

KULTUR- UND INFEKTIONSVERSUCHE MIT EINIGEN COLLETOTRICHUM-ARTEN¹

Met een samenvatting: Morphologie en biologie van enkele Colletotrichum-soorten

VON

J. A. VON ARX

Aus dem Phytopathologischen Laboratorium „Willie Commelin Scholten“, Baarn

INHALT

A. EINLEITUNG	171
B. KULTURVERSUCHE	173
1. Methodisches	173
2. Ergebnisse der Kulturversuche	173
3. Besprechung der Kulturversuche	175
C. INFEKTIONSVERSUCHE	178
1. Ausführung auf jungen Pflanzen	178
2. Ergebnisse auf <i>Phaseolus vulgaris</i>	178
3. Ergebnisse auf Früchten	183
4. Besprechung der Infektionsversuche	185
D. SAMENVATTING	186
E. ZITIERTЕ LITERATUР	189

A. EINLEITUNG

Für die auf höheren Pflanzen lebenden Micromyceten wurde bis in die neuere Zeit hinein eine mehr oder weniger scharfe Spezialisierung angenommen. Jeder auf einer bestimmten Nährpflanze gefundene Pilz wurde daher als eigene Art betrachtet und als solche meist nach der Nährpflanze benannt. Feldbeobachtungen, genaue Vergleiche und kreuzweise Infektionsversuche brachten aber für viele Pilze eine Polyphagie an das Licht. Als Beispiel sei hier *Erysiphe polyphaga* HAMMARL. genannt, die nach den Untersuchungen von HAMMARLUND (1945) und von BLUMER (1952) auf zu zahlreichen Gattungen und Familien der Phanerogamen gehörenden Wirtspflanzen als biotropher Parasit leben kann.

Necrotrophe Pilze werden heute nicht mehr nach ihren oft substratbedingten Merkmalen auf der Wirtspflanze, sondern nach ihren morphologischen Eigenschaften in Reinkulturen auf bestimmten und für alle Substratformen gleichen Nährböden beurteilt. Bahnbrechend waren hier die Untersuchungen von WOLLENWEBER, der die zur Gattung *Fusarium* gehörenden Arten nach Merkmalen der Reinkulturen neu einteilte (WOLLENWEBER & REINKING, 1935). Auf diese Weise konnten die 550 in der Literatur beschriebenen Arten auf 65 zurückgebracht werden.

Sehr veränderliche und heterogene Pilze sind die Vertreter der Imperfecten-

¹) Aangenomen voor publikatie 1-5-1957.

Gattungen *Colletotrichum* CDA. und *Gloeosporium* SACC. (non DESM. & MONT., vgl. VON ARX, 1957b). Die zahlreich zu diesen Gattungen gestellten Arten sind Saprophyten oder Parasiten und verursachen als solche auf zahlreichen Pflanzen Blattflecken, Anthracnosen, Fruchtfäulen, Gefässkrankheiten oder Zweigdürren. Öfters sind auf ein und derselben Nährpflanze mehrere Arten bekannt geworden, die sich nach ihrer Beschreibung kaum unterscheiden lassen. Die eine Art soll der Erreger einer Fruchtfäule sein, die andere soll Blattflecken oder eine Anthracnose verursachen. Oft ist auf ein und derselben Nährpflanze eine *Colletotrichum*- und eine *Gloeosporium*-Art bekannt geworden. Der einzige Unterschied zwischen diesen Gattungen besteht in der Anwesenheit von Setae (Borsten) bei *Colletotrichum*, während die sonst gleich gebauten Acervuli bei *Gloeosporium* kahl sind. Von mehreren Arten wurde die Ascusform gefunden und gewöhnlich zur Gattung *Glomerella* Spauld. et v. Schr. gestellt. Häufig wurde sie mit *Glomerella cingulata* (STONEM.) SPAULD. & v. SCHR. identifiziert.

Durch vergleichende Untersuchungen vor allem mit Hilfe von Reinkulturen war nach Kriterien zu suchen, durch die sich die einzelnen Arten unterscheiden liessen. Diese sollten in brauchbarer Form nach ihren morphologischen Merkmalen eingeteilt werden. Hierbei zeigte sich, dass sich die Gattungen *Colletotrichum* und *Gloeosporium* nach den oben genannten Merkmalen nicht trennen liessen. Die hier zur Diskussion stehenden Pilze müssen vielmehr in ein und dieselbe Gattung gestellt werden, nämlich zu *Colletotrichum* und die meisten der zahlreich beschriebenen Arten lassen sich, nach Kulturmerkmalen beurteilt nicht unterscheiden und müssen vereinigt werden. Die Gattung *Gloeosporium* ist heterogen, sie umfasst verschiedenartiges und die zu ihr gestellten Arten verteilen sich auf zahlreiche Gattungen (VON ARX, 1957b).

Eine weitere Frage stellt das biologische Verhalten der nach morphologischen Merkmalen unterschiedenen *Colletotrichum*-Arten. Eine bestimmte Art kann nach Reinkulturen von Stämmen umschrieben sein, die von den verschiedensten Wirtspflanzen isoliert sein können. Wie verhält sich nun eine derartige Art gegenüber ihrer Wirtspflanzen. Ist sie polyphag und gehen die einzelnen Stämme von einer bestimmten Nährpflanzen-Art auf eine andere über. Oder zerfällt sie in mehrere an bestimmte Nährpflanzen gebundene Formen, sogenannte „forma specialis“. Zur Beantwortung dieser Fragen sind Infektionsversuche nötig.

Bei der Gattung *Colletotrichum* lassen sich Arten mit oblongen, zylindrischen, beidends abgerundeten Konidien und solche mit spindelförmigen, meist gekrümmten, beidends spitzlichen Konidien unterscheiden. In dieser Arbeit sollen Kultur- und Infektionsversuche besprochen werden, die mit einigen Arten mit beidends abgerundeten Konidien ausgeführt wurden. Hierbei wurde vor allem viel Gewicht gelegt auf das Verhältnis von *C. lindemuthianum* (SACC. & MAGN.) BRI. & CAV., des *Colletotrichum*'s der Gartenbohne zu *Glomerella cingulata*, einer polyphagen Art. Eine teilweise auf diesen Untersuchungen basierte Neueinteilung aller *Colletotrichum*-Arten soll in einer anderen Arbeit (VON ARX, 1957a) besprochen werden.

B. KULTURVERSUCHE

1. Methodisches

Die untersuchten Stämme wurden grösstenteils durch Isolierung aus befallenen Saatgut, aus Blattflecken, Anthracnosen, faulenden Früchten oder absterbenden Pflanzenteilen erhalten. Auf Saat zum Beispiel von Bohnen, Lupinen, Klee, Serradella oder Flachs waren die befallenen Teile oft schon äusserlich als Verfärbungen kenntlich. Bei der Samenkeimung gingen aus diesen Flecken sich ausbreitende Anthracnosen hervor. In diesen bildeten sich bei höherer Feuchtigkeit (z. B. auf nassem Filtrierpapier in Petrischalen) Acervuli mit den charakteristischen Konidientröpfchen. Auch in Blattflecken, Anthracnosen oder auf faulenden Früchten sporulierten die betreffenden Pilze meist gut, wenn das Material einige Tage feucht bei 25°C. gehalten wurde. Die Konidien wurden dann mit Hilfe einer Nadel in sterilem Wasser suspensiert und zum Herstellen von Monospor-Kulturen verwendet. Dazu wurde die Suspension soweit verdünnt, bis ein ihr mit einer Oese entnommenes Tröpfchen (von ca. 0,005 cm³) im Mittel nur noch eine Konidie enthielt. Derartige Tröpfchen wurden auf Agar-Böden in Petrischalen ausgestrichen. Gewöhnlich wurde hierzu Kirschenagar verwendet.

2. Ergebnisse der Kulturversuche

In Kultur wichen die einzelnen Isolierungen (Herkünfte) in ihrer mit Hilfe des täglichen Zuwachses bestimmten Ausbreitungs-Geschwindigkeit stark voneinander ab. Die Farbe der Kulturen wechselte von hell, fast weiss über verschiedene, graue, braune oder grünliche Tönungen bis zu tiefschwarz. Auch in der Ausbildung von Luftmycel waren die beobachteten Stämme sehr verschieden und in der Konidiengrösse und Form liessen sich verschiedene Typen unterscheiden. Einige Stämme sporulierten in Kultur schlecht; für diese erwiesen sich stärkehaltige Nährböden wie Bohnen- oder Haferflocken-Agar noch am geeignetsten.

Die einzelnen Herkünfte lieferten in den weitaus meisten Fällen ein ziemlich einheitliches Material. Die bei den einzelnen Isolierungen meist zahlreich hergestellten Einspor-Kulturen wichen in ihren morphologischen Merkmalen gewöhnlich untereinander nicht oder nur wenig ab.

Bestimmte, leicht feststellbare Merkmale von mehreren (aber bei weitem nicht von allen) untersuchten Stämmen (Herkünften) sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Dabei sind die einzelnen Stämme, um die Übersicht zu erleichtern, bereits nach der auf morphologischen Merkmalen, vor allem auf der Grösse und Form der Acervuli, Konidien und Appressorien basierten Arteinteilung geordnet.

Die Wachstumsschnellheit wurde in Petrischalen auf Kirschenagar bei 24°C gemessen. In handelsübliche Schalen wurden 20 cm³ Agar gegossen. Von jedem Stamm wurde ein Tropfen einer Sporensuspension auf je vier Schalen in die Mitte geimpft. Nachdem sich nach einigen Tagen ein Mycelrasen entwickelt hatte, wurde von diesem der weitere tägliche Zuwachs bestimmt. Der in Tab. 1 angegebene Wert ist das abgerundete Mittel von 16 Messungen.

Die Farbe der Mycelrasen wurde bei 10 Tage alten Kulturen in Petrischalen auf Kirschenagar im auffallenden Tageslicht bestimmt.

