

Aus dem Institut für Pflanzenkrankheiten der
Rheinischen Friedrich - Wilhelms - Universität Bonn
Direktor: Prof. Dr. H. C. Weltzien

**VERGLEICHENDE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE
PATHOGENESE DER VON SEPTORIA TRITICI
VERURSACHTEN BLATTFLECKENKRANKHEIT AN
WEIZENSORTEN UNTERSCHIEDLICHER ANFÄLLIGKEIT**

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung des Grades
Doktor der Landwirtschaft (Dr. agr.)
der
Hohen Landwirtschaftlichen Fakultät
der
Rheinischen Friedrich - Wilhelms - Universität
zu Bonn

vorgelegt am 5. April 1977
von
ERSIN ONOĞUR
aus Izmir / Türkei

Referent: Prof. Dr. F. Schönbeck

Korreferent: Prof. Dr. W. Franke

Tag der mündlichen Prüfung: 18. April 1977

MEINEN ELTERN

INHALTSVERZEICHNIS

I.	EINLEITUNG	9
II.	EXPERIMENTELLER TEIL	18
1.	<u>Material und Methoden</u>	18
1.1	Pflanzen und Anzucht	18
1.2	Erregerkultur	19
1.3	Inokulationstechnik	19
1.4	Bonituren	20
1.5	Lichtmikroskopische Untersuchungen	20
1.5.1	Allgemeines	20
1.5.2	Fixierung	21
1.5.3	Herstellung der Paraffinschnitte	22
1.5.4	Färbemethoden	23
1.5.4.1	Übersichtsfärbung für die Verfolgung der Myzelent- wicklung auf und in den Blättern	23
1.5.4.2	Spezielle Färbemethoden	23
1.6	Elektronenoptische Untersuchungen	24
1.6.1	Allgemeines	24
1.6.2	Schneiden und Kontrastieren	25
1.7	Methoden zur Feststellung der Reaktion der Pflanze gegenüber dem Erreger	25
1.7.1	Manometrische Bestimmung der Atmung	25
1.7.2	Bestimmung des Ionen-Efflux	26
1.8	Untersuchungen über die enzymatische Aktivität von <u>Septoria tritici</u>	26
1.8.1	Bestimmung der Pektinmethylesterase-, Polygalacturonase- und Cellulasenbildung	26
1.8.1.1	Kultivierung des Pilzes	26
1.8.1.2	Bestimmung der Enzyme	27

- 1.8.2 Bestimmung der Glucosidasen-, Galactosidasen- und Xylosidaseaktivitäten des Pilzes an isoliertem Zellwandmaterial
 - 1.8.2.1 Isolierung des Zellwandmaterials
 - 1.8.2.2 Kultivierung des Pilzes
 - 1.8.2.3 Bestimmung der Enzymaktivitäten
- 1.9 Bestimmung des Wachstums in Kulturen mit isoliertem Zellwandmaterial
- 1.10 Keimtests mit Blattextrakten
- 1.11 Untersuchungen über den Einfluß der Stickstoffdüngung
 - 1.11.1 Düngung, Inokulation und Bonitur
 - 1.11.2 Gesamtstickstoff- und freie Aminosäuren-Bestimmungen
 - 1.11.3 Gesamt-Phenol-Bestimmung
- 1.12 Untersuchungen über den Einfluß systemischer Fungizide
 - 1.12.1 in vitro Tests
 - 1.12.2 in vivo Tests
- 1.13 Statistische Auswertung

2. Ergebnisse

- 2.1. Sortenanfälligkeit
 - 2.2 Befallsentwicklung an den Sorten 'Caribo' und 'Florian' unter veränderten Versuchsbedingungen
 - 2.3 Vergleich der Pathogenese bei 'Caribo' und 'Florian'
 - 2.3.1 Auskeimung auf der Blattoberfläche und Penetration
 - 2.3.2 Ausbreitung im Gewebe und Fleckenbildung
 - 2.3.3 Elektronenoptische Beobachtungen
 - 2.3.4 Histochemische Reaktionen im befallenen Blattbereich
-

2.3.5 Veränderung der Atmung und Permeabilität während des Krankheitsverlaufs	65
2.3.5.1 Atmung	65
2.3.5.2 Permeabilität	65
2.4 Enzymatische Aktivität von <u>Septoria tritici</u>	67
2.4.1 Bildung der Pektinmethylesterase, Polylacturonase und Cellulasen (C_1 , C_x)	68
2.4.1.1 Auf reinem Enzymsubstrat	68
2.4.1.2 Auf Enzymsubstrat + EV-8-Nährlösung	69
2.4.1.3 Auf Blattmaterial	71
2.4.2 Glucosidasen-, Galactosidasen- und Xylosidaseaktivitäten an isoliertem Zellwandmaterial	73
2.5 Wachstum in Kulturen mit isoliertem Zellwandmaterial	75
2.6 Wirkung einer Glucose-Behandlung auf die Befallsreaktion der Sorte 'Caribo'	76
2.6.1 Beeinflussung des Zuckergehaltes durch Glucose-Applikation	76
2.6.2 Beeinflussung der Resistenz durch Glucose-Applikation	77
2.7 Einfluß der Blattextrakte auf die Konidienkeimung	79
2.8 Einfluß der Stickstoffdüngung auf Prädisposition	80
2.8.1 Einfluß auf den Befall	80
2.8.1.1 Befall 3 Wochen alter Pflanzen	80
2.8.1.2 Befall 2 Monate alter Pflanzen	81
2.8.2 Untersuchungen über die Ursachen der N-Wirkung	81
2.8.2.1 Veränderungen der Blattfläche	81
2.8.2.2 Veränderungen des Gesamt-N-Gehaltes	84
2.8.2.3 Veränderungen des Gehaltes an freien Aminosäuren	85

2.8.2.4 Veränderungen des Gesamt-
Phenol-Gehaltes

2.9 Einfluß systemischer Fungizide auf Septoria
tritici und auf den Befall bei 'Caribo'

2.9.1 Beeinflussung des Erregers in vitro

2.9.1.1 Einfluß auf Konidien- bzw.
Keimschlauchbildung

2.9.1.2 Einfluß auf Myzel trocken-
gewicht

2.9.2 Beeinflussung des Befalls durch systemische
Fungizide

2.9.2.1 Befall bei Applikation 2 Tage
vor der Inokulation

2.9.2.2 Befall bei Applikation 2 Tage
nach der Inokulation

2.9.3 Tridemorph-Effekt

2.9.3.1 Vergleich der Applikationen
2 Tage vor bzw. nach der
Inokulation bei 23°C

2.9.3.2 Einfluß auf die Permeabilität

III. DISKUSSION

IV. ZUSAMMENFASSUNG

V. LITERATURVERZEICHNIS

ANHANG

I. EINLEITUNG

In der Literatur häufen sich seit etwa einem Jahrzehnt Berichte über bisher wenig bekannte Getreidekrankheiten. Neben Rost, Brand und anderen Erkrankungen mit starken Symptomausprägungen und hohen Ernteeinbußen erforscht man die weniger auffälligen Fuß- und Blattkrankheiten des Getreides. Das auf diesem Gebiet geweckte Interesse kann auf Veränderungen der landwirtschaftlichen Praxis bzw. Intensivierung des Getreideanbaues zurückgeführt werden, die in den meisten Fällen ein verstärktes Auftreten solcher Krankheiten zur Folge hatten.

Bei der Intensivierung des Getreideanbaues sind nach GROßMANN (1973) zwei Aspekte zu unterscheiden:

Der 'Quantitative Aspekt' beinhaltet die Vermehrung der Anbauflächen und die damit verbundene Erhöhung des Getreideanteils in der Fruchtfolge, vor allem zugunsten des Weizens und der Gerste. 'Ein verstärktes Nebeneinander im gleichen Raum zur gleichen Zeit und ein häufigeres Nacheinander auf derselben Fläche' schaffen günstige Bedingungen für Epidemien und bringen so die Krankheitsgefährdung mit sich. Hierzu zählt vor allem die erhöhte Wahrscheinlichkeit, daß Sporen durch den Wind auf eine andere Wirtspflanze übertragen werden können. Dies ist eine bedeutende Hilfe für Erreger, deren Sporen nach dem Verlassen der Stammpflanze keine große Überlebenschance haben und sich nur in geringem Umfang durch Windflug verbreiten können. Zu derartigen Pathogenen gehören z.B. neben Cercospora herpotrichoides, dem Erreger der Halmbruchkrankheit, auch Septoria-Arten (FEHRMANN und SCHRÖDTER, 1971; GROßMANN, 1973). Der 'Produktionstechnische Aspekt' umfaßt die Intensivierung des Getreideanbaues durch erhöhte Mengen an Produktionsmitteln, insbesondere Stickstoff. Die häufig einseitig erhöhte N-Düngung steigert die Befallsbereitschaft der Pflanzen gegenüber neuen Pathogenen u.a. durch Veränderung der Gewebestruktur.

In Westeuropa zählen zu diesen Erregern vor allem Erysiphe graminis, Septoria nodorum, S. tritici, Fusarium spp. und Helminthosporium spp. (FEEKES, 1967; CASSINI, 1973; GROßMANN, 1973; RAPILLY, 1973).

Das Auftreten 'neuer' Krankheiten als Folge der Verwendung moderner und ertragsreicherer Sorten und der damit verbundenen veränderten Anbautechniken spiegelt sich im Mittelmeerraum besonders am Beispiel der Blattfleckkrankheit des Weizens, hervorgerufen durch Septoria tritici Rob. ex Desm., wieder. In dieser Zone sowie in Südasien werden seit Mitte 1960 durch CIMMYT (Centro Internacional de Mejoramiento de Maiz y Trigo) gezüchtete und verteilte Weizensorten angebaut, die durch ihre hohe Ertragskapazität die lokalen Sorten verdrängen. Zum Beispiel betrug die Gesamtanbaufläche dieser Sorten im Jahre 1972 in der Türkei 1000 ha und in Indien 540 000 ha, 1972/73 dagegen schon 700 000 bzw. 10 Millionen ha (ANONYM, 1976). Der Durchschnittsertrag dieser Sorten erreichte in Indien 1972/73 180 kg/ha und lag so etwa 2,2-fach höher als der der einheimischen Sorten.

Der deutlichste Unterschied dieser kleinwüchsigen Sorten gegenüber den traditionellen ist ihre bessere Reaktion auf Dünger. Sie sind auch nach starker Stickstoffdüngung und Bewässerung sehr widerstandsfähig gegen Lagern. Es ist offensichtlich, daß für diese Sorten ein neues Anbauverfahren entwickelt werden mußte, um ihr volles genetisches Potential ausschöpfen zu können. Hier sei die Erhöhung der Pflanzendichte, die Änderung des Aussaattermines, der Saattiefe, die vermehrte Anwendung von Dünger, die häufigere und gezieltere Bewässerung und eine bessere Unkrautbekämpfung erwähnt (STEWART et al., 1972).

Die Krankheitsresistenz dieser Sorten war hauptsächlich beschränkt auf endemische Pathogene des amerikanischen Kontinents. Aus diesem Grund sind sie meistens anfällig gegenüber Pathogenen, die in den neuen Anbaugebieten vorkommen (STEWART et al., 1972). Ausgedehnter Anbau ähnlicher Genotypen mit enger genetischer Grundlage hat somit ein Septoria-Problem im Nahen Osten hervorgerufen, da diese Sorten dort zum großflächigen Anbau freigegeben wurden, ehe sie gegen Septoria tritici getestet worden waren. Die lokalen Sorten, die in der Mittelmeerzone unter traditionellen Methoden angebaut werden, zeigen eine gewisse Resistenz gegen S. tritici. Aber durch Intensivierung der Düngung

und Erhöhung der Bestandsdichte leiden auch diese Sorten nach SAARI und WILCOXSON (1974) unter dem Septoria-Befall.

Die Septoria tritici-Blattfleckenkrankheit des Weizens kommt in über 50 Ländern der Erde vor (s. Abb. 1). Sie wird in den U.S.A. (SHANER et al., 1975), Guatemala (SCHIEBER und FUMGALLI, 1961), Brasilien (STEWART et al., 1972), Großbritannien (COOKE und JONES, 1971), Rumänien (GHEORGHIES, 1974), Jugoslawien (ARSENJEVIC, 1965), der Türkei (STEWART et al., 1972 und KARACA, 1974), Israel (EYAL et al., 1973), Marokko, Tunesien und Algerien (STEWART et al., 1972), Südafrika (von WECHMAR, 1961), Australien (SHIPTON, 1968), New Zealand (WENHAM, 1959) als eine bedeutende Weizenkrankheit angesehen. S. tritici tritt meistens zusammen mit S. nodorum, dem Erreger der Spelzenbräune, auf.

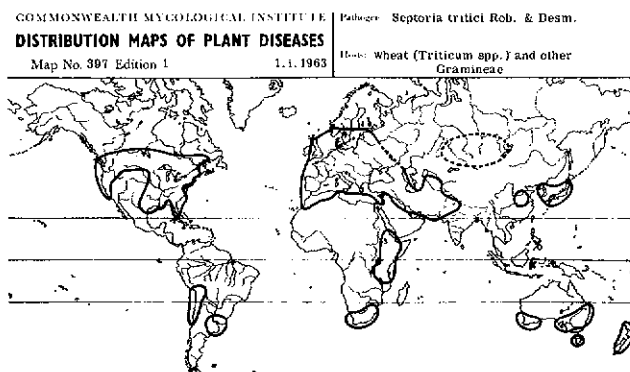


Abb. 1: Das Vorkommen der Septoria tritici auf der Erde.
 ---: ergänzende Berichte über weiteres Auftreten
 von S. tritici bis 1966

Die Ernteverluste durch Blattbefall variieren je nach Land und Jahr bzw. Witterungsbedingungen erheblich. Nach HAFIZ (1971) reduzierte S. tritici im Jahre 1968 in Kombination mit Gelbrost und Frostschäden den mittleren Ertrag im West- und

Südküstengebiet der Türkei bei 5 mexikanischen Sorten um 25 %. In Israel, wo die mexikanischen Sorten 90 % der Gesamtanbaufläche ausmachen, verursachte eine mehrjährige Septoria-Epidemie 30-40 %ige Ernteverluste (EYAL et al., 1973). EYAL (1972) weist auf das destruktive Potential von S. tritici mit dem Beispiel hin, daß bei einem Bekämpfungsversuch in Israel eine zu 50 % mit Pyknidien besetzte Blattfläche mit einem 20 %igen Ernteverlust korrelierte. CALDWELL und NARVAES (1960) aus den U.S.A. berichteten, daß eine natürliche Septoria-Infektion den Ertragsverlust um 11-28 % reduziert hatte. Mit künstlichen Infektionen war es sogar nach Autoren eine Ertragsminderung bis zu 45 % zu erreichen.

Der Erreger, Septoria tritici Rob. ex Desm., gehört zur Ordnung Sphaeropsidales der Formklasse Deuteromycetes. Die höhere Form des Pilzes ist bislang nicht gefunden worden. In letzter Zeit jedoch gibt es Hinweise dafür, daß S. tritici Ascien bildet und dadurch zur Familie Mycosphaerella, Ascomycetes, zu stellen wäre (SANDERSON, 1972). Über Taxonomie und morphologische Charakteristika von S. tritici sowie die Bedingungen für ein optimales Wachstum und reichliche Sporulation in Kulturen wurden von WEBER (1922), ARSENIJEVIC (1965), BAKER (1969), COOKE und JONES (1970) und JONES und LEE (1974) umfangreiche Untersuchungen angestellt.

Die in der Literatur gegebenen Hinweise über den Wirtskreis von S. tritici sind widersprüchlich. Nach HILU und BEVER (1957), WENHAM (1959), ARSENIJEVIC (1965) und BAKER (1969) ist S. tritici ein hoch spezialisierter Erreger und kann nur Triticum-Arten befallen. Andererseits jedoch gibt es Berichte, daß er auf mehreren Grasarten Symptome hervorrufen und sporulieren kann (WEBER, 1922; SPRAGUE, 1950). BROCKENSHIRE (1975) hat demonstriert, daß Septoria tritici durch künstliche Inokulation Festuca, Poa, Agropyron, Bromus, Vulpia, Holcus und auch Hordeum befallen kann. Eine Septoria-Epidemie an Gräsern wurde in der Natur bisher nicht beobachtet (DINOOR, 1974).

Ähnlich widersprüchlich wie die Aussagen über den Wirtskreis des Pilzes sind die Angaben über das Vorkommen physiologisch

Rassen. MORALES (1958), ARSENIJEVIC (1965) und SHEARER (zitiert in SHIPTON et al. 1971) konnten mit einem Testsortiment von 16-28 Weizensorten keine physiologischen Rassen von S. tritici nachweisen. Nach EYAL et al. (1973) jedoch war eine physiologische Spezialisierung zu beobachten, die sich in unterschiedlicher Virulenz der 5 Pilzstämme, gemessen in Dichte der Pyknidien, gegenüber den einzelnen Testsorten ausdrückte.

Wie aus dem Namen der Krankheit bereits hervorgeht, ist S. tritici ein Blattparasit an Winter- und Sommerweizen. Unter günstigen Bedingungen (hohe Luftfeuchtigkeit und relativ niedrige Temperatur) werden auch die Ähren befallen (JONES und COOKE, 1970). Erste Symptome sind hellgrüne Areale, die sich mit der Zeit in längliche, gelb bis braune nekrotische Flecken umwandeln. Auch 'Grüne Inseln' können als eine Symptomvariation vorkommen (WEBER, 1922). Durch das Zusammenwachsen der Flecken kann fast die ganze Blattfläche zerstört werden. Mit der Bildung von dunkelbraun-schwarzen Pyknidien beendet der Pilz seinen Lebenszyklus auf der Pflanze. Es sind 7-9 Generationen während einer Vegetationsperiode möglich (ARSENIJEVIC, 1965).

Der Erreger überwintert hauptsächlich in Pyknidienform auf Stoppelresten des Weizens. Überwinterung auf Grasarten, die sich nach BROKENSCHIRE (1975) als alternative Wirte anbieten, ist auch möglich. Pyknidiosporen können in Pyknidien je nach Temperatur 5 bis 18 Monate keimfähig bleiben (WENHAM, 1959; WEBER, 1922). Eine Vermehrung des Inokulums in bereits abgestorbenen Pflanzenresten ist bisher nicht beobachtet worden (EYAL, 1971).

Die Ausbreitung des Inokulums erfolgt vor allem durch kleine, mit Pyknidien besetzte Blattstücke, die mit dem Wind verfrachtet werden (WEBER, 1922). Da bei Septoria-Arten die Pyknidiosporen von einer Schleimhülle umgeben sind und daher stark auf der Unterlage haften, ist eine Sporenausbreitung durch den Wind fraglich (SACKSTON, 1969). Jedoch kann nach SHIPTON et al. (1971) und ARSENIJEVIC (1965) bei fortdauernder hoher Luftfeuchtigkeit

eine Sporenverwehung über eine kurze Distanz vorkommen. Für den Ausstoß der Sporenranken aus den Pyknidien ist 'Regenwetter' erforderlich. Neuinfektionen in einem Bestand erfolgen durch abgewaschene Konidien, die mit Regentropfen auf nah gelegene Pflanzen gespritzt werden.

Obwohl Ährenbefall in der Natur vorkommt, ist eine Übertragung durch Samen nicht bekannt. BROKENSHIRE (1975) hält sie jedoch für möglich.

Einflüsse von Umweltfaktoren auf die Interaktionen zwischen Weizen und Septoria tritici sind auch beschrieben worden. So ist eine anhaltende Nässeperiode für einen intensiven Septoria-Befall erforderlich. Nach SAARI und WILCOXSON (1974) ist eine Septoria-Epidemie in der Mittelmeerzone nur in Gebieten mit 700 mm und mehr Niederschlag im Jahr zu erwarten. Die Begünstigung der Infektion durch hohe Luftfeuchtigkeit ist unter künstlichen Bedingungen demonstriert worden, wobei der Befall durch eine 96-stündige Inkubation bei 100 %iger Luftfeuchtigkeit deutlicher gefördert wurde als bei einer Inkubationsdauer von 24, 48 und 72 Stunden (von WECHMAR, 1961).

Die Infektion wird durch eine Temperatur von 16-21°C gefördert, während eine Krankheitsentwicklung im Bereich von 16-27°C ebenfalls erfolgen kann (MORALES, 1958).

Die Wirt-Pathogen Beziehung zwischen S. tritici und Weizen ist nach BENEDICT (1971) durch die Lichtintensität beeinflussbar. Er stellte fest, daß sich bei 8000 Lux die Präpenetrationsphasen des Pilzes verzögerten, obwohl bei der gleichen Lichtmenge die Kolonisation des Gewebes optimal war und der Konidienaustritt aus den Pyknidien früher stattfand. FELLOWS (1962) weist auch darauf hin, daß eine niedrigere Lichtintensität oder eine Dunkelperiode von 72 Stunden nach der Inokulation sich auf den Infektionserfolg negativ auswirkte.

Wie häufig beobachtet wird, ist eine erhöhte Inokulumsdichte

auch bei der Septoria-Erkrankung mit einer verstärkten Infektion verbunden (SHIPTON et al., 1971). Wie SHEARER behauptet (zitiert in SHIPTON et al. 1971) kann die Anfälligkeit bzw. Resistenz einer Sorte gegenüber S. tritici in starkem Maße vom Über- bzw. Unterschreiten der kritischen Inokulumdichte von 6×10^5 Konidien/ml abhängig sein.

Im Rahmen von Untersuchungen über die Epidemiologie der Septoria-Krankheiten (einschließlich S. nodorum) wurden in Großbritannien durch künstliche Inokulationen u.a. auch die Beziehung zwischen Befallsstärke und Entwicklungsstadien der Pflanzen geprüft (WILLIAMS und JONES, 1972). Zur Zeit der Bestockung waren die Pflanzen gegenüber S. tritici besonders empfindlich. Während des Ährenschiebens und der Blüte war der Blattbefall geringer, vermutlich aber wegen der niedrigen Luftfeuchtigkeit. Während der Reifeperiode wurde ein erhöhter Blattbefall festgestellt. Bei allen Inokulationszeitpunkten wirkte sich der Befall negativ auf Kornzahl/Ähre, Einzelährenenertrag und 1000-Korngewicht aus.

Eine reichliche Versorgung der Weizenpflanzen mit N-haltigem Dünger erhöht die Anfälligkeit gegenüber S. tritici (FELLOWS, 1962). Es wurde beobachtet, daß die Pflanzen, die mit 'Vigoro' 7-13 Tage vor Inokulation versorgt worden waren, mehr Flecken und Befallsfläche zeigten als die Pflanzen, denen das Düngemittel während der Inokulation gegeben wurde. Diese Tendenz hat von WECHMAR (1961) in Düngungsversuchen mit Stickstoff auch beobachten können. Ferner hat sie festgestellt, daß die Pflanzen auf ertragsreicheren Böden anfälliger waren.

Über die Pathogenese der Krankheit liegen bereits Hinweise vor. Die Konidien keimen auf den Blättern 12 Stunden nach der Inokulation und dringen innerhalb von 24 Stunden durch die Stomata ein (HILU und BEVER, 1957). WEBER (1922) beobachtete nur eine direkte Penetration durch die Kutikula. Nach der Penetration breitet sich der Pilz im Interzellularraum in allen Richtungen aus, ohne dabei Haustorien zu bilden. Die Zellen sterben erst zur Zeit der Pyknidienbildung ab, danach treten die Flecken auf

(WEBER, 1922; HILU und BEVER, 1957). Das Verhalten von Konidien auf resistenten und anfälligen Sorten ist nach HILU und BEVER (1957) bezüglich der Auskeimung und Penetration gleich. Der Hauptunterschied liegt darin, daß der Pilz sich in resistenten Sorten weniger gut etablieren kann als in anfälligen. Die Autoren weisen auch darauf hin, daß die Inkubationszeit bei der resistenten Sorte länger ist und kleinere Pyknidien gebildet werden.

Bei diesen Studien wurden jedoch die möglichen Ursachen der Resistenz bzw. Anfälligkeit weder physiologisch noch cyto- oder histochemisch näher untersucht.

Die Rolle der Pektin- und Cellulose-abbauenden Enzyme sowie der Toxine bei der Pathogenese ist weitgehend unbekannt. Nach BAKER (1969) könnten Phytoalexine bei der Resistenz eine gewisse Rolle spielen.

Gegen S. tritici ist eine sortenbedingte Resistenz vorhanden, die bei Durum-Weizen ein allgemein höheres Niveau erreicht (ROSIELLE, 1972). In seinem umfangreichen Screening hat der Autor 7500 Weizensorten im Freiland durch künstliche Inokulationen getestet, mit dem Ziel, Resistenz und Frühreife zu kombinieren. Es zeigte sich, daß 34 Triticum aestivum Sorten und 226 T. durum Sorten eine konstante Resistenz gegenüber S. tritici besaßen.

Die Befallsreaktion der Pflanzen gegen den Erreger unter Gewächshausbedingungen stimmt mit der Reaktion im Freiland nicht immer überein. HILU und BEVER (1957) fanden, daß alle getesteten Weizensorten im Gewächshaus anfällig waren, obwohl sie unter Feldbedingungen variierende Befallsreaktionen aufwiesen. Andererseits stellten SEWELL und CALDWELL (1960) und BAKER (1970) fest, daß nach Inokulation abgeschnittene und auf Benzimidazol-lösung gelegte Blätter ein Reaktionsspektrum zeigten, das mit der Feldresistenz weitgehend übereinstimmte. SHIPTON et al. (1971) stellten jedoch die Angaben über die Resistenz in Frage, mit der Begründung, daß die für Infektion und Symptomausprägung entscheidenden Faktoren nicht genügend bekannt seien.

oder beurteilt werden könnten.

Die Genetik der Resistenz gegenüber S. tritici ist gründlich untersucht und allgemein eine einfache Vererbung der Resistenz durch eine monogene Dominanz demonstriert worden (NARVAEZ und CALDWELL, 1957; RILLO und CALDWELL, 1966).

Als Pflanzenschutzmaßnahme ist der Anbau resistenter Sorten erfolgversprechend und für Gebiete, in denen ein intensivierter Weizenanbau durchgeführt wird und in denen die klimatischen Faktoren für Epidemien günstig sind, sogar erforderlich. In den Ländern wie U.S.A. (SHANER et al., 1975), Türkei, Marokko, Mexiko (ANONYM, 1972), Israel (EYAL, et al., 1973) und Australien (ROSIELLE, 1972) werden Untersuchungen bezüglich der Resistenzzüchtung durchgeführt. Es wird angenommen, daß in kurzer Zeit endgültige Ergebnisse erzielt werden können (ANONYM, 1972).

Als Kulturmaßnahme wird tiefere Bodenbearbeitung zur Vernichtung des Inokulums an Pflanzenresten besonders empfohlen (LUTHRA et al., 1938).

Chemische Bekämpfung mit traditionellen Mitteln ist auch möglich. So kann durch Anwendung von Maneb, Maneb/Sulfur, Zineb und Daconil 2787 eine erfolgreiche Bekämpfung erzielt werden (SHIPTON, 1968; JENKINS und MORGAN, 1969; EYAL, 1972; ELLAL und DINOOR, 1973). Aus ökonomischen Gründen wird jedoch eine chemische Bekämpfung in der Praxis nicht durchgeführt.

Wie aus der Literatur hervorgeht, sind die Grundlagen der Wirt-Parasit-Beziehung bei dieser Krankheit noch nicht befriedigend erfaßt. Die erste Aufgabe in der vorliegenden Arbeit war es also, die Krankheitsentwicklung in den ausgewählten anfälligen und resistenten Sorten vergleichend zu verfolgen. Dabei sollten die möglichen Ursachen der Resistenz ermittelt werden. Im Übrigen war es auch von praktischem Interesse, die Auswirkungen erhöhter Stickstoffdüngung und der Anwendung systemischer Fungicide auf den Befall mit S. tritici zu untersuchen.

II. EXPERIMENTELLER TEIL

1. MATERIAL UND METHODEN

1.1 Pflanzen und Anzucht

Die in der Bundessortenliste aufgeführten Winterweizensorten (*Triticum aestivum* L.) Caribo, Diplomat, Florian, Frühgold, Pantus und Progress dienten bis zum Ende der Anfälligkeitstests als Versuchspflanzen. Für die weiteren Untersuchungen wurden 'Caribo' und 'Florian' verwendet. Das Saatgut kam direkt von den jeweiligen Züchtern.

Die Pflanzen wuchsen in Klimakammern, in denen Temperatur, Belichtungsdauer und relative Luftfeuchtigkeit einzeln zu steuern waren, falls nicht anders vermerkt, unter folgenden Bedingungen:

Temperatur	: 18°C
relative Luftfeuchtigkeit	: 70 % ($\pm$ 5 %)
Licht/Dunkelphase	: 14/10 Stunden
Lichtquellen	: 14 Osram-L-Fluora 40 W/77 Lampen
Lichtintensität	: 12 000 lx (multipliziert mit Faktor 6 für Osram-Fluora Lampen)
(im 3-Blattstadium in Pflanzenhöhe gemessen)	
Boden	: Ackererde: Sandgemisch im Verhältnis 1:2. Dieses Gemisch erhielt pro 100 g: 2,13 g $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \times \text{H}_2\text{O}$, 0,71 g I , 1,66 g K_2SO_4 , 1,22 g $\text{MgSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$ und 1,42 g NH_4NO_3 entsprechend 0,094 % N. Mit Ausnahme von $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \times \text{H}_2\text{O}$ wurden die Dünger vor dem Zumischen jeweils 50 ml aq.dest. gelöst. Die Analysenwerte der Ackererde betrugen: 0,094 % N, 26,2 mg P_2O_5 in 100 g Boden, 28,2 mg K_2O in 100 g Boden und 3,2 % CaCO_3 . pH-Wert: 6,5.

Die gesund aussehenden und mit Ceresan-Morkit gebeizten Weizenkörner wurden in 12er Plastiktöpfe ausgelegt und mit Boden bedeckt. Die Ausdünnung erfolgte 10 Tage nach dem Auflaufen auf 12 Pflanzen je Topf. Die Pflanzen wurden vor der Inokulation hochgebunden. Während der Versuche erhielten die Töpfe dem Bedarf entsprechende Wassermengen.

