

Aus dem Institut für Pflanzenzüchtung Quedlinburg
der Deutschen Akademie der Landwirtschaftswissenschaften zu Berlin

Über physiologische Ursachen der *Ascochyta*- und *Mycosphaerella*- Resistenz der Erbse (*Pisum sativum* L.)

Die phenolischen Inhaltsstoffe der Samenschale und ihre Bedeutung für die Fußinfektion*

Von E. CLAUSS,

Mit 11 Abbildungen

A. Einleitung

Unter der außerordentlichen Formenfülle der Erbsensorten sind wiederholt deutliche Unterschiede im Grad der Anfälligkeit für die Erreger der Fuß- und Brennfleckenkrankheit, *Ascochyta pinodella* Jones, *A. pisi* Lib. und *Mycosphaerella pinodes* (Berk. et Blox.) Stone beobachtet worden (GILCHRIST 1926, OGDEN 1936; WEIMER 1940, 1947, STOLL 1951, BAUMANN 1953, SKOLKO u. a. 1954, LYALL u. WALLEN 1958). Es läßt sich ganz allgemein feststellen, daß die widerstandsfähigsten leider die den Wildformen nahestehenden buntsamigen Typen sind, die wegen ihrer qualitativen Minderwertigkeit fast nur noch als Futtererbsen angebaut werden. Mit beträchtlichem Abstand folgen die farblossamigen Formen, unter denen sich die Schalerbsensorten in der Regel als merklich widerstandsfähiger erweisen als die z. T. extrem anfälligen Markerbsen, die ausgerechnet die geschmacklich besten Sorten sind.

Nach den Untersuchungen von STOLL (1951) und SÖRGEL (1952) spielt die Samenschale der Erbse im Infektionsgeschehen eine wichtige Rolle. Die Fußinfektion, in der Regel die primäre Ursache des Befalls, beginnt mit der Besiedlung der Testa des keimenden Samens im Boden. STOLL fand, daß sich die Parasiten auf Samenschalen der resistenten buntsamigen Erbsen im Gegensatz zu denen von anfälligen Sorten nur träge und sehr spärlich entwickeln. Diese besondere Widerstandsfähigkeit beruht auf der hohen Mazerationsfestigkeit gegen fermentative Angriffe. Wird den buntsamigen Erbsen die schützende Samenschale entfernt, so lassen sie sich infizieren. Demnach handelt es sich nach den Beobachtungen von STOLL bei der Fußkrankheitsresistenz dieser Sorten um eine Scheinresistenz, die auf die Barrierewirkung der mazerationsfesten Samenschalen zurückzuführen ist. SÖRGEL kultivierte die Fußkrankheitserreger auf Samenschalendekokten und konnte dadurch beweisen, daß die Widerstandsfähigkeit der Testa buntsamiger Erbsen nicht allein im Sinne STOLLS strukturell bedingt sein kann, sondern in hohem Grade durch den Gehalt wasserlöslicher, die Entwicklung der Parasiten stark hemmender Substanzen verursacht wird. Die ersten Versuche zur Klärung der Natur der Inhaltsstoffe unternahm SCHNEIDER (1952). Er fand, daß es sich offenbar um gerbstoffartige, phenolische, in Beziehung zu Anthocyanidinen stehende Substanzen handelt. Die Ergebnisse von SÖRGEL und SCHNEIDER sind in neuerer Zeit von EWING (1959) für einen anderen Auflaufschadpilz der Erbse, für *Pythium ultimum* Trow., bestätigt worden.

Wir setzten die von SÖRGEL und SCHNEIDER begonnenen Arbeiten fort, identifizierten die phenolischen Inhaltsstoffe der Samenschalen der resistenten buntsamigen¹, d. h. buntblühenden Erbsen, prüften sie auf fungistatische Wirksamkeit und untersuchten, ob die von STOLL beschriebene Mazerationsfestigkeit mit den Phenolkörpern im Zusammenhang steht. Wir prüften weiterhin, ob auch für die abgestufte Anfälligkeit der farblossamigen¹, d. h. weißblühenden Schal- und Markerbsen antifungal wirksame phenolische Testa-Inhaltsstoffe von Bedeutung sind. Von einigen Ergebnissen, die auch die Angaben von EWING (1959) präzisieren, ist bereits kurz berichtet worden (CLAUSS 1961).

B. Experimenteller Teil

1. Versuchsmaterial

Zur Bestimmung der phenolischen Testa-Inhaltsstoffe wurden die folgenden Erbsensorten gewählt. Violett blühende Sorten: 'Graue Buntblühende Zuckererbse', die Futtererbsen 'Baltersbacher', 'Hödinger' und 'Gierslebener', weiterhin 'Benton field pea', 'Gierslebener Neuzucht (Banater)', 'Lucienhofer Wintererbse', 'Niedrige Graublaublühende', 'Original', 'Osziborso', 'Ruby', 'Selecta', 'Späth's Violetta' und 'Weihenstephaner Felderbse'. Rosa/hellrot blühende Sorten: 'Hohenheimer Rosa-blühende', 'Hohe Rote Schwedische Futtererbse', 'Nero x Annoncy', 'Ogema', 'Schweizer Riesen Goldgelb', 'Svalöfs Stamm 0355' und 'Universal'. Wir prüften außerdem etwa 80 weitere violett oder hellrot blühende Stämme, Kreuzungen und Herkünfte, vorwiegend aus dem Sortiment des Instituts für Pflanzenzüchtung Quedlinburg und von dem VEG Saatzucht Neugattersleben². Weißblühende Schalerbsensorten: 'Brunsviga', 'Cerosa', 'Goldkugel', 'Klein-Wanzlebener Futtererbse', 'Maiperle', 'Maipal', 'Nordsaat', 'Onsa', 'Swanhild', 'Waldmanns Futterfreude' und 'Zeiners Kurz u. Gut'. Weißblühende Markerbsensorten: 'Bodeperle', 'Bördi', 'Desi', 'Edelperle', 'Eta', 'Foli', 'Kobold', 'Pilot', 'Steadfast', 'Süße Dicke' und 'Wunder von Kelvedon'.

Die gut getrockneten Erbsen wurden grob geschrotet, die Samenschalen ausgeblasen, entstaubt und gemahlen. Zur Gewinnung kleiner Samenschalenproben schälten wir einzelne Samen.

Versuchspilze: Für den Nachweis fungistatischer Wirkungen fand ein luftmycelarmer und zahlreiche Pykniden bildender Stamm von *Mycosphaerella pinodes* Verwendung, den SÖRGEL von Erbsen aus dem Ostseeküstengebiet isolierte. Für die Submerskulturen zur Gewinnung von Kulturflüssigkeitskonzentraten benutzten wir außerdem ebenfalls durch SÖRGEL von Erbsen isolierte Stämme von *Ascochyta pinodella* und *A. pisi*.

¹ Die Gegenüberstellung von „bunt“- und „farblosamigen“ Erbsensorten in den Arbeiten von STOLL (1951) und SÖRGEL (1952 u. 1956a) ist nicht glücklich gewählt, wie die folgenden Ergebnisse zeigen werden. Ein korrekteres Einteilungsprinzip bietet die Blütenfarbe; es soll deshalb in unserer Arbeit von „buntblühenden“ statt von „buntsamigen“ und von „weißblühenden“ statt von „farblossamigen“ Sorten gesprochen werden.

² Herrn Dr. BERGER (Neugattersleben) danke ich für die Bereitstellung zahlreicher Saatgutproben.

2. Chemische Methodik

Extraktion und Vortrennung der Extrakte: Die mit siedendem Wasser vorgequollenen Samenschalen wurden mit Methanol mehrmals bis zur Farblosigkeit des Auszuges extrahiert. Die vereinigten Rohextrakte engten wir vorsichtig (verminderter Druck, 35 °C, CO₂-Strom) bis zur Dickflüssigkeit ein und verdünnten anschließend mit wenig Wasser. Durch Ausschütteln mit Petroläther ließen sich Chlorophyll, Wachse usw. entfernen; anschließend Vortrennung der Extrakte durch erschöpfendes Ausschütteln mit Äther und danach mit Äthylacetat. Die Rückstände der Ätherauszüge wurden nochmals in wenig heißem Wasser gelöst und mit Chloroform ausge schüttelt, die restlichen Substanzen erneut in Äther übergeführt.

Chromatographische Trennung: Papierarten: Schleicher & Schüll Nr. 2043 b mgl (Bogenschromatogramme 12 × 40 cm) und Nr. 2045 bgl (hauptsächlich als Keilstreifen; MATTHIAS 1954). Der Trenneffekt der Keilstreifen ließ sich durch teilweise Abänderung des Formats (Keilwinkel 80°, Breite 6 cm) für unsere Zwecke wesentlich erhöhen. Zur präparativen Trennung der Inhaltsstoffe wurden diese aus in Streifen geschnittenen Bandchromatogrammen (statt der Startpunkte gleichmäßige Startlinien aufgetragen) eluiert. Chromatographie eindimensional aufsteigend in 2%iger und 15%iger Essigsäure, n-Butanol: Eisessig:Wasser (4:1:5), Xylol:n-Butanol: Eisessig:Wasser (4:6:2:8; WAGNER u. BÖHM 1957), Forestal-Gemisch:konz. HCl: Eisessig:Wasser (3:30:10 und abgeändert 3:25:15 und 3:20:20). Die Verminderung des Essigsäureanteils im Forestal-Gemisch ermöglichte eine bessere Trennung des Cyanidin von Petunidin, Paeonidin von Malvidin und Pelargonidin von Paeonidin.

Vergleichsstoffe: Durch Totalhydrolyse von Blütenanthocyanaen mit 2 n HCl (20 min im siedenden Wasserbad, Ausschütteln mit Amylalkohol) wurden die folgenden Anthocyanidine gewonnen: Delphinidin aus *Delphinium elatum* L., Malvidin aus *Malva silvestris* L., Petunidin und Paeonidin aus violetten bzw. rosafarbenen Sorten von *Petunia hybrida* und Pelargonidin aus *Salvia splendens*. Ferula- und p-Cumarsäure synthetisierten wir aus Vanillin bzw. p-Oxybenzaldehyd und Malonsäure (HERRMANN 1958c). Die übrigen Substanzen waren Handelspräparate.

Nachweisreaktionen: 1. Fluoreszenz im UV-Licht. Chromatogramme unbehobelt, anschließend mit NH₃ bedampft. 2. Phosphormolybdänsäure (2% in Methanol) und anschließend NH₃-Bedampfung (RILEY 1950). 3. p-Diazobenzolsulfonsäure. 10 mg in 10 ml 10%iger Sodalösung (BÖRNER 1958). 4. Diazotiertes p-Nitranilin. 0,5 ml 0,5%iges p-Nitranilin (in 2 n HCl) mit 0,5 ml 0,5%iger NaNO₂-Lösung und mit 15 ml 20%iger Na-acetatlsg. versetzt (SWAIN 1953; HENNIG u. BURKHARDT 1958). Die besprühten Chromatogramme (1. Farbreaktion) werden nach leichtem Antrocknen mit 10%iger Sodalsg. nachbesprüht (2. Farbreaktion). 5. Natrium-nitrit-Reagens (HERRMANN 1956a). 1 g NaNO₂ und 1,18 ml Eisessig in 50 ml Methanol. Die besprühten und unter schwachem Erwärmen rasch getrockneten Chromatogramme werden nachbesprüht mit 0,5 n methanol. KOH. 6. Vanillin-Salzsäure (BATE-SMITH 1954). 2 Teile 10%ige methanol. Vanillinlsg. und 1 Teil konz. HCl. Die Phenolkörper wurden direkt oder nach Hydrolyse bzw. alkalischem Abbau mit authentischen Präparaten verglichen. Die Farbreaktionen der in den Samenschalen gefundenen Phenole s. Tab. 4.