TABELLE 1. Die Kulturmerkmale verschiedener *Colletotrichum*-Stämme.Kenmerken in reïncultuur van verschillende *Colletotrichum*-stammen.

No	isoliert von	Zu- wachs in mm 24h24o	Farbe der Mycelrasen	Grösse der Konidien	Farbe der Konidien- massen	bestimmt als
1.	<i>Oncidium excavatum</i> , Blatt	8,2	grünl.-schwarz	26,2 × 7,2	weisslich	<i>C. crassipes</i>
2.	<i>Agave</i> spec., Blattfleck	8,8	grauschwarz	24,6 × 6,5	"	"
3.	<i>Solanum lycopersicum</i> , Frucht	6,8	fast schwarz	24,0 × 5,8	"	"
4.	<i>Sansevieria zeylanica</i>	5,7	graubraun	28,5 × 6,6	"	"
5.	<i>Linum usitatissimum</i> , Saat	4,6	graubraun	16,1 × 4,0	rotbraun	<i>C. lini</i>
6.	" " "	4,5	grauschwarz	16,3 × 3,8	rotbraun	"
6.	" " "	4,5	grauschwarz	16,3 × 4,0	rötlich	"
7.	" " "	4,8	hellbraun	15,5 × 4,0	rötlich	"
8.	<i>Oncidium phalaenopsis</i> , Blatt	7,0	hellgrau	14,6 × 3,2	isabellin	?
9.	<i>Ligustrum vulgare</i> , Zweig	5,4	hellgrau	14,8 × 4,8	ziegelrot	<i>Glomerella cingulata</i> (<i>C. gloeosporioides</i>)
10.	<i>Ficus australis</i> , Blattfleck	5,7	grau	18,4 × 5,0	"	"
11.	<i>Sansevieria</i> spec.	6,2	hellgrau	16,4 × 5,2	"	"
12.	<i>Sansevieria zeylanica</i>	5,2	"	14,6 × 5,0	"	"
13.	<i>Peperomia magnolifolia</i>	6,4	hell, weissl.	16,8 × 5,2	"	"
14.	<i>Erica</i> spec.	4,2	hellgrau	19,0 × 5,7	"	"
15.	<i>Rhododendron ponticum</i>	4,9	weisslich	19,4 × 4,8	"	"
16.	<i>Coelogyne dayana</i>	5,8	"	14,5 × 4,4	"	"
17.	<i>Vanilla odorata</i> , Frucht	5,1	hellgrau	15,6 × 5,4	"	"
18.	<i>Vanilla odorata</i> , Blattfleck	5,4	"	13,7 × 4,5	"	"
19.	<i>Cissus</i> spec., Blattfleck	7,3	"	18,4 × 5,2	"	"
20.	<i>Coelogyne</i> spec.	6,8	grau	13,5 × 4,5	"	"
21.	<i>Laelia</i> spec., Blattfleck	5,0	"	15,4 × 5,2	"	"
22.	<i>Citrus sinensis</i> , Frucht	6,0	grünl.-grau	16,2 × 5,4	"	"
23.	" " "	7,4	grau	12,6 × 4,7	"	"
24.	" " "	9,4	weisslich	17,3 × 5,0	"	"
25.	" " "	5,9	hellgrau	13,8 × 5,0	"	"
26.	<i>Cucumis melo</i> , Fruchtschale	4,7	"	15,2 × 4,8	"	"
27.	<i>Solanum lycopersicum</i> , Frucht	5,2	grau	17,0 × 5,0	"	"
28.	" " "	6,8	dunkelgrau	11,0 × 4,6	hell rötl.	"
29.	<i>Juglans regia</i> , Frucht	2,6	fast schwarz	14,0 × 4,6	ziegelrot	"
30.	" " "	4,8	dunkelgrau	14,8 × 5,2	"	"
31.	<i>Pirus communis</i> , Frucht	5,1	hellgrau	15,8 × 4,9	"	"
32.	" <i>malus</i> "	7,2	weisslich	17,6 × 5,0	"	"
33.	" " "	4,8	grau	16,2 × 4,5	"	"
34.	" " "	2,5	grauschwarz	14,4 × 5,5	"	"
35.	<i>Cucumis sativus</i> , Blatt	4,8	dunkelgrau	16,6 × 5,2	"	<i>C. orbiculare</i>
36.	" " Frucht	3,0	schwarz	13,2 × 4,8	"	"
37.	" " "	3,4	fast schwarz	11,6 × 5,6	"	"
38.	<i>Serradella</i> spec., Saat	3,1	grünl.-schwarz	13,5 × 4,5	"	<i>C. trifolii</i> (?)
39.	" " "	3,6	" "	14,2 × 4,6	"	"
	<i>Phaseolus vulgaris</i> :					
40.	"Vroege Juni"	2,5	" "	13,8 × 4,6	"	<i>C. lindemuthianum</i>
41.	"Kieviet"	2,2	schwarz	12,5 × 4,9	"	"
42.	"vroege Wagenaar"	2,0	"	12,2 × 5,1	"	"
43.	"Conserva zonder draden"	2,5	"	14,4 × 4,6	"	"
44.	"Conserva zonder draden"	2,4	"	13,5 × 5,0	"	"
45.	"vroege Wagenaar"	3,6	graubraun	15,4 × 4,5	"	"
46.	<i>Musa</i> spec., Fruchtschale	8,4	weisslich	14,8 × 4,8	"	<i>C. musae</i>
47.	" " "	10,2	"	13,5 × 5,6	"	"
48.	" " "	9,0	hellgrau	16,2 × 6,3	"	"
49.	" " "	8,5	"	12,8 × 6,0	"	"
50.	" " "	5,5	"	15,0 × 5,2	"	<i>C. gloeosporioides</i>

Die Konidiengrösse ist das abgerundete Mittel von 100 gemessenen Konidien in wässriger Suspension. Die Bestimmungen erfolgten mit Hilfe der Oelimmersion.

Die Farbe der schleimigen, sich über den Acervuli bildenden Konidientröpfchen wurde je nach der Zeit ihres Auftretens in 10–30 Tage alten Kulturen bestimmt.

3. Besprechung der Kulturversuche

Vergleicht man die in Tabelle 1 zusammengestellten Merkmale der untersuchten Reinkulturen, so sieht man, dass praktisch keine zwei vollkommen miteinander übereinstimmen. Doch lassen sich innerhalb der Stämme bestimmte Gruppen unterscheiden, die sich durch gewisse Merkmale nahestehen und sich durch diese von anderen Gruppen unterscheiden lassen.

So zeichnen sich die von *Oncidium excavatum*, *Sansevieria zeylanica*, *Agave spec.* und *Solanum lycopersicum* isolierten Stämme (No. 1–4) verglichen mit allen übrigen durch auffallend grössere Konidien aus, die sich, auch im Gegensatz zu allen anderen Stämmen, über den Acervuli nicht in rötlichen, sondern in weisslichen Schleimtröpfchen sammeln. Ferner sind bei diesen vier Stämmen die bei der Konidienkeimung entstehenden Appressorien nicht rundlich, sondern unregelmässig gelappt. Ausser in diesen Merkmalen stimmen die vier Stämme auch in ihren Kulturmerkmalen ziemlich gut miteinander überein. Sie können daher als Formen ein und derselben Art betrachtet werden. Diese wurde durch den Vergleich von Herbarmaterial als *Colletotrichum crassipes* (SPEG.) v. ARX bestimmt (VON ARX, 1957b).

Alle anderen isolierten Stämme bildeten in Reinkultur kleinere Konidien und diese formten in Massen rötliche (orangen- oder ziegelrote) Schleimtröpfchen. In der Form und Grösse der Konidien wichen innerhalb dieser Gruppe vier Stämme durch schmalere, zylinderrörmige, beidends oft etwas verzüngte und gekrümmte Konidien ab. Drei davon (No. 5, 6 und 7) waren von *Linum usitatissimum* isoliert, stimmten auch in ihren Kulturmerkmalen gut überein und konnten mit *Colletotrichum lini* (WESTERDIJK) TOCHINAI identifiziert werden. Der vierte, aus Blattflecken auf *Oncidium phalenopsis* isolierte Stamm (No. 8) liess sich in keiner bekannten Art unterbringen.

Der Rest der Stämme (No. 9–50) stimmte in Form und Grösse der Konidien weitgehend überein und auch im Baue der Acervuli liessen sich innerhalb dieser Formen keine bestimmbareren Unterscheidungsmerkmale finden. Diese Formen konnten, nach dem Bau und der Grösse der Acervuli und der Konidien beurteilt, mit *Colletotrichum gloeosporioides* PENZ. identifiziert werden. Mit diesem Namen wird hier die Konidienform von *Glomerella cingulata* (STONEM.) SPAULD. & v. SCHR. angedeutet. Innerhalb dieser Gruppe liessen sich dagegen bestimmte Substratformen unterscheiden durch eine von anderen abweichende Mycelfarbe und durch eine andere Ausbreitungs-Schnellheit in Reinkultur.

Glomerella cingulata wurde ursprünglich von STONEMAN (1898) als *Gnomoniopsis cingulata* für einen auf *Ligustrum vulgare* eine Anthracnose verursachenden Pilz beschrieben (vgl. auch MIX, 1925). Diese Ligusterkrankheit wurde auch hier beobachtet; in den auf jungen Zweigen auftretenden Anthracnosens wurden Perithezien und Acervuli gefunden. Die in Reinkultur erhaltenen Stämme (z. B. No. 9) stimmten mit von anderen Pflanzen isolierten Formen (z. B. No. 10, 11, 12 etc.) weitgehend überein.

Für *Glomerella cingulata* wird heute nicht mehr eine Spezialisierung auf Liguster angenommen. Besonders seit den Untersuchungen von TAUBENHAUS (1911, 1912) und von SHEAR und WOOD (1913) wurde sie vielmehr als polyphage, auf zahlreichen Wirtspflanzen vorkommende Art erkannt. In diesem Sinne müssen auch die von verschiedenen Wirtssubstraten isolierten Stämme No. 10–34 als typische Formen von *Glomerella cingulata* angesehen werden.