1.2 Erregerkultur

Der Erreger Septoria tritici Rob.ex Desm. wurde von der Biologischen Bundesanstalt Kiel-Kitzeberg zur Verfügung gestellt.⁺⁾ Ausgehend von einer Einsporkultur erfolgte die Haltung des Pilzes auf Elliot-V-8-Agar bzw. in Elliot-V-8-Nährlösung. Der Elliot-Agar (RIKER und RIKER, 1936; HILU und BEVER, 1957) wurde durch Zugabe von V-8 Gemüsesaft (hergestellt in Italien unter Lizenz von Campbell Soup Company, Camden, New Jersey, U.S.A.) modifiziert. Die Zusammensetzung dieses Nährmediums war: 1,36 g K_2HPO_4 , 1,06 g Na_2CO_3 , 0,50 g $MgSO_4 \times 7 H_2O$, 5,0 g Dextrose, 1,0g Asparagin, 200 ml V-8 (filtriert durch 2-schichtige Gaze), 800 ml aq.dest., je nach Kulturmethode mit oder ohne 15 g Agar. Der pH-Wert, eingestellt durch Zitronensäure, betrug 6,0.

Zur Inokulumgewinnung wurde der Pilz auf EV-8-Agar, auf dem hauptsächlich Konidienklumpen gebildet werden, ohne zusätzliche UV-Behandlung im Dunkeln bei ca. 20°C kultiviert. Fünf bis sechs Tage nach Überimpfung konnten die Konidienklumpen verwendet werden. Ab dem 6. Tag deckte bei Temperaturen über 18°C ein dunkleres Myzel die Klumpen ab, das die Herstellung einer Konidiensuspension erschwerte. Die Pilzkultivierung in der EV-8-Nährlösung erfolgte in der Lichtkammer bei einer Temperatur von 20°C auf einem Drehschüttelapparat. In Flüssigkeitskulturen bildete S. tritici ebenso ca. 1 mm große Klumpen, die aus Myzelien und Konidien bestanden.

1.3 Inokulationstechnik

Die Blatinokulationen erfolgten hauptsächlich im 3- bzw. 4-Blattstadium der Pflanzen. Die Konidienklumpen auf dem Agar wurden mit der Deckglaskante, ohne den Agar zu zerkratzen, vorsichtig eingesammelt. Je nach Versuchsfrage wurde eine Konidiensuspension von 10^5 - $1,4 \times 10^6$ Konidien/ml hergestellt. Um eine

^{+) Herrn Dr. H. Mielke sei für die Bereitstellung von Septoria-tritici Kulturen herzlich gedankt.}

bessere Haftung auf den Blättern zu gewährleisten, wurden je 100 ml Sporensuspension 2 Tropfen 'Tween 20' zugesetzt. Dies gab eine etwa 0,04 %ige Tween 20-Lösung. Inokuliert wurden die Pflanzen durch Besprühen mit einem Desaga-Glasspezialzerstäuber ca. 12 ml Inokulum pro Topf. In Sonderfällen erfolgte die Inokulation durch Bestreichen der Blätter mit einem Pinsel. Anschließend wurden die Töpfe für 96 Stunden unter Polyäthylen bei 100 % relativer Luftfeuchtigkeit gehalten. Am Ende dieser Periode wurde die Luftfeuchtigkeit in der Klimakammer für ca. 12 Stunden auf 85-90% erhöht, um die Schockwirkung des plötzlichen Feuchtewechsels zu mindern.

1.4 Bonituren

Die durch Inokulationen hervorgerufenen Blattflecken wurden Laufe der Krankheitsentwicklung zu bestimmten Zeitpunkten entweder als Fleckenzahl oder als befallene Blattfläche bonitiert. Hierbei ergab:

$$\frac{\text{Summe der Fleckenzahl oder der prozentualen Befallsflächen der Einzelblätter je Topf}}{\text{Gesamtzahl der Blätter je Topf}} = \frac{\text{durchschnittliche Fleckenzahl je Topf oder Befallsfläche je Topf in \%}}{\text{Gesamtzahl der Blätter je Topf}}$$

Im Ergebnisteil wurde die 'durchschnittliche Befallsfläche je Topf in %' als 'Blattbefall je Topf in %' ausgedrückt. Die Auszählung der Pyknidien an den Blättern als drittes Kriterium für die Anfälligkeit wurde nach dem Abschneiden der Blätter unter einem Binokular durchgeführt.

1.5 Lichtmikroskopische Untersuchungen

1.5.1 Allgemeines

Bei diesen Untersuchungen wurden die 2. Blätter der Pflanzensorten 'Caribo' und 'Florian' ab 5 cm von der Blattspitze her jeweils 1 cm lange Abschnitt geteilt, die mit Filzstift markiert.

wurden. Die Inokulation der markierten Blätter erfolgte mit Hilfe eines Pinsels, die Inokulumdichte betrug 5×10^5 Pyknidiosporen/ml. Um die ersten Phasen der Keimung deutlich verfolgen zu können, wurden hier Pyknidiosporen aus Pyknidien an Blättern verwendet, da die Konidien auf dem Agar möglicherweise bereits ausgekeimt waren. Um für die Sporen auf allen behandelten Blättern einen möglichst gleichzeitigen Keimbeginn zu schaffen, wurde der inokulierte Topf sofort in einen bei 4°C gehaltenen Klimaschrank gestellt. Nach Beendigung der Inokulation innerhalb einer Versuchsreihe, wurden alle Töpfe gleichzeitig in die Klimakammer zurückgebracht.

Für die Erfassung der Keimung, der appressorienähnlichen Strukturbildung und der Penetration an den Blättern beider Sorten, wurden in 6-stündigem Abstand bis zu 72 Stunden nach der Inokulation Proben genommen. Hierbei wurde eine 1,25 %ige Kollodiumlösung im Gemisch Äther:Alkohol 95 % (1:1) auf den markierten Blatteilen appliziert und nach etwa 2 Minuten die dünnen Häutchen abgezogen. Diese wurden dann in Baumwollblau-Lactophenol als semipermanente Präparate eingeschlossen. Mit dem Binokular wurde stichprobenweise kontrolliert, ob der Kollodiumfilm alle Konidien von den Blättern abgelöst hatte. Parallel zu diesem Verfahren wurden wiederum 6-stündlich bis zu 72 Stunden, dann in 12-Stunden Abständen bis zum 20. Tag nach der Inokulation 0,5 bis 1,5 cm lange Blattstücke als Proben entnommen.

1.5.2 Fixierung

Alkohol: Formol: Eisessig (AFE): (GERLACH, 1969)

Alkohol (70%)	90 ml
Formol (35%)	5 ml
Eisessig	5 ml

Ein Teil der Blattproben blieb in diesem für Konservierung besonders geeignetem Gemisch so lange, bis das Chlorophyll in Lösung ging. Ein anderer Teil wurde nur 24 Stunden lang fixiert. Mit dieser Fixierung sollten in erster Linie Zellwände gut erhalten bleiben.

1.5.3 Herstellung der Paraffinschnitte

Hierbei standen die von GERLACH (1969) empfohlenen Richtlinien für Paraffineinbettung und Mikrotomschnitte im Vordergrund. Die Proben wurden in Alkohol entwässert, mit Toluol aufgehellt, mit Cytoparaffin bei 65°C durchtränkt und anschließend eingebettet. Das Schneiden erfolgte mit einem Rotationsmikrotom vom Typ Minot. Die Schnittdicke betrug 10-12 μ .

Ein wichtiges Problem, nämlich das Kippen von silikatreichen Epidermisschichten während des Schneidens, mußte durch vorherige Versuche gelöst werden. Besonders die Behandlungszeiten in hochprozentigen Alkoholstufen und reinem Toluol mußten erprobt werden, um ein unnötiges Verhärten der Zellwände zu vermeiden. Dabei erwies sich der folgende Zeitplan als geeignet für die Verarbeitung von Weizenblättern zu Mikrotomschnitten:

Alkohol (%)

80	20 min.
92	20 "
96	20 "
100 (1)	30 "
100 (2)	60 "
100 (3)	360 "

Alkohol : Toluol (3:1, 1:1, 1:3) jeweils 30 min

Toluol (1,2,3) jeweils 30 min

Toluol : Paraffin

3	:	1	40°C	30 min
1	:	1	40°C	45 "
1	:	3	50°C	60 "

Paraffin (1)		45 min
(2)	65°C	120 "
(3)		240 "

Wie SCHLÜTER (1971) festgestellt hatte, mußte die zu untersuchende Epidermiszellschicht im Paraffinblock derart eingebettet werden, daß das Messer zuerst diese Schicht schneiden konnte.

Die Paraffinschnitte wurden auf der Wärmebank vorsichtig gestreckt und mittels Warmluft getrocknet.

1.5.4 Färbemethoden

1.5.4.1 Übersichtsfärbung für die Verfolgung der Myzelentwicklung auf und in den Blättern

Baumwollblau-Lactophenol: Die fixierten und aufgehellten Blattproben wurden nach kurzem Waschen in absteigenden Alkoholstufen bis zu aqua dest. in einem Gemisch von Baumwollblau und Lactophenol (0,1 %) vorsichtig erwärmt und nach dem Abkühlen in reinem Lactophenol eingeschlossen. Diese Präparate dienten besonders als Vergleichsmaterial zu den Kollodiumfilm-Präparaten.

Perjodsäure-Schiffs-Reagenz (PJS): Die PJS-Reaktion, die eine spezielle Bestimmungsmethode für die wasserunlöslichen Polysaccharide ist (RUTHMANN, 1966), wurde wegen ihrer ausgezeichneten Kontrastierung für Färbungen von Totalpräparaten und Mikrotomschnitten herangezogen.

Die aufgehellten Blattproben oder Paraffinschnitte wurden 10-15 min. mit 0,5 %iger wässriger Perjodsäurelösung behandelt, 10 min. unter fließendem Wasser gewaschen, je nach Präparat 10-30 min. in Schiffs-Reagenz (Merck, 9034) eingelegt, 3x 15 min. mit SO₂-Wasser gründlich gewaschen, 15 min. unter fließendem Wasser gespült und anschließend in wässriger Glycerinlösung bzw. Kanadabalsam eingeschlossen (GERLACH, 1969). Durch diese Färbung war der Pilz mit seinen deutlich rot gefärbten Hyphen im Gewebe leicht zu erkennen.

1.5.4.2 Spezielle Färbemethoden

Der Nachweis bestimmter Zellwandstoffe im befallenen Bereich der Blätter erfolgte anhand spezieller Farbreaktionen.

Wasserunlösliche Polysaccharide:

Die Bestimmung von unlöslichen Polysacchariden erfolgte nach der bereits oben erwähnten Methode.

Lignin:

Für die Ligninbestimmung wurde der von RIDE (1975) beschriebene Chlorsulfit-Test angewendet. Die im AFE-Gemisch aufgehellten

Blattstücke wurden nach dem Auswaschen in Wasser in einem Gemisch von 1 % KMnO_4 und Salzsäure (1:1) für 4 Stunden suspendiert, auf Objektträger gelegt und mit einer 20 %igen Na_2SO_3 -Lösung abgedeckt. Ligninhaltige Zellwände färben sich rot. Der Nachweis von Lignin durch Phloroglucin-Salzsäure-Lösung (GERLACH, 1969) wurde als Vergleich durchgeführt.

Kallose:

Das Resorcinblau ist nach ESCHERICH (1956, zitiert in SCHLÜTER 1971) ein sicheres und leicht zu handhabendes Kallosereagenz. Zur Herstellung wird 3 g Resorcin zusammen mit 1 ml NH_3 (33 %) in 200 ml aqua dest. kurz erwärmt, 2 Tage später in kochendem Wasser erhitzt, filtriert und eingedampft, bis keine NH_3 -Dämpfe mehr entweichen.

Die Kallose wird durch verdünnte Resorcinblau-Lösung (1:3) himmelblau angefärbt.

1.6 Elektronenoptische Untersuchungen

1.6.1 Allgemeines

Die ultrastrukturellen Veränderungen im infizierten Blattgewebe wurden von der Ausbildung der ersten Symptome bis zur Nekrotisierung des Gewebes kontinuierlich verfolgt. Nicht inokulierte Pflanzen lieferten das Vergleichsmaterial. Die Blattstücke (ca. 1x5 mm) wurden in einer 4 %igen Glutaraldehydlösung in 0,1 M PO_4 -Puffer (pH 7,0) für 90 min. bei Zimmertemperatur vorfixiert. Nach gründlichem Waschen in gleichem Puffer erfolgte die Postfixierung entweder mit 2 %iger KMnO_4 -Lösung in aqua bidest. oder 1 %iger OsO_4 -Lösung in 0,1 M PO_4 -Puffer jeweils für 2 Stunden bei Zimmertemperatur.

Nach Entwässerung in den aufsteigenden Acetonkonzentrationen bis zu absolutem Aceton wurden die Proben in Aceton-Araldit-Stufen infiltriert:

Aceton : Araldit

3	:	1	
1	:	1	jeweils 4 Stunden
1	:	3	

reines Araldit 24 Stunden

Die Polymerisation erfolgte über 72 Stunden bei 60°C.

1.6.2 Schneiden und Kontrastieren

Die Schnitte wurden mit einem Glasmesser auf einem Ultramikrotom (Ultramikrotom III, LKB) hergestellt. Die Bestimmung der Schnittdicke erfolgte empirisch nach Interferenzfarben, die meistens von Silber bis Hellgold reichten. Dieser Farbbereich entspricht einer Schnittdicke von 90-120 nm. Die Schnitte wurden auf mit Formvar beschichteten Kupfernetzen ($\varnothing$ 3mm) aufgenommen und nach Bedarf mit 1 %iger KMnO_4 -Lösung in aqua dest. nachkontrastiert.

Die Objekte wurden mit einem Zeiss EM 9 S-2 Elektronenmikroskop untersucht. +)

1.7 Methoden zur Feststellung der Reaktion der Pflanze gegenüber dem Erreger

1.7.1 Manometrische Bestimmung der Atmung

Die Atmung inokulierter Weizenpflanzen wurde nach SAMBORSKI und HAW (1956) mit dem Warburgapparat der Firma Braun/Melsungen vom Typ SL 85 G durchgeführt.

Die 2. Blätter wurden mit einer neuen Rasierklinge auf 0,5 cm Länge geschnitten und in die Reaktionsgefäße gegeben (0,3 g frischgewogen/Gefäß). Jedes Gefäß enthielt 2 ml 0,1 M KH_2PO_4 im Hauptraum und 0,2 ml 20 %ige KOH im Mitteleinsatz, der zur Erleichterung der CO_2 -Absorption mit einem gefalteten Filterpapierstückchen versehen war.

Die Respirationsbestimmungen wurden in einem abgedunkelten Raum durchgeführt. Die Wassertemperatur war 28°C, die Schüttelfrequenz betrug 100 volle Ausschläge pro Minute mit einer Amplitude von 3 cm. Nach 15 min. Equilibrierung wurden die Messwerte in einem Abstand von 15 min. über einen Zeitraum von 2 Stunden abgelesen.

) Fr. U. Schinzer sei hierfür herzlich gedankt.

1.7.2 Bestimmung des Ionen-Efflux

Der Ionenaustritt aus dem Gewebe inokulierter Pflanzen wurde mit einem Leitfähigkeitsmeßgerät LF 39 der Wissenschaftlich-Technischen Werkstätten GmbH, Weilheim, gemessen.

Die in 2,5 cm lange Stückchen geschnittenen 2. Blätter von 3 Pflanzen (0,3 g Frischgewicht) wurden in großen Reagenzgläsern mit 20 ml aqua dest. im Wasserbad bei 20°C geschüttelt. Reines aqua dest. hatte eine Leitfähigkeit von 0,9-1,0 μ S. Die Schüttelfrequenz betrug 200 x/Min. Die Leitfähigkeit des Wassers wurde nach 0, 20, 40, 60 und 100 min. als μ S bestimmt.

1.8 Untersuchungen über die enzymatische Aktivität von *Septoria tritici*

1.8.1 Bestimmung der Pektinmethylesterase-, Polygalacturonase und Cellulasenbildung

1.8.1.1 Kultivierung des Pilzes

Zur Erfassung der Pektinmethylesterase (PME), der Polygalacturonase (PG) und der Cellulasen (C_1 und C_x) wurde *S. tritici* in verschiedenen Nährmedien wie folgt kultiviert:

Enzymsubstrat + Czapek-Dox-Nährlösung:

Hierzu wurden dem Pilz jeweils 1 % Pektin (Schuchardt), Polygalacturonsäure-Natriumsalz (Serva), Carboxymethylcellulose-Natriumsalz (Fluka) und MN-300 Cellulosepulver (Macherey-Nagel & Co) als Enzymsubstrat in 20 ml gepufferter Czapek-Dox Nährlösung in 100 ml Kolben angeboten. Die Zusammensetzung dieser Nährlösung war: 2,0 g NaNO_3 , 1,0 g K_2HPO_4 , 0,5 g KCl , 0,5 g MgSO_4 , 0,01 g FeSO_4 in 1000 ml des entsprechenden Puffers. PME- und Cellulase-Tests wurden mit Acetatpuffer (Walpole) bei pH 5,6 und der PG-Test mit Phosphat-Citronensäurepuffer (Mc Ilvaine) bei pH 4,6 durchgeführt (SZECSI, 1969). Nach vorsichtigem Sterilisieren im bereits erwärmten Autoklaven bei 115°C für 5 min. wurden je Kolben 0,3 ml einer auf 6×10^6 Konidien/ml eingestellten Suspension einpipettiert.

Enzymsubstrat + EV-8-Nährlösung:

Die oben genannten Enzymsubstrate wurden hier in ungepufferter EV-8-Nährlösung (Zusammensetzung s. Kap. 1.2.) mit oder ohne Glucose (0,02 M) getestet. Als Kontrolle diente reine EV-8-Nährlösung wiederum mit oder ohne Glucosezusatz. Die pH-Werte wurden mit Citronensäure auf den für das entsprechende Enzym optimalen Bereich eingestellt. Sterilisation und Überimpfen erfolgten wie oben erwähnt.

Blattmaterial:

Zur Bestimmung der Enzymaktivitäten dienten hier die 2. und 3. Blätter der Sorten 'Caribo' und 'Florian' als Nährsubstrat. Die Sterilisation des Blattmaterials erfolgte nach 2 verschiedenen Methoden. Bei der ersten wurden die Blätter in 5 cm lange Stücke geschnitten, davon 5 g abgewogen und in 250 ml Kolben mit 50 ml aq. dest. bei 120°C für 20 min. autoklaviert. Bei der anderen Methode wurde die gleiche Menge Blattmaterial in einem im unteren Teil mit Wasser gefülltem Exsikkator mit Propylenoxid (1 ml/l) 16 Stunden lang sterilisiert (KLARMANN und CRAIG, 1960; CHAN und SACKSTON, 1970). Danach wurde das Material unter sterilen Bedingungen in 250 ml Kolben unter Zusatz von 50 ml aq. dest. und 50 ppm Penicillin übertragen. Die Inokulation erfolgte mit 5 ml Sporensuspension in einer Dichte von 30×10^6 Konidien/ml.

Die Kultivierung wurde in allen Kombinationen in der Klimakammer bei 20°C auf einem Schüttelapparat mit einer Schüttelfrequenz von 40 Hüben/min. vorgenommen. Stichproben auf mikrobielle Verunreinigung wurden regelmäßig durch Ausstreichen von bewachsener Nährlösung auf Platten mit Nutrient-Broth-Agar durchgeführt.

1.8.1.2 Bestimmung der Enzyme

Diese Bestimmungen erfolgten nach der Agardiffusionsmethode von McDONNEL (1962) und SZECSI (1969).

Die Kulturflüssigkeiten mit den entsprechenden Testsubstraten wurden 5 bzw. 10 Tage nach dem Überimpfen bei 4°C und 4500 U/min. für 30 min. zentrifugiert und die Überstände ohne Dialysieren

für die Enzymtests verwendet. Bei dem "Blätter-Versuch" wurde die Kolbeninhalte, d.h. Blätter, Pilz und Kulturflüssigkeit, 15 Tage nach dem Überimpfen bei 4°C und 4500 U/min. für 30 min zentrifugiert, dann 16 Stunden gegen aqua dest. dialysiert und als Rohextrakt für die Enzymbestimmungen verwendet. Als Kontrolle dienten die Blätter, die mit Propylenoxid sterilisiert und ohne Inokulation unter gleichen Versuchsbedingungen gehalten worden waren.

PME-Bestimmung:

Substrat: 1 % Pektin, 0,01 % Salicylanilid, Methylrot und 2 % Agar. Der pH-Wert lag nach Einstellen mit 40 %iger NaOH bei 6,0; die Farbe der Lösung war gelb. Das Substrat wurde als 5 mm dicke Schicht in Plastikpetrischalen gegossen. Nach dem Erstarren wurden mit einem Korkbohrer (0,8 mm) vier Löcher in die Schale ausgestanzt. In diese Löcher wurde 0,1 ml Rohenzymextrakt gegeben. Der Durchmesser der roten Zonen, die während der 48 stündigen Inkubation bei 30°C um die Löcher herum entstanden waren, galt als Maß für die Enzymaktivität. Diese Zonen wurden verursacht durch die Demethylierung von Pektin und dem damit verbundenen Anstieg der H^+ -Ionenkonzentration.

PG-Bestimmung:

Substrat: 1 % Polygalacturonsäure-Natriumsalz, 0,7 % Ammoniumoxalat, 0,01 % Salicylanilid und 2 % Agar gelöst in 0,2 M McIlvaine-Puffer, pH 4,6. Die weitere Behandlung erfolgte wie der PME-Bestimmung. Die Anwesenheit von Enzymzonen war durch das Besprühen mit 5 N HCl sichtbar zu machen. Ein weißer Ring sollte die Aktivität der PG anzeigen.

Cellulase:

Zur Ermittlung sowohl der C_1 - als auch der C_x -Aktivitäten wurde als Substrat ein Gemisch von 1 % Carboxymethylcellulose-Natriumsalz, 0,01 % Salicylanilid und 2 % Agar benutzt. Der pH-Wert betrug 5,6. Die weiteren Behandlungen geschahen analog zur PME-Bestimmung. Nach der Inkubation wurden die Cellulasen durch Zugabe von 3 %igem Bleizucker als durchsichtige Aktivitätszonen nachgewiesen.

1.8.2 Bestimmung der Glucosidasen-, Galactosidasen- und Xylosidaseaktivitäten des Pilzes an isoliertem Zellwandmaterial ⁺⁾

1.8.2.1 Isolierung des Zellwandmaterials

Die Vorbehandlung der Pflanzen und die anschließende Isolierung des Zellwandmaterials geschah nach den Vorschriften von NEVINS et al. (1968).

Nach einer Dunkelperiode zur Reduzierung des Stärkegehaltes in den Zellen und damit zur Vermeidung der Stärkekontamination, wurden die 2. und 3. Blätter abgeschnitten und in Polyäthylenbeutel bis zur Verwendung bei -20°C aufbewahrt. Die Isolierung fand in einem Kühlraum bei 4°C statt. Das eingefrorene Material wurde in kleine Stücke geschnitten, mit 10 Vol. (v:w) PO_4 -Puffer (pH 7,0) in einem Waring-Blender homogenisiert und anschließend 2 x mit dem gleichen Puffer und 1 x mit aqua dest. bei 5000 U/min. für 15 min. zentrifugiert. Nach jeweils dreimaligem Waschen mit 10 Vol. (v:w) Aceton und 10 Vol. (v:w) Chloroform: Methanol (1:1) wurde das Sediment bei Zimmertemperatur getrocknet. In diesen Lösungsmitteln nicht gelöstes Material diente als einzige C-Quelle in den nachfolgenden Versuchen.

1.8.2.2 Kultivierung des Pilzes

Als Kultursubstrat befanden sich in 300 ml Kolben je 100 mg Zellwandmaterial, 0,2 g NH_4NO_3 , 0,05 ml Spurenelementlösung und 50 ml aqua dest. (SCHLÖSSER, mündliche Mitteilung). Nach Sterilisation bei 115°C für 30 min. wurden die Kolben mit 0,25 ml einer auf 30×10^6 Konidien/ml eingestellten Konidien-suspension beimpft und als Schüttelkultur (40 Hüben/min.) bei 20°C mit 15 Stunden Lichtperiode am Tag aufbewahrt. Eine Bakterienkontamination wurde auf Nutrient-Broth-Agar bei 30°C stichprobenweise geprüft.

⁺⁾ Für die freundliche Hilfe bei der Durchführung dieser Arbeit sei Herrn Prof. Dr. E. Schlösser herzlich gedankt.

1.8.2.3 Bestimmung der Enzymaktivitäten

Die β -Glucoseaktivität wurde in Abhängigkeit von der Zeit (4, 6, 8, 10, 12, 14, 18, 22 und 30 Tage nach der Impfung) und die Aktivitäten der übrigen Enzyme 22 Tage nach der Impfung in Anlehnung an LÜNING (1975) bestimmt. Hierbei wurde 0,5 ml Kulturflüssigkeit mit 1,5 ml 1/10 verdünntem Na_2HPO_4 /Citronensäure-Puffer (McIlvaine, pH 6,0) in einem Reagenzglas gemischt und in einem Wasserbad bei 35°C für 5 min. equilibriert. Anschließend wurde 0,5 ml entsprechende Substratlösung (α - und β -Formen des p-Nitrophenyl-Glucopyranosides und des p-Nitrophenyl-Galactopyranosides, jeweils 15 mg/5 ml aq.dest., und p-Nitrophenyl- β -Xylopyranosid, 13,5 mg/5 ml aq.dest.) einpipettiert und nach Schütteln im Wasserbad für weitere 60 min. inkubiert. Durch Zugabe von 2,5 ml NaOH-Glycin-Puffer (pH 10) wurde der Reaktionsablauf gestoppt. In diesem alkalischen Bereich trat durch die katalytische Wirkung von Enzymen abgespaltene p-Nitrophenol in Form des gelben p-Nitrophenolats auf. Die Farbsintensität wurde nach gründlichem Schütteln und Filtrieren, im Spektralphotometer bei 430 nm bestimmt.

Eine Eichkurve diente zur Ermittlung der freigesetzten Menge an p-Nitrophenol in μmol durch 0,5 ml Kulturflüssigkeit in 1 Stunde bei 35°C als Maß für die Enzymaktivitäten des Pilzes.

1.9 Bestimmung des Wachstums in Kulturen mit isoliertem Zellwandmaterial

Der quantitative Vergleich der Pilzmasse in Schüttelkulturen mit isoliertem Zellwandmaterial wurde durch Ermittlung des Chitringehaltes des Myzels mit Hilfe der Glucosamin-Bestimmung durchgeführt (RIDE und DRYSDALE, 1972). Hierzu wurde der Kolbeninhalt dreimal mit Wasser gewaschen und im Ultra-Turrax mit aqua dest. homogenisiert und auf 10 ml eingeeengt. Die weitere Behandlung der Probe erfolgte nach der Vorschrift der Autoren. Die entstehende blaue Färbung wurde im Spektralphotometer bei 650 nm gemessen und anhand einer Eichkurve der Glucosamin-Gehalt ermittelt.

1.10 Keimtests mit Blattextrakten

Je 10 g 2. und 3. Blätter inokulierter bzw. nicht inokulierter Pflanzen wurden 15 Tage nach der Inokulation bei 4°C in 15 ml Phosphatpuffer (nach Sörensen, pH 6,0) zermörsert und 30 min. bei 5000 U/min. zentrifugiert. Die Überstände wurden dann bei 25°C auf 3 ml eingeeengt und mit 0,75 %igem Wasseragar auf 1:5, 1:15 und 1:30 verdünnt. Die verdünnten Blattextrakte dienten als festes Keimsubstrat für Pyknidiosporen, deren Dichte im Mikroskopfeld 100 - 150 betrug. Die prozentuale Bestimmung der Keimung erfolgte 16 Stunden nach der Impfung.

1.11 Untersuchungen über den Einfluß der Stickstoffdüngung

1.11.1 Düngung, Inokulation und Bonitur

Die Untersuchungen wurden mit NH_4NO_3 in 2 Düngungsstufen im Verhältnis 1:5 durchgeführt. Die anderen Grundnährstoffe P, K und Mg (Mengen s. Kap. 1.1.) wurden mengenmäßig konstant gehalten. Als Testpflanzen dienten 3 Wochen bzw. 2 Monate alte 'Caribo'- und 'Florian'-Pflanzen. Die jüngeren Pflanzen erhielten beim Einsäen bereits die gesamten N-Gaben, d.h. 0,5 g bzw. 2,5 g N/10 kg Erde-Sand-Gemisch. Bei dem Versuch mit den älteren Pflanzen wurde beim Einsäen ebenfalls 0,5 bzw. 2,5 g N/10 kg Boden zugegeben. Während der 2-monatigen Vegetationsperiode wurden aber weitere N-Mengen zugesetzt, so daß die N-Gaben nach Ablauf der 2 Monate für einen Teil der Testpflanzen 1,0 g N/10 kg Boden und den anderen Teil 5,0 g N/10 kg Boden betrugen. Die stark gedüngten Pflanzen erhielten die letzte N-Gabe eine Woche vor der Inokulation.

Die Inokulation erfolgte mit einer Konidiensuspension von 1×10^6 Konidien/ml. Gespritzt wurden die 3 Wochen alten Pflanzen mit 12 ml Inokulum/Topf und die 2 Monate alten mit 20 ml Inokulum/Topf. Zum Inokulationszeitpunkt befanden sich die jüngeren Pflanzen am Anfang des 4-Blatt- und die älteren am Anfang des 8-Blatt-Stadiums. Die befallene Blattfläche in % wurde bei den jüngeren Pflanzen 30 Tage nach der Inokulation am 2. und 3. Blatt und bei den älteren 15 Tage nach der Inokulation am 6. und 7. Blatt ermittelt.

1.11.2 Gesamtstickstoff- und freie Aminosäurenbestimmungen

Diese Bestimmungen wurden an 2 Monate alten inokulierten und nicht inokulierten Pflanzen der beiden Düngungsstufen durchgeführt.

Gesamtstickstoffbestimmung:

Die Bestimmung des Gehaltes an Gesamtstickstoff erfolgte nach der Kjeldahlmethode.

