M. (2014). "*Formae speciales* of cereal powdery mildew: close or distant relatives?" *Molecular Plant Pathology* 15(3): 304-314.
- TROUGHTON, J. H. UND HALL, D. M. (1967). "Extracuticular wax and contact angle measurements on wheat (*Triticum vulgare* L.)." *Australian Journal of Biological Sciences* 20(3): 509-526.
- TRUSKETT, V. N. UND STEBE, K. J. (2003). "Influence of surfactants on an evaporating drop: Fluorescence images and particle deposition patterns." *Langmuir* 19(20): 8271-8279.
- TSUBA, M., KATAGIRI, C., TAKEUCHI, Y., TAKADA, Y. UND YAMAOKA, N. (2002). "Chemical factors of the leaf surface involved in the morphogenesis of *Blumeria graminis*." *Physiological and Molecular Plant Pathology* 60(2): 51-57.
- TUCKER, S. L. UND TALBOT, N. J. (2001). "Surface attachment and Pre-penetration stage development by plant pathogenic fungi." *Annual Review of Phytopathology* 39: 385-417.
- TUKEY, H. B. (1970). "The leaching of substances from plants." *Annual Review of Plant Physiology* 21(1): 305-324.
- TULLOCH, A. P. (1973). "Composition of leaf surface waxes of *Triticum* species: Variation with age and tissue." *Phytochemistry* 12.
- TUTEJA, A., CHOI, W., MA, M., MABRY, J. M., MAZZELLA, S. A., RUTLEDGE, G. C., MCKINLEY, G. H. UND COHEN, R. E. (2007). "Designing superoleophobic surfaces." *Science* 318(5856): 1618-1622.
- UCHIYAMA, T. UND OKUYAMA, K. (1990). "Participation of *Oryza sativa* leaf wax in appressorium formation by *Pyricularia oryzae*." *Phytochemistry* 29(1): 91-92.

- ULLAH, K. N., LI, N., SHEN, T., WANG, P., TANG, W., MA, S., ZHANG, Z., JIA, H., KONG, Z. UND MA, Z. (2018). "Fine mapping of powdery mildew resistance gene *Pm4e* in bread wheat (*Triticum aestivum* L.)." *Planta* 248(5): 1319-1328.
- VERMEIJ, G. J. (2015). "Plants that lead: do some surface features direct enemy traffic on leaves and stems?" *Biological Journal of the Linnean Society* 116(2): 288-294.
- VON RÖPENACK, E., PARR, A. UND SCHULZE-LEFERT, P. (1998). "Structural analyses and dynamics of soluble and cell wall-bound phenolics in a broad spectrum resistance to the powdery mildew fungus in barley." *Journal of Biological Chemistry* 273(15): 9013-9022.
- VON WETTSTEIN-KNOWLES, P. (1974). "Ultrastructure and origin of epicuticular wax tubes." *Journal of ultrastructure research* 46(3): 483-498.
- WALTERS, D. R. (2006). "Disguising the leaf surface: the use of leaf coatings for plant disease control." *European Journal of Plant Pathology* 114(3): 255-260.
- WANG, J., JEEWANI, D. C. UND WANG, Z. (2019). "Composition and morphology of cuticular waxes on the spikes, flag leaf blades and flag leaf sheaths of wheat (*Triticum aestivum*)." *Interantional journal of agriculture and biology* 21(6): 1249-1255.
- WANG, X., ZHI, P., FAN, Q., ZHANG, M. UND CHANG, C. (2018). "Wheat CHD3 protein TaCHR729 regulates the cuticular wax biosynthesis required for stimulating germination of *Blumeria graminis* f.sp. *tritici*." *Journal of Experimental Botany* 70(2): 701-713.
- WANG, Y., WANG, J., CHAI, G., LI, C., HU, Y., CHEN, X. UND WANG, Z. (2015). "Developmental changes in composition and morphology of cuticular waxes on leaves and spikes of glossy and glaucous wheat (*Triticum aestivum* L.)." *PLoS One* 10(10): 1-17.
- WATSON, G. S., CRIBB, B. W. UND WATSON, J. A. (2010). "How micro/nanoarchitecture facilitates anti-wetting: An elegant hierarchical design on the termite wing." *ACS Nano* 4(1): 129-136.
- WEIDENBACH, D., JANSEN, M., FRANKE, R. B., HENSEL, G., WEISSGERBER, W., ULFERTS, S., JANSEN, I., SCHREIBER, L., KORZUN, V., PONTZEN, R., KUMLEHN, J., PILLEN, K. UND SCHAFFRATH, U. (2014). "Evolutionary conserved function of barley and Arabidopsis 3-KETOACYL-CoA SYNTHASES in providing wax signals for germination of powdery mildew fungi." *Plant Physiology* 166(3): 1621-1633.
- WEIS, C., HILDEBRANDT, U., HOFFMANN, T., HEMETSBERGER, C., PFEILMEIER, S., K€ ONIG, C., SCHWAB, W., EICHMANN, R. UND H€ UCKELHOVEN, R. (2014). "CYP83A1 is required for metabolic compatibility of Arabidopsis with the adapted powdery mildew fungus *Erysiphe cruciferarum*." *New Phytologist* 202: 1310-1319.
- WENZEL, R. N. (1936). "Resistance of solid surfaces to wetting by water." *Industrial & Engineering Chemistry* 28(8): 988-994.
- WHITESIDES, G. M. UND BONCHEVA, M. (2002). "Beyond molecules: self-assembly of mesoscopic and macroscopic components." *PNAS* 99(8): 4769-4774.
- WHITESIDES, G. M. UND GRZYBOWSKI, B. (2002). "Self-assembly at all scales." *Science* 295(5564): 2418-2421.
- WIESNER, J. (1871). "Beobachtungen über die Wachsüberzüge der Epidermis." *Botanische Zeitung* 29(45): 796-774.
- WILLEMS, G. H. (2003). Entwicklung der ff. sp. *avenae*, *tritici* und *hordei* von *Blumeria graminis* DC. in kompatiblen und inkompatiblen Systemen mit *Avena sativa* L. Dr. agr. Dissertation, Justus-Liebig-Universität Gießen.
- WONG, T.-S., KANG, S. H., TANG, S. K., SMYTHE, E. J., HATTON, B. D., GRINTHAL, A. UND AIZENBERG, J. (2011). "Bioinspired self-repairing slippery surfaces with pressure-stable omniphobicity." *Nature* 477(7365): 443-447.

- WRIGHT, A. J., CARVER, T. L. W., THOMAS, B. J., FENWICK, N. I. D., KUNOH, H. UND NICHOLSON, R. L. (2000). "The rapid and accurate determination of germ tube emergence site by *Blumeria graminis* conidia." *Physiological and Molecular Plant Pathology* 57(6): 281-301.
- WRIGHT, A. J., THOMAS, B. J. UND CARVER, T. L. W. (2002). "Early adhesion of *Blumeria graminis* to plant and artificial surfaces demonstrated by centrifugation." *Physiological and Molecular Plant Pathology* 61(4): 217-226.
- WU, D., CHEN, Q.-D., YAO, J., GUAN, Y.-C., WANG, J.-N., NIU, L.-G., FANG, H.-H. UND SUN, H.-B. (2010). "A simple strategy to realize biomimetic surfaces with controlled anisotropic wetting." *Applied Physics Letters* 96(5): 053704.
- WU, D., WANG, J. N., WU, S. Z., CHEN, Q. D., ZHAO, S., ZHANG, H., SUN, H. B. UND JIANG, L. (2011). "Three-level biomimetic rice-leaf surfaces with controllable anisotropic sliding." *Advanced Functional Materials* 21(15): 2927-2932.
- WYAND, R. A. UND BROWN, J. K. (2003). "Genetic and forma specialis diversity in *Blumeria graminis* of cereals and its implications for host-pathogen co-evolution." *Molecular Plant Pathology* 4(3): 187-198.
- XIONG, P., CHEN, Z., JIA, Z., WANG, Z., PALTA, J. A. UND XU, B. (2018). "Variability in leaf wettability and surface water retention of main species in semiarid Loess Plateau of China." *Ecohydrology* 11(8): 1-12.
- XUE, D., ZHANG, X., LU, X., CHEN, G. UND CHEN, Z.-H. (2017). "Molecular and evolutionary mechanisms of cuticular wax for plant drought tolerance." *Frontiers in Plant Science* 8(621): 1-12.
- YANG, S. L. UND ELLINGBOE, A. H. (1972). "Cuticle layer as a determining factor for the formation of mature appressoria of *Erysiphe graminis* on wheat and barley." *Phytopathology* 62(7): 708-714.
- YAO, C., MYUNG, K., WANG, N. UND JOHNSON, A. (2014). Spray retention of crop protection agrochemicals on the plant surface. Retention, uptake, and translocation of agrochemicals in plants. Myung, K. Washington DC, American Chemical Society. 1171: 1-22.
- YAO, X., SONG, Y. UND JIANG, L. (2011). "Applications of bio-inspired special wettable surfaces." *Advanced Materials* 23(6): 719-734.
- YARWOOD, C. (1950). "Water content of fungus spores." *American Journal of Botany* 37(8): 636-639.
- YEATS, T. H. UND ROSE, J. K. (2013). "The formation and function of plant cuticles." *Plant Physiology* 163: 5-20.
- YOUNG, T. (1805). "An essay on the cohesion of fluids." *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* 95: 65-87.
- ZABKA, V., STANGL, M., BRINGMANN, G., VOGG, G., RIEDERER, M. UND HILDEBRANDT, U. (2008). "Host surface properties affect prepenetration processes in the barley powdery mildew fungus." *New Phytologist* 177(1): 251-263.
- ZEIGER, C., DA SILVA, I. C. R., MAIL, M., KAVALENKA, M. N., BARTHLOTT, W. UND HÖLSCHER, H. (2016). "Microstructures of superhydrophobic plant leaves-inspiration for efficient oil spill cleanup materials." *Bioinspiration & Biomimetics* 11(5): 056003.
- ZEISLER-DIEHL, V., MÜLLER, Y. UND SCHREIBER, L. (2018). "Epicuticular wax on leaf cuticles does not establish the transpiration barrier, which is essentially formed by intracuticular wax." *Journal of Plant Physiology* 227: 66-74.
- ZEISLER, V. UND SCHREIBER, L. (2015). "Epicuticular wax on cherry laurel (*Prunus laurocerasus*) leaves does not constitute the cuticular transpiration barrier." *Planta* 243(1): 65-81.
- ZEYEN, R., CARVER, T. UND LYNKJÆR, M. F. (2002). Epidermal cell papillae. The powdery mildews. A comprehensive treatise. Bushnell, W. R., Dik, A. J., Carver, T. L. W. und Belanger, R. R. St. Paul, APS Press: 107-125.

- ZHANG, D., ZHU, K., DONG, L., LIANG, Y., LI, G., FANG, T., GUO, G., WU, Q., XIE, J., CHEN, Y., LU, P., LI, M., ZHANG, H., WANG, Z., ZHANG, Y., SUN, Q. UND LIU, Z. (2019). "Wheat powdery mildew resistance gene *Pm64* derived from wild emmer (*Triticum turgidum* var. *dicoccoides*) is tightly linked in repulsion with stripe rust resistance gene *Yr5*." *The Crop Journal* 7(6): 761-770.
- ZHANG, S. (2003). "Fabrication of novel biomaterials through molecular self-assembly." *Nature Biotechnology* 21(10): 1171-1178.
- ZHANG, X., SHI, F., NIU, J., JIANG, Y. UND WANG, Z. (2008). "Superhydrophobic surfaces: from structural control to functional application." *Journal of Materials Chemistry* 18(6): 621-633.
- ZHANG, Y.-L., XIA, H., KIM, E. UND SUN, H.-B. (2012). "Recent developments in superhydrophobic surfaces with unique structural and functional properties." *Soft Matter* 8(44): 11217-11231.
- ZHANG, Z., WANG, W. UND LI, W. (2013). "Genetic interactions underlying the biosynthesis and inhibition of  $\beta$ -diketones in wheat and their impact on glaucousness and cuticle permeability." *PLoS One* 8(1): 1-13.
- ZHANG, Z., WEI, W., ZHU, H., CHALLA, G. S., BI, C., TRICK, H. N. UND LI, W. (2015). "*W3* is a new wax locus that is essential for biosynthesis of  $\beta$ -diketone, development of glaucousness, and reduction of cuticle permeability in common wheat." *PLoS One* 10(10): 1-21.
- ZHU, Y. Q., YU, C. X., LI, Y., ZHU, Q. Q., ZHOU, L., CAO, C., YU, T. T. UND DU, F. P. (2014). "Research on the changes in wettability of rice (*Oryza sativa*) leaf surfaces at different development stages using the OWRK method." *Pest management science* 70(3): 462-469.
- ZIELKE, P. C. (2008). Experimentelle Untersuchung der Bewegung von Tropfen auf Festkörperoberflächen mit einem Gradienten der Benetzbarkeit. Dr. ing. Dissertation, Universität Erlangen-Nürnberg.
- ZIV, C., ZHAO, Z., GAO, Y. G. UND XIA, Y. (2018). "Multifunctional roles of plant cuticle during plant-pathogen interactions." *Frontiers in Plant Science* 9(1088): 1-8.

## 7 Abbildungsverzeichnis

<b>Abbildung 1.1:</b> Schematische Übersicht über den Aufbau der pflanzlichen Kutikula.....	3
<b>Abbildung 1.2:</b> Schematische Darstellung der Hauptformen epikutikularer Wachse .....	4
<b>Abbildung 1.3:</b> Kategorien der Benetzbarkeit und deren charakteristische Kontaktwinkel .....	5
<b>Abbildung 1.4:</b> Benetzungsmodelle .....	7
<b>Abbildung 1.5:</b> Kontaktwinkelhysterese .....	9
<b>Abbildung 1.6:</b> Lebenszyklus von <i>B. graminis</i> .....	16
<b>Abbildung 1.7:</b> Makrostadien der Entwicklung der Weizenpflanzen .....	18
<b>Abbildung 2.1:</b> Geerntete Weizenpflanze im 5 Blattstadium .....	28
<b>Abbildung 2.2:</b> Durchgeführte Untersuchungen zur Bestimmung der Benetzungseigenschaften .....	35
<b>Abbildung 2.3:</b> Kipp- und Blickrichtungen bei den Messungen der Benetzungseigenschaften .....	35
<b>Abbildung 2.4:</b> REM Mikrographien der Wachsschüppchen der adaxialen und abaxialen Blattseiten (Blatt 3) der verschiedenen Weizensorten der Gewächshauskultur .....	40
<b>Abbildung 2.5:</b> Mikroskopische Aufnahmen infizierter Weizenblätter.....	42
<b>Abbildung 2.6:</b> REM Mikrographien der Blattoberflächen im Freiland kultivierter Weizenpflanzen.....	43
<b>Abbildung 2.7:</b> REM Mikrographien der Blattoberflächen .....	44
<b>Abbildung 2.8:</b> Vergleich der Wachszusammensetzung chemisch extrahierter und mechanisch abgehobener Wachse .....	46
<b>Abbildung 2.9:</b> REM Mikrographien einer Blattoberfläche nach Wachsabhebung und der Unterseite der Kollodiumabzüge .....	47
<b>Abbildung 2.10:</b> Wachszusammensetzungen der verschiedenen Blätter der Weizensorte Ponticus der Gewächshauskultur.....	49
<b>Abbildung 2.11:</b> Wachszusammensetzungen der verschiedenen Weizensorten der Gewächshauskultur.....	52

---

<b>Abbildung 2.12:</b> Wachszusammensetzungen der verschiedenen Weizensorten der ersten Freilandkultur .....	55
<b>Abbildung 2.13:</b> Wachszusammensetzungen der verschiedenen Weizensorten der zweiten Freilandkultur.....	58
<b>Abbildung 2.14:</b> Vergleich der Wachszusammensetzung der Gewächshaus- und der ersten Freilandkultur der Weizensorte Ponticus .....	61
<b>Abbildung 2.15:</b> Vergleich der Wachszusammensetzungen der beiden Freilandkulturen der Weizensorte Porthus.....	64
<b>Abbildung 2.16:</b> Abgerollte Tropfen der beiden Längsrichtungen.....	66
<b>Abbildung 2.17:</b> Goniometer-Bilder von Wassertropfen auf Weizenblättern .....	68
<b>Abbildung 2.18:</b> Heatmap der Kontaktwinkel der verschiedenen Weizenblätter.....	68
<b>Abbildung 2.19:</b> Heatmap der Hysteresen der verschiedenen Weizenblätter .....	70
<b>Abbildung 2.20:</b> Heatmap der abgerollten Tropfen (% aller applizierter Tropfen) auf den verschiedenen Weizenblättern .....	71
<b>Abbildung 2.21:</b> Heatmap der Abrollwinkel auf den verschiedenen Weizenblättern.....	73
<b>Abbildung 2.22:</b> Korrelation der Benetzungseigenschaften der Blätter der Weizenpflanzen der ersten Freilandkultur. ....	74
<b>Abbildung 2.23:</b> Benetzungseigenschaften der Weizenpflanzen der ersten und zweiten Freilandkultur .....	78
<b>Abbildung 2.24:</b> Krankheitsschwere der Ober- und Unterseiten der einzelnen Blätter der verschiedenen Sorten.....	80
<b>Abbildung 3.1:</b> Oxidation eines primären Alkohols zu einem Aldehyd mittels PCC.....	105
<b>Abbildung 3.2:</b> Zusammenfassende Darstellung der Arbeitsschritte zur Synthese und Aufreinigung der Aldehyde.....	107
<b>Abbildung 3.3:</b> Apparaturen zur Synthese und zur Auftrennung der Aldehyde .....	108
<b>Abbildung 3.4:</b> Parameter eines Dünnschichtchromatogramms zur Berechnung des Retentionsfaktors (Rf).....	108
<b>Abbildung 3.5:</b> Schematische Zeichnung der Apparatur für die Beschichtung der Proben mittels PVD.....	111
<b>Abbildung 3.6:</b> Ergebnisse der gaschromatographischen Auftrennung des Produkts des ersten Ansatzes der 1-Octacosanal Synthese .....	119