Einige Substratformen wichen dagegen durch bestimmte Kulturmerkmale von *Glomerella cingulata* ab. Die aus Anthracnosen auf Leguminosen und Cucurbitaceen isolierten Formen unterschieden sich durch ein verhältnismässig langsames Wachstum und durch eine dunklere Farbe der Mycelrasen.

Den gerinsten täglichen Zuwachs hatten die von Gartenbohnen isolierten, mit *Colletotrichum lindemuthianum* (SACC. & MAGN.) BRI. & CAV. zu identifizierenden Stämme (No. 40–45). Nur ein Stamm zeigte ein schnelleres Wachstum (No. 45) und hier hatte der Mycelrasen keine schwarze, sondern eine grau-braune Farbe. Aber auch zwei von faulenden Früchten isolierte Stämme (29 und 34) breiteten sich in Reinkultur sehr langsam aus und kamen auch in der Farbe der Kultur mit den von Bohnen isolierten Stämmen überein. Langsam wuchsen ferner die von *Serradella* isolierten Stämme (38, 39). Auch in der Farbe der Rasen stimmten sie weitgehend mit *C. lindemuthianum* überein. Nach den Angaben von WOLLENWEBER & HOCHAPFEL (1949) können sie aber besser mit *Colletotrichum trifolii* BAIN & ESS. identifiziert werden (vgl. auch TIFFANY & GILMAN, 1954).



ABB. 1. Konidienformen von verschiedenen *Colletotrichum*-Arten; 1–3 *C. gloeosporioides*, 1 isoliert von Liguster, 2 von Walnuss, 3 von Apfel; 4 *C. lindemuthianum* von Gartenbohne; 5 *C. orbiculare* von Gurke; 6 *C. musae* von Banane; 7, 8 *C. crassipes*, 7 von *Oncidium excavatum*, 8 von *Sansevieria zeylanica*; 9 *C. lini* von Flachs.

Conidiën van verschillende *Colletotrichum*-soorten; 1–3 *C. gloeosporioides*, 1 geïsoleerd van liguster, 2 van walnoot, 3 van appel; 4 *C. lindemuthianum* van boon; 5 *C. orbiculare* van komkommer; 6 *C. musae* van banaan; 7, 8 *C. crassipes*, 7 van *Oncidium excavatum*, 8 van *Sansevieria zeylanica*; 9 *C. lini* van lijnzaad.

Die von Cucurbitaceen isolierten Stämme (No. 35, 36, 37) zeichneten sich ebenfalls durch dunkle Mycelrasen aus, die in ihrem täglichen Zuwachs im Mittel gegenüber dem einer typischen *Glomerella cingulata* zurückblieben.

Ferner bildeten diese Stämme auf stärkehaltigen Nährböden ein nur spärliches Luftmycel. Sie können zu *Colletotrichum orbiculare* (BERK. & MONT.) v. ARX (Synonym: *C. lagenarium* (PASS.) SACC. & ROUM., vgl. VON ARX, 1957b) gestellt werden. Dagegen war der ebenfalls von einer Cucurbitaceae isolierte Stamm No. 26 eine typische Form von *Glomerella cingulata*.

Eine gewisse Sonderstellung nahmen auch die von Bananen isolierten Stämme No. 46–49 ein. Sie zeichneten sich durch ihr im Verhältnis zu den typischen Formen von *Glomerella cingulata* schnelleres Wachstum in Reinkultur, durch ein helles und lockeres Luftmycel und durch verhältnismässig etwas kürzere und breitere Konidien aus. Neben dieser Form, die trotz der fehlenden Setae als *Colletotrichum musae* (BERK. & CURT.) v. ARX (Synonym: *Gloeosporium musarum* CKE. & MASS.) bezeichnet werden muss, konnte von einer Banane auch eine typische Form von *Glomerella cingulata* (No. 50) isoliert werden.

Die einzelnen, aus einer einzigen Konidie gewonnenen Kulturen zeigten im Laufe der Zeit selbst eine gewisse Variabilität. Bei einigen bildeten sich Sektoren, die in Farbe, Myceldichtheit, Sporenbildungsvermögen und oft auch in der Wachstums-Schnellheit stark von der ursprünglichen Kulturform abwichen.

Bemerkenswerte Veränderungen traten durch Sektorbildung vor allem in dem von *Oncidium* isolierten, mit *C. crassipes* identifizierten Stamm (No. 1) auf. Dieser zeichnete sich durch im Mittel $26.2 (\pm 2,3) \times 7,2 (\pm 0,7) \mu$ grosse, in weisslichen Schleimtröpfchen vereinigte Konidien aus. Zu Beginn trat in einer Einspor-Kultur ein Sektor auf, der durch eine hellere Farbe des Mycels auffiel. In diesem Sektor waren die Konidien kleiner, nur $15,2 \pm 1,8 \mu$ lang, $4,5 \pm 0,6 \mu$ breit und bildeten in Massen rötliche Schleimtröpfchen. Hier war demnach in einem Sektor ein völlig neuer Typ entstanden, der sich im Laufe der weiteren Kultur während mehr denn drei Jahren nicht mehr veränderte. Morphologisch stimmte er gut mit Formen überein, wie sie als charakteristisch für *Glomerella cingulata* gelten. Ähnliche Resultate wurden mit dem von *Oncidium* isolierten Stamm auch bei den Infektionsversuchen auf Bohnen erhalten. Im Laufe der weiteren Kultur des Stammes traten später keine Sektoren mehr auf.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die in Tabelle 1 angeführten Stämme sich nach der Form und Grösse der Konidien auf drei *Colletotrichum*-Arten verteilen lassen, nämlich auf *C. crassipes*, *C. lini* und *C. gloeosporioides*. Innerhalb der letztgenannten Art lassen sich einige Substratformen bis zu einem gewissen Grade auch nach Wachstumseigenschaften in Reinkultur unterscheiden, nämlich *C. lindemuthianum*, auf *Phaseolus vulgaris* parasitierend, *C. trifolii* auf anderen Leguminosen, *C. orbiculare* auf Cucurbitaceen und *C. musae* auf Bananen-Früchten.

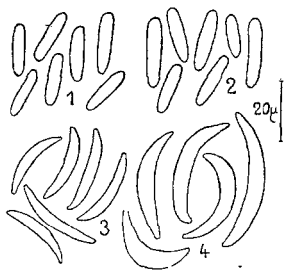


ABB. 2.

Konidienformen von *Colletotrichum*-Arten, die in dieser Arbeit nicht näher besprochen werden; 1 *C. fuscum* von *Digitalis lanata*; 2 *C. atramentarium* von Kartoffel; 3. *C. dematium* von *Lilium spec.*; 4 *C. graminicola* von Mais.

Conidiën van *Colletotrichum*-soorten, die bij het onderzoek niet betrokken werden; 1 *C. fuscum* van *Digitalis lanata*; 2 *C. atramentarium* van aardappel; 3 *C. dematium* van *Lilium spec.*; 4 *C. graminicola* van mais.

Weitere hier beobachtete, aber in Tabelle 1 nicht erwähnte *Colletotrichum*-Arten mit beidends abgerundeten Konidien sind *C. atramentarium* (BERK. & BR.) TAUBENH. und *C. fuscum* LAUB. Diese Art verursacht Blattnecrosen auf *Digitalis*-Arten und zeichnet sich in Reinkultur durch die Bildung von zahlreichen Chlamydosporen, durch das Fehlen eines Luftmycel und durch ein unregelmässiges Wachstum aus. *C. atramentarium*, ein Saprophyt und Parasit vor allem auf *Solanum tuberosum* und *S. lycopersicum* bildet auf der Wirtspflanze und in Reinkultur schwarze Sklerotien und kann ferner durch die verhältnismässig langen und schmalen, meist zylinderförmigen Konidien leicht erkannt werden.

Als Arten mit gebogenen, beidends spitzlich verjüngten Konidien sind *C. graminicola* (CES.) WILS. (auf Gramineen, bei uns vor allem auf Mais) und *C. dematium* (PERS. ex FR.) GROVE, ein weit verbreiteter Saprophyt zu erwähnen. Alle *Colletotrichum*-Arten sind als solche leicht zu erkennen durch die charakteristischen, sich braun färbenden Appressorien, die vor allem bei der Keimung der Konidien gebildet werden.

C. INFEKTIONSVERSUCHE

1. Ausführung auf jungen Pflanzen (Methode)

Hier sollen einige Infektionsversuche besprochen werden, die auf jungen, aus Saat gezogenen Pflanzen und auf reifen Früchten ausgeführt wurden. Die zu infizierenden Pflanzen wurden in Kulturgläsern von 20 cm Länge und 3 cm Durchmesser aus Saat herangezogen, die je nach Grösse während 2–5 Minuten äusserlich mit 1/10 % Sublimat in 50 % Alkohol desinfiziert worden war. Die Saaten wurden einzeln in die vorher sterilisierten Gläser auf eine in Nährlösung (Knop + Hoagland'sche Spurenelemente nach FREY-WYSSLING, 1945) tauchende Filtrierpapier-Unterlage gelegt. So konnten Verunreinigungen und sekundäre Infektionen weitgehend ausgeschlossen werden.

Nachdem die Pflänzchen auf diese Art unter sterilen Bedingungen herangewachsen waren und eine bestimmte Länge (3–7 cm) erreicht hatten, wurden sie auf ihren Gesundheitszustand geprüft. Zur Infektion wurde eine Konidien-Suspension mit einem kleinen, langen, vorher sterilisierten Pinsel über die Blätter und Stengel verteilt. Die mit Watte abgeschlossenen Gläser wurden in einem hellen Raum mit einer Tages-Temperatur von 18–23°C bewahrt. Diese Methode ist vor allem geschickt für Pflanzen mit grösseren, schnell und leicht keimenden Saaten. Gute Resultate wurden zum Beispiel bei verschiedenen Leguminosen und Gramineen erzielt.

