

(Aus dem Institut für Pflanzenzüchtung Quedlinburg der Deutschen Akademie der Landwirtschaftswissenschaften.)

# Über die Ursachen der unterschiedlichen Resistenz verschiedener Erbsensorten gegenüber den Fußkrankheitserregern *Ascochyta pisi* LIB., *Ascochyta pinodella* JONES und *Mycosphaerella pinodes* (BERK. et BLOX.) STONE.

## I. Vergleichende Untersuchungen zum Verhalten der Pilze auf einer stark und einer schwach anfälligen Sorte \*.

Von GEORG SÖRGEL.

Mit 23 Textabbildungen.

Die großen Schäden, die jährlich durch Fußkrankheiten bei Erbsen hervorgerufen werden, sind allgemein bekannt. Dieses Krankheitsbild wird durch verschiedene pilzliche Erreger verursacht, von denen nach den bisherigen Feststellungen *Ascochyta pisi* LIB., *Ascochyta pinodella* JONES und *Mycosphaerella pinodes* (BERK. et BLOX.) STONE am verbreitetsten sind. Es sind auch noch andere Pilze isoliert worden, z.B. *Fusarium*-Arten und *Corticium vagum* B. et C. (syn. *Rhizoctonia solani* KÜHN), die ebenfalls das Schadbild der Fußkrankheiten hervorrufen, jedoch ist nicht sicher bekannt, ob sie in allen Fällen primär dafür verantwortlich zu machen sind oder ob es sich um Folgeparasiten handelt. Die Züchtung von Erbsensorten, die gegen Fußkrankheiten resistent sind, würde zu einer ganz erheblichen Ertragsteigerung im Erbsenanbau führen. Ein solches Zuchziel scheint für die Praxis ungleich wichtiger zu sein als die bisherigen, die sich fast ausschließlich auf den Ertrag, den Kornanteil und die Reifezeit bezogen. Bislang wurde die Resistenzzüchtung mehr oder weniger in der Weise betrieben, daß die Erbsen entweder immer wieder auf verseuchten Feldern angebaut wurden, um die nicht befallenen zu selektieren, oder die Erbsen wurden künstlich infiziert und dann ausgelesen. Wenn auch nicht verkannt werden soll, daß auf diese Weise gelegentlich resistenter Sorten geschaffen wurden, so waren diese Methoden doch nicht frei von Zufälligkeiten. Um eine systematische und schnellere Züchtung in dieser Richtung durchführen zu können, ist es weit zweckmäßiger, zunächst einmal die Ursachen einer Resistenz gegen die pilzlichen Erreger zu klären. Der beste Weg dazu ist, den mykologischen, ökologischen und chemisch-physiologischen Gründen für die unterschiedliche Resistenz bereits bestehender, aber erfahrungsgemäß verschiedenen stark anfälligen Sorten nachzugehen. Am einfachsten schien uns diese Frage angreifbar durch den Vergleich einer extrem anfälligen mit einer extrem widerstandsfähigen Sorte. Gelang hier eine Lösung, so war auch mit einer Klärung des Verhaltens der vielen Zwischentypen zu rechnen. Über einen mykologischen Beitrag zu diesen Fragen sei im folgenden berichtet.

Als besonders anfällige Sorte wählten wir die bekannte und weit verbreitete Markerbsse Wunder von Kelvedon, als weitgehend widerstandsfähige Sorte die qualitativ unbefriedigende Zuckererbse Graue Buntblühende.

Es schien wichtig, nicht nur das Verhalten eines einzelnen Erregers, sondern das der drei für das Zustandekommen von Auflaufschäden wichtigsten

Vertreter vergleichend zu untersuchen. Mehrere Herkünfte von sämtlichen drei Pilzen konnten im Jahre 1949 isoliert und in Reinkultur genommen werden. Es wurde für den Beginn der Untersuchungen zunächst bewußt auf ein Arbeiten mit verschiedenen Herkünften verzichtet, um die Fragestellung nicht von vornherein zu sehr zu komplizieren. Die für diese Untersuchungen verwendete Herkunft von *Ascochyta pisi* stammt von einer befallenen Hülse der Markerbsensorte Wunder von Kelvedon, die von *Ascochyta pinodella* von einer Hülse der Schalerbsensorte Überreich und die von *Mycosphaerella pinodes* von einem Samen der Schalerbsensorte Großhülsige Schnabel. Einsporkulturen, die gleich zu Beginn der Arbeit durch Isolierung einzelner Konidien aus den sich reichlich bildenden Pyknidien angelegt wurden, dienten als Ausgangspunkt aller Untersuchungen.

Es war von vornherein anzunehmen, daß der Angriff der Pilze schon während eines frühen oder sehr frühen Stadiums der Keimung erfolgt, da bei natürlichen Infektionen, die auf befallenes Saatgut zurückgehen, die Ausfälle durch Fußkrankheiten besonders schwerwiegend sind. Bekanntlich können bei Hülsenbefall die Pilzhypfen durch die Fruchtschale hindurch zu den Samen gelangen, die Samenschale durchdringen und in den Kotyledonen in eine Art Dauerzustand übergehen. Bei der Keimung der Erbsen ruft dann dieses Myzel von neuem die Krankheit hervor. Künstliches Infizieren mit Aufschwemmungen von Sporen, die ja nur auf die Außenseite der Samenschale gelangen können, ergibt das gleiche Krankheitsbild. Wenn unsere Pilze die Fähigkeit haben, durch die Testa hindurch in das Innere der sich entwickelnden Erbsenpflanze — sei es Wurzel oder Epikotyl — einzudringen, so war es nicht ausgeschlossen, daß Unterschiede der Samenschale einen Schlüssel zum Verständnis für die Unterschiede in der Anfälligkeit ergeben würden. Verschieden große „Durchdringungsfähigkeit“ der Pilzhypfen müßte dann parallel gehen mit verschiedenen großer Resistenz.

Ob der Samenschale tatsächlich eine entscheidende Rolle beim Zustandekommen einer Infektion kommt, zeigt klar ein einfacher unter Freilandbedingungen durchgeföhrter Versuch. In etwas abgeänderter Form wurden nach WEHLBURG (1932) drei Serien mit je 100 einwandfrei unverletzten, nicht befallenen Samen sowohl in Leitungswasser als auch in je einer Konidiensuspension von jedem der drei Erreger vorgequollen. Nach einem 24-stündigen Verweilen in der Konidienaufschwemmung blieben die Samen noch weitere 12 Stunden ohne Flüssigkeit stehen. Die erste Serie bestand aus Samen von Wunder von Kelvedon, die zweite aus Samen von der Grauen Buntblühenden, die dritte ebenfalls

\* Quedlinburger Beiträge zur Züchtungsforschung Nr. 8.

aus Samen der Grauen Buntblühenden, bei denen aber vor dem Einquellen auf der dem Nabel gegenüberliegenden Seite ein quadratisches Stück der Samenschale von etwa 2 mm Seitenlänge herausgeschnitten worden war.

Nach sieben Tagen begannen die gleichzeitig ausgesäten Erbsen aufzugehen. Die in Wasser vorgequollenen Erbsen hatten in jedem Falle einen Vorsprung — bei der Grauen Buntblühenden um 7%, bei der beschädigten Grauen Buntblühenden um 6% und bei Wunder von Kelvedon um 13% — gegenüber denen, die in den Konidienlösungen eingeweicht worden waren. Nach acht Tagen zeigten sich bei den infizierten Seriep die ersten Pflanzen, aber deutlich weniger als bei den nicht infizierten. Noch klarer wurde der Unterschied am neunten Tage nach der Aussaat.

Besonders auffällig war einerseits der 100%ige Befall von Wunder von Kelvedon mit *Ascochyta pinodella* und *Mycosphaerella* und andererseits die wesentlich geringere Aufgangsminderung bei der Grauen Buntblühenden durch dieselben Pilze. Aber auch *Ascochyta pisi*, der Pilz, dessen Mitbeteiligung an Auflaufschäden im allgemeinen unterschätzt wird, rief bei beiden Sorten einen, wenn auch nur geringen Befall hervor. Auffallend sind die großen Ausfälle, die bei der Grauen Buntblühenden auftraten, wenn die Samenschale beschädigt war.

Ganz eindeutig war der Unterschied am 12. Tage. Setzt man die Zahl der gekeimten Samen der Grauen Buntblühenden gleich 100, so ergibt sich bei den künstlich verletzten Samen ein Ausfall von 50—67% (Tab. I).

Tabelle I. Prozentualer Keimungsausfall infizierter Samen nach 12 Tagen.

	Graue Buntblühende	Graue Buntblühende beschädigt	Wunder von Kelvedon
<i>Ascochyta pisi</i>	0%	58%	7%
<i>Ascochyta pinodella</i>	0%	67%	100%
<i>Mycosphaerella pinodes</i>	0%	50%	100%

Aus diesem Versuch geht also klar hervor, daß mit dem Entfernen eines kleinen Stückchens Samenschale die Resistenz erheblich herabgesetzt wird und eine ziemlich resistente Sorte durch Beschädigung der Testa ihre Resistenzeigenschaften weitgehend verlieren kann. Man darf daher den vorsichtigen Schluß ziehen, daß die Samenschale am Zustandekommen der unterschiedlichen Resistenz verschiedener Erbsensorten nicht unwesentlich beteiligt ist.

Wenn aber die Samenschale von so großer Bedeutung für das Auftreten von Fußkrankheiten ist, so muß diese bei verschiedenen stark anfälligen Sorten auch irgendwie verschieden sein. Diese allem Anschein nach vorhandene Verschiedenheit kann anatomisch oder stofflich bedingt sein. Im ersten Fall würde sie auf physikalischen, im zweiten Fall auf chemischen Unterschieden beruhen. Eine Entscheidung dieser ersten grundsätzlichen Frage konnte am zweckmäßigsten durch eine Kultur der drei Pilze auf Samenschalendekokten herbeigeführt werden. Ein unterschiedliches Verhalten der Pilze spräche für eine

chemische Bedingtheit, während gleiches Verhalten physikalische Unterschiede wahrscheinlicher macht.

Auf der Suche nach einer für diese Untersuchungen geeigneten Kulturtechnik — zu der wir außerdem noch durch den Mangel an Agar gezwungen waren — konnte eine Methode entwickelt werden, die für manche Untersuchungen an Mikroorganismen weit vorteilhafter ist als die bisher üblichen Methoden. Sie ist im einzelnen an anderer Stelle dieser Zeitschrift beschrieben worden (SÖRGEL 1951). (Von Agarkulturen wird später noch die Rede sein.)

Die notwendigen Samenschalen wurden gewonnen, indem die Samen (in Mengen bis zu 20 kg) zunächst in einer grob eingestellten Schrotmühle zerkleinert und dann die Schalen mit Hilfe einer Windfege von den übrigen Bestandteilen befreit wurden; schließlich wurde noch handverlesen, um die letzten Reste von Kotyledonen bzw. Würzelchen und Plumula zu entfernen. Die darauf bei 40° getrockneten Schalen wurden in einer Schlagkrezmühle (mittleres Sieb mit einem Porendurchmesser von 0,8 mm) zu einem einheitlichen Pulver zermahlen.

Für die Herstellung der Dekokte wurden stets 70 cm<sup>3</sup> Aqua dest. mit der nötigen Pulvermenge für die jeweilige Konzentration in Kolben von 100 cm<sup>3</sup> angesetzt. Anschließend wurde in einem Autoklaven 30 min bei 1,3 atm Überdruck sterilisiert und 60 min später die fertigen Nährböden aus dem Autoklaven herausgenommen. Eine Stunde danach erfolgte das Einfüllen in die Kulturgefäße, was vorsichtig geschehen mußte, damit keine Teile der Samenschale mit in das Schälchen hineingelangten.

Abgeimpft wurde stets von einem 6 Tage alten Myzel aus Petrischalen, die bei 24° im Thermostaten gestanden hatten. (Bei derselben Temperatur fanden im übrigen sämtliche Versuche statt.) Das Nährsubstrat hierfür besteht aus einem 0,3%igen Kotyledonendekokt der Sorte Wunder von Kelvedon mit einem Zusatz von 1,2% Agar. Um jede Kultur mit einer nach Möglichkeit gleich großen Menge an Myzel beimpfen zu können, wurde mit einer besonders konstruierten, hohlen, zylindrischen Impfnadel gearbeitet. Diese Nadel gestattet es, kreisförmige Myzelstücke mit einem Radius von 0,75 mm einwandfrei aus dem Agar herauszustechen. Als weitere Vorsichtsmaßnahme wurde das Impfstück jedesmal 5 mm vom äußeren Rande der kreisförmig gewachsenen Kultur entnommen, und zwar erst, nachdem die Agarplatte am 5. Tage nach dem Beimpfen umgedreht und in diesem Zustande bis zum nächsten Tage gehalten worden war, so daß also von dem durch den Agarnährboden hindurchgewachsenen gleichmäßigeren Myzel abgeimpft wurde.

Die Entwicklung des Myzels vollzieht sich auf Dekokten von Wunder von Kelvedon in der Weise, daß bei *Ascochyta pinodella* und *Mycosphaerella* schon bei einer nach 24 Stunden erfolgenden Kontrolle, bei *Ascochyta pisi* erst 48 Stunden nach dem Beimpfen in der Nährösung unter der Impfstelle am Filterpapier haftend die ersten Hyphen makroskopisch sichtbar geworden sind. Da die zuerst gebildeten und durch das Filterpapier hindurchgewachsenen Hyphen länger als die später weiter außen entstehenden sind und ihren Vorsprung auch weiterhin beibehalten, bildet sich unter der Impfstelle submers ein Myzel aus, das ungefähr die Gestalt einer Halbkugel annimmt und der Impfstelle von unten her anhaftet. Der Durchmesser dieser Halbkugel wird von dem sich kreisförmig ausbreitenden Oberflächenmyzel bestimmt. Diese Halbkugelform geht erst verloren, wenn das Submersmyzel den Boden der Kulturschale erreicht hat. In älteren Kulturen ist die Nährösung dann ganz mit Hyphen durchsetzt.

Ganz anders verhalten sich die Pilze auf Dekokten der Grauen Buntblühenden. Zunächst ist der Entwicklungsbeginn deutlich verzögert. Erst nach 48 Stunden bzw. bei *Ascochyta pisi* nach 72 Stunden

werden die ersten, aber noch wesentlich kürzeren Hyphen unter der Impfstelle sichtbar. Das Submersmyzel nimmt entweder gar nicht oder nur ganz allmählich die Form einer Halbkugel an und dringt nur wenig tief in die Nährösung ein. Es bleibt in der ganzen Ausdehnung lange Zeit wesentlich flacher, wenn auch die Mitte ein wenig vorgewölbt ist. Besonders auffällig ist die andersartige Ausbildung des Oberflächenmyzels. Lufthyphen, die, abgesehen von einer geringen Entwicklung bei *Ascochyta pisi*, auf den Dekokten von Wunder von Kelvedon gar nicht besonders in Erscheinung treten, bilden das wichtigste Charakteristikum für die Kulturen auf Grauer Buntblühender. Die Oberfläche erhält dadurch ein weißes und wolliges Aussehen. Das verschiedene Wuchsbild der einzelnen Pilze auf den beiden gegensätzlichen Dekokten zeigt eine Gegenüberstellung gleich alter Kulturen (Abb. 1).

uns später noch beschäftigen.) Diese Erscheinungen lassen etwaige Verschiedenheiten im anatomischen Bau der Samenschale als unwesentlich zurücktreten und deuten zweifellos darauf hin, daß Unterschiede in der stofflichen Zusammensetzung beider Dekokte vorhanden sind und sich unterschiedlich auf die Myzelentwicklung auswirken. Diese Tatsache macht wahrscheinlich, daß die Resistenzunterschiede beider Erbsensorten nicht auf physikalischen, sondern auf chemischen Unterschieden in der Samenschale beruhen.

Wenn die Unterschiede in der Myzelentwicklung auf den beiden verschiedenen Nährböden auch deutlich zu beobachten waren und auffällige Verschiedenheiten ergaben, so waren sie jedoch zahlenmäßig schlecht zu erfassen und exakt zu vergleichen. Es mußte ein Merkmal gefunden werden, welches eine genaue Messung bzw. Zählung ermöglichte. Dazu eigneten sich

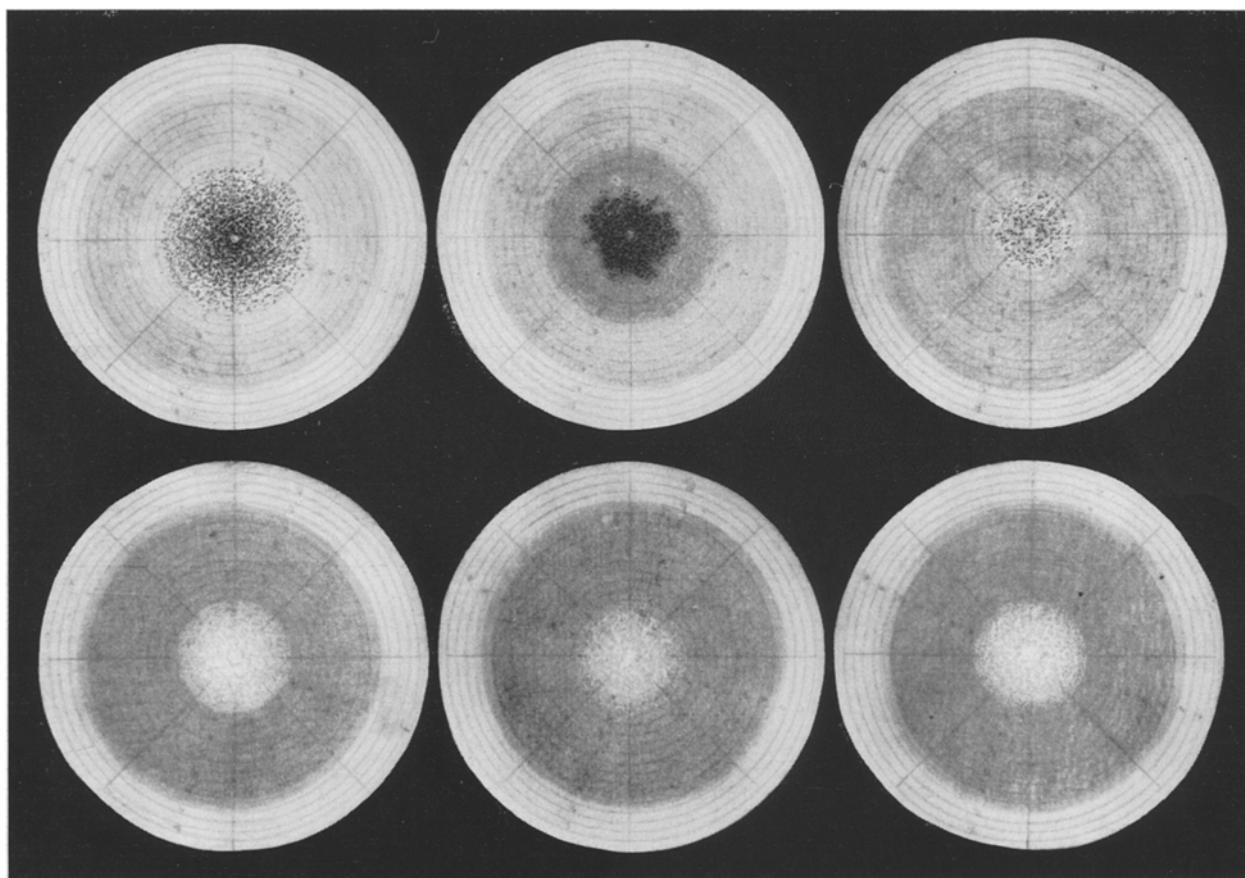


Abb. 1. Gegenüberstellung gleich alter Kulturen auf den gleichen Dekokten von Wunder von Kelvedon (obere Reihe) und Grauer Buntblühender (untere Reihe). Von links nach rechts: *Mycosphaerella pinodes*, *Ascochyta pinodella* und *Ascochyta pisi*. Etwa  $\frac{2}{3}$  nat. Größe.

Das Zurücktreten des submers gebildeten Myzels, die dafür aber gesteigerte Lufthyphenbildung läßt sich besonders gut verfolgen an Kulturen, bei denen das Nährsubstrat aus Mischungen von Samenschalen beider Erbsensorten besteht. Je größer der Anteil an Grauer Buntblühender wird, um so mehr geht die typische Halbkugelform des Submersmyzels verloren und um so mehr Oberflächenmyzel erscheint.

Aus diesen Beobachtungen geht hervor, daß die Myzelentwicklung auf Dekokten beider Erbsensorten in verschiedener Hinsicht unterschiedlich verläuft. (Die Untersuchung der differenten Ausbreitungsgeschwindigkeit des Myzels auf den beiden Nährösungen wird

am besten Fortpflanzungsorgane und zwar vor allem die Pyknidien. Diese sind zudem ein geeignetes Kriterium für den Verbreitungsgrad der Krankheit, weil zweifellos eine Funktion zwischen der Anzahl der vorhandenen Pyknidien — und damit der gebildeten Konidien — und der Verbreitung des Pilzes besteht. Alle drei Erreger bilden in künstlicher Kultur auf geeigneten Substraten leicht Fortpflanzungsorgane aus. Während bei *Mycosphaerella* Pyknidien, Chlamydosporen und Pseudothecien als Fortpflanzungsorgane auftreten, wurden bei *Ascochyta pinodella* bislang keine Pseudothecien beobachtet, bei *Ascochyta pisi* dagegen offenbar nur Pyknidien zur Ausbildung.