---

<b>Abbildung 3.7:</b> Ergebnisse der gaschromatographischen Auftrennung des Produkts der zweiten 1-Octacosanal Synthese mit Schutzgas .....	120
<b>Abbildung 3.8:</b> Ergebnisse der gaschromatographischen Auftrennung des Produkts der 1-Hexacosanal Synthese.....	121
<b>Abbildung 3.9:</b> Ergebnisse der DSC des Weizenwachsgemisches .....	122
<b>Abbildung 3.10:</b> Fotografien der Glasplättchen vor und nach dem Bedampfen.....	122
<b>Abbildung 3.11:</b> Zusammensetzung des Wachsextrakts für die chemische Analyse der Freilandpflanzen und des Wachsextraktes für die Rekristallisation der Sorte Akteur.....	123
<b>Abbildung 3.12:</b> Relative Wachszusammensetzung des Wachsextrakts und der Wachsbeschichtung der Sorte Ponticus.....	124
<b>Abbildung 3.13:</b> REM Mikrographien rekristallisierter Strukturen aus Weizenwachs auf Glas.....	126
<b>Abbildung 3.14:</b> REM Mikrographien rekristallisierter Strukturen aus Weizenwachs auf Repliken.....	127
<b>Abbildung 3.15:</b> REM Mikrographien rekristallisierter Strukturen aus 1-Octacosanol auf Glas.....	128
<b>Abbildung 3.16:</b> REM Mikrographien rekristallisierter Strukturen aus 1-Octacosanol auf Repliken.....	129
<b>Abbildung 3.17:</b> REM Mikrographien rekristallisierter Strukturen aus den Alkohol-Aldehyd-Gemischen auf Glas.....	130
<b>Abbildung 3.18:</b> REM Mikrographien des Schmelze-Testsystems.....	130
<b>Abbildung 3.19:</b> Ergebnisse der AFM Untersuchung der Schichtdicke eines Weizenwachs-Testsystems.....	131
<b>Abbildung 3.20:</b> Anteile abgerollter und direkt abgerollter Tropfen auf den Weizenblättern und auf den verschiedenen Testsystemen.....	133
<b>Abbildung 3.21:</b> Benetzungseigenschaften der 1-Octacosanol-Testsysteme .....	136
<b>Abbildung 3.22:</b> Benetzungseigenschaften der Weizenwachs-Testsysteme .....	139
<b>Abbildung 3.23:</b> Benetzungseigenschaften der ausgewählten Testsysteme .....	142
<b>Abbildung 3.24:</b> Tropfen auf den verschiedenen Oberflächen .....	143
<b>Abbildung 3.25:</b> Korrelation der Benetzungseigenschaften der Testsysteme.....	144

---

<b>Abbildung 4.1:</b> Benebelung der Proben in einem geschlossenem System mit einem Ultraschallverdampfer .....	161
<b>Abbildung 4.2:</b> Benebelung künstlicher Oberflächen .....	163
<b>Abbildung 4.3:</b> Absolute Keimentwicklung der Mehltaukonidien unter verschiedenen Keimungsbedingungen .....	166
<b>Abbildung 4.4:</b> Relative Keimentwicklung der Mehltaukonidien unter verschiedenen Keimungsbedingungen .....	167
<b>Abbildung 4.5:</b> Keimentwicklung von <i>B. graminis</i> auf den Blattoberflächen verschiedener Weizensorten .....	168
<b>Abbildung 4.6:</b> Entwicklungsstadien der <i>B. graminis</i> Konidien auf dem Weizenblatt und auf den Testsystemen.....	170
<b>Abbildung 4.7:</b> Entwicklungsstadien der <i>B. graminis</i> Konidien auf den Testsystemen und auf den Negativkontrollen .....	171
<b>Abbildung 4.8:</b> Übersicht der Keimentwicklung der Mehltaukonidien auf dem Weizenblatt und den Testsystemen.....	172
<b>Abbildung 4.9:</b> Keimentwicklung der Mehltaukonidien auf den Testsystemen im Vergleich zu den Kontrollen.....	174
<b>Abbildung 4.10:</b> Mikroskopische Aufnahme toter Konidien auf Glas .....	176
<b>Abbildung 4.11:</b> Übersicht der Keimentwicklung der Mehltaukonidien auf den Testsystemen unter Berücksichtigung der toten Konidien.....	176
<b>Abbildung 4.12:</b> Keimentwicklung der Mehltaukonidien mit toten Konidien auf den Testsystemen im Vergleich zu den Kontrollen .....	178
<b>Abbildung 10.1:</b> Wachszusammensetzungen der verschiedenen Blätter der Weizensorte Porthus der Gewächshauskultur .....	236
<b>Abbildung 10.2:</b> Wachszusammensetzungen der verschiedenen Blätter der Weizensorte Akteur der Gewächshauskultur.....	237
<b>Abbildung 10.3:</b> Vergleich der Wachszusammensetzung der Weizensorte Porthus.....	238
<b>Abbildung 10.4:</b> Vergleich der Wachszusammensetzung der Weizensorte Akteur .....	239
<b>Abbildung 10.5:</b> Vergleich der Wachszusammensetzungen der beiden Freilandkulturen der Weizensorte Ponticus .....	240

---

<b>Abbildung 10.6:</b> Vergleich der Wachszusammensetzung der beiden Freilandkulturen der Weizensorte Akteur .....	241
<b>Abbildung 10.7:</b> Kontaktwinkel auf den Oberseiten der Weizenblätter in Blickrichtung längs und quer zur Blattaderung.....	242
<b>Abbildung 10.8:</b> Kontaktwinkel auf den Unterseiten der Weizenblätter in Blickrichtung längs und quer zur Blattaderung.....	243
<b>Abbildung 10.9:</b> Kontaktwinkel auf den unterschiedlich alten Weizenblättern .....	244
<b>Abbildung 10.10:</b> Kontaktwinkel auf den Ober- und Unterseiten der verschiedenen Weizenblätter in Blickrichtung längs zur Blattaderung .....	245
<b>Abbildung 10.11:</b> Kontaktwinkel auf den Ober- und Unterseiten der verschiedenen Weizenblätter in Blickrichtung quer zur Blattaderung.....	246
<b>Abbildung 10.12:</b> Kontaktwinkel auf den Blättern der verschiedenen Weizensorten....	247
<b>Abbildung 10.13:</b> Hysteresen auf den Oberseiten der Weizenblätter in Blickrichtung längs und quer zur Blattaderung.....	248
<b>Abbildung 10.14:</b> Hysteresen auf den Unterseiten der Weizenblätter in Blickrichtung längs und quer zur Blattaderung.....	249
<b>Abbildung 10.15:</b> Hysteresen auf den unterschiedlich alten Weizenblättern.....	250
<b>Abbildung 10.16:</b> Hysteresen auf den Ober- und Unterseiten der verschiedenen Weizenblätter in Blickrichtung längs zur Blattaderung .....	251
<b>Abbildung 10.17:</b> Hysteresen auf den Ober- und Unterseiten der verschiedenen Weizenblätter in Blickrichtung quer zur Blattaderung.....	252
<b>Abbildung 10.18:</b> Hysteresen auf den Blättern der verschiedenen Weizensorten .....	253
<b>Abbildung 10.19:</b> Abrollwinkel auf den Oberseiten der Weizenblätter bei longitudinaler und transversaler Kipprichtung.....	254
<b>Abbildung 10.20:</b> Abrollwinkel auf den Unterseiten der Weizenblätter bei longitudinaler und transversaler Kipprichtung.....	255
<b>Abbildung 10.21:</b> Abrollwinkel auf den Oberseiten der unterschiedlich alten Weizenblätter.....	256
<b>Abbildung 10.22:</b> Abrollwinkel auf den Unterseiten der unterschiedlich alten Weizenblätter.....	257

<b>Abbildung 10.23:</b> Abrollwinkel auf den Ober- und Unterseiten der verschiedenen Weizenblätter bei longitudinaler Kipprichtung.....	258
<b>Abbildung 10.24:</b> Abrollwinkel auf den Ober- und Unterseiten der verschiedenen Weizenblätter bei transversaler Kipprichtung.....	259
<b>Abbildung 10.25:</b> Abrollwinkel auf den Blättern der verschiedenen Weizensorten.....	260
<b>Abbildung 10.26:</b> Zusammensetzung des Wachsextrakts für die chemische Analyse der Freilandpflanzen und des Wachsextraktes für die Rekristallisation der Sorte Ponticus...	261
<b>Abbildung 10.27:</b> Zusammensetzung des Wachsextrakts für die chemische Analyse der Freilandpflanzen und des Wachsextraktes für die Rekristallisation der Sorte Porthus ....	262
<b>Abbildung 10.28:</b> Keimentwicklung von <i>B. graminis</i> auf dem Weizenblatt und den verschiedenen künstlichen Oberflächen .....	263
<b>Abbildung 10.29:</b> Relative Keimentwicklung von <i>B. graminis</i> auf dem Weizenblatt und den verschiedenen künstlichen Oberflächen .....	264
<b>Abbildung 10.30:</b> Keimentwicklung von <i>B. graminis</i> auf dem Weizenblatt und den verschiedenen künstlichen Oberflächen unter Berücksichtigung toter Konidien .....	265

## 8 Tabellenverzeichnis

<b>Tabelle 2.1:</b> Verwendete Weizensorten .....	27
<b>Tabelle 2.2:</b> Temperaturprogramm der Wachsanalyse mittels GC .....	32
<b>Tabelle 2.3:</b> Temperaturprogramm zur Wartung der GC-Säule .....	33
<b>Tabelle 2.4:</b> Übersicht der durchgeführten Experimente .....	38
<b>Tabelle 2.5:</b> Übersicht der signifikanten Unterschiede der Benetzungsparameter .....	76
<b>Tabelle 3.1:</b> Entwickelte Testsysteme.....	105
<b>Tabelle 3.2:</b> Chemikalien für die Synthesen der Aldehyde .....	107
<b>Tabelle 3.3:</b> Temperaturprogramm zur Bestimmung des Schmelzpunktes mittels DSC	110
<b>Tabelle 3.4:</b> Rekristallisationsbedingungen der verschiedenen Testsysteme .....	112
<b>Tabelle 3.5:</b> Liste der hergestellten Testsysteme .....	113
<b>Tabelle 3.6:</b> Ergebnisse der Aldehydsynthesen.....	118
<b>Tabelle 4.1:</b> Verwendete Substrate für die Keimungsexperimente .....	159
<b>Tabelle 4.2:</b> Benetzungseigenschaften der Substrate für die Keimungsexperimente.....	159

## 9 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich ganz herzlich bei allen Personen bedanken, die mich während der Anfertigung dieser Dissertation unterstützt haben.

Mein besonderer Dank gilt Frau Prof. Dr. Kerstin Koch für die Möglichkeit dieses Thema zu bearbeiten, die wertvollen wissenschaftlichen Anregungen und die intensive Betreuung während der Promotion.

Herrn Prof. Dr. Lukas Schreiber danke ich herzlich für die stete Gesprächsbereitschaft, die fachliche Beratung und die hilfreichen Anregungen zum Thema.

Frau Prof. Dr. Gerhild van Echten-Deckert und Herrn Prof. Dr. Gerhard von der Emde danke ich für die freundliche Bereitschaft ein Teil der Prüfungskommission zu sein.

Für die finanzielle Unterstützung meiner Promotion durch das „Start’in Stipendium Promotion“ bedanke ich mich bei der Hochschule Rhein-Waal.

Frau Christa Brunner (Saatzucht Josef Breun GmbH & Co. KG) und Herrn Dr. Andreas Jakobi (Strube D&S GmbH) danke ich für die Bereitstellung des Saatguts der verschiedenen Weizensorten.

Bei Herrn Prof. Dr. Ullrich Schaffrath und Frau Renate Schubert bedanke ich mich für die praktischen Hinweise und die Überlassung des Pilzisolates.

Frau Dr. Charlotte Petruschke danke ich für die herzliche Aufnahme und für die Unterstützung bei der Durchführung der Experimente zur Wachsanalyse an der Universität Bonn.

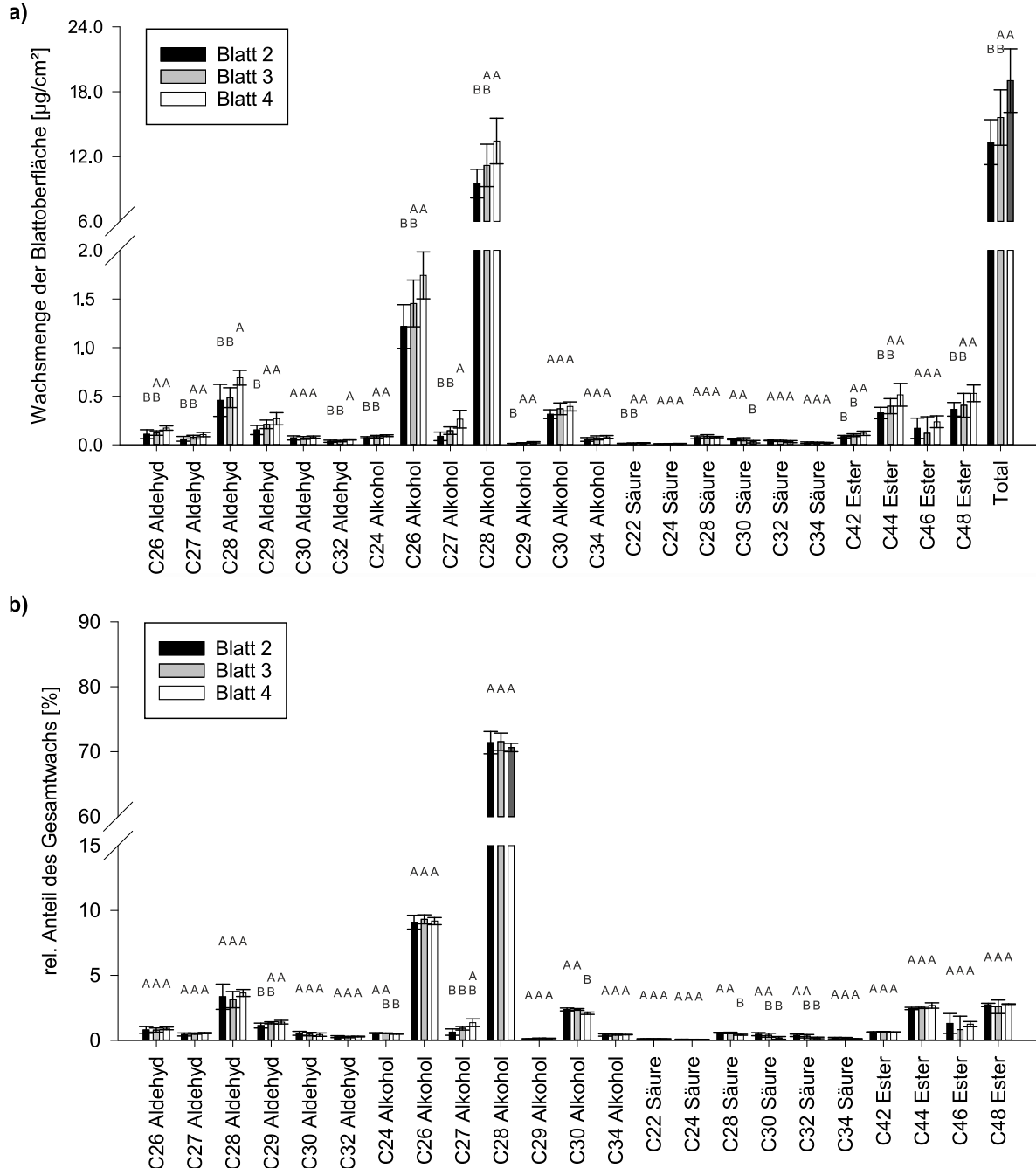
Herrn Prof. Dr. Christoph Heß, Herrn Franz Kuhnigk, Herrn Dr. Stefan Weber und Frau Dr. Eva Ziegler danke ich für die fachliche Beratung und für die Unterstützung der experimentellen und der praktischen Arbeiten.

Für den Rückhalt meiner Familie und Freunde bin ich sehr dankbar. Insbesondere danke ich meiner Mutter und meinem Mann für die Unterstützung und den stetigen Zuspruch während der Promotion.