Bestimmung der freien Aminosäuren (AS):

Die einzelnen Isolierungsstufen der freien AS waren wie folgt zu beschreiben:

1. 0,5 g gefriergetrocknetes und feingemahlenes Blattmaterial.
2. 5 min. bei 80°C in 80 %igem Äthanol extrahieren.
3. Den Extrakt in kleinen Mengen durch einen Faltenfilter abfiltrieren, so daß die Temperatur des Äthanol (80°C) konstant bleibt. Den Rückstand nochmals mit heißem Äthanol abfiltrieren.
4. Das Filtrat bei 50°C ins Trockne einengen und anschließend in 100 ml aqua dest. aufnehmen.
5. 100 ml Chloroform hinzugeben und gründlich ausschütteln. Die grüne Chloroformphase im Scheidetrichter trennen und verwerfen.
6. Nach Abdampfen der Chloroformreste im Rotationsverdampfer die wässrige Phase durch einen Doppelfilter abfiltrieren.
7. Das Filtrat mit einer 0,1 N H_3PO_4 -Lösung auf pH 3,0 ansäuern und mehrmals mit Äther gründlich ausschütteln. Die Ätherphase im Scheidetrichter trennen und verwerfen.
8. Die wässrige Phase mit einer 0,1 N NaOH-Lösung auf pH 7,0 neutralisieren und wiederum mit Äther ausschütteln. Die Ätherphase verwerfen.
9. Die verbleibende Wasserphase bei 50°C ins Trockne einengen.
10. Aufnehmen in Citratpuffer, pH-Werte für die sauren AS 3,26, für die neutralen 4,22 und für die basischen 5,28.

Auftrennung: +)

Die Auftrennung der einzelnen freien AS erfolgte mit einem Aminosäureanalysator 'Optica', dessen Säule mit 'cressharz Amberlite CG 120' gefüllt war. Die Säulenlänge betrug für die sauren AS 50 cm bei 55°C, für die basischen 20 cm bei 58°C. Die spektralphotometrische Messung erfolgte nach Ninhydrinbehandlung bei 570 nm. Prolin wurde bei 440 nm gemessen. Die einzelnen freien AS wurden anhand eines Standards identifiziert und quantifiziert.

1.11.3 Gesamt-Phenol-Bestimmung

Die Bestimmung der Gesamtmenge an phenolischen Verbindungen erfolgte nach der Methode von SWAIN und HILLIS (1959) mit Folin-Denis-Reagenz. Als Versuchsmaterial dienten hier wiederum 2 Monate alte Pflanzen (vgl. Kap. 1.10.2.). Zur Bestimmung der Phenole wurden 100 mg gefriergetrocknetes und feingemahlene Blattmaterial in 80 %igem heißem Äthanol extrahiert. Der Extrakt wurde abfiltriert und bei 50°C bis auf 1 ml Flüssigkeit/10 mg Trockenmaterial eingeeengt. Danach wurde 0,5 ml Probe mit 7,0 ml aqua dest. gemischt, 0,5 ml Folin-Denis-Reagenz (Merck, 9022) zugegeben und gründlich ausgeschüttelt. Nach genau 3 min. wurde 1 ml einer gesättigten Na_2CO_3 -Lösung zugemischt, das Ganze auf 10 ml aufgefüllt und ausgeschüttelt. Nach einstündiger Reaktionszeit erfolgte die Messung in einem Spektralphotometer bei 725 nm. Die Menge an Phenolen wurde durch eine Standardkurve mit Chlorogensäure in $\mu\text{g/g}$ TG ermittelt.

1.12 Untersuchungen über den Einfluß systemischer Fungizide

Hierzu wurden folgende Handelspräparate für in vitro und in vivo Tests verwendet:

Calixin: Wirkstoff: Tridemorph 75 %, Emulsion

Cercobin: Wirkstoff: Thiophanat M 70 %, Spritzpulver

Du Pont Benomyl: Wirkstoff: Benomyl 50 %, Spritzpulver

Alstem: Wirkstoff: Ethirimol 50 %, Emulsion

Isaprol: Wirkstoff: Triforine 19 %, Emulsion

+) Frau Dr. Wolff, Institut für Genetik, sei für die Auftrennung und Identifizierung der AS herzlich gedankt.

1.12.1 In vitro Tests

Der Einfluß systemischer Fungizide auf das Wachstum von S. tritici wurde in 2 verschiedenen Nährlösungen, und zwar in einer 0,5 %igen Glucose-Lösung und der EV-8-Nährlösung (Zusammensetzung s. Kap. 1.2.) untersucht. Jeweils 100 ml der beiden Nährlösungen wurden in 500 ml Erlenmeyerkolben gegeben. Die Fungizide wurden in aq. dest. emulgiert bzw. suspendiert und den Nährlösungen in Konzentrationen von 1; 10; 100 und 1000 ppm (Glucose-Lösung) oder 1; 10 und 100 ppm (EV-8-Nährlösung) zugesetzt. Die Mengen beziehen sich auf Wirkstoffkonzentrationen. Jeder Kolben erhielt 2 ml einer auf $1,3 \times 10^6$ Konidien/ml eingestellten Sporensuspension. Die Inkubation erfolgte in der Klimakammer bei 20°C auf einem Drehschüttler. 8 Tage nach dem Überimpfen wurde die Wirkung der systemischen Fungizide untersucht. In der Glucose-Lösung wurde die Anzahl der Konidien bzw. der prozentuale Anteil keimschlauchbildende Konidien festgestellt. In der EV-8-Nährlösung wurde eine Myzetrockengewichtsbestimmung vorgenommen. Hierzu wurde der Kolbeninhalt abfiltriert, die Pilzmasse in Filterpapier ausgedrückt und bei 105°C für 5 Stunden getrocknet. Die Trockengewichtsbestimmung erfolgte nach weiterem eintägigem Trocknen im Exsikkator über CaCl_2 .

1.12.2 In vivo Tests

Die Kultivierung der 'Caribo'-Pflanzen erfolgte im Ackererde-Gemisch bzw. im Sand bei 18°C und 23°C . Gedüngt wurde in beiden Fällen mit den in Kap. 1.1. erwähnten Düngermengen. Die Applikation der systemischen Fungizide wurde in folgenden Konzentrationen vorgenommen (bezogen auf das Handelspräparat):

<u>Calixin:</u>	0,20 ml/l	(200ml/1000 l Wasser/ha)
<u>Cercobin:</u>	0,50 g/l	(400 g/800 l Wasser/ha)
<u>Du Pont Benomyl:</u>	0,62 g/l	(250 g/400 l Wasser/ha)
<u>Milstem:</u>	3,0 ml/l	(1,5 l/500 l Wasser/ha)
<u>Saprol:</u>	0,1 ml/l	(50 ml/500 l Wasser/ha)

Zur besseren Benetzung erhielt jede Lösung 2 Tropfen Tween 20/100 ml. Die Spritzungen erfolgten im 4-Blattstadium 2 Tage vor bzw. nach der Inokulation (1×10^6 Konidien/ml) mit dem Desaga-Glassprühergerät. Pro Topf wurden etwa 4 ml Spritzbrühe für einen gleichmäßigen Belag auf den Pflanzen ausgebracht. Die Bonitur des Befalls erfolgte am 2. Blatt 20 und 30 Tage nach der Inokulation.

1.13 Statistische Auswertung

Bei den lichtmikroskopischen Beobachtungen (Keimung, Penetration) wurde die Standardabweichung (s) als Variabilitätsmaß genommen.

Die Prüfung auf Signifikanz erfolgte bei zwei Mittelwerten mittels T-Test gegenüber der jeweiligen Kontrolle. Die Grenzdifferenzen (GD) zwischen den Mittelwerten wurden nach MUDRA (1958) berechnet.

Bei den Versuchen mit den systemischen Fungiziden wurden die Differenzen zwischen den Mittelwerten nach varianzanalytischer Verrechnung mit dem multiple-range-Test nach Duncan ausgewertet.

2. Ergebnisse

2.1 Sortenanfälligkeit

Als Voraussetzung für die geplanten Untersuchungen über die Ursachen der Resistenz bzw. Anfälligkeit mußten Winterweizensorten ausgewählt werden, die gegenüber Septoria tritici unterschiedlich reagieren.

Da die Bundessortenlisten (1972) keine Angaben über das Resistenzverhalten der einzelnen Sorten in Bezug auf S. tritici enthalten, wurde als Kriterium für die Vorauswahl das Verhalten gegenüber Septoria nodorum herangezogen. Diesem Erreger gegenüber sind die Sorten 'Caribo' und 'Florian' widerstandsfähig, 'Diplomat' und 'Progress' weisen mittlere und 'Pantus' und 'Frühgold' geringere Widerstandsfähigkeit auf.

Bei den Anfälligkeitstests erfolgte die Inokulation mit einer Konidiensuspension von 5×10^5 Konidien/ml 21 Tage nach dem Einsäen im 3-Blattstadium, wobei das 3. Blatt erst ungefähr am 30. Tag voll ausgewachsen war.

Als erstes Kriterium für die Anfälligkeit wurden an den 2. Blättern 15 Tage nach der Inokulation die hellgrün-gelblichen Flecken ausgezählt, die zu diesem Zeitpunkt, mit Ausnahme der Sorte 'Progress' noch nicht zusammengewachsen waren (Tab. I). Am 20. Tag erfolgte eine weitere Bonitur der 2. Blätter, und zwar wurde der Blattbefall je Topf in % bestimmt (vgl. Kap. 1 (Tab. I)).

Als drittes Kriterium zur Trennung der Sorten nach Anfälligkeit wurde 25 Tage nach der Inokulation die Anzahl der Pyknidien pro Blatt unter dem Binokular ermittelt. Hierbei wurden 9 Blätter aus 3 Töpfen derselben Sorte nach Zufall abgeschnitten und untersucht (Tab. II).

Die Gesamtboniturergebnisse wurden in Tabelle 1 zusammengefaßt

Tab. 1: Anfälligkeitstest gegenüber Septoria tritici an 6 Winterweizensorten. Mittelwerte der Bonituren nach Fleckenanzahl, befallener Blattfläche und Pyknidienbildung, 15, 20 bzw. 25 Tage nach der Inokulation (s. auch Tab. I und II).

Sorten	Fleckenanzahl je Blatt	Blattbefall in %	Pyknidienanzahl je Blatt
Caribo	6,4	3,9	170
Diplomat	15,7	44,6	1511
Florian	31,3	43,6	1660
Frühgold	20,7	19,4	1018
Pantus	5,5	12,2	941
Progress	-	72,4	1016

Bei der ersten Bonitur nach Fleckenanzahl unterschieden sich die Sorten in ihrer Reaktion gegenüber S. tritici deutlich voneinander. Am anfälligsten war 'Progress'. Die Anzahl der Flecken konnte hier nicht festgestellt werden, da diese bereits ineinander übergegangen waren. Aber auch die Sorte 'Florian' wies im Vergleich zu 'Caribo' und 'Pantus' eine hohe Anfälligkeit gegenüber S. tritici auf (Tab. 1).

Die Anzahl der Blattflecken korrelierte nicht immer mit dem prozentualen Blattbefall. Dies wird beim Vergleich von 'Diplomat' mit 'Florian' sehr deutlich. Die Sorte 'Diplomat', die etwa 50 % weniger Flecken aufwies als 'Florian', hatte nahezu den gleichen Blattbefall wie 'Florian'.

Neben gleichartigem Blattbefall waren die Sorten 'Florian' und 'Diplomat' auch durch ähnlich hohe Pyknidienzahlen/Blatt charakterisiert. Die Sorten 'Frühgold', 'Pantus' und 'Progress' lagen in der Pyknidienbildung dicht beieinander, jedoch deutlich niedriger als 'Diplomat' und 'Florian'.

Die Sorte 'Caribo' unterschied sich bei allen Auswertungen deutlich durch ihre Resistenz von den übrigen Sorten.

Aufgrund dieser Untersuchungen ließen sich die Sorten in folgender Weise gruppieren:

resistent:	Caribo
weniger anfällig:	Frühgold, Pantus
anfällig:	Florian, Diplomat, Progress

Die Pyknidiengröße, die nach HILU und BEVER (1957) auch ein Indiz für die Anfälligkeit ist, wurde für 'Caribo' und 'Florian' bestimmt. Auf den abgeschnittenen Blättern wurden jeweils 100 Pyknidien mit deutlichen Ostiolen unter dem Mikroskop gemessen. Hierbei ergaben sich die folgenden Durchschnittswerte:

Caribo:	121 x 74 μ
Florian:	137 x 82 μ

Die Ergebnisse der Messungen deuten ebenfalls auf eine positive Korrelation zwischen Anfälligkeit und Pyknidiengröße hin.

Ausgehend von diesen Resultaten wurde für die weiteren Untersuchungen 'Caribo' als resistente und 'Florian' als anfällige Sorte verwendet.

Das Resistenzverhalten der getesteten Sorten gegenüber S. tritici stimmte mit dem Resistenzverhalten gegenüber S. nodorum mit Ausnahme von 'Caribo', nicht überein.

2.2 Befallsentwicklung an den Sorten 'Caribo' und 'Florian' unter veränderten Versuchsbedingungen

Hierbei sollte die Frage beantwortet werden, ob und in welchem Ausmaß die Reaktion der Sorten 'Caribo' und 'Florian' durch extreme Bedingungen - erhöhte Inokulumdichte und verlängerter Aufenthalt der Pflanzen bei gesättigter Atmosphäre unter Polyäthylenfolie - beeinflusst wird.

Die Pflanzen wurden im 4-Blattstadium mit einer Konidiensuspension von $1,4 \times 10^6$ Konidien/ml inokuliert und 6 Tage lang bei 100 %iger Luftfeuchtigkeit gehalten. Die Temperatur blieb unverändert bei 18°C. Bonitiert wurde der Blattbefall 15, 20, 25, 30 und 35 Tage nach der Inokulation. Bei 'Florian' erfolgte an

26. und 31. Tag eine zusätzliche Auswertung des Befalls.

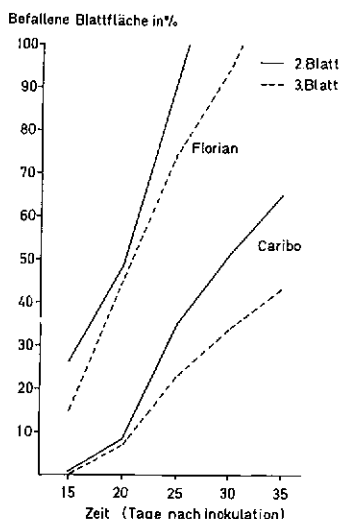


Abb. 2: Befallsverlauf an 'Caribo' und 'Florian' nach Inokulation mit *S. tritici* unter Einfluß von erhöhter Inokulumdichte und verlängertem Aufenthalt bei 100 %iger Luftfeuchte.

20 Tage nach Inokulation waren bei 'Caribo' 8,4 % der Fläche des 2. Blattes befallen (Abb. 2, Tab. III). Dieser Wert lag somit doppelt so hoch im Vergleich zum Anfälligkeitstest, bei dem die Konidiendichte geringer war (vgl. Tab. 1). Nach diesem Boniturtermin wurde ein deutlicher Anstieg der Befallsstärke sichtbar, die am 35. Tag einen Wert von 65 % erreichte. Der Befallsverlauf des 3. Blattes war dem des 2. Blattes ähnlich, lag aber auf niedrigerem Niveau.

Die Symptomausbildung bei der Sorte 'Florian' verlief erheblich schneller als bei 'Caribo'. Bereits 15 Tage nach der Inokulation

waren das 2. Blatt zu 26 % und das 3. Blatt zu 15 % befallen. Der Befall war wiederum wesentlich stärker als bei 'Caribo' und zeigte über den Beobachtungszeitraum einen linearen Anstieg.

Ein Vergleich nach photosynthetisch aktiv gebliebenen Blättern während der gesamten Krankheitsentwicklung machte es möglich, den Reaktionsunterschied zwischen den Sorten besser zu differenzieren (Tab. 2).

Tab. 2: Prozentualer Anteil photosynthetisch aktiv gebliebene Blattfläche bei 'Caribo' und 'Florian' nach Inokulation mit S. tritici

Tage n.Inok.	C a r i b o		F l o r i a n	
	2. Blatt	3. Blatt	2. Blatt	3. Blatt
15	99,24	100,00	73,76	85,0
20	91,61	93,15	51,15	55,0
25	65,11	77,40	8,35	25,4
26	-	-	0	-
30	49,07	66,26		5,7
31	-	-		0
35	35,01	56,99		

Bei der Sorte 'Florian' besaßen die 2. Blätter ab dem 26. Tag und die 3. Blätter ab dem 31. Tag keine photosynthesefähigen Blattflächen mehr, wohingegen bei 'Caribo' noch 92 % der Blattflächen (2+3. Blätter) photosynthetisch aktiv waren.

2.3 Vergleich der Pathogenese bei 'Caribo' und 'Florian'

In dem vorliegenden Teil sollte zunächst die Frage geklärt werden, ob der bei den bisherigen Tests beobachtete Anfälligkeitsunterschied der Sorten 'Caribo' und 'Florian' gegenüber Septoria tritici bereits zur Zeit des Pilzwachstums auf der Blattoberfläche auftritt. Ferner sollte auch die Symptomentwicklung in dieser Hinsicht verfolgt werden.

Diese Untersuchungen wurden anhand der in Kap. 1.5 und 1.6

erwähnten Methoden durchgeführt.

2.3.1 Wachstum auf der Blattoberfläche und Penetration

Bei beiden Testsorten setzte die Keimung innerhalb der ersten 6 Stunden zunächst an einem apikalen Ende der Konidien durch Ausbildung eines kurzen und dünnen Keimschlauches ein. Die Konidien waren reichlich vakuolisiert.

Im zweiten Beobachtungszeitraum, d.h. 12 Stunden nach der Inokulation, war die Keimung so weit fortgeschritten, daß sich auch am zweiten Ende der Konidien ein Keimschlauch gebildet hatte. Die größeren Konidien entwickelten meistens längere Keimhyphen, die aber wegen ihres ungeraden Wachstumsverlaufes nicht gemessen wurden (Abb. 3).

Zu diesem Zeitpunkt (12 Stunden nach der Inokulation) erfolgte die Ermittlung des Prozentsatzes gekeimter Konidien sowohl auf den Blättern (mittels Kolloidiumfilm-Methode) als auch auf dem Weizenblattextraktagar, der insgesamt 2 % Blattextrakt beider Sorten enthielt (BENEDICT, 1971). Zur Bestimmung der Keimungsrate auf den Blättern bzw. Nährboden wurden 1500 bzw. 200 Konidien in jeweils 8 Wiederholungen ausgezählt.

Der größte Anteil der Konidien auf beiden Sorten war bereits ausgekeimt, Unterschiede bestanden nicht (Tab. 3). Der Prozentsatz gekeimter Konidien auf dem Blattextraktagar war gegenüber den Blättern leicht erhöht.

Tab. 3: Prozentsatz gekeimter Konidien von S. tritici auf 'Caribo', 'Florian' und Weizenblattextraktagar 12 Stunden nach der Inokulation bzw. Überimpfen.
(n=8, jeweils 1500 bzw. 200 Konidien)

Keimsubstrat:	B l a t t		B l a t t e x . - A g a r
	'Caribo'	'Florian'	
$\bar{x}$	89,4	89,6	91,8
s	2,1	0,8	1,9

Die Penetration begann etwa 12 Stunden nach der Inokulation, die Spaltöffnungen. Die in der Nähe von Stomata gelegene Konidien bildeten einen kurzen Keimschlauch aus, der gelegentlich nach Verdickung der Spitze, eindrang (Abb. 4).

Eine spärliche Anzahl von Keimhyphen, die meistens von den relativ kleineren Konidien auswuchsen, bildeten rundliche Strukturen ($\varnothing=2-5\ \mu$) auf oder seitlich an den Anschlußstellen der Epidermiszellen. Diese Strukturen ähnelten Appressorien und wurden in der Mitte der Epidermiszellen selten gesehen (Abb.

Nach 18 Stunden waren die Appressoriumähnlichen Strukturen vermehrt zu beobachten. Auch einige der längeren Keimschläuche bildeten solche Spitzenverdickungen aus.

Eine deutliche Tendenz der längeren Keimschläuche ($65-130\ \mu$) in Richtung der Stomata zu wachsen und anschließend einzudringen, wurde bei beiden Sorten erst 24 Stunden nach der Inokulation festgestellt (Abb.6). Ob die Stomata bei diesem Vorgang einen Reizeffekt hatten, wurde nicht bemerkt.

Abb. 3:

Gekeimte Konidie (Pfeil) von
S. tritici auf dem Blatt,
12 Stunden nach der Inokulation
'Florian', PJS-Färbung,
Vergr.: x 224

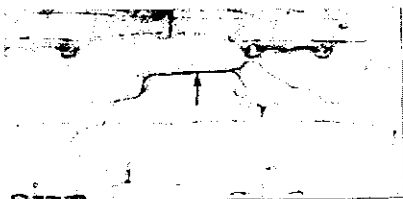


Abb. 4:

Penetration durch Stoma, gelei-
tet von einer Mikrokonidie (Pfeil),
12 Stunden nach der Inokulation
'Caribo', Kollodiumfilm-Präparat,
Baumwollblau-Färbung.
Vergr.: x 640

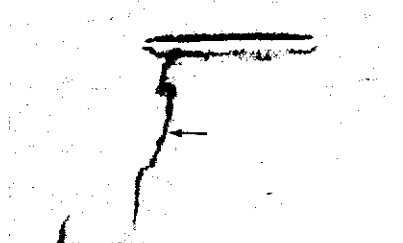


Abb. 5:

Appressoriumähnliche Struktur an
der Anschlußstelle der Epidermis-
zellen, 12 Stunden nach der Inoku-
lation
'Caribo', PJS-Färbung,
Vergr.: x 1000



Abb. 6:

Penetration einer langen Keim-
hyphe durch Stoma, 24 Stunden
nach der Inokulation
'Caribo', PJS-Färbung,
Vergr.: x 560



Die Keimhyphen, die über die Spaltöffnung hinaus gewachsen waren, konnten durch Ausbildung einer kurzen Seitenhyphe doch noch penetrieren.

Eine Vergabelung der Hyphenspitzen auf den Spaltöffnungen vor dem Eindringen und auf den Epidermiszellen (Abb.7) wurde oftmals beobachtet.

Auf den Totalpräparaten wurde 36 Stunden nach der Inokulation mitunter eine Bildung von 'sekundären Konidien' festgestellt. Die Spore oder die Keimhyphe bildete seitlich 20-50 Konidien, deren Länge meistens 5-10 μ war (Abb. 8).

Einige der Keimschläuche über 175 μ Länge ließen sich mit der PJS-Reagenz ganz hell anfärben, möglicherweise ein Indiz für ihr langsames Absterben.

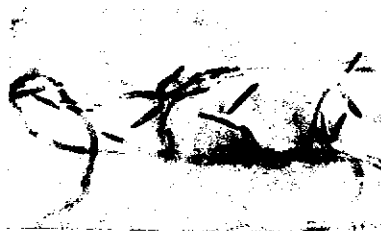
Abb. 7:

Vergabelung der Hyphenspitze,
24 Stunden nach der Inokulation
'Caribo', PJS-Färbung,
Vergr.: x 441



Abb. 8:

Bildung sekundärer Konidien,
36 Stunden nach der Inokulation
'Florian', PJS-Färbung,
Vergr.: x 717



Das Verhalten der Konidien bis 48 Stunden nach der Inokulation auf der Blattoberfläche beider Sorten wurde in Tabelle 4 zusammengestellt. Hierbei wurden 1 000 Konidien je Kollodiumfilm-Präparat in jeweils 8 facher Wiederholung pro Sorte ausgezählt. Auswertungskriterien waren: Die Keimungsrate, die Anzahl der Keimhyphen auf oder in den Spaltöffnungen, sowie die Bildung appressoriumähnlicher Strukturen.

Tab. 4: Verhalten der Konidien von S. tritici auf der Blattoberfläche der Sorten 'Caribo' und 'Florian' 48 Stunden nach der Inokulation.
(n=8, jeweils 1 000 Konidien)

Sorten		nicht gekeimt	gekeimt, davon	A	B
Caribo	$\bar{x}$	46,5	953,5	152,8	28,8
	s	6,1	6,1	10,8	5,4
Florian	$\bar{x}$	37,3	962,7	159,3	29,7
	s	5,3	5,3	9,1	4,3

A= Appressoriumähnliche Strukturen, B= Keimschläuche auf oder in Stomaöffnungen.

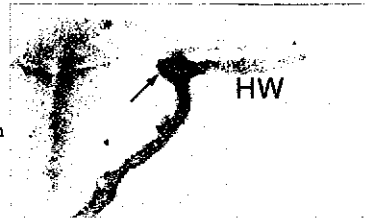
Nach 48 Stunden war die Keimung praktisch abgeschlossen. Die Prozentsätze gekeimter Konidien betrugen für 'Caribo' 95,3 % und für 'Florian' 96,3 % und nahmen damit im Vergleich zu den in der Tabelle 3 dargestellten Werten etwa um 6 bzw. 5 % zu. Der Prozentsatz penetrierender Keimhyphen (B-Werte) betrug für beide Sorten etwa 3 %.

Die Sorten bildeten in etwa gleichem Umfang appressoriumähnliche Strukturen. Diese Gebilde schienen zumindest unter diesen Versuchsbedingungen für die Infektion nicht von Bedeutung zu sein, denn sie konnten eine direkte Penetration durch die Kutikula nicht auslösen. Diese Annahme wurde durch Beobachtung

des weiteren Längenwachstums dieser Strukturen bekräftigt (Abb. 9).

Abb. 9:

Weiteres Hyphenwachstum (HW) von S. tritici von einem Appressorium (Pfeil) ausgehend, 48 Stunden nach der Inokulation 'Florian', PJS-Färbung, Vergr.: x 1600



2.3.2 Ausbreitung im Gewebe und Fleckenbildung

Obwohl die Anzahl von Keimhyphen auf oder in den Spaltöffnungen bei beiden Sorten gleich groß war (s. Tab. 4), machte sich schon zu diesem Zeitpunkt (48 Stunden nach der Inokulation) ein bedeutsamer Unterschied zwischen 'Caribo' und 'Florian' bemerkbar, und zwar erfolgte nach Penetration die interzelluläre Ausbreitung des Pilzes im Gewebe von 'Florian' schneller als bei 'Caribo'. Dieser Unterschied wurde 120 Stunden nach der Inokulation durch Messung der Myzellänge quantitativ ermittelt. Hierzu wurde jeweils in 8 Totalpräparaten die Länge der mit PJS-Reagenz von dem Gewebe deutlich abgehobenen und unter den Epidermiszellen entlang gewachsenen Hyphen gemessen (Tab. 5).

Während bei 'Caribo' die Penetrationshyphen noch an den Schließzellen waren (0-20 μ) oder sich in der Atemhöhle befanden bzw. mit den umgebenden Parenchymzellen Kontakt hatten (20-50 μ), erreichten Hyphen bei 'Florian' bereits die 12. Zellreihe.

Tab. 5: Prozentuale Verteilung der Myzellänge von *S. tritici* in 'Caribo' und 'Florian' 120 Stunden nach der Inokulation, gemessen von der Eintrittsstelle. (n= 8).

Sorte	M y z e l l ä n g e				
	0-20 μ	20-50 μ	50-100 μ	100-200 μ	200-300 μ 300 μ <
Caribo	83,3	16,7	0	0	0
Florian	47,1	29,6	11,1	5,6	4,5 2,1

-----23,3 8-----

Nach dem 5. Tag kolonisierte der Pilz auch das Gewebe von 'Caribo', jedoch viel langsamer.

Die weitere Besiedlung des Parenchymgewebes lässt sich in beiden Sorten wie folgt beschreiben:

S. tritici verbreitete sich zunächst hauptsächlich unter den Epidermiszellen mit auffallend dicken Myzelien (2-3 μ) von Stoma zu Stoma. Durch Bildung von dünneren Seitenhyphen und deren Verzweigungen erfolgte dann die horizontale und vertikale Besiedlung. Die Hyphen wuchsen im Interzellularraum um die Zellen herum, dabei in engem Kontakt mit der Zellwand. Eindringung in die Zellen wurde nicht beobachtet (Abb. 10). Bis zu diesem Stadium war keine Veränderung der Gewebestruktur zu erkennen. Die Chloroplasten und Zellkerne sahen normal aus.

Abb. 10:

Ausbreitung der Pilzhyphe (Pfeil) im Parenchymgewebe in engem Kontakt mit den Zellwänden, 6 Tage nach der Inokulation 'Florian', PJS-Färbung, Vergr.: 1400



Myzelien häuften sich bei 'Florian' 8 Tage, bei 'Caribo' 13-14 Tage nach der Inokulation meistens an einer Seite des Stomahohlraumes an und leiteten die Pyknidienbildung ein. Damit begann die erste Zerstörung in den obersten Parenchymzellreihen vorwiegend jedoch bei denen, die unter den Stomata mit Pyknid primördien lagen. Die Zellgruppen waren sehr wahrscheinlich wegen des raschen Wasserentzuges geschrumpft, was eine Auflösung der Zellverbände und die Bildung größerer Interzellularräume zur Folge hatte. Die Zellen unter diesen zerstörten Zellgruppen zeigten eine starke Vakuolisierung und Häufung der Zellorganellen an den Orten der Vakuolenbildung. An den Chloroplasten wu

ichtmikroskopisch noch keine Deformationen beobachtet.

n dieser Phase traten bei 'Florian' hellgrün-gräuliche und bei 'Caribo' gelbe Flecken von 2-4 mm Länge auf.

ie Leitbündel blieben von der Invasion frei. Infolgedessen entstanden am Anfang der Symptombildung längliche Flecken. it der Besiedlung der Interzellularräume um die Leitbündel herum traten dann auch rundliche Flecken in Erscheinung. Die yknidien befanden sich in den verschiedensten Entwicklungsstadien in Reihen parallel zu den Blattnerven.

n Verlauf weiterer Tage (bei 'Florian' 11-13 Tage; bei 'Caribo' 6-20 Tage nach der Inokulation) erreichten die Myzelien die unteren Epidermiszellen, begleitet von der Vermehrung der Flecken. In dieser Phase wurde auch das Eindringen von Hyphen in die Zellen beobachtet. Das Gewebe einschließlich der Epidermiszellen waren stark deformiert.

ie weiteren äußerlichen Krankheitserscheinungen an den Blättern der Sorten zeigten Abweichungen, die wie folgt zu beschreiben sind:

'Florian'

urch fortschreitendes Gewebeersterben in befallenen Bereichen entstanden, begleitet von leichten Blattverformungen, geschrumpfte und vertrocknete Flecken auf. Dort, wo das Gewebe in der ganzen Blattbreite beeinflußt worden war, knickte das turorgeschwächte Blatt ab. Die Pyknidien waren als bräunlich-schwarze Pünktchen mit gereiften Pyknidiosporen leicht zu erkennen.