Zur exakten Erfassung war es notwendig, die Menge der gebildeten Pyknidien in verschiedenen Zeitabständen zu zählen. In üblichen Agarkulturen sämtliche Pyknidien zu erfassen, ist wegen ihrer Entstehung sowohl auf der Oberfläche als auch im Innern des Nährbodens nur schwer möglich. Da bei der Filtrerpapiermethode bei unseren Pilzen nur auf der Oberseite des Papiers, nicht aber submers Fortpflanzungsorgane entstehen, gelingt das Zählen hier ohne weiteres. Um es möglichst einfach und übersichtlich zu gestalten, wurde das runde Filtrerpapierblatt vor dem Sterilisieren in eine Anzahl Felder eingeteilt. Am geeignetsten erwiesen sich konzentrische Ringe mit einem Abstand von 2 mm (siehe Abb. 1 und 17). Die von innen nach außen numerierten Ringe wurden außerdem durch vier Durchmesser in acht gleich große Felder zerlegt. Auf diesem Filtrerpapierblatt ließ sich die Lage jeder einzelnen Pyknidie genau ermitteln.

Die Beobachtung erfolgte unter einem Binokular bei 40 facher Vergrößerung. Um Unregelmäßigkeiten in der Pyknidienbildung während des Zählens zu vermeiden, wurde zwischen Mikroskopierlampe und Kultur eine verschiebbare Scheibe aus einem Wärmestrahlabsorbierenden Glas (BG 21 Schott) angebracht. Während der Versuche wurde auch die Temperatur des Raumes auf 24° gehalten. Der besseren Beobachtung wegen — am Deckel der Schale haftendes Kondenswasser wirkte sich beim Zählen störend aus — wurde zu Beginn einer Zählung der Kulturschalendeckel gegen den Deckel einer anderen, ebenfalls im gleichen Thermostaten befindlichen sterilen Schale mit einwandfrei ebenem Glas ausgewechselt.

Die Nährböden wurden gestaffelt beimpft, so daß die verschiedenen Myzelien zu den einzelnen Beobachtungszeiten gleich alt waren. Die Beobachtungen erfolgten in gleichen Zeitabständen, in jungen Kulturen in der Regel 3 stündlich, später 6 stündlich; in älteren Kulturen erwiesen sich Abstände von 12 Stunden als ausreichend.

Grundsätzlich wurden die auf der Impfstelle und im inneren Kreis (von 4 mm Ø) sich bildenden Pyknidien nicht mitgezählt. Diese Fläche sollte bei der Gesamtbetrachtung ausgeschaltet werden, da hier ein Einfluß — wenn auch sicher geringfügiger Art — von dem anhaftenden Nährboden nicht ohne weiteres auszuschließen war.

Die Pyknidienbildung beginnt bei den drei unter gleichen Bedingungen kultivierten Pilzen nicht gleichzeitig. Auf einem 1%igen Samenschalendekot von Wunder von Kelvedon entstehen bei *Ascochyta pinodella* schon 36 Stunden nach dem Beimpfen die ersten Pyknidien, bei *Mycosphaerella* 12 Stunden später; bei *Ascochyta pisi* dagegen entwickeln sie sich nicht vor 66 Stunden nach Kulturbeginn. Im ersten Ring werden, abgesehen von der Zone um die Impfstelle herum bzw. auf dem Impfstück selbst, die ersten Pyknidien angelegt. Sie erscheinen als kleine Hügel, die sich durch ihre etwas kräftigere Färbung von den umgebenden Hyphen abheben. Ihre endgültige wesentlich dunklere Farbe erhalten sie ganz allmählich unter gleichzeitiger Größenzunahme.

Zum Verständnis der folgenden Ausführungen soll an einer beliebig herausgegriffenen Kultur von *Mycosphaerella* das Auftreten dieser Fortpflanzungsorgane laufend verfolgt werden. Die betreffende Kultur war am 17. 5. 1951 um 11 Uhr auf einem 1%igen Dekot von Samenschalen von Wunder von Kelvedon angesetzt worden. Genau 48 Stunden später waren im ersten Ring 15 Pyknidien vorhanden. Nach weiteren 6 Stunden wurde im zweiten Ring eine Pyknidie festgestellt; im ersten Ring war ihre Zahl zwischen auf 52 angewachsen. Nach 60 Stunden waren die entsprechenden Zahlen im ersten Ring 81, im zweiten 11 und nach weiteren 6 Stunden, d.h. am 18. 5. um 5 Uhr 106 bzw. 43. Um 11 Uhr desselben Tages, also nach 72 Stunden seit Kulturbeginn, erschienen die ersten 3 Pyknidien im dritten Ring. Im zweiten Ring hatte sich ihre Anzahl auf 127 und im ersten

auf 118 vermehrt. Nach 78 Stunden hatte mit 120 Pyknidien die Bildung im ersten Ring aufgehört, die Zahl im zweiten Ring war auf 164 und im dritten auf 20 angewachsen. Im zweiten Ring hatte nach 84 Stunden die Pyknidienbildung mit einer Zahl von 200 ihr Ende erreicht. Zum gleichen Zeitpunkt war aber die Bildung im vierten Ring in Gang gekommen. Im dritten Ring hörte die Bildung nach 108 Stunden auf. 102 Stunden dauerte es, bis im fünften Ring, d.h. 10 mm vom Mittelpunkt der Kultur entfernt, die ersten 16 Pyknidien vorhanden waren. Nach 114 Stunden war ihre Bildung wieder um 2 mm nach außen gerückt. 222 entstanden im sechsten Ring. In einem Abstand von 16 mm vom Mittelpunkt hörte die Entstehung dieser Organe vollkommen auf, nachdem noch im siebenten Ring 43 und im achten 2 gebildet worden waren. Die endgültige Zahl von 254 Pyknidien war im vierten Ring nach 138, die Endzahl von 309 im fünften Ring nach 114 Stunden erreicht. Nach 150 Stunden Kulturdauer waren im ganzen 1377 Pyknidien in dieser Kultur entstanden.

Die Entwicklung der anderen Pilze verläuft hinsichtlich ihrer Pyknidienbildung im Großen und Ganzen ähnlich. Bei *Ascochyta pinodella* entstehen die letzten Pyknidien nach etwa 132 Stunden, bei *Ascochyta pisi* jedoch geht die gesamte Entwicklung sehr viel langsamer vonstatten und ist nicht vor 210 Stunden beendet. In der Anzahl der gebildeten Pyknidien unterscheiden sich die drei Pilze erheblich. In Abb. 2 ist der typische Verlauf der Pyknidienbildung an je einer Kultur der drei Pilze gegenüber-

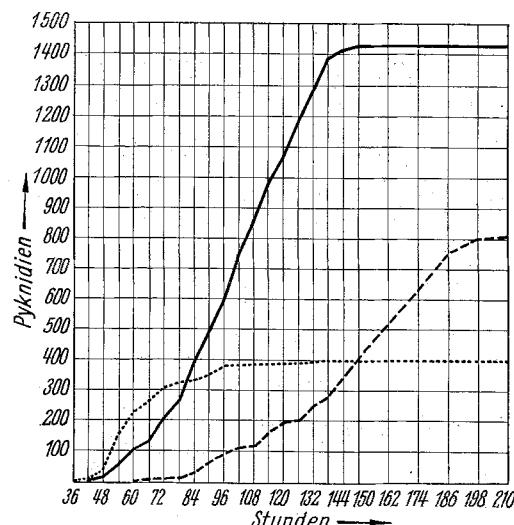


Abb. 2. Verlauf der Pyknidienbildung bei *Mycosphaerella pinodes* (—), *Ascochyta pinodella* (....) und *Ascochyta pisi* (- - -) auf einem 1%igen Dekot von Samenschalen der Sorte Wunder von Kelvedon.

gestellt. Bei *Mycosphaerella* werden also etwa 3,5 mal soviel, bei *Ascochyta pisi* doppelt soviel Pyknidien gebildet wie bei *Ascochyta pinodella*. An dieser Stelle sei ausdrücklich betont, daß diese Zahlen selbstverständlich nur für unsere drei Herkünfte gelten. Auf die Unterschiede bei den einzelnen Herkünften brauchen wir in diesem Zusammenhang nicht einzugehen.

Kulturen unter gleichen Bedingungen wurden für alle drei Erreger nun auch auf 1%igen Dekokten von der Grauen Buntblühenden angesetzt. Diese Versuche führten zu einem äußerst überraschenden Ergebnis. Bei *Ascochyta pinodella* und *Mycosphaerella* unterblieb jegliche Ausbildung von Pykni-

dien, bei *Ascochyta pisii* fanden sich einige Pyknidien erst nach 144 Stunden Kulturdauer, also zu einer Zeit, wo bei einem Dekokt von Wunder von Kelvedon bereits 330 (d.h. 40% der Endsumme) gebildet worden waren. Ihre Zahl stieg aber im Höchstfalle nach 552 Stunden seit Beimpfen der Kultur nicht über 49. Da diese Versuchsserie als erste einen chemischen Unterschied besonders wahrscheinlich machte, wurde sie mehrmals wiederholt. Unter gleichen Kulturbedingungen — als selbstverständliche Voraussetzung — ergab sich immer wieder das gleiche Bild.

Diese Beobachtungen zeigen, daß auf 1%igen Dekokten der resistenten Sorte die Pyknidienbildung entweder gar nicht vor sich geht oder wenn es zu einer Ausbildung kommt, diese sehr stark verzögert wird und zahlenmäßig unbedeutend bleibt. Weiterhin gibt uns diese Tatsache einen Beweis mehr, daß die empirisch bekannten Resistenzunterschiede bei den beiden Erbsensorten stofflicher Natur sind, daß die Reproduktivität der Pilze auf den Samenschalen verschieden ist und sich ohne weiteres mit den bekannten Anfälligkeit unterscheiden in Beziehung bringen läßt.

Wenn weitere Versuche diese Hypothese endgültig bestätigen sollten, dann hätten wir, züchterisch gesehen, die Möglichkeit, den Grad der Resistenz bereits an der Samenschale exakt feststellen zu können. Die praktische Züchtung resistenter Sorten wäre demnach auf eine einfache, aber eindeutige Analyse zurückgeführt, zu der man weder Keimpflanzen, noch erwachsene Pflanzen braucht, und die außerdem noch

turen getrocknet waren, wurde jedoch festgestellt, daß auf 3% knapp 300 Pyknidien gebildet waren. *Ascochyta pinodella* bildete nur auf einer 2,8 und 3,0%igen Lösung 2 bzw. 5 Pyknidien aus. Wichtig ist, daß, wie ein Vergleich der drei linken Kurven mit den drei rechten zeigt, viel weniger Pyknidien auf Dekokten von der Grauen Buntblühenden entstehen. Das Verhältnis aber, in dem ihre Bildung durch Samenschalen dieser Sorte gehemmt wird, ist verschieden. Am stärksten ist die Hemmung offensichtlich bei *Mycosphaerella*; hier war auf einem 1,2%igen Nährboden der Grauen Buntblühenden nur eine Pyknidie entstanden gegenüber 1726 auf dem entsprechenden Nährboden von Wunder von Kelvedon. Weniger stark ist der Einfluß auf *Ascochyta pinodella*: auf den 2,8%igen Nährböden wurden 2 bzw. 1292 Pyknidien gebildet. Am schwächsten wirkte der Dekokt auf *Ascochyta pisii*, wo schon bei 0,6% die ersten 13 Pyknidien aufraten gegenüber 313 auf Wunder von Kelvedon. Kurz zusammengefaßt, die Hemmung, die die einzelnen Pilze durch Samenschalendekokte der Grauen Buntblühenden erfahren, ist, gleichgültig wie hoch die Konzentrationen sind, immer vorhanden und artspezifisch verschieden.

Die Verschiedenheit in der Reaktion der drei Pilze kam noch deutlicher zum Ausdruck in Versuchen, bei denen Mischdekokte von beiden Erbsensorten hergestellt wurden. Der Grundnährboden, der als Kontrolle diente, bestand aus einer 1%igen Nährösung von Wunder von Kelvedon. Diesem wurden

in steigenden Mengen Samenschalen der Grauen Buntblühenden zugesetzt, so daß eine Serie von Nährböden mit immer höherem Gehalt an Grauer Buntblühender entstand. Diese Versuche wurden für alle drei Pilze in der gleichen Art und Weise angesetzt.

Zunächst sei das Verhalten von *Mycosphaerella* an Hand einer dreidimensionalen Darstellung, die die Verhältnisse gut wiedergibt, erläutert (Abb. 4). Nach 48 Stunden waren nicht nur auf dem 1%igen Wunder von Kel-

vedon-Nährboden die ersten Pyknidien entstanden, sondern auch auf drei weiteren Dekokten: nämlich bei einem Zusatz von nur 0,1% Grauer Buntblühender, auf dem sogar mehr Pyknidien gezählt wurden als ohne diesen Zusatz, während ein Zusatz von 0,2% sich dagegen kaum von reiner Wunder von Kelvedon-Lösung unterschied und bei 0,4% Zusatz die Bildung gerade eingesetzt hatte. 6 Stunden später hatte sie auf zwei weiteren Substraten ihren Anfang genommen; die Überlegenheit des Nährbodens mit dem Zusatz von 0,1% war aber bestehen geblieben. Nach 60 Stunden erschienen die Pyknidien auf einem weiteren Nährboden, die Bildung auf den eben genannten ging gleichmäßig weiter. Nach 66 Stunden Kulturdauer fing die Pyknidienbildung auch auf den Nährböden mit einem Zusatz von 1,0 und 1,2% an und 6 Stunden später auf den beiden nächsthöheren

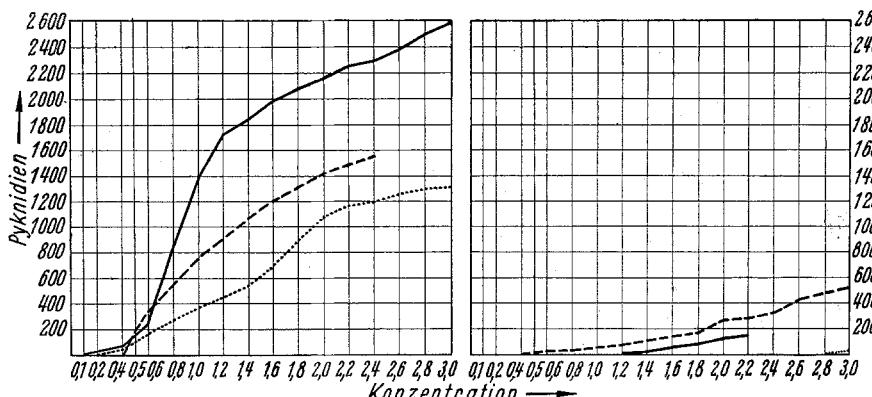


Abb. 3. Pyknidienbildung auf verschiedenen prozentigen Dekokten von Wunder von Kelvedon (links) und Grauer Buntblühender (rechts) bei *Mycosphaerella pinodes* (—), *Ascochyta pinodella* (....) und *Ascochyta pisii* (---).

zu jeder beliebigen Zeit im Laboratorium unabhängig von Außenbedingungen vorgenommen werden könnte.

Das Ergebnis, welches mit 1%igen Nährösungen erzielt wurde, wird noch deutlicher bei entsprechenden Versuchsserien mit anderen (höheren und niedrigeren) Konzentrationen (Abb. 3). Für sämtliche der hier verwendeten Konzentrationen gilt die bisherige Feststellung, daß auf der Grauen Buntblühenden in jedem Falle weniger oder überhaupt keine Pyknidien entstehen. Bei 3% ist allerdings noch nicht die maximale Bildung erreicht, doch genügen diese Werte schon für unsere Fragestellung. Auf den Dekokten der Grauen Buntblühenden war es bei *Mycosphaerella* infolge der überreichen Luftmyzelbildung von einer Konzentration von 2,4% ab ohne Zerstörung der Kultur nicht mehr ganz sicher möglich, sämtliche Pyknidien einwandfrei zu finden. Nachdem die Kul-

Konzentrationen. 78 Stunden Kulturdauer brachte die Entwicklung auf dem Nährboden mit einem Zusatz von 1,8% Zusatz in Gang. Nach 84 stündiger Dauer waren endlich die ersten Pyknidien auf dem letzten der hier verwendeten Substrate (2% Zusatz) zu finden. Immer noch war der Nährboden mit dem 0,1%igen Zusatz im Vorteil; erst nach 108 Stunden ließ die Bildung gegenüber dem Nährboden ohne Zusatz nach.

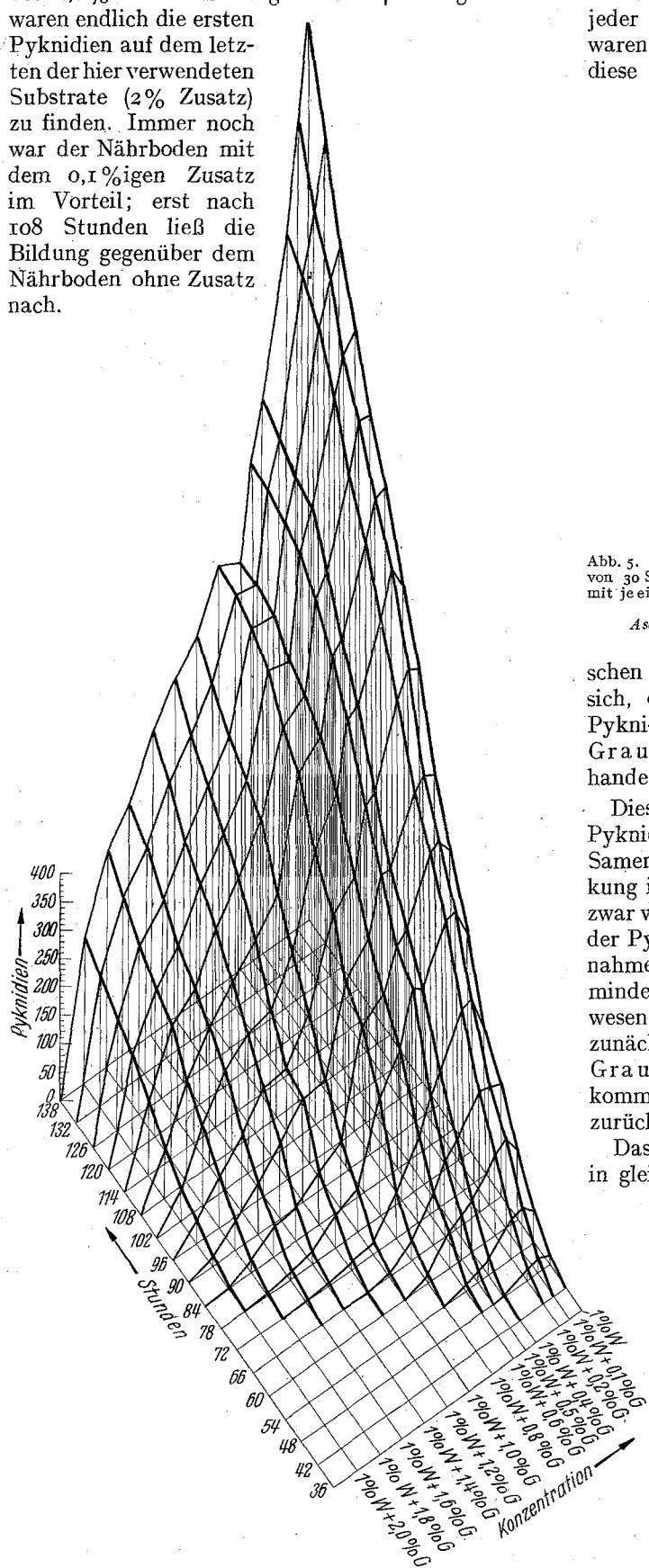


Abb. 4. Dreidimensionale Darstellung des zeitlichen Verlaufs der Pyknidienbildung auf einem 1%igen Dekokt von Wunder von Kelvedon ohne und auf 12 Dekokten mit steigendem Zusatz an Grauer Buntblühender bei *Mycosphaerella pinodes*.

Die Zunahme der Pyknidien erfolgte also auf den einzelnen Nährböden mit verschiedener Schnelligkeit. Berechnet man, wieviel Pyknidien im Durchschnitt in jeder Kultur innerhalb von 6 Stunden entstanden waren, so ergibt sich die obere Kurve in Abb. 5. Für diese Berechnungen wurden die Zählergebnisse zwis-

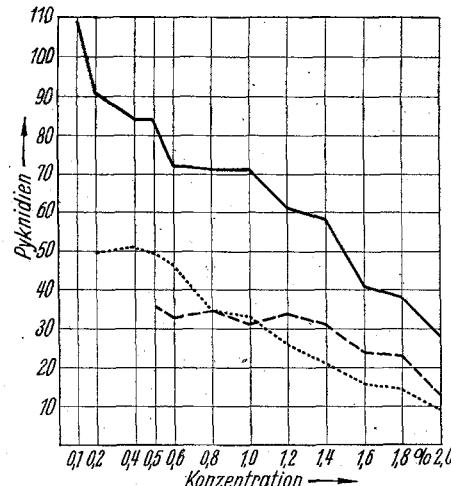


Abb. 5. Mittlere 6stündige Pyknidienzunahme während eines Zeitraumes von 30 Stunden auf 1%igen Dekokten von Wunder von Kelvedon mit je einem von Kultur zu Kultur steigendem Zusatz an Grauer Buntblühender bei *Mycosphaerella pinodes* (—), *Ascochyta pinodella* (....) und *Ascochyta pisii* (----).

schen 84–114 Stunden zugrunde gelegt. Es zeigte sich, daß im gleichen Zeitabstand um so weniger Pyknidien entstehen, je mehr Samenschalen von der Grauen Buntblühenden in einem Dekokt vorhanden sind.