## **10 Anhang**

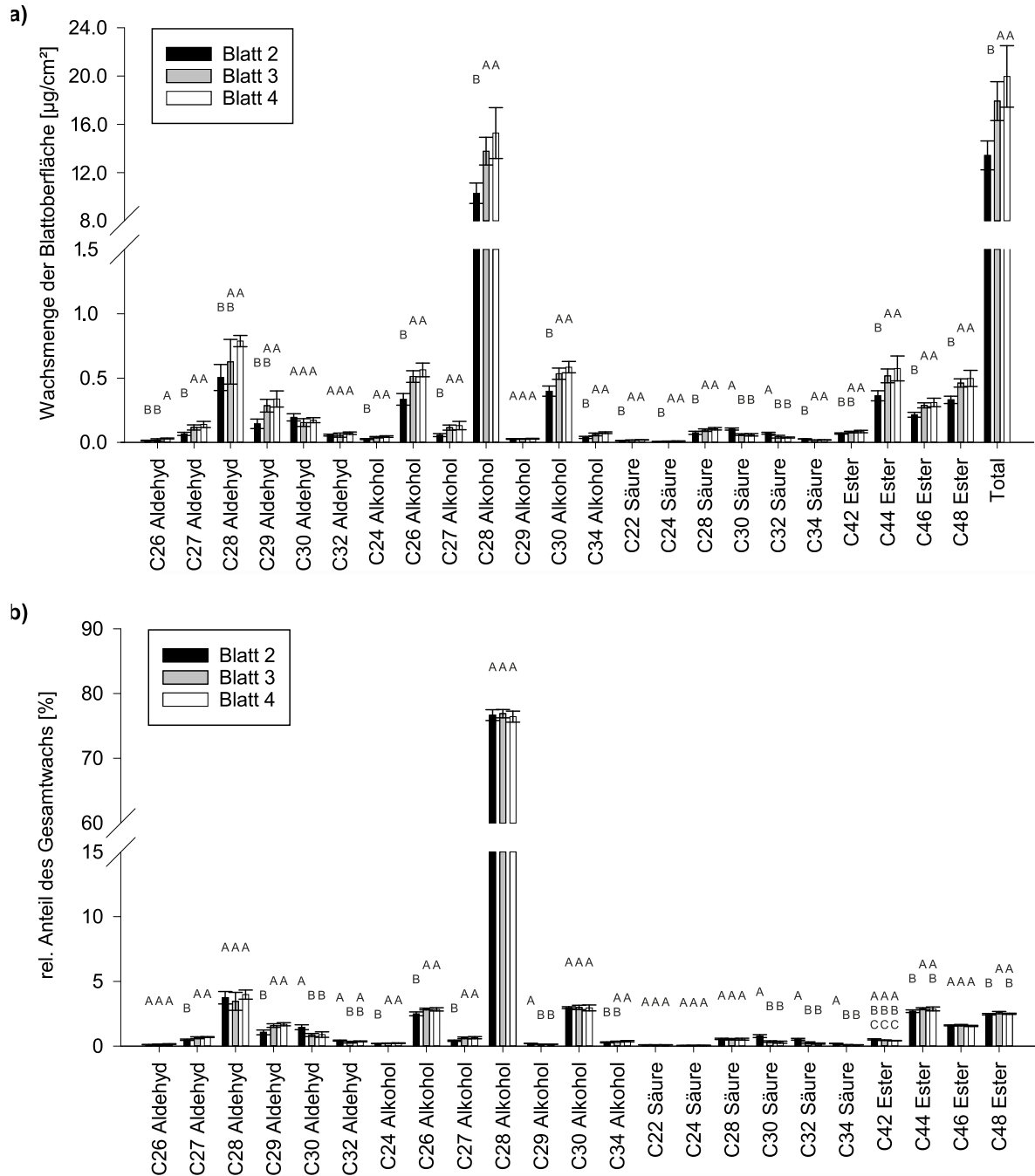
## 10.1 Anhang Kapitel 1

### 10.1.1 Untersuchung der Wachschemie

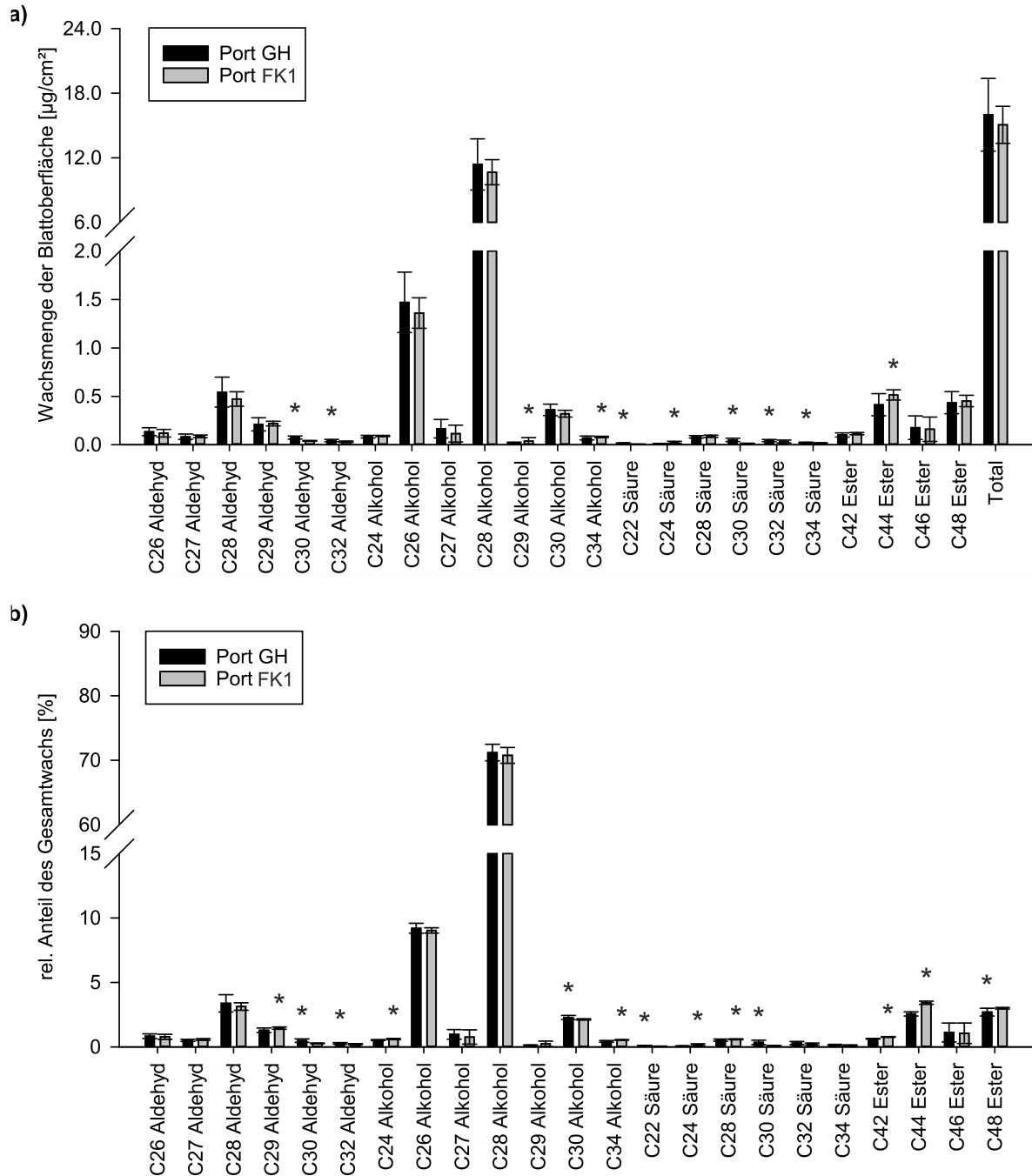


**Abbildung 10.1: Wachszusammensetzungen der verschiedenen Blätter der Weizensorte Porthus der Gewächshauskultur;** a) absolute und b) relative Zusammensetzung; Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Mengen und Anteilen der jeweiligen Wachskomponente ( $p < 0,05$ , getestet durch eine ANOVA mit anschließendem *Post Hoc* Tukey Test).

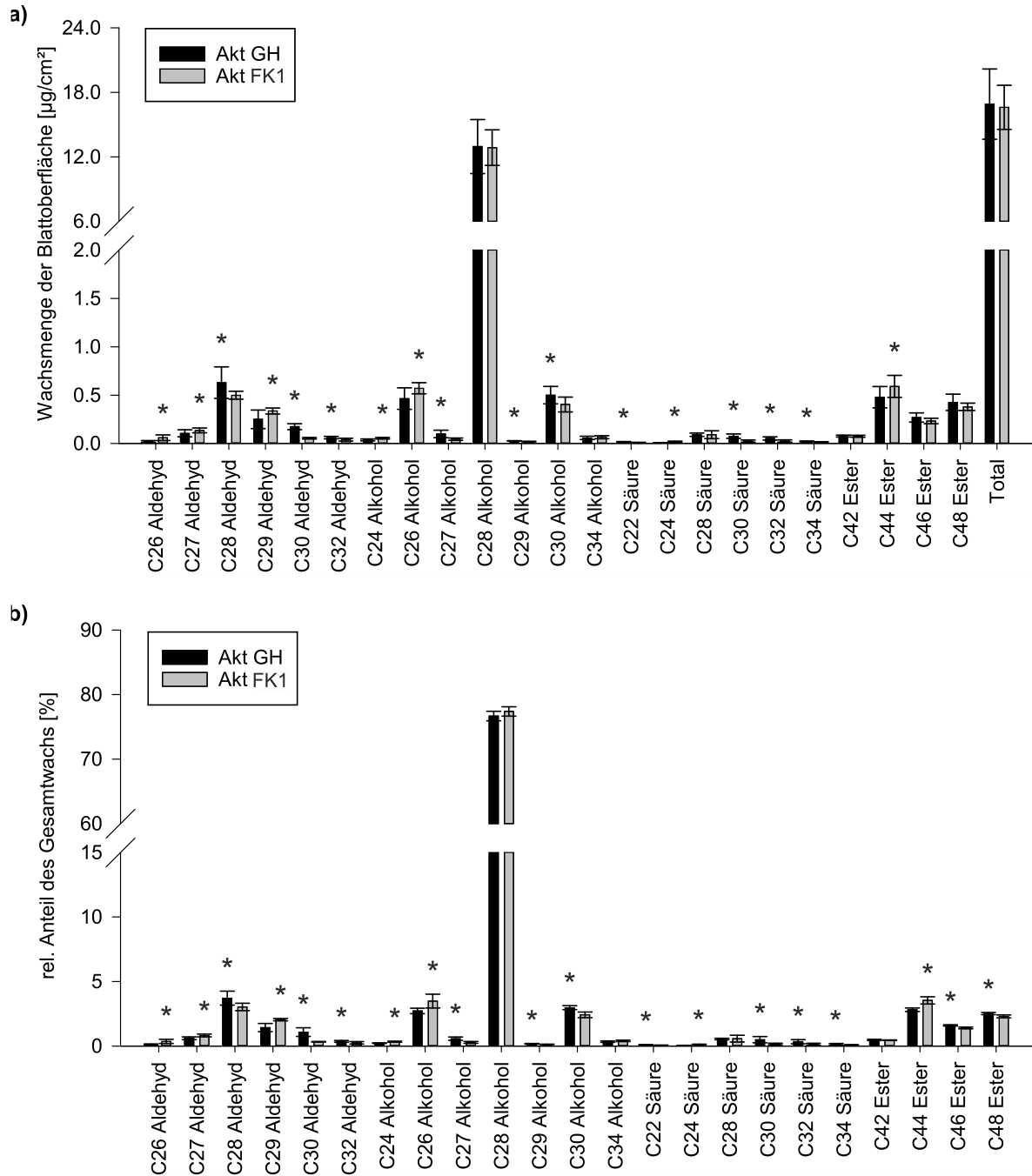




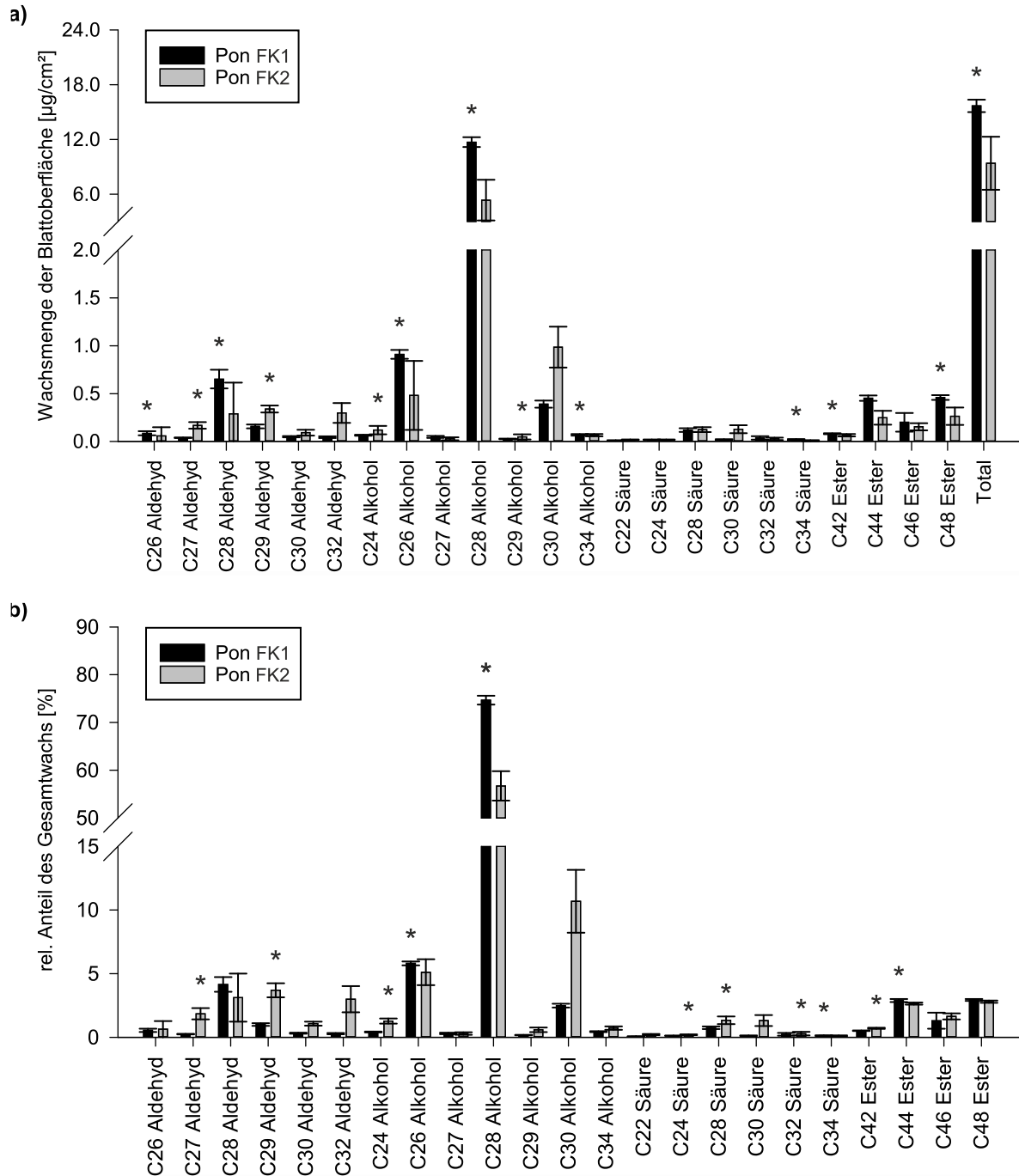
**Abbildung 10.2: Wachszusammensetzungen der verschiedenen Blätter der Weizensorte Akteur der Gewächshauskultur;** a) absolute und b) relative Zusammensetzung; Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Mengen und Anteilen der jeweiligen Wachskomponente ( $p < 0,05$ , getestet durch eine ANOVA mit anschließendem *Post Hoc* Tukey Test).



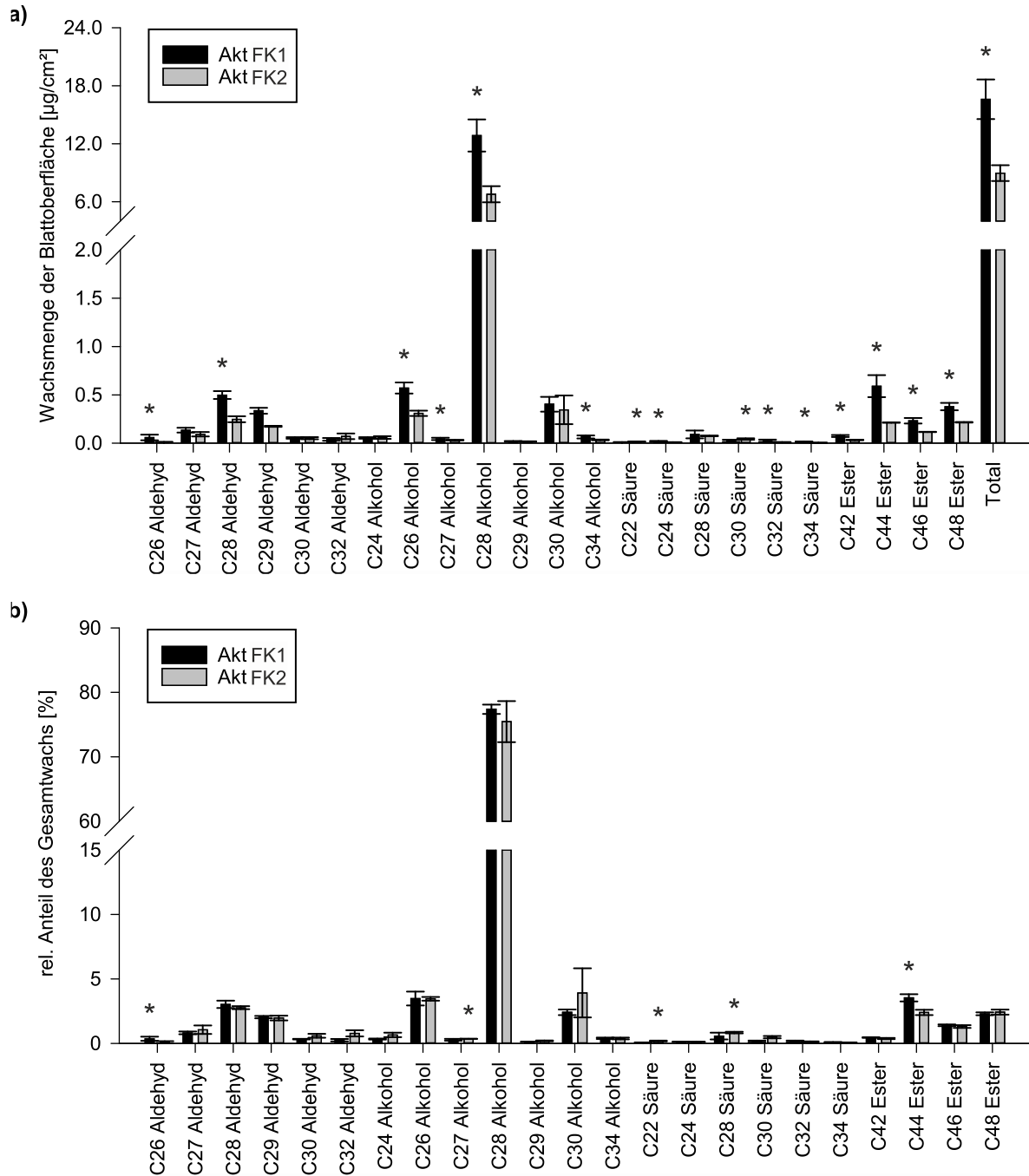
**Abbildung 10.3: Vergleich der Wachszusammensetzung der Weizensorte Porthus;** a) absolute Zusammensetzung und b) relative Zusammensetzung; Port: Porthus, GH: Gewächshauskultur, FK1: erste Freilandkultur; Sternchen kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Mengen und Anteilen der jeweiligen Wachskomponente ( $p < 0,05$ , getestet durch einen t-Test).



**Abbildung 10.4: Vergleich der Wachszusammensetzung der Weizensorte Akteur;** a) absolute Zusammensetzung und b) relative Zusammensetzung; Akt: Akteur, GH: Gewächshauskultur, FK1: erste Freilandkultur; Sternchen kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Mengen und Anteilen der jeweiligen Wachskomponente ( $p < 0,05$ , getestet durch einen t-Test).