Wenn der Pilz auf den infizierten und erkrankten Pflanzen sporulierte, wurde er mit Hilfe seiner Konidien herisoliert. Diese wurden in Suspension genommen und auf Agar-Schalen ausgestrichen. Trat auf dem erkrankten Substrat keine Sporulation auf, dann wurde dieses ausgeschnitten, äusserlich desinfiziert und in kleinen Stücken auf Agar-Platten ausgelegt.

2. Ergebnisse auf *Phaseolus vulgaris*

Die Infektionsversuche mit den einzelnen Pilzstämmen wurden meist mehrmals wiederholt. Für die Versuche wurden vor allem die (in Holland) als für *C. lindemuthianum* anfällig bekannten Bahnenrassen „Conserva zonder draden“, „Wachs Mont'or“ und „Vroege Juni“ verwendet. Die mit den verschiedenen *Colletotrichum*-Arten und -Stämmen erzielten Resultate sollen einzeln besprochen werden.

a. *Colletotrichum crassipes*

Bei den durch Frl. G. M. T. CRAMER aus absterbenden Blättern von *Oncidium*

excavatum isolierten Pilz wichen verschiedene Einspor-Kulturen zum Teil morphologisch stark voneinander ab. Der für Infektionsversuche verwendete Stamm (Tabelle 1, No. 1) zeichnete sich durch ein schnell wachsendes und sich dunkel färbendes Mycel, sowie durch grosse, in Massen weissliche Schleimtröpfchen bildende Konidien aus. In ihm trat die oben (S. 177) beschriebene Sektorbildung auf.

Anfangs waren die Infektionsversuche auf Bohnen erfolglos. Bei einem im Februar 1953 ausgeführten Versuch verursachte der Pilz auf den Rasse „Conserva zonder draden“ einige typische Stengel-Anthrancen. Diese traten auf drei von acht infizierten Pflanzen auf. Herisolierungen des Pilzes stimmten morphologisch vollkommen mit der Ausgangskultur überein.

Infektionsversuche mit einer Herisolierung gelangen auf den drei verwendeten, oben genannten Bohnenrassen. Die Pflanzen erkrankten stark und waren innert 8 Tagen grösstenteils schwarz verfärbt und oben verlappt. Sie zeigten ungefähr denselben Befall wie Kontrollpflanzen die mit *C. lindemuthianum* (Stamm 43, Tab. 1) infiziert worden waren. Herisolierungen von Stamm 1 gelangen nur wenige; diese stimmten aber mit dem Ausgangsmaterial wieder völlig überein.

Auf der Bohnenrasse „Conserva zonder draden“ wurden mit Stamm 1 insgesamt fünf Passagen durchgeführt, deren Ergebnis in Tabelle 2 zusammengestellt ist. Auf den infizierten Pflanzen entstanden oft zahlreiche Anthracnosen, oft trat eine allgemeine Infektion auf, die ein Absterben der jungen Pflanzen zur Folge hatte. In den Anthracnosen entstanden typische Acervuli, über denen sich die Konidien in hellen, oft etwas isabellin-rötlichen Tröpfchen sammelten. Die Konidien wurden zur Herisolierung des Pilzes verwendet.

Nach den ersten zwei Passagen zeichneten sich alle Herisolierungen durch grosse Konidien in weissen Massen aus. Nach der dritten Passage waren aber die Konidien in einem Teil der durch Herisolierung erhaltenen Kulturen kleiner und die Schleimtröpfchen hatten gleichzeitig eine rötliche Farbe. Nach der vierten und fünften Passage traten sie wiederum auf. Diese neuen Formen stimmten weitgehend mit Formen überein, wie sie bei den Kulturversuchen in Sektoren desselben Stammes auftraten (vgl. S. 177). Sie können also nach der Farbe und Form der Mycelrasen, nach Konidiengrösse und Farbe der Konidientröpfchen mit Formen verglichen werden, wie sie als typisch für die Konidienform von *Glomerella cingulata* gelten (2.B. No. 9–19 in Tabelle 1).

Einige dieser neuen, bei der Herisolierung nach der dritten Passage erhaltenen Formen wurden für weitere Infektionsversuche auf Bohnen verwendet. Auf den Pflanzen entstanden wiederum Anthracnosen. Die Herisolierungen stimmten vollkommen mit dem Ausgangsmaterial überein. In den neuen Formen traten also nach Infektionsversuchen keine weiteren Veränderungen mehr auf. Auch die Reinkulturen sind nach zahlreichem Überimpfen während der letzten drei Jahre konstant geblieben (vgl. Tab. 2 und Abb. 3).

Nach der fünften Passage traten unter den Herisolierungen auch Formen auf, die sich durch langsam wachsende und dunkel färbende Mycelrasen auszeichneten. Diese liessen sich kaum mehr von Kulturen von *C. lindemuthianum* unterscheiden.

Mit einer auch nach der fünften Passage durch die Bohnenrasse „Conserva zonder draden“ noch grosssporigen und auch sonst morphologisch mit der Ausgangskultur übereinstimmenden Herisolierung von Stamm 1 wurde ein

Infektionsversuch auf jungen Pflanzen der Bohnenrasse „Kieviet Bulten“ ausgeführt. Diese Rasse hatte sich in Feldversuchen und bei Infektionsversuchen in Glastuben als resistent für sechs verschiedene Stämme von *C. lindemuthianum* erwiesen. Mit der Herisolierung von *C. crassipes* dagegen gelang eine Infektion auf Pflanzen (Tab. 2), die sowohl in Glastuben unter sterilen Bedingungen wie in Blumentöpfen herangewachsen waren. Auf Stengeln und Blattstielen entstanden einige Anthracnosen, in denen sich Acervuli mit meist ziegelroten Konidienmassen bildeten. Von einigen wurden die Konidien gemessen. Sie waren $12-18 \times 4-6 \mu$ (im Mittel $14,7 \times 4,8 \mu$) gross, also bedeutend kleiner als in der Ausgangskultur.

Von 30 untersuchten Monospor-Herisolierungen stimmten noch drei mit dem Ausgangsmaterial überein. Die andern stellten neue Typen dar, die sich, verglichen mit dem Ausgangsmaterial, durch ein langsames Mycelwachstum und durch kleinere Konidien auszeichneten, untereinander sonst aber teilweise grosse Abweichungen zeigten. Mehrere der Herisolierungen stimmten besonders in der Farbe und im Ausbreitungsvermögen der Mycelrasen gut mit typischen Formen von *C. lindemuthianum* überein. Andere Kulturen nahmen, was das Ausbreitungsvermögen betrifft, eine intermediäre Stellung zwischen dem Ausgangsmaterial und den sich wie *C. lindemuthianum* verhaltenden Herisolierungen ein. In mehreren dieser Kulturen trat keine Konidienbildung mehr auf. In einer anderen Kultur waren die Konidien verhältnismässig klein und nur $6,5-8,8 \times 2,5-3,0 \mu$ (im Mittel $7,4 \times 2,8 \mu$) gross. Sie bildeten bei der Keimung die für *Colletotrichum* typischen Appressorien.

Diese Infektionsversuche wurden hier ziemlich ausführlich beschrieben, um zu zeigen, wie sich eine *Colletotrichum*-Art nach Passagen durch für sie ungewohnte Wirtspflanzen in zahlreiche Formen aufspalten kann. Ähnliche Resultate bei einem Infektionsversuch auf *Phaseolus vulgaris* erhielt bereits MULLER (1927) mit einer Form von *Glomerella cingulata*, die als *Gloeosporium fructigenum* f. *hollandica* bezeichnet wurde. Die Ursache der Entstehung dieser neuen Formen ist unbekannt, wird sich aber nur auf genetischer Grundlage erklären lassen. Passagen durch ungewohnte Wirtspflanzen scheinen bei gewissen *Colletotrichum*-Stämmen leicht Mutationen auszulösen. Denn um solche handelt es sich bei den bei der Herisolierung plötzlich neu auftretenden Formen mit grosser Sicherheit. Um die Kernverhältnisse zu studieren wurden sowohl von den klein- wie von den grossporigen, durch Herisolierung erhaltenen Formen die Konidien mit Karminessigsäure gefärbt. In beiden Fällen enthielten sie einen einzigen Kern (vgl. auch FRANDSEN, 1953; LUCAS, 1946).

Mit den von *Sansevieria zeylanica* und von *Solanum lycopersicum* isolierten Stämmen (No. 3 und 4) von *C. crassipes* blieben mehrmals ausgeführte Infektionsversuche auf Gartenbohnen ohne jeden Erfolg.

b. *Colletotrichum lini*

Alle Infektionsversuche auf Bohnen mit diesen von *Linum usitatissimum*-Saat isolierten Stämmen (No. 6 und 7) blieben ohne Erfolg. Dagegen erkrankten die zur Kontrolle gleichzeitig infizierten Flachspflanzen. Auch auf Äpfeln verursachte *C. lini* keine Fäulnis (Tab. 3), wohl aber auf reifen Tomaten. Infektionsversuche auf Bohnen wie auf *Trifolium pratense* und auf Serradella blieben auch mit den von Tomaten herisolierten Stämmen erfolglos.

TABELLE 2. Veränderungen von *Colletotrichum crassipes* nach Passagen durch *Phaseolus vulgaris*.

Veranderingen van *Colletotrichum crassipes* na passages door boon.

Isolierung von *Oncidium excavatum*:

Herisolierung

1.