0-25 Tage nach der Inokulation zeigten sich 2 Symptombildungen an den Blättern von 'Florian':

ei der ersten blieben die Flecken als hellgrüne Stellen erhalten, während die übrigen Teile sich strohgelb verfärbten. Damit entstanden sogenannte 'grüne Inseln'. Auch das ganze Blatt konnte grün bleiben und dennoch absterben. Bei der anderen Variation schlug die hellgrüne Fleckenfarbe in gelb um,

so daß der ganze Blatteil strohgelb gefärbt war. In diesem Fall waren die Pyknidien als dunkelbraun-schwarze Organe starker vom Untergrund abgehoben.

Zwischen diesen beiden Variationen waren Übergangsformen zu beobachten.

Die vom Befall nicht stark betroffenen oder am Anfang frei bliebenen Blattspitzen, infolge der Unterbrechung des Wasser- und Nährstofftransportes, vergilbten homogen und vertrocknete

'Caribo'

Bei dieser Sorte traten nach 5-10 Tagen später als bei 'Flo' die ersten scharf begrenzten chlorotischen Flecken meistens Blattrande auf, die sich mit der Zeit in nekrotisierte Flecken verwandelten. Pyknidienbildung war schwach. Die 'grüne Insekten' kamen bei 'Caribo' nur sehr selten, z.B. unter extrem erhöhter Inokulumdichte, vor. Da die Flecken meistens auf dem Blattrand begrenzt blieben, konnten die von den Symptomen freien Blatteile noch assimilieren..

2.3.3 Elektronenoptische Beobachtungen

Neben den lichtmikroskopischen Beobachtungen wurden auch die ultrastrukturellen Veränderungen im Gewebe beider Sorten vergleichend untersucht. Die Probenentnahme erfolgte beginnend mit dem ersten Auftreten sichtbarer Symptome und erstreckte sich bis zum Absterben des Gewebes (Methode s. 1.6).

Zur Zeit der Fleckenbildung war die Degeneration der Zellwände und Zellorganellen elektronenoptisch deutlich zu erkennen:

Die Zellwand verlor ihre normale Struktur und schwoll dort wo die Hyphen unmittelbaren Kontakt mit ihr hatten (Abb. 11 und 12). Dies deutete auf einen enzymatischen Angriff hin, es blieb jedoch offen, ob Pektin oder Cellulose oder beide Stoffe getroffen waren.

Die Membranen waren auch verändert. Das Plasmalemma hob sich von der Zellwand ab, begleitet von einer starken Vesikelbildung (Abb. 11 und 13). Die Außenmembran der Chloroplasten waren in der Regel zerstört, jedoch waren Granathylakoide, auch in späteren Phasen nicht aufgelöst (Abb. 11, 13 und 14). Neben Chloroplasten mit zerstörten Außenmembranen wurden bei 'Caribo' mitunter solche mit intakter Außenmembran beobachtet, in denen aber infolge der Auflösung von Thylakoiden eine Vesikelbildung auftrat (Abb. 15).

In nicht inokulierten Pflanzen zeigten die Chloroplasten eine intakte Außenmembran und normale Ordnung von Thylakoiden (Abb.16).

Mit dem fortschreitenden Absterben des Gewebes war in beiden Sorten elektronenoptisch ein besonderes Phänomen deutlich zu beobachten: Es bildete sich eine Schleimzone um diejenigen Hyphen, die mit der Zellwand Kontakt hatten. Der Schleim zeigte eine Affinität für Resorcinblau, welches ein Nachweisreagenz für Kallose ist (Abb. 17, 18 und 19).

Eine andere, relativ seltene Beobachtung in den beiden Sorten war eine Papillenbildung an der Innenseite der Zellwand (Abb.20). Sie trat nur unmittelbar unterhalb der Hyphe auf. Es wird vermutet, daß es sich hier um eine Anlagerung an die Zellwand handelt. In diesem Fall war keine Schleimzone um die Hyphe herum zu sehen.

Um den abgestorbenen Blatteil herum, wo sich noch keine Hyphen befanden, blieben die Zellverbände (3-5 Zellschichten) ohne Formänderung erhalten. Im Gegensatz zu den gesunden Zellen (Abb. 21), waren jedoch die Zellorganellen entweder überhaupt nicht mehr nachweisbar (Abb.22) oder Organellenreste, wahrscheinlich von Chloroplasten, versammelten sich um den Zellkern herum. Ein ähnliches Bild war bei den unter normalen Bedingungen gealterten und vergilbten Blättern festzustellen. Somit kann angenommen werden, daß in diesen Zellen eine verfrühte Seneszenz auftrat. Die Proben aus den infizierten Blättern beider Sorten wiesen in diesem Bereich der Zellen elektronenoptisch eine Plasmalemmaformation auf (Abb. 23), der eine starke Vesikelbildung folgte (Abb.24).

Erläuterungen zu Abb. 11 - 13

Einfluß des Pilzes auf die Zellen in einem frühen Stadium der Fleckenbildung:

Anschwellung der Zellwand (W) an der Kontaktstelle mit der Hyphe (H) (Pfeil): Abb. 11 und 12.

Ablösung des Plasmalemmas (M) von der Zellwand: Abb. 11 und 13.

Zerstörung der Außenmembran der Chloroplasten (C): Abb. 11

Vesikelbildung (V) im Zellumen : Abb. 11 und 13.

Erläuterungen zu Abb. 14 - 16

Struktur von Chloroplasten in späteren Phasen der Krankheitsentwicklung:

Ein Chloroplast aus dem abgestorbenen Blattbereich 2 Wochen nach der Inokulation. Zerstörte Außenmembran unter Erhaltung lamellärer Strukturen (G): Abb. 14.

Chloroplasten in Zellen des vergilbten Gewebes 3 Wochen nach der Inokulation. Intakte Außenmembran (CM), dagegen Vesikelbildung (V) infolge einer Degeneration der lamellären Strukturen: Abb. 15.

Intakter Chloroplast mit parallel zueinander verlaufenden Granathylakoiden aus einem gesunden Gewebe: Abb. 16.



Abb. 11: 'Florian', Vergr.: x 10 000

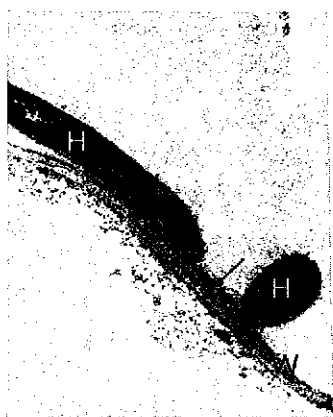


Abb. 12: 'Caribo',
Vergr.: x 8500

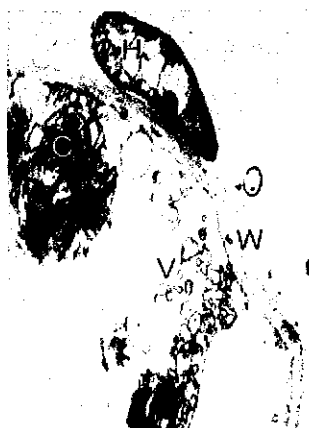


Abb. 13: 'Florian',
Vergr.: x 7600

Abb. 14:
'Florian',
Vergr.: x 36000



Abb. 15:
'Caribo',
Vergr. x 19200



Abb. 16:
'Florian',
Vergr.: x 19000



Erläuterungen zu Abb. 17 - 19

Entstehung einer Schleimzone (S) um die Hyphe (H) während
des Absterben des Gewebes:

(W=Zellwand)

Akkumulation des Schleimmaterials um die Hyphe: Abb. 17 und 18

Schleimzone um die Hyphengruppe im Interzellularraum mit
stark kollabierten Zellen: Abb. 19

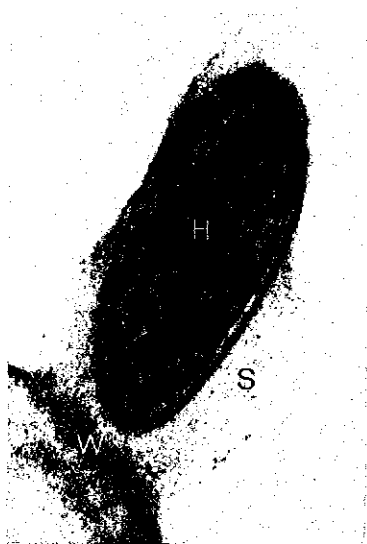


Abb. 17:

'Caribo', Vergr.: x 28000

Abb. 18:
'Florian',
Vergr.:
x 42000



Abb. 19:
'Florian',
Vergr.:
x 16600





Abb. 20: Papillenbildung (P). Ein elektronenoptisch dichtes Material häuft sich an der Innenseite einer Kontaktstelle zwischen Zellwand (W) und Hyphe (H).
'Florian', Vergr.: x 37 400

Erläuterungen zu Abb. 21 - 24

Degeneration der Zellorganellen in den das abgestorbene Gew.
umgebenden Zellen:

Gesunde Parenchymzellen mit erkennbaren Chloroplasten (C) u
Zellkerne (Pfeil): Abb. 21

Degenerierte Parenchymzellen ohne Chloroplasten und
Zellkerne: Abb. 22

Feinstruktur einer degenerierten Parenchymzelle:

Ablösung des Plasmalemmas (M) von der Zellwand: Abb. 23

Starke Vesikilierung (V) in Zellumen: Abb. 24



bb. 21:

'Florian', Vergr.: x 690

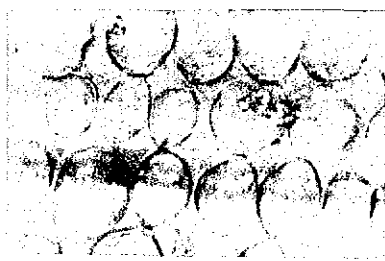


Abb. 22:

'Florian', Vergr.: x 690



bb. 23:

'Florian', Vergr. x 5000



Abb. 24:

'Florian', Vergr.: x 9600

2.3.4 Histochemische Reaktionen im befallenen Blattbereich

Es sollte nun untersucht werden, ob mit histochemischen Farb-reaktionen die Ursachen der Septoria-Resistenz von der Sorte 'Caribo' hinsichtlich der langsameren Besiedlung des Gewebes erfasst werden konnten. Die Pflanzen der Sorte 'Florian' lieferten das Vergleichsmaterial. Hierbei wurden der Einfluß des Pilzes auf die unlöslichen Polysaccharide und der Lignifizierungsprozess als mögliche Reaktion des Wirtes auf den Befall untersucht.

Unlösliche Polysaccharide:

Da der in Kapitel 2.3.2 erwähnte Unterschied bei der Ausbreitungsgeschwindigkeit im Gewebe zwischen den Sorten ernährungsphysiologisch bedingt sein könnte, sollte die Frage geprüft werden, ob die wasserunlöslichen Polysaccharide von dem Pilz unterschiedlich aufgeschlossen werden. Als Färbemethode diente die PJS-Färbung, die zur Verfolgung des Pilzes auf und in den Blättern bereits angewendet wurde (1.5.4.2).

Bis zur Bildung der Flecken brachte die PJS-Behandlung der Blattproben, die vorher in AFE-Lösung aufgehellt worden waren, keine deutlichen Hinweise für einen Polysaccharide-Abbau im Gewebe beider Sorten. Die Färbung der Blattproben mit Fleckefärbung führte dagegen zur Ausbildung von Farbzonen bei beiden Sorten durch eine differenzierte Anfärbung der Zellwände.

Diese Farbzonen wurden in Abb. 25 schematisch dargestellt.

Die farblose Zone A stellte das Infektionszentrum dar, d.h. den Blatteil, der geschrumpft und mit Verformungen vertrocknet war. Diese Zone entsprach bei der Sorte 'Florian' entweder den 'grünen Inseln' oder den strohgelb verfärbten Blattflecken mit reichlicheren Pyknidienbildung (Abb. 25). Auf den Blättern von 'Caribo' entsprach diese Zone dagegen den gelb oder gelbbraun nekrotisierten Flecken, die nur spärliche Pyknidienbildung zeigten.

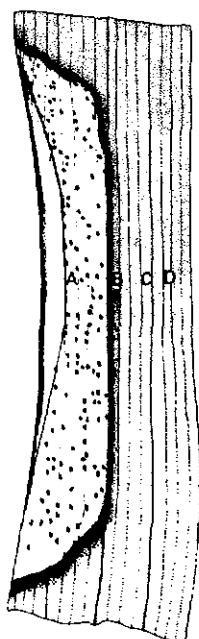


Abb. 25: Schematische Darstellung von Farbzonen am Blatt, das in der AFE-Lösung aufgehellt und anschließend mit PJS-Reagenz behandelt wurde (Erklärung zu den Zonen s. im Text).

Die Zone A wies keine Affinität für PJS-Reagenz auf. Die Zellwände einschließlich der Epidermiszellen und Stomata blieben farblos. Das war ein Hinweis dafür, daß die wasserunlöslichen Polysaccharide weitgehend abgebaut werden konnten.

Die Zone B stellte einen schmalen Übergangsstreifen zu der breiten C-Zone dar und war meistens durch Leitbündel abgegrenzt. Die Zellwände zeigten hier eine positive Reaktion auf PJS-Rea-

genz, obwohl die Zellen bereits kollabiert waren. Zusätzlich färbten sich die Myzelien und die Pyknidienprimordien an, so daß diese Zone sehr stark rot gefärbt war. Die Affinität für PJS-Reagenz in dieser Zone wies darauf hin, daß die wasserunlöslichen Zellwandpolysaccharide von dem enzymatischen Abbau noch nicht stark betroffen waren.

Die Zone C repräsentierte den Gewebeteil, der von dem Pilz bisher frei geblieben war; sie umgab das Infektionszentrum (Zone A und Zone B). Die Zellwände färbten sich hier mit Farbreagenz in gleicher Intensität wie die im Gewebe der unbefallenen Kontrollpflanzen. Die Breite der Zonen B und C nahm bei beiden Sorten mit der Fleckengröße zu. Die Zone C erstreckte sich jedoch bei 'Florian' öfters in die andere Hälfte des Blattes.

In der Zone D wurden keine pathologischen Veränderungen festgestellt.

Diese Farbreaktionen deuteten darauf hin, daß der Erreger unlösliche Polysaccharide enzymatisch aufschließen kann. Diese Fähigkeit ließ sich jedoch erst dann klar erkennen, wenn die Flecken an den Blättern ausgebildet waren und der Erreger Pyknidien gebildet hatte.

Lignin:

Die Ausbreitungsresistenz kann auf histologischen Besonderheiten beruhen, wobei die Zellwände durch ihre mechanischen Eigenschaften oder ihren chemischen Bau dem Vordringen des Pilzes entgegenstehen (GÄUMANN, 1951). In diesem Zusammenhang ist die Lignineinlagerung in die Zellwände von besonderer Bedeutung.

Aus diesem Grund wurde untersucht (1.5.4.2.), ob die Lignifizierung in dem Parenchymgewebe eine Ursache der geringeren Anfälligkeit von 'Caribo' ist.

Nach Behandlung der Blattstückchen von 'Caribo' und 'Florian' mit der Chlorsulfit-Testlösung waren nur die Leitbündel im befallenen Gewebe (Zone A nach PJS-Färbung) violett-rot angefärbt. Die Zellwände im Parenchym wiesen keine Affinität für die Farblösung auf. Um die Flecken herum gab es keinen positiv reagierenden Farbring, d.h. keine Lignineinlagerung. Außerhalb der Flecken (Zone C und D nach PJS-Färbung) nahmen die Zellwände auch keinen Farbstoff auf, während die Leitbündel je nach Größe farblos oder grau-violett erschienen. Somit hob sich der befallene Blatteil (Fleck), insgesamt betrachtet, dunkel violett von dem übrigen Gewebe ab (Abb.26). Die Blattproben, in denen die Penetration gerade erfolgte oder der Pilz sich noch interzellulär ausbreitete, zeigten ebenfalls keine Lignineinlagerung in den Zellwänden. Die Leitbündel waren wiederum je nach Größe farblos oder grau-violett angefärbt, ein Farbunterschied vom gesunden Gewebe (Abb.27) bestand nicht.

Aus diesen Befunden ist anzunehmen, daß die Lignineinlagerung in die Leitbündel durch den Pilzbefall induziert wurde. Jedoch lief dieser Prozess so langsam, daß er erst zum Zeitpunkt der Fleckenbildung nachweisbar war. Ein Unterschied zwischen 'Florian' und 'Caribo' bestand nicht.

Mit Phloroglucin konnte keine Lignifizierung nachgewiesen werden.

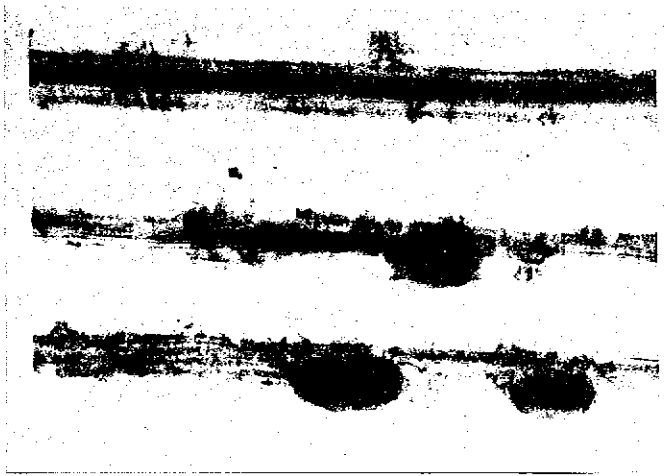


Abb. 26: Chlorsulfit-Reaktion der Leitbündel im befallenen Gewebe mit Pyknidienausbildung. Infolge der vermehrten Ligninlagerung im Gegensatz zum gesunden Gewebe (vgl. Abb. 27) erfolgt eine stärkere Anfärbung der Leitbündelzellen. Die Zellwände im Parenchymbereich zeigen keine positive Farbreaktion ('Caribo', Vergr.: x 140).

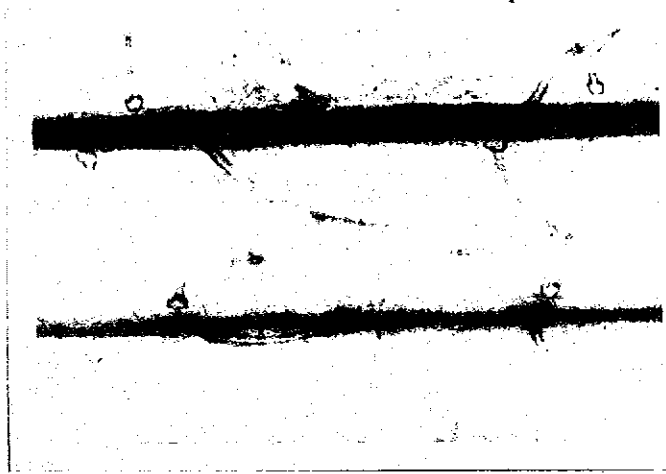


Abb. 27: Chlorsulfit-Reaktion der Leitbündel im gesunden Gewebe. Es erfolgt eine Ligninanfärbung der Leitbündelzellen, die jedoch schwächer ist als im befallenen Gewebe. Die Zellen im Parenchymbereich reagieren wiederum nicht mit dem Farbstoff ('Caribo', Vergr.: x 140).

2.3.5 Veränderung der Atmung und Permeabilität während des Krankheitsverlaufs

Zu den Reaktionen des Wirtes auf Erregerbefall zählen Atmungs- und Permeabilitätsveränderungen. Sie werden häufig mit Resistenz- oder Anfälligkeitsserscheinungen korreliert.

2.3.5.1 Atmung

Für die manometrischen Bestimmungen der Atmung (1.7.1.) wurden 3 Wochen alte Pflanzen mit einer Konidiensuspension von 800 000 Kon./ml inokuliert. Nach unterschiedlich langer Inkubationszeit wurden zu gleicher Tageszeit Blattproben zur Atmungsmessung entnommen.

Die Atmungsintensität der beiden Sorten war ohne Pilzbefall etwa gleich (Abb. 28, Tab. IV und V). 'Caribo' zeigte parallel zu der niedrigen Befallsintensität eine geringe Atmungssteigerung.

Bei 'Florian' trat am 13. Tag parallel zur Fleckenbildung eine außerordentlich starke Erhöhung der Atmung auf. Wegen der schnellen Befallsentwicklung konnten an diesen Blättern keine weiteren Atmungsmessungen mehr vorgenommen werden.

2.3.5.2 Permeabilität

3 Wochen alte Pflanzen wurden mit einer Konidiensuspension von 800 000 Kon./ml inokuliert, wobei die Kontrollpflanzen mit aq. dest. (mit Tween 20, 2 Tropfen/100 ml) behandelt wurden. Der Ionen-Efflux aus dem Gewebe wurde vom 8. bis 16. Tag nach Inokulation durch Leitfähigkeitsmessungen ermittelt (1.7.2.).

In den infizierten 'Caribo'-Pflanzen war die Permeabilität vom 10. bis 16. Tag um durchschnittlich 27 % höher als die Kontrolle (Abb. 29, Tab. VI).

Bei 'Florian' traten am 10. Tag noch keine Unterschiede auf. Danach erhöhte sich die Permeabilität der infizierten Pflanzen sehr stark, sie erreichte bei Versuchsende 640 % der Permeabili-

tät der Kontrollpflanzen (Abb. 30, Tab. VII).

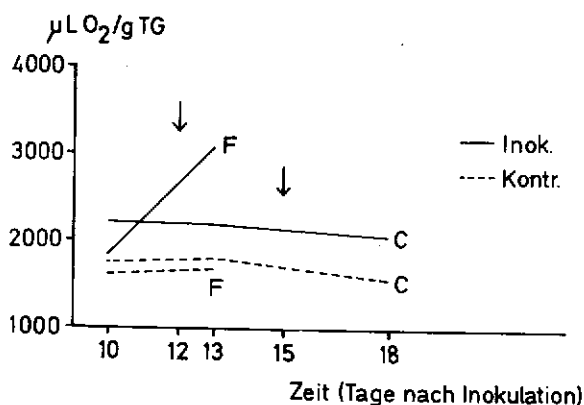


Abb. 28: Sauerstoffverbrauch von 'Caribo' (C) - und 'Florian' Blättern in µl/g TG 10, 13 und 18 Tage nach Inokulat mit S. tritici. Messung 45 min. nach Versuchsbeginn. ↓ = erstes Auftreten von Blattflecken.

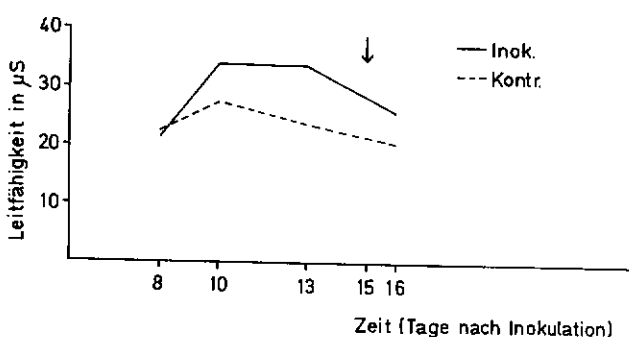


Abb. 29: Veränderung der Permeabilität bei 'Caribo' 8, 10, 13, 15, 16 Tage nach der Inokulation mit S. tritici, gemessen am Ionen-Efflux der Blätter in µS/0,3 g FG, 60 min. Versuchsbeginn. ↓ = erstes Auftreten von Blattflecken.

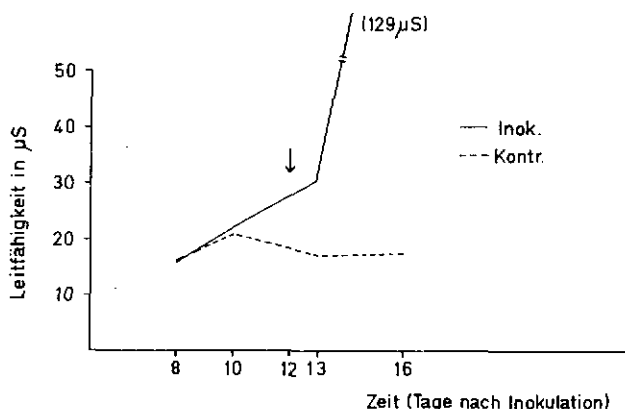


Abb. 30: Veränderung der Permeabilität bei 'Florian' 8, 10, 13 und 16 Tage nach der Inokulation mit S. tritici, gemessen am Ionen-Efflux der Blätter in $\mu\text{S}/0,3 \text{ g FG}$, 60 min. nach Versuchsbeginn. $\downarrow$ = erstes Auftreten von Blattflecken.

2.4 Enzymatische Aktivität von Septoria tritici

S. tritici wächst fast ausschließlich im Interzellularraum. Eine Permeabilitätsveränderung, die dem Pilz Nährstoffe aus den Protoplasten liefern würde, konnte in der aktiven Ausbreitungsphase in den beiden Sorten etwa bis zum 10. Tag nach der Inokulation nicht beobachtet werden. Danach ist es denkbar, daß sich der Pilz den interzellularen Bereich als Nahrungsquelle erschließt. Daher sollte zunächst geprüft werden, ob S. tritici zellwandabbauende Enzyme bildet. Es sollte weiterhin geklärt werden, ob die Enzymaktivität durch die wirtsspezifische Zellwandzusammensetzung beeinflusst wird und inwieweit die enzymatisch aufgeschlossenen Zellwandstoffe vom Pilz genutzt werden können.

2.4.1 Bildung der Pektinmethylesterase, Polygalacturonase und Cellulasen (C_1 , C_x)

Pektin und Cellulose sind Bestandteile von Mittellamelle und Zellwand. Eine interzelluläre Ausbreitung des Pathogens wird nur durch den Abbau dieser Strukturen mit Hilfe entsprechende Enzyme möglich. Pektinmethylesterase (PME) und Polygalacturonase (PG) katalysieren die Hydrolyse von Pektinen, C_1 - und C_x -Cellulasen die von Cellulose. Die entstehenden Galacturonsäuren bzw. Glucose können dem Erreger als Nahrungsquelle die

Im folgenden wurde die Bildung der genannten Enzyme durch S. tritici auf verschiedenen Substraten untersucht.

2.4.1.1 Auf reinem Enzymsubstrat

Hierzu dienten dem Pilz die Enzymsubstrate Pektin (für PME), Polygalacturonsäure-Natriumsalz (für PG), Cellulosepulver (für C_1) und Carboxymethylcellulose-Natriumsalz (für C_x) als einzige Kohlenstoffquelle in Czapek-Dox-Nährlösung. Die Nährmedien wurden für das entsprechende Enzym im optimal liegende pH-Bereich gepuffert und mit 0,3 ml Konidiensuspension von 6×10^6 Kon./ml beimpft (1.8.1.1). Die Herstellung der Rohenzymextrakte erfolgte 5 und 10 Tage nach dem Überimpfen. Geprüft wurde die gebildete Enzymmenge im Agardiffusionstest (1.8.1.2).

Die Wachstumsbedingungen waren in diesen Substraten, mit Ausnahme der für die PG-Bestimmung, nicht optimal. In Nährlösung mit Pektin und Carboxymethylcellulose (CMC) begrenzte sich das Pilzwachstum auf spärliche Konidienbildung. In Kulturen mit Cellulosepulver wurde kaum ein Wachstum beobachtet. In Kultur zur PG-Bestimmung bildete der Pilz dagegen reichlich Konidien und Myzelien aus.

Parallel zu dem sehr schwachen Wachstum wurde keine PME, C_1 - und C_x -Bildung festgestellt. Dies führte zur Annahme, daß in diesen Nährlösungen 'induzierende Faktoren' fehlen könnten.

Trotz des guten Wachstums war auch eine PG-Aktivität nicht nachzuweisen.

2.4.1.2 Auf Enzymsubstrat + EV-8-Nährlösung

Der Pilz wurde hier in EV-8-Nährlösung (1.2) kultiviert, die zusätzlich 1 % des entsprechenden Enzymsubstrates erhielt. Als Kontrolle diente reine EV-8-Nährlösung. Um die denkbare initiale Wirkung einer leicht verwertbaren C-Quelle auf die Enzymbildung mit zu testen, wurde eine zusätzliche Variante mit 0,02 M Glucose in die Versuche aufgenommen. Die Nährlösungen waren nicht gepuffert, doch wurden die pH-Werte mit Citronensäure auf 4,6 für PG und 5,6 für PME und Cellulasen eingestellt (1.8.1.1). Die Herstellung der Rohenzymextrakte und Bestimmung der Enzymmengen erfolgten wiederum 5 und 10 Tage nach dem Überimpfen (1.8.1.2).

In diesen Nährlösungen war eine adäquate Pilzentwicklung festzustellen. Das stärkste Myzelwachstum wurde in Kulturen mit CMC und Cellulosepulver, die reichlichste Konidienbildung in Kulturen mit Polygalacturonsäure beobachtet.

S. tritici war in der Lage PME zu synthetisieren. Die PME-Aktivität in der reinen EV-8-Nährlösung ohne Glucose war zunächst höher, später niedriger als die in der glucosehaltigen EV-8-Lösung (Abb. 31/b). Enthielt das Testsubstrat Pektin, zeigte S. tritici nur am 5. aber nicht am 10. Tag PME-Aktivität. Ein Einfluß von Glucose wurde nicht gefunden (Abb. 31/a).

Eine PG-Aktivität konnte bei den gegebenen Bedingungen nicht nachgewiesen werden.

Für Quantifizierung der gebildeten Mengen an C_1 - und C_x -Cellulasen diente CMC-Natriumsalz als Substrat im Agardiffusionstest (1.8.1.2). In den enzymsubstrathaltigen EV-8-Nährlösungen wurde entsprechend dem zugesetzten Material-Cellulosepulver oder CMC in C_1 - und C_x -Aktivität unterschieden. Eine Identifizierung der Cellulasen in der reinen EV-8-Nährlösung war dagegen methodisch nicht möglich.