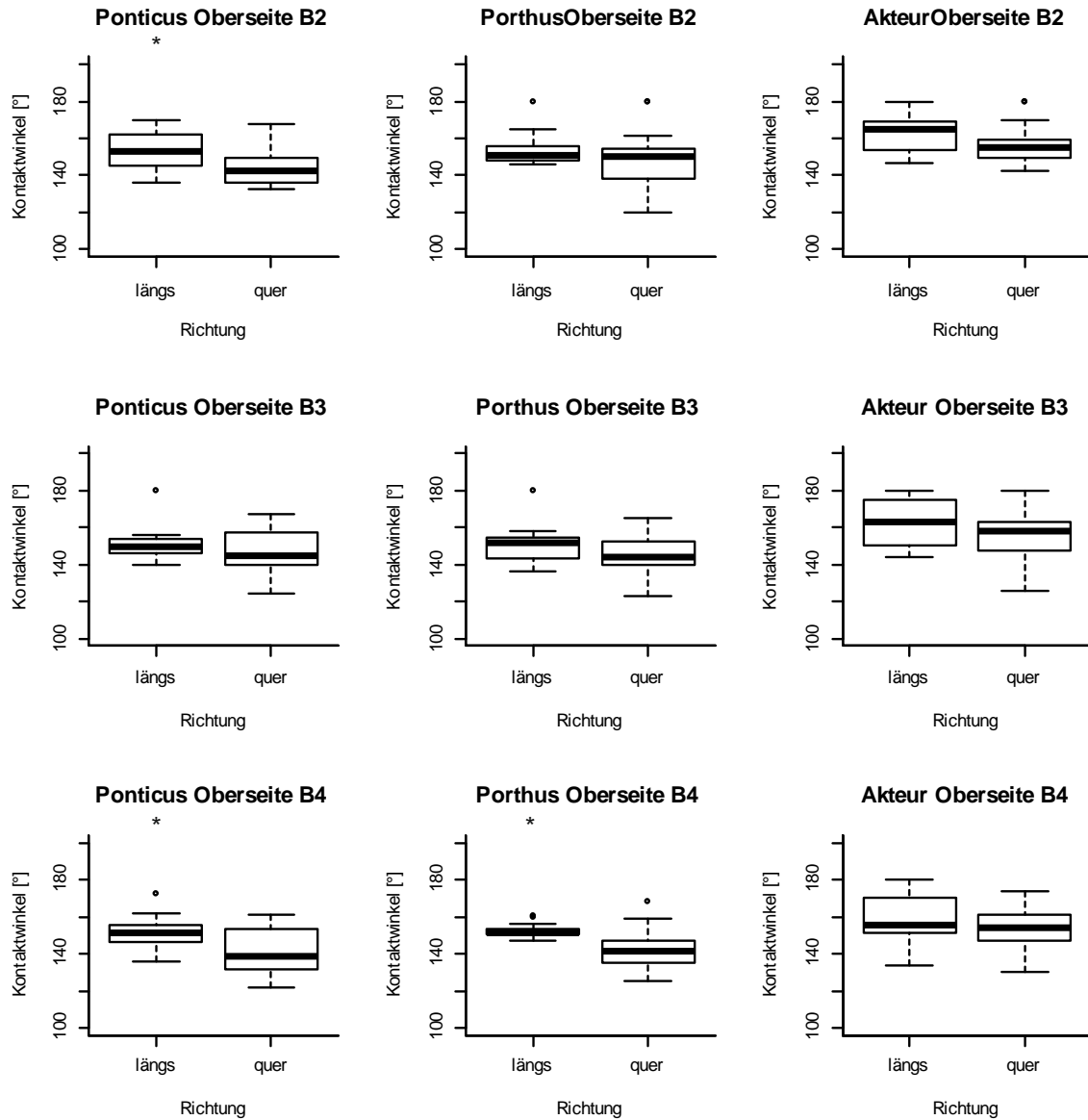
**Abbildung 10.5: Vergleich der Wachszusammensetzungen der beiden Freilandkulturen der Weizensorte Ponticus;** a) absolute Zusammensetzung und b) relative Zusammensetzung; Pon: Ponticus, FK: Freilandkultur; Sternchen kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Mengen und Anteilen der jeweiligen Wachskomponente ( $p < 0,05$ , getestet durch einen t-Test).



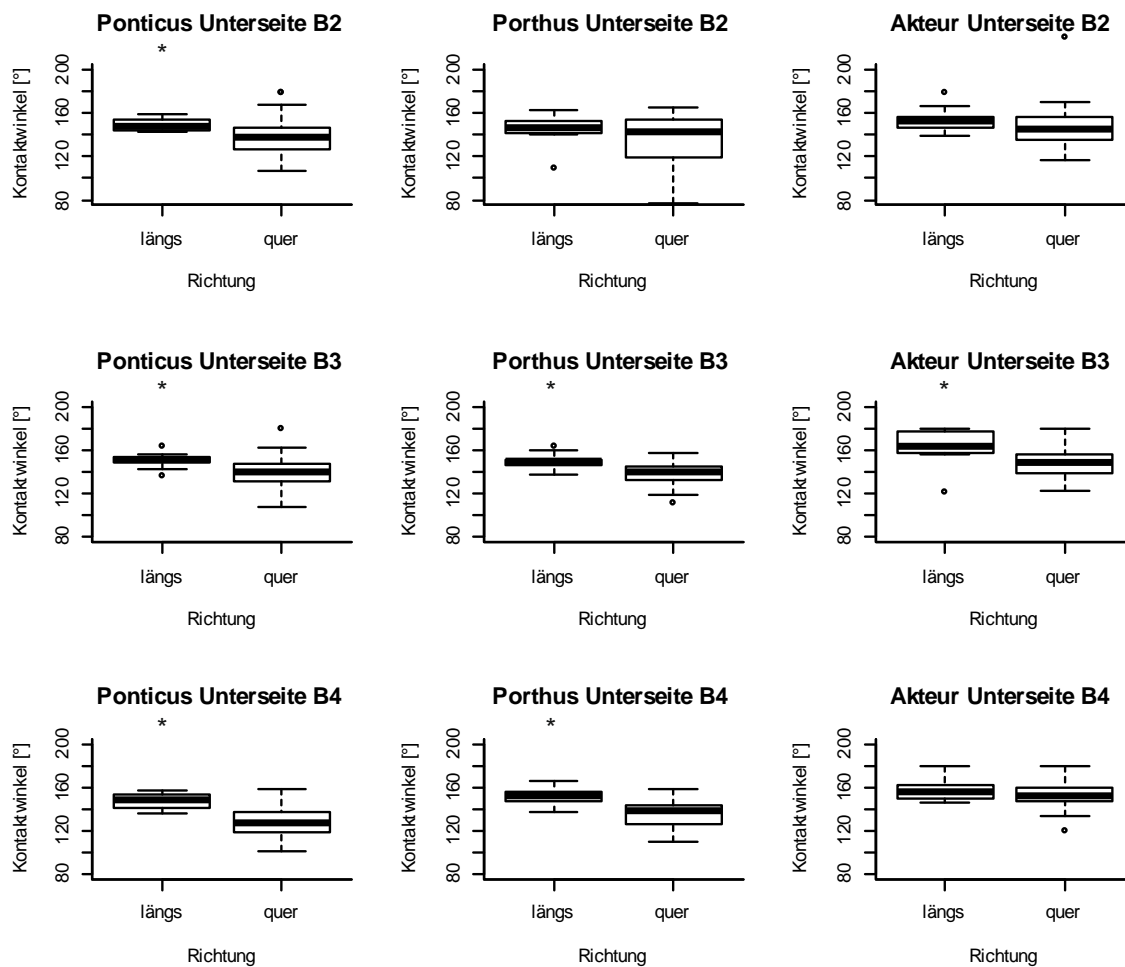
**Abbildung 10.6: Vergleich der Wachszusammensetzung der beiden Freilandkulturen der Weizensorte Akteur;** a) absolute Zusammensetzung und b) relative Zusammensetzung; Akt: Akteur, FK: Freilandkultur; Sternchen kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Mengen und Anteilen der jeweiligen Wachskomponente ( $p < 0,05$ , getestet durch einen t-Test).

## 10.1.2 Untersuchung der Benetzungseigenschaften

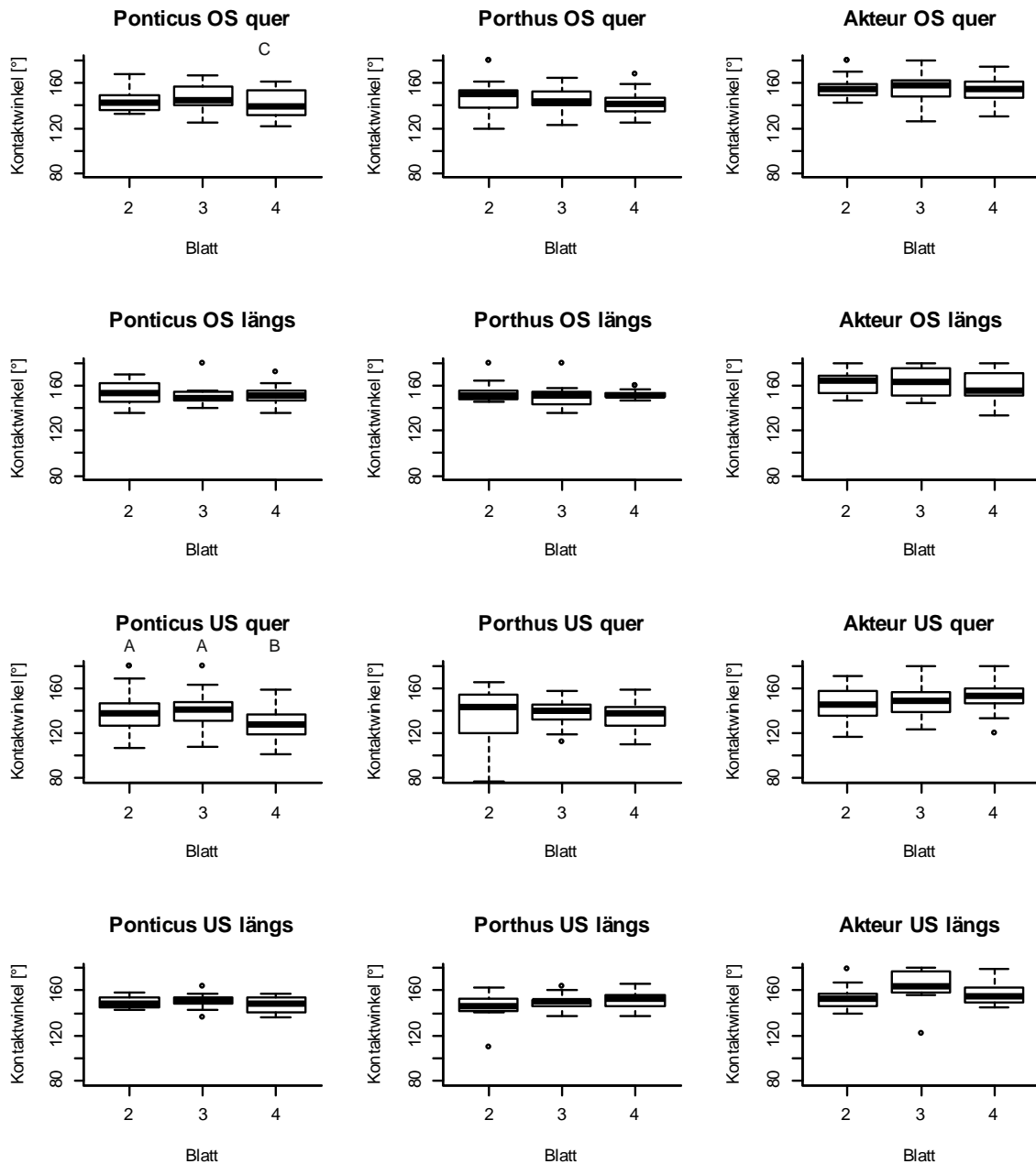
### Kontaktwinkel



**Abbildung 10.7: Kontaktwinkel auf den Oberseiten der Weizenblätter in Blickrichtung längs und quer zur Blattaderung;** B 2 - 4: Blatt 2 - 4; Sternchen kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Kontaktwinkeln der beiden Richtungen ( $p < 0,05$ , getestet durch einen t-Test oder einen Wilcoxon Rangsummentest).

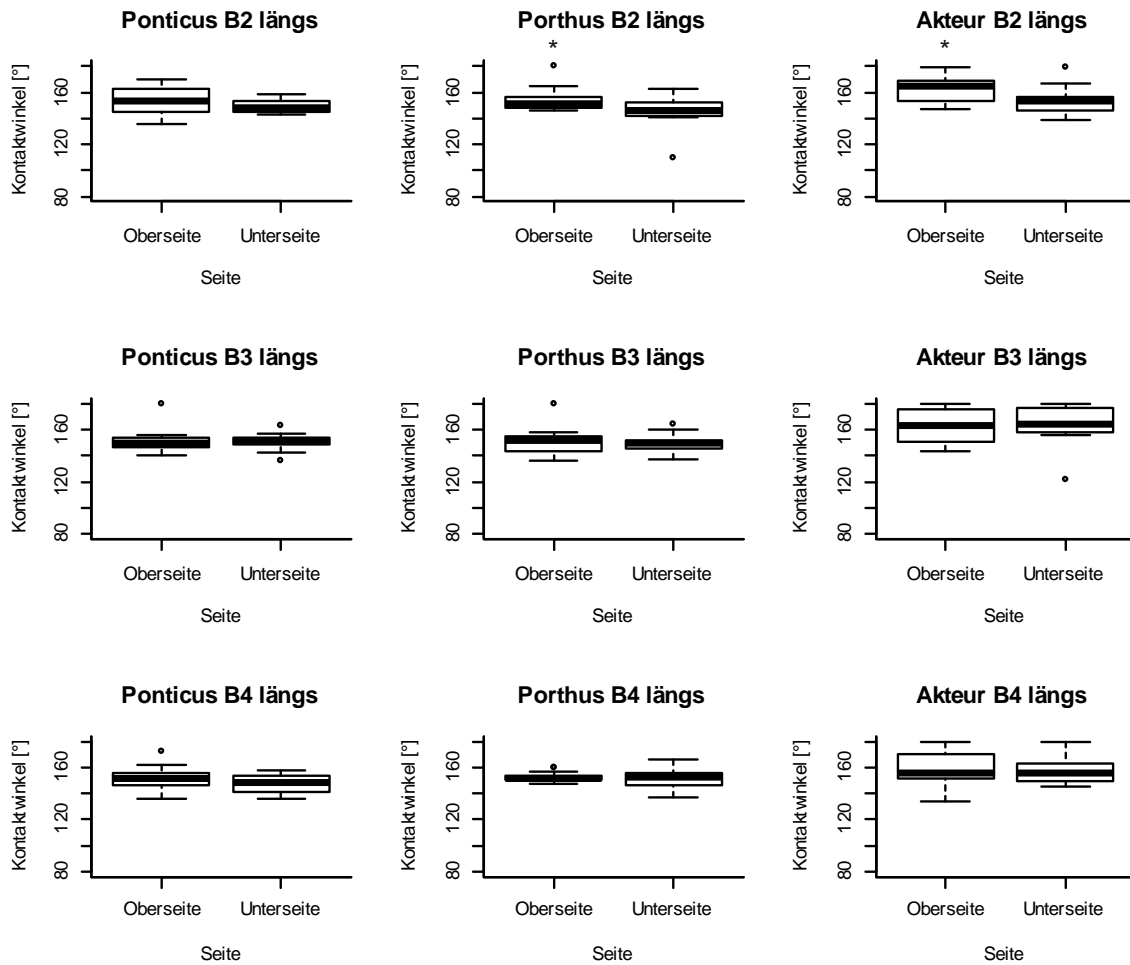


**Abbildung 10.8: Kontaktwinkel auf den Unterseiten der Weizenblätter in Blickrichtung längs und quer zur Blattaderung; B 2 - 4; Blatt 2 - 4; Sternchen kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Kontaktwinkeln der beiden Richtungen ( $p < 0,05$ , getestet durch einen t-Test oder einen Wilcoxon Rangsummentest).**

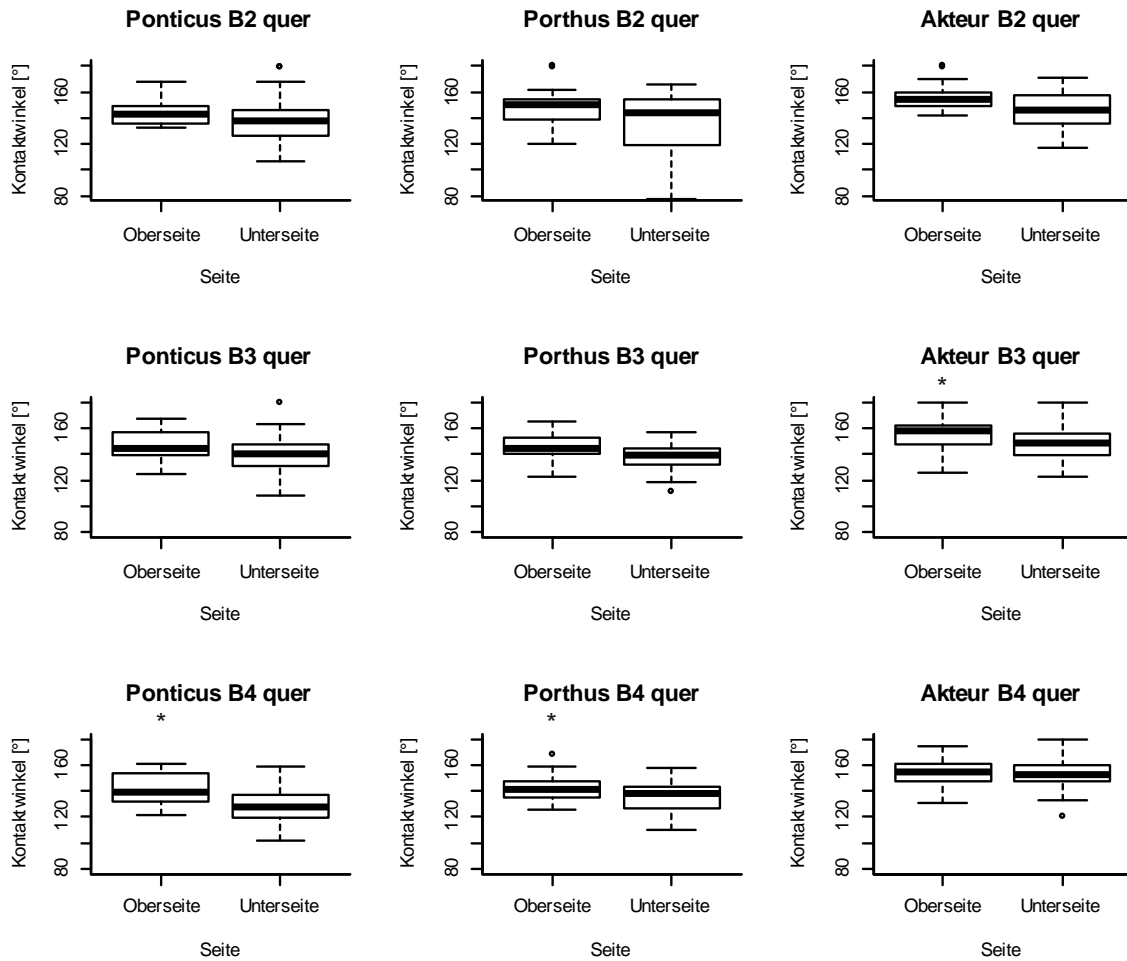


**Abbildung 10.9: Kontaktwinkel auf den unterschiedlich alten Weizenblättern;** OS: Oberseite, US: Unterseite; Verschiedene Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Kontaktwinkeln der unterschiedlich alten Blätter ( $p < 0,05$ , getestet durch eine ANOVA mit anschließendem *Post Hoc* Tukey Test oder einem Kruskal Wallis-Test mit anschließendem *Post Hoc* Dunn Test).