3. Methodik der mykologischen Versuche

Kulturmethode: Zur Gewinnung vergleichbarer Werte für fungistatische Effekte ist bei unseren Versuchspilzen die Zählung der gebildeten Pyknidien besser geeignet als die mit Mängeln und Schwierigkeiten behafteten Längen- und Gewichtsmessungen am Mycel (SÖRGEL 1952). Wir benutzten zur Zählung der Pyknidien die Methode von SÖRGEL (1951). Nährsubstrat: 2%iger Samenschalen-dekot von der Markerbe "Wunder v. Kelvedon". Versuchstemperatur 23,5–24 °C, Versuchsdauer im allgemeinen 144 h. Jede Versuchsserie enthielt 5 Parallelen, die wir im Abstand von 24 h auszählten, oder nach jeweils 24 h wurden 5 Parallelkulturen fixiert und ausgezählt. Besonders bei Versuchen mit Leucoanthocy-

Zusätzen erwies sich die 2. Methode als günstiger, da die Pyknidien auf den lebenden Kulturen durch starke Luftmycelentwicklung verdeckt waren, nach Fixierung und Durchfeuchtung des Luftmycels jedoch sichtbar wurden. 5 Parallelen ergaben weitgehend gesicherte Mittelwerte.

Sterilisation: Die Nährdekokte wurden bei 1,3 atü 30 min autoklaviert. Zur Vermeidung oxydativer bzw. kondensativer Veränderungen im Autoklaven sterilisierten wir die Lösungen der einfachen Phenolkörper mit dem Bakterienfilter. Die Leucoanthocyan-Präparate und Samenschalen für Zusatzdekokte wurden wenigstens 24 h lang mit Äther/Methanol (3:1) reichlich angefeuchtet. Nach dem Entfernen von Äther und Methanol im Vakuum wurden in sterilem Wasser die Leucoanthocyane unter kurzem Erhitzen gelöst, die Samenschalen 30 min vorsichtig ausgekocht.

4. Methoden zum Nachweis von Pektinasen und Cellulasen

Die Pilzstämme wurden unter Belüftung 1 Woche bei 23,8 °C in einem 2%igen Samenschalen-dekot ('W. v. Kelvedon') kultiviert; nach Abfiltrieren von Samenschalen und Mycel schonendes Einengen der Kulturfüssigkeit im Vakuum bei 18–20 °C auf 1/20 des Ausgangsvolumens. Die Bestimmung der Pektinase- bzw. Cellulase-Aktivität des Rohfermentkonzentrates erfolgte im Höppler-Viskosimeter an der Abnahme der Viskosität einer 2%igen Apfelpektin- bzw. 3%igen Carboxymethylcellulolösung (Ansatz: 15 ml Pektin- bzw. CM-Celluloloselsg., gemischt mit 10 ml Sörensen-Phosphatpuffer pH 7,16 und 25 ml Rohfermentkonzentrat). Die parallelen Kontrollen enthielten die Fermentkonzentrate im abgekochten Zustand. Die Leucoanthocyan-Präparate wurden in der Mischung aus Pektin-(CM-Cellulose-)lösung und Puffer gelöst, danach das Fermentkonzentrat zugesetzt. Die Kugelfallzeiten bestimmten wir aus dem Durchschnitt von je 5 Messungen. Die Viskositäten lagen zwischen 11 und 3 Centipoise.

5. Identifizierung der phenolischen Inhaltsstoffe

a) Leucoanthocyan

Den Hauptanteil der aus Samenschalen buntblühender Sorten reichlich anfallenden Extraktstoffe bilden hell- bis rötlichbraune, adstringierende, gerbstoffartige Substanzen. Ihre kirschrote Farbreaktion mit Vanillin-Salzsäure und die Behandlung nach BATE-SMITH (1954) mit 2 n HCl (20 min im siedenden Wasserbad), wodurch die korrespondierenden Anthocyanidine gebildet werden, beweisen, daß es sich um die Leucoanthocyane (LA) Leucodelphinidin und Leucocyanidin handelt. Die entstandenen Anthocyanidine, mit wenig Amylalkohol ausgeschüttelt, wurden im Forestal-Gemisch (3:30:10) chromatographiert; wir fanden im Vergleich mit authentischen Substanzen auf Misch- und Parallelchromatogrammen Delphinidin und Cyanidin. Der vorsichtige alkalische Abbau der Anthocyanidine bestätigte das Ergebnis: Als zu erwartende Spaltprodukte fielen neben Phloroglucin (A-Ring der Anthocyanidine) Gallussäure (B-Ring des Delphinidins) bzw. Protocatechusäure (B-Ring des Cyanidins) an. Da es nicht sicher war, ob buntblühende Erbsen generell in der Testa LA enthalten, ob sie bei den weißblühenden Sorten ausnahmslos fehlen und ob neben Leucodelphinidin und Leucocyanidin noch mit anderen Leucoanthocyanidinen zu rechnen ist, wurden kleine Samenschalenproben von über 90 buntblühenden und etwa 50 weißblühenden Sorten, Kreuzungen und Herkünften ebenfalls mit 2 n HCl behandelt und die Anthocyanidine wie oben chromatographiert. Wir fanden nur Leucodelphinidin und Leucocyanidin.

In 2%iger Essigsäure und besonders günstig im Xylolgemisch (4:6:2:8) konnten die LA papierchromatographisch in mehrere Komponenten getrennt werden (Tab. 1) die, zur Kontrolle einzeln mit heißer 2 n HCl behandelt, in allen Fällen entweder Delphinidin oder Cyanidin ergaben. Da die LA kondensativen Veränderungen unterliegen, handelte es sich bei den Komponenten mit dem höchsten Rf-Wert vermutlich um die monomeren Leucoanthocyanidine, bei den tiefer liegenden um „oligomere“ Kondensationsstufen und am Startpunkt

Tabelle 1. *Rf*-Werte der *Leucoanthocyanine*.

| | 2% Eisessig | 4:6:2:8 |
|------------------------------|------------------------------|------------------------|
| Leucocyanidin-Komponenten | 0,34 | 0,44—0,45 |
| | | 0,34—0,35 |
| | 0,27—0,00 (homogene Zone) | 0,13—0,14 0,08—0,00 |
| Leucodelphinidin-Komponenten | 0,28 | 0,33 |
| | 0,17 | 0,20 |
| | | 0,13 |
| | 0,12—0,00 (homogene Zone) | 0,05 0,02 0,00 |

4:6:2:8 = Xylol:n-Butanol:Eisessig:Wasser; Schl. & Sch. 2043 b mgL

blieben die hochkondensierten Komponenten liegen. Zunehmende Kondensation äußert sich bei den LA auf Chromatogrammen in kontinuierlicher Depression des *Rf*-Wertes (ROUX u. EVELYN 1958). Eine gewisse Fraktionierung der Kondensationsstufen ließ sich durch Ausschütteln der wäßrigen Extrakte mit Äther und anschließend mit Äthylacetat erreichen. Im Äther wurden besonders die vermutlich monomeren Komponenten angereichert, die allerdings nur einen Bruchteil der Gesamtmenge der LA ausmachen. Mit Äthylacetat ließen sich die niederen Kondensationsstufen (löslich in absolutem Methanol) der wäßrigen Restphase entziehen, in der der Hauptanteil, die gerbstoffartig hochkondensierten Komponenten (in absolutem Methanol vorwiegend unlöslich) zurückblieben.

LA-Präparate für die mykologischen Versuche gewannen wir folgendermaßen: Äthylacetatphasen aus den Extraktten von den Sorten 'Graue Buntblühende' und 'Hohenheimer Rosablühende' wurden zur Reinigung nochmals mit wenig H_2O geschüttelt, schonend eingedampft und die Rückstände, gelöst in wenigen ml Methanol, tropfenweise einem Überschuss wasserfreiem Äther zugesetzt, wobei sich geringe Verunreinigungen von Oxyzimtsäure und Oxybenzolcarbonsäuren lösten. Die LA fielen als bräunlich-weißes Pulver aus; diese schwachkondensierten Präparate waren für mykologische Versuche ausreichend sauber. Aus einer bei 3 °C aufbewahrten wäßrigen Phase von 'Graue Buntblühende' fiel nach einiger Zeit eine hochkondensierte Fraktion aus, die abfiltriert und nacheinander mit Eiswasser, Methanol und wasserfreiem Äther gewaschen und getrocknet wurde. Die Verwendbarkeit dieses Präparates war zeitlich begrenzt; durch weitere Kondensation hatte es nach 3 Monaten seine Löslichkeit in warmem Wasser teilweise verloren.

Tabelle 3. *Rf*-Werte der phenolischen Substanzen.

| Laufmittel: Papiersorte: | I 2043 | I 2045 | II 2043 | III 2043 | IV 2043 | V 2043 |
|-----------------------------|-----------|-----------|------------|-------------|------------|-----------|
| Hydrochinon | 0,65 | 0,51 | 0,71 | 0,84 | 0,72 | 0,76 |
| Phloroglucin | 0,51 | 0,39 | 0,60 | 0,70 | 0,45 | 0,63 |
| p-Oxybenzoësäure | 0,55 | 0,44 | 0,65 | 0,91 | 0,85 | 0,78 |
| Protocatechusäure | 0,44 | 0,33 | 0,55 | 0,82 | 0,67 | 0,70 |
| Gallussäure | 0,31 | 0,23 | 0,46 | 0,64 | 0,36 | 0,58 |
| Vanillinsäure | 0,49 | 0,38 | 0,64 | 0,89 | 0,82 | 0,81 |
| Syringasäure | 0,42 | 0,31 | 0,61 | 0,85 | 0,79 | 0,83 |
| p-Cumarsäure | 0,35 | 0,25 | 0,53 | 0,91 | 0,85 | 0,81 |
| Ferulasäure (cis/trans) | 0,30 | 0,21 | 0,48 | 0,89 | 0,82 | 0,81 |
| Substanz C | 0,57 | 0,44 | 0,68 | — | — | — |
| | | 0,50 | | | | |
| | | 0,56 | | | | |
| Substanz F | 0,50 | 0,44 | 0,67 | 0,81 | 0,63 | |
| | (0,58) | | | | | |
| | 0,71 | 0,63 | 0,73 | | (0,88) | |
| Arbutin | (0,75) | 0,65 | (0,79) | | | |
| Hydrochinon-glucosid II | 0,77 | | 0,78 | 0,48 | 0,13 | |
| Syringasäure-glykosid | 0,80 | | 0,81 | 0,35 | 0,04 | |
| „glykosid“ | 0,75 | | 0,77 | 0,50 | 0,20 | |

Laufmittel: I = 2% Essigs.; II = 15% Essigs.; III = n-BuOH:Eisessig:Wasser(4:1:5); IV = Xylol:n-BuOH:Eisessig:Wasser(4:6:2:8); V = konz. HCl:Eisessig:Wasser(3:30:10).