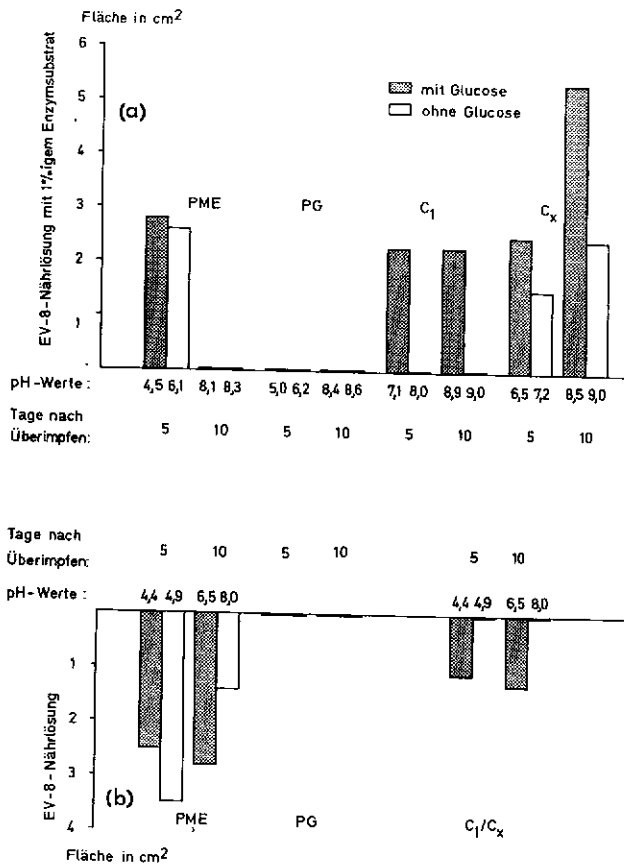


Abb. 31, a/b: PME, PG und C₁/C_x-Enzyme von *S. tritici* im Agar-Diffusionstest 5 bzw. 10 Tage nach dem Überimpfen. Testsubstrat: 1 % entsprechendes Enzymsubstrat: EV-8-Nährlösung (a) bzw. EV-8-Nährlösung (b), jeweils mit oder ohne Glucose. Die Fläche der im Agar auftretenden Zonen dienten als Maß für die gebildete Enzymmenge (vgl. 1.8.1.2.).

In der EV-8-Nährlösung ohne Enzymsubstrat bildete S. tritici nur Cellulasen, wenn sie Glucose enthielten (Abb. 31/b). In den Nährlösungen mit Enzymsubstraten war der Pilz ebenfalls nicht in der Lage ohne Glucose C_1 -Enzyme zu bilden, während in der Nährlösung mit dem C_x -Substrat (CMC) auch ohne Glucose-Zusatz C_x produziert wurde (Abb. 31/a).

2.4.1.3 Auf Blattmaterial

Die Fähigkeit zur Enzymbildung *in vitro* besagt noch nicht, daß sie auch *in vivo* erfolgt.

Darum wurde untersucht, ob und in welchem Ausmass der Erreger auf Blättern der Testsorten 'Caribo' und 'Florian' pektolytische und cellulolytische Enzyme bilden kann.

Dem Pilz dienten hier abgeschnittene und mit Propylenoxid bzw. durch Autoklavieren sterilisierte Blätter in aq. dest. als Enzymsubstrat (1.8.1.1). Die Rohenzymextrakte wurden 15 Tage nach der Inokulation gewonnen. Die Bestimmung der Enzymmengen erfolgten wiederum im Agardiffusionstest (1.8.1.2).

Innerhalb der 2-wöchigen Kulturdauer waren die Blätter beider Sorten einheitlich verpilzt und zersetzt. Der Pilz bildete auf der Blattoberfläche Pyknidien. Eine Stagnation des Pilzwachstums war jedoch noch nicht eingetreten. Die pH-Werte der Flüssigkeiten in den Kolben änderten sich während des Wachstums kaum und blieben bei 5,5 - 6,0 pH.

Die PME-Aktivität war in beiden Sorten etwa gleich, in mit Propylenoxid sterilisierten Blättern war sie mehr als doppelt so hoch wie in abgetöteten (Abb. 32). PG ließ sich wiederum nicht nachweisen.

Eine Cellulase-Bildung konnte nur in mit Propylenoxid behandelten Blättern nachgewiesen werden. Die Menge war in 'Caribo'-Blättern 17 % höher als in 'Florian'-Blättern.

Nicht infizierte Kontrollblätter zeigten keine eigene PME-Aktivität und somit müssen die festgestellten Enzymbildungs-differenzen zwischen beiden Sorten allein auf den Pilz zurückzuführen sein.

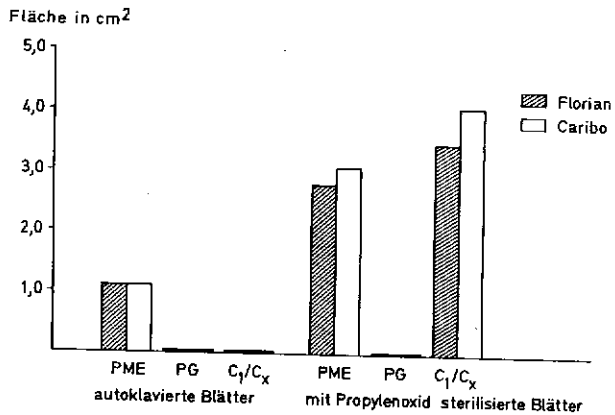


Abb. 32: Bildung von PME, PG und C₁/C_x-Enzymen durch *S. tritici* auf autoklavierten und mit Propylenoxid sterilisierten Blättern von 'Caribo' und 'Florian'. Bestimmung im Agardiffusionstest 15 Tage nach dem Überimpfen. Die Fläche der im Agar auftretenden Zonen dienten als Maß für die gebildete Enzymmenge (vgl. 1.8.1.2).

Zusammenfassend läßt sich bemerken, daß *S. tritici* in der Lage ist, Pektine und auch Cellulose in Nährlösung bzw. Pflanzenmaterial abzubauen.

2.4.2 Glucosidasen-, Galactosidasen- und Xylosidaseaktivitäten an isoliertem Zellwandmaterial

Es ist vermutet worden, daß die chemische Zusammensetzung der Zellwand über Resistenz und Anfälligkeit entscheiden kann. So berichteten BATEMAN et al. (1969), daß Rhizoctonia solani an isolierten Zellwandmaterial anfälliger Bohnenpflanzen bezüglich Bildung polysaccharidabbauender Enzyme aktiver war, so daß die Zellwände stärker degradiert wurden als die älterer und resistenterer Pflanzen.

Bei dem vorliegenden Versuch wurden die isolierten Zellwände der Testsorten (1.8.2.1) dem Pilz als einzige C-Quelle angeboten, so daß er für Energiegewinnung auf seine Fähigkeit zum Abbau von Pektin und Cellulose angewiesen war (1.8.2.2). Als Kriterium für die Aufschließung von Polysacchariden wurden die Aktivitäten von α - und β -Glucosidase, α - und β -Galactosidase und β -Xylosidase herangezogen. Die Aktivität der β -Glucosidase wurde in Abhängigkeit von der Zeit, die der übrigen Enzyme auf einmal bestimmt. Die β -Glucosidaseaktivität wurde außerdem an isoliertem Zellwandmaterial einer Hafersorte (Tiger) verfolgt, die für S. tritici kein Wirt ist (1.8.2.3).

Nach 8-tägiger Anlaufzeit stieg die β -Glucosidaseaktivität plötzlich in den Kulturen mit Zellwandmaterial beider Sorten stark an (Abb. 33). Diese Aktivitätserhöhung war jedoch stärker an 'Florian'-Zellwandmaterial. Mit der Alterung trat dann in Kulturen eine Aktivitätsverminderung auf. In Haferzellwandmaterial wies der Pilz eine erheblich geringere β -Glucosidaseaktivität auf als die am Zellwandmaterial seiner Wirte.

Die Aktivitäten der übrigen Enzyme wurden am 22. Tag nach dem Überimpfen in 'Caribo'- und 'Florian'-Zellwandkulturen bestimmt (Tab. 6).

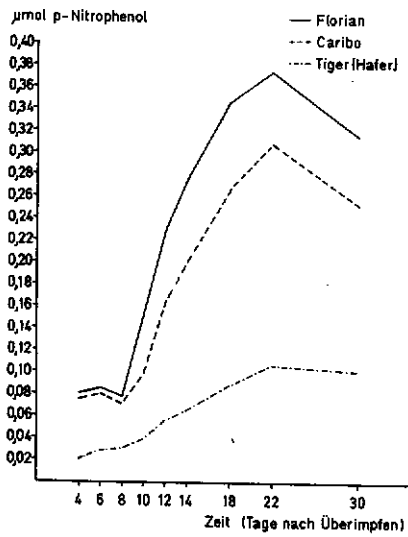


Abb. 33: β -Glucosidaseaktivität von *S. tritici* auf Zellwandmaterial der Testsorten 'Caribo', 'Florian' und 'Tiger' (Hafer) in Abhängigkeit von der Zeit. Enzymaktivität ermittelt an umgesetzten $\mu\text{mol p-Nitrophenol/Std.}$ (v 1.8.2.3).

Tab. 6: Aktivitäten von α -Glucosidase, α - und β -Galactosidase und β -Xylosidase von *S. tritici* in Kulturen mit Zellwandmaterial von 'Caribo' und 'Florian'. Enzymaktivität ermittelt an umgesetzten $\mu\text{mol p-Nitrophenol/0,5 ml Kulturflüssigkeit/Stunde}$ (n=5)

Enzym	Caribo	Florian
α -Glucosidase	-	-
α -Galactosidase	0,070	0,078
β -Galactosidase	0,025	0,031
β -Xylosidase	0,200	0,220

Eine α -Glucosidaseaktivität konnte nicht festgestellt werden. Die α - und β -Galactosidaseaktivitäten waren niedrig. Eine hohe Aktivität wurde für die β -Xylosidase gefunden, sie war aber am Bestimmungstag durchschnittlich 61 % niedriger als die β -Glucosidaseaktivität.

Die pH-Werte der Kulturflüssigkeiten zeigten keine deutlichen Änderungen und blieben um Werte bei 6 pH.

2.5 Wachstum in Kulturen mit isoliertem Zellwandmaterial

Nach Feststellung der sortenspezifischen Induktion vor allem von β -Glucosidaseaktivität an 'Florian'-Zellwandmaterial stellte sich die Frage, ob der Pilz parallel zu der erhöhten Aktivität auch besser gewachsen war.

Am Ende der Bestimmungsperiode für Enzyme (30. Tag) wurde der Kolbeninhalt mit aq. dest. gewaschen, homogenisiert und auf 5:1 eingeengt. Die Ermittlung der Pilzmasse in Kulturen erfolgte durch Glucosamintest (1.9).

Tab. 7: Quantitative Bestimmung der Pilzmasse von S. tritici in Kulturen mit Zellwandmaterial der Testsorten 'Caribo', 'Florian' und 'Tiger' (Hafer) in μg Glucosamin /1,5 ml Probe aus 5:1 eingeengtem Kolbeninhalt (n=5)

	Caribo	Florian	Tiger
Glucosamingehalt	23,12	22,66	4,32

S. tritici wuchs auf dem Zellwandmaterial beider Sorten gleich gut, dagegen schlecht auf Haferzellwandmaterial (Tab. 7). Die geringere β -Glucosidaseaktivität auf 'Caribo'-Zellwandmaterial hat also keinen Einfluß auf das Wachstum. Das schlechte Wachstum auf Haferzellwandmaterial könnte auf der niedrigen β -Glucosidaseaktivität auf diesem Substrat beruhen.

2.6 Wirkung einer Glucose-Behandlung auf die Befallsreaktion der Sorte 'Caribo'

Veränderungen des Zuckergehaltes werden in den Pflanzen für die weichen Befallsreaktionen verantwortlich gemacht. Unter anderem können diese Veränderungen im Kohlenhydrathaushalt sich auch auf die Aggressivität des Krankheitserregers auswirken. In Kulturfiltraten von *S. tritici* konnte eine verstärkte Bildung von celluloseabbauenden Enzymen (C_1 und C_x) unter Glucose-Zusatz beobachtet werden (2.4.1.2). In diesem Zusammenhang stellte sich die Frage, ob das Resistenzverhalten der Sorte 'Caribo' durch Beeinflussung des Zuckerspiegels verändert werden kann.

2.6.1 Beeinflussung des Zuckergehaltes durch Glucose-Applikation

Es sollte zunächst untersucht werden, ob eine Veränderung des Zuckergehaltes der Pflanzen durch Glucoseapplikation zu erzielen war.

Hierzu wurden bei 18°C angezogene Pflanzen im 6. Blattstadium mit 5 %iger Glucose-Lösung (mit Tween 20, 2 Tropfen/100 ml) bis zu voller Benetzung gespritzt. 14 bzw. 24 Stunden später wurden Blattproben genommen und auf ihren Fructose-Gehalt untersucht. Zur Fructose-Bestimmung wurden 8 g Blattmaterial in 400 ml 80 %igem Äthanol eine Stunde lang gekocht. Der 3,0 ml-Probe wurden 2,0 ml 0,1 %igem Resorcin in 95 %igem Äthanol und 6 ml 30 %iger HCl zugesetzt. Nach 8-minütigem Erhitzen bei 80°C erfolgte die spektralphotometrische Bestimmung bei 540 nm. Anhand eines Standards wurde der Fructose-Gehalt der Proben ermittelt (UMBREIT und BURRIS, 1972).

Die behandelten Pflanzen zeigten 24 Stunden nach der Applikation einen verdoppelten Fructose-Gehalt (Abb. 34). Dies kann als Hinweis dafür angesehen werden, daß die exogen zugeführte Glucose zu einem großen Teil von der Pflanze aufgenommen und dort in andere Zucker, z.B. Fructose, umgewandelt wird.

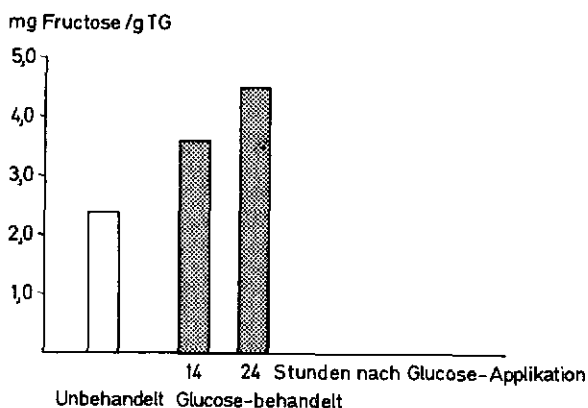


Abb. 34: Einfluß der Glucose-Applikation auf den Fructose-Gehalt von 'Caribo'-Pflanzen. Fructose-Bestimmung in mg/g TG 14 und 24 Std. nach der Applikation.

2.6.2 Beeinflussung der Resistenz durch Glucose-Applikation

Für diese Untersuchungen wurden die Pflanzen bei zwei verschiedenen Temperaturen, 18°C und 23°C, kultiviert und im 4. Blattstadium mit einer Konidiensuspension von 800 000/ml inokuliert. Vom 4. Tag nach der Inokulation erfolgte die Glucoseapplikation, die sich in 2-tägigen Abständen bis zum 14. Tag erstreckte. Jedesmal wurde 0,5 %ige Glucose-Lösung (mit Tween 20) bis zu voller Benetzung der Blätter appliziert. Bonituren erfolgten 30 Tage nach der Inokulation am 2. und 3. Blatt.

Durch die Glucose-Behandlung wurden die bei 18°C kultivierten 'Caribo'-Pflanzen anfälliger. Die Beschleunigung der Krankheitsentwicklung unter dem Einfluß von Glucose war bei den älteren Blättern ausgeprägter. 30 Tage nach der Inokulation führte die Behandlung zu einem 161 % höherem Befall gegenüber den nicht behandelten Kontrollpflanzen (Tab. 8).

Bei 23°C angezogene Pflanzen zeigten keine Beeinflussung des Befallsgrades durch die Glucose-Behandlung.

Tab. 8: Einfluß von Glucose-Behandlung auf den Befall von 'Caribo' mit S. tritici.
 Temperaturen in der Klimakammer 18 bzw. 23°C. Bonitur 30 Tage nach der
 Inokulation am 2. und 3. Blatt (relativ: Blattbefall nicht behandelte
 Pflanzen = 100)

Temperatur	Blatt Nr.	ohne Glucose Blattbefall je Topf in % x $\bar{x}$	mit Glucose Blattbefall je Topf in % abs. rel. x $\bar{x}$	GD (18) (5%)
18°C	2	31,7 30,9 28,0 30,2	81,3 78,2 76,7 78,7 260,6	8,14 4,92
	3	22,8 25,2 20,8 22,9	28,9 33,0 29,6 30,5 133,2	8,23 4,97
23°C	2	70,0 72,3 67,8 70,0	63,4 68,0 69,7 67,0 95,7	10,53 6,37
	3	29,6 28,2 25,9 27,9	26,8 25,0 26,1 25,0 93,2	5,52 3,34

Die Befallswerte der nicht mit Glucose behandelten Pflanzen lagen bei 23°C deutlich höher als bei 18°C. Der Befall war wiederum an den älteren Blättern ausgeprägter.

2.7 Einfluß der Blattextrakte auf die Konidienkeimung

Es sollte geprüft werden, ob prä- oder postinfektionell gebildete Stoffe für die Reaktion der Sorten gegenüber S. tritici eine Rolle spielen können. Hierbei wurde der Einfluß von Blattextrakten auf die Konidienkeimung als Kriterium herangezogen.

Die Blätter inokulierter (12 Tage nach der Inokulation) und nicht inokulierter Pflanzen wurden bei 4°C homogenisiert und anschließend zentrifugiert. Die Überstände wurden bei 25°C auf 1:3 eingengt und mit Wasseragar auf die Endverdünnung 1:5, 1:15, 1:30 eingestellt (vgl. 1.10). Die Anzahl gekeimter Konidien wurde 16 Stunden nach dem Überimpfen in % bestimmt (Tab. 9).

Tab. 9: Keimung von S. tritici - Konidien auf Extrakten aus inokulierten und nicht inokulierten Blättern (K) der Sorten 'Caribo' und 'Florian'. Verdünnungsstufen: 1:5, 1:15, 1:30. (n = 3, jeweils 200 Konidien)

Verdünnungsstufen	Prozentsatz gekeimter Konidien			
	C a r i b o		F l o r i a n	
	K	Inok.	K	Inok.
1 : 5	73,2	71,8	74,3	72,1
1 : 15	89,0	85,9	85,4	86,2
1 : 30	93,9	93,9	93,8	95,1

Der Prozentsatz ausgekeimter Konidien auf Wasseragar betrug 95,2.

Blattextrakte wiesen gegenüber S. tritici eine Konzentrationsabhängige Hemmung der Konidienkeimung auf. Signifikante Unterschiede waren weder zwischen der resistenten und anfälligen Sorte noch zwischen inokulierten und nicht inokulierten Pflanzen zu beobachten.

2.8 Einfluß der Stickstoffdüngung auf Prädisposition

Stickstoff verändert häufig die Befallsbereitschaft in Pflanzen gegenüber Krankheitserregern. Häufig führt eine einseitig hohe N-Gabe zu erhöhter Anfälligkeit. Die Kenntnis über die Beziehung zwischen N-Düngung und Septoria-Befall ist nicht vollständig. Ferner benötigen die aus Mexiko stammenden Weizensorten in der Regel höhere N-Gaben als die einheimischen Sorten des Mittelmeerraumes. Aus diesem Grunde sollte der Einfluß des Stickstoffs auf den Befallsgrad quantifiziert und Auswirkungen auf die Pflanze untersucht werden.

2.8.1 Einfluß auf den Befall

Zunächst sollte die Beeinflussung des Befalls durch die N-Versorgung an beiden Testsorten geprüft werden. Hierzu dienten Wochen bzw. 2 Monate alte 'Caribo'- und 'Florian'-Pflanzen. Die Düngungsstufen unterschieden sich um den Faktor 5. Die entsprechenden NH_4NO_3 -Mengen wurden zu jüngeren Pflanzen beim Einsäen auf einmal, zu älteren Pflanzen während der Vegetation in Portionen gegeben. Das Inokulum enthielt in beiden Fällen 1×10^6 Konidien/ml (1.11.1).

2.8.1.1 Befall 3 Wochen alter Pflanzen

Die Bonitur erfolgte an den 2. und 3. Blättern, 30 Tage nach Inokulation.

Stickstoff erhöhte den Befall beider Sorten (Tab. 10). Die längere Inkubationszeit des Erregers bei 'Caribo'-Pflanzen wurde durch Stickstoff nicht beeinflusst. Erst 30 Tage nach der Inokulation war auch bei dieser Sorte ein stärkerer Befall festzustellen. Die hohe N-Gabe erhöhte zwar den Befall bei 'Caribo' relativ stärker als den bei 'Florian', jedoch blieb dieser auch bei niedriger N-Versorgung noch deutlich anfälliger als 'Caribo' bei hoher.

2.8.1.2 Befall 2 Monate alter Pflanzen

Hierzu wurden die 6. und 7. Blätter 15 Tage nach der Inokulation bonitiert.

Verglichen mit den jüngeren (Tab. 10), war der Befall dieser älteren Pflanzen geringer. 'Caribo' blieb bei beiden N-Gaben so gut wie befallsfrei. Die fünffach erhöhte N-Gabe führte bei 'Florian' zu einem sehr ausgeprägten Anstieg des Befalls (Tab. 11). Die Inkubationszeit bzw. der Zeitpunkt bis zum Auftreten von Flecken war durch die N-Düngung nicht verändert.

2.8.2 Untersuchungen über die Ursachen der N-Wirkung

Um Anhaltspunkte über die Ursachen des N-Effektes zu erhalten, wurden die Blattfläche sowie der Gesamtgehalt an Stickstoff, Aminosäuren und Phenolen untersucht (1.11.2 und 1.11.3). Geprüft wurden die Pflanzen aus dem vorhergehenden Versuch (2.8.1.2) am 15. Tag nach der Inokulation. Die Bestimmung der Blattflächen erfolgte an den 6., 7. und 8. Blättern der nicht inokulierten Pflanzen. Gesamt-N und freie Aminosäuren wurden daneben auch in infizierten Pflanzen untersucht. Hierzu diente als Versuchsmaterial das befallene (7.) und das sich praktisch erst nach der Inokulation entwickelte und dadurch von Symptomen frei gebliebene jüngste (8.) Blatt. Aus technischen Gründen konnten schwach gedüngte (1,0 g N) 'Caribo'-Pflanzen für diese Untersuchungen nicht verwendet werden. Gesamt-Phenole wurden im 7. Blatt beider Sorten in beiden Düngungsvariationen bestimmt. Als Kontrolle dienten wiederum nicht inokulierte Pflanzen.

2.8.2.1 Veränderungen der Blattfläche

Während des Stickstoffversuches mit 2 Monate alten Pflanzen, wurde beobachtet, daß die N-Versorgung die Blattgröße von 'Caribo' und 'Florian' unterschiedlich beeinflusste. Zur Quantifizierung dieser Beobachtung wurden die Flächen der 6., 7. und 8. Blätter durch Multiplikation der größten Breite mit der größten Länge ermittelt.

Tab. 10: Einfluß der N-Düngung auf den Befall am 2. und 3. Blatt der Weizensorten 'Caribo' und 'Florian' mit *Septoria tritici*. N-Stufen: 0,5 bzw. 2,5 g N/10 kg Boden. Bonitur 30 Tage nach der Inokulation (relativ: Blattbefall bei 0,5 g N-Stufe = 100)

Sorte	Blatt Nr.	0,5 g N Blattbefall je Topf in %			2,5 g N Blattbefall je Topf in %			GD (1%) (5%)			
		x		$\bar{x}$	abs. x		rel. $\bar{x}$				
Caribo	2	32,5	40,0	38,5	42,7	38,4	50,0 54,3 49,7 59,0	53,2	138,5	11,39	7,52
	3	6,0	6,7	5,4	7,0	6,3	8,1 9,0 9,7 9,5	9,1	144,4	1,88	1,24
Florian	2	77,3	76,7	74,8	80,0	77,2	82,0 83,3 89,5 86,7	85,4	110,6	7,46	4,92
	3	18,7	19,7	16,9	16,0	17,8	21,3 23,1 25,0 21,0	22,6	127,0	4,64	3,06

Tab. 11: Einfluß der N-Düngung auf den Befall am 6. und 7. Blatt der Weizensorten 'Caribo' und 'Florian' mit Septoria tritici. N-Stufen: 1,0 bzw. 5,0 g N/10 kg Boden. Bonitur 15 Tage nach der Inokulation (relativ: Blattbefall bei 1,0 g N-Stufe = 100)

Sorte	Blatt Nr.	1,0 g N		5,0 g N			GD (1%) (5%)
		Blattbefall je Topf in %		Blattbefall je Topf in %			
		x		abs.		rel.	
		$\bar{x}$		$\bar{x}$			
Caribo	6	0,2	0,1	0,2	0,1	0,1	0,14
	7	0,9	1,2	0,4	0,7	0,6	0,65
Florian	6	2,2	6,4	4,9	4,1	8,1	4,45
	7	5,5	5,7	6,3	5,8	25,0	5,19
						23,4	3,43

'Florian' wies eine größere Blattfläche auf als 'Caribo'. Der Einfluß der 5-fach erhöhten N-Menge auf die Blattgröße, war bei 'Florian' ausgeprägter als bei 'Caribo'. Die Fläche des ältesten Blattes (6.) wurde durch die N-Düngung bei beiden Sorten etwa gleichmäßig verändert. Während die Größe der jüngeren Blätter (7. und 8.) von 'Caribo' kaum durch Stickstoff beeinflusst wurde, wiesen die gleichen Blätter von 'Florian' eine 14 %ige Erhöhung der Blattfläche auf (Tab. 12).

Tab. 12: Einfluß der N-Düngung (1,0 bzw. 5,0 g N/10 kg Boden) auf die Größe der 6., 7. und 8. Blätter bei den Sorten 'Caribo' und 'Florian' (rel.: Blattgröße bei 1,0 g N-Stufe = 100). (n = 45 Pflanzen)

Sorte	Blattfläche in cm ²								
	1,0 g N			5,0 g N					
				abs.			rel.		
	6.	7.	8.	6.	7.	8.	6.	7.	8.
Caribo	21,4	25,0	27,9	23,5	25,6	28,2	109,8	102,4	100,0
Florian	28,4	29,4	31,9	31,0	33,4	36,4	109,1	113,6	114,3

2.8.2.2 Veränderungen des Gesamt-N-Gehaltes

Die Versorgung der Pflanze mit Stickstoff beeinflusst den N-Metabolismus. Dies wirkt sich auf die veränderte Gesamt-N-Menge in der Pflanze aus. Es sollte nun geprüft werden, inwieweit der Gesamt-N-Gehalt der Testsorten durch die N-Düngung und durch den Septoria-Befall beeinflusst wird. Die Gesamt-N-Bestimmung erfolgte nach der Kjeldahl-Methode (1.11.2) an 2 Monate alten Pflanzen.

Die Ergebnisse zeigten eine deutliche Erhöhung des Gesamt-N-Gehaltes in 'Florian'-Pflanzen unter dem Einfluß der N-Düngung (Tab. 13). Dabei war diese Zunahme im alten (7.) Blatt deutlicher ausgeprägt, als im jüngeren (8.) Blatt. Der N-Gehalt der

resistenten Sorte 'Caribo' war etwa um 10 % geringer als der von 'Florian'.

Die Inokulation der Pflanzen mit Septoria tritici hatte kaum Veränderungen des N-Gehaltes zur Folge.

Tab. 13: Einfluß der N-Düngung (1,0 bzw. 5,0 gN/10 kg Boden) und der Inokulation mit Septoria tritici auf den Gesamt-N-Gehalt der Pflanzen der Sorten 'Florian' und 'Caribo'. Bestimmung 15 Tage nach der Inokulation am 7. und 8. Blatt, mg N/g TG. (relativ: Gesamt-N-Gehalt bei 1,0 N-Stufe = 100)

Sorte	1,0 g N		5,0 g N			
			absolut		relativ	
	7.Bl.	8.Bl.	7.Bl.	8.Bl.	7.Bl.	8.Bl.
Florian	K	27,30 32,90	46,90 48,65		171,8 147,9	
	Inok.	26,95 32,20	45,85 50,75		170,1 157,6	
Caribo	K	- -	42,35 43,75			
	Inok.	- -	39,90 44,10			

2.8.2.3 Veränderungen des Gehaltes an freien Aminosäuren

Es wird angenommen, daß die Aminosäuren in den Resistenzmechanismus der Pflanzen gegenüber den Krankheitserregern direkt oder indirekt eingreifen können. Parallel zu der Veränderung des Gesamt-N-Gehaltes werden die Aminosäuren durch die N-Düngung auch beeinflusst.

Hierzu sollte untersucht werden, ob sich der Reaktionsunterschied gegenüber S. tritici zwischen den schwach und stark gedüngten 'Florian'-Pflanzen (vgl. Tab. 11) auf Unterschiede im Aminosäuremuster der Pflanzen korrelieren läßt. Die freien Aminosäuren der stark gedüngten, aber fast befallsfreien 'Caribo'-Pflanzen sollten mit denen der 'Florian'-Pflanzen verglichen werden, um weitere Anhaltspunkte bei dieser Korrelation zu erhalten. Die Aminosäurebestimmungen erfolgten nach 1.11.2.

Einfluß der N-Düngung

Starke N-Düngung erhöhte den Gehalt an Aminosäuren in der Sorte 'Florian', eine Ausnahme bildete Prolin. Der Gesamtgehalt an freien Aminosäuren in der Sorte 'Caribo' war bei starker Düngung höher als in der Sorte 'Florian'. Zu dieser Erhöhung trugen besonders Tyrosin, Phenylalanin, Histidin und Arginin (jeweils etwa 2-fach); Glutaminsäure (3-fach) und Prolin (7-fach) bei (Tab. 14).