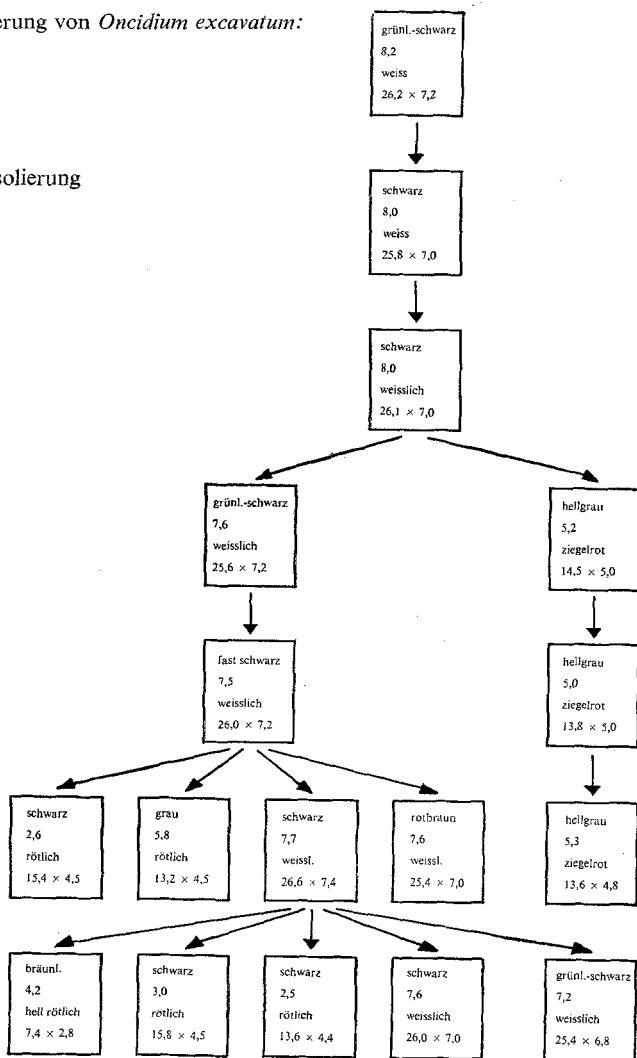
2.

3.

4.

5.

6.



Passage 1–5 auf der Bohnenrasse „Conserva zonder draden“

Passage 6 auf „Kieviet Bulten“

1

2

3

4

1. Farbe der Mycelrasen einer 10 Tage alten Reinkultur auf Kirschenagar
2. Zuwachs der Mycelrasen auf Kirschenagar in 24 Stunden bei 24 °C.
3. Farbe der Konidienmassen über den Acervuli
4. Mittlere Konidiengrösse aus 100 Messungen in μ .

c. *Colletotrichum gloeosporioides*

Mit mehreren der als *C. gloeosporioides* bestimmten Stämme wurden mit wechselndem Erfolg Infektionsversuche auf Bohnen ausgeführt. Mit von Früchten isolierten Stämmen (No. 22, 26, 29, 33, 34) schlugen sie fehl. Wohl keimten die Konidien und bildeten Appressorien. Hie und da verfärbten sich unter diesen auch einige Epidermiszellen, der Pilz vermochte aber keine eigentlichen Anthracnosen zu verursachen oder zu sporulieren. Drei Wochen nach dem Infektionsversuch konnte er aber wahrscheinlich aus den am Leben gebliebenen Appressorien herisoliert werden. Mit den von *Ligustrum*, *Erica* und *Rhododendron* isolierten Stämmen (No. 9, 14, 15) blieben Infektionsversuche auf Bohnen ebenfalls erfolglos.

Eine Infektion von Bohnen gelang mit dem von der Orchideae *Coelogyne dayana* isolierten Stamm (No. 16) ebenfalls nicht. Auf Äpfel der Sorte „Cox Orange Pippin“ geimpft verursachte er dagegen eine Fäulnis. Mit in den Faulstellen in Acervuli gebildeten Konidien hergestellte Einspor-Kulturen waren von der Ausgangs-Kultur nicht zu unterscheiden. Bei einem am 24. Februar 1953 mit einer dieser Herisolierungen ausgeführten Infektionsversuch auf Bohnen entstanden auf einer Pflanze der Rasse „Conserva zonder draden“ einige Anthracnosen. In einer von diesen entwickelten sich einige Acervuli mit Konidien, mit denen der Pilz herisoliert wurde. Mit der Herisolierung, die sich von der von *Coelogyne* isolierten Kultur morphologisch nicht unterscheiden liess, gelang wiederum eine Infektion junger Bohnenpflanzen. Insgesamt wurden auf Bohnen vier Passagen durchgeführt, wobei der Pilz in seiner Virulenz und in seinen morphologischen Merkmalen konstant blieb. Einige der Herisolierungen bildeten ein reichliches, weisses Luftmycel und verloren gleichzeitig ihr Sporenbildungsvermögen.

Von jungen Früchten einer im Warmhaus gezogenen *Vanilla odorata* wurde Stamm 17 isoliert. Die Früchte gingen vor allem von ihrer Ansatzstelle aus in Fäulnis über und auf ihnen entstanden in Zonen angeordnet sehr zahlreich die ziegelroten Konidienhaufen. Diese wurden einerseits zur Herstellung von Rein-kulturen, anderseits für Infektionsversuche auf jungen Bohnenpflanzen verwendet. Nach einer Inkubationszeit von 6 Tagen entstanden auf den Stengeln von einzelnen Pflanzen der Rasse „Conserva zonder draden“ kurz streifenförmige, dunkle, später einsinkende Anthracnosen, in denen sich ziegelrote Konidienlager entwickelten. Auch Infektionsversuche mit Konidien aus Rein-kulturen gelangen und verursachten das für *C. lindemuthianum* typische Krankheitsbild. Der Pilz wurde herisoliert und stimmte in seinen Kulturmerkmalen vollkommen mit dem Ausgangsmaterial überein. Auch nach einer viermaligen Passage durch *Phaseolus* wichen die Herisolierungen kaum vom Ausgangsmaterial ab. Bei einigen trat wohl eine dunklere Mycelfarbe auf. Diese konnten aber immer noch als typische Formen von *Glomerella cingulata* angesprochen werden.

d. *Colletotrichum orbiculare*

Nur mit Stamm No. 35 wurden Infektionsversuche ausgeführt. Diese waren auf *Phaseolus vulgaris* negativ. Auf gleichzeitig infizierten Blättern von *Cucumis sativus* entstanden 2–3 cm grosse Blattflecken.

e. *Colletotrichum trifolii*

Die von Serradella-Saat isolierten Stämme No. 38 und 39 stimmten in Reinkultur morphologisch weitgehend mit *C. lindemuthianum* überein. Das Resultat der Infektionsversuche auf Bohnen war aber zweifelhaft. Bei einem Versuch entstanden zwar auf einigen Stengeln dunkle, necrotische Flecken von 1–2 mm Grösse. In diesen wurden keine Acervuli gebildet. Der durch Auslegen der necrotischen Partien auf Agar herisolierte Pilz konnte möglicherweise auch aus den am Leben gebliebenen Appressorien gewachsen sein. Mit Stamm 38 ausgeführte Infektionsversuche waren auch auf *Trifolium pratense* negativ, dagegen erkrankten die gleichzeitig infizierten Serradella-Sämlinge.

f. *Colletotrichum lindemuthianum*

Zur Kontrolle wurden mit den Stämmen 40–45 die oben genannten Bohnenrassen mehrmals infiziert. Solange die Kulturen noch jung waren, erkrankten jeweils alle Pflanzen sehr stark und zeigten nach 4–7 Tagen die ersten Symptome. Einige der Stämme hatten dagegen nach mehrmaligem Überimpfen ihre Virulenz verloren oder verursachten nur noch einzelne Necrosen. Herisoliert waren die betreffenden Stämme wieder virulent und besaßen in Kultur wiederum ihr ursprüngliches Sporenbildungsvermögen. Infektionsversuche mit *C. lindemuthianum* auf jungen Pflanzen von *Cucumis sativus* und auf *Linum usitatissimum* verliefen negativ.

g. *Colletotrichum musae*

Mit den von Bananen isolierten, schnell wachsenden Stämmen 46–49 wurden mehrmals Infektionsversuche auf Bohnen ausgeführt, diese blieben jedoch immer ohne Erfolg. Auch die auf Bananen gefundene *Glomerella cingulata* (Stamm 50) ging nicht auf Bohnen über.

3. Ergebnisse der Infektionsversuche auf Früchten

Ein Teil der isolierten Stämme wurde auf ihre Fähigkeit als Verursacher einer Fäulnis von Äpfeln, Orangen (Apfelsinen) und teilweise auch Tomaten geprüft. Verwendet wurden Äpfel der Sorte „Cox Orange Pippin“ und aus Spanien importierte Orangen. Die zu infizierenden Früchte wurden äusserlich desinfiziert und einzeln in geschlossene Glasdosen gelegt. Beimpft wurden sie durch Nadelstiche. Diese wurden mit einer spitzen Impfnadel ausgeführt, nachdem diese durch Konidien-Schleimtröpfchen einer Reinkultur gezogen worden war.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 zusammengefasst. Bei den von *Oncidium* und Tomaten isolierten Stämmen von *C. crassipes* waren die Äpfel und Orangen nach 4 Wochen zur Hälfte faul, während die mit dem von *Sansevieria* isolierten Stamm beimpften gesund blieben. Wiederholte Infektionsversuche mit *C. lini* auf Äpfeln und Orangen blieben ohne Erfolg. Dagegen verursachte dieser Pilz auf reifen Tomaten eine sich schnell ausbreitende Fäulnis. Auf den faulenden Früchten bildete er zahlreiche Acervuli mit Konidien. Die Herisolierungen liessen sich teilweise vom Ausgangsmaterial nicht unterscheiden, teilweise hatten sie eine hellere, rotbraune Farbe.

Alle geprüften Stämme von *Glomerella cingulata* vermochten Äpfel und Orangen nach Verwundung mehr oder weniger schnell in Fäulnis überzuführen.

TABELLE 3. *Colletotrichum*-Arten als Ursache von Fruchtfäulen.
Colletotrichum-soorten als oorzaak van vruchtrotingen.