Papier: 2043 u. 2045 = Schl. u. Sch. 2043 b mgL bzw. 2045 b gl.

* In Klammern spurenweise auftretende Komponenten.

Eine quantitative Bestimmung des LA-Gehaltes wurde an trockenen Samenschalen der Sorte 'Graue Buntbl.' unter Anwendung der nach FRIEDRICH (1954) vereinfachten Hautpulvermethode durchgeführt.

Im Zusammenhang mit der von der Blütenfarbe abhängigen Verteilung der Leucoanthocyanidine bestimmten wir die Aglycone der Blütenanthocyanine von 35 Sorten mit mehr oder weniger variierender Blütenfärbung. Die Blüten wurden ohne Extraktion mit 2 n HCl 20 min im siedenden Wasserbad zur Hydrolyse der Anthocyane erhitzt; Ausschütteln mit Amylalkohol und chromatographischer Vergleich mit authentischen Substanzen (Tab. 2). Die Anthocyanidine fanden wir stets in folgenden Mengenverhältnissen: Delphinidin > Petunidin > Malvidin (in violetten Blüten), Cyanidin > Paeonidin und in Einzelfällen Spuren von Pelargonidin (in rosa bis hellroten Blüten).

Tabelle 2. *Rf*-Werte der Anthocyanidine.

| | Laufmittel (konz. HCl:Eisessig:Wasser) | | |
|--------------|--|---------|---------|
| | 3:30:10 | 3:25:15 | 3:20:20 |
| Pelargonidin | 0,68 | 0,63 | 0,48 |
| Cyanidin | 0,49 | 0,41 | 0,34 |
| Paeonidin | 0,66 | 0,56 | 0,43 |
| Delphinidin | 0,31 | 0,23 | |
| Petunidin | 0,46 | 0,35 | |
| Malvidin | 0,62 | 0,50 | |

b) Oxybenzolcarbonsäuren, Oxyzimtsäuren, Glykoside

In den Ätherphasen der Samenschalenextrakte ließen sich durch Vergleich mit authentischen Substanzen unter Anwendung der genannten Sprühreagenzien sehr geringe Mengen freier p-Hydroxybenzoësäure, Protocatechusäure, Vanillin- und Syringasäure, p-Cumar- und Ferulasäure und in einigen Fällen Gallussäure nachweisen (Tab. 3 u. 4). Für den gleichzeitigen Nachweis der Substanzen war 2%ige Essigsäure das günstigste Laufmittel.

Zur Identifizierung einiger glykosidischer Inhaltsstoffe wurden zunächst aus den wäßrigen Restphasen der Extrakte von buntblühenden Sorten die störenden LA durch Fällung mit essigsaurer Bleiacetat entfernt. In den wäßrigen Phasen konnten wir das Hydrochinon- β -glucosid Arbutin und eine zweite Substanz nachweisen, die die gleichen Farbreaktionen wie Arbutin, jedoch andere *Rf*-Werte gab. Das Arbutin und die zweite Substanz wurden von Bandchromatogrammen (entwickelt im 4:1:5-Gemisch) isoliert und hydrolysiert: wir fanden in beiden Fällen Hydrochinon. Die zweite Substanz ist

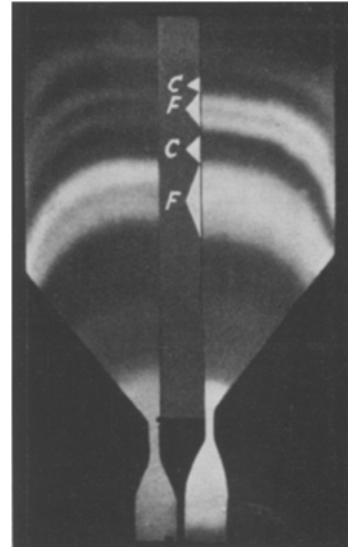


Abb. 1. Fluoreszenz der Komponenten der Substanz F (und C) im UV-Licht, aus Samenschalen der Schalerbse 'Klein-Wanzlebener' (links) und 'Onsa' (rechts). Keilstreifen halbiert, NH_3 -bedampft; Laufmittel 4:6:2:8. Die dunkelblaue Fluoreszenz der Substanz C wird nur undeutlich wiedergegeben.

Tabelle 4. Nachweisreaktionen der phenolischen Substanzen.

| | unbehandelt | UV-Fluoreszenz NH ₃ -bedampft | PMS | VS | DSS | ohne | DpN mit Na ₂ CO ₃ | ohne | NR mit KOH |
|---|-------------|---|---------------|--------------|--------------------------|-----------------------|--|-----------------------|-----------------------|
| Hydrochinon | — | — | blaugrau | — | blaß rosa/ h. bräunl. | — | farblos auf h. rosa | gelblich | h. violett |
| Phloroglucin | — | blau | — | kirschrot | gelborange | grünlich oliv | rosa | grünlich oliv | — |
| p-Oxybenzoësäure | — | schwach | grauoliv | — | zitronengelb | — | braunorange | ocker | blutrot |
| Protocatechusäure | — | dkl. violett | grau | — | blaß schiefer | h. violett | rosa | grau | — |
| Gallussäure | — | dkl. violett | schwach | grün → braun | h. gelb. | h. braun | blau | gelblich | braun |
| Vanillinsäure | — | — | blaugrau | orange | gelb | gelblich | blau | gelblich | gelblich |
| Syringasäure | — | schwach | schwach grau | rosarot | orange | gelblich | blau | gelblich | ockergelb |
| p-Cumarsäure | — | violett | — | rot | orange- bräunl. | gelblich | ultramarin | gelblich | gelblich |
| Ferulasäure | — | dkl.-blau | intensiv blau | violett | rosa | h. braunlich | eisblau | h. braunlich | h. braunlich |
| Substanz C | blau | — | dkl. blau | rot | orange | gelblich | blau | gelblich | gelblich |
| Substanz F | — | blau | eisblau | violett | h. orangefarben | h. braunl.- orange | eisblau | h. braunl.- orange | h. braunl.- orange |
| Arbutin | — | — | — | — | — | h. bräunl. | violet | h. bräunl. | h. bräunl. |
| Hydrochinonglucosid II | — | — | — | — | — | h. bräunl. | violet | h. bräunl. | h. bräunl. |
| Syringasäure-, „glykosid“ | — | — | — | — | — | h. bräunl. | h. bräunl. | h. bräunl. | h. bräunl. |
| Leucodelphinidin | — | — | — | — | — | orange | h. bräunl. | h. bräunl. | h. bräunl. |
| Leucocyanidin | — | — | — | — | — | h. bräunl. | gelbbräunl. | gelbbräunl. | gelbbräunl. |
| Abkürzungen: PMS = Phosphormolybdsäure, DSS = Diazot. Sulfanilsäure (sodaalkal.) , NR = Nitrit-Reagens, VS = Vanillin-Salzsäure, DpN = Diazotiertes p-Nitranilin, h. = hell, dkl. = dunkel. | | | | | | | | | |

ebenfalls ein Hydrochinonglucosid (II): Der Pyridin-
auszug des neutralisierten Hydrolysates enthieilt nur
Glucose. Daß es sich hierbei um Pyrosid, eine Veresterung
des Arbutins mit Essigsäure (FRIEDRICH 1960), handelt,
ist unzutreffend, da in diesem Falle mit einer Hebung,
nicht aber mit einer Depression des Rf-Wertes (in wasser-
gesätt. n-Butanol und in n-Butanol: Eisessig: Wasser
= 40:10:7) gerechnet werden müßte. Gegen die Glucosi-
dierung beider Hydroxylgruppen des Hydrochinons
spricht die Übereinstimmung der Nachweisreaktionen
mit denen des Arbutins. Es dürfte sich daher viel eher
um ein p-Hydroxyphenyldiglucosid handeln. Allerdings
führte auch der Vergleich mit chromatographischen
Daten von Hydrochinongentiobiosid und -cellobiosid
(ANDERSON u. a. 1960) vorläufig noch zu keiner Klärung.

Eine weitere Substanz, die sich nur sehr langsam mit
Äthylacetat den wässrigen Extrakten entziehen ließ, iso-
lierten wir ebenfalls von Bandchromatogrammen: die
Hydrolyse führte zu Syringasäure. Der niedrige Rf-Wert
(0,20) im Laufmittel 4:6:2:8 macht eine Glykosidierung
der Syringasäure wahrscheinlicher als eine Veresterung.
Da dieses Syringasäure-„glykosid“ und das Hydrochinon-
glucosid II bei sämtlichen untersuchten Sorten vorkom-
men und daher für die Resistenzunterschiede von unter-
geordneter Bedeutung sind, wurden zunächst keine
weiteren Versuche zur Identifizierung unternommen.

c) Substanzen C und F

In den Äther- und Äthylacetatphasen der Samen-
schalenextrakte von Schalerbsen fanden wir zwei weitere
phenolische Substanzen (C und F). Die Ähnlichkeit bzw.
weitgehende Übereinstimmung der Substanz F mit
Ferulasäure und die der Substanz C mit p-Cumarsäure in
bezug auf UV-Fluoreszenz und Nachweisreaktionen (vgl.
Tab. 4) deutete auf Ester oder Glykoside dieser Oxy-
zimtsäuren hin. Die Vermutung erwies sich jedoch als
falsch; die wiederholten Versuche, die Substanzen salz-
sauer oder alkalisch (6% HCl oder 10% NaOH, 60 min
siedendes Wasserbad) zu hydrolysieren, blieben erfolglos.
Möglichlicherweise handelt es sich um gerbstoffartige Sub-
stanzen. Beide Substanzen (besonders F) trennten sich
in geeigneten Laufmitteln in mehrere Komponenten
(Tab. 3) mit übereinstimmenden Nachweisreaktionen.
Ein besonders hoher Trenneffekt wurde auf Keilstreifen
im Laufmittel 4:6:2:8 erzielt (Abb. 1). Die Haupt-
komponente der Substanz F (Rf 0,50 in 2%iger Essig-
säure), von Bandchromatogrammen isoliert¹ und erneut
chromatographiert, trennte sich wiederum in die Kom-
ponenten Rf 0,50 und 0,71. Es muß dahingestellt bleiben,
ob es sich hierbei um ähnliche Vorgänge wie z. B. bei
der papierchromatographischen Trennung der cis- und
trans-Isomere von Oxyzimtsäuren handelt.

C. Ergebnisse

1. Die phenolischen Inhaltsstoffe der Samenschale der Erbse

Nach den Ergebnissen der Prüfung von über
90 Sorten, Kreuzungen und verschiedenen Herkünften
enthalten sämtliche buntblühenden Erbsenformen
in den Samenschalen Leucoanthocyane. Der Leuco-
anthocyangehalt ist dabei überraschend hoch, z. B.
bei der Sorte 'Graue Buntblühende' etwa 13,5% des
Trockengewichts der Samenschalen. Bisher fanden
wir keine weißblühende Sorte mit leucoanthocyan-
haltiger Samenschale, selbst unter den Formen nicht,
die auf Grund der hellbraunen Marmorierung der
Testa von LEHMANN (1954) systematisch in die Nähe
der buntblühenden Typen gestellt worden sind. Das
Auftreten dieser Substanzen dürfte demnach in über-
einstimmung mit den Ergebnissen von EWING (1959)
gen-gekoppelt mit der Anthocyanbildung sein.