Diese Versuche ergaben eine klare Abhängigkeit der Pyknidienbildung vom Gehalt eines Dekoktes an Samenschalen der resistenten Sorte. Die Hemmwirkung ist um so größer, je höher dieser Anteil ist und zwar wird bei steigender Menge erstens die Gesamtzahl der Pyknidien deutlich herabgesetzt, zweitens die Zunahme der Pyknidien in der Zeiteinheit stark vermindert und drittens der Beginn der Pyknidienbildung wesentlich verzögert. Diese Hemmung fängt, wie es zunächst scheint, erst dann an, wenn der Gehalt an Grauer Buntblühender höher als 0,1% ist. Wir kommen auf diese wichtige Tatsache später noch zurück.

Das Verhalten von *Ascochyta pinodella* ist in Abb. 6 in gleicher Weise wie für *Mycosphaerella* dargestellt.

Die Pyknidienbildung hatte nach 42 Stunden, als die erste Beobachtung erfolgte, bereits begonnen, und zwar außer bei der Kontrollkultur noch auf den Nährböden mit einem Zusatz von 0,1, 0,2 und 0,4% von Grauer Buntblühender. Die meisten Fortpflanzungsorgane hatten sich auf der Lösung mit 0,2% Zusatz entwickelt. Diese Überlegenheit bestand noch nach 138 Stunden; danach wurde die Beobachtung der Kulturen nicht mehr fortgesetzt. Nur 48 Stunden vergingen bis zur Bildung der ersten Pyknidien auf den Kulturen mit den Zusätzen 0,5, 0,6 und 0,8%. Nach 54 Stunden Kulturdauer waren in vier weiteren Konzentrationen Pyknidien, wenn auch in geringer Zahl, entstanden. 60 Stunden genügten bis zum Auftreten der Fortpflanzungsorgane auch beim höchsten Zusatz. Die

Schnelligkeit, mit der die Pyknidien auf den einzelnen Nährböden erschienen, wurde auch hier von der zugesetzten Menge der Samenschalen bestimmt. Wie aus der punktierten Kurve in Abb. 5 hervorgeht, ist die Wirkung in diesem Falle weniger ausgeprägt als bei *Mycosphaerella*.

Dieser Versuch ergab demnach, daß auch bei *Ascochyta pinodella* die Pyknidienbildung durch Zusätze von Samenschalen der resistenten Sorte beeinflußt wird. Die Hemmwirkung gleicher Konzentrationen ist aber bei diesem Pilz deutlich schwächer als bei

Entstehung der Pyknidien bis 174 Stunden nach Kulturbeginn verfolgt, jedoch zum Schluß nur bei einem Beobachtungsintervall von 12 Stunden. Zu diesem Zeitpunkt war die Pyknidienbildung noch nicht ganz abgeschlossen. Es ergab sich, daß zu dieser Zeit auf fast allen Nährböden ungefähr gleichviel Pyknidien entstanden. Auch hier war eine, wenn auch wesentlich geringere Wirkung auf die Geschwindigkeit der Pyknidienentstehung als bei den beiden anderen Pilzen zu erkennen (gestrichelte Kurve von Abb. 5). Ein Einfluß läßt sich nach diesem Versuch immerhin

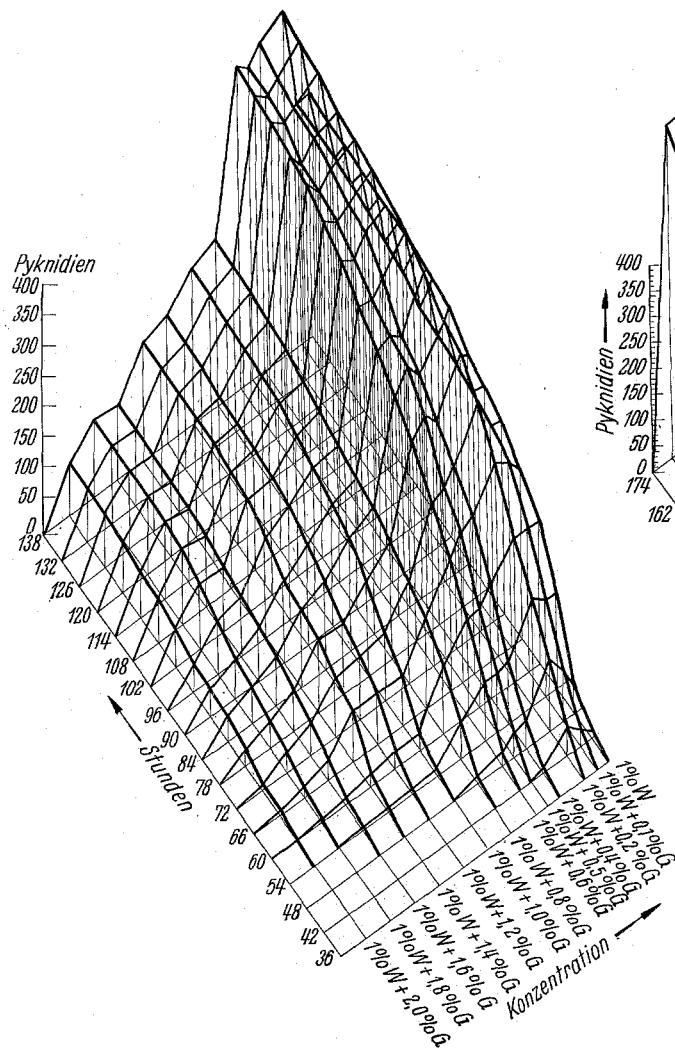


Abb. 6. Dreidimensionale Darstellung des zeitlichen Verlaufs der Pyknidienbildung auf einem 1%igen Dekokt von Wunder von Kelvedon ohne und auf 12 Dekokten mit steigendem Zusatz an Grauer Buntblühender bei *Ascochyta pinodella*.

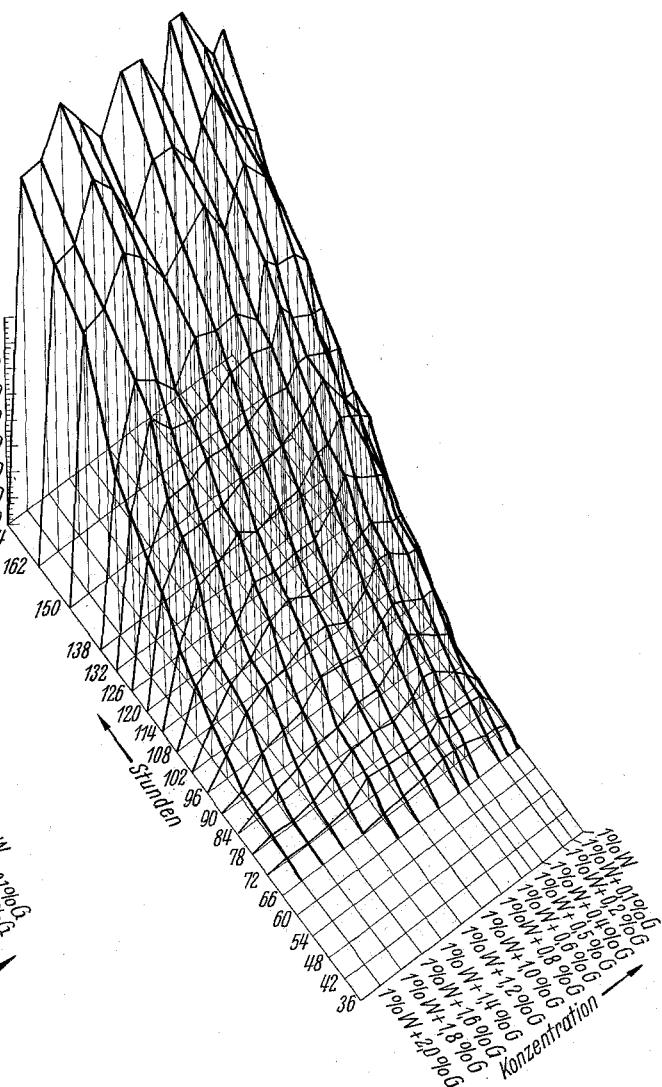


Abb. 7. Dreidimensionale Darstellung des zeitlichen Verlaufs der Pyknidienbildung auf einem 1%igen Dekokt von Wunder von Kelvedon ohne und auf 12 Dekokten mit steigendem Zusatz an Grauer Buntblühender bei *Ascochyta pisi*.

*Mycosphaerella*. Die Hemmung betrifft auch hier die Gesamtzahl, die Zunahme in der Zeiteinheit und den Bildungsbeginn der Pyknidien. Erkennbar wird eine Wirkung erst bei einem Zusatz von mehr als 0,2%.

Noch anders verhielten sich die entsprechenden Kulturen von *Ascochyta pisi*, wie Abb. 7 zeigt. Nach 66 Stunden hatte hier die Entwicklung der Pyknidien auf 9 Nährböden (bis 1,2% Zusatz) gleichzeitig eingesetzt. Bis zu einem Zusatz von 0,5% war die Pyknidienzahl gegenüber der Kontrolle gestiegen! Schon nach weiteren 6 Stunden war auf allen Nährböden die Entwicklung in Gang gekommen. Wegen der langsameren Entwicklung dieses Pilzes wurde die

noch nachweisen. Er ist aber bei diesem Pilz viel schwächer ausgeprägt. Die erste Auswirkung einer Hemmung ist bei einer noch höheren Konzentration zu finden, nur während kurzer Zeit klar zu verfolgen und bedingt keine so erheblichen Unterschiede zwischen den verschiedenen Zusätzen. Während für die verzögerte Anfangsentwicklung der Unterschied zwischen Kontrolle und einem Zusatz von 2% bei *Mycosphaerella* 36 Stunden beträgt, sind es bei *Ascochyta pinodella* 16 Stunden und bei *Ascochyta pisi* nur 6.

Diese Versuche haben gezeigt, daß ein genügend hoher Zusatz von Samenschalen der resistenten Sorte zu einem Samenschalendekokt

der anfälligen Sorte sich auf den Entwicklungsbeginn, auf die Entwicklungsgeschwindigkeit und auf die Gesamtzahl der Pyknidien hemmend auswirkt. Die Hemmung ist um so größer, je größer die zugesetzte Menge ist. Der Grad der Hemmung ist für die einzelnen Pilze verschieden.

Bislang wurde nur die Gesamtzahl der zu bestimmten Beobachtungszeiten auf den verschiedenen Dekokten vorhandenen Pyknidien verglichen. Diese Zählungen ergaben aber keinen Aufschluß darüber, wie die Unterschiede zustande kommen. Die Methode, das Filtrierpapier in konzentrische Ringe von bestimmter Breite einzuteilen, erlaubt nicht nur ein exaktes Zählen, sondern gestattet überdies, jeden beliebigen Teil einer Kultur mit dem entsprechenden einer anderen Kultur zu vergleichen.

Die geringere Gesamtzahl an Fortpflanzungsorganen auf den Nährböden mit den Zusätzen an Grauer Buntblühender kann einerseits darauf zurück geführt werden, daß die Bildung der Pyknidien nach der Peripherie einer Kultur eher aufhört als auf einem reinen Wunder von Kelvedon-Nährboden und andererseits darauf, daß in den einzelnen Ringen weniger Pyknidien entstehen, als auf den entsprechenden Wunder von Kelvedon-Kulturen. Ein mit *Ascochyta pinodella* ausgeführter Versuch gibt uns darüber Aufschluß, in wie weit die eine oder die andere Möglichkeit verwirklicht ist. Bei dieser Versuchsserie wurde im Gegensatz zu den bisherigen Mischkulturen nicht die Menge der Grauen Buntblühenden, sondern die von Wunder von Kelvedon verändert. Es wurden einmal die Konzentrationen von Wunder von Kelvedon verändert und zum anderen diesen verschiedenen Konzentrationen die jeweils gleiche Menge (0,8%) Graue Buntblühende zugesetzt. Es sollte damit die Wirkung einer gleichbleibenden Menge von Grauer Buntblühender auf unterschiedliche Konzentrationen von Wunder von Kelvedon untersucht werden. Es ergab sich, daß bei 0,6% Wunder von Kelvedon in 5 Ringen, bei 1,0 und 1,4% in je 7, bei 1,8% in 8 und bei 2,2% in 9 Ringen Pyknidien entstanden. In den entsprechenden Kulturen mit dem 0,8%igen Zusatz war die Bildung tatsächlich nicht so weit nach außen fortgeschritten: Sie war bei jeder Kultur um einen Ring, d.h. um 2 mm, zurückgeblieben. Dieser Unterschied ist also vorhanden, jedoch verhältnismäßig schwach.

Wesentlich ausschlaggebender für die geringere Gesamtzahl der Pyknidien ist ihre zahlenmäßige Verteilung auf der Kulturoberfläche. Da die Ringe, je weiter sie nach außen liegen, flächenmäßig größer werden, durften die gefundenen Zahlen für die Pyknidien nicht ohne weiteres zu einem Vergleich der einzelnen Ringe herangezogen werden. Berechnet man aber, wieviel Pyknidien auf der gleichen Flächeneinheit je Ring gebildet werden, so erhält man ein Maß für die Dichte. In Abb. 8 ist die Verteilung der Pyknidien auf eine Fläche von 10 mm<sup>2</sup> pro Ring bei den eben erwähnten Kulturen ohne Zusatz wiedergegeben. Daraus ergibt sich eindeutig, daß die Dichte von innen nach außen abnimmt und zwar sowohl bei Kulturen auf niedrig konzentrierten Nährösungen mit geringerer Pyknidienbildung als auch bei Kulturen mit höherem Nährstoffgehalt und stärkerer Pyknidienbildung. Bei den verschiedenen Kulturen mit dem

0,8%igen Zusatz ist die Gesamtverteilung, sieht man von der geringeren Anzahl der in jedem Ringe ent-

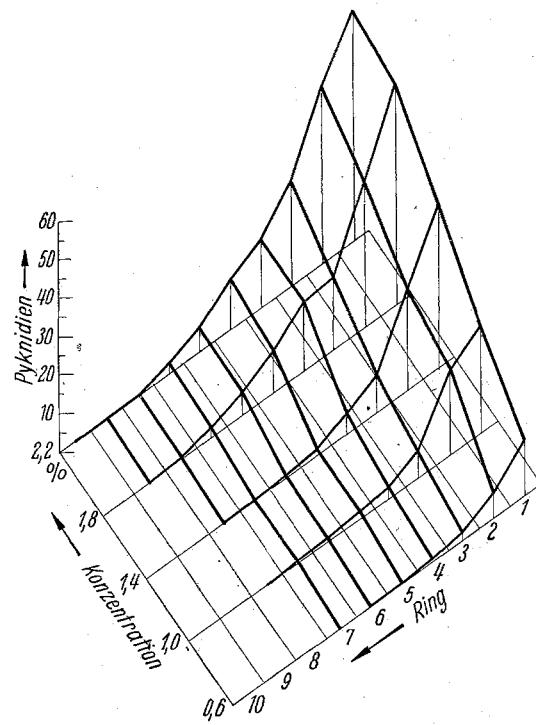


Abb. 8. Dreidimensionale Darstellung der Pyknidienverteilung bei *Ascochyta pinodella* über die Oberfläche einer Filtrierpapierkultur auf 5 verschiedenen Konzentrationen von Samenschalen von Wunder von Kelvedon.

standenen Pyknidien ab, kaum anders; auch hier stehen sie in der Mitte der Kultur am dichtesten.

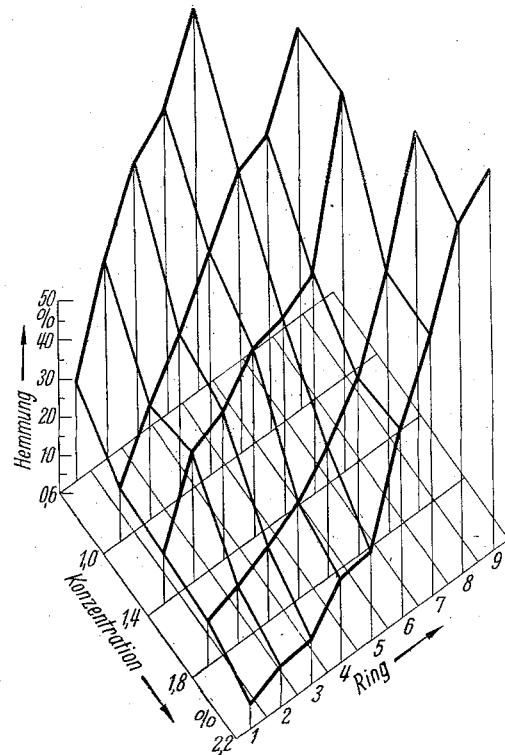


Abb. 9. Dreidimensionale Darstellung der prozentualen Hemmung der Pyknidienbildung bei *Ascochyta pinodella* auf 5 verschiedenen Konzentrationen von Samenschalen von Wunder von Kelvedon mit je einem Zusatz von 0,8% Graue Buntblühende.

Vergleicht man nun die Abnahme der Pyknidiedichte bei den Wunder von Kelvedon-Kulturen

mit der der Mischkulturen, so zeigt sich (Abb. 9), daß sie an jeder Stelle der Kultur von der Mitte zum Rand hin bei den Mischkulturen größer ist als bei denen von Wunder von Kelvedon. Die Nährlösung einer Mischkultur scheint also den normalen Ablauf der Pyknidienbildung zu hemmen. Bei der 2,2%igen Lösung betrug die Hemmung im ersten Ring nur 6%, sie stieg im zweiten auf 10,8% und im dritten auf fast das Doppelte (11,6%) an. Im fünften war sie schon fast viermal so groß und noch einen Ring weiter nach außen war sie mit 49,1% noch einmal um das Zweifache gestiegen. Im nächsten Ring betrug sie schon 68,7%, dann 91,7%. Im letzten Ring, wo die Kultur mit dem Zusatz ihre Bildung eingestellt hatte, war sie natürlich mit 100% anzusetzen. Für die Kulturen mit den anderen Konzentrationen gelten die entsprechenden Verhältnisse. Dieses geht klar aus der Abbildung hervor.

Dieselbe Darstellung zeigt auch noch eine andere nicht minder wichtige Erscheinung: Die Hemmung wird um so größer, je niedriger die Konzentration der Wunder von Kelvedon-Lösungen werden. Betrug sie im ersten Ring bei der 2,2%igen Mischlösung 6%, so stieg sie bei 1,8% auf 11,8% an. Bei 1,4% hatte sie einen Wert von 13,3% erreicht, bei 1,0% waren es 14,4% und schließlich bei 0,6% sogar 26,8%. Während in der 0,6%igen Kultur im zweiten Ring schon eine Hemmung von 52,4% festzustellen war, war sie im gleichen Ring der 2,2%igen Kultur erst auf 10,8% gestiegen. Ein analoges Verhalten war auch in den anderen Kulturen festzustellen. Diese Tatsache kann wohl nur so gedeutet werden, daß die Wirkung der Hemmung nachläßt, weil der Nährstoffgehalt der Nährlösungen durch die erhöhte Konzentration an Samenschalen der anfälligen Sorte Wunder von Kelvedon in den einzelnen Kulturen ansteigt. Es ergibt sich aus diesem Versuch also erstens, daß die Hemmung, die durch Samenschalen der Grauen Buntblühenden hervorgerufen wird, die Pyknidienbildung nach der Peripherie einer Kultur nicht so weit fortschreiten läßt, zweitens, daß sich diese Hemmung innerhalb einer Kultur von innen nach außen steigert und drittens, daß die Hemmwirkung bei Kulturen mit steigender Gesamtnährstoffkonzentration abgeschwächt wird.

Wie wir gesehen haben, nimmt die Dichte der Pyknidien bei *Ascochyta pinodella* von innen nach außen in einer Kultur ab. Dasselbe gilt auch für *Mycosphaerella*. In Tabelle 2 ist bei Kulturen, die allerdings

Tabelle 2. Dichte der Pyknidien in verschiedenen Ringen auf einem 1%igen Dekokt von Wunder von Kelvedon und 5 Dekokten mit steigenden Zusätzen von der Grauen Buntblühenden bei *Mycosphaerella pinodes*.

	1% WvK	1% WvK + 0,2% G	1% WvK + 0,6% G	1% WvK + 1,0% G	1% WvK + 1,4% G	1% WvK + 1,8% G
1. Ring . . .	32,36	41,38	37,67	35,81	35,01	25,20
2. Ring . . .	31,19	32,14	31,67	25,62	24,03	19,10
3. Ring . . .	29,33	27,85	25,92	21,60	16,71	
4. Ring . . .	23,25	22,81	11,67			
5. Ring . . .	22,35	16,93				
6. Ring . . .	11,45	7,04				

nicht bis zum Ende der Pyknidienbildung beobachtet wurden, die endgültig erreichte Dichte in denjenigen

Ringen angegeben, in denen die Pyknidienbildung abgeschlossen war. Auch bei diesem Pilz sind bei allen Kulturen die Pyknidien in der Mitte am dichtesten gelagert und nach außen immer weiter voneinander entfernt. Bei Betrachtung der Zahlen fällt aber auf, daß die Dichte im ersten Ring nur bei der Kultur mit dem 1,8%igen Zusatz geringer ist als bei der Kontrolle. Bei dem geringsten Zusatz ist sie sogar wesentlich höher. Steigt der Gehalt an Grauer Buntblühender weiter an, so fällt die Dichte allmählich von Kultur zu Kultur ab. Im zweiten Ring ist eine deutliche Hemmwirkung nur bei den Kulturen mit einem Zusatz von 1,0, 1,4 und 1,8% vorhanden. Der Unterschied gegenüber der Kontrolle ist in diesem Ring eindeutig stärker. Klar tritt die Hemmung jedoch wieder zu Tage bei dem dritten Ring, ebenso bei den folgenden Ringen. Es sieht zunächst so aus, als ob in der Mitte der Kultur mit Ausnahme beim höchsten Zusatz keine Hemmung vorhanden sei, sondern eine Förderung. Erst allmählich, je weiter man sich vom Mittelpunkt der Kultur entfernt, tritt diese, je nach den Zusätzen auf. Die Hemmung ist um so eher vorhanden, je größer die Menge der Samenschalen der Grauen Buntblühenden ist. Bemerkbar macht sie sich jedoch in jedem Fall, sei es früher oder später.