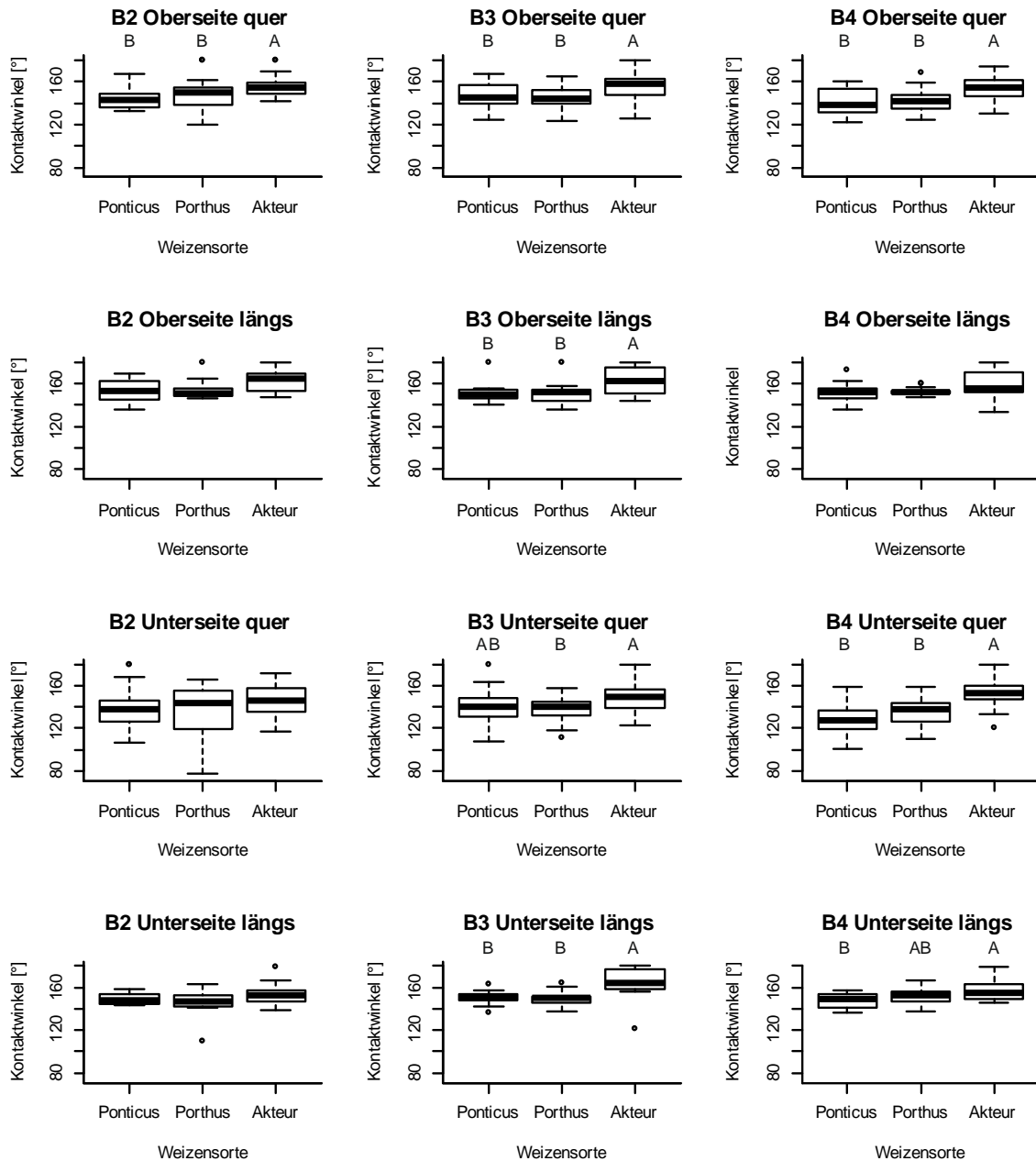




**Abbildung 10.10: Kontaktwinkel auf den Ober- und Unterseiten der verschiedenen Weizenblätter in Blickrichtung längs zur Blattaderung; B 2 - 4: Blatt 2 - 4; Sternchen kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Kontaktwinkeln der beiden Blattseiten ( $p < 0,05$ , getestet durch einen t-Test oder einen Wilcoxon Rangsummentest).**

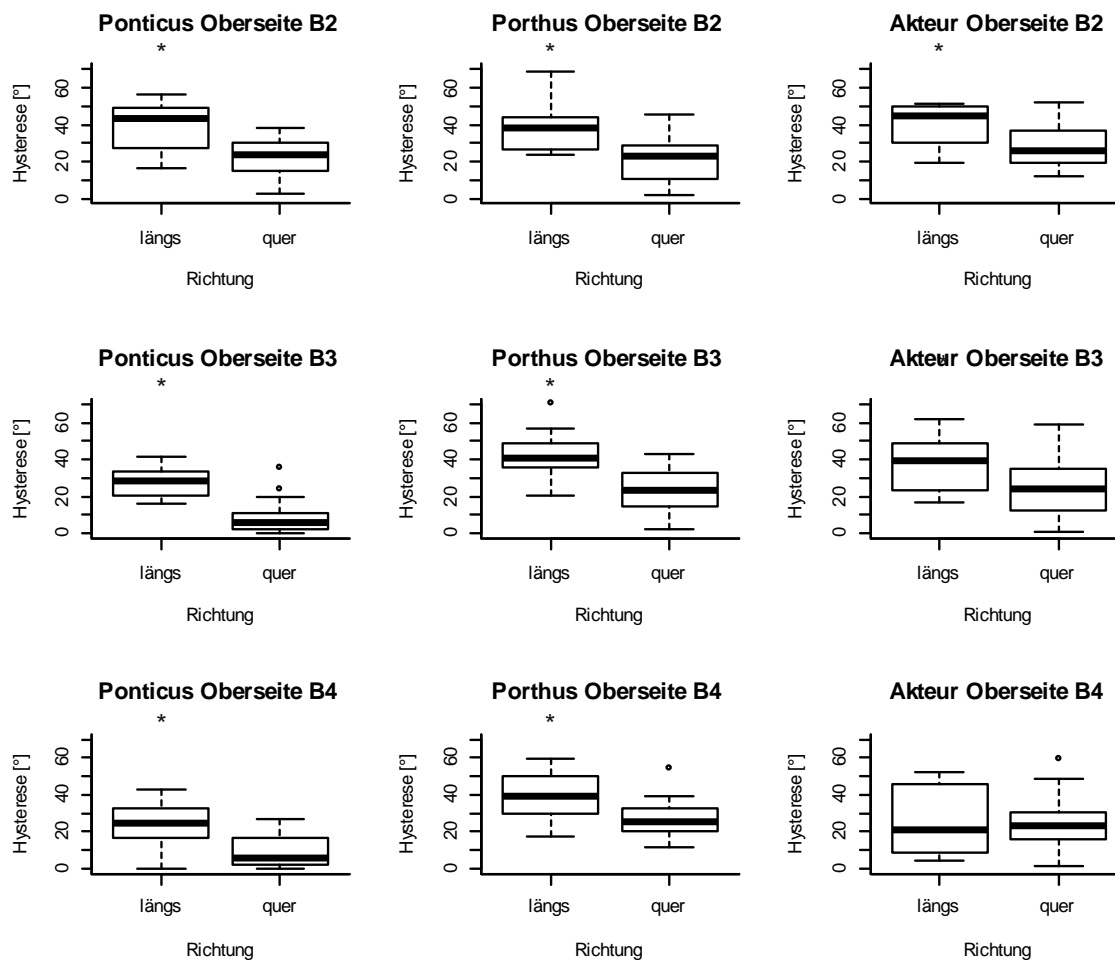


**Abbildung 10.11: Kontaktwinkel auf den Ober- und Unterseiten der verschiedenen Weizenblätter in Blickrichtung quer zur Blattaderung; B 2 - 4: Blatt 2 - 4; Sternchen kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Kontaktwinkeln der beiden Blattseiten ( $p < 0,05$ , getestet durch einen t-Test oder einen Wilcoxon Rangsummentest).**

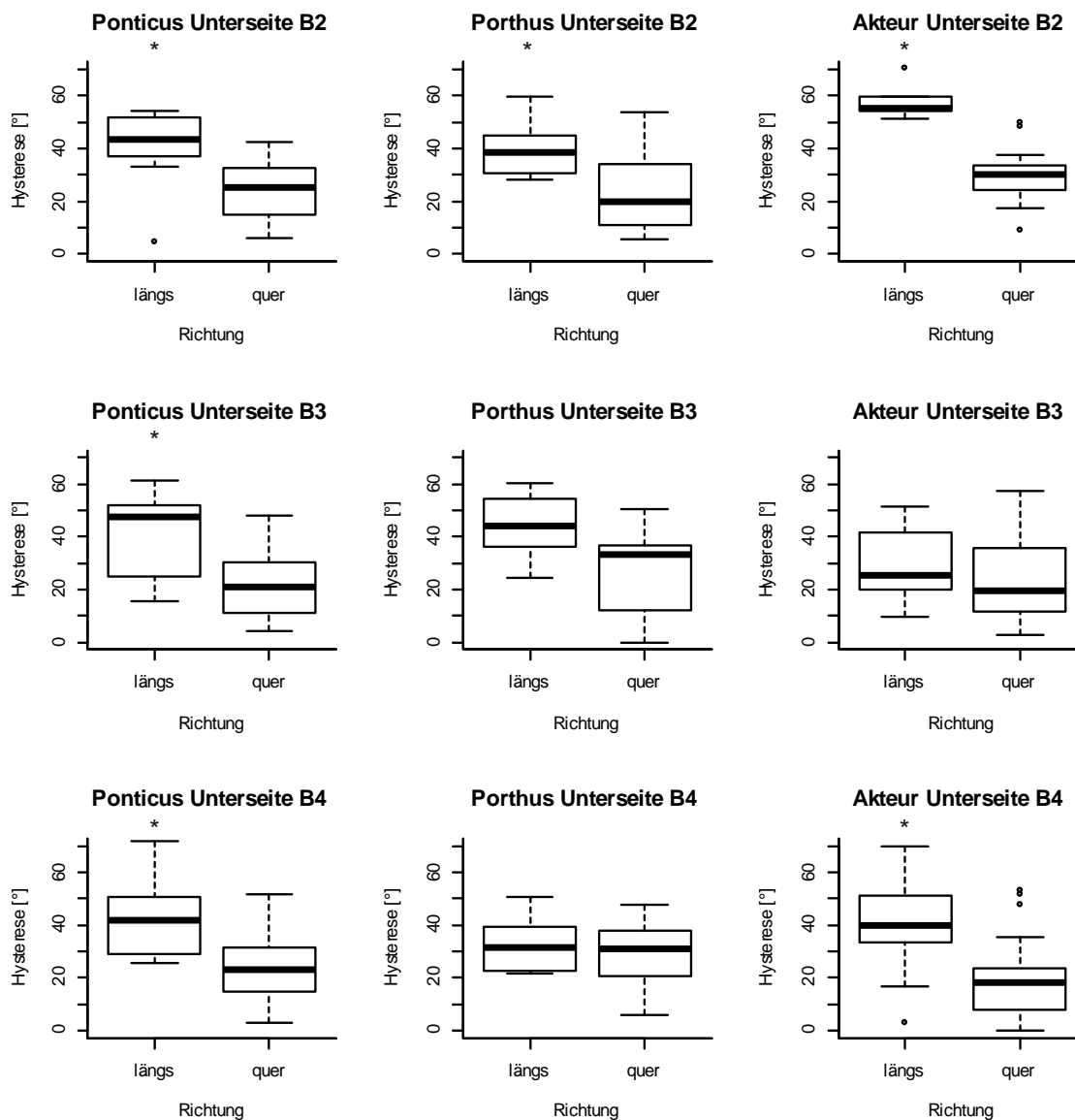


**Abbildung 10.12: Kontaktwinkel auf den Blättern der verschiedenen Weizensorten;** B 2 - 4: Blatt 2 - 4; längs: Blickrichtung längs; quer: Blickrichtung quer; Verschiedene Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Kontaktwinkeln auf den Blättern der verschiedenen Sorten ( $p < 0,05$ , getestet durch eine ANOVA mit anschließendem *Post Hoc* Tukey Test oder einem Kruskal Wallis-Test mit anschließendem *Post Hoc* Dunn Test).

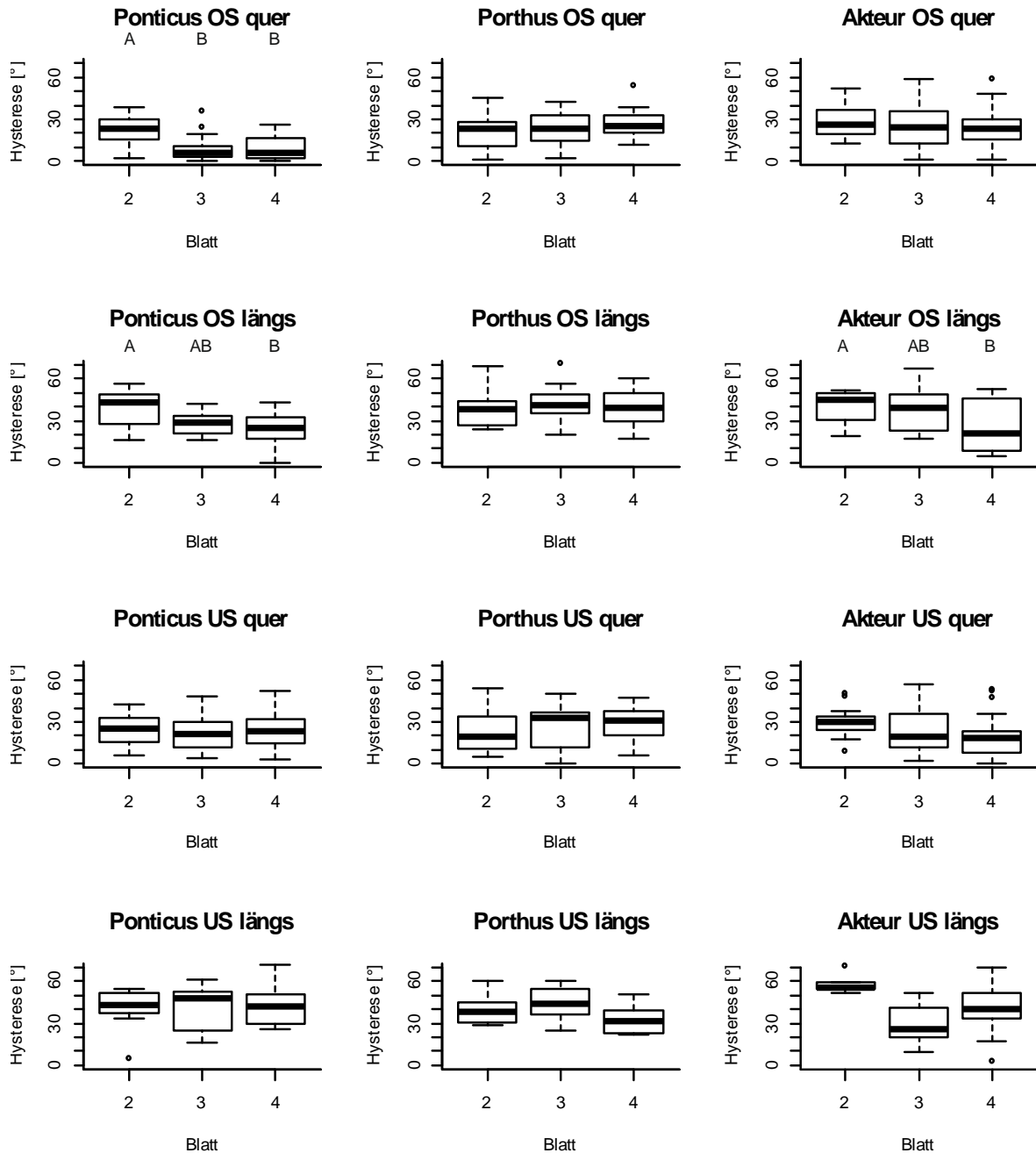
## Hysteresen



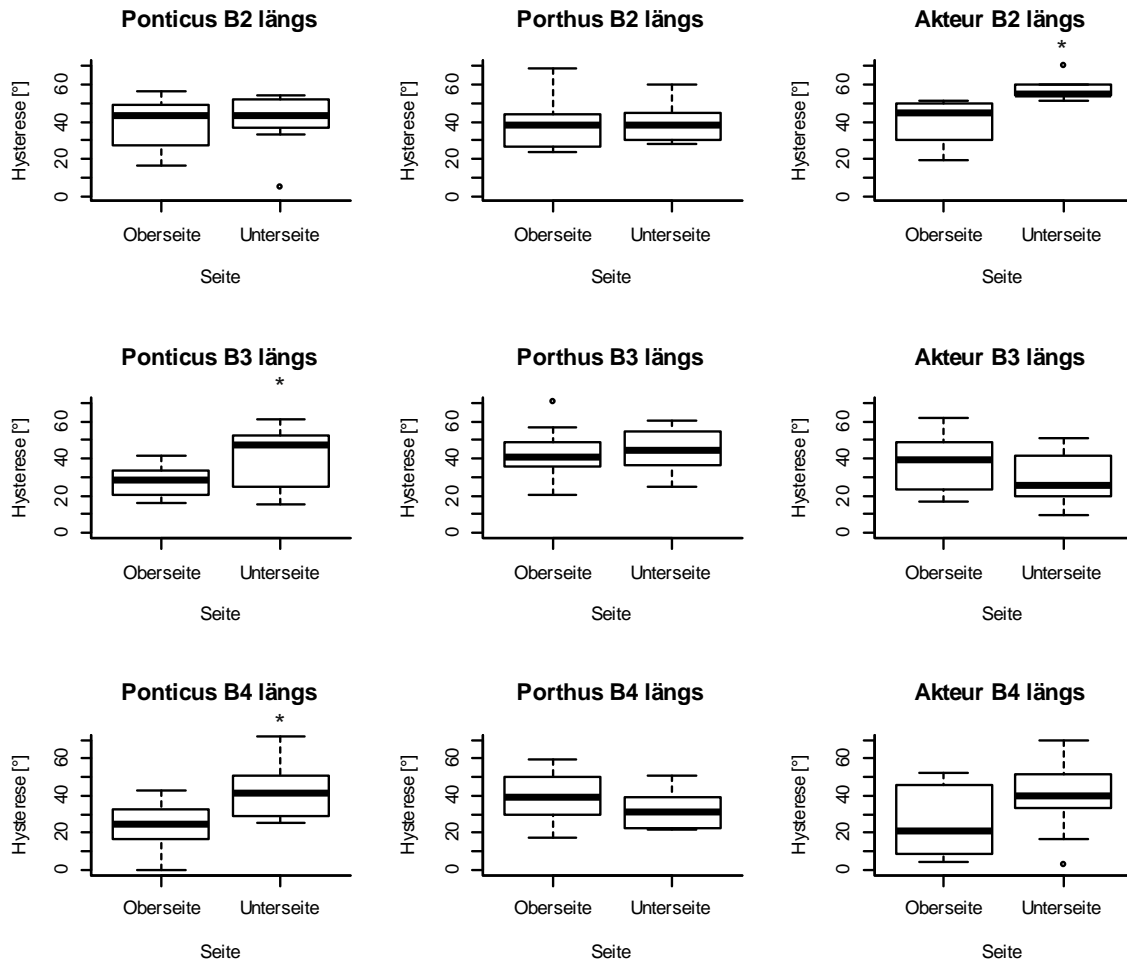
**Abbildung 10.13: Hysteresen auf den Oberseiten der Weizenblätter in Blickrichtung längs und quer zur Blattaderung; B 2 - 4: Blatt 2 - 4; Sternchen kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Hysteresen der beiden Blickrichtungen ( $p < 0,05$ , getestet durch einen t-Test oder einen Wilcoxon Rangsummentest).**