Wir konnten lediglich die beiden Leucoanthocyani-
dine Leucodelphinidin und Leucocyanidin nach-

¹ In gleicher Weise erhielten wir ein Präparat für myko-
logische Versuche.

weisen, die zur sogenannten Phloroglucin-Reihe (Phloroglucin-Stellung der Hydroxylgruppen am A-Ring) gehören. Vom gen-gekoppelten Auftreten von Blütenanthocyanten und den Leucoanthocyanten abgesehen, bestehen zwischen beiden Substanzgruppen des weiteren interessante substitutionelle Zusammenhänge, die sich in der Übereinstimmung der Anzahl der Hydroxyl- und Methoxylgruppen am B-Ring des Flavonoidskeletts äußern (Abb. 2). Die Mehrzahl der buntblühenden Erbsentypen besitzt eine mehr oder weniger rotviolette Blütenfarbe, relativ selten sind dagegen rosa bis hellrot blühende Sorten. Die rotvioletten Typen enthalten in den Samenschalen ausnahmslos Leucodelphinidin und teilweise geringe Spuren von Leucocyanidin. Die Anthocyanidine der Blütenfarbstoffe dieser Typen besitzen übereinstimmend mit dem Leucodelphinidin die 3', 4', 5'-Substitution am B-Ring des Flavonoidsystems, es sind Delphinidin und dessen beide Methyläther Petunidin und Malvidin. Die rosa bis hellrot blühenden Formen enthalten in den Samenschalen nur Leucocyanidin, dessen 3', 4'-Substitution am B-Ring ebenfalls bei den Blütenanthocyanidinen wiederkehrt; es wurden Cyanidin und dessen Methyläther Paeonidin und nur in zwei Fällen zusätzlich Spuren von Pelargonidin mit der 4'-Substitution gefunden. Die Anthocyane, die bei verschiedenen Sorten beider Gruppen in den Samenschalen vorkommen und die Ursache violetter Punktierungen, Marmorierungen oder völliger Violettfärbung sind, entsprechen ebenfalls diesem Schema — es handelt sich entweder um Delphinidin- oder um Cyanidinglykoside.

Die Ablagerungen der Leucoanthocyane in den Samenschalenzellen beginnt bereits in den noch kaum entwickelten Samenanlagen zum Zeitpunkt des Abwolkens der Blütenblätter. In diesem Stadium, wie auch im weiteren Reifeverlauf, sind sie, solange die Samen noch grün sind, praktisch farblos. Durch ihre Eigenschaft oxydativer Autokondensation werden sie jedoch nach dem Abtrocknen der Samenschalen der reifen Samen zunehmend in bräunliche, gerbstoffartige Substanzen übergeführt. Die Bräunung nimmt mit der Alterung des Saatgutes weiter zu

und erfolgt bei beschädigten Samen besonders rasch. Die Lokalisation der Leucoanthocyane ließ sich an Samenschalenquerschnitten histochemisch mit Vanillin-Salzsäure klären. Nach der intensiven roten Farbreaktion inkrustieren sie die Membran sämtlicher Zellschichten. Im Gegensatz zu den Anthocyanten, die auf Samenschalen verschiedener Sorten meist nur mehr oder weniger ausgeprägte Fleckungen verursachen, sind die Leucoanthocyane durchweg über die gesamte Testa einschließlich Hilum verteilt.

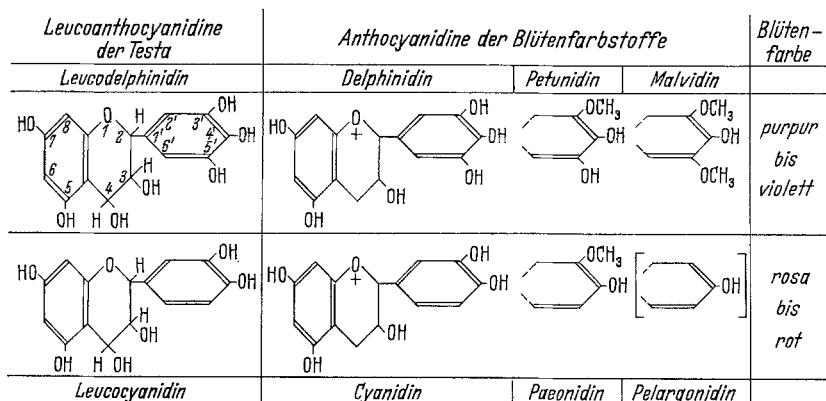


Abb. 2. Substitutionelle Zusammenhänge zwischen den Leucoanthocyanidinen der Samenschalen und den Anthocyanidinen der Blütenfarbstoffe der Erbse.

Leucoanthocyan-positiv sind außerdem der Funiculus und dessen Ansatzstelle in der Hülse.

Das auf die buntblühenden Sorten beschränkte Vorkommen der Leucoanthocyane, die bemerkenswert hohen Konzentrationen und der Gerbstoffcharakter ihrer Kondensationsprodukte deuten auf Zusammenhänge mit der Fußkrankheitsresistenz dieser Sorten hin. Der Leucoanthocyangehalt ist, soweit wir es nachprüfen, bei allen Sorten mit leucodelphinidinhaltiger Testa recht beträchtlich; schätzungsweise liegen etwa die gleichen Mengen vor wie bei der Sorte 'Graue Buntblühende'. Die Delphinidinausbeute war nach der vergleichenden Behandlung mit heißer verdünnter HCl in jedem Falle sehr hoch, obwohl keine quantitative Umwandlung erfolgt. Bei den Sorten mit leucocyanidinhaltiger Testa unterliegt der Gehalt größeren Schwankungen, er scheint bei diesen Sorten außerdem generell etwas niedriger zu liegen.

Alle weiteren phenolischen Substanzen in den Samenschalen buntblühender Sorten treten mengen-

Tabelle 5. Übersicht über die phenolischen Inhaltsstoffe der Samenschalen einiger Erbsensorten.

| Sorten | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 |
|------------------------|-----|-----|-----|---|---|---|---|---|---|----|----|-----|----|
| Leucodelphinidin | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Leucocyanidin | (+) | (+) | (+) | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| p-Hydroxybenzoësäure | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | (+) | + |
| Protocatechusäure | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Gallussäure | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Vanillinsäure | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Syringasäure* | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| p-Cumarsäure | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Ferulasäure | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Hydrochinonglucoside** | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Substanz C | ? | ? | ? | ? | + | + | + | + | ? | + | - | - | - |
| Substanz F | ? | ? | ? | ? | + | + | + | + | + | + | - | - | - |

1—4 buntblühende, 5—10 weißblühende Schal- und 11—13 Markersorten.

1 Graue Buntbl., 2 Baltersbacher, 3 Hödinger, 4 Hohenh. Rosabl., 5 Onsa, 6 Brunsviga, 7 Kl.-Wanzlebener, 8 Waldmanns Futterfr., 9 Nordsaat, 10 Zeiners K. u. G., 11 W. v. Kelvedon, 12 Kobold, 13 Pilot

* frei und gebunden. ** Arbutin und Hydrochinonglucosid II

+ = vorkommend, - = fehlend, () = Spuren, ? = vermutlich fehlend

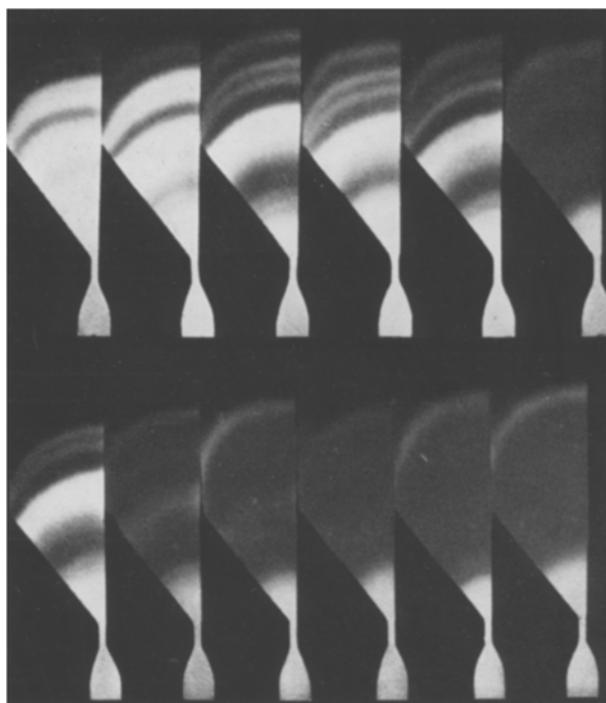


Abb. 3. Unterschiede im Gehalt der Substanz *F* in den Samenschalenextrakten verschiedener Erbsensorten, nach fallenden Konzentrationen v. links n. rechts geordnet (Fluoreszenzenzonen der Substanz *F* auf den Chromatogrammen vgl. Abb. 1). Oben Schalerbsen (v. links n. rechts): Cerosa, Onsa, Kl.-Wanzlebener, Nordsaat, Swanhild und Maibote. Unten Markerbsen: Föli, Edelperle, Desi, W. v. Kelvedon, Koboldsen und Bördi.

mäßig weit hinter den Leucoanthocyhanen zurück. Die Samenschalen violett blühender Sorten (z. B. 'Graue Buntbl.', 'Baltersbacher' und 'Hödinger Futtererbse') enthalten geringe Mengen Gallussäure, die an das Vorhandensein von Leucodelphinidin gebunden zu sein scheint, das am Seitenphenylring ebenfalls drei vicinale Hydroxylgruppen trägt; in leucocyanidinhaltigen Samenschalen wurde sie nicht gefunden. Das Auftreten der Gallussäure hängt möglicherweise mit der Kondensation des Leucodelphinidins zusammen, denn helle Samenschalen enthalten weniger als stark gebräunte.

Sowohl bei buntblühenden als auch bei weißblühenden Schal- und Markerbsensorten wurden in geringen Mengen die Phenolcarbonsäuren p-Hydroxybenzoësäure, Protocatechusäure, Vanillin- und Syringasäure, die Oxyzimtsäuren p-Cumar- und Feruläsäure und in etwas höheren Konzentrationen Arbutin, ein weiteres Hydrochinonglucosid (II, wahrscheinlich ein p-Hydroxyphenyldiglucosid) und Syringasäure in vermutlich glykosidisch gebundener Form gefunden (Tab. 5).

Bei den weißblühenden Sorten könnte, bedingt durch die genetisch kontrollierte Blockierung der Anthocyan- und Leucoanthocyan-Biosynthese, eine Anhäufung von B-Ring-Vorstufen, wie z. B. Oxyzimtsäuren, erwartet werden (vgl. REZNIK 1960). Die Oxyzimtsäuren p-Cumar- und Ferulasäure ließen sich jedoch in den Samenschalen weißblühender Erbsen nur in den gleichen geringen Konzentrationen

wie bei den buntblühenden nachweisen. Die Verhältnisse in den Blüten sind allerdings noch nicht untersucht. Inwieweit die bisher noch nicht identifizierten Substanzen C und F, auf die noch ausführlicher eingegangen wird, eine Rolle als genuine Vorstufen der Leucoanthocyane spielen könnten, ist vorläufig noch nicht zu entscheiden. Interessant ist jedenfalls, daß sie offenbar nur in den Samenschalen weißblühender Sorten vorkommen.