Wie sich *Ascochyta pinodella* auf den gleichen Konzentrationen wie eben besprochen verhält, geht aus Tabelle 3 hervor. Die für diesen Pilz bereits bekannte

Tabelle 3. Dichte der Pyknidien in verschiedenen Ringen auf einem 1%igen Dekokt von Wunder von Kelvedon und 5 Dekokten mit steigenden Zusätzen an Grauer Buntblühender bei *Ascochyta pinodella*.

	1% WvK	1% WvK + 0,2% G	1% WvK + 0,6% G	1% WvK + 1,0% G	1% WvK + 1,4% G	1% WvK + 1,8% G
1. Ring . . .	27,59	48,54	35,81	20,16	19,63	14,85
2. Ring . . .	22,12	28,49	28,01	14,80	12,57	7,96
3. Ring . . .	6,59	10,12	9,43	6,37	4,09	2,27
4. Ring . . .	3,18	4,69	3,01	1,68		
5. Ring . . .	0,94	1,01				

Abnahme der Dichte nach außen kommt auch bei diesem Versuch wieder deutlich zum Ausdruck. Ein Zusatz von 0,2% bewirkt in keinem der fünf verglichenen Ringe eine Hemmung, sondern eine im ersten Ring nicht unerhebliche Förderung. Diese wird dann immer schwächer, und im fünften Ring liegt der Wert nur noch wenig über dem der Kontrolle. Bei einem Zusatz von 0,6% zeigt sich erst im vierten Ring eine schwache Hemmwirkung, die anderen Kulturen sind von Anfang an in allen Ringen um so stärker gehemmt, je höher der Zusatz ist.

Die Abnahme der Pyknidiendichte nach außen gilt auch für *Ascochyta pisi*, wie in einer Serie von Kulturen festgestellt wurde. So wurde z.B. für die Kultur mit einem Zusatz von 0,6% gefunden, daß auf der gleichen Fläche im ersten Ring 28,65 Pyknidien gebildet wurden, in den folgenden Ringen 26,90, dann 21,82, 11,94 und 8,54. Eine Hemmwirkung war in den drei ersten Ringen in keiner der Kulturen festzustellen. Allerdings nahm die Dichte doch von Kultur zu Kultur entsprechend den höheren Zusätzen in den übereinstimmenden Ringen schneller als die der Kontrolle ab. Eine eindeutige Hemmung trat zum ersten Male im fünften Ring der Kultur mit dem 1,0%igen Zusatz auf.

Übereinstimmend ergibt sich also für unsere drei Pilze, daß bei schwachen Zusätzen in der Nähe der Impfstelle zunächst keine Hemmwirkung auf die Menge der gebildeten Pyknidien zu beobachten ist. Diese tritt nur in solchen Fällen sofort in Erscheinung, wenn die zugesetzte Samenschalenmenge ein gewisses Maß überschritten hat. In diesem Punkte unterscheiden sich unsere Pilze erheblich voneinander. *Mycosphaerella* wird schon durch geringere Mengen als *Ascochyta pinodella* beeinflußt, während bei *Ascochyta pisi* der Einfluß am schwächsten ist. Nach der Peripherie hin zeigt sich aber ausnahmslos eine Hemmwirkung.

Wir dürfen daher sagen, daß die Dichte der Pyknidien bei allen drei Pilzen in einer Kultur von innen nach außen abnimmt und daß die Reaktion auf gleiche Samenschalenmengen der Grauen Buntblühenden artspezifisch verschieden ist.

Wenn, wie wir gesehen haben, die Pyknidienbildung an jedem Punkt einer Kultur durch Samenschalendekokte der Grauen Buntblühenden beeinflußt wird, so mußte es möglich sein, nicht nur am Verhalten der Gesamtkultur, sondern auch an jedem einzelnen Ring festzustellen, ob und in welcher Weise von einem Dekokt eine Hemmwirkung ausgeht.

Diese kann sich entweder an einem verspäteten Auftreten der Pyknidien zeigen oder bei gleichzeitiger Bildung zum mindesten an einer geringen Zahl. Zur Klärung dieser Frage wurden 5 Kulturen von *Ascochyta pisi* miteinander verglichen. Als Substrat diente eine 1%ige Nährlösung von Wunder von Kelvedon und 4 Kulturen, denen steigende Mengen von Grauer Buntblühender zugesetzt wurden. Die Beobachtungen wurden abgebrochen, als die Pyknidienbildung den sechsten Ring erreicht hatte. In Tabelle 4 ist für die

Tabelle 4. Beginn der Pyknidienbildung in den 5 innersten Ringen auf einem 1%igen Dekokt von Wunder von Kelvedon und 4 Dekokten mit steigenden Zusätzen von der Grauen Buntblühender bei *Ascochyta pisi*.

		1% WvK	1% WvK + 0,6% G	1% WvK + 1,0% G	1% WvK + 1,4% G	1% WvK + 1,8% G
1. Ring	Zeit	66 h	66 h	66 h	72 h	72 h
	Anzahl	24	30	7	9	1
2. Ring	Zeit	78 h	78 h	78 h	84 h	84 h
	Anzahl	5	13	2	7	0
3. Ring	Zeit	102 h	102 h	102 h	108 h	108 h
	Anzahl	7	9	0	3	1
4. Ring	Zeit	132 h	132 h	132 h	138 h	138 h
	Anzahl	8	34	3	23	19
5. Ring	Zeit	162 h	162 h	162 h	168 h	168 h
	Anzahl	13	39	4	17	5

ersten fünf Ringe dieser Kulturen die Zahl der Pyknidien angegeben, die bei einem sechsständigen Beobachtungsintervall erstmalig in einem Ringe festgestellt wurde. Es ergibt sich, daß bei reiner Wunder von Kelvedon-Lösung und bei einem Zusatz von 0,6 und 1,0% zur gleichen Zeit Pyknidien entstanden waren, jedoch war die Kultur mit dem 0,6%igen Zusatz gegenüber allen anderen Kulturen in bezug auf die Pyknidienzahl im Vorteil; bei einem Zusatz von 1,0% waren aber weniger Pyknidien entstanden als bei der Kontrolle. Noch nicht angefangen hatte die Bildung bei den Kulturen mit noch höherem Zusatz. Hier traten die Pyknidien erst 6 Stunden später auf, wobei die Verzögerung bei einem Zusatz von 1,8% größer

war. Im zweiten Ring wurden die ersten Pyknidien 12 Stunden nach dem Beginn im ersten Ring festgestellt und zwar bei allen Kulturen<sup>1</sup>. Noch mehr Stunden vergingen bis zum Beginn der Pyknidienbildung im dritten Ring, vom Beginn im zweiten Ring an gerechnet 24 Stunden. Die Verzögerung war für das Auftreten im vierten und fünften Ringe noch größer und zwar betrug sie für diese beiden Ringe je 30 Stunden. Aus den Pyknidienzahlen geht aber hervor, daß es sich auf keinen Fall um einen Zeitraum von genau 6 Stunden handeln konnte. So bedeuten die höheren Zahlen in allen Ringen bei der Kultur mit dem 0,6%igen Zusatz doch nichts anderes, als daß die Pyknidienbildung hier eher erfolgte als bei den Kulturen, die nach dem gleichen Zeitraum beobachtet wurden, aber weniger Pyknidien in einem vorher noch pyknidienfreien Ring ausgebildet hatten. Demnach erfolgte die Pyknidienbildung in der Kultur mit dem 1,0%igen Zusatz auch etwas später als auf der reinen Wunder von Kelvedon-Lösung. Das gilt für diese wie für die folgenden Kulturen für alle fünf verglichenen Ringe. Noch größer ist die Verzögerung bei einem Zusatz von 1,4%. Diese Kultur ist jedoch, wie aus den bei gleichem Alter der Kulturen festgestellten Pyknidienzahlen in jedem neu besiedelten Ringe hervorgeht, der Kultur mit dem 1,8%igen Zusatz vorausgeileilt. Aus diesen Feststellungen ergibt sich demnach, daß die durch Samenschalen der Grauen Buntblühenden hervorgerufene Anfangsverzögerung in jedem Ringe vorhanden ist. Sie ist sogar bei *Ascochyta pisi*, dem Pilz, der am wenigsten gehemmt wird, an der Zahl der Pyknidien, die in einem pyknidienfreien Ring erstmalig auftritt, je nach dem Gehalt an Grauer Buntblühender in verschiedener Stärke nachzuweisen.

Auf Grund dieser Tatsachen läßt sich vermuten, daß die Anfangsverzögerung bei *Mycosphaerella*, dem Pilz, der schon auf geringere Mengen von Samenschalen der Grauen Buntblühenden anspricht, noch deutlicher ist. Vergleicht man die auf S. 8 besprochenen Kulturen von diesem Pilz miteinander, so zeigt sich in der Tat, daß dies der Fall ist. Hier ist diese Verzögerung so groß, daß allein die Betrachtung der Zeiten, die bis zum Auftreten von Pyknidien in einem bislang pyknidienfreien Ring vergehen, für eine Charakterisierung genügt. Nur bei einem Zusatz von 0,2% entstehen die Pyknidien gleichzeitig mit denen auf reiner Wunder von Kelvedon-Lösung. Mit Ausnahme des ersten Ringes liegen hier die ersten Pyknidienzahlen stets unter denen der Kontrollkultur. In Tabelle 5 sind die Zeiten angegeben, die vom ersten Auftreten in den fünf hier betrachteten Ringen bei der Kultur auf reiner Wunder von Kelvedon-Lösung bis zum ersten Auftreten der Pyknidien in jedem der fünf Ringe der Kulturen mit den steigenden Zusätzen vergingen. Daraus geht hervor, daß die Pyknidien bei einem Zusatz von nur 0,2% zur gleichen Zeit entstehen wie auf der Kultur ohne Zusatz. Steigt der Gehalt an Grauer Buntblühender, so nimmt auch die Anfangsverzögerung von Kultur zu Kultur zu. Während sie im ersten

<sup>1</sup> Wenn bei einem 1,8%igen Zusatz nach 84 Stunden noch keine Pyknidien im zweiten Ring zu finden waren, so liegt das sicher daran, daß die Pyknidienbildung kurz nach der gewählten Beobachtungszeit begonnen haben mußte, wie die 6 Stunden später festgestellten Pyknidienzahlen zeigen; zu diesem Zeitpunkt waren nämlich 11 Pyknidien vorhanden, in der Kultur mit dem 1,4%igen Zusatz zur gleichen Zeit 21.

Tabelle 5. Verzögerung der Pyknidienbildung in Stunden in 5 aufeinander folgenden Ringen bei 5 Kulturen mit steigenden Zusätzen von Grauer Buntblühender zu einer 1,0%igen Wunder von Kelvedon-Lösung, bezogen auf das erste Auftreten in dieser reinen Wunder von Kelvedon-Lösung.

	1. Ring	2. Ring	3. Ring	4. Ring	5. Ring
1% WvK + 0,2% G	0	0	0	0	0
1% WvK + 0,6% G	6	6	18	18	18
1% WvK + 1,0% G	18	24	30	30	30
1% WvK + 1,4% G	24	30	30	30	30
1% WvK + 1,8% G	30	36	36	42	42

Ring 30 Stunden beträgt, sind es im fünften Ring bis zum Zusatz von 1,8% 42 Stunden.

Aus diesen Beobachtungen ergibt sich also, daß man aus einem Vergleich der Anfangsverzögerung der Pyknidienbildung auf Mischdekokten mit einem reinen Wunder von Kelvedon-Dekokt, teils unter Berücksichtigung der neu in einem Ring aufgetretenen Pyknidien Rückschlüsse auf die Hemmwirkung ziehen kann. Unter vorsichtiger Verallgemeinerung ist man aller Voraussicht nach auf diese Art und Weise in der Lage, durch Auszählen der Pyknidien eines einzigen Ringes bei Vorhandensein einer Hemmwirkung Angaben über den Resistenzgrad einer Erbsensorte machen zu können.

Wir kommen also zu dem Schluß, daß die durch Dekokte der Grauen Buntblühenden in Mischkulturen hervorgerufene Anfangsverzögerung in allen Ringen vorhanden ist. Je nach dem Grade des Zusatzes nimmt sie von innen nach außen entweder noch zu oder bleibt zum mindesten bestehen.

Nach den bisher beschriebenen Versuchen kann nicht mehr daran gezweifelt werden, daß die Ausbreitungsresistenz gegenüber unseren Pilzen auf die chemische Zusammensetzung der Samenschale zurückgeführt werden muß. Da Samenschalen-Dekokte der Grauen Buntblühenden im Gegensatz zu den entsprechenden Kulturen der Sorte Wunder von Kelvedon auf die Pyknidienbildung teils verzögernd, teils hemmend wirken, müssen in den Samenschalen der Grauen Buntblühenden Inhaltsstoffe vorhanden sein, die die Pyknidienbildung zeitlich und mengenmäßig beeinflussen. Um die Ursachen dieser Wirkung zu klären, wurden zunächst zwei Möglichkeiten ins Auge gefaßt: 1. die Hemmwirkung kann ernährungsphysiologisch bedingt sein und zwar entweder auf Grund einer nichtoptimalen Konzentration oder einer ungeeigneten Zusammensetzung der Nährstoffe; 2. die Hemmwirkung kann aber auch auf dem Vorhandensein von keimfeindlich wirkenden Stoffen, also Phytonziden, beruhen, die den Krankheitserreger an seiner Ausbreitung im Wirtsgewebe hemmen. Im folgenden soll versucht werden, ob schon zwischen diesen beiden Möglichkeiten nach den bisherigen Versuchsergebnissen eine Entscheidung zu treffen ist.

Wie aus Abb. 3 hervorgeht, bewirkt eine Erhöhung der Nährstoffkonzentration auf 3% bei beiden Erbsensorten eine dauernde Zunahme der Pyknidienbildung. Das Maximum ist bei diesem Nährstoffgehalt noch nicht erreicht. Wenn ein Mischdekokt von einer Gesamtkonzentration von 3%, bestehend aus einer 1%igen Wunder von Kelvedon-Lösung und einem 2%igen Zusatz der Grauen Buntblühenden, dagegen eine so bedeutende Verminderung der Zahlder Fortpflanzungsorgane

hervorruft, ist es schwer, diese Verminderung mit einem Nährstoffmangel in Verbindung zu bringen. In Abb. 10, einer doppelt dreidimensionalen Darstellung, ist das Verhalten von *Ascochyta pinodella*, wie es sich aus dieser Betrachtungsweise ergibt, dargestellt. Der

untere schraffierte Teil der Darstellung zeigt das bereits bekannte Bild auf einer 1%igen Nährlösung von Wunder von Kelvedon und auf Kulturen mit steigenden Zusätzen von der Grauen Buntblühenden, wobei eine Erhöhung des Gehaltes an Grauer Buntblühender ein dauerndes Absinken der Kurven her-

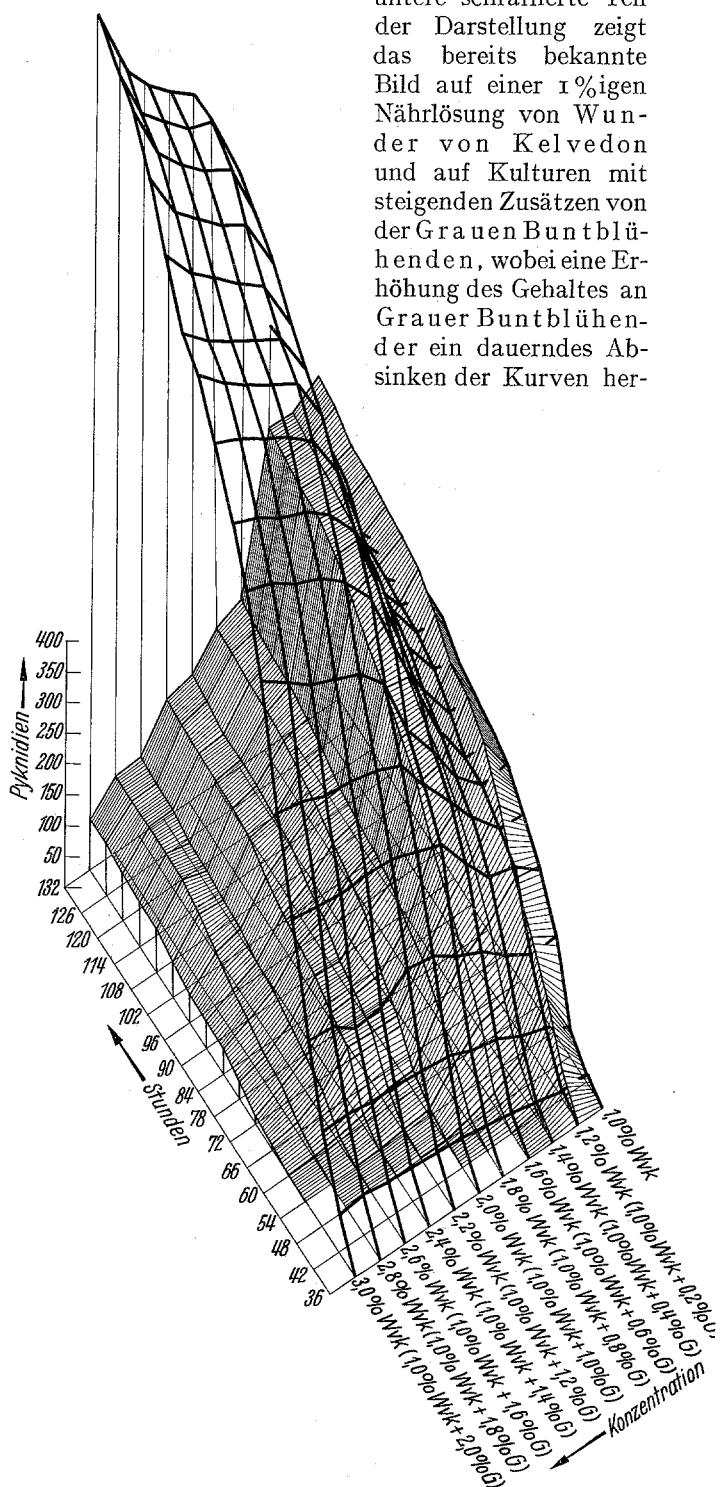


Abb. 10. Doppelte dreidimensionale Darstellung der Pyknidienbildung auf steigenden Konzentrationen von Wunder von Kelvedon (dicke Linien) im Vergleich mit 1%igen Dekokten von Wunder von Kelvedon mit steigenden Zusätzen von Grauer Buntblühender (schraffiert) bei *Ascochyta pinodella*. Die eingeklammerten Zahlen beziehen sich auf die Zusammensetzung der Mischkulturen, während die nicht eingeklammerten Konzentrationen der reinen Wunder von Kelvedon-Lösungen angeben.

vorruft. Mit stärkeren Linien ist die Pyknidienbildung in Abhängigkeit von den Konzentrationen (1—3%) reiner Wunder von Kelvedon-Lösung abgebildet,

Die einzelnen Konzentrationswerte von reiner Wunder von Kelvedon und von den Mischkulturen liegen genau übereinander. Die Kulturen mit gleicher Gesamtkonzentration wurden immer in gleichen Zeitabständen beobachtet, und die Werte sind übereinander auf den gleichen Achsen abgetragen. Diese Gesamtkonzentration setzt sich hier also immer aus einem bestimmten Anteil an Grauer Buntblühender zu einer gleichbleibenden Menge von Wunder von Kelvedon zusammen. Es ergibt sich hieraus, daß von einer Konzentration an, die höher als 1,2% ist, ein deutlicher Unterschied in der Anzahl der entstandenen Pyknidien be-

Reihe sind die Kulturen nach steigenden Konzentrationen von Wunder von Kelvedon geordnet, in der unteren Reihe nach steigenden Zusätzen von Grauer Buntblühender zu einem 1%igen Samenschalenextrakt von Wunder von Kelvedon.