Stamm No.	bestimmt als	isoliert von	Fäulnis auf Früchten von		
			Äpfeln	Orangen	Tomaten
1.	<i>C. crassipes</i>	<i>Oncidium excavatum</i>	**	**	**
2.	"	<i>Agave spec.</i>	**	**	0
3.	"	<i>Sansevieria zeylanica</i>	—	—	0
4.	"	<i>Solanum lycopersicum</i>	**	**	**
5.	<i>C. lini</i>	<i>Linum usitatissimum</i>	—	—	**
6.	"	"	—	—	**
8.	?	<i>Oncidium phalaenopsis</i>	—	—	—
9.	<i>Glomerella cingulata</i> (<i>C. gloeosporioides</i>)	<i>Ligustrum vulgare</i>	**	**	**
11.	"	<i>Sansevieria spec.</i>	**	**	0
15.	"	<i>Rhododendron ponticum</i>	**	**	0
16.	"	<i>Coelogyne dayana</i>	**	**	**
17.	"	<i>Vanilla odorata</i>	**	**	**
19.	"	<i>Cissus spec.</i>	**	**	0
23.	"	<i>Citrus sinensis</i>	**	**	**
26.	"	<i>Cucumis melo</i>	*	*	**
27.	"	<i>Solanum lycopersicum</i>	**	**	**
29.	"	<i>Juglans regia</i>	**	**	0
32.	"	<i>Pirus malus</i>	**	**	**
34.	"	"	**	*	0
36.	<i>C. orbiculare</i>	<i>Cucumis sativus</i>	**	*	0
37.	"	"	*	*	0
41.	<i>C. lindemuthianum</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i>	*	*	0
41.	"	"	—	—	0
43.	"	"	—	—	*
46.	<i>C. musae</i>	<i>Musa spec.</i>	—	*	0
47.	"	"	—	—	0
50.	<i>C. gloeosporioides</i>	"	**	**	0

** alle Früchte gehen in Fäulnis über

* auf einzelnen Früchten entstehen Faulflecken

— auf den Früchten tritt keine Fäulnis auf

0 Versuch nicht ausgeführt.

Auch die beiden verwendeten Stämme von *C. orbiculare* verursachten auf diesen Früchten eine sich zwar nur langsam ausbreitende Fäulnis. Beim Stamm No. 37 hatten 4 von 5 Äpfeln und drei von 5 Orangen nach 6 Wochen 1–2 cm grosse Faulstellen. *C. lindemuthianum* vermochte allgemein keine Früchte anzutasten. Nur in einem einzigen Fall entstand eine Fäulnis. Der von der Bohne „Kieviet“ isolierte Stamm No. 41 verursachte auf 2 von 5 Äpfeln und auf 4 von 5 Orangen Faulstellen, die nach vier Wochen 3–5 cm gross waren. Der Pilz wurde herisoliert. In den erhaltenen Reinkulturen konnte er nicht mehr zum Sporulieren gebracht werden. In ihren morphologischen Merkmalen stimmten die Kulturen aber sonst mit dem Ausgangsmaterial überein. Ein zweiter Infektionsversuch mit demselben Stamm von *C. lindemuthianum* auf Äpfeln war wiederum erfolgreich. Die mit *C. musae* erzielten Resultate auf Äpfeln waren negativ, während auf Orangen nur bei einem Stamm einmal eine Fäulnis auftrat.

4. Besprechung der Infektionsergebnisse und Slussbetrachtung

Ungefähr 50 Reinkulturen von *Colletotrichum species* konnten auf drei Arten verteilt werden, die sich durch Grösse und Form ihrer Konidien unterscheiden liessen. *C. crassipes* hat grosse, im Mittel über 22 μ lange Konidien, die schleimige, weisse Massen bilden. Bei *C. lini* sind sie im Mittel 16 μ lang, 4 μ breit und mehr oder weniger zylinderisch. Bei *C. gloeosporioides*, der Konidienform von *Glomerella cingulata* sind sie breiter (4,5–6 μ), variieren in ihrer mittleren Länge von 12–20 μ und sind oblong, zylinderisch-keulig oder ellipsoidisch und an beiden Enden oder wenigstens oben breit abgerundet. In Massen haben sie immer eine rötliche Farbe. In der Form und Grösse der Konidien und im Baue der Acervuli stimmen *C. lindemuthianum*, *C. trifolii*, *C. orbiculare* und auch *C. musae* mit *C. gloeosporioides* überein, zeigen aber in Reinkultur im allgemeinen ein etwas langsames Ausbreitungsvermögen der Mycelrasen. Wie verhielten sich nun diese Arten und Formen hinsichtlich ihrer Wirtspflanzen? Reagierten die verschiedenen Stämme einheitlich oder hatte jeder sein eigenes Wirtsspektrum?

Von *C. crassipes* konnten 4 Stämme miteinander verglichen werden. Drei davon verursachten Fruchtfäulen. Mit einem gelang eine Infektion auf Bohnen. Diese Stämme sind daher nicht scharf an einen bestimmten Wirt gebunden. Der aus Blattflecken auf *Sansevieria* isolierte Stamm liess sich dagegen auf keine anderen Wirtspflanzen übertragen. Infektionsversuche mit ihm gelangen nur auf *Sansevieria*-Pflanzen, auf denen er wieder Blattflecken verursachte.

Infektionsversuche mit *C. lini* auf Bohnen, Rotklee, Serradella, Äpfeln und Orangen waren erfolglos, während die zur Kontrolle infizierten Leinpflänzchen erkrankten. Dieser weitgehend an *Linum* gebundene Pilz vermochte nur auf reifen Tomaten eine Fäulnis zu verursachen.

Dass *Glomerella cingulata* ein gewöhnlich nur schwacher, aber sehr polyphager Parasit ist, war schon lange bekannt (TAUBENHAUS, 1911, 1912; SHEAR und WOOD, 1913; KRÜGER, 1913; SMALL, 1926; BÖHNI, 1949). Dass die meisten Herkünfte dieser Art auf Früchten eine Fäulnis verursachen würden, war daher zu erwarten. Zu ähnlichen Resultaten waren auch WOLLENWEBER & HOCHAPFEL (1949) gekommen.

C. lindemuthianum, *C. trifolii* und *C. orbiculare* (meist unter dem Namen *C. lagenarium*) wurden bisher allgemein als eigene Arten angenommen. Nach den oben beschriebenen Versuchen lassen sie sich aber nicht nur morphologisch sondern auch biologisch nicht scharf von *C. gloeosporioides* trennen. Denn einerseits verursachte zum Beispiel ein Stamm von *C. lindemuthianum* Fruchtfäulen, andererseits liessen sich typische Stämme von *C. gloeosporioides* auf Bohnen übertragen, auf denen sie eine Anthracnose verursachten. Über einen derartigen Versuch berichtete bereits MÜLLER (1927). Einen für Tomaten pathogenen β -Stamm von *C. lindemuthianum* erwähnten kürzlich auch PANTIDOU & SCHROEDER (1956).

Eine Fruchtfäule verursachten die geprüften Stämme von *C. orbiculare*. Derartige Formen können auch unter natürlichen Umständen von einer Wirtspflanzen-Art auf eine andere übergehen. Beobachtungen liegen vor allem aus Amerika vor. Nach WEIMER & DUNEGAN (1949) verursacht zum Beispiel ein gewöhnlich als Anthracnose-Erreger auf Lupine lebender Stamm von *Glomerella cingulata* eine Fruchtfäule auf noch am Baum hängenden Pfl-

sichen. Eine auf Tabak eine Anthracnose verursachende *Colletotrichum* fand MORGAN (1956) auf andern in der Nähe stehenden Gewächsen, zum Beispiel auf *Datura stramonium*, *Capsicum annuum*, *Lactuca sativa* und selbst auf einem Gras. Künstlich liess sich der Pilz noch auf zahlreiche andere Pflanzen übertragen. Eine auf Tomaten eine Anthracnose verursachende *Colletotrichum* war nach PANTIDOU & SCHROEDER (1956) auf in der Nähe gepflanzten Melonen überwintert und verursachte bei Infektionsversuchen auf verschiedenen Cucurbitaceen Blattflecken.

C. orbiculare wie auch *C. lindemuthianum* müssten eigentlich als Formen zu *C. gloeosporioides* gestellt werden. Aus praktischen Gründen ist es aber besser, für diese wichtigen Krankheitserreger ihre bisherigen Namen zu erhalten. Und *C. lindemuthianum* lebt wahrscheinlich unter natürlichen Umständen ausschliesslich auf der Gartenbohne. Die regelmässig auftretenden Epidemien dieser Art haben ihren Ursprung im infizierten Saatgut.

C. musae wäre dagegen aus praktischen Gründen besser mit *Glomerella cingulata* zu vereinigen. Denn einmal verursachen auf Bananen beide Pilze dasselbe Krankheitsbild und dann sind sie morphologisch auf der Pflanze überhaupt nicht und in Reinkultur nur schwierig voneinander zu unterscheiden.

Allgemein ist es schwierig, die einzelnen *Colletotrichum*-Arten nach morphologischen Merkmalen zu unterscheiden. Der Grund liegt in der grossen Veränderlichkeit innerhalb ein und derselben Art. Die nach ihrer Morphologie umschriebenen Arten zerfallen wiederum in zahlreiche biologische Formen, die man als Biotypen bezeichnen kann. Gewisse Isolierungen (Stämme) einer Art können ziemlich scharf an eine bestimmte Nährpflanzen-Art gebunden sein. Andere Stämme sind in ihrer Wirtswahl weniger wählerisch und gehen bei Infektionsversuchen auf Wirtspflanzen über, die mit ihrem ursprünglichen Wirt nicht näher verwandt sind. Bei der Herisolierung können dann biologisch und vereinzelt auch morphologisch neue Formen auftreten. Dies ist wahrscheinlich eine Folge der grossen Heterogenität des Infektionsmaterials. Dieses besteht ja bei derartigen Versuchen aus einer sehr grossen Anzahl von Sporen (die wohl aus einer Einspor-Kultur stammen können). Die Veränderlichkeit derartiger Pilzstämme zeigt sich in Reinkulturen in der Sektorenbildung. Beim Infektionsversuch tritt die für den Pilz neue Nährpflanze als Selektor auf. Nur vereinzelte Keime des heterogenen Pilzmaterials müssen die betreffende Pflanze infizieren können. Herisoliert stellen sie Typen dar, die sich an den neuen Wirt angeglichen haben und die sich hie und da auch morphologisch von der Ausgangskultur unterscheiden lassen.