Die bei allen untersuchten Erbsensorten, also auch bei extrem anfälligen Markerbsen (z. B. 'Wunder v. Kelvedon', 'Kobold', 'Pilot') gefundenen Phenolkörper können keine wesentliche Resistenzursache sein, vor allem auch deswegen, weil auffällige Konzentrationsunterschiede nicht vorzuliegen scheinen.

Die im UV-Licht intensiv fluoreszierenden Substanzen C und F konnten wir mit Sicherheit nur bei weißblühenden Sorten nachweisen. Der Gehalt dieser Substanzen unterliegt sortenbedingten Schwankungen, wie der äquivalente papierchromatographische Vergleich von 11 Schal- und Markerbsensorten beweist (Abb. 3). In Tab. 6 sind die geprüften Sorten nach der Fluoreszenzintensität der Substanzen visuell in 4 Konzentrationsstufen eingeteilt. Es fällt hierbei auf, daß die meisten der als widerstandsfähiger geltenen Schalerbsensorten die fluoreszierenden Substanzen in der Testa enthalten, während sie — von einer Ausnahme ('Foli') abgesehen — bei den geprüften Markerbsensorten fehlen oder nur in verschwindend geringen Spuren vorkommen. Nach dieser Feststellung könnte ein direkter Zusammenhang zwischen dem Vorkommen der Substanzen und erhöhter Widerstandsfähigkeit vermutet werden. Die Beurteilung dieser Frage wird jedoch diffiziler, wenn man die Bewährung der Sorten in Feldinfektionsversuchen untersucht. Den Infektionsversuchen von STOLL (1951) und BAUMANN (1953) mit *Ascochyta pinodella* bzw. *Mycosphaerella pinodes* ist im wesentlichen Übereinstimmung von relativer Widerstandsfähigkeit mit dem Vorkommen der Substanzen C und F bei den Schalerbsen 'Brunsviga', 'Cerosa', 'Klein-Wanzleben', 'Nordsaat', 'Onsa' und 'Zeiners Kurz u. Gut' zu entnehmen. Hochgradige Anfälligkeit und Abwesenheit der Substanzen stimmt bei den Markerbsen 'Bördi', 'Wunder v. Kelvedon', 'Kobold', 'Pilot' und 'Süße Dicke' überein. Die relative Widerstandsfähigkeit der Markerbsen 'Edelperle' könnte ebenfalls noch einen gewissen Zusammenhang bestätigen. Völlig den Erwartungen widersprechend

Tabelle 6. Konzentrationsunterschiede der Phenolkörper C und F in den Samenschalen von Schal- und Markerbsensorien.

| Fluoreszenzintensität auf den Chromatogrammen im UV-Licht | | | |
|---|------------------|-----------|---------------------|
| sehr deutlich | deutlich | schwach | Spuren oder fehlend |
| Schalerbsensorten | | | |
| Onsa | Nordsaat | | Maiperle |
| Cerosa | Swanhild | | Maipal |
| Kl.-Wanzlebener | Goldkugel | | |
| Brunsviga | Zeiners K. u. G. | | |
| Waldmanns Futterfreude | | | |
| Markerbsensorten | | | |
| | Foli | Edelperle | W.v.Kelvedon |
| | | Bodeperle | Kobold |
| | | Eta | Bördi |
| | | Desi | Pilot |
| | | | Süße Dicke |
| | | | Steadfast |

sind die ziemlich hohe Resistenz der 'Maiperle', die merkliche Anfälligkeit der 'Goldkugel' und die hohe Anfälligkeit der Markerbe 'Föli'. Von den anderen Sorten fehlen leider bisher präzise Angaben über den Grad ihrer Widerstandsfähigkeit.

Da die Konzentrationen der Substanzen C und F auch in den Samenschalen der Schalerbsen 'Onsa', 'Cerosa', 'Kl. -Wanzlebener' usw. nicht als sehr bedeutend zu bezeichnen sind, sie dürften die der anderen phenolischen Inhaltsstoffe nicht wesentlich übersteigen, wird ihre vermutete Resistenzfunktion ebenfalls kaum unterstrichen. Diese Frage wird u. a. in den folgenden mykologischen Versuchen noch weiter geprüft.

2. Zur Wirkung der Samenschalenphenole auf Wachstum und Sporulation von *Mycosphaerella pinodes*

a) Leucoanthocyane

SÖRGEL (1952) fand, daß die auf Samenschalen-dekokten verschiedener Zusammensetzung kultivierten Fußkrankheitserreger in bezug auf Wachstum und Sporulation gleichsinnig reagieren; *M. pinodes* erwies sich unter ihnen als die empfindlichste Art. Wir führten daher unsere Versuche mit diesem Pilz durch und nehmen an, daß die erzielten Effekte sicher auch für die beiden *Ascochyta*-Arten gelten.

Nach Vorversuchen, die wir u. a. zur Bestätigung der Ergebnisse von SÖRGEL (1956a) ansetzten, wirken sowohl die Dekokte von leucodelphinidin- als auch von leucocyanidinhaltigen Samenschalen fungistatisch. Die Prüfung der aus Samenschalen isolierten Leucoanthocyan-Präparate bestätigte, daß diese Substanzen wie vermutet die Ursache des fungistatischen Effektes sind.

Das eine der Leucodelphinidin-Präparate enthielt wie das Leucocyanidin-Präparat vorwiegend niedere Kondensationsstufen („oligomer“), das andere war gerbstoffartig hochkondensiert („polymer“). Von der Überlegung ausgehend, daß bei einem ungefährten Leucoanthocyan-gehalt von 13,5% des Tr.-gew. der Samenschalen (von 'Graue Buntblühende') in einem 1%igen, deutlich fungistatischen Dekokt mit einer Konzentration von rund 0,13% zu rechnen ist, wurden die Präparate 0,1 und 0,01%ig dem 2%igen Kontrollnährdekokt von 'W. v. Kelvedon' zugesetzt.

Alle Leucoanthocyan-Präparate hemmten bei *M. pinodes* das Mycelwachstum und bewirkten eine erhebliche Verminderung der Pyknidienproduktion (Abb. 4 und 5, Tab. 7). Das „oligomere“ Leucocyanidin verhinderte 0,1%ig die Bildung von Pyknidien nahezu vollständig; es entwickelten sich in 144 h weniger als 1% der Kontrolle. Das entsprechende Leucodelphinidin-Präparat wirkte 0,1%ig ähnlich stark; es wurden in 144 h nur 5,5% der Pyknidien der Kontrolle gebildet. Wir möchten jedoch nicht den Schluß ziehen, daß das Leucocyanidin die wirksamere Substanz sei. Dazu fehlen exakte Vorstellungen, aus welchen Kondensationsstufen sich die Präparate vorwiegend zusammensetzen. Die „oligomeren“ Präparate hemmten die Pyknidienbildung selbst 0,01%ig noch sehr deutlich.

Besonders in den Hemmkulturen mit den „oligomeren“ Leucoanthocyanen waren die wenigen Pyknidien im Gegensatz zu denen der Kontrollen kleiner, stark hyphenborstig und von dickem Luftmycel überdeckt. Das Submersmycel, das in den Kontrollen

halbkugelig gewölbt an der Unterseite der Filtrerpapierscheiben hing, war in den Leucoanthocyan-kulturen wesentlich schwächer, nur als flaches Polster entwickelt. Die abgeflachte Form des Submersmycels erweckte den Eindruck, als ob der Pilz nur zögernd, geradezu „widerstrebend“ in die ihm nicht zusagende Nährösung vordringe. Die gleichen Veränderungen des Wuchsbildes hatte SÖRGEL (1952) bei den Versuchen mit Samenschalen-dekokten beobachtet. Auch BAUMANN (1953) betrachtet verstärkte Luftmycelbildung bei *M. pinodes* als Reaktion auf nicht zusagende Nährsubstrate.

Tabelle 7. Hemmung der Pyknidienbildung bei *Mycosphaerella pinodes* durch Leucodelphinidin-Präparate.

| Versuchsdauer | 72 h | 96 h | 120 h | 144 h |
|--------------------|-----------------------|------|-------|-------|
| | Anzahl der Pyknidien: | | | |
| Kontrolle I | 90 | 377 | 595 | 792 |
| LD „oligomer“ 0,1% | — | 7 | 30 | 45 |
| Kontrolle II | 152 | 339 | 552 | 625 |
| LD „polymer“ 0,1% | 37 | 83 | 180 | 230 |

Dem Vergleich der Hemmwirkung der beiden Leucodelphinidin-Präparate (Tab. 7) ist zu entnehmen, daß die fungistatische Wirksamkeit offenbar vom Kondensationsgrad der Leucoanthocyanen

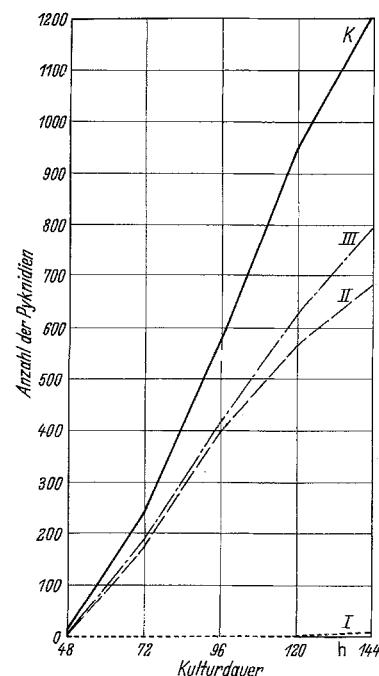


Abb. 4. Hemmung der Pyknidienbildung bei *Mycosphaerella pinodes* durch schwachkondensierte Leucoanthocyanen. Kontrollnährsubstrat (K) mit 0,1% (I) bzw. 0,01% (II) Leucocyanidin bzw. mit 0,01% (III) Leucodelphinidin.

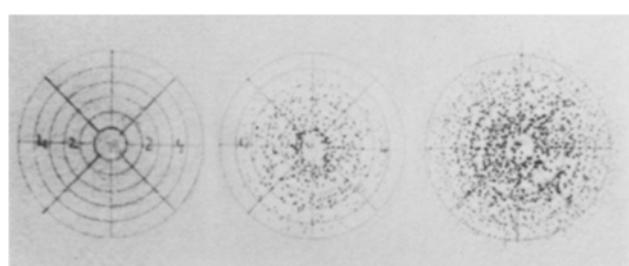


Abb. 5. Die Pyknidien auf den Filtrerpapierscheiben der *M. pinodes*-Kulturen ohne und mit Leucocyanidin-Zusätzen. Rechts: Kontrollnährsubstrat (K); Mitte: K mit 0,01% und links: K mit 0,1% Leucocyanidin. Kulturdauer 144 h. Schwach vergrößert.

abhängt; steigende Kondensation führt zur Herabsetzung des Hemmefektes. Das „oligomere“ Präparat unterdrückte die Bildung von Pyknidien fast bis 96 h vollständig und erreichte bis 144 h Kulturdauer nur 5,5% der Kontrolle. In den Kulturen mit hochkondensiertem Leucodelphinidin war bereits die Anfangshemmung wesentlich geringer. Die Pyknidienbildung setzte schon nach 50 h ein, erreichte bei 72 h bereits 24% der Kontrolle und stieg bis 144 h auf 37% an.