Daß diese Annahme berechtigt ist, geht außerdem aus dem Verlauf der Gesamthemmung hervor. Setzt man nämlich die Pyknidienmenge, die auf einer 1%igen Nährösung von Wunder von Kelvedon gebildet wird, gleich 100 und berechnet danach die Steigerung oder Verminderung der Pyknidien auf den Nährböden mit den Zusätzen an Grauer

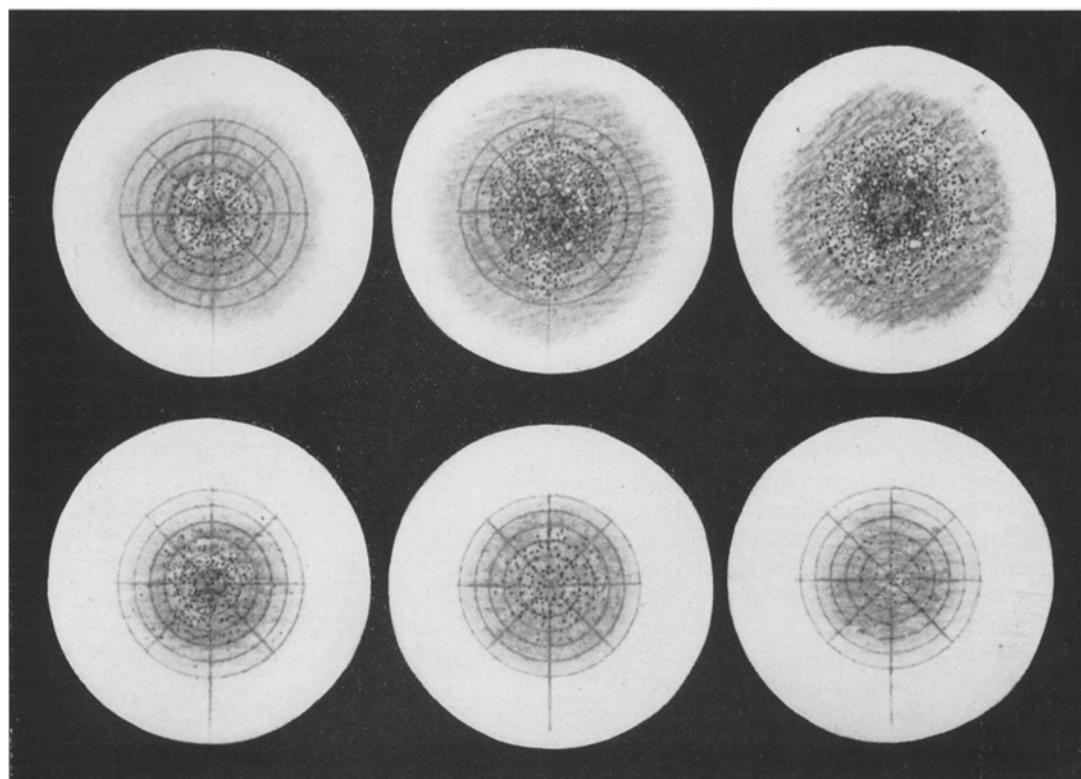


Abb. 11. Gegenüberstellung gleich alter Kulturen (innerer Teil) auf reiner Wunder von Kelvedon-Lösung (obere Reihe) mit Mischkulturen zwischen Wunder von Kelvedon und Grauer Buntblühender gleich hoher Gesamtkonzentration (untere Reihe) bei *Ascochyta pinodella*. Von links nach rechts 1,2%, 2,0% und 2,8% Gesamtkonzentration. Nat. Größe.

steht. Je höher die Konzentrationen werden, um so größer werden auch die Unterschiede. Weichen die Zahlen schon in den ersten Beobachtungsstunden eindeutig voneinander ab, so steigt die Differenz im Laufe der Zeit immer mehr an. Eine Steigerung der Pyknidienbildung ist also von einer bestimmten, noch unteroptimalen Konzentration an mit einem Zusatz der resistenten Sorte nicht mehr möglich. Würde es sich um eine Art Unterernährung handeln, müßte der Kurvenverlauf bei den Mischkulturen die gleiche Richtung haben wie bei den Kulturen auf reiner Wunder von Kelvedon-Lösung, wobei es für unsere Betrachtung zunächst gleichgültig ist, wie weit diese Kurven unter denen von Wunder von Kelvedon liegen würden. Diese Tatsachen sprechen durchaus nicht für eine ungenügende Nährstoffversorgung, sondern für einen in der Samenschale der Grauen Buntblühenden vorhandenen keimwidrigen Stoff, für ein Phytonzid.

In Abb. 11 sind einige dieser Kulturen, wie sie nach dem Abbrechen der Beobachtung und anschließendem Trocknen aussahen, gegenübergestellt. In der oberen

Buntblühender, so erhält man die folgenden Abbildungen.

Bei *Mycosphaerella* (Abb. 12) erreichen die Pyknidien auf einem Nährboden mit einem 0,1%igen Zusatz außerordentlich schnell ihre optimale Ausbildung, nämlich bereits nach 48 Stunden vom Beginn der Kultur an gerechnet (nach 24 Stunden waren noch keine Pyknidien festzustellen!). Eine Hemmwirkung scheint hier nicht vorzuliegen. Verfolgt man den Verlauf der Kurve jedoch weiter, so zeigt sich, daß nach etwa 108 Stunden eine Hemmung auftritt und langsam zunimmt. Ähnliches gilt auch für einen 0,2%igen Zusatz, nur daß das Optimum 6 Stunden später liegt, die Hemmung aber eher auftritt. Diese wird schon nach etwa 90 Stunden sichtbar. Erhöht sich der Zusatz auf 0,4%, so ist das Optimum weiter verschoben; erst nach 72 Stunden ist es erreicht, die gebildete Pyknidienmenge bleibt dauernd unter der Kontrolle. Entsprechend verhält sich auch die Kultur mit dem 0,5%igen Zusatz, doch ist das Optimum um weitere 6 Stunden verschoben. Bei noch größeren Zusätzen bleiben die Kurven schon anfang

wesentlich unter der Grenze von 100 %. Das Optimum erscheint immer später und ist bei 1,2 % Zusatz erst nach 126 Stunden Kulturdauer erreicht. Noch größere Zusätze führten während der Zeit, in der die Kulturen beobachtet wurden, überhaupt nicht mehr zu opti-

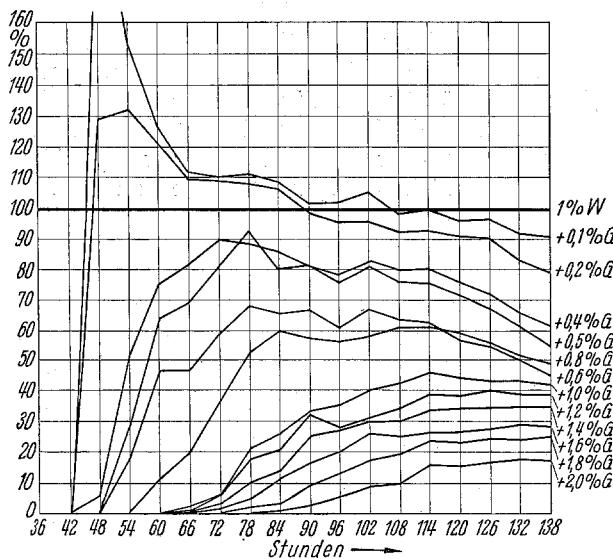


Abb. 12. Prozentuale Hemmung bzw. Steigerung der Pyknidienbildung auf Mischkulturen bei *Mycosphaerella*, bezogen auf eine 1,0%ige W und der von Kelvedon-Lösung.

maler Ausbildung. Wir kommen also zu der Feststellung, daß bei allen Kulturen die Pyknidienbildung auf jeden Fall eine Hemmung erfährt. Sie zeigt sich bei geringen Zusätzen erst bei längerer Kulturdauer durch eine immer geringer werdende Pyknidienbildung im Vergleich mit der ungehemmten Entstehung auf reiner Wunder von Kelvedon-Lösung. Bei den höheren Zusätzen verschiebt sich das Optimum, und die Entstehung geht je nach dem Grade des Zusatzes schon von Anfang an wesentlich langsamer vor sich.

Da *Ascochyta pinodella* weniger auf das Phytonzid reagiert, müssen die entsprechenden Kurven über den eben besprochenen liegen. Die Kurven in Abb. 13

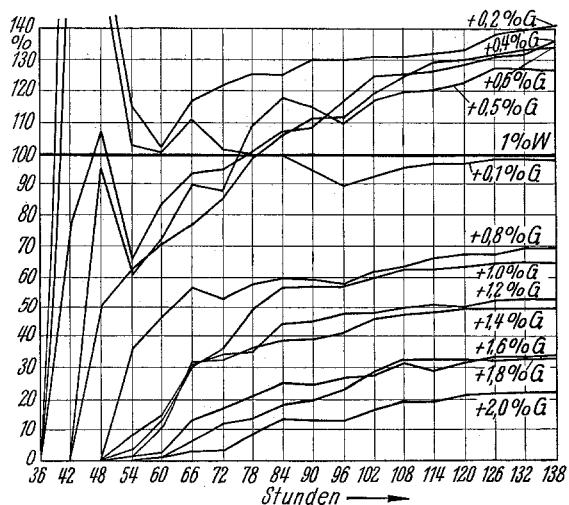


Abb. 13. Prozentuale Hemmung bzw. Steigerung der Pyknidienbildung auf Mischkulturen bei *Ascochyta pinodella*, bezogen auf eine 1,0%ige W und der von Kelvedon-Lösung.

haben auch den erwarteten Verlauf. Die anfängliche Überlegenheit der Nährböden mit den geringsten Zusätzen von Grauer Buntblühender macht sich noch stärker bemerkbar als bei *Mycosphaerella*. Bei einem Zusatz von 0,1 % ist bereits nach 42 Stunden ein

Optimum ausgebildet. Nach 60 Stunden unterscheidet sich die Pyknidienbildung nur noch gering von der der Kontrolle. Auch bei dem Zusatz von 0,2 % ist zur gleichen Zeit ein Optimum vorhanden. Allerdings liegt es wesentlich höher als bei 0,1 % Zusatz. Diese Kurve steigt jedoch am stärksten von allen an. Wird der Zusatz noch größer, bleibt die spätere Pyknidienbildung dauernd unter der des 0,2%igen Zusatzes, jedoch bis 0,6 % Zusatz über der Kontrolle. Erst wenn sich die Menge der Samenschalen auf 0,8 % erhöht hat, wird kein Optimum mehr ausgebildet und der Verlauf der Kurven bleibt ständig unter denen der Kontrolle.

Aus Abb. 14, welche die prozentuale Steigerung bzw. Hemmung für *Ascochyta pisi* wiedergibt, geht bei

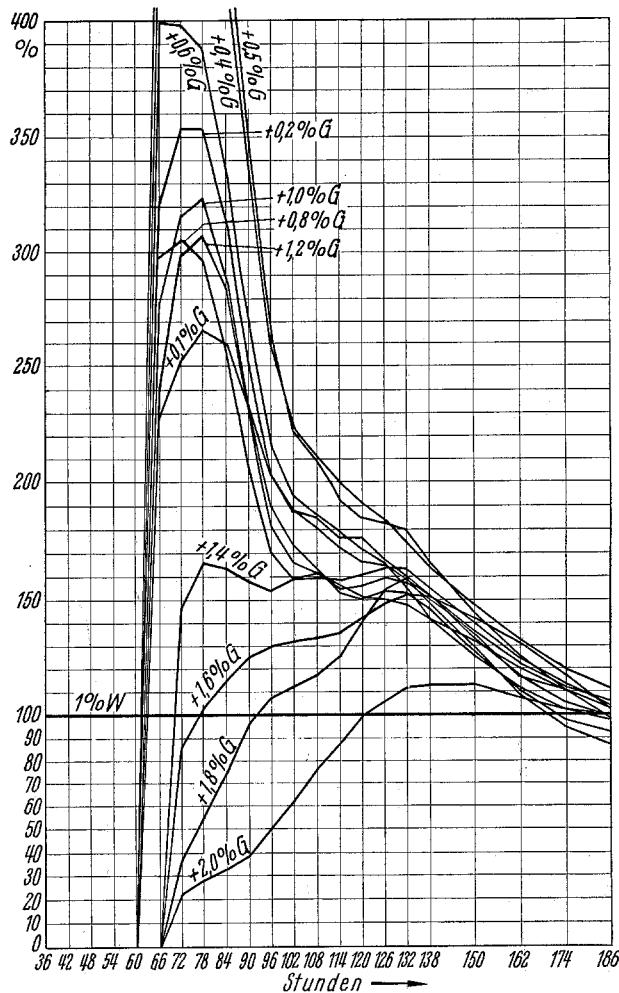


Abb. 14. Prozentuale Hemmung bzw. Steigerung der Pyknidienbildung auf Mischkulturen bei *Ascochyta pisi*, bezogen auf eine 1,0%ige W und der von Kelvedon-Lösung.

einem Vergleich mit den beiden vorhergehenden Darstellungen hervor, daß sämtliche Kurven ganz erheblich höher liegen. Es handelt sich ja auch, wie wir schon des öfteren gefunden haben, um die Art, bei der sich eine Beeinflussung am wenigsten auf die Pyknidienbildung auswirkt. Hier wird bei allen Konzentrationen ein z. T. sehr hohes Optimum erreicht. Es liegt bei den niedrigen Konzentrationen (0,1 und 0,2 % Zusatz) sogar später als bei den höheren. Bei einem Zusatz von 1 % liegt es bei 78 Stunden. Bei noch größeren Mengen wird es auch hier immer weiter verschoben. Selbst ein Zusatz von 2 % erlaubt, zwar nur für eine relativ kurze Zeit, eine schnellere Ausbildung als eine reine Wunder von Kelvedon-Lösung. Wesent-

lich ist weiterhin noch, daß die Kurven bei einem Zusatz von 0,1 bis 1,2% außerordentlich schnell abfallen und nach einer gewissen Zeit gar nicht wesentlich voneinander abweichen. Eine Hemmwirkung ist demnach auch hier vorhanden, sie zeigt sich jedoch verspätet, nach einer anfänglichen bedeutenden Steigerung.

Wie lassen sich diese Tatsachen nun mit der Wirkung eines antimikrobiellen Stoffes in Einklang bringen? Wenn man bedenkt, daß den Pilzen durch einen Zusatz von Samenschalen der Grauen Buntblühenden nicht nur ein solcher Stoff, sondern gleichzeitig auch noch andere in der Samenschale enthaltende Bestandteile zugeführt werden, die in der Hauptsache Nährstoffe sein dürften, so wird sich diese Nährstoffsteigerung ebenfalls auswirken müssen. Sie wird auch positiv sein können, da, wie wir ja gesehen haben, ein 1%iger Dekokt von Wunder von Kelvedon durchaus unteroptimal für die Pyknidienbildung ist. Ist diese Deutung aber richtig, so wird man gleichzeitig ein verschieden starkes Nährstoffbedürfnis für die Pyknidienbildung annehmen müssen. *Mycosphaerella* wäre dann der Pilz, der die geringsten Nährstoffansprüche stellt, *Ascochyta pisi*, der die meisten Nährstoffe benötigt, während *Ascochyta pinodella* in der Mitte stände. Versuchen wir die Abbildungen 12 bis 14 einmal in dieser Weise zu deuten:

Bei *Mycosphaerella* ist bei einem Zusatz von 0,1% deshalb zunächst keine Hemmwirkung vorhanden, weil erstens die zugeführte Menge des Phytonzids bei dieser Konzentration nur gering ist und weil sich zweitens die zusätzlichen Nährstoffe aus dieser Konzentration auf die Ausbildung der Pyknidien auswirken können. Sinkt aber die vorhandene Nährstoffmenge, die ja hier nur minimal sein kann, so entfaltet sich die Hemmwirkung, und die Pyknidienbildung muß abnehmen. Bei einem 0,2%igen Zusatz liegen die Verhältnisse ähnlich, jedoch wird die Hemmwirkung eher auftreten, da die zugeführte Menge größer sein muß. Bei noch weiter gesteigertem Gehalt an hemmstoffenthaltender Samenschale reicht die Nährstoffmenge nicht mehr aus, um die Pyknidienbildung noch so stark werden zu lassen wie auf der Kontrolle allein. Je höher die Menge des Phytonzids bei den noch höheren Konzentrationen ist, um so früher muß sie sich dann auch bei der Steigerung der Pyknidienbildung auswirken und wird daher das Optimum immer mehr verschieben müssen, bis die zugeführte Menge dieses Stoffes so groß geworden ist, daß auch die höchste Konzentration von Nährstoffen nicht mehr zur Wirkung kommen kann. Daher wird auch ein Optimum bei den höchsten Konzentrationen gar nicht mehr auftreten. Gut in Einklang bringen läßt sich aber nun auch damit die Beobachtung über die Pyknidienbildung in den inneren Ringen einer Kultur und das immer wieder festgestellte Abnehmen nach außen. Man erhält dadurch sogar noch einen besseren Einblick in die Vorgänge, die zur Entstehung der Pyknidien führen. Aus Tabelle 2 hatten wir entnehmen können, daß in den ersten beiden Ringen eine schnellere Pyknidienentwicklung vorhanden war, und daß ein Absinken erst langsam, dann verstärkt eintrat. Die auffällige Steigerung im ersten Ring und das rasche Absinken im zweiten Ring kann nur so erklärt werden, daß die zur Verfügung stehenden Nährstoffe sehr schnell aufgebraucht werden und im zweiten Ring weniger vorhanden sind und aus diesem Grunde ein schnelles Ab-

sinken auch in den folgenden Ringen stattfinden muß. Hinzu kommt natürlich noch die relative Anreicherung des Phytonzids in den an Nährstoffen ärmer gewordenen Medien. Auf eine andere Komponente, die dabei wahrscheinlich noch mit im Spiele ist (vgl. S. 20), kommen wir noch später zurück.

Bei *Ascochyta pinodella* ist die Hemmwirkung gleicher Konzentrationen wie oben wohl deshalb geringer, weil, wie wir angenommen haben, dieser Pilz etwas höhere Nährstoffansprüche stellt. Die primäre Wirkung auf die Pyknidienbildung wird sicher wie auch bei den anderen beiden Pilzen von den Nährstoffen ausgehen! Bei der geringsten Konzentration stellt sich nach vorübergehender Steigerung durch die zusätzlichen Nährstoffe und folgender Hemmwirkung durch das Phytonzid schließlich ungefähr ein Gleichgewicht ein. Bei einem Zusatz von 0,6% ist die Wirkung der Nährstoffe stärker als die Hemmwirkung. Diese muß aber auch hier vorhanden sein, wie ein Vergleich mit der Dichte in den ersten Ringen ergibt (vgl. Tabelle 3). Sie fällt hier bei den Kulturen mit den Zusätzen von 0,2 und 0,6% schneller ab als bei der Kontrolle. Bei der ersten Kultur wird im fünften Ring fast der Wert der Kontrolle erreicht, und bei der zweiten Kultur wird im vierten Ring der Wert etwas unterschritten. Bei den höheren Konzentrationen überwiegt eindeutig die Hemmwirkung.

Bei *Ascochyta pisi*, dem Pilz, der für die Pyknidienbildung die meisten Nährstoffe benötigt<sup>1</sup>, bewirkt eine Steigerung der Zusätze bis zu 0,5% eine Zunahme der Pyknidienbildung. Eine Hemmwirkung muß hier aber bald eintreten, da die wenigen zugeführten Nährstoffe bei den niedrigeren Konzentrationen auch wieder rasch verbraucht werden. Das schnelle Absinken der Kurven läßt sich auf diese Weise zwangslässig erklären. Die hohe Dichte in den drei ersten Ringen, die geringe in den folgenden Ringen ist ein weiterer Beweis in dieser Richtung (z. B. bei der Kultur mit dem 1%igen Zusatz von einer Dichte von 19,67 im dritten Ring auf 11,23 im vierten Ring und 1,66 im fünften Ring). Das Verschieben des Optimums und die vorübergehende stärkere Pyknidienbildung bei den höchsten Zusätzen wird nun auch hier leicht verständlich.

Wir sind also zu der Annahme berechtigt, daß die verringerte Pyknidienbildung nicht allein auf der Wirkung eines Phytonzids, sondern auf dem Zusammenwirken mit der vorhandenen Nährstoffmenge in der Samenschale der Grauen Buntblühenden beruht. Die Wirkung dieses Phytonzids kann dadurch zeitweise überdeckt werden.

Die Pyknidienbildung erstreckte sich bei allen bisherigen Versuchen über einen langen Zeitraum. Unsere Bemühungen waren daher von Anfang an darauf gerichtet, ein Kulturverfahren zu finden, das diese Zeitspanne abkürzt. Eine Kultur z. B. von *Mycosphaerella* gelingt auch auf Nährböden geringerer Konzentration. Bei einer Konzentration von nur 0,1%

<sup>1</sup> Daß *Ascochyta pisi* tatsächlich höhere Konzentrationen zur Ausbildung der Pyknidien benötigt, geht u. a. aus Versuchen hervor, bei denen dieser Pilz auf Dekokten niedriger Konzentrationen kultiviert wurde. Bei einem 0,5%igen Wunder von Kelvedon-Dekokt wurde die an sich schon langsame Bildung der Pyknidien, abgesehen von der geringen Menge, gegenüber der 1%igen Kontrolle noch um 24 Stunden verzögert.

Wunder von Kelvedon hört dabei die Bildung der Pyknidien vollkommen auf. Es entstehen zwar auf einem Nährboden mit einer so geringen Nährstoffmenge noch Chlamydosporen und einige wenige Pseudothecien. Diese Organe lassen sich aber leicht an ihrer Form erkennen und stören eine spätere Beobachtung nicht. Auf Myzelien, die auf solchen für die Pyknidiensbildung unteroptimalen Nährböden kultiviert worden sind, läßt sich aber eine außerordentlich schnelle Bildung dieser Organe hervorrufen. Überträgt man nämlich ein solches mit Myzel bewachsenes Blatt Filtrierpapier in eine frische höherprozentige Nährösung, so bringt dieses „umgepflanzte“ Myzel innerhalb kürzester Zeit eine große Menge Pyknidien hervor. Die gesamte Entwicklung auf diesem Myzel wird nun auf ganz wenige Stunden zusammengedrängt. Die Ausbildung der Pyknidien ist nach 60 Stunden, also zu einer Zeit, wo sie unter gewöhnlichen Bedingungen gerade erst im zweiten Ring in Gang gekommen war, bereits abgeschlossen.

Mit *Mycosphaerella* wurden am 7. 5. 1951 acht Nährböden einer 1,0%igen Nährösung von Wunder von Kelvedon beimpft. Nach genau 240 Stunden wurde jede dieser Kulturen nach vorausgegangener Kontrolle verpflanzt. Eine Kultur wurde als Kontrolle auf eine

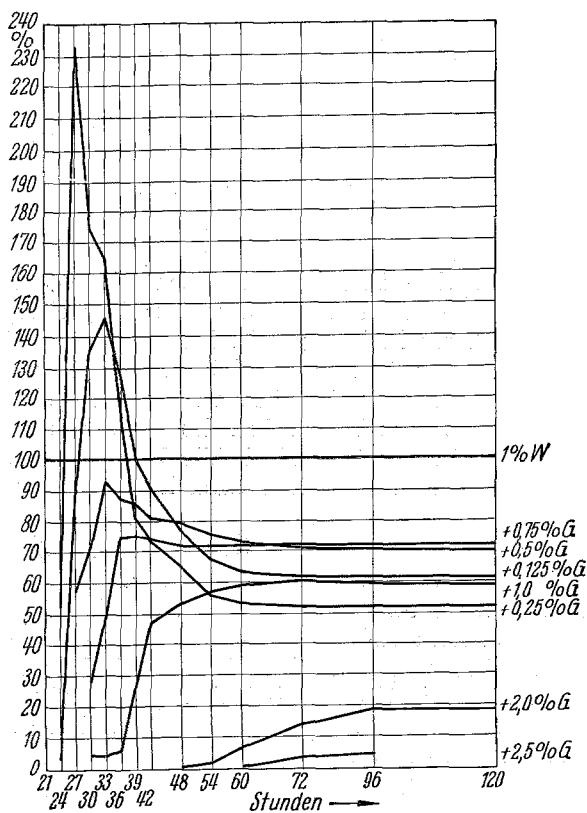


Abb. 15. Prozentuale Beeinflussung der Pyknidiensbildung aus einem Um-pflanzversuch mit *Mycosphaerella pinodes*, bezogen auf eine 1,0%ige gleichfalls umgepflanzte Kultur auf reiner Wunder von Kelvedon-Lösung.