Tab. 14: Einfluß der N-Düngung (1,0 bzw. 5,0 g N/10 kg Boden) auf den Aminosäuregehalt in µg/g TG der Sorten 'Florian' und 'Caribo'. Die Werte ergeben sich aus der Summe des Aminosäuregehaltes des 7. und 8. Blatt (vgl. Tab. VIII, IX und X) (relativ: Aminosäuregehalt stark gedüngter (5,0 g) 'Florian'- Pflanzen = 1

Aminosäure	Florian		Caribo	
	1,0 g N	5,0 g N	5,0 g N abs. rel.	
Asp. S.	482	434	641	148
Threonin	908	1540	2382	155
Serin	1912	6092	7862	129
Glut. S.	120	311	908	292
Prolin	284	170	1295	762
Glycin	211	211	372	176
Alanin	4378	6585	5227	79
Valin	372	460	564	123
Isoleucin	164	254	241	95
Leucin	248	257	402	156
Tyrosin	229	324	627	193
Phenylalanin	282	358	737	206
Lysin	383	692	818	118
Histidin	333	540	1030	191
Ammoniak	118	503	234	47
Arginin	229	477	807	169
Gesamt	10653	19208	24147	3039

Einfluß des Befalls

Die Veränderungen an freien Aminosäuren durch den Befall mit S. tritici wurden in inokulierten Pflanzen, und zwar im befallenen 7. Blatt (befallene Blattfläche s. Tab. 11) und symptomfreien 8. Blatt, untersucht.

Der Septoria-Befall bewirkte starke Unterschiede im Aminosäuremuster. Diese Einwirkung war jedoch je nach N-Düngung und Sorte verschieden (Abb. 35).

Die schwach gedüngten (1,0 g N) 'Florian'-Pflanzen zeigten in den infizierten Blättern eine deutliche Akkumulation von Asparaginsäure, Threonin, Glutaminsäure, Valin, Isoleucin, Leucin, Tyrosin, Phenylalanin und Arginin. Diese Zunahme wurde meistens von einer Abnahme in den symptomfreien Blättern begleitet.

Die stark gedüngten (5,0 g N) 'Florian'-Pflanzen wiesen dagegen allgemein eine hohe Zunahme an Aminosäuren in beiden Blättern auf. Es war auffällig, daß der Arginingehalt in den infizierten Blättern nicht verändert wurde.

Bei den 'Florian'-Pflanzen wurde eine düngungsunabhängige Abnahme von Alanin und Ammoniak durch den Befall beobachtet.

In stark gedüngten 'Caribo'-Pflanzen war eine allgemeine Erhöhung des Aminosäuregehaltes - im Gegensatz zu den entsprechenden 'Florian'-Pflanzen - besonders deutlich nur an der basischen Gruppe festzustellen, d.h. der Menge an Lysin, Histidin, (Ammoniak) und Arginin. Die Zunahme im infizierten Blatt war gekoppelt mit einer Abnahme im symptomfreien Blatt. Eine Erniedrigung des Gehaltes durch den Befall wurde deutlich an Glutaminsäure und Prolin festgestellt.

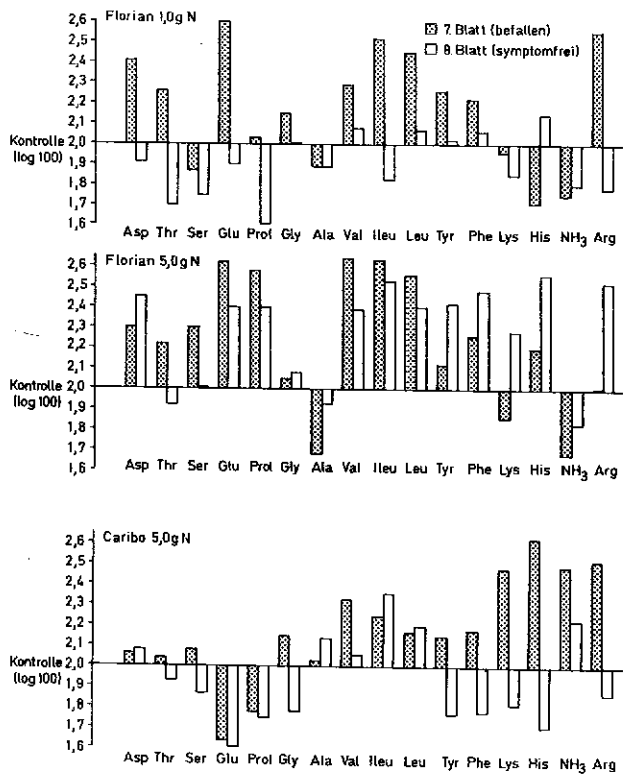


Abb. 35: Aminosäuren-Muster in einem befallenen (7.) und eir symptomfreien (8.) Blatt der Sorten 'Caribo' und 'Florian' nach Inokulation mit *S. tritici*. N-Stufer 1,0 bzw. 5,0 g N/10 kg Boden. Der Gehalt an den jeweiligen Aminosäuren der nicht inokulierten Kontrollpflanzen = 100. Alle relativen Werte wurden logarithmisch transformiert (für sämtliche Werte s.Tab. VII IX und X).

2.8.2.4 Veränderungen des Gesamt-Phenol-Gehaltes

Den phenolischen Verbindungen und ihren Oxydationsprodukten wird im Rahmen des Abwehrmechanismus der Pflanzen gegenüber Pathogenen eine bedeutende Rolle beigemessen. Der Phenolgehalt kann u.a. von der N-Versorgung abhängig sein. Höhere Gaben von NH_4NO_3 senkten den Phenolgehalt von Weizenpflanzen und erhöhten ihre Anfälligkeit gegenüber Puccinia graminis var. tritici (KIRALY, 1964).

Es sollte nun für den S. tritici-Befall an schwach (1,0 g N) und stark (5,0 g N) gedüngten Testsorten der Einfluß der N-Düngung auf den Gesamt-Phenol-Gehalt untersucht werden. Die Bestimmung des Gesamtgehaltes an Phenolen erfolgte im 7. Blatt inokulierter und nicht inokulierter, 2 Monate alter Weizenpflanzen 15 Tage nach der Inokulation (1.11.3).

Tab. 15: Einfluß der N-Düngung (1,0 bzw. 5,0 g N/10 kg Boden) und der Inokulation mit Septoria tritici auf den Gesamt-Phenol-Gehalt der Pflanzen der Sorten 'Florian' und 'Caribo'. Bestimmung 15 Tage nach der Inokulation. Der Phenol-Gehalt ausgedrückt als Chlorogensäure in $\mu\text{g/g}$ TG. (rel.: Phenol-Gehalt bei 1,0 g N-Stufe = 100)

N-Stufen	Sorten und Behandlung			
	C a r i b o		F l o r i a n	
	Kontr.	Inok.	Kontr.	Inok.
1,0 g N	1250	1360	710	900
5,0 g N	abs.	590	620	450
	rel.	47	46	63
				52

'Caribo' enthält deutlich größere Phenolmengen als 'Florian' (Tab. 15). Die starke N-Versorgung der Pflanzen während der Vegetationsperiode von 2 Monaten verringerte den Phenolgehalt in beiden Sorten von 37 bis 54 %. Die Reduktion war bei 'Caribo' etwas ausgeprägter. Der Befall erhöhte den Phenolgehalt in bei-

den Düngungsstufen gegenüber den nicht inokulierten Kontrollen bei niedriger N-Versorgung stärker als bei erhöhter N-Düngung

2.9 Einfluß systemischer Fungizide auf *S. tritici* und auf den Befall bei 'Caribo'

Zu den Nebenwirkungen von systemischen Fungiziden gehört, daß sie die Anfälligkeit von Pflanzen gegenüber biotischen oder abiotischen Schadensursachen in der einen oder anderen Richtung verändern können (Übersicht bei SAUR, 1976). Darum wurde die Reaktion der Weizenpflanzen auf *S. tritici* nach Applikation systemischer Fungizide untersucht. Da vor allem negative Auswirkungen interessierten, wurden die Versuche nur mit der resistenten Sorte 'Caribo' durchgeführt. Ferner sollten auch Anhaltspunkte für eine Bekämpfung von *S. tritici* mit systemischen Fungiziden gewonnen werden. Als Spritzmittel wurden Benomyl, Ethirimol, Thiophanat M, Tridemorph und Triforine verwendet.

2.9.1 Beeinflussung des Erregers in vitro

Zunächst sollte in Nährlösungen der direkte Einfluß der systemischen Fungizide auf das Wachstum von *S. tritici* geprüft werden.

2.9.1.1 Einfluß auf Konidien- bzw. Keimschlauchbildung

Als Nährlösung diente eine 0,5 %ige Glucoselösung, der die Fungizide in einer Konzentration von 1; 10; 100 und 1000 ppm zugesetzt wurden. Beimpft wurde mit 2 ml einer auf $1,3 \times 10^6$ Konidien/ml eingestellten Sporensuspension. Die Kulturen wurden in einer Klimakammer bei 20°C geschüttelt (1.12.1). Nach 8 Tagen wurde die Anzahl der Konidien bzw. der gekeimten Konidien festgestellt⁺

Die sekundäre Konidienbildung wurde nur durch Ethirimol (1 und 10 ppm) und Triforine (1 ppm) gefördert. In den höheren Konzentrationen hemmten alle getesteten Fungizide diese Konidienbildung. Benomyl auch bei den geringeren Konzentrationen (Abb. 36 u. Tab.

⁺) *S. tritici* - Konidien sind in der Lage nur sekundäre Konidien bzw. Keimschläuche zu bilden. Übergangsphasen sind auch möglich.

Die Keimschlauchbildung dagegen wurde durch Thiophanat M (1;10 ppm) und Tridemorph (1;10 ppm) gefördert (Abb.37 u.Tab. XII). Während Ethirimol auf die Keimschlauchbildung keinen deutlichen Effekt zeigte, wirkten sich alle anderen Kombinationen hemmend aus.

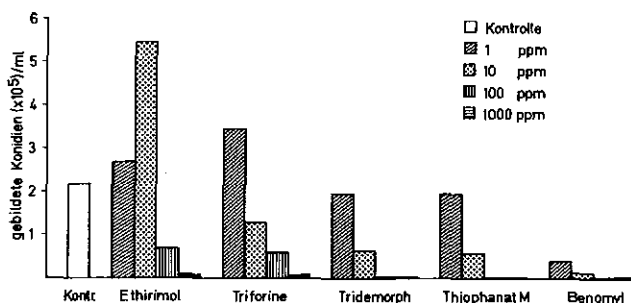


Abb. 36: Wirkung systemischer Fungizide unterschiedlicher Konzentrationen in Glucose-Lösung auf die Konidienbildung von S. tritici.

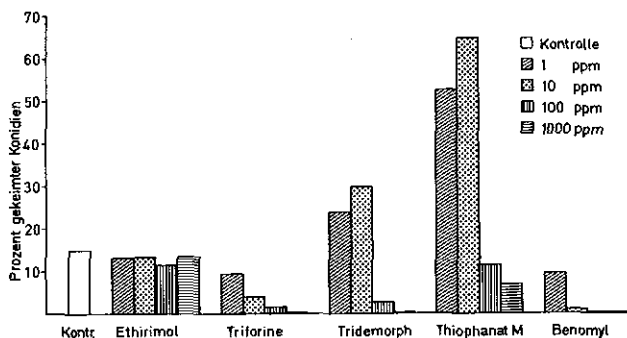


Abb. 37: Wirkung systemischer Fungizide unterschiedlicher Konzentrationen in Glucose-Lösung auf die Keimschlauchbildung von S. tritici-Konidien.

2.9.1.2 Einfluß auf Myzeltrockengewicht

Der Fungizideffekt auf das Myzeltrockengewicht wurde hier in EV-8-Nährlösung in den Fungizidkonzentrationen 1; 10 und 100 ppm geprüft. Beimpfung und Inkubation erfolgten wie bei 2.9.1.1. Das Trockengewicht der Pilzmasse wurde nach 8 Tagen bestimmt.

Ethirimol beeinflusste hier das Myzeltrockengewicht nur geringfügig. Die übrigen Fungizide hemmten in den höheren Konzentrationen. Triforine stimulierte bei 1 ppm das Wachstum um etwa 25 % (Abb. 38 und Tab. XIII).

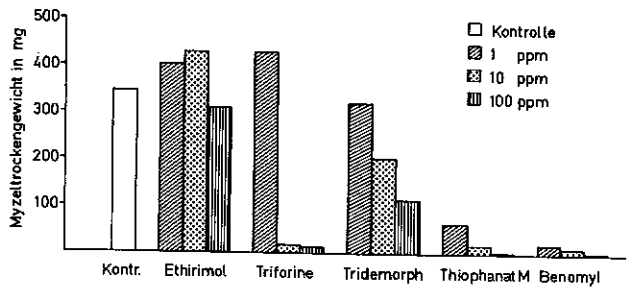


Abb. 38: Wirkung systemischer Fungizide unterschiedlicher Konzentrationen in EV-8-Nährlösung auf das Myzeltrockengewicht von S. tritici.

2.9.2 Beeinflussung des Befalls durch systemische Fungizide

Es sollte nun geprüft werden, ob der Befall der Sorte 'Caribo' durch systemische Fungizide beeinflussbar ist.

Die Pflanzen wurden bei 18°C bzw. 23°C und bei einer relativen Luftfeuchte von 70 % kultiviert. Appliziert wurden die systemischen Fungizide (Konzentrationen s. 1.12.2) im 4-Blattstadium 2 Tage vor (18°C-Pflanzen) oder 2 Tage nach (23°C-Pflanzen) der Inokulation. Das Inokulum enthielt 1×10^6 Konidien/ml. Bonitur des Befalls erfolgte 20 und 30 Tage nach der Inokulation am 2. Blatt (1.12.2).

2.9.2.1 Befall bei Applikation 2 Tage vor der Inokulation

Wurden die systemischen Fungizide 2 Tage vor der Inokulation appliziert, war an beiden Boniturterminen verminderter Befall festzustellen (Tab. 16). Die Fungizide unterschieden sich in ihrer Wirkung. Die Tridemorph-Behandlung zeigte den geringsten Effekt. Thiophanat M und Triforine verringerten den Pilzbefall am deutlichsten.

2.9.2.2 Befall bei Applikation 2 Tage nach der Inokulation

Die Applikation der systemischen Fungizide nach der Inokulation lieferte hier, mit Ausnahme von Tridemorph, etwa das gleiche Bild wie bei der Applikation 2 Tage vor der Inokulation (Tab.17). Die mit Tridemorph behandelten Pflanzen zeigten am 20.Tag eine beschleunigtere Krankheitsentwicklung als die nicht behandelten Kontrollen. Diese schnellere Entwicklung war jedoch am 30. Tag nicht mehr festzustellen. An den Tridemorph-behandelten Pflanzen waren auffallend mehr Pyknidien gebildet worden.

Tab. 16: Einfluß von systemischen Fungiziden auf den Befall mit Septoria tritici der Sorte 'Caribo'. Fungizidapplikation: 2 Tage vor der Inokulation bei 18°C kultivierten Pflanzen. Bonitur 20 und 30 Tage nach der Inokulation am 2. Blatt.

Behandlung	Tage nach Inok.	Blattbefall je Topf in %					Sicher Duncan $\alpha = 1$
		x			$\bar{x}$	rel.	
unbehandelt	20	10,3	11,3	8,9	10,2	100,0	30,2 a 16,4
	30	31,7	30,9	28,0	30,2	100,0	
Tridemorph	20	5,4	6,9	7,3	6,5	63,7	10,2
	30	14,3	16,2	18,6	16,4	54,3	8,1 6,5
Ethirimol	20	3,5	3,4	3,1	3,3	32,3	5,1
	30	9,8	7,9	6,7	8,1	26,8	3,5 3,4
Benomyl	20	2,9	1,9	2,4	2,4	23,5	3,3
	30	6,0	4,2	5,2	5,1	16,9	2,4 1,7
Thiophanat M	20	2,0	1,7	1,4	1,7	16,7	1,7
	30	4,2	3,4	3,0	3,5	11,6	
Triforine	20	1,6	2,1	1,4	1,7	16,7	
	30	3,3	3,9	2,9	3,4	11,2	

+) Mittelwerte mit gleichen Buchstaben sind voneinander nicht signifikant verschieden.

b. 17: Einfluß von systemischen Fungiziden auf den Befall mit Septoria tritici der Sorte 'Caribo'.
Fungizidapplikation: 2 Tage nach der Inokulation bei 23°C kultivierten Pflanzen. Bonitur 20 und 30 Tage nach der Inokulation am 2. Blatt.

handlung	Tage nach Inok.	Blattbefall je Topf in %					Sicherung Duncan-Test ⁺) $\alpha = 1\%$
		x			$\bar{x}$	rel.	
behandelt	20	14,3	15,5	12,8	14,1	100,0	70,0 a
	30	70,0	72,3	67,8	70,0	100,0	68,6 a
idemorph	20	19,6	18,0	21,5	19,7	139,7	23,4 b
	30	67,3	69,0	69,5	68,6	98,0	19,7 c
hirimol	20	6,1	7,9	8,2	7,4	52,5	14,1 d
	30	21,3	24,7	24,1	23,4	33,4	7,8 e
omyl	20	2,5	3,5	2,6	2,9	20,6	7,4 e
	30	4,2	4,6	3,4	4,1	5,8	5,0 ef
.ophanat M	20	4,2	6,1	3,7	4,7	33,3	4,7 ef
	30	6,9	9,2	7,2	7,8	11,1	4,1 f
.forine	20	1,5	1,8	2,1	1,8	12,8	2,9 f
	30	3,2	5,7	6,0	5,0	7,1	1,8 f

Mittelwerte mit gleichem Buchstaben sind voneinander nicht signifikant verschieden.

2.9.3 Tridemorph-Effekt

In weiteren Versuchen sollte die Tridemorph-Wirkung noch weiter untersucht werden.

2.9.3.1 Vergleich der Applikationen 2 Tage vor bzw. nach der Inokulation bei 23°C

Bei den vorherigen Versuchen wurden die systemischen Fungizide in 2 verschiedenen Zeitpunkten und Temperaturstufen appliziert und zwar 2 Tage vor Inokulation bei 18°C kultivierten Pflanzen und 2 Tage nach Inokulation bei 23°C kultivierten Pflanzen. In der letzteren Kombination wurde ein erhöhter Befallsgrad durch Tridemorph-Applikation beobachtet. Es blieb jedoch noch zu klären, inwieweit die unterschiedlichen Temperaturen bei der Beziehung zwischen Applikationszeitpunkten und dem Septoria-Befall eine Rolle gespielt hatten. Im folgenden wurde die Versuchstemperatur bei 23°C konstant gehalten, aber die Applikationszeitpunkte wurden variiert. Die Pflanzen wuchsen im Sand und erhielten die üblichen Mineralstoffe (s. 1.1). Die Tridemorph-Konzentration und Menge/Topf war wie bei dem vorherigen Versuch. Die Auswertung erfolgte hier durch Bestimmung der mit Pyknidien besetzten Fläche in % am 4. Blatt 30 Tage nach der Inokulation.

Die Pyknidienausbildung wurde durch die Tridemorph-Behandlung deutlich gefördert (Tab. 18), und zwar besonders stark, wenn Fungizid 2 Tage nach der Inokulation appliziert war.

Ferner nahm die Pyknidiengröße unter Wirkung von Tridemorph ab. Hierzu wurden 100 Pyknidien an Pflanzen, die 2 Tage nach der Inokulation mit Tridemorph behandelt waren, gemessen. Die Pyknidiengröße betrug bei den unbehandelten Pflanzen 121 x 7 µm, während sie bei den behandelten Pflanzen 209 x 113 µm erreichte.

Tab. 18: Einfluß der Tridemorph-Applikation 2 Tage vor bzw. nach der Inokulation mit S. tritici auf die Pyknidienbildung in Blättern. Bestimmung der mit Pyknidien besetzten Fläche in %, 30 Tage nach der Inokulation am 4. Blatt.

Behandlung	Blattfläche mit Pyknidien in % je Topf					
	x				$\bar{x}$	rel.
unbehandelt	2,8	3,6	5,2	3,1	3,7	100
App. vor Inok.	5,8	6,6	8,6	8,6	7,4	200
App. nach Inok.	13,0	15,3	13,3	13,1	13,7	370

2.9.3.2 Einfluß auf die Permeabilität

Nach BUCHENAUER (1975) erhöht Tridemorph den Ionen-Efflux aus Bohnen und Gerstenblattstückchen, die nach dem Abschneiden in eine Tridemorph-Lösung gelegt worden waren. Es war von Interesse, ob Tridemorph die gleiche Wirkung im Gewebe von intakten Pflanzen zeigen könnte.

Gesunde 'Caribo'-Pflanzen wurden mit Tridemorph-Lösung gespritzt (Konz. und Menge wie bei vorherigen Versuchen) und 5,10 und 2 Stunden danach zur Permeabilitätsmessungen (1.7.2) Blätter entnommen. Die Kontrollpflanzen erhielten eine etwa 0,04 ige Tween 20-Lösung in aq. dest.

Bei den Bestimmungen 5 und 10 Stunden nach der Applikation konnte keine deutliche Permeabilitätserhöhung festgestellt werden. Erst nach 32 Stunden wurde eine erhöhte Leitfähigkeit im Wasser wegen der Permeabilitätsänderung im Gewebe behandelte Pflanzen gemessen (Abb. 39 und Tab. XIV).

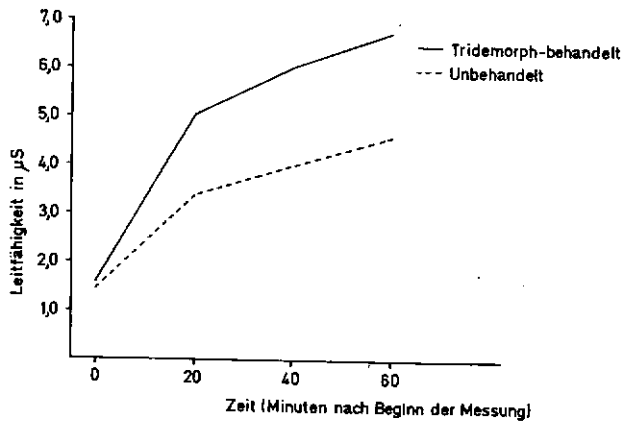


Abb. 39: Einfluß der Tridemorph-Applikation auf den Ionen-Efflux des Gewebes bei 'Caribo'-Blättern 32 Std. na Behandlung, gemessen an der Veränderung der Leitfähigkeit des Wassers in $\mu\text{S}/0,3 \text{ g FG}$.

III. DISKUSSION

Der Ausgangspunkt vorliegender Arbeit war die Beobachtung, daß verschiedene Weizensorten gegenüber Septoria tritici unterschiedliche Anfälligkeit zeigen. Dieser abweichende Befall wird von den unterschiedlichen Reaktionen begleitet, wie z.B. Atmung und Permeabilität. Um die Ursachen der Reaktionsunterschiede zu klären, wurden Untersuchungen über Pathogenese, Enzyme und Pflanzeninhaltsstoffe wie Gesamtstickstoff, freie Aminosäuren und phenolische Verbindungen durchgeführt.

In den Anfälligkeitstests mit 6 deutschen Winterweizensorten war ein gut differenziertes Sortenspektrum zu erkennen. Die Auswahl einer resistenten Sorte war leicht zu treffen; der Erreger rief an 'Caribo' nur geringere Symptome hervor und zeigte kaum Fruktifikation. Sortenanfälligkeit gegenüber Blattparasiten wird in der Regel nach dem Anteil befallener Blattfläche ermittelt. Dieses Kriterium reicht jedoch in der Weizen-S. tritici-Beziehung allein nicht aus, um Sortenunterschiede auszudrücken. Vielmehr muß die Sporulationsfähigkeit des Erregers in der Pflanze mitberücksichtigt werden. So stufte ROSIELLE (1971) in Anfälligkeitstests gegenüber S. tritici einen Teil der Sorten nach der Pyknidiendichte ein, da reichlich gebildete Asien und Nekrosen die Klassifizierung der Sorten nach dem Befallsgrad allein unmöglich machten. Ähnlich zog EYAL (1971) für die Beurteilung der Sorten nach der Reaktion gegenüber S. tritici die Pyknidiendichte als Hauptunterscheidungsmerkmal bei der Bestimmung der befallenen Blattfläche vor. In den eigenen Anfälligkeitstests erfolgte die Auswahl einer anfälligen Sorte auch nach dem Ausmaß der Pyknidienbildung. So diente statt der Sorte 'Progress', die den höchsten Blattbefall zeigte, 'Florian' als anfällige Sorte in weiteren Versuchen.

Die Befallsbereitschaft und der Krankheitsverlauf und somit auch die Anfälligkeit sind von verschiedenen Faktoren abhängig, u.a. von der Inokulumdichte und Temperatur. So vermindert eine

erhebliche Erhöhung des Inokulums unter Mitwirkung von verlängerter Inkubationszeit bei 100% iger Luftfeuchte die Widerstandsfähigkeit von 'Caribo'. Niedrigere Inokulumdichten zeigten jedoch deutlicheren Befallsunterschied zwischen den Testsorten.

Auch die Erhöhung der Versuchstemperatur führt zu einer Resistenzverminderung von 'Caribo'. Die Auswirkungen erhöhter Temperaturen auf die Reaktion der Pflanzen gegenüber Pathogenen sind bekannt. So sind die Weizensorten mit Sr6 Gen resistent gegenüber bestimmten Rassen von Puccinia graminis bei 20°C, aber anfällig bei 25°C (DALY, 1976). Nach CHAMBERLAIN und GERDEMAN (1966) weisen Sojabohnen durch Wärmebehandlung eine erhöhte Anfälligkeit u.a. auch gegenüber dem Nichtpathogen Helmintosporium sativum auf. Hier wird angenommen, daß der Temperatureffekt nicht direkt auf den Wirt oder das Pathogen gerichtet ist, sondern auf deren Interaktionen. Bei der Weizen-Septoria Beziehung kann eine direkte Stimulierung des Pilzwachstums zur Erklärung herangezogen werden, da der Pilz bei den Versuchstemperaturen (18 und 23°C) ein vergleichbares Wachstum zeigt (ARSENIJEVIC, 1965).

Nach HARE (1966) ist Resistenz von Pflanzen gegenüber Krankheiten meistens physiologisch bedingt, und somit kommt sie erst dann zum Ausdruck, wenn der Erreger sich im Gewebe ausbreitet, d.h. die Kontaktphase mit dem Wirtsplasma erreicht ist. Es dürfte auch für das Weizen-Septoria tritici-Verhältnis gelten, daß der sortenspezifische Effekt auf Keimung, Bildung appressoriumähnlicher Strukturen und Penetration besteht nicht.

Die Penetration erfolgt durch die Stomata. Ein direktes Eindringen durch die Kutikula wurde zwar von WEBER (1922) beschrieben, jedoch ohne Angabe über Bildung von Appressorien als einer Vorphase des Eindringens. In der vorliegenden Arbeit wurde die Bildung appressoriumähnlicher Strukturen vor allem an den Anschlußstellen der Epidermiszellen beobachtet. Nach EMMETT und PARBERRY (1975) entstehen Appressorien von Blattparasiten häufig an den Anschlußstellen von Epidermiszellen, da aus diesen Stellen mehr Exomosis stattfindet, welche die Appressorienbildung

stimulieren kann. BENEDICT (1971) berichtet auch vom Auftreten der Hyphenspitzenverdickungen bei S. tritici. Da Penetrationen durch die Stomata verglichen mit der Anzahl ausgekeimter Sporen relativ selten erfolgen, könnten Bedingungen, die eine zusätzliche direkte Penetration ermöglichen, für den Infektionserfolg eine bedeutende Rolle spielen.

Nach BAKER (1969) kommt der Phytoalexinbildung für die Resistenz Bedeutung zu; innerhalb von 24 Stunden nach dem Aufbringen der Konidien schied das Blatt chemische Substanzen (Phytoalexine) aus, welche die Keimung der Konidien in vitro hemmten. Sie fand eine positive Korrelation zwischen der Fähigkeit der Sorten zur Phytoalexinbildung und ihrer Resistenz gegenüber S. tritici. Ferner hält sie für möglich, daß eine zunächst erfolgende Bildung sekundärer Konidien nach der Phytoalexinbildung eingestellt wird. Stattdessen würden Keimschläuche zur Penetration gebildet. Dieser Vorgang wurde weder von BENEDICT (1971) noch durch eigene Beobachtungen bestätigt. Ferner war durch Keimtests auf Blattextrakten beider Sorten keine sortenspezifische Beeinflussung des Pilzwachstums festzustellen.

Der Erreger breitet sich in der resistenten Sorte 'Caribo' erheblich langsamer aus als in der anfälligen Sorte 'Florian'. Gelingt es ihm, sich im Parenchymbereich von 'Caribo'-Pflanzen zu etablieren, so löst er auch hier dieselbe Schädigung der Zellen aus, die bei gleichem Besiedlungsgrad in 'Florian'-Pflanzen zu beobachten ist. Der Unterschied zwischen den beiden Sorten besteht also in der Ausbreitungsgeschwindigkeit des Erregers und im Befallsgrad. Eine Resistenz durch Überempfindlichkeitsreaktionen, die sich als schnelleres Absterben der Zellen zeigen würden, kommt bei Septoria-Erkrankung nicht vor. Bei 'Caribo' erfolgt der Zelltod später als bei 'Florian'. Der Zerfall der Wirtszelle beginnt offenbar mit der Schädigung des Plasmalemmas und der Chloroplastenmembran sowie der strukturellen Veränderung der Zellwand. Ein ähnliches Bild wird bei mehreren Pflanzenkrankheiten häufig beobachtet (HEATH und WOOD, 1971;

AMMON et al., 1974; FEHRMANN und MENDGEN, 1975).

Eine Quellung bzw. Modifikation der Zellwand geschieht meiste durch enzymatische Auswirkungen von Pathogenen. Solche Auswirkungen sind bei den Wirt-Parasit-Beziehungen wie

Colletotrichum graminicola - Mais, Botrytis fabae - Dickbohne (WHEELER, 1975), Helminthosporium oryzae - Reis (AKAI, 1973) bereits belegt worden. Die enzymatische Kapazität von S. tritici in vitro (s. unten) läßt die Annahme zu, daß eine enzymatisch Beeinflussung der Wirtszellwand möglich ist.