Die stark fungistatisch wirksamen Leucoanthocyane bilden demnach, da sie in hohen Konzentrationen über die gesamte Testa verteilt sind, für die Samen buntblühender Erbsensorten eine wirksame Barriere gegen den Angriff der Fußkrankheitserreger. Diese Barrierefunktion geht, wie Versuche mit Samenschalendekokten bestätigten, bei alternativem Saatgut durch die zunehmende Kondensation der Leucoanthocyane teilweise verloren.

Wir verglichen die Wirkungen von Samenschalendekokten (dem Kontrollnährdekokt zugesetzt) von frischen hellfarbigen und 6 Jahre alten, stark gebräunten Samen der Sorte 'Graue Buntbl.'. Eventuelle jahresbedingte Schwankungen im Leucoanthocyangehalt ließen sich ausschließen, indem in einem weiteren Versuch die Samenschalen heller und brauner Samen aus 4 Jahre altem Saatgut der Sorte 'Baltersbacher' verglichen wurden. Die Ursache der ungleichen Färbung dieses Materials war die Beschädigung (Risse, Fraßspuren) der Testa vieler Samen, die eine raschere Bräunung zur Folge gehabt hatte.

Die Hemmung der Pyknidienproduktion von *M. pinodes* durch einen 1%igen Dekokt von hellen Samenschalen der Sorte 'Graue Buntbl.' (Gr. Bbl. 1959) war noch merklich stärker als durch einen 2%igen Dekokt von braunen Samenschalen (Gr. Bbl. 1953). Die hohe fungistatische Wirkung der Leucoanthocyane bleibt demgegenüber in mehrere Jahre alten, aber hell gebliebenen Samen annähernd unverändert erhalten, wie dem Versuch mit ungleich gebräuntem, aber gleichaltrigem Saatgut der Sorte 'Baltersbacher' (Baltb.) zu entnehmen ist (Tab. 8).

Tabelle 8. Vergleich der fungistatischen Wirkung der Leucoanthocyane in Dekokten von hellen und gebräunten Samenschalen.

| Versuchsdauer | 72 h | 96 h | 120 h | 144 h |
|-----------------------|--|------|-------|-------|
| | Pyknidienproduktion in % der Kontrolle | | | |
| Gr. Bbl. (1953), 1%ig | 32 | 48 | 53 | 60 |
| Gr. Bbl. (1953), 2%ig | 17 | 28 | 38 | 44 |
| Gr. Bbl. (1959), 1%ig | 10 | 19 | 26 | 33 |
| Baltb., 1%ig, hell | 8 | 29 | 31 | 29 |
| Baltb., 1%ig, braun | 38 | 59 | 56 | 53 |

Eine beiläufig gemachte Beobachtung scheint diese Ergebnisse zu bestätigen. Während mehrerer Keimversuche mit Saatgut der Sorte 'Graue Buntbl.' ließ sich wiederholt auf Samenschalen gequollener, stark gebräunter Samen die Entwicklung von Bakterien feststellen. Auf der Testa frischer, heller Samen wuchsen jedoch keine Bakterien. Diese Beobachtung deutet auch darauf hin, daß die Leucoanthocyane — wenigstens die Komponenten geringen Kondensationsgrades — nicht allein fungistatisch, sondern offensichtlich auch antibakteriell wirken, wodurch eine allgemeine Schutzfunktion dieser Substanzen unterstrichen wird.

b) Substanz F

Von den phenolischen Testainhaltsstoffen der weißblühenden Erbsen kamen als mögliche Resistenzfaktoren lediglich die Substanzen C und F in Frage

Wir beschränkten die mykologische Testung auf die Substanz F, da die Konzentration der Substanz C bei allen untersuchten Sorten wesentlich niedriger liegt.

Das benutzte Präparat der Substanz F, isoliert aus Samenschalen der Schalerbse 'Kl.-Wanzlebener', wurde wie bei den vorangegangenen Versuchen in 5 Parallelen dem Nährdekokt in einer Verdünnung 1:6000 zugesetzt; 1:3000 konnten wir nur eine Kultur ansetzen, da uns keine größeren Mengen des Präparates zur Verfügung standen.

Die Substanz F hemmte sowohl die Pyknidienproduktion als auch das Mycelwachstum von *M. pinodes* (Abb. 6). Die Pyknidienbildung wurde in der Verdünnung 1:6000 auf 43% der Kontrolle (Kulturdauer 115 h) herabgesetzt. Die Hemmwirkung der Verdünnung 1:3000 war noch stärker (etwa 30% der Pyknidien der Kontrolle), es fehlen hier jedoch repräsentative Mittelwerte. Aus verschiedenen Gründen halten wir es für ratsam, den erzielten Hemmefekt sehr vorsichtig zu beurteilen: 1. Die angewandten Konzentrationen liegen zweifellos bedeutend höher, als sie in den Samenschalen der Schalerbsen zu erwarten sind, wobei zu berücksichtigen ist, daß die Vergleichbarkeit der nicht bekannten Verteilung der Substanz in den Samenschalen mit der homogenen Verteilung im flüssigen Substrat ohnehin problematisch ist. 2. Die Ergebnisse der folgenden Versuche unterstreichen keineswegs eine effektive Wirksamkeit der Substanz F.

Wir verglichen die Entwicklung von *M. pinodes* auf 1%igen Samenschalendekokten von je einer Mark- ('Foli') und einer Schalerbsensorte ('Onsa'), deren Samenschalen die Substanz F enthalten, mit einer Mark- ('W. v. Kelvedon') und einer Schalerbse ('Maipal'), denen die Substanz F fehlt. Auf den Dekokten von beiden Markerbsensorten wurde eine nahezu übereinstimmende Anzahl von Pyknidien gebildet ('Foli': 284 und 'W. v. Kelvedon': 273 Pyknidien). Eine Hemmwirkung der Substanz F kommt also nicht zum Ausdruck. Die geringe Differenz zwischen den Pyknidienzahlen der Schalerbsensorten ('Onsa': 420 und 'Maipal': 471 Pyknidien) halten wir daher ebenfalls nicht für beweiskräftig. Das Mycel machte auf den Dekokten von 'Foli' und 'Onsa' einen durchaus „normalen“ Eindruck. Die Tatsache, daß der Pilz ausgerechnet in den Samenschalendekokten der beiden Schalerbsen günstigere Entwicklungsbedingungen als in denen von den Markerbsensorten vorfindet, beweist, welche Bedeutung den trophischen Faktoren zukommt. Wollte man den Resistenzgrad dieser vier Sorten nach der Pyknidienproduktion auf den Samenschalendekokten beurteilen, so müßte man den falschen Schluß ziehen, daß die beiden Schalerbsen anfälliger als die Markerbsen seien. Die Ur-

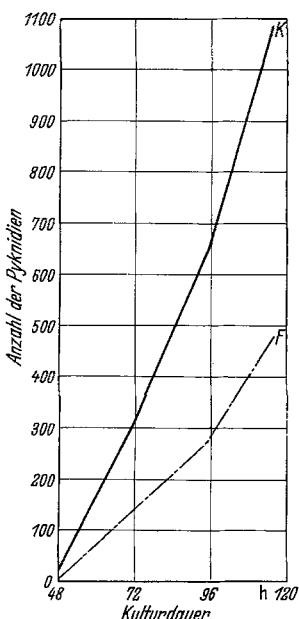


Abb. 6. Hemmung der Pyknidienbildung bei *M. pinodes* durch Substanz F. Kontrollnährsubstrat (K), mit Subst. F in Verdünnung 1:6000 (F).

sache für das Ausbleiben einer Hemmwirkung kann nicht die durch die Dekoktherstellung bedingte Verdünnung sein, denn bei Infektionsversuchen mit Konidienaufschwemmungen von *M. pinodes* an quellenden Samen der gleichen vier Sorten ließen sich ebenfalls keinerlei Hinweise für eine höhere Widerstandsfähigkeit Substanz F-haltiger Samenschalen feststellen. Die Samenschalen wurden bei allen vier Sorten ohne Unterschiede rasch besiedelt. Demnach können die Konzentrationen der Substanz F in den Samenschalen nicht für einen wirkungsvollen Effekt ausreichen. Die höhere Widerstandsfähigkeit der meisten Schalerbsensorten muß daher auf anderen Grundlagen beruhen.

c) *Phenolcarbonsäuren, Oxyzimtsäuren, Arbutin und Hydrochinon*

Weiterhin schien uns von Interesse, welche Wirkungen die in den Samenschalen allgemein verbreiteten phenolischen Inhaltsstoffe, eingeschlossen die nur bei violettblühenden Sorten gefundene Gallussäure, auf die Entwicklung von *M. pinodes* ausüben. Mit Hemmwirkungen war kaum zu rechnen. Es stand im Gegenteil die Möglichkeit offen, daß diese Substanzen für die Entwicklung des Pilzes belanglos sind, vielleicht aber auch als Kohlenstoffquelle fungieren können. Von verschiedenen Weißfäule- und anderen Pilzen ist z. B. bekannt, daß sie einige Phenolcarbon- und Oxyzimtsäuren abbauen bzw. als Kohlenstoffquelle verwerten (KNÖSEL 1958 u. 1959, FLAIG u. HAIDER 1961).

Die Substanzen p-Hydroxybenzoësäure, Protocatechusäure, Gallussäure, Vanillinsäure, Syringasäure, p-Cumarsäure, Ferulasäure, Arbutin und dessen Aglykon Hydrochinon wurden dem üblichen Nährsubstrat zugesetzt. Mit den angewandten Konzentrationen: Arbutin und Hydrochinon $1/_{500}$ bzw. $1/_{5000}$ m, die übrigen Substanzen $1/_{1000}$ bzw. $1/_{10000}$ m, blieben wir erheblich unter den Konzentrationen ($0,2-0,1\%$ ig oder $1/_{100}$ m), mit denen andere Autoren (SIEBS 1955; KIRKHAM u. FLOOD 1956; BYRDE u. a. 1960) in ähnlicher Fragestellung arbeiteten. Die Konzentrationen des Arbutins (Hydrochinons) wurden höher angesetzt, da es in den Samenschalen in etwas größeren Mengen als die phenolischen Säuren vorkommt.