1,0%ige Lösung von Wunder von Kelvedon übertragen, die anderen auf Dekokte, denen Samenschalen von der Grauen Buntblühenden in steigender Konzentration zugesetzt waren. Die Menge des zugefügten Samenschalenpulvers ergibt sich aus Abb. 15.

In besonders überzeugender Form trat die in allen bisherigen Versuchen gefundene anfängliche Verzögerung auf Dekokten mit Zusatz an Grauer Buntblühender auf. Nach einem Zeitraum von nur 24 Stun-

den nach dem Verpflanzen hatten sich hier sowohl als auch bei den ersten beiden Kulturen mit den Zusätzen die ersten Pyknidien gebildet. Aber schon jetzt war ein deutlicher Unterschied zu erkennen. Bei einem Zusatz von 0,25% waren mehr gebildet worden als bei einer nur halb so starken Konzentration. Diese Überlegenheit wurde nach 27 Stunden noch wesentlich größer, dann jedoch nahm die Bildung sehr schnell ab, und nach 39 Stunden wurden weniger als bei der Kontrolle gebildet. Nach wenig mehr als 60 Stunden war die Entstehung dieser Organe vorüber und hatte einen Wert von 52% der Kontrolle erreicht. Die Kultur mit dem geringeren Zusatz zeigte ein späteres Optimum bei 30 Stunden, fiel dann zwar auch, allerdings nicht ganz so stark ab. Der nächsthöhere Zusatz bewirkte eine weitere Anfangsverzögerung um 3 Stunden; die Anzahl in der Kontrollkultur wurde aber nicht mehr erreicht, der Endwert ist noch um etwa 10% höher. Die folgenden Kulturen lassen eine weitere Verzögerung erkennen. Ein Optimum ist nur noch undeutlich ausgebildet. Die Kulturen mit dem höchsten Anteil an Grauer Buntblühender beginnen mit ihrer Pyknidiensbildung erst nach 48 bzw. 60 Stunden Verpflanzzeit.

Ein Ineinanderreihen von Hemmwirkung und Zufuhr zusätzlicher Nährstoffe vermag auch hier die unterschiedliche Pyknidiensbildung zu erklären. Die beiden Kulturen mit anfänglich schnellerer Pyknidiensbildung und dafür aber um so beschleunigterem Absinken zeigen eine anfängliche Stimulierung durch Nährstoffzufuhr und anschließend eine Wirkung des Phytonzids. Bei den anderen Kulturen reichen die Nährstoffe nicht aus, obwohl sie in größerer Menge vorhanden sind, die Hemmwirkung wieder wett zu machen. Die Umpflanzmethode erlaubt also, nach einer Vorkultur die Wirkung des Phytonzids auf die Pyknidiensbildung in wesentlich kürzerer Zeit festzustellen.

Dieser Versuch bestätigte mit einer „eleganteren“ Kulturtechnik noch einmal die gefundenen Tatsachen. Entscheidend bei dieser Versuchsanstellung war, daß der Pilz auf einem nährstoffarmen Nährboden vorkultiviert und dann nach einem längeren fast vegetativen Wachstum in andere Kulturbedingungen verpflanzt wurde. Dieses bequeme Verpflanzen ganzer Kulturen gab uns darüber hinaus neue experimentelle Möglichkeiten für unsere Fragestellung. So können wir z. B. Pilze in den verschiedensten Entwicklungsphasen beliebig oft auf verschiedenen konzentrierten Dekokten der beiden Erbsensorten übertragen. Mit Hilfe dieser Methode, die das Substrat zu wechseln gestattet, ließ sich das Vorhandensein eines Phytonzids nicht nur noch wahrscheinlicher machen, sondern es ergaben sich außerdem auch wichtige Anhaltspunkte für seine Wirkungsweise.

In Abb. 16 sind Versuche mit *Mycosphaerella* dargestellt, bei denen Kulturen, die teils auf Wunder von Kelvedon, teils auf Grauer Buntblühender kultiviert wurden, zu verschiedenen Zeiten auf Nährböden der anderen Sorte verpflanzt wurden. Diese Verpflanzung des gleichen Myzels konnte teilweise sogar wiederholt vorgenommen werden. Da es bei der Filtrierpapiermethode leicht möglich ist, die Kulturen zu trocknen, wurden diese Kulturen nach dem Trocknen fotografiert und sind als natürliche Protokolle in Abb. 17 in derselben Reihenfolge, wie sie im folgenden be-

sprochen werden, wiedergegeben. Dabei ist zu beachten, daß das weiße Luftmyzel, welches sich auf der

grau und nicht weiß wie bei den im Leben aufgenommenen Kulturen von Abb. 1<sup>1</sup>.

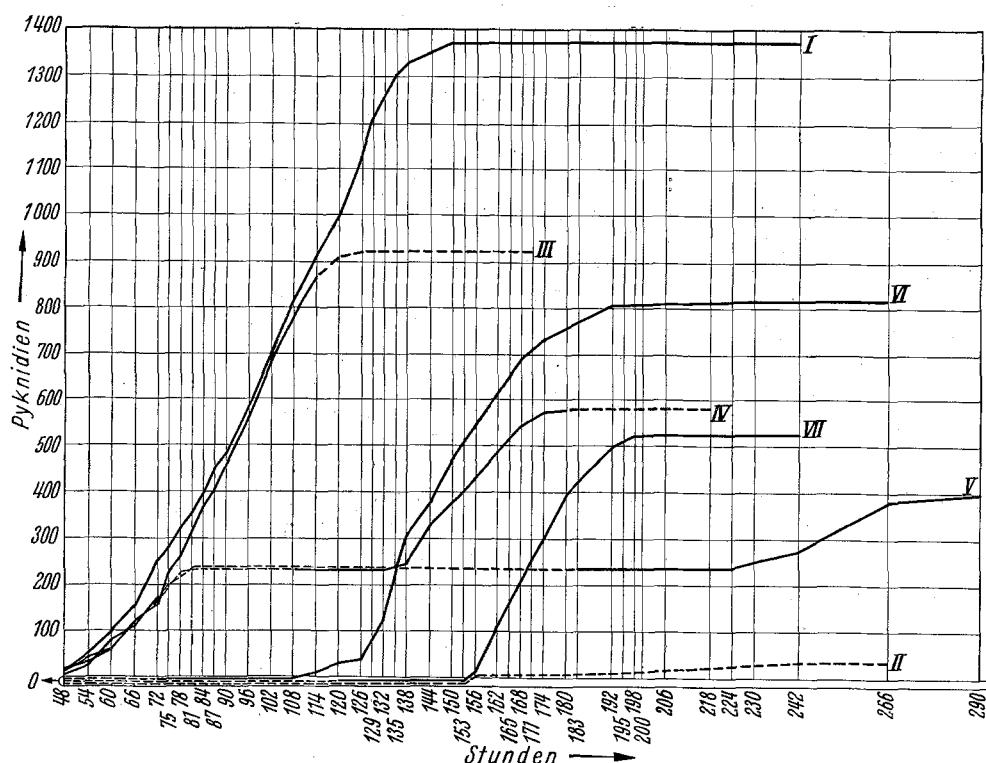


Abb. 16. Verlauf der Pycnidienbildung bei Wechselkultur auf Wunder von Kelvedon (—) und Grauer Buntblühender (- - -) bei *Mycosphaerella pinodes*. Weitere Erklärungen im Text.

Grauen Buntblühenden bildet, nach dem Trocknen eine graue Farbe annimmt. In Abb. 17 sind daher die Zonen mit reicher Luftmyzelbildung

Kultur auf der Grauen Buntblühenden, welche der Kultur II in Abb. 16 entspricht, nicht mit abgebildet (vgl. dazu Abb. 1 unten links).

<sup>1</sup> Aus diesem Grunde ist in Abb. 17 die normale

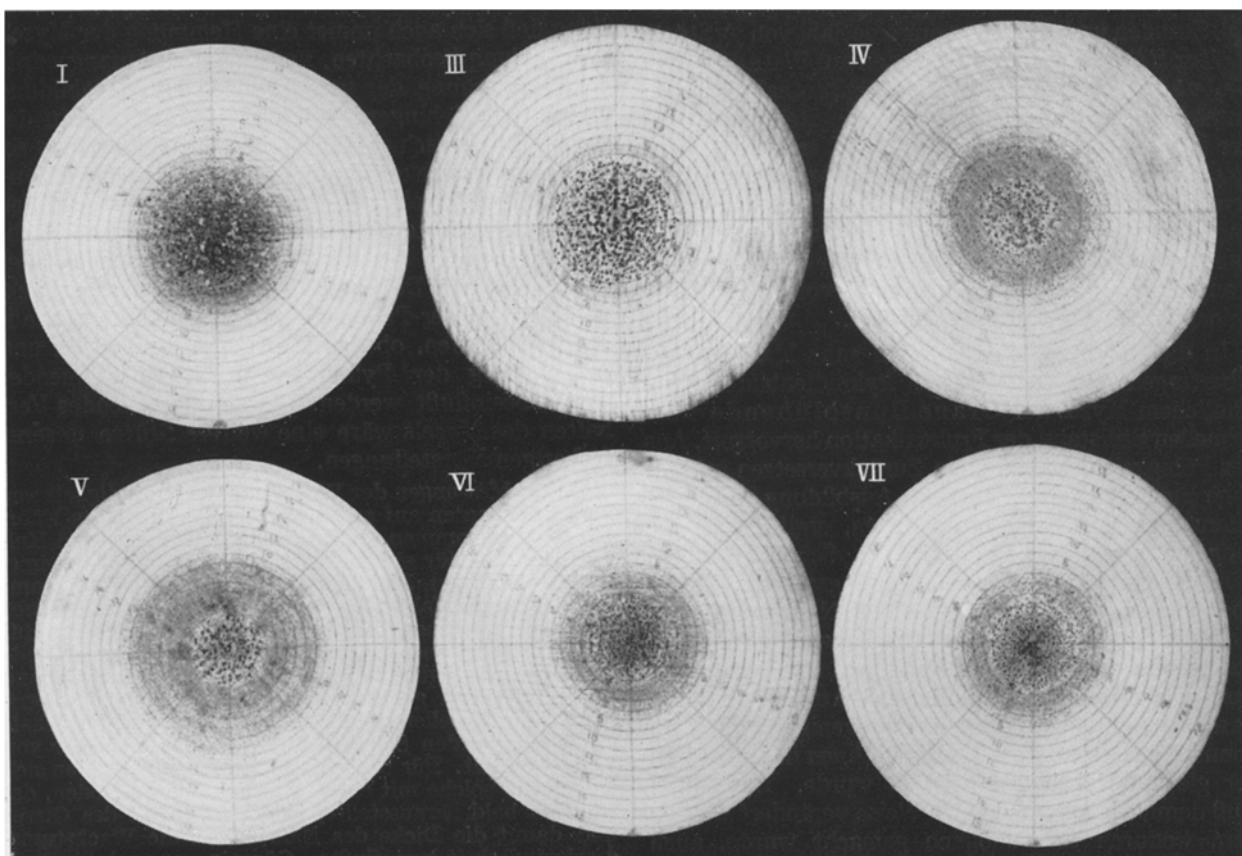


Abb. 17. Fotografische Wiedergabe der getrockneten Wechselkulturen zwischen Wunder von Kelvedon und Grauer Buntblühender. Nähere Erklärungen im Text. Etwa  $\frac{1}{2}$  nat. Größe.

den vermehrte sich die Zahl der Pyknidien noch um 51. Doch dann wurde die Zunahme immer geringer und hatte 15 Stunden nach dem Verpflanzen vollkommen aufgehört. Die zu diesem Zeitpunkt erreichte Pyknidienzahl von 232 wäre sicher dauernd erhalten geblieben, wenn nach 108 Stunden Gesamtkulturdauer nicht ein zweites Verpflanzen auf Wunder von Kelvedon vorgenommen worden wäre. 30 Stunden danach hatte die Pyknidienbildung von neuem begonnen: Während nach 24 Stunden die Kultur noch gänzlich unverändert war, waren 6 Stunden danach 11 Pyknidien dazugekommen. Von da ab nahm ihre Menge ständig zu. Durch erneutes Umpflanzen auf Graue Buntblühende gelang es, eine nochmalige Unterbrechung zu erzielen. Bei dieser Kultur ist auf dem getrockneten Filtrerpapierblatt besonders die Zeit des Verbleibens auf Grauer Buntblühender sehr gut durch die verstärkte Lufthyphenbildung in Form eines grauen Ringes, der auch wenig Pyknidien enthält, markiert. Die nächste Kultur V unterschied sich von der eben besprochenen in der Anfangsbehandlung nicht, sie wurde aber 111 Stunden lang auf der Grauen Buntblühenden gelassen und erst dann auf Wunder von Kelvedon verpflanzt. Die wesentlich breitere Zone mit verstärkter Luftmyzelbildung läßt sich auch noch nach dem Trocknen gut unterscheiden. Es dauerte in diesem Fall 47 Stunden, bis neue Pyknidien gebildet wurden. Ihre Bildung ließ sich auch noch einige Zeit verfolgen, doch blieb sie zahlenmäßig hinter der vorigen Kultur zurück.

Die übrigen Kulturen befanden sich von Anfang an auf Grauer Buntblühender. In Kultur II, bei der kein Wechsel auf Wunder von Kelvedon vorgenommen wurde, begann die Pyknidienbildung erst nach 156 Stunden und erbrachte nur eine Zahl von 33 Stück. Kultur VI wurde nach 72 Stunden auf Wunder von Kelvedon übertragen. Bis zum Beginn der Pyknidientstehung vergingen 42 Stunden. Sieht man von der Kontrollkultur und Kultur III mit 1377 bzw. 924 Pyknidien ab, so wurde hier die höchste Zahl erreicht, nämlich 810. Kultur VII schließlich wurde nach 120 Stunden verpflanzt. In diesem Fall dauerte es 36 Stunden, bis die Pyknidienbildung in Gang kam. Mit einer Gesamtzahl von 523 blieb sie jedoch hinter der Kultur VI zurück.

In diesen Versuchen zeigt sich ganz klar, daß ein Übertragen von in lebhafter Pyknidienbildung befindlichem Myzel auf Graue Buntblühende einen schnellen Stillstand der Fruktifikation hervorruft. Aus der Fähigkeit des Pilzes, ein Zurückversetzen in günstige Bedingungen mit erneuter Ausbildung von Fortpflanzungsorganen zu beantworten, ergibt sich eine fungostatische Wirkung des Stoffes. Schon 6 Stunden Einwirkung genügen für eine Verlangsamung. Durch abermaliges Verpflanzen auf einen Nährboden ohne Hemmwirkung wird der Einfluß rückgängig gemacht, aber eigenartigerweise nicht vollkommen. Je länger das Myzel unter dem Einfluß der Grauen Buntblühenden gestanden hat, um so weniger Pyknidien konnten später entstehen, obwohl ihnen in jedem Fall der gleiche Nährboden geboten wurde. Das Myzel muß demnach in irgend einer Weise verändert worden sein, wodurch es unmöglich gemacht wurde, auch später unter normalen günstigen Bedingungen in den alten Zustand zurückzukehren.

Über die Art der Einwirkung lassen sich vorläufig nur Vermutungen anstellen. Es ist möglich, daß irgendwie, vielleicht durch Änderungen der chemischen und physiologischen Eigenschaften der Hyphenwand unter dem Einfluß des Phytonzids die Nährstoffe nicht mehr so gut aufgenommen werden können bzw. die Wand für einige Stoffe weniger durchlässig wird. Für eine solche nicht wieder rückgängig zu machende Wirkung würde vor allem die wiederholte Verpflanzung sprechen, wobei weitere Mengen des hemmenden Stoffes die Wand von Mal zu Mal undurchlässiger machen. Damit ließe sich aber auch die Tatsache erklären, daß die Pyknidienbildung in den einzelnen Ringen bei Zusätzen von Grauer Buntblühender schneller als bei einem Nährboden ohne Zusatz, zumal in den weiter außen liegenden Ringen, abnimmt. Die Bildung der Pyknidien würde also nicht nur durch eine Abnahme der Nährstoffe während der Dauer der Kultur und einer dadurch bedingten relativen Anreicherung des Phytonzids beeinflußt werden, sondern auch durch eine bei höheren Konzentrationen sich immer stärker geltend machende Erschwerung in der Aufnahme der Nährstoffe durch die Hyphen. Sobald die Hyphen in verschiedenem Grade, je nach der Menge dieses Stoffes, undurchlässiger werden, dürfte eine Pyknidienbildung nur noch in begrenztem Umfange oder gar nicht mehr möglich sein. Wie gesagt, handelt es sich hier zur Zeit nur um eine Arbeitshypothese. Auf jeden Fall steht aber fest, daß eine sechsständige Einwirkung von Samenschalendekokt der Grauen Buntblühenden genügt, um eine Hemmung hervorzubringen, daß die Hyphen dabei eine irreversible Veränderung erfahren und die Wirkung fungostatisch ist.

Neben einer Hemmwirkung auf die Pyknidienbildung ließ sich auch immer eine Hemmung der Myzelentwicklung beobachten, und schon zu Anfang wurde bei Besprechung der verschiedenen Myzelausbildung (S. 6) darauf hingewiesen, daß Unterschiede in der Ausbreitungsgeschwindigkeit bestehen. Es schien so, als ob auf den Dekokten der Grauen Buntblühenden sich die Hyphen langsamer als auf den Dekokten der anderen Sorte ausbreiteten. Zur genaueren Nachprüfung wurden deshalb Wachstumsmessungen aller drei Pilze auf Dekokten beider Erbsensorten ausgeführt. Bei der Prüfung dieser Frage kam es darauf an, festzustellen, ob das Wachstum des Myzels und die Bildung der Pyknidien in übereinstimmender Weise beeinflußt werden. Eine entsprechendes Verhalten des Myzels wäre eine weitere Stütze unserer bisherigen Vorstellungen.

Diese Messungen der Wachstumsgeschwindigkeit von Myzelien wurden auf mit 1,2% Agar verfestigten Nährböden vorgenommen. Vergleichende Messungen an Kulturserien, die für ein und dieselbe Kultur nur zweimal und zwar das erste Mal kurz nach Beginn des Wachstums und das zweite Mal bei Erreichen des Schalenrandes einer Kultur einer solchen Serie ausgeführt wurden, reichten für unsere vergleichenden Betrachtungen keineswegs aus. Jede Kultur wurde täglich bei einem gleichbleibenden Abstand von 24 Stunden gemessen. Da in den üblichen Petrischalen die Myzelien ziemlich schnell den Rand der Schale erreichen, wurden Schalen mit einem Durchmesser von 14 cm gewählt. Für brauchbare Messungen eigneten sich jedoch nur solche mit einem wirklich ebenen Boden, da, wie sich bald herausstellte, jede Unebenheit des Glases und damit die Dicke des Nährbodens die Wachstumsgeschwindigkeit beeinflußte. Günstig war auch hier, wie Vorversuche ergaben, eine Nährbodenmenge von 40 cm<sup>3</sup> pro Schale. Die Zubereitung der Nährböden erfolgte ähn-

lich wie auf S. 5 beschrieben wurde, nur mit dem Unterschied, daß nach dem Sterilisieren filtriert,  $40 \text{ cm}^3$  der Nährösung abpipettiert, die jeweils benötigte Agarmenge hinzugegeben und nochmals sterilisiert wurde. Das Bepinnen erfolgte in der gleichen Weise.

Das Myzel breitete sich in einer Agarkultur vollkommen kreisförmig aus. Die Räden mit einem Maßstab zu messen, wie allgemein üblich, war zu ungenau. Mit Hilfe eines Planimeters wurden die Flächen, die das Myzel täglich im Agar einnahm, bestimmt. Während des Messens — das Planimeter stand dabei auf einer Platte, die ebenso hoch wie die Schale war — wurden die Kulturen von unten her durch eine Mattscheibe hindurch beleuchtet. Zwischen Lichtquelle und Mattglasscheibe war auch hier wieder eine Wärmestrahlung absorbierende Glaspalte eingeschaltet worden, um während des Messens Temperaturänderungen im Nährboden zu vermeiden. Das Messen selbst geschah auf der umgedrehten Schale. Aus der Differenz der Räden, die sich aus den Flächenunterschieden des Myzels an zwei aufeinander folgenden Tagen berechnen ließen, wurde die Wachstumsgeschwindigkeit für jeden Tag in  $\mu/\text{min}$  errechnet.