Die vorliegenden elektronenoptischen Befunde sprechen dafür, daß eine Zellschädigung bei der Weizen-S. tritici-Interaktion auch durch eine Toxinausscheidung des Erregers möglich sein kann. Zerstörung des Plasmalemmas und Vesikelbildung im Zellinnern sowie Degeneration von Granathylakoiden zu Vesikeln in Chloroplasten sind typische Erscheinungen für die Erkrankungen bei denen solche toxische Effekte bekannt sind (Helminthosporium victoriae - Hafer, LUKE et al., 1966; Cochliobolus miyabeanus Reis, AKAI et al., 1971). Der wichtigste Grund zur Annahme für eine Toxinausscheidung ist jedoch die gewisse Fernwirkung des Erregers auf die benachbarten Zellschichten (Degeneration der Zellorganellen, Zerstörung des Plasmalemmas und Vesikelbildung in der Zelle), ohne daß die betroffenen Zellen vom Pilz zunächst besiedelt werden. Ferner konnte von HILU und BEVER (1957) und auch in eigenen Vorversuchen festgestellt werden, daß S. tritici in vitro Stoffe ausscheiden kann, die in der Pflanze - nach Infiltrieren - chlorotische Flecken hervorrufen können. Die Fähigkeit des verwandten Erregers S. nodorum zur Toxinbildung wurde vor kurzem nachgewiesen (KENT und STROBEL, 1976).

Die Bildung einer Schleimzone (Mucilage, Sheath, Matrix) um die interzellularen Hyphen wurde bereits bei anderen Pilzen beobachtet (BRUCE et al., 1975; PEGG et al., 1976). Die Akkumulation des Schleimmaterials um die Hyphen von S. tritici nur mit dem Absterben der benachbarten Zellen zu. Dies liefert jedoch keine deutlichen Hinweise auf die Herkunft dieses Materials. Obwohl der Schleim mit Kallose-Nachweisreagenz (Resorcinblau) positiv reagiert, bedürfte die genauere Kenntnis der stofflichen Natur noch weitere Untersuchungen.

Die Papillenbildung kann eine typische Abwehrreaktion von Zellen

gegen die Penetration der Pilzhyphe darstellen (FEHRMANN und MENDGEN, 1975; SHERWOOD und VANCE, 1975). Da bei Septoria-Erkrankung diese Gebilde selten auftreten, sind sie für die Resistenz ohne Bedeutung.

Die Infektion war vor dem Auftreten von Symptomen durch Permeabilitätsmessungen nicht nachweisbar. In der Ausbreitungsphase kommt daher der Energiegewinnung besondere Bedeutung zu, da die Ausbreitung nur interzellulär erfolgt. Abgesehen von der Aufschließung von Zellwandstoffen und der Mittellamelle, wäre die Energiegewinnung durch Prozesse möglich, wie sie für Rhynchosporium secalis beschrieben sind (JONES und AYRES, 1972): Im Interzellullarraum befindliche gelöste Stoffe, wie Kohlenhydrate, Aminosäuren und anorganische Ionen, stehen mit dem Zellinhalt in einem gewissen Konzentrationsgleichgewicht. Diese Stoffe können dem Pilz als Substrat dienen. Die von ihm absorbierte Menge kann durch Zufuhr aus dem Gewebe ausgeglichen werden. Wenn der Erreger durch Ausscheidung von Toxinen oder Enzymen die Permeabilität der Zellmembran erhöht, steigt die Konzentration im Interzellullarraum plötzlich an. Dies erfolgt bei 'Florian' etwa am 10. Tag. Parallel zu dem verstärkten Ionenaustritt aus den Zellen, tritt bei dieser anfälligen Sorte eine vermehrte Ausbildung von Fruchtkörpern auf. Diesem folgt das Absterben des Gewebes. Die Permeabilitätserhöhung verläuft parallel zur erhöhten Atmung, die offensichtlich auf den Abbau-Metabolismus zurückzuführen ist. Die Erhöhung der Permeabilität und Atmung erreicht bei 'Caribo' nicht das gleiche Ausmaß wie bei 'Florian'. Zur Erklärung kann auf die niedrige Befallsintensität hingewiesen werden.

Die erfolgreiche Besiedlung des pflanzlichen Gewebes hängt auch von der enzymatischen Fähigkeit von Erregern ab. Ausgehend von dieser Tatsache wurde untersucht, ob die Sortenunterschiede bei der Septoria-Erkrankung durch enzymatische Aufschließung des Zellwandmaterials zu erklären waren.

3. tritici ist fähig, Pektinmethylesterase und Cellulasen zu bilden; das Substrat spielt dabei eine wesentliche Rolle. Offen-

sichtlich benötigt der Pilz am Anfang des Wachstums eine leicht verfügbare Energiequelle, die in Form niedermolekularer Kohlenhydrate zur Verfügung stehen muß, denn auf reinen Enzymsubstraten kommt ein Wachstum nicht vor. Neben der C_x -Cellulase bildet der Pilz Cellulase des C_1 -Typs, ist also fähig native Cellulose abzubauen. Die Bildung von Cellulasen wird durch die Gegenwart von Enzymsubstraten gefördert. Damit können diese Enzyme als induzierbar bezeichnet werden (WOOD, 1967). Die Annahme, daß die Cellulasen-Produktion in Gegenwart von Glucose beeinträchtigt wird (WOOD, 1967) trifft für S. tritici nicht zu. Es ist sogar keine C_1 -Bildung ohne Glucose-Zugabe festzustellen. Die induzierende Wirkung von Glucose auf die Cellulase-Synthese ist auch für Cercospora herpotrichoides (HÄNSLER, 1971) und Ophiobolus graminis (WESTE, 1970) beschrieben worden.

Der Pilz zeigte auf Blattmaterial beider Sorten gleiche PME- und Cellulasen-Bildung. Eine sortenspezifische Induktion besteht also nicht.

Eine Polygalacturonase-Aktivität konnte nicht nachgewiesen werden, obwohl in den Nährlösungen mit Polygalacturonsäure-Na-Salz ein reichliches Wachstum zu verzeichnen war. Der Abbau von Pektinen im pflanzlichen Gewebe kann durch ein systemverwandtes Enzym geschehen. Es ist wahrscheinlich, daß der Pektin-Abbau durch S. tritici auch mittels Transeliminase erfolgt. Wie bei anderen Blattfleckenkrankheiten bereits demonstriert wurde (HEATH und WOOD, 1971), scheinen die pektolytischen und cellulolytischen Enzyme aus folgenden Gründen auch bei Septoria-Erkrankung eine Rolle zu übernehmen:

Ein enzymatischer Angriff auf die wasserunlöslichen Polysaccharide konnte mittels Schiffschem Reagenz nachgewiesen werden. Die elektronenoptischen Aufnahmen lieferten eine zusätzliche Bestätigung für enzymatische Veränderungen der Zellwände, die sich als Quellung darstellten.

Ferner kann die Resistenz der 'Caribo'-Pflanzen durch die Applikation von Glucose, die in vitro Cellulase-Aktivitäten des Pilzes fördert, aufgehoben werden. Über die Wirkung von Zucker in der Pathogenese wurde bereits dahingehend berichtet, daß die Applikation niedermolekularer Kohlenhydrate den enzymatischen Zellwandabbau durch Pilze negativ beeinflusst und ihre

Ausbreitung im Gewebe beeinträchtigt (HORTON und KEEN, 1966; PATIL und DIMOND, 1967). Dies trifft für S. tritici nicht zu, vielmehr erhöht die Glucose-Applikation die Anfälligkeit der Pflanzen.

HORSFALL und DIMOND (1957) teilen verschiedene Krankheiten je nach Anspruch der Pathogene an den Zuckerhaushalt des Wirtes in 'low sugar diseases' und 'high sugar diseases' ein. Es kann angenommen werden, daß S. tritici wohl zu der letzteren Gruppe gehört, da er auf den veränderten Zuckergehalt behandelter Weizenpflanzen reagiert.

Ein weiterer Nachweis der Fähigkeit von S. tritici Zellwandstoffe zur Energiegewinnung aufzuschließen, kann im Wachstum auf isolierten Zellwandstoffen gesehen werden. Auf Zellwandmaterial beider Sorten scheidet er α - und β -Galactosidase, β -Glucosidase und β -Xylosidase aus, Enzyme die ihre Substrate zu den entsprechenden Monosacchariden spalten.

Die β -Glucosidase- und β -Xylosidase-Aktivitäten waren an dem Zellwandmaterial von 'Florian' höher als dem von 'Caribo'. Zöge man die Fähigkeit des Pilzes, Zellwandmaterial energetisch vollständig aufzuschließen, als Resistenzkriterium in Betracht, so ließen die vorliegenden Ergebnisse eher den Schluß zu, daß die Sorte 'Caribo' für S. tritici eine geeignetere Wirtspflanze wäre. Auf Zellwandmaterial dieser Sorte wächst der Pilz bei geringerem enzymatischen 'Aufwand' ebenso gut, wie auf dem Material der Sorte 'Florian', wie durch die Bestimmung des Glucosamin-Gehaltes nachgewiesen wurde. Auf Zellwandmaterial von Hafer, einem Nichtwirt, jedoch zeigt S. tritici weder entsprechende Enzymaktivität noch Wachstum. Eine Unterscheidung in Wirt und Nichtwirt wäre also mit diesem Kriterium möglich. ALBERSHEIM und ANDERSON-PROUTY (1975) stellten fest, daß eine sortenspezifische Induktion zellwandabbauender Enzyme keine Differenzierung in anfällige und resistente Sorte ermöglicht. Diese Feststellung wird durch die vorliegenden Ergebnisse gestützt.

Die befallsfördernde Wirkung von N-Düngung in der Literatur ist mehrmals beschrieben worden (Übersicht bei FUCHS und

GROßMANN, 1972). Die für das Weizen-Septoria tritici-Verhältnis bereits erwiesene Tendenz, daß eine reichliche N-Versorgung die Prädisposition von Weizenpflanzen erhöhen kann (FELLOWS, 1962; von WECHMAR, 1961) wurde in eigenen Versuchen, die mit NH_4NO_3 in zwei Altersstufen der Pflanzen durchgeführt worden waren, bestätigt.

Die Befallssteigerung bei jüngeren Pflanzen fiel für die resistente Sorte 'Caribo' viel deutlicher aus als für die anfällige Sorte 'Florian'. 'Florian' zeigte bereits bei schwächerer N-Düngung eine erheblich höhere Anfälligkeit, die durch zusätzliche N-Gabe nicht mehr zu steigern war.

Ältere Pflanzen beider Sorten waren allgemein erheblich widerstandsfähiger als jüngere. Dies deutet eine altersbedingte Resistenz an. In diesem Stadium bewirkte die N-Düngung jedoch eine deutliche Verstärkung des Befalls der anfälligen Sorte 'Florian', während die Widerstandsfähigkeit von 'Caribo' nicht verringert wurde.

Die N-Düngung ruft in den älteren Pflanzen sowohl anatomisch-morphologische als auch physiologische Veränderungen hervor. So entwickelt 'Florian' in Abhängigkeit der N-Versorgung deutlich größere Blätter als 'Caribo'. Die vergrößerte Blattfläche könnte, wie bei anderen Wirt-Parasit-Verhältnissen vermutet wird (DENTLER, 1958; SAUR, 1976), mit großlumigem, dünnwandigem und dadurch weniger kompaktem, leichter zu besiedelndem Gewebe korreliert sein.

Die Testsorten weisen einen unterschiedlichen Gehalt an Gesamtstickstoff und freien Aminosäuren auf, und zwar haben 'Florian' Pflanzen einen höheren Gehalt an Gesamt-N aber geringeren Gehalt an freien Aminosäuren. Offensichtlich erfolgt die N-Verwertung unterschiedlich in diesen Sorten.

Der Befall beeinflusst den Gehalt an Gesamt-N in beiden Sorten kaum. Der freie Aminosäurehaushalt zeigt dagegen unter dem Einfluß des Erregers unterschiedliche Veränderungen:

So werden die Konzentrationen der einzelnen Aminosäuren in den befallenen Blättern von 'Florian' allgemein, besonders deutlich die Mengen an Asparaginsäure, Threonin, Glutaminsäure, Prolin, Valin, Isoleucin, Tryptophan und Phenylalanin, erhöht.

Bei der resistenten Sorte 'Caribo' werden statt einer allgemeinen Konzentrationszunahme die basischen Aminosäuren Lysin, Histidin und Arginin besonders erhöht. Diese Zunahme ist mit einer vermutlich durch Transportvorgänge bedingten Konzentrationsabnahme der betreffenden Aminosäuren in den sich nach der Inokulation voll entwickelnden Blättern begleitet. Ob und inwieweit dieses Phänomen eine Bedeutung für das Wirt-Parasit-Verhältnis hat, muß unklar bleiben.

Eine Erhöhung des Gehaltes an freien Aminosäuren in befallenen Pflanzen ist auch bei der Weizen-Puccinia graminis- Interaktion beschrieben worden (SHAW und COLOTELO, 1961). Ob diese Konzentrationszunahme der Aminosäuren besonders in 'Florian'- Pflanzen durch eine Hydrolyse des Wirtsproteins (KIRALY und FARKAS, 1959), Inhibierung der Proteinsynthese, oder aber durch Neusynthese des Pilzes zustande kommt, bleibt offen.

Über die Bedeutung der Aminosäuren in der Pathogenese lassen sich keine generalisierenden Aussagen machen (VAN ANDEL, 1966). In manchen Fällen wird die Anfälligkeit der Pflanze mit einem auf das Pathogen stimulierend wirkenden bzw. reichlichen Aminosäureangebot in Zusammenhang gebracht. So kann ein erhöhter Aminosäuregehalt mit einem verstärkten Befall durch Puccinia graminis in Verbindung stehen (FORSYTH und SAMBORSKI, 1958). Nach SHISHIYAMA et al. (1965) wiesen gegenüber Helminthosporium-blight anfällige Reispflanzen einen höheren Gehalt an Aminosäuren auf.

Die Mehrzahl fakultativer Parasiten ist jedoch auf eine bestimmte Aminosäure nicht angewiesen und kann sich mit Asparagin, Asparaginsäure, Glycin oder Glutaminsäure begnügen (STEINBERG, 1950; COCHRANE, 1958). Nach ARSENIJEVIC (1965) zeigt S. tritici in Kulturen mit Glutaminsäure, Asparagin und Glycin optimales, selbst in einem N-freien Nährmedium überhaupt Wachstum; vermutlich durch N-Bindung aus der Luft. Dieser Vorstellung folgend dürfte der durch N-Düngung bzw. Infektion erhöhte Gehalt an Aminosäuren keine Bedeutung für die Anfälligkeit haben.

In anderen Fällen wird demgegenüber der hohe Gehalt an bestimmten Aminosäuren für die Resistenz der Wirtspflanzen verantwortlich gemacht. So erwiesen sich Baumwollpflanzen mit hohem Cystin-Gehalt

halt resistent gegenüber Verticillium-Welke (LAKSHMINARAYANAN 1955). Die gegenüber Cercospora beticola resistenten Zuckerrübensorten zeigen einen hohen Gehalt an L-3, 4-Dihydroxyphenylalanin (DOPA) auf (HECKER et al., 1975).

Die Inhibierung phytopathogener Erreger infolge einer Akkumulation bestimmter Aminosäuren in der Pflanze ist häufig beschrieben worden (KUČ et al., 1959; POZSÁR et al., 1966; GOODMAN et al. 1967). Ein verändertes Mengenverhältnis zwischen einzelnen Aminosäuren kann nach GOODMAN et al. (1967) in der Pathogenese als Resistenzfaktor von Bedeutung sein.

In den vorliegenden Untersuchungen zeigte sich eine interessante Korrelation zwischen dem Arginin-Gehalt und dem Befallsgrad der Weizenpflanzen. Arginin akkumulierte sich in den infizierten Pflanzen der resistenten Sorte 'Caribo' und infizierten, aber schwach befallenen Pflanzen der Sorte 'Florian', während in den stark befallenen Pflanzen der Sorte 'Florian' keine Arginin-Erhöhung festzustellen war (s. Abb. 35). Diese Beziehung könnte auf eine durch spezifische Aminosäure verursachte Resistenz hindeuten. Allerdings ließe sich dies nur durch weitere Untersuchungen sicherstellen. Eine durch Arginin-Akkumulation hervorgerufene Hemmwirkung auf Sporulation von Thielaviopsis basicola an Tabakwurzeln ist bereits berichtet worden (BALTRUSCHAT, 1975). Es wäre auch lohnend, die Bedeutung der starken NH_3 -Akkumulation in der 'Caribo'-Pflanzen für deren Resistenz weiter zu verfolgen. Eine Zunahme der NH_3 -Konzentration in der Pflanze kann sowohl für den Erreger, als auch für den Wirt toxisch sein und Resistenzerscheinungen hervorrufen (VAN ANDEI 1967).

Nach KIRALY (1964) erhöht eine starke NH_4NO_3 -Düngung die Anfälligkeit der Weizenpflanzen gegen Puccinia graminis, vermutlich u.a. durch die Herabsetzung des Phenolgehaltes. In eigenen Versuchen wurde in beiden Sorten eine Abnahme des Gesamt-Phenol-Gehaltes, bei der resistenten Sorte sogar eine höhere Abnahme, festgestellt. Damit scheidet der Phenol-Gehalt als Erklärung für die Resistenz aus.

Es wird häufig beobachtet, daß die systemischen Fungizide das Resistenzverhalten der Kulturpflanzen zugunsten anderer pilzlicher Krankheitserreger negativ beeinflussen können (Literatur s. SAUR, 1976).

Bei der Weizen-Septoria tritici-Beziehung wurde eine direkte Befallsförderung durch Erhöhung der Prädisposition beobachtet. Das systemische Fungizid Tridemorph bricht die Widerstandsfähigkeit der Sorte 'Caribo' gegenüber S. tritici und ruft eine starke Sporulation des Erregers auf den Blättern hervor. Es kann angenommen werden, daß der erhöhte Ionenefflux - hervorgerufen durch das Fungizid - gerade während der Kontaktphase von Hyphen und Parenchymzellen ein reichliches Nährstoffangebot bewirkt, das die Entwicklung des Erregers stimuliert. An dieser Stimulierung könnte auch ein direkter Effekt des Fungizids auf den Erreger selbst beteiligt sein, da in geringen Konzentrationen das Myzelwachstum in vitro gefördert wird.

Eine Bekämpfung der Septoria-Blattfleckenkrankheit ist, außer konventionellen Mitteln, auch durch systemische Fungizide möglich, wie die Ergebnisse nach Anwendung von Benomyl, Thiofanat M und Triforine in der vorliegenden Arbeit zeigen. Durch Einsatz dieser systemischen Fungizide gegen parasitären Mehlbruch, Mehltau sowie Spelzenbräune kann S. tritici mitbekämpft werden.

IV. ZUSAMMENFASSUNG

Die Pathogenese der Wirt-Parasit-Beziehung, Triticum aestivum - Septoria tritici Rob. ex Desm. wurde an den Sorten 'Caribo' (resistent) und 'Florian' (anfällig) vergleichend untersucht.

Der Sortenunterschied hinsichtlich der Resistenz bzw. Anfälligkeit drückte sich im prozentualen Blattbefall und in der Sporulation des Erregers auf den Blättern deutlich aus. So betrug die durchschnittliche Befallsfläche pro Blatt bei der Sorte 'Florian' 44 % und bei der Sorte 'Caribo' 4 %. Dementsprechend lag die Pyknidienanzahl pro Blatt bei der anfälligen Sorte um ein 10-faches über der der resistenten Sorte.

Keimung, Bildung appressoriumähnlicher Strukturen und Penetration des Erregers verliefen auf beiden Sorten gleichartig.

Nach der Penetration breitete sich S. tritici in der Sorte 'Florian' erheblich schneller aus als in der Sorte 'Caribo'. Grundsätzliche Unterschiede im Mechanismus der Zellschädigung bestanden nicht.

In der Symptomatologie bestanden Sortenunterschiede: Nach 10-tägiger Inkubationszeit traten bei der Sorte 'Florian' hellgelbe Flecken auf, die bald ineinander übergingen. Mit dem Absterben des Gewebes veränderte sich die Färbung der Flecken in gelb und blieb als 'grüne Insel' erhalten. Bei der Sorte 'Caribo' entstanden etwa 15-20 Tage nach der Inokulation am Blattrand begrenzte gelbe Flecken, die sich mit der Zeit in nekrotische Flecken verwandelten.

Ein gewisser Einfluß des Pilzbefalls auf die Permeabilität und die Atmung der Pflanze war bei beiden Sorten vom 10. Tag nach der Inokulation festzustellen. Die Aktivität dieser Parameter erreichte bei der Sorte 'Florian' ein höheres Niveau als bei Sorte 'Caribo' und korrelierte mit der Zunahme des Befalls.

S. tritici bildete in vitro zellwandabbauende Enzyme. Die Anfälligkeit bzw. Resistenz war jedoch auf eine Sorten-bedingte

Stimulation der Enzymproduktion nicht zurückzuführen.

Toxine spielen sehr wahrscheinlich bei der Pathogenese eine Rolle. In den Zellen konnten elektronenoptisch Veränderungen beobachtet werden, die vermutlich auf Ausscheidung toxinähnlicher Stoffe zurückzuführen sind.

Die Resistenz der Sorte 'Caribo' gegenüber dem Erreger wird durch Erhöhung der Inokulumdichte und Temperatur negativ beeinflusst. Eine exogene Glucose-Zufuhr und Applikation des systemischen Fungizids Tridemorph wirkten sich ebenfalls Resistenz-mindernd aus.

Reichliche N-Versorgung während des Jugendstadiums erhöhte die Prädisposition der Sorte 'Caribo' gegenüber S. tritici. Im älteren Stadium wurde die Resistenz dieser Sorte nicht beeinflusst, dies trifft nicht für die anfällige Sorte 'Florian' zu.

N-Düngung erhöhte den Gehalt an Gesamtstickstoff und an freien Aminosäuren. Die Sorte 'Florian' wies einen höheren Gehalt an Gesamtstickstoff und einen geringeren Gehalt an freien Aminosäuren auf.

Der Gesamtgehalt an Stickstoff wurde durch den Befall kaum beeinflusst. Im Aminosäurehaushalt traten sortenspezifische Veränderungen auf: Während der Befall der anfälligen Sorte zu einer Akkumulation zahlreicher Aminosäuren führte, wurde bei der resistenten Sorte eine Erhöhung der möglicherweise resistenzbedingten basischen Aminosäuren Lysin, Histidin und Arginin festgestellt.

V. LITERATURVERZEICHNIS

1. AKAI, S., 1973: Recent advance in studying the mechanism of fungal infection in plants. Shokubutsu Byogai Kenkyu (Forsch. Gebiet Pflanzenkrankh.), Kyoto 8, 1-60
2. AKAI, S., HORINO, O., FUKUTOMI, M., NAKATA, A., KUNOH, H. and SHIRAIISHI, M., 1971: Cell wall reaction to infection resulting change in cell organelles. In: Akai, S. and Ouchi, S. (Ed.) Morphological and Biochemical Events in Plant-Parasite-Interactions, 329-347
3. ALBERSHEIM, P. and ANDERSON-PROUTY, J., 1975: Carbohydrates, proteins, cell surfaces and the biochemistry of pathogenesis. Ann. Rev. Plant Physiol., 26, 31-5
4. AMMON, V., WYLLIE, Th., BROWN, M.F., 1974: An ultrastructural investigation of pathological alterations induced by Macrophoma phaseolina (Tassi) G. in seedlings of soybean Glycine (L.) Merrill. Physiol. Plant Path., 4, 1-4
5. ANDEL VAN, O.M., 1966: Amino acids and plant diseases. Ann. Rev. Phytopathology, 4, 349-3
6. ANONYM, 1972: Annual report on maize and wheat improvement. International Maize and Wheat Improvement Center (CIMMYT), Mexico
7. ANONYM, 1976: Review of the International Maize & Wheat Improvement Center (CIMMYT) Mexico.
8. ARSENIJEVIC, M., 1965: Septoria tritici Rob. et Desm. parazit pšenice U.S.R. Srbiji. Zast. Bilja 16, 5-70
9. BAKER, C.J., 1969: Studies on Leptosphaeria nodorum Müller and S. tritici Desm. on wheat. Ph.D. Thesis, University of Exeter
10. BAKER, C.J., 1970: Varietal reaction of wheat to leaf infection by Leptosphaeria nodorum and Septoria tritici Trans. Br. mycol. Soc., 54 (3), 500-5

1. BALTRUSCHAT, H., 1975: Untersuchungen über den Einfluß der endotrophen Mycorrhiza auf den Befall von Pflanzen durch pathogene Pilze, insbesondere von Nicotiana tabacum durch Thielaviopsis basicola. Diss. Bonn
2. BATEMAN, D.F., 1969: Susceptibility to enzymatic degradation of cell walls from bean plants resistant and susceptible to Rhizoctonia solani Kuhn. Plant Physiol., 44, 641-648
3. BENEDICT, W.G., 1971: Differential effect of light intensity on the infection of wheat by Septoria tritici Desm. under controlled environmental conditions. Physiol.Pl.Path., 1, 55-66
4. BROKENSHIRE, T., 1975: The rôle of graminaceous species in the epidemiology of Septoria tritici on wheat. Plant Path., 24, 33-38
5. BROKENSHIRE, T., 1975: Wheat seed infection by Septoria tritici. Trans.Br.mycol.Soc., 64 (2), 331-334
5. BRUCE, L., 1975: Light and transmission electron microscopy of white pine blister rust canker. Phytopathology, 65, 681-685
7. BUCHENAUER, H., 1975: Various response of cell membranes of plant and fungal cells to different systemic fungicides. VIII.International Plant Protection Congress, Moscow, Section III, 94-110
3. CALDWELL, R.M. 1960: Losses to winter wheat from infection by Septoria tritici and NARVAES, I., Phytopathology, 50, 630 (Abstr.)
1. CASSINI, R., 1973: Influences des techniques de culture sur le developement des maladies des céréales. Journée d'étude sur la lutte contre les maladies des Céréales ITCF, Versailles, 17-34
1. CHAMBERLAIN, D.W. 1966: Heat induced susceptibility of soy-beans to Phytophthora megasperma, P. und GERDEMAN, J.W., cactorum and Helminthosporium sativum. Phytopathology, 56, 70-73

21. CHAN, Y.-H. and SACKSTON, W.E., 1970: Mechanismus of pathogenesis in Sclerotium bataticola on sunflower. II. Pectolytic and cellulolytic enzyme production in vitro and in vivo. Can.J.Bot., 48, 1073-1077
22. COCHRANE, V., 1958: Physiology of fungi. John Wiley and Sons, Inc., New York
23. COOKE, B.M. and JONES, D.G., 1970: The effect of near-ultraviolet irradiation and agar medium on the sporulation of Septoria nodorum and S. tritici. Trans.Br.mycol.Soc., 54 (2), 221-2
24. COOKE, B.M. and JONES, D.G., 1971: The epidemiology of Septoria tritici and S. nodorum. III. The reaction of spring and winter wheat varieties to infection by S. tritici and S. nodorum. Trans.Br.mycol.Soc., 56 (1), 121-13
25. DALY, J.M., 1976: Some aspects of host-pathogen interactions. In: Encyclopedia of Plant Physiology Vol. 4: Heitefuss, Williams: Physiological plant pathology, Springer Verlag Berlin-Heidelberg-New York, S.27-5
26. DENTLER, J., 1958: Untersuchungen über die Anfälligkeit von Sommergerstensorten gegenüber tau (Erysiphe graminis D.C.). Z.Acker-,Pfl.bau, 106, 89-107
27. DINOOR, A., 1974: Role of wild and cultivated plants in the epidemiology of plant diseases in Israel. Ann.Rev.Plant Path., 12, 413-436
28. ELLAL, G. and DINOOR, A., 1973: Chemical control of Septoria leaf blotch in wheat. Proc. 7th British Insecticides and Fungicides Conf., (1), 193-200
29. EMMETT, R.W. and PARBERY, D.G., 1975: Appressoria. Ann.Rev.Phytopath., 13, 147-167
30. EYAL, Z., 1971: The kinetics of pycnospore liberation in Septoria tritici. Can.J.Bot., 49, 1095-1099
31. EYAL, Z., 1972: Effect of Septoria leaf-blotch on the yield of spring wheat in Israel. Plant Dis.Reptr., 56, 983-986

32. EYAL, Z.,
AMIRI, Z. and
WAHL, I., 1973: Physiologic specialization of
Septoria tritici.
Phytopathology, 63, 1087-1091
33. FEEKES, W., 1967: Phytopathological consequences of
changing agricultural methods.
II. Cereals
Neth.Jour.Plant Path., 73, 97-115
34. FEHRMANN, H. und 1971: Ökologische Untersuchungen zur Epi-
SCHRÖDTER, H.,
demiologie von Cercospora herpo-
trichoides.
Phytopath.Z., 71, 66-82
35. FEHRMANN, H. und 1975: Ultrastruktur von Weizenkoleoptil-
MENDGEN, K.,
zellen nach Infektion mit
Cercospora herpotrichoides.
Phytopath.Z., 83, 267-280
36. FELLOWS, H., 1962: Effects of light, temperature, and
fertilizer on infection of wheat
leaves by Septoria tritici.
Plant Dis. Repr., 46, 846-848
37. FORSYTH, F.R. and 1958: The effect of various methods of break-
SAMBORSKI, D.J.,
ing resistance on stem rust reaction
and content of soluble carbohydrate
and nitrogen in wheat leaves.
Can.J.Bot., 36, 717-723
38. FUCHS, W.H. und 1972: Ernährung und Resistenz von Kultur-
GROSSMANN, F.,
pflanzen gegenüber Krankheitserregern
und Schädlingen, 1007-1107.
In: Scharrer, K. und Linser, H.: Hand-
buch der Pflanzenernährung und Dün-
gung, Bd. I, Springer-Verlag,
Wien-New York.
9. GÄUMANN, E., 1951: Pflanzliche Infektionslehre.
Verlag Birkhäuser, Basel
0. GERLACH, D., 1969: Botanische Mikrotechnik.
Thieme-Verl., Stuttgart
1. GEORGHIES, C., 1974: Contributii la cunoasterea biologiei
ciupercii Septoria tritici Rob. et
Desm. I. Germinatia pichospoilor.
An.I.C.P.P., 10, 63-70
2. GOODMAN, R.N., 1967: The biochemistry and physiology of
KIRALY, Z. and
ZAITLIN, M.,
infectious plant disease.
D.Van Nostrand Company, Inc.
Princeton-Toronto-London-Melbourne