Tabelle 9. Die Wirkung verschiedener phenolischer Substanzen auf die Pyknidienbildung von *Mycosphaerella pinodes*.

| (Versuchsdauer 144 h) | Pyknidienanzahl (in % der Kontrolle) | | |
|-----------------------|---|-----|--|
| Versuch I: | | | |
| Kontrolle | 1413 | 100 | |
| Hydrochinon | 1346 | 95 | |
| Arbutin | 747 | 53 | |
| p-Cumarsäure | 1020 | 72 | |
| Ferulasäure | 347 | 25 | |
| Versuch II: | | | |
| Kontrolle | 1680 | 100 | |
| p-Hydroxybenzoësäure | 496 | 30 | |
| Protocatechusäure | 717 | 43 | |
| Gallussäure | 1079 | 64 | |
| Vanillinsäure | 496 | 30 | |
| Syringasäure | 299 | 18 | |

Bei den $1/_{5000}$ bzw. $1/_{10000}$ molaren Konzentrationen unterblieb bei sämtlichen geprüften Substanzen eine sichtbare Wirkung. In ähnlich wirkungslosen Mengen dürften diese Phenolkörper natürlicherweise im Kontrollnährdekokt aus Samenschalen von 'W. v. Kelvedon' enthalten sein. *M. pinodes* zeigte sich jedoch bemerkenswert empfindlich für einige dieser

Phenole in $1/_{500}$ bzw. $1/_{1000}$ molaren Konzentrationen; sämtliche Substanzen wirkten in diesen geringen Mengen bereits fungistatisch. Da wir diese Phenolkörper bei allen geprüften Sorten fanden und sie in vivo daher keine Rolle als Resistenzfaktoren spielen können, weisen auch hier die erzielten Hemmungen darauf hin, wie vorsichtig der Nachweis derartiger Effekte zu beurteilen ist.

Sämtliche phenolische Säuren hemmten $1/_{1000}$ molar das Mycelwachstum von *M. pinodes*, p-Cumarsäure allerdings nur sehr schwach. Deutlicher äußerte sich die Wirkung an der Pyknidienproduktion (Tab. 9). Besonders hohe Effekte erzeugten die methoxylierten Substanzen. Ferulasäure setzte die Pyknidienproduktion auf 25%, Vanillinsäure auf 30% und Syringasäure mit 2 Methoxylgruppen auf 18% der Kontrolle herab. Die ebenfalls hohe Wirksamkeit der p-Hydroxybenzoësäure (30% der Kontrolle) und im Zusammenhang dazu die Verminderung

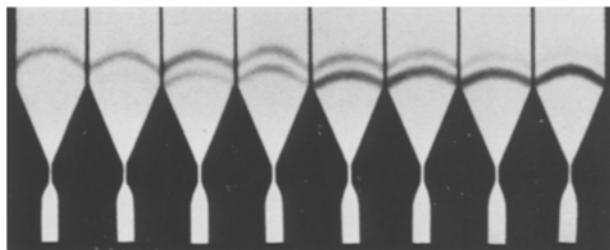


Abb. 7. Enzymatische Deglucosidierung des Arbutins durch *M. pinodes* (Kontrolldekokt + $1/_{500}$ m Arbutin). V. links n. rechts: 40, 64, 88, 112 usw. Stunden nach Beimpfung. Obere Zone: Arbutin, untere: Hydrochinon. Laufmittel: 3%ige Essigsäure; Reagens: Phosphormolybdänsäure.

des Hemmefektes durch steigende Hydroxylgruppenzahl (Protocatechusäure 43%, Gallussäure 64% der Kontrolle) war nicht unbedingt zu erwarten. Auffällig waren auch die unterschiedlichen Wirkungen von Arbutin und Hydrochinon ($1/_{500}$ m). Hydrochinon hemmte ähnlich wie die phenolischen Säuren das Mycelwachstum deutlich, Arbutin hemmte es nicht oder nur sehr schwach. Die Sporulation dagegen blieb durch Hydrochinon nahezu unbeeinflußt (95%), während Arbutin sie erheblich herabsetzte (53% der Pyknidien der Kontrolle).

Die hydrochinon- und arbutinhaltigen Substrate färbten sich im Laufe des Versuchs zunehmend bräunlich. Wir untersuchten deshalb das Schicksal beider Substanzen papierchromatographisch (Probenahme: 40 h nach der Beimpfung und nach je weiteren 24 h, 1 Woche lang). Ein nachweisbarer Schwund des Hydrochinons durch die Bildung brauner Oxydationsprodukte ließ sich jedoch nicht feststellen. Im gleichen Zeitraum wurde das Arbutin unter Freisetzung von Hydrochinon (Abb. 7) zunehmend enzymatisch deglucosidiert, worin die Ursache der auch in diesen Kulturen entstehenden Bräunung zu suchen ist. *M. pinodes* ist demnach in der Lage, eine β -Glucosidase zu bilden, die die Nutzung der Glucose des Arbutins als allerdings unwesentliche Kohlenstoffquelle gestattet.

3. Die Wirkung der Leucoanthocyane auf die Pektininasen und Cellulinasen der Fußkrankheitserreger

Aus verschiedenen Gründen vermuteten wir bei den Fußkrankheitserregern die Produktion von Pek-

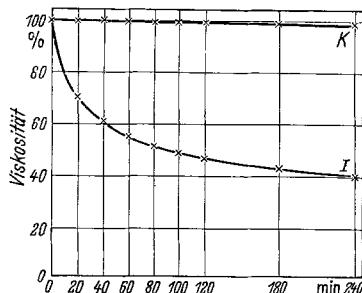


Abb. 8. Pektolytische Aktivität der Kulturflüssigkeit von *M. pinodes*. Pektin mit aktivem (I) und mit erhitztem (K) Fermentkonzentrat.

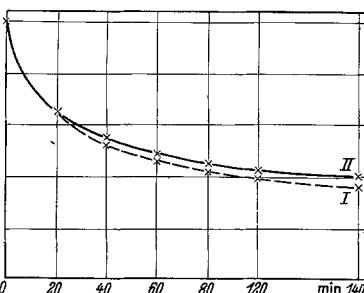


Abb. 9. Die Wirkung von schwachkondensiertem Leucodelphinidin auf die Pektininasen von *M. pinodes*. Pektin mit Fermentkonzentrat (I) und mit 1% des Leucodelphinidins (II).

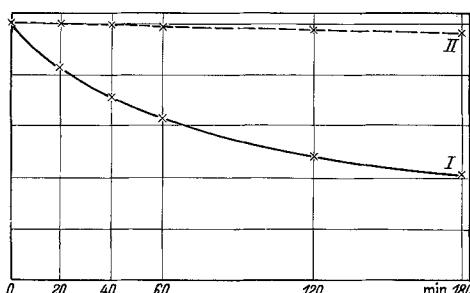


Abb. 10. Hemmung der Pektinase-Aktivität von *Ascochyta pisi* durch hochkondensiertes Leucodelphinidin. Pektin mit Fermentkonzentrat (I) und mit 2% „polymerem“ Leucodelphinidin (II).

tininasen und Cellulinasen. Bei der Besiedelung der Samenschalen dürften nur die Polysaccharide der Zellmembranen die wesentliche Kohlenstoffquelle der Pilze sein, da Stärke in den Testazellen weder bei buntblühenden noch bei Schal- oder Markerbsen nachgewiesen werden konnte und einfache Zucker¹, wenn vorhanden, während der Quellung durch ihre leichte Löslichkeit rasch verloren gehen. Der Abbau der Polysaccharide setzt die Produktion dieser Fermente voraus. Auffällig ist außerdem, daß die befallenen Stellen auf Samenschalen quellender Schal- und Markerbsen ihre Elastizität verlieren und rissig und krümelig werden. Auch die interzelluläre Ausbreitung der Pathogene in Blättern und Stengeln der Erbse läßt auf die Wirkung derartiger Fermente schließen. Obwohl hier nicht die für viele pilzliche Pathogeneser anderer Pflanzen charakteristische Auflösung der Mittellamellen erfolgen soll (KERLING 1949; BAUMANN 1953), sind jedoch Perforationen der Zellmembranen zu beobachten. Weiterhin schien eine Inaktivierung solcher Fermente durch die Leucoanthocyane in den Samenschalen buntblühender Erbsen nicht ausgeschlossen, die die von STOLL (1951) gefundene hohe Mazerationsfestigkeit erklären könnte.

In den auf $1/20$ des ursprünglichen Volumens eingengten Kultursubstraten (Dekokte von leucoanthocyanfreien Samenschalen) konnten wir für *M. pinodes*, *Ascochyta pinodella* und *A. pisi* die Produktion von Pektininasen und für die beiden ersten Arten auch die Bildung von Cellulinasen an der Abnahme der Viskosität einer Pektin- bzw. Carboxymethylcelluloselösung nachweisen (Abb. 8, 9, 10 u. 11).

Zum Nachweis eventueller Hemmefekte der Leucoanthocyane prüften wir die Wirkung von „oligomerem“ bzw. gerbstoffartig hochkondensiertem Leucodelphinidin auf die Kulturflüssigkeitskonzentrate. 1% „oligomeres“ Leucodelphinidin bewirkte bei einer Fermentprobe von *M. pinodes* gegenüber der Kontrolle keine signifikante Verminderung der Pektinaseaktivität (Abb. 9). Innerhalb der ersten 20 min verlief der Viskositätsabbau in völliger Übereinstimmung mit dem der Kontrolle und erst gegen 140 min wurde ein geringfügiger Hemmefekt bemerkbar, der allerdings weniger als 5% der Ausgangsviskosität betrug. Hochkondensiertes Leucodelphinidin verhinderte ebenfalls 1%ig bei einem Fermentpräparat von *A. pinodella* die Pektinaseaktivität innerhalb 180 min dagegen zu über 50%; trotz der starken Hemmung wurde aber der pektoly-

tische Abbau bis zur Beendigung gebracht. 2%ig führte das gerbstoffartige Leucodelphinidin bei einem entsprechenden Rohfermentkonzentrat von *A. pisi* fast zur totalen Inaktivierung der Pektininasen (Abb. 10). Die Cellulaseaktivität von *A. pinodella* wurde durch 2% des hochkondensierten Präparates ebenfalls vollständig gehemmt (Abb. 11). Das gleiche Ergebnis erhielten wir für das Cellulase-Rohpräparat von *M. pinodes*. Für Parallelversuche mit Leucocyanidin fehlten uns leider die erforderlichen Substanzmengen. Wir halten jedoch die Annahme für weitgehend sicher, daß für Leucocyanidin analoge Effekte zu erwarten sind.

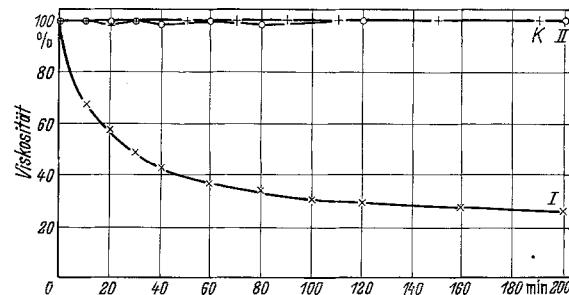


Abb. 11. Hemmung der Cellulase-Aktivität von *Ascochyta pinodella* durch hochkondensiertes Leucodelphinidin. Carboxymethylcellulose mit erhitztem (K) bzw. aktivem (I) Fermentkonzentrat und Zusatz von 2% „polymerem“ Leucodelphinidin (II).

Nach den vorliegenden Ergebnissen ist in den Samenschalen der buntblühenden Erbsen durch den hohen Leucoanthocyangehalt mit einer hochgradigen Hemmung der Pektininasen und Cellulinasen der Fußkrankheitserreger zu rechnen. Die Ursache für die Inaktivierung der Fermente scheint auf dem Gerbstoffcharakter der hochkondensierten Komponenten zu beruhen, wobei die Abbindung des Fermenteiweißes erfolgt. Für diese Erklärung spricht auch die Feststellung, daß sich durch schwach kondensiertes Leucodelphinidin, dem die ausgeprägten Gerbstoffeigenschaften noch fehlen, kein klarer Hemmefekt an Pektininasen erzielen ließ.