Das Wachstum unserer Pilze verläuft nicht vollkommen gleichmäßig. Es sind gewisse Schwankungen vorhanden, die uns aber in diesem Zusammenhang nicht interessieren. Für unsere Betrachtungen ist vor allem der Wachstumsverlauf über mehrere Tage wesentlich. Durch Ausgleichsrechnung wurden jeweils die Werte von drei (Abb. 19 und 20) bzw. fünf

(Abb. 21, 22 und 23) aufeinander folgenden Tagen zusammengefaßt. Daß diese Methode anwendbar ist, geht aus einem Vergleich der Abweichungen (der tatsächlich gefundenen Werte) vom Mittel-

wert an je vier Kulturen von zwei gleichzeitig gemessenen Kulturserien hervor, die diese während

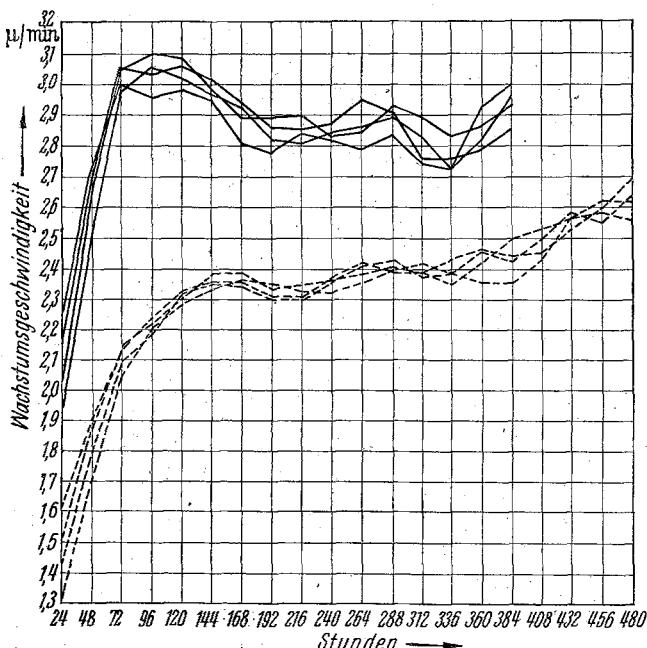


Abb. 18. Abweichungen der Wachstumsgeschwindigkeit vom Mittelwert bei je vier Kulturen auf einem 1%igen Dekokt von Wunder von Kelvedon (—) und auf einem 1%igen Dekokt der Grauen Buntblühenden (---) bei *Ascochyta pinodella*.

ihres gesamten Wachstumsverlaufes überhaupt zeigten. In Abb. 18 sind die Plus- und Minusvarianten in ihrer

Häufigkeitsverteilung dargestellt. Sie wurden in die Klassen  $-5$  bis  $+5$  eingeteilt, wobei jede Klasse einen Bereich von  $0,05 \mu$  umfaßt.

Betrachten wir zunächst den Wachstumsverlauf bei *Mycosphaerella*. Abb. 19 gibt die Wachstumsgeschwindigkeit von zwei Kulturserien wieder. Vier Kulturen auf einem 1%igen Dekokt von Wunder von Kelvedon und vier auf einem ebenfalls 1%igen Dekokt von der Grauen Buntblühenden wurden gleichzeitig gemessen. Auffällig ist der große Unterschied zwischen dem unteren und oberen Kurvenbündel, wobei jedes Bündel in sich eine erstaunliche Übereinstimmung zeigt. Auf dem Nährboden von Wunder von Kelvedon beginnt der Pilz mit einer mittleren Anfangsgeschwindigkeit von  $2,126 \mu/\text{min}$  zu wachsen, auf der Grauen Buntblühenden nur mit  $1,469 \mu/\text{min}$ . Auf Wunder von Kelvedon steigt die Geschwindigkeit schnell an und erreicht nach 96 Stunden schon ihren Höhepunkt. Danach beginnt das Wachstum ganz allmählich bis kurz vor Erreichen des Schalenrandes zu fallen. Im Gegensatz dazu nimmt das Wachstum auf der Grauen Buntblühenden zunächst langsam, dann etwas schneller nach einer vorübergehenden geringfügigen Verzögerung zu, bis nach 480 Stunden Kulturdauer auch hier der Schalenrand erreicht ist.

Bei *Ascochyta pinodella* (Abb. 20) ist ebenfalls ein deutlicher, wenn auch geringerer Unterschied zwischen

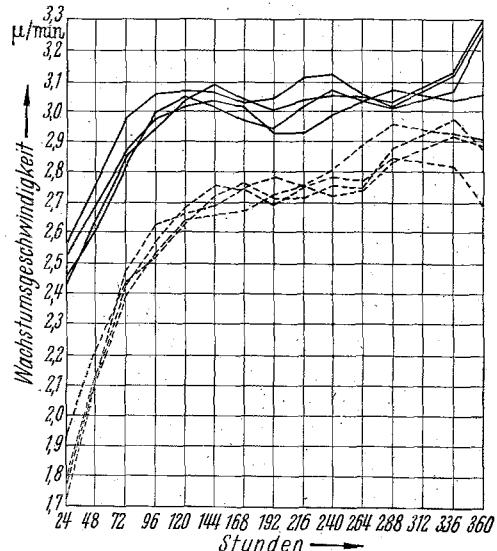


Abb. 19. Verlauf der Wachstumsgeschwindigkeit bei je vier Kulturen auf einem 1%igen Dekokt von Wunder von Kelvedon (—) und einem 1%igen Dekokt von Grauer Buntblühender (---) bei *Mycosphaerella pinodes*.

beiden Kulturserien vorhanden. Auf Wunder von Kelvedon beträgt hier die mittlere Anfangsgeschwindigkeit  $2,491 \mu/\text{min}$ , auf der Grauen Buntblühenden  $1,807 \mu/\text{min}$ . Auf beiden Nährböden steigt das Wachstum an, ohne jedoch auf Wunder von Kelvedon ein so ausgeprägtes Optimum auszubilden. Der Verlauf auf Grauer Buntblühender ist ganz ähnlich wie bei *Mycosphaerella*.

*Ascochyta pisi* wächst wesentlich langsamer als die anderen beiden Pilze. Dieser Pilz verhält sich etwas anders auf der Grauen Buntblühenden. Eine Hemmwirkung ist bis auf einen ganz geringen (statistisch nicht gesicherten) Unterschied während der ersten fünf Messungen nicht festzustellen. Die Anfangsgeschwindigkeit betrug in diesem Falle  $1,370$  bzw.  $1,285 \mu/\text{min}$ .

Es kann nach diesen Versuchen kein Zweifel mehr bestehen, daß auch die Wachstumsgeschwindigkeit auf 1%igen Dekokten unserer beiden Erbsensorten unterschiedlich verläuft. Am meisten wird *Mycosphaerella* betroffen, die Unterschiede zwischen beiden Dekokten sind hier am klarsten ausgeprägt. Auf *Ascochyta pinodella* wirkt sich die Verschiedenheit beider Dekokte nicht so stark aus, sie ist aber noch klar zu erkennen. *Ascochyta pisi* hingegen reagiert nur während der ersten Tage und während dieser Zeit nur schwach. Diese Feststellungen stimmen aber gut überein mit den Beobachtungen über den Einfluß auf die Pyknidienbildung. Auch dort war der Unterschied bei *Mycosphaerella* am größten, bei *Ascochyta pisi* am schwächsten ausgeprägt. Wir können also sagen, daß Dekokte der Grauen Buntblühenden auf die Wachstumsgeschwindigkeit wie auf die Pyknidienbildung eine analoge Wirkung ausüben. Sie ist auch hier bei den einzelnen Pilzen verschieden stark.

Einen Einblick in die Wirkungsweise von Dekokten der Grauen Buntblühenden auf die Wachstumsgeschwindigkeit ergab auch eine Versuchsserie, bei der das Wachstum von *Ascochyta pisi* auf gleichen Konzentrationen von Samenschalen der beiden Erbsensorten miteinander verglichen wurde. Ein Teil dieser Ergebnisse ist in Abb. 21 dargestellt. Das Wachstum

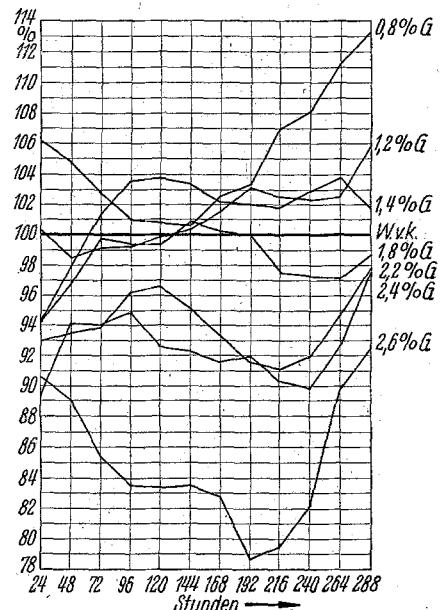


Abb. 21. Vergleich des Wachstumsverlaufs auf Nährböden gleich hoher Konzentrationen von Wunder von Kelvedon und Grauer Buntblühender bei *Ascochyta pisi*. Das Wachstum auf der Wunder von Kelvedon-Lösung wurde in jedem Falle gleich 100 gesetzt.

auf Wunder von Kelvedon wurde dabei in jedem Falle gleich 100 gesetzt. Daraus ergibt sich, daß auf einer 0,8%igen Lösung der Grauen Buntblühenden der wirksame Stoff nur einen ganz geringen Einfluß hat. Der Pilz wächst zunächst um 6% schneller als auf der entsprechenden Wunder von Kelvedon-Lösung, dann nimmt sein Wachstum aber ab, nachdem durch teilweisen Verbrauch der an sich geringen Nährstoffmenge die ebenfalls nur geringe Menge des Phytonzids relativ angereichert ist, somit eine schwache Hemmwirkung entfalten kann. Wenn nicht nur diese, sondern alle anderen Kurven nach gewisser Zeit ziemlich schnell ansteigen, so zeigt sich darin der unterschiedliche Wachstumsverlauf auf Dekokten beider Sorten,

wie er in den Abb. 19 und 20 zum Ausdruck kommt (deutliche Ausprägung eines Optimums auf Wunder von Kelvedon, dauernder allmäßlicher Anstieg auf der Grauen Buntblühenden)<sup>1</sup>. Grundsätzlich ähnlich wirkte sich eine 1,2%ige Lösung aus, nur daß die Wirkung des Phytonzids die fördernde Wirkung der Nährstoffe stärker überdeckt. Auf einem 1,4%igen Dekokt macht sich die Wirkung dieses Stoffes bereits deutlich zu Beginn des Wachstums bemerkbar; die etwas höhere Nährstoffmenge führt doch noch zu einem schnelleren Wachstum als auf der reinen Wunder von Kelvedon-Lösung. Nicht wesentlich davon verschieden ist der Verlauf des Wachstums auf einem 1,8%igen Dekokt: Wieder eine Wirkung des zunehmenden Phytonzidgehaltes. Auf noch höheren Konzentrationen bewirkt die Nährstoffmenge zunächst noch eine anfängliche Steigerung, die aber nur kurze Zeit anhält. Bei einem 2,6%igen Dekokt schließlich ist die Wirkung dieses Stoffes so stark geworden, daß das Wachstum dauernd absinkt, bei unserer vergleichenden Betrachtung kommt dies durch die Art der Darstellung natürlich nur bis zu dem Punkte zum Ausdruck, wo das Optimum auf dem Wunder von Kelvedon-Dekokt erreicht ist. Es ergibt sich aus diesem Versuch, daß bei geringen Konzentrationen die Wirkung des Phytonzids von den in der Samenschale außerdem noch vorhandenen Nährstoffen überdeckt ist. Bei mittleren Konzentrationen hält sich die Wirkung beider Komponenten etwa die Waage, während bei den höchsten Konzentrationen insbesondere die Menge des Phytonzids die Geschwindigkeit des Wachstums bestimmt. Wir stellen daher fest, daß auf sämtlichen Dekokten der Grauen Buntblühenden, wenn auch anfänglich verdeckt, eine Hemmwirkung des in der Samenschale vorhandenen Stoffes nachgewiesen werden kann.

Um festzustellen, ob auch bei der Wachstumsgeschwindigkeit ähnliche Beziehungen wie bei der Pyknidienbildung zwischen Samenschalenmenge und Nährstoffmenge bestehen, wurden auch hier Mischkulturen beider Erbsensorten angesetzt.

Betrachten wir zunächst das Verhalten von *Mycosphaerella*. Es ergab sich bereits bei der ersten Messung 24 Stunden nach dem Beimpfen, daß der Pilz in den einzelnen Kulturen verschieden schnell gewachsen war. Je größer die Menge der zugesetzten Samenschale war, um so mehr war das Wachstum gegenüber der Kontrollkultur zurückgeblieben. In Tabelle 6 sind die prozentualen Unterschiede der am ersten Tage nach dem Beimpfen gemessenen Geschwindigkeiten in je zehn Kulturen mit steigenden Zusätzen von der Grauen Buntblühenden im Vergleich mit den Kontrollen von 0,5% und 1,0% Wunder von Kelvedon angegeben. Die Hemmung steigt bis zu einem Zusatz von 1,6% bis zu fast 50% an, d.h. der Pilz wächst in diesen Fällen fast nur noch halb so

<sup>1</sup> Aus dieser Versuchsserie geht im übrigen ganz klar hervor, daß ein nur zweimaliges Messen der Wachstumsgeschwindigkeit, z. B. 24 Stunden nach dem Beimpfen und kurz vor Erreichen des Schalenrandes, zu Fehlschlüssen führen kann. Die Messungen dieser Kulturen wurden nämlich bis zu 432 Stunden nach dem Beimpfen fortgeführt. Die Myzelien hatten auf den Dekokten der Grauen Buntblühenden infolge ihres anderen Wachstumsverlaufs den Schalenrand eher erreicht als auf den Dekokten von Wunder von Kelvedon!

Tabelle 6. Prozentuale Wachstumsverzögerung nach 24 Stunden zwischen zwei verschiedenen Kontrollen und Kulturen mit steigenden Zusätzen von Grauer Buntblühender bei *Mycosphaerella*.

	0,5% WvK	1,0% WvK
+0,1% G	7,73%	3,22%
+0,2% G	10,19%	5,39%
+0,4% G	17,23%	6,92%
+0,5% G	18,88%	7,92%
+0,6% G	21,60%	9,92%
+0,8% G	29,01%	22,51%
+1,0% G	37,49%	25,22%
+1,2% G	39,20%	36,91%
+1,4% G	44,64%	41,30%
+1,6% G	45,07%	43,40%

schnell. Vergleicht man die Werte in den beiden Spalten, so findet man, daß die Hemmung bei einer höheren Gesamtnährstoffkonzentration nicht mehr so stark ist. Wir haben hier also dasselbe Verhalten wie bei der Pyknidienbildung. Diese Tatsache spricht aber auch für eine stoffliche Hemmwirkung. Diese Unterschiede bleiben aber im Laufe des Wachstums nicht für alle Kulturen erhalten. Wie Abb. 22 zeigt, wächst der

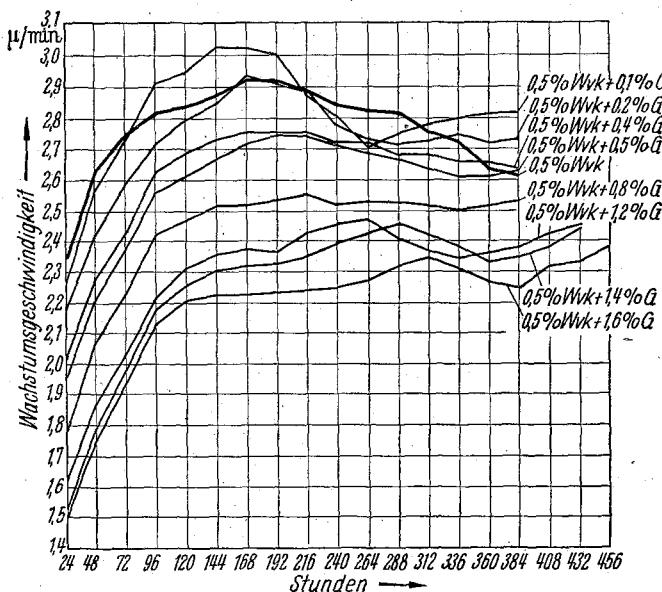


Abb. 22. Wachstumsverlauf auf einem 0,5%igen Dekokt von Wunder von Kelvedon und auf acht Kulturen mit dem gleichen Grundnährboden mit steigenden Zusätzen von Grauer Buntblühender bei *Mycosphaerella pinodes*. Die Kurve der Kontrollkultur wurde stark ausgezogen.

Pilz auf der Nährösung mit dem 0,1%igen Zusatz schon nach 96 Stunden schneller als die Kontrolle, nachdem er sie nach 72 Stunden schon fast erreicht hatte. Von da ab nimmt das Wachstum bedeutend schneller zu und nach 144 Stunden ist der höchste Wert erreicht. Nur etwa zwei Tage wächst der Pilz mit etwa der gleichen Geschwindigkeit. Darauf beginnt ein schnelles Abfallen. Bereits nach 216 Stunden wächst er wieder langsamer als die Kontrolle. Ähnlich reagiert der Pilz bei einem Zusatz von 0,2%. Das Wachstum der Kontrolle wird später, bei 168 Stunden erreicht. Auch hier hält dieses Wachstum nur zwei Tage an. Es fällt dann wieder schnell ab. Sämtliche anderen Kulturen bleiben im Wachstum hinter der Kontrolle zurück. Das Optimum ist immer weiter verschoben. Je höher der Zusatz an Grauer Buntblühender ist, um so später wird es erreicht. So finden wir es bei einem Zusatz bei 1,6% nach 312 Stunden, bei 1,4% nach 288, bei 1,2% nach 264 Stunden

usw. Es entspricht dabei einem Zusatz von 0,2% etwa einer Verzögerung um 24 Stunden.

Wir treffen hier also durchaus auf Verhältnisse, wie wir sie bei der Pyknidienbildung fanden. Die Wirkung werden wir uns auch ähnlich vorstellen haben. Bei dem geringsten Zusatz, wo auch die Pyknidienbildung gegenüber der Kontrolle gefördert war, ist anfänglich zwar eine geringe Beeinflussung vorhanden, jedoch reicht die zugeführte Menge des Phytonzids nicht für eine längere Hemmwirkung aus, bzw. die zugeführte Nährstoffmenge überdeckt für eine gewisse Zeit die Hemmwirkung. Bei einem Zusatz von 0,2% reicht die Wirkung der beiden Komponenten gerade noch aus, um für kurze Zeit ein ebenso schnelles Wachstum wie auf der Kontrolle zu erlauben, dann jedoch gewinnt der hemmende Stoff die Oberhand. Bei den anderen Kulturen überwiegt aber die Hemmwirkung.

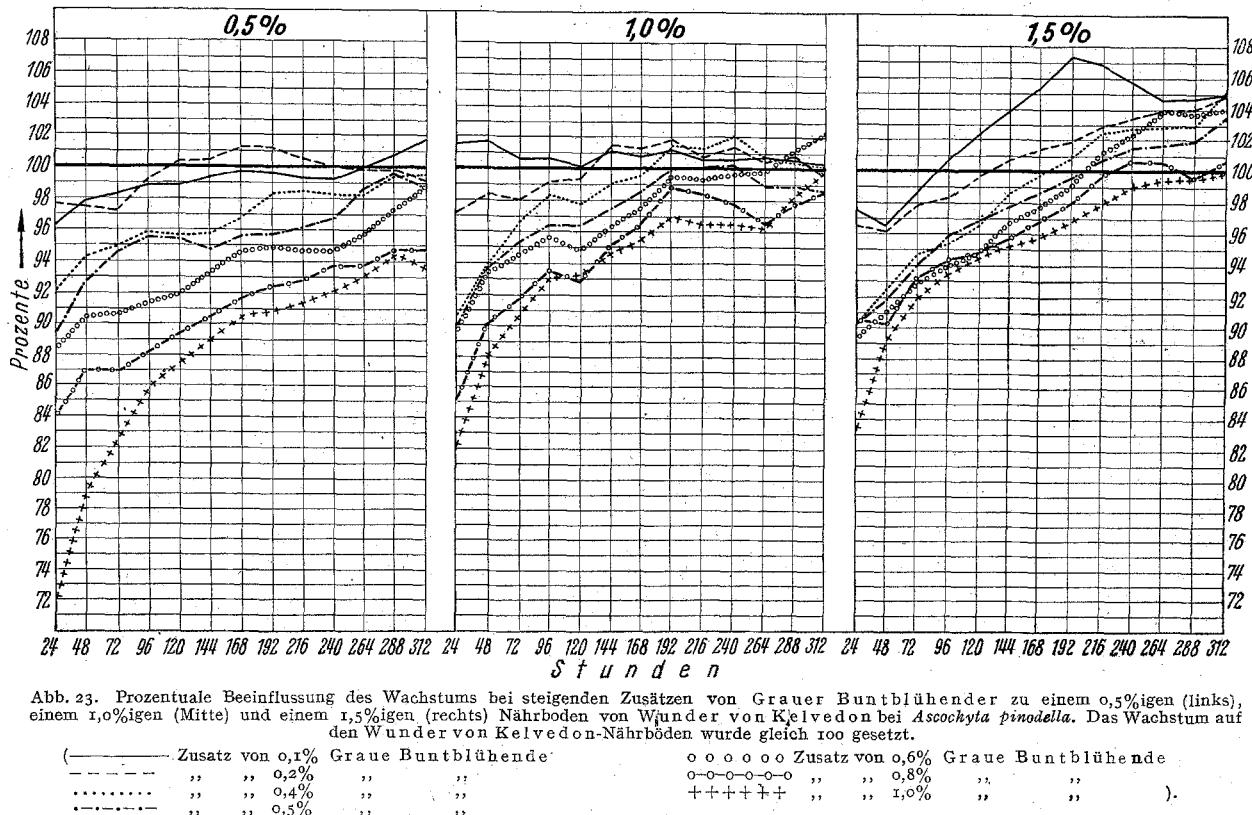
Bei den Kulturen mit der doppelt so großen Nährstoffmenge an Wunder von Kelvedon, ist, wie schon die Anfangsverzögerung zeigte, die Wirkung geringer. Dies bestätigte auch der Wachstumsverlauf. Alle Kurven liegen hier über denen der Abb. 22. Hier wächst der Pilz sogar mit dem 0,2%igen Zusatz vier Tage lang schneller als die Kontrolle. Bei dem 0,4%igen Zusatz wird nach 210 Stunden fast das Wachstum der Kontrolle erreicht. Auch das Optimum liegt hier weiter verschoben, so liegt es z.B. für den 0,8%igen Zusatz bei 312 Stunden statt bei 216 Stunden wie eben.