D. SAMENVATTING

Morphologie en biologie van enkele Colletotrichum-soorten

In deze publikatie zijn een aantal proeven met reinkultures van schimmels beschreven, die tot het geslacht *Colletotrichum* gerekend moeten worden. Eveneens worden inoculatieproeven besproken, die met deze schimmels zijn uitgevoerd. Vaak zijn de conidiënhoopjes (acervuli) bij *Colletotrichum* met setae bezet. In andere gevallen kunnen deze echter ontbreken. Schimmels met dergelijke kale acervuli werden tot nu toe gewoonlijk in het geslacht *Gloeosporium* geplaatst. Daar de setae bij een en dezelfde soort soms aanwezig zijn, soms ont-

breken, is dit kenmerk niet geschikt, om de twee geslachten te onderscheiden. Talrijke, tot nu toe bij *Gloeosporium* ondergebrachte schimmels moeten dan ook tot *Colletotrichum* gerekend worden. Een goed kenmerk, om alle *Colletotrichum*-soorten te herkennen vormen de bruine appressoriën. Na de kieming van de conidiën ontstaan ze gewoonlijk aan de kiembuizen.

a. Proeven in vitro

Van talrijke waardplanten werden *Colletotrichum*-stammen geïsoleerd. Een deel der stammen was afkomstig uit besmet zaad, de overigen werden uit anthracnosen, bladvlekken, kankerplekken of rottende vruchten geïsoleerd. Een-spore-cultures van 50 verschillende isolaties werden in reïncultuur op dezelfde voedingsbodem met elkaar vergeleken. De kleur van het mycelium en die van de slijmerige conidiënhoopjes, de groeisnelheid van het mycelium bij 24°C en de grootte van de conidiën werden bepaald. De verschillende cultures weken nogal sterk van elkaar af (Tab. 1), toch lieten zich de volgende soorten onderscheiden op grond van de grootte en de vorm van de conidiën (Afb. 1) en de kleur van het mycelium en van de conidiënhoopjes:

1. *C. crassipes* (SPEG.) v. ARX. Deze soort heeft langwerpige, cilindervormige, gemiddeld 23–30 μ lange en 5,8–7,2 μ brede conidiën, die in massa's witte slijmhoopjes vormen. De appressoriën zijn onregelmatig van vorm. Deze soort werd geïsoleerd van *Oncidium excavatum* (een kas *Orchideae*), van bladeren van *Agave spec.* en *Sansevieria zeylanica* en van een rottende tomaat.

2. *C. lini* (WESTERDIJK) TOCHINAI werd slechts op lijnzaad gevonden. Karakteristiek voor deze soort zijn de cilindervormige, min of meer rechte, aan de uiteinden iets versmalde en gebogen, gemiddeld 15–16,5 μ lange en slechts 2,8–4,2 μ brede conidiën, die in roodbruine hoopjes gevormd worden (Afb. 1).

3. *C. gloeosporioides* PENZ. Deze naam werd gebruikt voor de conidiënvorm van *Glomerella cingulata* (STONEM.) SPAULD. & v. SCHR. Deze is in de literatuur onder enkele honderden namen bekend, b.v. als *Gloeosporium fructigenum* BERK., *G. elasticae* CKE. & MASS., *G. lycopersici* KRÜGER, *G. vanillae* CKE. of *G. sorauerianum* ALL. Kenmerkend voor *C. gloeosporioides* zijn de oranje- of slijmerige conidiënhoopjes. De conidiën zijn langwerpig, naar beneden soms iets versmald (Afb. 1, 1–6) en gemiddeld 12–19 μ lang en 4,4–5,7 μ breed. De lengte van de conidiën van de verschillende stammen varieerde vrij sterk, de breedte daarentegen was bij alle praktisch gelijk. De appressoriën zijn rond of iets langwerpig. De schimmel werd van talrijke planten geïsoleerd (Tab. 1), o.a. van liguster, waar deze op jonge takken kankerplekken veroorzaakte. Verder van verschillende kas-*Orchideae* en andere sierplanten zoals *Ficus*, *Cissus*, *Sansevieria*, *Erica*, *Rhododendron* en van rottende vruchten (appelen, peren, walnoten, sinaasappelen, bananen, meloenen en tomaten).

C. orbiculare (BERK. & MONT.) v. ARX (Syn.: *C. lagenarium* (PASS.) SACC. & ROUM.), de verwekker van een vlekkenziekte bij augurk en komkommer komt in bouw en grootte van de acervuli en conidiën volkomen met *C. gloeosporioides* overeen, wijkt echter af door een langzamere groei en een donkerder kleur van het mycelium in reïncultuur. Ook *C. lindemuthianum* (SACC. et MAGN.) BRI. & CAV., de verwekker van de vlekkenziekte bij de boon komt in bouw en grootte van de acervuli en conidiën volkomen met *C. gloeosporioides* overeen, maar bezit in cultuur eveneens een donkerder en langzamer groeiend mycelium.

Verder is een ascusvorm van *C. lindemuthianum* nog niet met zekerheid gevonden. Met *C. lindemuthianum* komt ook *C. trifolii* Bain et Ess. goed overeen. Deze werd uit zaad van *Serradella* geïsoleerd.

C. musae (BERK. & CURT.) v. ARX (Syn.: *Gloeosporium musarum* CKE. & MASS.) verschilt van *C. gloeosporioides* door een sneller groeiend mycelium en door soms iets bredere conidiën. Deze vorm werd uit de zwart verkleurde schil van bananen geïsoleerd.

b. Inoculatieproeven.

Inoculatieproeven werden vooral op jonge bonenplanten en op rijpe vruchten (appelen, sinaasappelen en tomaten) uitgevoerd. De te inoculeren bonen werden in grote glazen buizen onder steriele omstandigheden uit ontsmet zaad gekweekt. Toen de plantjes twee bladeren ontwikkeld hadden, werden zij met een suspensie van conidiën met behulp van een penseel zonder verwonding geïnoculeerd. De te inoculeren vruchten werden met een spitse entnaald verwond. De inoculatieproeven hadden het volgende resultaat:

1. *C. crassipes*. De van *Oncidium excavatum* geïsoleerde stam veroorzaakte op stengels van slechts enkele van de gebruikte plantjes van het bonenras „Conserva zonder draden” kleine anthracnosen (ingezonken, zwarte plekken). Hierop ontstonden acervuli met conidiën. Door deze in suspensie te brengen en op agarplaten uit te strijken werd de schimmel opnieuw in reïncultuur gebracht en voor verdere inoculatieproeven gebruikt. Nu werden alle geïnoculeerde planten ziek. Op het ras „Conserva zonder draden” werden in het geheel 5 passages uitgevoerd. Na de derde en vierde passage weken enkele van de door herisolatie verkregen cultures morfologisch sterk af van de oorspronkelijke, uit *Oncidium* verkregen isolatie. Het mycelium van deze cultures was lichter van kleur en de conidiën waren gemiddeld kleiner (Tab. 2; Afb. 3). Morphologisch kwamen deze vormen goed met *C. gloeosporioides* overeen. Andere herisolaties, verkregen na vijf passages van *C. crassipes* door het bonenras „Conserva zonder draden” kwamen morfologisch vrij goed met *C. lindemuthianum* overeen.

Met een herisolatie van *C. crassipes*, die na vijf passages door „Conserva zonder draden” nog grootsporig was, werden jonge planten van het boneras „Kieviet Bulten” geïnoculeerd. Op deze planten ontstonden herhaaldelijk stengelaantastingen, hoewel dit ras voor zes gelijktijdig getoetste stammen van *C. lindemuthianum* resistent bleek te zijn. De door herisolatie uit deze vlekken verkregen schimmelcultures waren heterogeen en weken in de grootte van de conidiën en in de groeisnelheid op agar sterk van elkaar af. Slechts nog enkele kwamen morfologisch met de oorspronkelijke cultuur overeen.

Inoculatieproeven met de andere stammen van *C. crassipes* slaagden niet op boon. De van *Oncidium*, *Agave* en tomaten geïsoleerde stammen veroorzaakten vruchtrot op appelen en sinaasappelen (Tab. 3). De met de *Sansevieria*-isolatie geïnoculeerde vruchten bleven daarentegen gezond.

2. *C. gloeosporioides*. Alle typische stammen van deze soort veroorzaakten na wondinoculaties op appelen en sinaasappelen een rotting. Slechts twee stammen, de een van vanillevruchten, de ander van *Coelogyne dayana* geïsoleerd, veroorzaakten op bonen een anthracnose. Ook na vier passages waren deze stammen in hun morfologische kenmerken konstant gebleven. Gelijktijdig was een stam van *C. lindemuthianum* (geïsoleerd van een Kieviet-boon) in staat een rotting op vruchten te veroorzaken, die weliswaar langzaam verliep. De

met andere stammen van *C. lindemuthianum* geïnoculeerde vruchten bleven gezond. De van komkommer en augurk geïsoleerde stammen van *C. orbiculare* veroorzaakten op appels en sinaasappelen wel een rotting. Op komkommerplanten veroorzaakten deze stammen bladvlekken, terwijl jonge boneplanten geen aantasting vertoonden. Gewerkt werd tenslotte met enkele van bananenschil geïsoleerde stammen van *C. musae*. Inoculatieproeven op bonen bleven zonder resultaat en ook appels en sinaasappelen werden door deze stammen vrijwel niet aangetast.