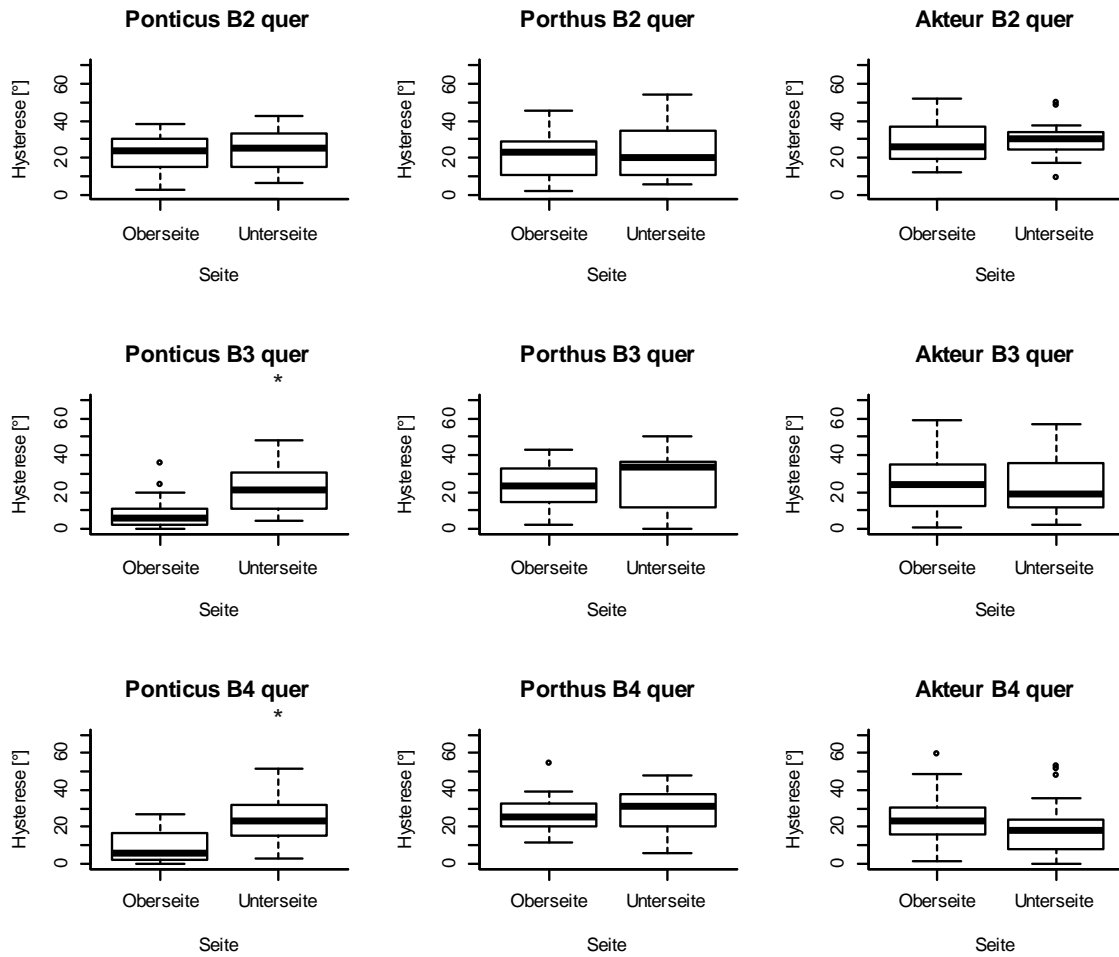
**Abbildung 10.14: Hysteresen auf den Unterseiten der Weizenblätter in Blickrichtung längs und quer zur Blattaderung; B 2 - 4: Blatt 2 - 4; Sternchen kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Hysteresen der beiden Blickrichtungen ( $p < 0,05$ , getestet durch einen t-Test oder einen Wilcoxon Rangsummentest).**



**Abbildung 10.15: Hysteresen auf den unterschiedlich alten Weizenblättern;** OS: Oberseite, US: Unterseite; längs: Blickrichtung längs; quer: Blickrichtung quer; Verschiedene Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Hysteresen der unterschiedlich alten Blätter ( $p < 0,05$ , getestet durch eine ANOVA mit anschließendem *Post Hoc* Tukey Test oder einem Kruskal Wallis-Test mit anschließendem *Post Hoc* Dunn Test).

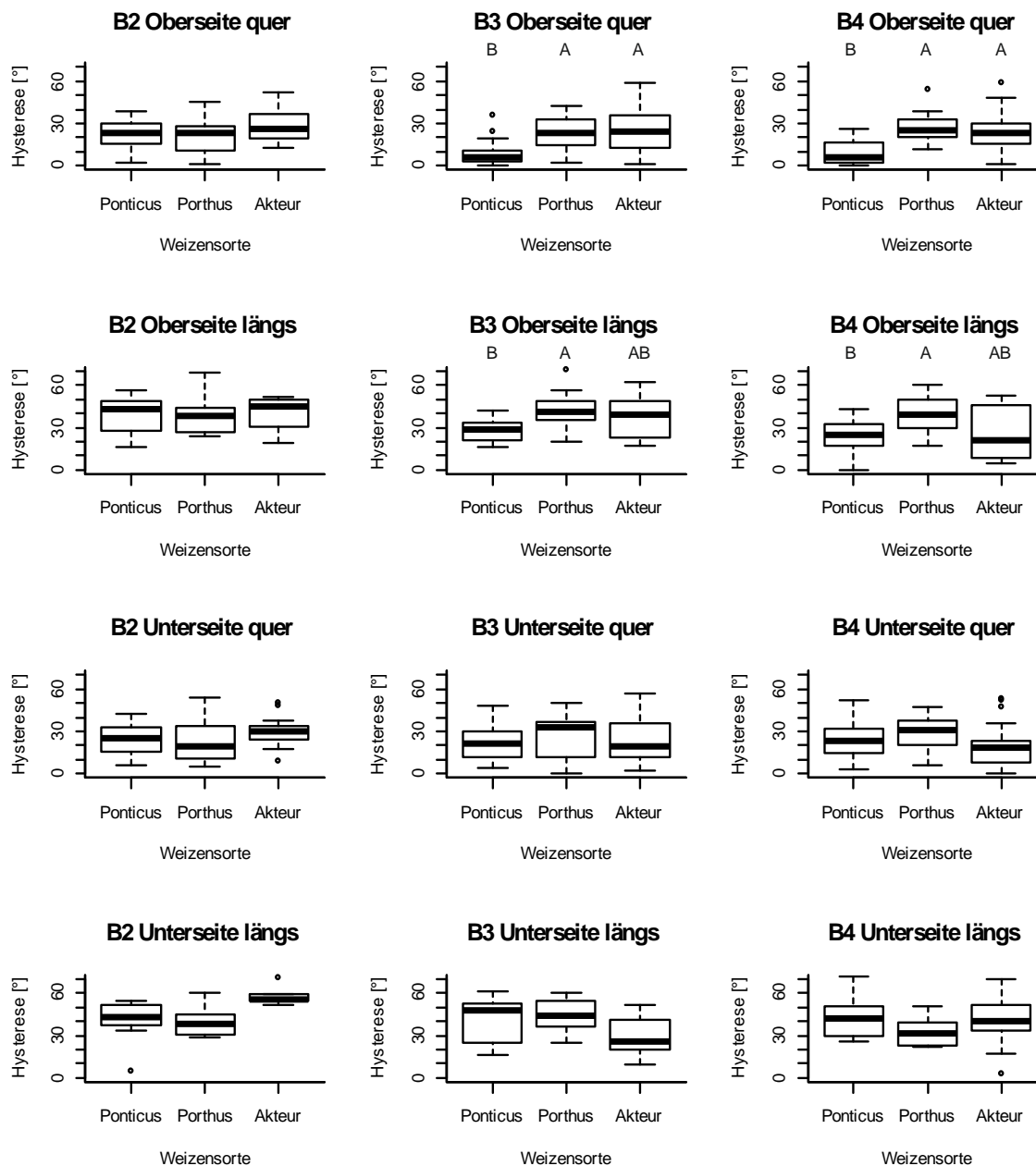


**Abbildung 10.16: Hysteresen auf den Ober- und Unterseiten der verschiedenen Weizenblätter in Blickrichtung längs zur Blattaderung; B 2 - 4: Blatt 2 - 4; Sternchen kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Hysteresen der beiden Blattseiten ( $p < 0,05$ , getestet durch einen t-Test oder einen Wilcoxon Rangsummentest).**



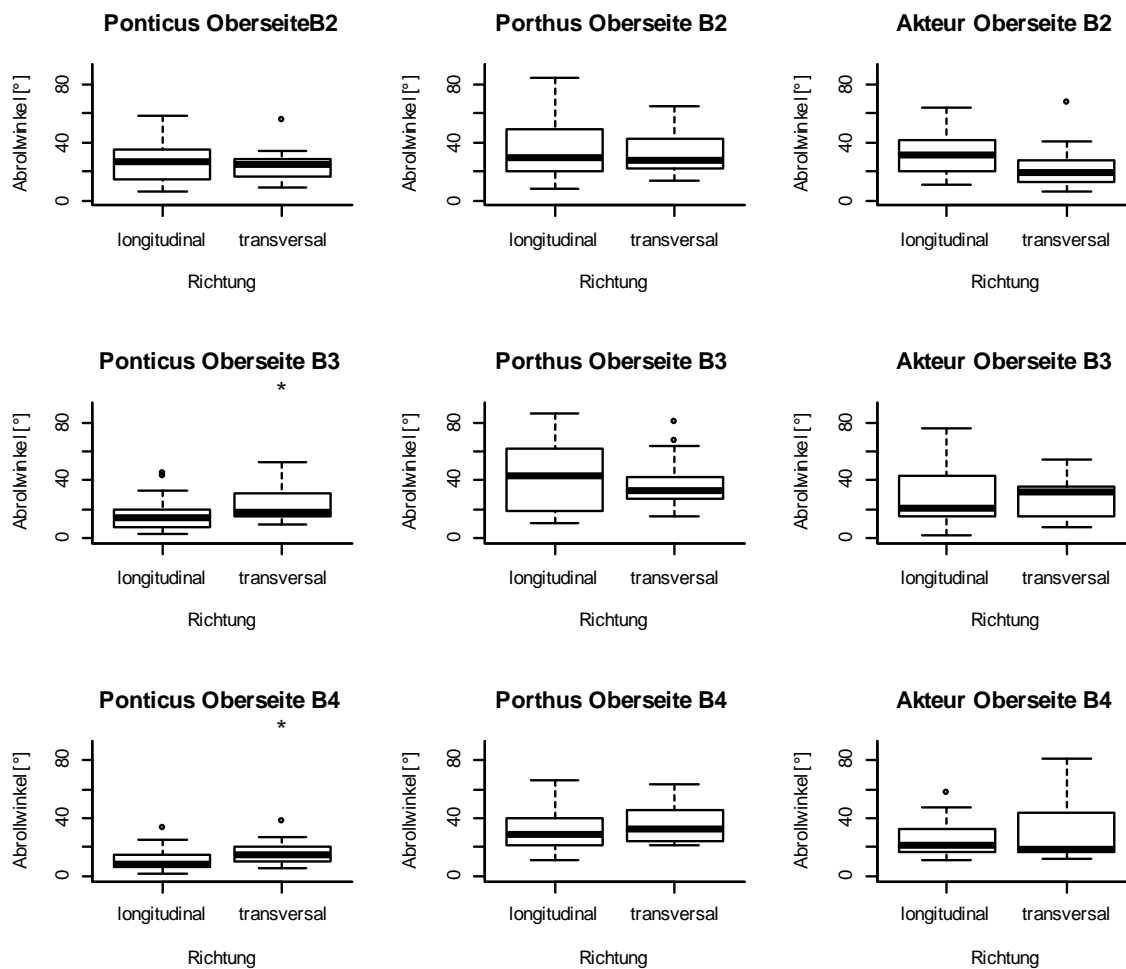
**Abbildung 10.17: Hysteresen auf den Ober- und Unterseiten der verschiedenen Weizenblätter in Blickrichtung quer zur Blattaderung; B 2 - 4: Blatt 2 - 4; Sternchen kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Hysteresen der beiden Blattseiten ( $p < 0,05$ , getestet durch einen t-Test oder einen Wilcoxon Rangsummentest).**



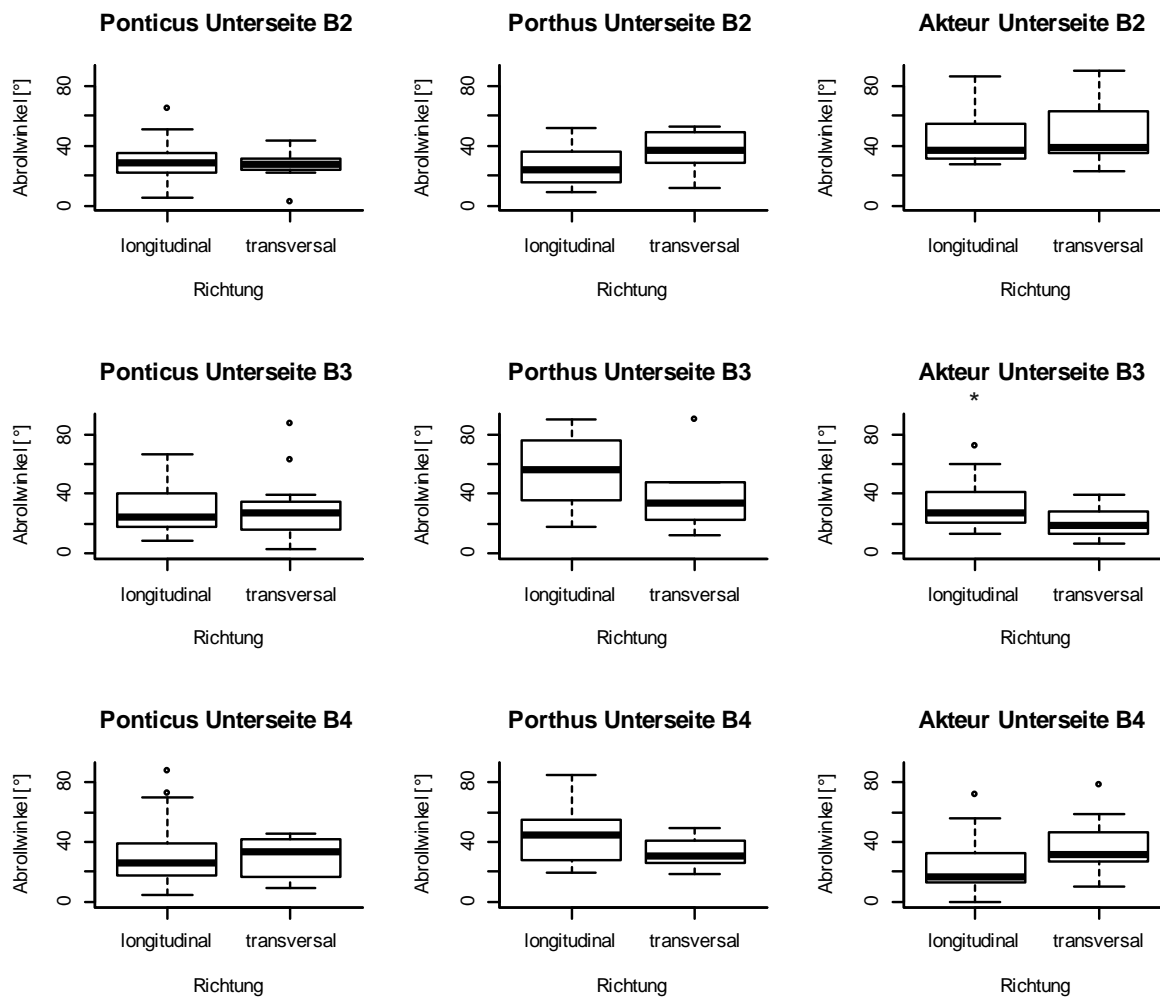


**Abbildung 10.18: Hysteresen auf den Blättern der verschiedenen Weizensorten;** B 2 - 4: Blatt 2 - 4; längs: Blickrichtung längs, quer: Blickrichtung quer; Verschiedene Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Hysteresen auf den Blättern der unterschiedlichen Sorten ( $p < 0,05$ , getestet durch eine ANOVA mit anschließendem *Post Hoc* Tukey Test oder einem Kruskal Wallis-Test mit anschließendem *Post Hoc* Dunn Test).