43. GROSSMANN, F., 1973: Mykologische Probleme im intensiv Getreidebau.
BASF-Mitt. f.d. Landbau 3/73, 131-145
44. HAFIZ, A., 1971: Report on cereal improvement and production in Turkey.
Food and Agriculture Organization of the United Nations, Near East Regional Office, Cairo
45. HÄNBLER, G., 1971: Zur Bildung pektolytischer und celolytischer Enzyme durch Cercospora herpotrichoides Fron.
Diss. Gießen.
46. HARE, R.C., 1966: Physiology of resistance to funga disease in plants.
Bot. Rev., 32, 95-137
47. HEATH, M.C. and 1971: Role of cell-wall-degrading enzym in the development of leaf spots caused by Ascochyta pisi and Mycosphaerella pinodes.
Ann.Bot., 35, 451-474
48. HECKER, R.J., 1975: Amino acids associated with Cercos leaf spot resistance in sugar bee
MAAG, G.W. and RASMUSON, D.M.,
Phytopath.Z., 82, 175-181
49. HILU, H.M. and 1957: Inoculation, oversummering, and BEVER, W.M.,
suscept-pathogen relationship of Septoria tritici on Triticum spec
Phytopathology, 57, 474-480
50. HORSFALL, J.G. 1957: Interactions of tissue sugar, gro and DIMOND, A.E.
substances and disease susceptibi
Z.Pflanzenkrankh., 64, 415-421
51. HORTON, J.C. and 1966: Sugar repression of endopolygalac KEEN, N.T.,
nase and cellulose synthesis duri
pathogenesis by Pyrenochaeta
terrestris as a resistance mechan
on onion pink root.
Phytopathology, 56, 908-916
52. JENKINS, J.E.E. 1969: The effect of Septoria diseases and MORGAN, W.,
on the yield of winter wheat.
Plant Path., 18, 152-156
53. JONES, D.G. and 1970: Septoria tritici Rob. & Desm. on COOKE, B.M.,
heads of winter wheat in West Wal
Plant Path., 19, 99-100

54. JONES, P. and AYRES, P.G. 1972: The nutrition of the subcuticular mycelium of Rhynchosporium secalis (barley leaf blotch): permeability changes induced in the host. Physiol. Plant Path., 2, 383-392
55. JONES, D.G. and LEE, N., 1974: Production of secondary conidia by Septoria tritici in culture. Trans. Br.Mycol.Soc., 62, (1), 212-213
56. KARACA, I., 1974: Sistematik bitki hastalıkları. Deuteromycetes. Cilt: IV Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayinlari, 217, Bornova.
57. KENT, S.S., and STROBEL, G.A., 1976: Phytotoxin from Septoria nodorum. Trans.Br.mycol.Soc., 67 (2), 354-358
58. KIRALY, Z., 1964: Effect of nitrogen fertilization on phenol metabolism and stem rust susceptibility of wheat. Phytopath. Z., 51, 252-261
59. KIRALY, Z. and FARKAS, G.L., 1959: Biochemical trends in plant pathology. Phytopath.Z., 34, 23-364
60. KLARMAN, W.L. and CRAIG,J., 1960: Sterilization with propylene oxide. Phytopathology, 50, 868
61. KUC,J., BARNES, A.,DAFTSIOS,A. and WILLIAMS, E.B., 1959: The effect of amino acids on susceptibility of apple varieties to scab. Phytopathology, 49, 313-315
62. LAKSHIMINARAYANAN,1955: Role of cystine chelation in the mechanism of Fusarium wilt of cotton. Experienta, 9, 388
63. LÜNING, H.-U., 1975: Saponine in Avena sativa, ihre Bedeutung im Resistenzmechanismus gegenüber phytopathogenen Pilzen Diss. Bonn.
4. LUKE, H.H., WARMKE, H.E. and HANCHEY, P., 1966: Effect of the pathotoxin, victorin on ultrastructure of root and leaf tissue of Avena species. Phytopathology, 56, 1178-1183
5. LUTHRA, J.C., SATTAR, A. and GHANI, M.A., 1938: Perpetuation and control of Septoria disease of wheat in the Punjab. Rev.Appl. Myc., 17, 383

66. McDONNEL, K., 1962: Relationship of pectic enzymes and pathogenicity in the Fusarium wilt of tomatoes.
Trans.Br. mycol.Soc., 45 (1), 55-
67. MORALES, I.N., 1958: Studies on Septoria leaf blotch of wheat.
Diss. Abstr., 18, 357-358
68. MUDRA, A., 1958: Statistische Methoden für landwirtschaftliche Versuche.
Parey-Verl., Berlin, Hamburg.
69. NARVAEZ, I. and CALDWELL, R.M., 1957: Inheritance of resistance of leaf blotch of wheat caused by Septoria tritici.
Phytopathology, 47, 529 (Abstr.)
70. NEVINS, D.J., ENGLISH, P.D. and ALBERSHEIM, P., 1968: Changes in cell wall polysaccharide associated with growth.
Plant Physiol., 43, 914-922
71. PATIL, S.S. and DIMOND, A.E., 1967: Effect of sugar and sugar alcohol production of polygalacturonase by Fusarium oxysporium f. sp. lycopodium.
Phytopathology, 57, 825 (Abstr.)
72. PEGG, G.F., GULL, K. and NEWSAM, R.J., 1967: Transmission electron microscopy of Verticillium albo-atrum hyphae in xylem vessels of tomato plants.
Physiol. Plant Path., 8, 221-224
73. POZSÁR, B.I., KRISTEV, K. and KIRALY, Z., 1966: Rust resistance induced by amino acids: A decrease of the enhanced protein synthesis in rust-infected bean leaves.
Acta Phytopathol. Hung., 1, 203-204
74. RAPILLY, F., 1973: Importance relative des maladies des cereales dans les assolements intensifs.
Journée d'étude sur la lutte contre les maladies des Cereales
ITCF, Versailles, 3-14
75. RIDE, J.P., 1975: Lignification in wounded wheat leaves in response to fungus and its possible role in resistance.
Physiol. Plant Path., 2, 125-134
76. RIDE, J.P. and DRYSDALE, R.B., 1972: A rapid method for the chemical estimation of filamentous fungi in plant tissue.
Physiol. Plant Path., 2, 7-15

7. RIKER, A.J. and RIKER, R.S., 1936: Introduction to research on plant diseases.
John S. Swift Co., Inc. St.Louis, Chicago, New York, Indianapolis.
8. RILLO, A.O. and CALDWELL, R.M., 1966: Inheritance of resistance to Septoria tritici in Triticum aestivum spp. vulgare var. Bulgaria 88.
Phytopathology, 56, 897 (Abstr.)
9. ROSIELLE, A.A., 1972: Sources of resistance in wheat to speckled leaf blotch caused by Septoria tritici.
Euphytica, 21, 152-161
0. RUTHMANN, A., 1966: Methoden der Zellforschung.
Franckh'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart.
1. SAARI, E.E. and WILCOXSON, R.D., 1974: Plant disease situation of high-yielding dwarf wheats in Asia and Africa.
Ann.Rev.of Phytopath., 12, 49-68
2. SACKSTON, W.E., 1969: A possible mechanism of dispersal of Septoria spores.
Can.J.Plant Sci., 50, 155-157
3. SAMBORSKI, D.J. and SHAW, M., 1956: The physiology of host-parasit relations. II. The effect of Puccinia graminis tritici Eriks. and Henn. on the respiration of the first leave of resistant and susceptible species of wheat.
Can. J.Bot., 34, 601-619
4. SANDERSON, F.R., 1972: A Mycosphaerella species as the ascogenous state of Septoria tritici Rob. and Desm.
New Zealand J. Botan., 10 (4), 707-709
5. SAUR, R., 1976: Untersuchungen über den Einfluss systemischer Fungizide auf den Befall der Gerste mit Helminthosporium sativum P., K. u. B. unter besonderer Berücksichtigung von Ethirimol.
Diss. Bonn.
6. SCHIEBER, E. and FUMGALLI, A., 1961: Septoria leaf blotch, important disease of wheat in Guatemala.
Plant Dis. Repr., 45, 788

87. SCHLÖSSER, E., 1975: mündliche Mitteilung.
88. SCHLÜTER, K., 1971: Beiträge zur Cytologie von Erysip
graminis f.sp. hordei an Sorten
unterschiedlicher Anfälligkeit
und nach Fungizidanwendung.
Diss. Bonn.
89. SEWELL, W.D. and 1960: Use of benzimidazole and excised
CALDWELL, R.M., wheat seedling leaves in testing
resistance to Septoria tritici.
Phytopathology, 50, 654 (Abstr.)
90. SHANER, G., 1975: Expression and effectiveness of
FINNEY, R.E. and resistance in wheat to Septoria
PATTERSON, F.L. leaf blotch.
Phytopathology, 65, 761-766
91. SHAW, M. and 1961: The physiology of host-parasite re
COLOTELO, N., lations. VII. The effect of stem rust
on nitrogen and amino acids in whe
leaves
Can.J.Bot., 39, 1351-1372
92. SHERWOOD, R.T., 1975: Histochemistry of papillae formed
and VANCE, C.P., reed canarygrass leaves in respons
to noninfecting pathogenic fungi.
Phytopathology, 66, 503-510
93. SHIPTON, W.A., 1968: The effect of Septoria disease on
wheat.
Austr. Jour. Exp. Agric. Anim.
Husb., 8, 89-93
94. SHIPTON, W.A., 1971: The common Septoria diseases of
BOYD, W.R.J., wheat.
ROSIELLE, A.A. and Bot. Rev., 37, 231-262
SHEARER, B.I.,
95. SHISHIYAMA, J., 1965: Some aspects of the metabolic syst
AKAI, S., of Helminthosporium blight fungus
EGAWA, H. and relation to the host-parasite inte
OUCHI, S., action.
Mycopath., mycol.appl., 26, 31-48
96. SPRAGUE, R., 1950: Diseases of cereals and grasses in
North America.
The Ronald Press Company, New York
97. STEINBERG, R.A., 1950: Growth of fung' in synthetic nutri
solutions, I".
Bot.Rev., 26, 208-228

8. STEWART, D.M.,
HAFIZ, A. and
ABDEL-HAK, T., 1972: Disease epiphytic threats to
high-yielding and local wheats
in the Near East.
FAO Plant Prot. Bull., 20 (3),
50-57
9. SWAIN, T. and
HILLIS, W.E., 1959: The phenolic constituents of
Prunus domestica. I. The quantitative
analysis of phenolic constituents
J. Sci. Food Agric., 10, January,
63-68
10. SZÉCSI, A., 1969: Role of cell-wall-degrading enzymes
in Fusarium stalk rot of corn.
I. In vitro study of Fusarium roseum
f. sp. ceralis var. graminearum and
F. moniliforme isolates in liquid
cultures.
Acta Phytopath. Hung. 4, 45-55
11. UMBREIT, W.W.,
BURRIS, R.H.,
STAUFFER, J.F., 1972: Manometric und biochemical
Techniques.
Burgess Publishing Company,
Minneapolis, 5. Edition.
12. WEBER, G., 1922: II. Septoria diseases of wheat.
Phytopathology, 12, 537-585
13. WECHMAR von, B., 1961: The influence of environmental
factors on growth, sporulation and
pathogenicity of Septoria tritici
Desm. and S. nodorum Berk. and the
pathological response of inoculated
wheat varieties.
M. Sc. Thesis, University of Stellen-
bosch.
4. WENHAM, H.T., 1959: Studies on Septoria leaf blotch
disease of wheat (Triticum aesti-
vum L.) caused by Septoria tritici
Desm.
New Zealand Jour. Agric. Res., 2,
208-213
5. WESTE, G., 1970: Extra-cellular enzyme production by
various isolates of Ophiobolus graminis
and O. graminis var. avenae.
Part I: Enzymes produced in culture.
Phytopath. Z., 67 (3), 189-204
6. WHEELER, H., 1975: Plant pathogenesis.
Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-
New York.

107. WILLIAMS, J.R. and JONES, D.G., 1972: Epidemiology of Septoria tritici and S. nodorum. VI. Effect of t of initial infection on disease development and grain yield in spring wheats. Trans.Br.mycol.Soc., 59, (2), 273-283
108. WOOD, R.K.S., 1967: Physiological plant pathology. Blackwell Scientific Publicatio Oxford and Edinburgh.
-
-

A N H A N G

Tab. I:

Anfälligkeitstest gegen Septoria tritici an 6 Winterweizensorten. Bonitur nach Fleckenanzahl und befallener Blattfläche, 15 bzw. 20 Tage nach der Inokulation.

Sorte	Fleckenanzahl je Topf		Blattbefall je Topf in %	
	x	$\bar{x}$	x	$\bar{x}$
Caribo	5,5 6,5 7,6 5,9	6,4	2,4 4,4 5,1 3,8	3,9
Diplomat	15,2 13,7 17,6 16,0	15,7	47,5 43,7 45,6 41,8	44,6
Florian	30,7 38,8 26,7 29,1	31,3	44,4 46,2 41,2 42,7	43,6
Frühgold	18,1 26,0 17,0 21,9	20,7	20,0 22,4 16,9 18,5	19,4
Pantus	4,5 6,6 5,1 6,0	5,5	13,7 12,5 10,6 12,2	12,2
Progress	-	-	69,3 75,6 73,7 71,9	72,4

belle II:

Fälligkeitstest gegen Septoria tritici an 6 Winterweizensorten.
 Kultur nach Pyknidienbildung, 25 Tage nach der Inokulation.

Sorte	Pyknidienanzahl je Blatt										$\bar{x}$
	x										
Libo	77	104	278	184	89	274	213	203	108	170	
Plomat	1702	1599	1698	1111	1267	864	2005	1962	1395	1511	
orian	1579	1811	612	2127	1835	1472	2124	1801	1583	1660	
ihgold	662	1312	1318	1235	855	1114	708	717	1243	1018	
atus	871	999	736	1306	1022	887	1195	675	779	941	
ogress	1187	559	1161	1224	940	1560	577	1181	758	1016	

Tabelle III:

Befallsentwicklung an den Sorten 'Caribo' und 'Florian' nach der Inokulation mit *Septoria tritici* unter dem Einfluß von erhöhter Inokulumdichte und verlängerter Inkubationszeit bei 100%iger Luftfeuchtigkeit.

Inokulumdichte: $1,4 \times 10^5$ Konidien/ml Zeit: 6 Tage

Tage n. Inok.	Blatt Nr.	C A R I B O			F L O R I A N		
		Blattbefall je Topf in %		$\bar{x}$	Blattbefall je Topf in %		$\bar{x}$
		x			x		
15	2	0,7	0,8	0,7	27,1	25,4	27,9
	3	0	0	0	17,1	14,5	14,5
20	2	9,6	8,7	8,2	47,1	51,2	50,4
	3	7,5	5,9	6,7	44,6	43,7	46,2
25	2	35,4	35,0	35,0	87,5	93,3	95,0
	3	21,2	22,9	23,7	75,4	76,2	75,0
30	2	50,8	51,2	49,2	abgestorben		
	3	32,1	35,8	33,7	92,9	94,2	95,4
35	2	63,3	62,5	66,7	abgestorben		
	3	40,4	42,5	43,3	abgestorben		

Sauerstoffverbrauch in $\mu\text{l/g}$ TG inokulierter und nicht inokulierter 'Caribo'-Pflanzen. Bestimmung am 2. Blatt 10, 13 und 18 Tage nach der Inokulation mit S. tritici. (rel.: Sauerstoffverbrauch nicht inokulierter Pflanzen = 100)

Tage nach der Inok.	Atmungs- nach min.	K o n t r o l l e		i n o k u l i e r t			rel. %	GD 5%
		x	$\bar{x}$	abs. x	$\bar{x}$			
10	0	0	0	0	0	0		
	15	611	707	943	986	949	144	
	30	1271	1354	1839	1825	1806	137	
	45	2086	2179	2682	2614	2621	123	334
	60	2746	2829	3479	3404	3397	122	182
13	0	0	0	0	0	0		
	15	786	872	843	885	878	105	
	30	1472	1548	1739	1775	1776	117	
	45	2162	2228	2536	2614	2608	119	304
	60	2800	2859	3329	3393	3387	120	165
18	0	0	0	0	0	0		
	15	577	720	672	793	718	145	
	30	1193	1320	1534	1714	1621	146	
	45	1810	1973	2400	2569	2502	144	564
	60	2333	2490	3165	3283	3210	142	307

Tab. VI: Leitwerte in µS/o, 3 g FG inokulierter und nicht inokulierter 'Caribo'-Pflanzen.
Bestimmung am 2. Blatt 8, 10, 13 und 16 Tage nach der Inokulation mit S. tritici.
(rel.: Leitwerte nicht inokulierter Pflanzen = 100)

Tage nach Inok.	Zeit in min.	K o n t r o l l e				i n o k u l i e r t				rel. 1%	GD 5%				
		x				abs.									
		$\bar{x}$				$\bar{x}$									
8	0	3,3	3,2	3,0	3,1	3,3	3,2	3,4	3,2	3,7	3,3	3,5	3,4	106,2	3,70 2,54
	20	14,2	14,0	13,2	12,8	16,0	14,0	14,3	12,1	13,1	12,5	13,5	13,1	93,6	
	40	16,7	17,5	16,4	16,6	21,1	17,7	18,3	16,4	21,2	16,7	18,7	18,3	103,4	
	60	18,4	19,9	19,0	19,0	21,3	19,9	21,4	19,4	22,8	20,1	22,6	21,2	106,5	
10	0	5,2	4,0	4,2	4,9	4,5	4,6	3,9	4,3	4,2	4,4	4,4	4,2	91,3	3,70 2,54
	20	17,7	16,5	17,7	17,6	16,0	17,1	20,3	21,6	23,0	21,8	23,8	22,1	129,2	
	40	22,9	21,6	22,7	23,9	21,8	22,6	27,3	29,9	30,8	30,1	32,0	30,0	132,7	
	60	27,5	26,5	29,6	29,0	26,9	27,9	30,7	35,3	34,1	34,3	36,1	34,1	122,2	
13	0	3,2	3,0	3,1	3,0	3,5	3,2	3,3	3,3	3,5	3,3	3,5	3,4	106,2	4,70 3,23
	20	13,7	14,8	13,2	13,5	15,3	14,1	22,4	18,4	20,6	19,3	21,3	20,4	144,7	
	40	18,6	20,2	20,1	18,2	21,3	19,7	30,2	25,3	29,0	26,0	28,7	27,8	141,1	
	60	21,3	25,8	23,1	23,3	24,6	23,6	34,9	30,7	36,1	30,1	34,0	33,2	140,7	
16	0	3,0	3,2	3,0	3,0	3,0	3,0	3,2	3,0	3,0	3,8	3,9	3,4	113,3	4,67 3,21
	20	13,5	18,8	13,8	12,5	14,2	14,6	12,7	15,1	14,3	16,0	17,9	15,2	104,1	
	40	18,5	23,2	16,5	17,1	17,1	18,5	19,1	22,0	20,8	21,7	24,2	21,6	116,7	
	60	22,0	26,3	19,0	20,1	20,7	21,6	24,6	26,3	25,7	25,8	28,2	26,1	120,8	

Tab.VIII: Einfluß des Befalls mit Septoria tritici auf den Gehalt an freien Aminosäuren in µg/g TG schwach gedüngter (1,0 g N/10 kg Boden) 'Florian'-Pflanzen. Bestimmung 15 Tage nach der Inokulation in befallenen (7.) und symptomfreien (8.) Blatt. (relativ: AS-Gehalt nicht inokulierter Kontrollpflanzen = 100)

S	Kontr.		inok. abs.		rel.	
	7.Bl.	8.Bl.	7.Bl.	8.Bl.	7.Bl.	8.Bl.
asp	142	340	372	279	262	82
thr	334	574	610	285	183	50
ser	724	1188	546	680	75	57
glu	72	48	287	38	399	79
prol	105	179	113	73	108	41
gly	87	124	124	124	142	100
ala	2206	2172	1697	1680	77	77
val	192	180	379	218	197	121
leu	72	92	241	63	335	68
neu	108	140	308	164	285	117
tyr	87	142	158	150	182	106
phe	122	160	205	182	168	114
lys	151	232	138	164	91	71
his	200	133	102	182	51	137
OH ₃	72	46	41	29	57	63
arg	46	183	165	110	359	60
Gesamt	4720	5933	5486	4421	2971	1343

Tab.IX: Einfluß des Befalls mit Septoria tritici auf den Gehalt an freien Aminosäuren in µg/g TG stark gedüngter (5,0 g N/10 kg Boden) 'Florian'-Pflanzen. Bestimmung 11 Tage nach der Inokulation im befallenen (7.) und symptomfreien (8.) Blatt. (relativ: AS-Gehalt nicht inokulierter Kontrollpflanzen = 100)

AS	Kontr.		inok.			
	7.Bl.	8.Bl.	abs.		rel.	
	7.Bl.	8.Bl.	7.Bl.	8.Bl.	7.Bl.	8.Bl.
Asp	224	210	451	591	201	281
Thr	523	1017	871	842	166	83
Ser	1580	4512	3200	4500	202	100
Glu	215	96	897	239	417	249
ProI	89	81	343	202	385	249
Gly	99	112	112	136	113	121
Ala	3377	3208	1638	2749	48	86
Val	203	257	898	636	442	247
Ileu	142	112	602	379	424	338
Leu	145	112	533	280	368	250
Tyr	150	174	198	459	132	264
Phe	198	160	360	486	182	306
Lys	472	220	346	421	73	191
His	354	186	568	683	160	367
NH ₃	395	108	191	74	48	68
Arg	367	110	374	368	102	334
Gesamt	8533	10675	11582	13045	3463	3534

ab.X: Einfluß des Befalls mit Septoria tritici auf den Gehalt an freien Aminosäuren in $\mu\text{g/g}$ TG stark gedüngter (5,0 g N/10 kg Boden) 'Caribo'-Pflanzen. Bestimmung 15 Tage nach der Inokulation im befallenen (7.) und symptomfreien (8.) Blatt. (relativ: AS-Gehalt nicht inokulierter Kontrollpflanzen = 100).

S	Kontr.		inok.		rel.	
	7.Bl.	8.Bl.	7.Bl.	8.Bl.	7.Bl.	8.Bl.
sp	291	350	338	425	116	121
hr	1278	1104	1394	944	109	85
er	2993	4869	3586	3622	120	74
lu	526	382	234	158	44	41
rol	937	358	558	202	60	56
ly	174	198	248	119	142	60
la	2715	2512	2919	3445	107	137
al	192	372	411	430	214	116
leu	116	125	205	284	177	227
eu	196	206	289	325	147	158
yr	127	500	182	293	143	59
he	228	509	349	304	153	60
ys	164	654	497	440	303	67
is	126	904	541	470	429	52
H ₃	95	139	297	238	313	171
rg	165	642	550	447	333	74
esamt	10323	13824	12598	12176	2910	1558

Tab.XI:

Wirkung systemischer Fungizide unterschiedlicher Konzentrationen in Glucose-Lösung auf die Konidienbildung von S.tritici. Durchschnittliche Anzahl gebildeter Konidien/ml (x 1000) (n = 3)

Fungizide	Konz. (ppm)	$\bar{x}$	Sicherung Duncan- Test ⁺ $\alpha = 1\%$	
Ethirimol:	1	269	548	a
	10	548	348	b
	100	69	269	c
	1000	9	218	d
Triforine:	1	348	198	d
	10	131	198	d
	100	61	131	e
	1000	8	69	f
Tridemorph:	1	198	64	f
	10	64	61	f
	100	0	60	f
	1000	0	39	g
Thiophanat: M	1	198	14	h
	10	60	9	h
	100	0	8	h
	1000	0	0	h
Benomyl:	1	39	0	h
	10	14	0	h
	100	0	0	h
	1000	0	0	h
Kontrolle:		218	0	h

+) Mittelwerte mit gleichen Buchstaben sind voneinander nicht signifikant verschieden.

Tab. XII:

Wirkung systemischer Fungizide unterschiedlicher Konzentrationen in Glucose-Lösung auf die Keimung von S. tritici-Konidien. Durchschnittlicher Anteil Keimschlauch-bildender Konidien in %

Fungizide	Konz. (ppm)	$\bar{x}$	Sicherung Duncan- Test ⁺⁾	$\alpha = 1\%$
Ethirimol:	1	13,2	64,9	a
	10	13,3	52,7	b
	100	11,5	29,7	c
	1000	13,5	23,8	d
Triforine:	1	9,4	15,1	e
	10	3,9	13,5	ef
	100	1,6	13,2	ef
	1000	0	11,5	ef
Tridemorph:	1	23,8	11,5	ef
	10	29,7	9,6	f
	100	2,8	9,4	f
	1000	0	3,9	g
Thiophanat: M	1	52,7	2,8	g
	10	64,9	1,6	gh
	100	11,5	0,9	h
	1000	6,8	0	h
Benomyl:	1	9,6	0	h
	10	0,9	0	h
	100	0	0	h
	1000	0	0	h
Kontrolle:		15,1	0	h

⁺⁾ Mittelwerte mit gleichen Buchstaben sind voneinander nicht signifikant verschieden.

Tab. XIII:

Wirkung systemischer Fungizide unterschiedlicher Konzentrationen in EV-8-Nährlösung auf das Myzelrockengewicht von S. tritici. Durchschnittliches Trockengewicht in mg.

Fungizide	Konz. (ppm)	$\bar{x}$	Sicherung Dunca Test ⁺⁾ $\alpha = 1$
Ethirimol:	1	402	431 a
	10	430	430 a
	100	309	402 b
Triforine:	1	431	346 c
	10	17	322 d
	100	12	309 d
Tridemorph:	1	322	205 e
	10	205	115 f
	100	115	64 g
Thiophanat: M	1	64	20 h
	10	17	17 h
	100	0	17 h
Benomyl:	1	20	12 hi
	10	11	11 hi
	100	0	0 i
Kontrolle:		346	0 i

+) Mittelwerte mit gleichen Buchstaben sind voneinander nicht signifikant verschieden.

Tab. XIV:

Leitwerte in $\mu\text{S}/0,3 \text{ g FG}$ unbehandelter und Tridemorph-behandelter 'Caribo'-Pflanzen 5, 10 und 32 Stunden nach der Applikation.

Stunden nach Applik.	Behandl.	Zeit in min.	Leitwerte in μS						
			x					$\bar{x}$	relativ
5	unbeh.	0	1,6	1,4	1,3	1,7	1,2	1,4	100,0
		20	3,8	3,7	3,5	4,0	3,5	3,7	100,0
		40	4,6	4,4	4,0	4,7	3,9	4,3	100,0
		60	4,9	4,7	4,5	5,2	4,5	4,8	100,0
	Tride- morph	0	1,7	1,5	1,9	1,6	1,5	1,6	114,2
		20	4,3	4,0	4,2	4,2	3,8	4,1	111,0
		40	4,9	4,6	4,7	4,8	4,2	4,6	107,0
		60	5,4	5,3	5,3	5,2	4,8	5,2	108,3
	unbeh.	0							
		20							
		40						-	-
		60							
10	Tride- morph	0	1,8	1,5	1,5	1,6	1,4	1,6	
		20	4,9	3,9	4,0	4,3	3,1	4,0	
		40	5,5	4,6	4,7	4,9	3,7	4,7	-
		60	5,9	5,1	5,4	5,7	4,3	5,3	
	unbeh.	0							
		20							
		40							
		60							
2	unbeh.	0	1,4	1,5	1,4	1,3	1,6	1,4	100,0
		20	3,4	3,5	3,1	3,3	3,7	3,4	100,0
		40	4,1	3,9	3,6	4,0	4,4	4,0	100,0
		60	4,4	4,7	4,6	4,6	4,9	4,6	100,0
	Tride- morph	0	1,9	1,4	1,6	1,5	1,5	1,6	114,3
		20	6,5	4,0	4,6	4,6	5,6	5,1	150,0
		40	7,1	5,2	5,4	5,8	6,7	6,0	150,0
		60	7,5	6,0	6,6	6,5	7,2	6,8	148,0
	unbeh.	0							
		20							
		40							
		60							

D (1%)	Min.	5 St.	32.St.	Min.	5 St.	32 St.
	0	n.s.	n.s.	40	n.s.	1,31
	20	n.s.	1,51	60	n.s.	0,94

n.S. = nicht signifikant

Meinem sehr verehrten Doktorvater, Herrn Professor Dr. F. Schönbeck, danke ich herzlich für die Überlassung des Themas und für die jederzeit gewährte Unterstützung bei der Durchführung der vorliegenden Arbeit.

Für die Übernahme des Korreferates bin ich Herrn Professor Dr. W. Franke zu großem Dank verpflichtet.

Für die Bereitstellung eines Arbeitsplatzes danke ich Herrn Professor Dr. H.C. Weltzien.

Frl. Sustmann und ihren Mitarbeiterinnen danke ich für die Anfertigung der Photographien.

Außerdem möchte ich mich bei allen Angehörigen des Institutes für ihre stete und freundliche Hilfsbereitschaft bedanken.

Lebenslauf

- 7.3.1946 geboren als Sohn des Bankbeamten Hasip Onoğur und seiner Ehefrau Hatice Onoğur, geb. Demirkaya, in Izmir/Türkei
- 1951-1956 Volksschule in Karsiyaka/Izmir
- 1956-1963 Gymnasium in Karsiyaka/Izmir
Abschluß: Abitur
- 1963-1968 Studium an der Landwirtschaftlichen Fakultät der Ege-Universität/Izmir
Abschluß: Diplom-Agraringenieur
- 1968-1970 Militärdienst
- 1971-1973 Wissenschaftlicher Assistent im Institut für Phytopathologie und Landwirtschaftliche Botanik der Landwirtschaftlichen Fakultät der Ege-Universität
- April-August 1973 Deutschkurs an der Justus-Liebig-Universität, Giessen
- August 1973 Beginn der vorliegenden Dissertation am Institut für Pflanzenkrankheiten der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität, Bonn.