Bei *Ascochyta pinodella* wurde das Wachstum auf drei Kulturserien miteinander verglichen. Bei der ersten waren zu einem 0,5%igen, bei der zweiten zu einem 1,0%igen und bei der dritten zu einem 1,5%igen Samenschalenextrakt von Wunder von Kelvedon steigende Mengen von Samenschalen der Grauen Buntblühenden gegeben worden. Das Ergebnis ist in Abb. 23 gegenübergestellt. Auch bei diesem Pilz ist eine Wachstumshemmung festzustellen, die in allen Fällen von der zugeführten Menge an Grauer Buntblühender abhängt. Bei Betrachtung dieser Kurven ist immer zu bedenken, daß bei jeder einzelnen Schwankungen in der Art, wie sie in Abb. 18 dargestellt sind, vorkommen können. Um zu prüfen, ob die Differenzen gegenüber der Kontrolle auch statistisch gesichert sind, wurden für die in Abb. 23 links dargestellten Kurven die  $t$ -Zahlen aus den tatsächlich gemessenen Werten errechnet. Es ergab sich, daß die beiden Kulturen mit einem Zusatz von 0,8 bzw. 1,0% bei einer  $t$ -Zahl von 5,73 bzw. 5,32 und 14 Freiheitsgraden<sup>1</sup> der  $p$ -Wert kleiner als 0,10 war, die Differenz daher als sehr gut gesichert angesehen werden kann. Bei einem 0,6%igen Zusatz ergibt sich eine  $t$ -Zahl von 4,01, d.h. diese Differenz ist noch gut gesichert. Die nächste Kultur muß mit  $t=3,46$  als genügend gesichert betrachtet werden. Bei dem 0,4%igen Zusatz erhalten wir noch eine schwache Sicherung ( $t=2,89$ ). Die beiden Kulturen mit den geringsten Zusätzen sind aber nicht mehr gesichert ( $t=1,64$  bzw. 0,004). Der Pilz wächst aber auch bei einem Zusatz von nur 0,1%, wenn in den ersten Tagen vielleicht auch eine schwache Hemmung zu erkennen war, während eines Zeitraumes von sechs Tagen mindestens genau so schnell oder etwas schneller als auf einem

<sup>1</sup> Die Wachstumsgeschwindigkeit dieser Kulturen wurde länger gemessen als in der Abbildung dargestellt ist.

Nährboden ohne Zusatz. Ein stärkerer Zusatz von 0,2% (bei  $t=1,64$ ) bewirkt sicher schon eine schwache Hemmung. Bei den folgenden Kulturen wird aber die Hemmwirkung immer stärker, so daß die Beeinflussung auf jeden Fall stärker als die Wirkung der zugeführten Nährstoffe ist. Die Lage der Kurven zueinander ändert sich auch in den folgenden Kulturserien nicht. Aus Abb. 23 Mitte geht hervor, daß, während

in den ersten Tagen nach dem Beimpfen noch nicht klar zu erkennen: Nach drei bis vier Tagen trat sie aber deutlicher in Erscheinung. Nach 120 Stunden war schon das Wachstumsoptimum erreicht und zwar gleichzeitig für alle Zusätze bis 1,0%. Die Hemmung war auch hier um so stärker, je größer der Zusatz war. Die Wirkung mußte hier verspätet und dann verstärkt auftreten, weil die Nährstoffe ganz unteroptimal, da-



das Wachstum bei dem geringsten Zusatz dauernd schneller als bei der Kontrolle vor sich geht, es bei 0,2% Zusatz mindestens sieben Tage lang die Kontrolle überholt. Sogar bei einer Menge von 0,4% zusätzlicher Samenschalen wird, zwar später einsetzend, das Wachstum der Kontrolle noch für die Dauer von sechs Tagen überholt. Wird der Zusatz noch höher, wird die Kontrolle nur noch gerade erreicht bzw. das Wachstum bleibt wesentlich weiter zurück. Vergleichen wir damit schließlich noch das Verhalten bei dem noch höheren Nährstoffgehalt in Abb. 23 rechts, so ergibt sich, daß hier nur bei dem höchsten Zusatz der Pilz dauernd langsamer wächst als auf der Kontrolle. Sämtliche anderen Zusätze sind zu schwach, um eine dauernde Hemmwirkung hervorzurufen. Bei einer Erhöhung der Samenschalenmenge um 0,2% wird das Wachstum der Kontrolle um je etwa 24 Stunden später erreicht bzw. für die Dauer der Kultur überschritten.

Diese Feststellungen ergeben eindeutig, daß mit Erhöhung der Gesamtnährstoffkonzentration die Wirkung nachläßt. Wir können also auch aus dem Verhalten der Wachstumsgeschwindigkeit schließen, daß wir es mit einem Phytonzid zu tun haben.

Aber auch bei *Ascochyta pisi* müssen wir mit einer Hemmwirkung auf das Wachstum rechnen, wie aus einem in der gleichen Form angesetzten Versuch hervorgeht (1,0% Wunder von Kelvedon + steigende Mengen Graue Buntblühende). Die Hemmung war

her schnell verbraucht waren, oder aber die Samenschalen für diesen Pilz überhaupt kein optimales Nährmedium ergaben.

Die Hemmung, die das Wachstum unserer Pilze durch Samenschalendekokte der Grauen Buntblühenden erfährt, ist weitgehend mit der Wirkung auf die Pyknidienbildung zu vergleichen. Die Übereinstimmung in der Wirkung gleicher Konzentrationen ist auffällig. (Ein Zusatz von 0,1% bei *Mycosphaerella* und ein solcher von 0,2% bei *Ascochyta pinodella* bewirkt bei gleicher Nährstoffmenge geringste Hemmung sowohl der Pyknidienbildung als auch der Wachstumsgeschwindigkeit.) Die Wirkung auf das Wachstum ist etwas weniger ausgeprägt: Bei Konzentrationen, bei denen die Pyknidienbildung schon vollkommen unterdrückt oder zum mindesten sehr stark eingeschränkt ist, ist noch ein, wenn auch verlangsamtes Wachstum möglich. Daher geht auch aus diesen Versuchen hervor, daß aus der Art der Wirkung auf das Wachstum auf das Vorhandensein eines Phytonzids geschlossen werden kann, und daß der Grad der Hemmung von der vorhandenen Nährstoffmenge abhängt.

Es sind nun nicht etwa nur die Dekokte der Samenschalen, die die besprochene Wirkung zeigen. Die Pilze lassen sich auch leicht auf angefeuchteten Samenschalen kultivieren. Das Wachstum verläuft aber auch in diesem Falle, soweit man es überhaupt vergleichend verfolgen kann, in ähnlich gehemmter

Form. Schon das Anwachsen geschieht auf den Schalen der Grauen Buntblühenden viel langsamer als auf denen von Wunder von Kelvedon. Auch ist die Myzelentwicklung auf der Grauen Buntblühenden viel spärlicher. Ebenfalls die Pyknidienbildung; sie ist sowohl mengenmäßig stark herabgesetzt bzw. ganz unterdrückt, als auch die Zeit ihres Auftretens verzögert.

Es ist nicht daran zu zweifeln, daß die Pilze, wenn sie im Boden vorhanden sind, in ähnlicher Art und Weise wie in den dargestellten Versuchen von Samenschalen der Grauen Buntblühenden in ihrer Fähigkeit, Fortpflanzungsorgane auszubilden und zu wachsen, gehemmt werden. Ein Hinweis auf eine derartige Beeinflussung läßt sich z.T. entnehmen aus den Versuchen, bei denen durch Entfernen eines Teiles der Samenschale die Resistenz erheblich vermindert werden konnte. Bei einem Angriff der Pilze unter natürlichen Verhältnissen dürfte nicht nur ein unmittelbarer Kontakt mit der Samenschale zu einer Hemmung führen, sondern bereits von der Spermatosphäre ein Einfluß auf im Boden vorhandene Keime ausgehen. Dafür sprechen auch die Befunde von v. RÜMKER (1951), wo u.a. auch für einen unserer Pilze (*Ascochyta pinodella*) eine Wirkung der vom Samen ausgeschiedenen Stoffe wahrscheinlich gemacht wird. Da durch eine herabgesetzte Ausbildung von Fortpflanzungsorganen Sporen nur in geringer Menge auf die oberirdischen Teile der Erbsenpflanze gelangen können, kann auf diese Art und Weise eine Weiterverbreitung über einen Bestand eingeschränkt, wenn nicht gar ausgeschlossen werden. Dazu trägt aber sicherlich außerdem noch die zeitliche Verzögerung bei, die die Ausbildung von Pyknidien auf solchen Sorten erleiden muß, die in ihren Samenschalen ein Phytonzid enthalten. Daß das Wachstum der Pilze auf den Samenschalen trotzdem nicht vollkommen ausgeschaltet wird, ist wohl nur von untergeordneter Bedeutung, weil eine wirkungsvolle Verbreitung weniger durch vegetatives Wachstum der Hyphen als in erster Linie durch Fortpflanzungsorgane gewährleistet wird.

Eine Züchtung fußkrankheitsresistenter Erbsensorten, die sich durch einen bestimmten Gehalt an einem Phytonzid in ihren Samenschalen auszeichnen, dürfte, ohne hier auf die züchterischen Möglichkeiten einzugehen, zu einem Erfolg führen. Der Ausarbeitung einer brauchbaren Testmethode, die unabhängig von Außenbedingungen ist, stehen keine Schwierigkeiten mehr im Wege. Bei der Züchtung solcher Sorten käme es jedoch nicht nur auf den absoluten Gehalt an hemmender Substanz an, sondern es dürfte nicht außer acht gelassen werden, daß erstens bei gleicher Phytonzidmenge die einzelnen Pilze unterschiedlich reagieren und zweitens die Gesamtnährstoffmenge in den Samenschalen eine nicht unerhebliche Rolle spielt. Auf jeden Fall wird bei gleicher Phytonzidmenge bei Erbsensorten mit einer nährstoffreichen Samenschale mit geringerer Wirkung zu rechnen sein als bei einer nährstoffarmen.

Ähnliche Erscheinungen, wie sie hier bei den Fußkrankheiten der Erbsen beobachtet wurden, dürften auch noch für andere durch Pilze hervorgerufene Schäden zutreffen. Bei den folgenden Beispielen, bei denen man von einer Hemmwirkung sprechen kann, soll aber keineswegs behauptet werden, daß die größere

Resistenz in allen Fällen auf die Wirkung eines Phytonzids zurückgeführt werden müßte. Die beobachteten Tatsachen legen jedoch in mancher Beziehung den Gedanken an ähnliche Verhältnisse nahe. So liegt vielleicht das von SCHAPER (1951) beschriebene Verhalten von *Phytophthora infestans* in dieser Richtung. Dort wurde nämlich auch gefunden, daß auf resistenteren Kartoffelsorten in der Zeiteinheit nicht nur weniger Sporangien gebildet werden, sondern daß diese auch verspätet erscheinen. Auch in unserem Falle ist ja die Zeit, die infolge der fungostatischen Wirkung des Stoffes bis zum Auftreten der Fortpflanzungsorgane (Fruchtifikationszeit) vergeht, von besonderer Bedeutung. Dunkelschalige Zwiebeln sind deshalb weniger anfällig gegen *Colletotrichum circinans* als hellsschalige, weil bei ihnen giftige Inhaltsstoffe der Schale ein Eindringen des Pilzes verhindern (HATFIELD, WALKER, and OWEN 1948).

Es gibt aber auch Beispiele dafür, daß bei anfälligen Sorten mehr Fortpflanzungsorgane gebildet werden als bei widerstandsfähigen. So geht nach GOLLMICK (1950) bei *Podosphaera leucotricha* die größere Zahl der Peritheciен parallel mit größerer Anfälligkeit.

Nicht zahlreich sind die Untersuchungen darüber, ob eine an Kulturpflanzen beobachtete Resistenz mit einer Hemmung des Erregers in künstlicher Kultur auf Dekokten von der betreffenden Wirtspflanze gleichläuft. So wächst *Ustilago zae* nach RANKER (1930) im Presssaft einer widerstandsfähigen Maissorte bedeutend schlechter als im Saft einer anfälligen Sorte. Eine Hemmwirkung des Presssaftes aus Wurzeln widerstandsfähiger Wirtspflanzen auf die Myzelentwicklung (verglichen wurde das Myzeltrockengewicht) konnte von EZEKIEL, TAUBENHAUS und FUDGE (1932) auch bei *Phymatotrichum omnivorum* festgestellt werden. Nach KAPUSTINSKI (1950) wirken Mohnauszüge hemmend auf *Peronospora arboreascens*. Nach DUNIN (1948) entwickeln sich die Sporen von *Phytophthora infestans* im Saft aus dem Blatt einer resistenten Kartoffelsorte gar nicht oder sehr schlecht, während sie im Saft, der aus den Blättern einer anfälligen Sorte gewonnen wurde, gut wachsen. Bei resistentem Lein wurde von REYNOLDS (1926) gefunden, daß das Wachstum von *Fusarium lini* auf Extraktaten gehemmt war. Bei Bohnen konnte allerdings nach Untersuchungen von LEACH (1923) keine Beeinflussung des Wachstums von *Colletotrichum lindemuthianum* auf Dekokten resisternter Sorten festgestellt werden.

Über die Ursachen der Resistenz bei Erbsen liegen, soweit ich sehe, nur von STOLL (1950) Untersuchungen vor. Auch von ihm wurde beim gleichen Untersuchungsobjekt gefunden, daß die Samenschale resistenzbedingend ist und daß eine sogenannte „Barriere-Resistenz“ vorliegt. Was die Ursachen der Resistenz anbelangt, kommt er jedoch auf Grund seiner Versuche zu einer anderen Deutung. Wenn auch nicht behauptet werden soll, daß rein physikalische Ursachen, worauf bei ihm das Zustandekommen der Resistenz allein zurückgeführt wird, ganz und gar auszuschließen sind, so können diese keineswegs als entscheidend angesehen werden. Die dort gefundenen Tatsachen lassen sich in jeder Beziehung mit der Wirkung eines Phytonzids erklären. Die Mazerationfestigkeit, die die Samenschalen gegenüber *Bacillus amylobacter* aufwiesen und die sich ebenfalls bei einem dreiwöchigen Aufenthalt

in Lauberde zeigte, kann durchaus als Wirkung dieses Phytonzids auf Bakterien oder andere Mikroorganismen gedeutet werden.

Die Durchführung der zahlreichen Einzelversuche und ihre Verrechnung war mir nur durch die unermüdliche und hingebungsvolle Mitarbeit von Fr. E. MEYER und A. RÜDIGER möglich. Ihnen dafür auch an dieser Stelle herzlich zu danken, ist mir eine besondere Freude.

### Zusammenfassung.

Die Resistenz der Zuckererbse Graue Buntblühende gegen die durch *Mycosphaerella pinodes*, *Ascochyta pinodella* und *Ascochyta pisii* hervorgerufenen Fußkrankheiten wird durch die Samenschale, die als Schutzschicht gegen die Pilze wirkt, bedingt.

Die Ursache dieser Resistenz liegt in der chemischen Zusammensetzung der Samenschale.

Auf Dekokten aus Samenschalen der Grauen Buntblühenden läßt sich durch einen Vergleich mit entsprechenden Dekokten der anfälligen Sorte Wunder von Kelvedon eine Hemmwirkung auf die Pilze feststellen. Diese Hemmwirkung betrifft:

1. die Myzelausbildung (geringere Entwicklung des Submersmyzels und verstärkte Lufthyphenbildung);
2. die Fortpflanzungsintensität (verzögter Beginn der Pyknidienbildung, Verringerung der Pyknidienzahl und verlangsamte Zunahme der Pyknidien in der Zeiteinheit) und
3. die Wachstumsgeschwindigkeit des Myzels.

Innerhalb einer Kultur steigt die Hemmwirkung von innen nach außen an.

An jedem Punkt einer Kultur ist eine zeitliche Verzögerung und eine mengenmäßige Hemmung zu beobachten.

Die Hemmwirkungen lassen sich nur mit der Annahme eines keimfeindlichen Inhaltsstoffes in der Samenschale, eines Phytonzids, erklären.

Jede Hemmwirkung ist allerdings abhängig von der Gesamtkonzentration der Nährstoffe in einer Kultur.

Die Hemmwirkung wird teilweise überdeckt durch die Nährstoffkonzentration, d. h. die Nährstoffmenge in der Samenschale. Beide Wirkungen konnten nachgewiesen werden.

Die Wirkung dieses Phytonzids läßt sich durch Wechselkultur der Pilze auf Dekokten von anfälliger und wenig anfälliger Sorte unmittelbar verfolgen. Schon nach sechsstündiger Einwirkung ist ein Einfluß des Phytonzids festzustellen. Die Hyphen werden irreversibel verändert. Das Phytonzid wirkt fungostatisch.

Die drei Pilze reagieren unterschiedlich: *Mycosphaerella* ist am empfindlichsten, *Ascochyta pisii* am wenigsten empfindlich, während *Ascochyta pinodella* in der Mitte steht.

Für die praktische Resistenzzüchtung von Erbsen gegen Fußkrankheiten ergeben sich unter Berücksichtigung des Phytonzid- und Nährstoffgehaltes in der Samenschale und der verschiedenen starken Reaktion der Pilze ganz neue Gesichtspunkte.

### Literatur.

1. DUNIN, M. S.: Immunität der Pflanzen gegen Krankheiten. Wissenschaft und Leben 6, 18—23 (1948).
2. EZEKIEL, W. N., J. J. TAUBENHAUS and J. F. FUDGE: Growth of *Phytophthora omnivorum* in plant juices correlated with resistance of plants to root rot. Phytopathology 22, 459—474 (1932).
3. GOLLICK, F.: Beobachtungen über den Apfelmehltau. Nachr. f. d. deutschen Pflanzenschutzdienst N. F. 4, 205—214 (1950).
4. HATFIELD, W. C., J. C. WALKER and J. H. OWEN: Antibiotic substances in onion in relation to disease resistance. Journ. Agric. Res. 77, 115—135 (1948).
5. KAPUSTINSKI, A. F.: Die Immunität pigmentierter Pflanzen und die Antibiotica. Fortschr. gegenwärt. Biologie 29, 370—378 (1950).
6. LEACH, J. G.: The parasitism of *Colletotrichum Lindemuthianum*. Minn. Agr. Exp. Sta. Tech. Bul. 14, (1923).
7. RANKER, E. R.: The nature of smut resistance in certain selfed lines of corn as indicated by filtration studies. Journ. Agric. Res. 41, 613 bis 619 (1930).
8. REYNOLDS, E. S.: Nutritional studies on *Fusarium Lini*. Plant Physiology 1, 151—164 (1926).
9. v. RÜMKER, R.: Über die Ökologie von *Ascochyta pinodella* und *Fusarium culmorum* in der Rhizosphäre anfälliger und nicht anfälliger Pflanzen. Phytopath. Zeitschrift 18, 55—100 (1951).
10. SCHAPER, F.: Die Bedeutung der Inkubationszeit für die Züchtung krautfäuleresistenter Kartoffelsorten. Z. f. Pflanzenz. 30, 292—299 (1951).
11. SÖRGEL, G.: Über eine neue Kulturmethode für Mikroorganismen. Der Züchter 21, 322—324 (1951).
12. STOLL, K.: Resistenzprüfungen an Leguminosen gegenüber dem Fußkrankheitserreger *Ascochyta pinodella* JONES. Z. f. Pflanzenz. 29, 175—192 (1950).
13. WEHLBURG, C.: Onderzoekingen over Erwtenanthraknose. Proefschrift Baarn, 1932, 65 S.

## Geschlechtsreife, Blühwilligkeit und Senilität bei holzigen Gewächsen.

Von F. PASSECKER, Imst (Tirol).

Mit 8 Textabbildungen.

### Allgemeines.

Entwicklungsphysiologische Untersuchungen sind bisher hauptsächlich an kurzlebigen, meist einjährigen Pflanzen durchgeführt worden. Bei der Übertragung der an solchen Pflanzen gewonnenen Ergebnisse auf langlebige holzige Gewächse, etwa Obstgehölze, übersieht man leicht einen wichtigen Umstand, nämlich die Tatsache, daß Geschlechtsreife und Blühwilligkeit zweierlei Erscheinungen sind. Kurzlebige Pflanzen, die mit der Entwicklung von Blüten und Früchten ihren Lebenszyklus abschließen, werden mit Erlangung der Geschlechtsreife wohl meistens auch schon blühwillig. Bei ausdauernden, holzigen Gewächsen da-

gegen ereignet es sich häufig, daß eine Pflanze längst geschlechtsreif geworden ist, aber dennoch viele Jahre lang der Blühwilligkeit entbehrt. Unsere Obstbäume, die wir durch Veredlung vermehren, sind alle geschlechtsreif, aber nicht ohne weiteres blühwillig. Es gehört zu den wichtigsten Aufgaben des Obstbaues, einen frühzeitigen Eintritt der Blühwilligkeit zu erreichen und dafür zu sorgen, daß sich die Blühwilligkeit Jahr für Jahr wiederhole, ebenso wie man beim gehegten Wild und bei Haustieren daran interessiert ist, daß die geschlechtsreifen Tiere immer wieder fruchtig werden und zur Fortpflanzung schreiten.