3. *C. lini*. Inoculatieproeven met deze soort slaagden slechts op jonge vlasplanten en op rijpe tomaten; appels, sinaasappelen en bonenplanten bleven gezond.

c. Bespreking

Uit het onderzoek blijkt, dat *C. gloeosporioides* (*Glomerella cingulata*) een gewoonlijk slechts zwakke, maar op talrijke plantensoorten voorkomende parasiet is. De schimmel kan gemakkelijk van de ene plantensoort op de andere overgaan. *C. lindemuthianum* en *C. orbiculare* zijn zowel morphologisch als biologisch niet scherp van *C. gloeosporioides* te onderscheiden. Het is mogelijk, dat b.v. de *Colletotrichum* van de augurk afkomstig is van een andere plantensoort en eveneens op een andere plantensoort kan overgaan. Bij proeven in het laboratorium was dit ook met de *Colletotrichum* van de boon mogelijk. Deze vorm bleek echter vrij sterk aan boon gebonden te zijn. De infectiebron bij een epidemie wordt praktisch uitsluitend door het besmette bonenzaad gevormd.

Door de grote variabiliteit van de onderzochte *Colletotrichum*-soorten is het moeilijk, deze volgens morphologische kenmerken in te delen. De op talrijke planten bekende soorten zijn zowel morphologisch als biologisch niet scherp te onderscheiden. Sommige isolaties zijn onder bepaalde omstandigheden in staat andere plantensoorten aan te tasten dan waarvan ze geïsoleerd zijn. Hierbij kunnen de herisolaties morphologisch afwijken van de oorspronkelijke stam. Er is een grote variabiliteit, die echter soms pas blijkt, als men de betreffende stam op verschillende waardplanten brengt. Bij deze passages krijgen waarschijnlijk bepaalde typen door selectie de overhand.

E. ZITIERTE LITERATUR

- ARX, J. A. VON, - 1957a. Die Arten der Gattung *Colletotrichum*. Phytopathol. Ztschr. 29: 413-468.
- ARX, J. A. VON, - 1957b. Revision der zu *Gloeosporium* gestellten Pilze. Verh. Kon. Nederl. Akad. Wet., afd. Natuurk., 2. reeks 51, No. 2.
- BLUMER, S., - 1952. Beiträge zur Spezialisierung der Erysiphaceen. Ber. Schweiz. Bot. Ges. 62: 384-401.
- BÖHNI, E., - 1949. Untersuchungen über die Bitterfäule an Kirschen. Phytopath. Ztschr. 15: 333-375.
- FRANDSEN, N. O., - 1953. Zur physiologischen Spezialisierung von *Colletotrichum lindemuthianum*. Ztschr. Pflanzenkrankh. 60: 113-125.
- FREY-WYSSLING, A., - 1945. Ernährung und Stoffwechsel der Pflanzen (Büchergilde Gutenberg, Zürich).
- HAMMARLUND, C., - 1945. Beiträge zur Revision einiger imperfekter Mehltau-Arten. *Erysiphe polyphaga* nov. sp. Bot. Notiser p. 101-108.
- KRÜGER, F., - 1913. Beiträge zur Kenntnis einiger Gloeosporien. Arb. K. Biol. Anst. Land-Forstw. 9: 233-323.
- LUCAS, G. B., - 1946. Genetics of *Glomerella* IV. Nuclear phenomena in the ascus. Americ. J. Bot. 33: 802-806.

- MIX, A. J., – 1925. Anthracnose of European Privet. *Phytopathol.* 15:261–272.
- MORGAN, O. D., – 1956. Host range studies on Tobacco Anthracnose caused by a species of *Colletotrichum*. *Plant Dis. Rep.* 40:908–915.
- MULLER, H. R. A., – 1927. Onderzoekingen over *Colletotrichum lindemuthianum* (SACC. et MAGN.) BRI. et CAV. en *Gloeosporium fructigenum* BERK. forma *hollandica* NOVA FORMA. Meded. Landbouwhogeschool Wageningen 30: 1–93.
- PANTIDOU, M. E. & W. T. SCHROEDER, – 1956. The foliage susceptibility of some species of Cucurbitaceae to Tomato anthracnose inciting fungi. *Plant Dis. Rep.* 40:432–436.
- SHEAR, C. L. & A. K. WOOD, – 1913. Studies of fungous parasites belonging to the genus *Glomerella*. U.S. Dept. Agr., Bur. of Plant Industry, Bull. 252:1–110.
- SMALL, W., – 1926. On the occurrences of a species of *Colletotrichum*. *Transact. Brit. Myc. Soc.* 11:112–137.
- STONEMAN, B. – 1898. A comparative study of the development of some anthracnoses. *Botan. Gaz.* 26:69–120.
- TAUBENHAUS, J. J., – 1911. A study of some *Gloeosporiums* and their relation to a sweet pea disease. *Phytopathol.* 1:196–202.
- TAUBENHAUS, J. J., – 1912. A further study of some *Gloeosporiums* and their relation to a sweet pea disease. I. c. 2:153–160.
- TIFFANY, L. H. & J. C. GILMAN, – 1954. Species of *Colletotrichum* from Legumes. *Mycologia* 46:52–75.
- WEIMER, J. L. & J. C. DUNEGAN, – 1949. Identity of anthracnose of lupine and peach, caused by *Glomerella cingulata*. *Plant Dis. Rep.* 33:416.
- WOLLENWEBER, H. W. & H. HOCHAPFEL, – 1949. Beiträge zur Kenntnis parasitärer und saprophytischer Pilze VI. *Ztschr. f. Parasitenk.* 14:181–268.
- WOLLENWEBER, H. W. & O. A. REINKING, – 1935. *Die Fusarien* (P. Parey, Berlin).

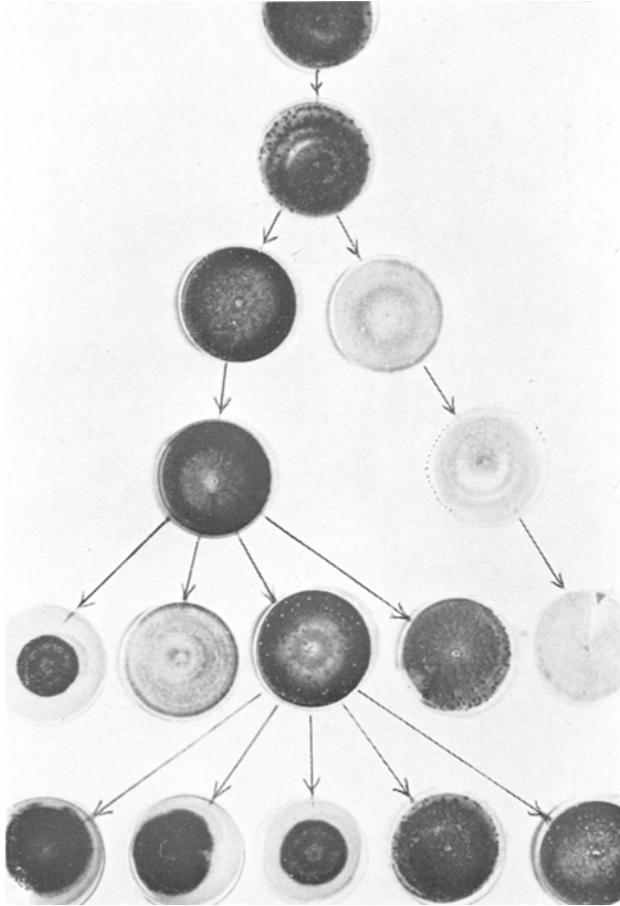


ABB. 3. Die nach verschiedenen Passagen durch *Phaseolus vulgaris* erhaltenen Kulturtypen von *C. crassipes* (Stamm 1). Von diesen Kulturen in Petrischalen sind bestimmte Merkmale in Tabelle 2 wiedergegeben.

Reincultures van C. crassipes (stam 1), verkregen uit de opeenvolgende passages door boon. Van deze cultures zijn enkele kenmerken weergegeven in tabel 2.

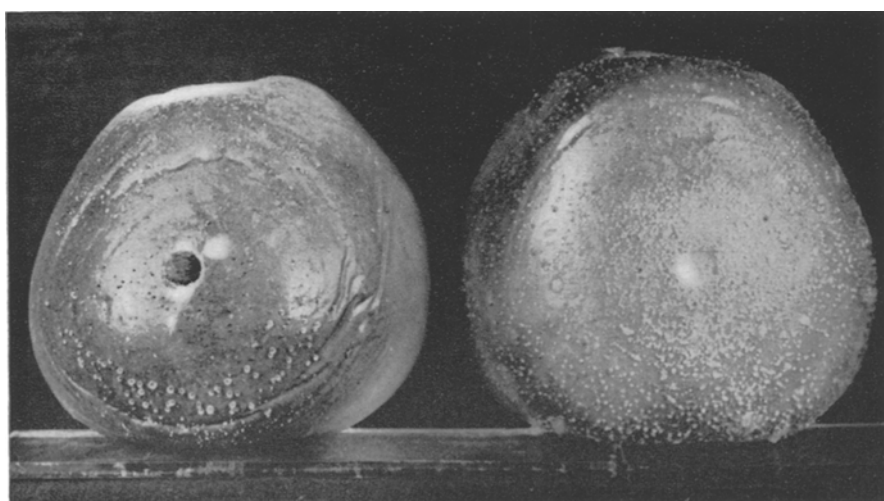


ABB. 4. Beispiele von Fruchtfäulen auf Äpfeln; links verursacht durch *C. crassipes* (Stamm 1, isoliert von *Oncidium excavatum*), rechts verursacht durch *C. gloeosporioides* (Stamm 9, isoliert von *Liguster*).

Voorbeeld van vruchtrottingen op appel; links: veroorzaakt door C. crassipes, geïsoleerd van Oncidium excavatum; rechts: C. gloeosporioides, geïsoleerd van liguster.