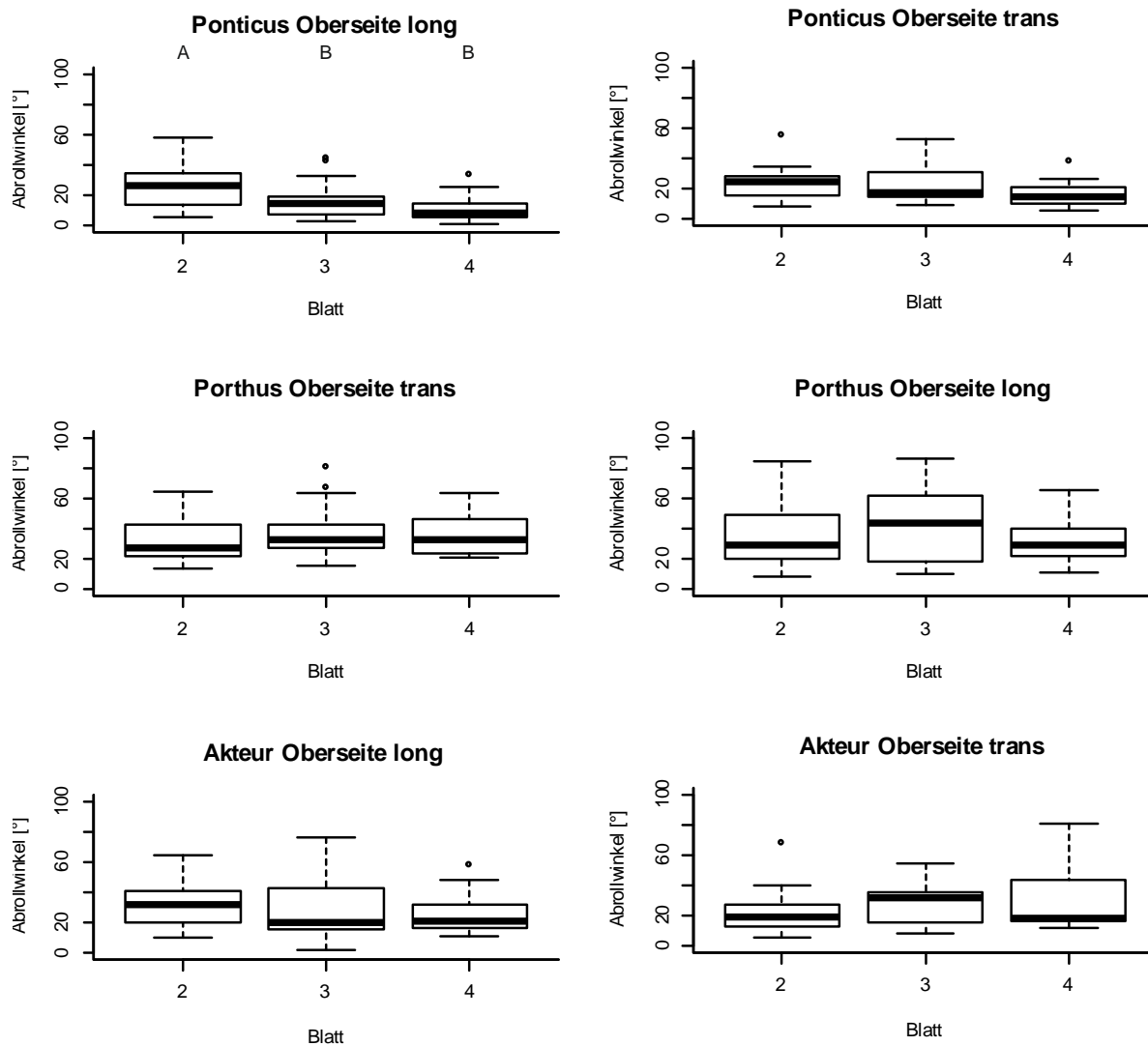
## Abrollwinkel



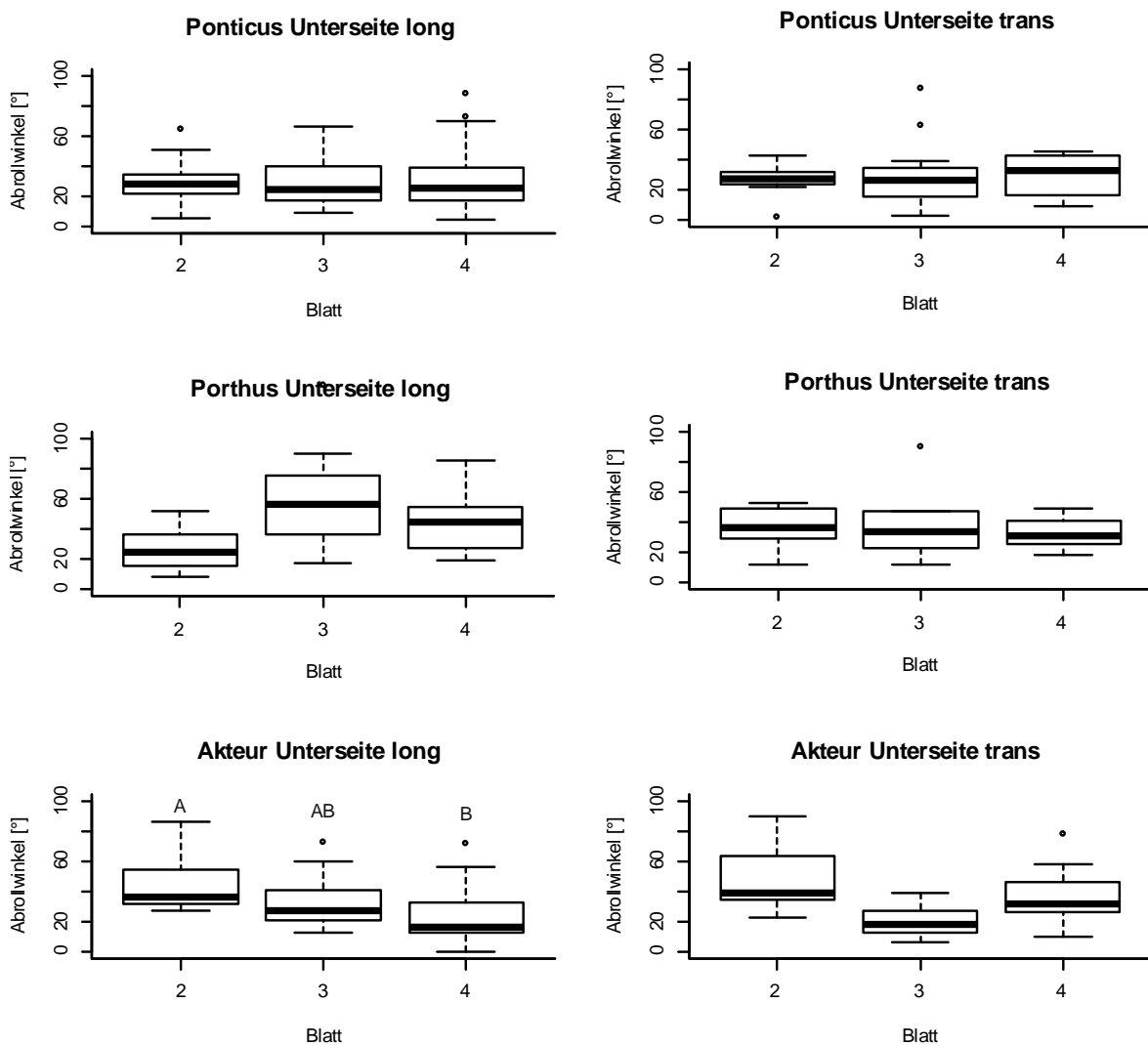
**Abbildung 10.19: Abrollwinkel auf den Oberseiten der Weizenblätter bei longitudinaler und transversaler Kipprichtung;** B 2 - 4: Blatt 2 - 4; Sternchen kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Abrollwinkeln der beiden Kipprichtungen ( $p < 0,05$ , getestet durch einen t-Test oder einen Wilcoxon Rangsummentest).



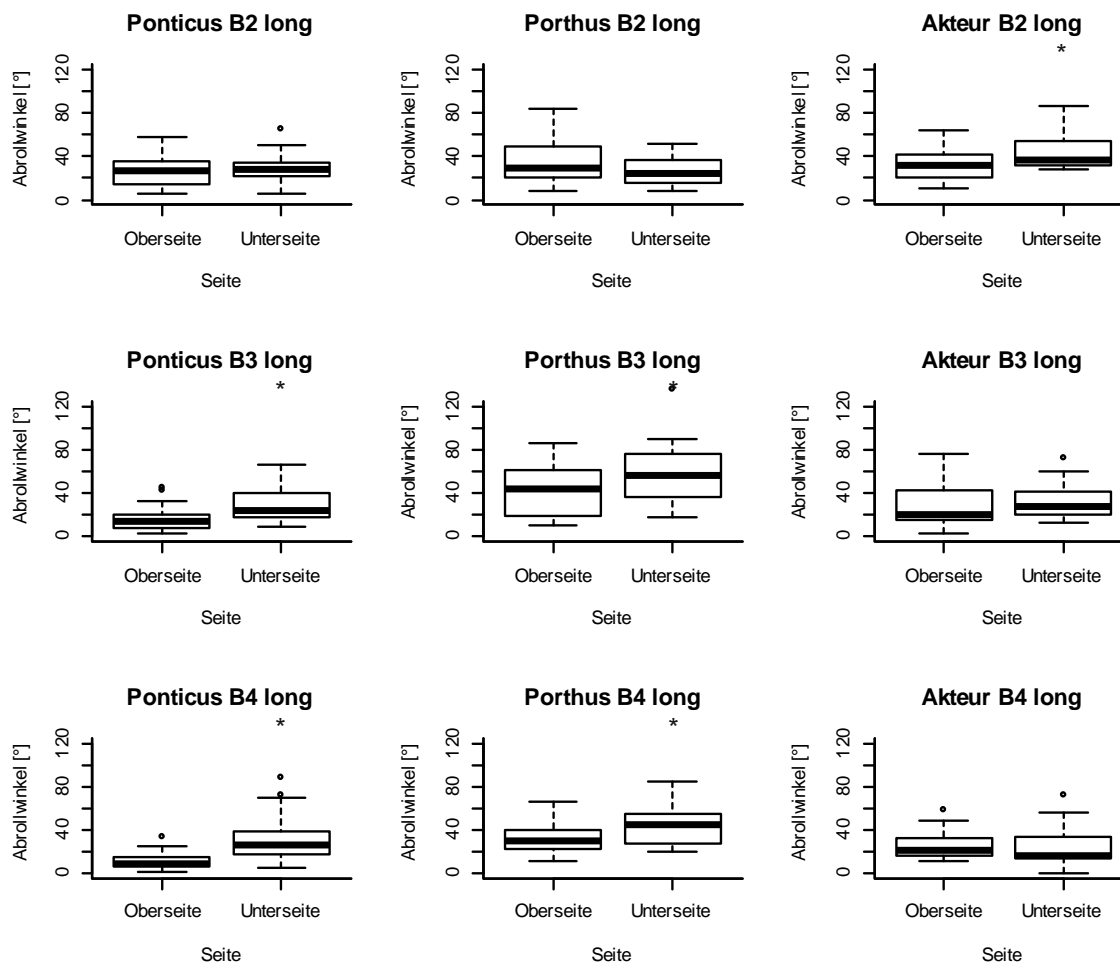
**Abbildung 10.20: Abrollwinkel auf den Unterseiten der Weizenblätter bei longitudinaler und transversaler Kipprichtung; B 2 - 4; Blatt 2 - 4; Sternchen kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Abrollwinkeln der beiden Kipprichtungen ( $p < 0,05$ , getestet durch einen t-Test oder einen Wilcoxon Rangsummentest).**



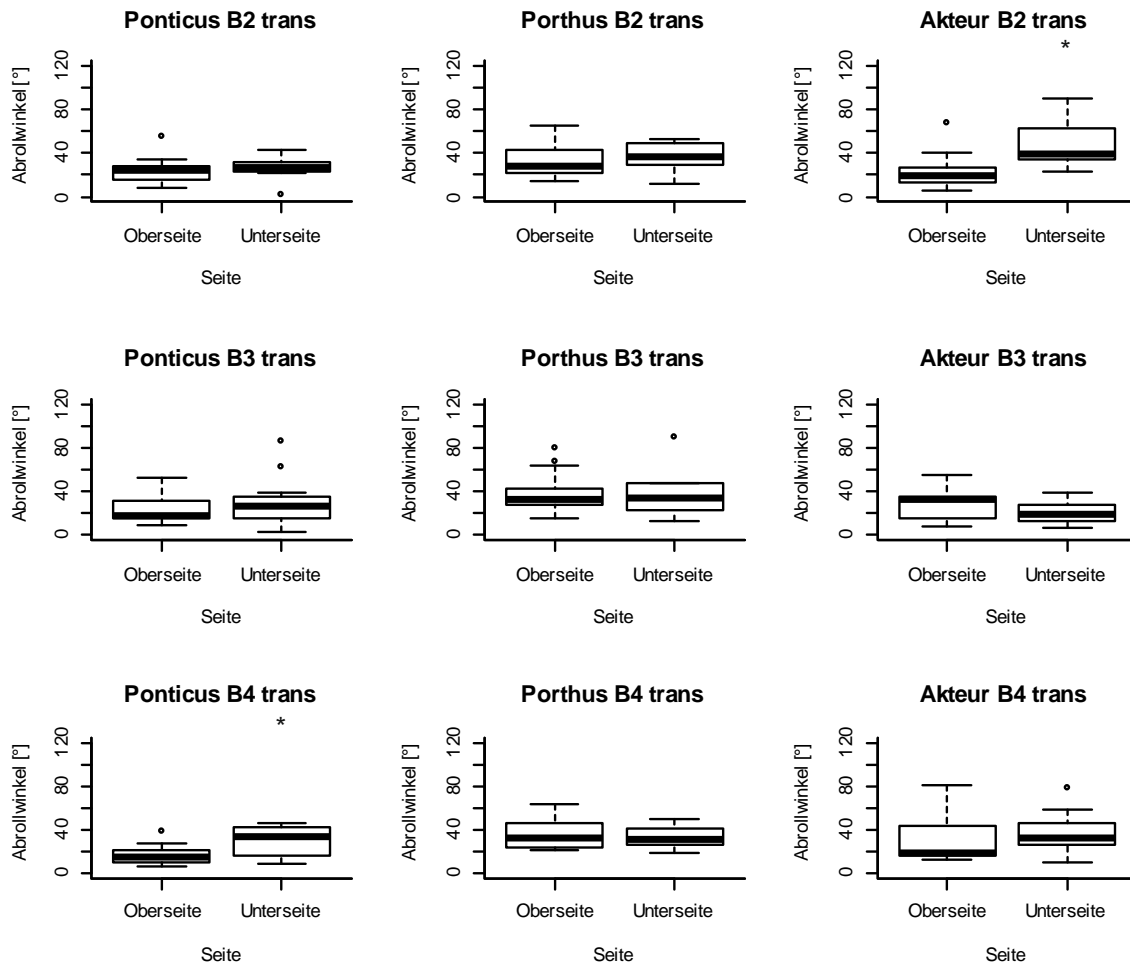
**Abbildung 10.21: Abrollwinkel auf den Oberseiten der unterschiedlich alten Weizenblätter;** long: longitudinale Kipprichtung, trans: transversale Kipprichtung; Verschiedene Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Abrollwinkeln der unterschiedlich alten Blätter ( $p < 0,05$ , getestet durch eine ANOVA mit anschließendem *Post Hoc* Tukey Test oder einem Kruskal Wallis-Test mit anschließendem *Post Hoc* Dunn Test).



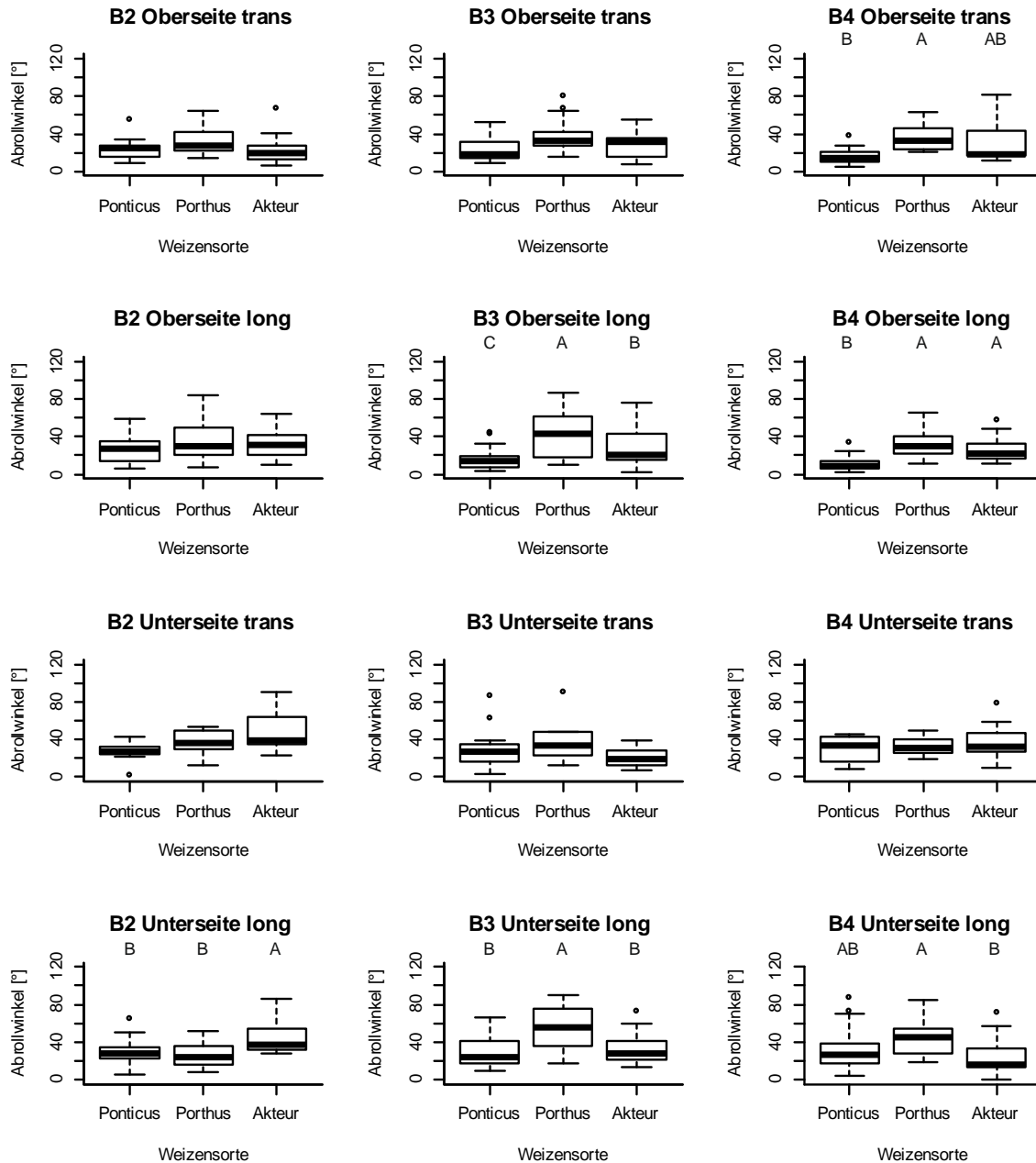
**Abbildung 10.22: Abrollwinkel auf den Unterseiten der unterschiedlich alten Weizenblätter;** long: longitudinale Kipprichtung, trans: transversale Kipprichtung; Verschiedene Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Abrollwinkeln der unterschiedlich alten Blätter ( $p < 0,05$ , getestet durch eine ANOVA mit anschließendem *Post Hoc* Tukey Test oder einem Kruskal Wallis-Test mit anschließendem *Post Hoc* Dunn Test).



**Abbildung 10.23: Abrollwinkel auf den Ober- und Unterseiten der verschiedenen Weizenblätter bei longitudinaler Kipprichtung;** B 2 - 4: Blatt 2 - 4; Sternchen kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Abrollwinkeln der beiden Blattseiten ( $p < 0,05$ , getestet durch einen t-Test oder einen Wilcoxon Rangsummentest).



**Abbildung 10.24: Abrollwinkel auf den Ober- und Unterseiten der verschiedenen Weizenblätter bei transversaler Kipprichtung; B 2 - 4: Blatt 2 - 4; Sternchen kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Abrollwinkel der beiden Blattseiten ( $p < 0,05$ , getestet durch einen t-Test oder einen Wilcoxon Rangsummentest).**



**Abbildung 10.25: Abrollwinkel auf den Blättern der verschiedenen Weizensorten;** B 2 - 4: Blatt 2 - 4; long: longitudinale Kipprichtung, trans: transversale Kipprichtung; Verschiedene Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Abrollwinkeln der Blätter der unterschiedlichen Sorten ( $p < 0,05$ , getestet durch eine ANOVA mit anschließendem *Post Hoc* Tukey Test oder einem Kruskal Wallis-Test mit anschließendem *Post Hoc* Dunn Test).



## 10.2 Anhang Kapitel 2

### 10.2.1 Überprüfung der chemischen Zusammensetzung des Wachsextraktes und der Wachsbeschichtung

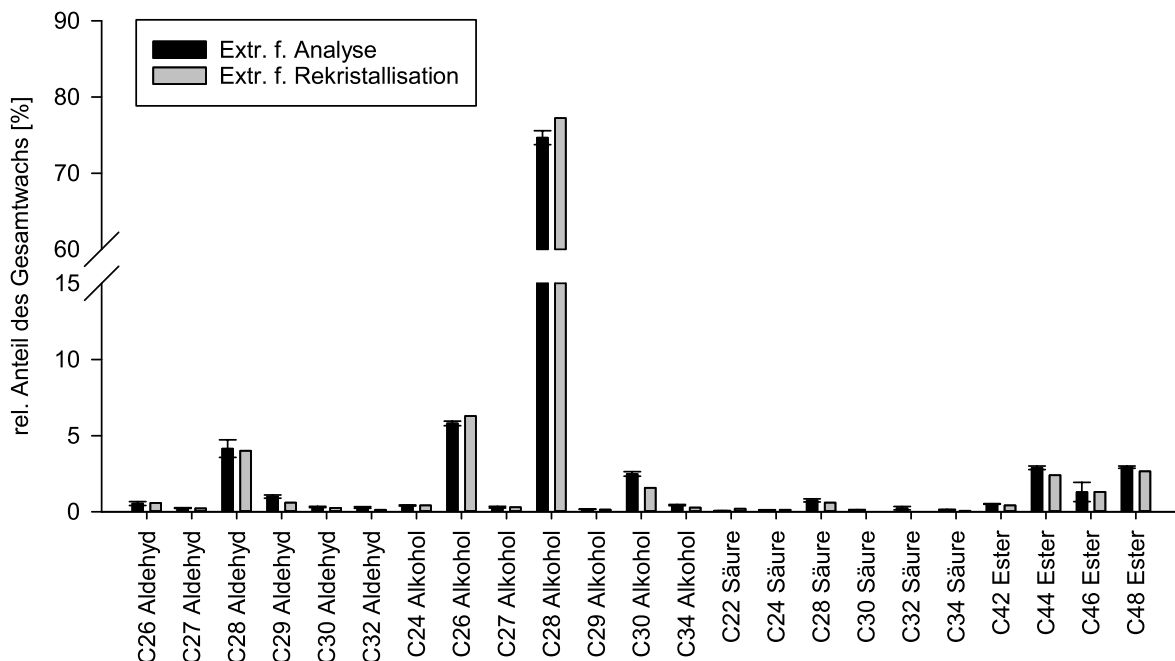


Abbildung 10.26: Zusammensetzung des Wachsextrakts für die chemische Analyse der Freilandpflanzen und des Wachsextraktes für die Rekristallisation der Sorte Ponticus

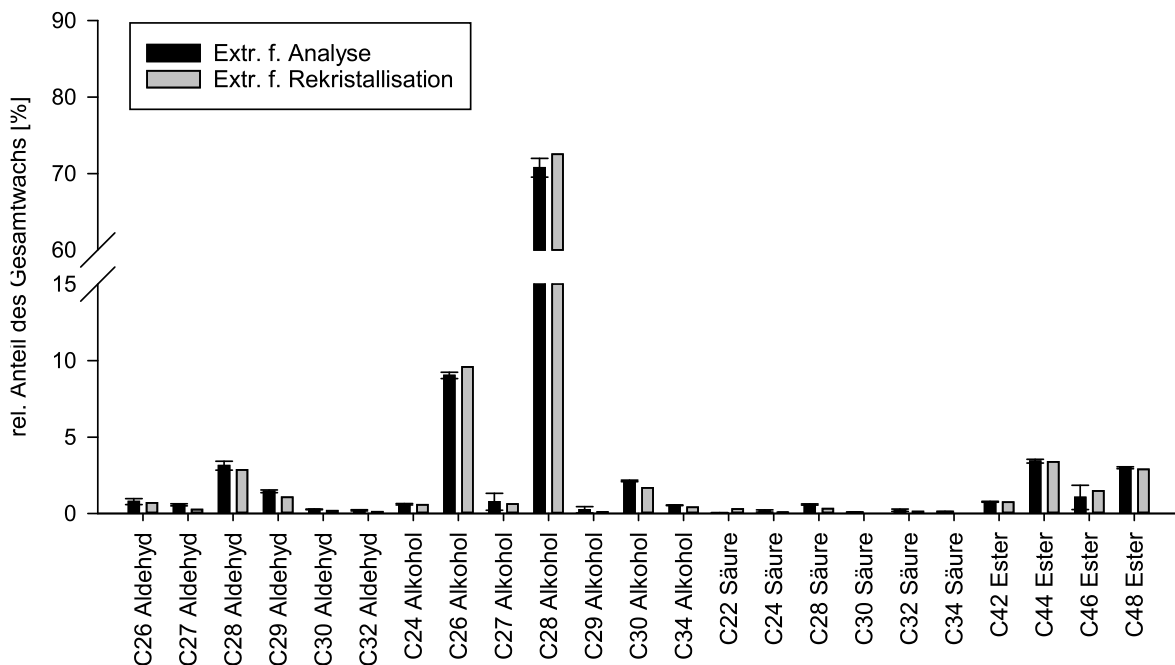
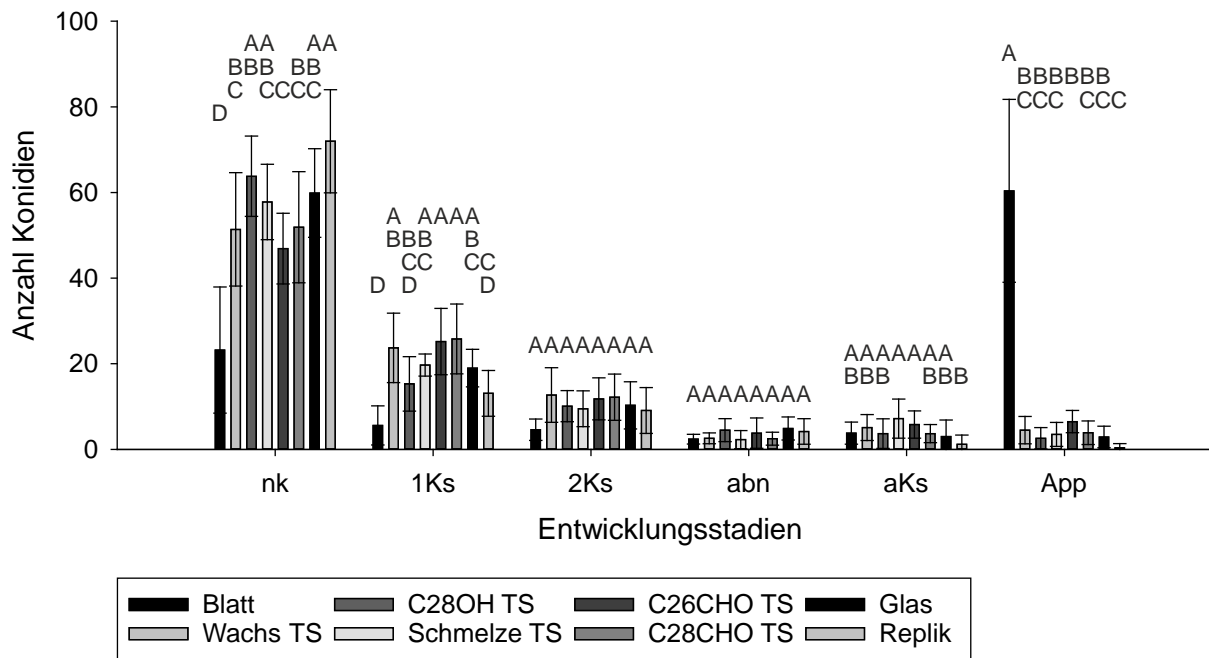


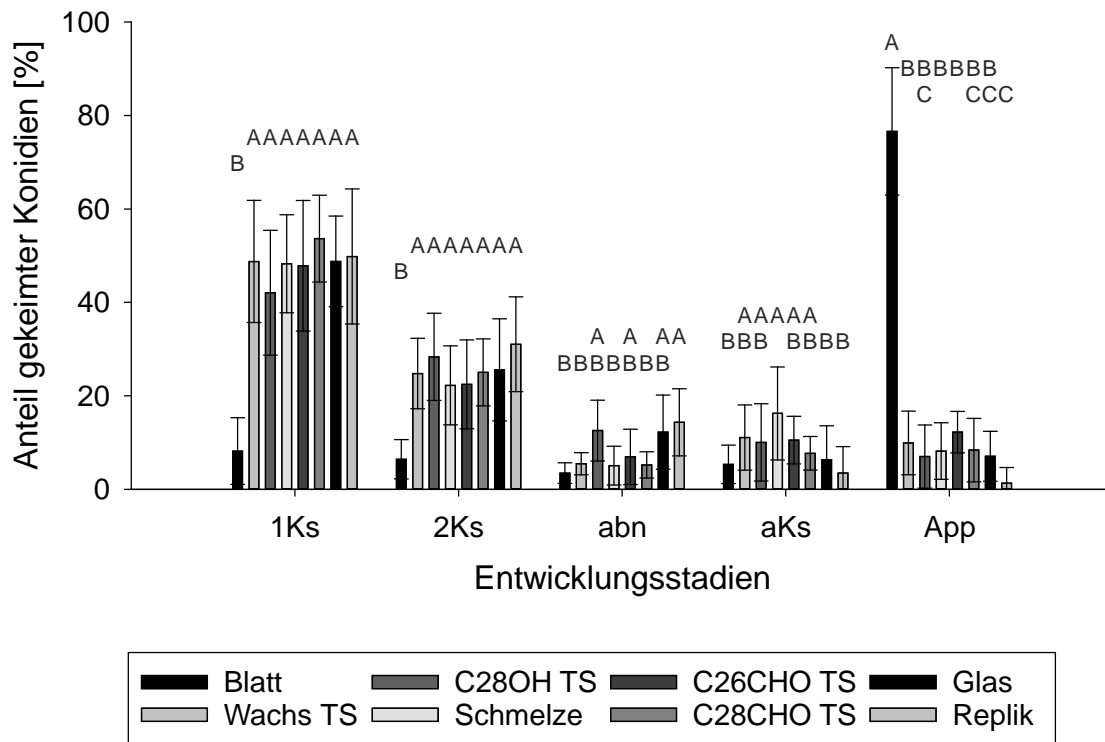
Abbildung 10.27: Zusammensetzung des Wachsextrakts für die chemische Analyse der Freilandpflanzen und des Wachsextraktes für die Rekristallisation der Sorte Porthus

## 10.3 Anhang Kapitel 3

### 10.3.1 Untersuchung des Keimerfolgs

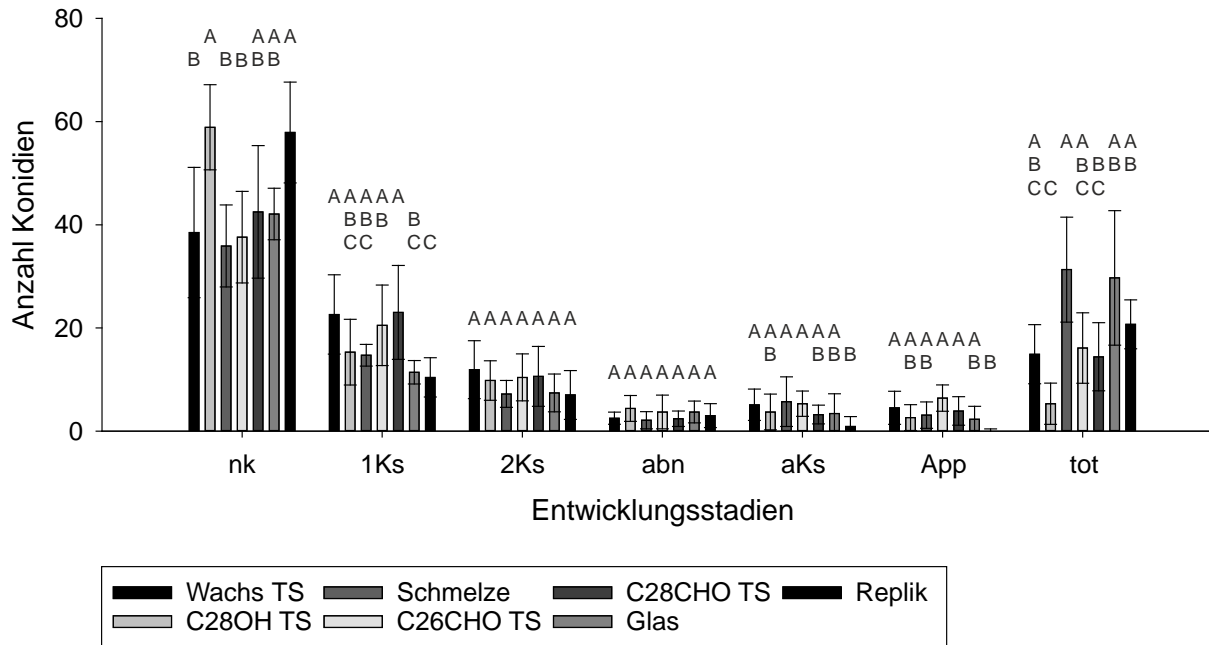


**Abbildung 10.28: Keimentwicklung von *B. graminis* auf dem Weizenblatt und den verschiedenen künstlichen Oberflächen;** nk: nicht gekeimt, 1Ks: primärer Keimschlauch, 2Ks: sekundärer Keimschlauch, abn: abnormale Entwicklung, aKs: appressorialer Keimschlauch, App: Appressorium, TS: Testsystem; Ein Weizenblatt diente als Positivkontrolle, pures Glas und eine Replik wurden als Negativkontrollen verwendet. Es wurden jeweils 100 Konidien ausgezählt ( $n = 10$ ). Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen der Anzahl der Konidien mit dem jeweiligen Entwicklungsstadium auf den verschiedenen Oberflächen ( $p < 0,05$ , getestet durch eine ANOVA mit anschließendem *Post Hoc* Tukey Test).



**Abbildung 10.29: Relative Keimentwicklung von *B. graminis* auf dem Weizenblatt und den verschiedenen künstlichen Oberflächen;** nk: nicht gekeimt, 1Ks: primärer Keimschlauch, 2Ks: sekundärer Keimschlauch, abn: abnormale Entwicklung, aKs: appressorialer Keimschlauch, App: Appressorium, TS: Testsystem; Ein Weizenblatt diente als Positivkontrolle, pures Glas und eine Replik wurden als Negativkontrollen verwendet. Es wurden jeweils 100 Konidien ausgezählt ( $n = 10$ ). Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Anteilen der Konidien mit dem jeweiligen Entwicklungsstadium auf den verschiedenen Oberflächen ( $p < 0,05$ , getestet durch eine ANOVA mit anschließendem *Post Hoc* Tukey Test).

### 10.3.2 Untersuchung des Keimerfolgs unter Berücksichtigung toter Konidien



**Abbildung 10.30: Keimentwicklung von *B. graminis* auf dem Weizenblatt und den verschiedenen künstlichen Oberflächen unter Berücksichtigung toter Konidien;** nk: nicht gekeimt, 1Ks: primärer Keimschlauch, 2Ks: sekundärer Keimschlauch, abn: abnormale Entwicklung, aKs: appressorialer Keimschlauch, App: Appressorium, TS: Testsystem; Pures Glas und eine Replik wurden als Negativkontrollen verwendet. Es wurden jeweils 100 Konidien ausgezählt ( $n = 10$ ); Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen der Anzahl der Konidien mit dem jeweiligen Entwicklungsstadium auf den verschiedenen Oberflächen ( $p < 0,05$ , getestet durch einen Kruskal Wallis Test mit anschließendem *Post Hoc* Dunn Bonferroni Test).