D. Diskussion der Ergebnisse

Um die Bedeutung der phenolischen Testa-Inhaltsstoffe der Erbse für die unterschiedliche Fußkrankheitsresistenz der Erbsensorten zu klären, war zunächst deren Identifizierung nötig. Wir fanden sowohl bei resistenten wie auch bei anfälligen Sorten ohne wesentliche Unterschiede p-Hydroxybenzoe-, Protocatechu-, Vanillin-, Syringa-, p-Cumar- und Ferulasäure und Arbutin, die zusammen mit ähn-

¹ MÜLLER (1962) fand in den Samenschalen der Schal-erbse 'Kleine Rheinländerin' weder lösliche Kohlehydrate noch Aminosäuren.

lichen phenolischen Verbindungen allerdings als in der Pflanzenwelt nahezu ubiquitär verbreitet gelten können (vgl. z. B. HERRMANN 1956, 1957, 1958, 1959; IBRAHIM u. TOWERS 1960). In den nachgewiesenen geringen Konzentrationen stellt ihr Vorkommen in den Erbsensamenschalen daher keine Besonderheit dar. Wie die ebenfalls bei allen Sorten gefundenen Substanzen Hydrochinonglucosid II und Syringäsäure-„glykosid“ zu bewerten sind, muß vorläufig dahingestellt bleiben. Kaffeesäure, die nach HERRMANN (1957) in Erbsenblättern vorkommt, konnten wir in den Samenschalen nicht nachweisen.

Buntblühende Sorten enthalten in den Samenschalen außerdem ausnahmslos Leucodelphinidin bzw. Leucocyanidin in teilweise bemerkenswert hohen Konzentrationen. Nach BATE-SMITH u. RIBEREAU-GAYON (1959) ist das Vorkommen von Leucoanthocyanen in der Testa bei den Leguminosen ein Merkmal von taxonomischem Wert. Besonders für die krautigen Leguminosen ist die hohe Regelmäßigkeit leucoanthocyanhaltiger Samenschalen im Gegensatz zum wesentlich unregelmäßigeren Vorkommen dieser Substanzen in den Blättern auffällig. Am Rande erwähnt sei, daß aber z. B. auch die Samenschalen von Wein, Apfel und Walnuß leucoanthocyanhaltig sind (ROBINSON u. ROBINSON 1933; BATE-SMITH u. LERNER 1954).

Die von uns gefundene Strukturhomologie zwischen den Leucoanthocyanen der Testa und den Anthocyanidinen der Blütenfarbstoffe, die sich in der Übereinstimmung der Zahl der Hydroxyl- und Methoxylgruppen am Seitenphenylring äußert, scheint auch bei anderen Leguminosen vorzukommen. So können bei den zahlreichen Blütenfarbvarianten von *Lathyrus odoratus* L. ähnliche Zusammenhänge als sicher gelten, obwohl keine direkten Paralleluntersuchungen beider Substanzgruppen durchgeführt wurden (ROBINSON u. ROBINSON 1933, 1934; HARBORNE 1960). Weiterhin ist die Zahl der Hydroxylgruppen der Leucoanthocyanen, Anthocyanidine und Flavonole in den Samenschalen verschiedener Varietäten von *Phaseolus vulgaris* L. gleichfalls gen-abhängig (FEENSTRA 1960).

Antimikrobiell wirksame phenolische Pflanzeninhaltsstoffe können in den Wirt-Parasit-Beziehungen zahlreicher pilzlicher und bakterieller Pathogenesen zweifellos eine bemerkenswerte Rolle spielen. Allerdings mag diesbezüglich in einigen Fällen eine Überbewertung ihrer Bedeutung erfolgt sein. Es ist schon von verschiedenen Seiten darauf aufmerksam gemacht worden (vgl. WINTER 1959; HENKE 1961), daß besonders dann zu vorsichtigen Interpretationen zu raten ist, wenn es sich bei den fraglichen Phenolkörpern um in der Pflanzenwelt weit verbreitete Substanzen handelt und die vorliegenden Konzentrationen eine effektive Wirksamkeit als zweifelhaft erscheinen lassen. Im wesentlichen gibt es zwei Möglichkeiten für die Zusammenhänge zwischen Resistenz der Pflanzen und Vorkommen phenolischer Inhaltsstoffe (vgl. GÄUMANN 1951; JOHNSON u. SCHAAL 1957; FARKAS u. KIRALY 1958, 1962). Die antimikrobiell wirksamen Phenolkörper können entweder genetisch bedingt, präinfektionell als Axeniefaktoren (im Sinne GÄUMANNS, 1951) in den Pflanzen bzw. in bestimmten Organ- oder Gewebeteilen vorkommen oder postinfektionell in der Nähe der Infektionsherde

angereichert bzw. verstärkt synthetisiert werden und so in die Wirt-Parasit-Auseinandersetzung eingeschaltet sein.

Über den Mechanismus der antimikrobiellen Wirkung der Phenolkörper ist bisher noch wenig bekannt. Wahrscheinlich greifen sie in die Stoffwechselvorgänge der Atmung ein. Sicher ist jedenfalls, daß sie die Aktivität zahlreicher Fermentsysteme vor allem hemmend beeinflussen können. Die Fermenthemmung ist entweder auf die Phenole direkt, auf ihre Oxydationsprodukte oder auf kondensierte Substanzen mit Gerbstoffcharakter zurückzuführen, wobei Stellung und Zahl der Hydroxylgruppen, ihre Verätherung oder Glykosidierung usw. die Wirksamkeit modifizieren (z. B. BOSER 1959).

Eines der am längsten bekannten Beispiele für die Resistenzwirkung phenolischer Inhaltsstoffe ist die *Colletotrichum*-Resistenz der gelb- bis rotschaligen Zwiebelsorten, die auf dem Gehalt an Protocatechusäure und Brenzcatechin beruht (ANGELL u. a. 1930; LINK u. WALKER 1933; WALKER u. LINK 1935; HATFIELD u. a. 1948). Für einige Pathogenen der Kartoffel ist ein erhöhter Chlorogensäuregehalt (bzw. die Fähigkeit verstärkter Synthese) als Ursache der Resistenz verschiedener Sorten diskutiert worden (JOHNSON u. SCHAAL 1952, 1957; SCHAAL u. JOHNSON 1955; KUC u. a. 1955, 1956; LEE u. LE TOURNEAU 1958; CLARK u. a. 1959). Allerdings wird der Chlorogensäure nicht übereinstimmend so große Bedeutung beigemessen. EMILSSON (1953), WOLFGANG u. HOFFMANN (1959) und HOLM u. ADAMS (1960) fanden z. B. keine Beziehungen zwischen Chlorogensäuregehalt und Schorfresistenz der Kartoffel. Resistenz ist außerdem bei der Tomate, Batate, dem Hafer, bei verschiedenen Weizen-, Reis-, Birnen- und Pappelsorten usw. mit Polyphenolen in Zusammenhang gebracht worden (MENON u. SCHACHINGER 1957; URITANI 1953; TURNER 1960; NEWTON u. ANDERSON 1929; WAKIMOTO u. a. 1958, 1960; SIEBS 1955; OKU 1960; BUTIN u. LOESCHKE 1960). Weiterhin wurden Hemmungen des Wachstums und der Sporulation durch verschiedene Phenolkörper u. a. bei *Venturia inaequalis* (Cke.) Wint. und *Sclerotinia fructigena* Ad. et R. in vitro festgestellt und als Resistenzursachen diskutiert (KIRKHAM u. FLOOD 1956; BYRDE u. a. 1960).

In den Erbsensamenschalen kann, da es sich um tote Gewebe handelt, für die phenolischen Inhaltsstoffe nur die Rolle von Axeniefaktoren in Frage kommen. Unter den gefundenen Substanzen war für die hochgradige Widerstandsfähigkeit der buntblühenden Sorten nur in den Leucoanthocyanen und für die abgestufte Anfälligkeit der weißblühenden Schal- und Markerbsen höchstens in den Substanzen C und F eine Resistenzfunktion zu erwarten. Die Ursache der hohen Resistenz der buntblühenden Sorten sah STOLL (1951) in der auffälligen Mazerationsfestigkeit der Samenschalen. Nach dieser Auffassung ist also die Barrierefunktion durch strukturelle Besonderheiten der Testa erklärt. Demgegenüber fand SÖRGEL (1952, 1956a) bei solchen Sorten als Resistenzursache die fungistatische Wirkung wasserlöslicher Inhaltsstoffe. Er betonte demnach die Bedeutung chemischer Besonderheiten der Testa und versuchte auch, die von STOLL beschriebene Mazerationsfestigkeit mit der Hemmwirkung der Inhaltsstoffe zu deuten. Damit ließ sich jedoch nicht erklären, warum diese Samenschalen, wie STOLL mitteilte, auch fest gegen anorganische Mazerationsmittel sind.

Nach den Ergebnissen unserer Untersuchungen lassen sich beide Auffassungen durchaus in Verbindung bringen und auf die gleiche Grundlage, auf die Leucoanthocyanen, zurückführen. Deren Eigen-

schaft der Autokondensation führt dazu, daß in den Samenschalen die verschiedensten Kondensationsstufen vorliegen, die sich durch größere oder geringere Wasserlöslichkeit, unterschiedliche Quellfähigkeit und in der Endphase der Kondensation durch totale Unlöslichkeit auszeichnen. Die SÖRGELSche Deutung der Fußkrankheitsresistenz beruht auf der fungistatischen Wirkung der wasserlöslichen Komponenten. Von SÖRGEL (1956b) wissen wir außerdem, daß auch die Keimung von Konidien der Fußkrankheitserreger durch Samenschalendekokte von buntblühenden Erbsen, d. h. also durch die Leucoanthocyane, gehemmt wird. Da solche Erbsensamen während der Quellung beachtliche Mengen von Leucoanthocyane abgeben, ist schon in der sogenannten Spermatosphäre mit einer Entwicklungshemmung der Pathogene zu rechnen. Im Zusammenhang mit der durch Kondensationsvorgänge herabgesetzten Hemmwirkung der Leucoanthocyane sind der Ergebnisse von RAIBLE u. VIRTANEN (1957) von Interesse. Die Autoren fanden in den grünen Teilen der Heidelbeere (*Vaccinium myrtillus* L.) eine phenolische, gerbstoffartige Substanz mit starker Hemmwirkung auf *Fusarium nivale* (Fries) em. Ces. Die Substanz färbt sich im Laufe der Zeit dunkler, wobei die antifungale Wirksamkeit allmählich abnimmt.

Die strukturell erklärte Mazerationfestigkeit wird durch die schwer- bis unlöslichen Leucoanthocyankomponenten verursacht. Die Bedeutung dieser bis zur Endphase kondensierten Substanzen können wir analog zur Rolle der Gerbstoffe im Kernholz vieler Laubgehölze (LYR 1961) im wesentlichen in der Inkrustierung der Testazellmembranen sehen, wodurch deren fermentative Angreifbarkeit wesentlich herabgesetzt wird. Den Fußkrankheitserregern wird damit in hohem Maße die Nährstoffbasis entzogen und außerdem ein Durchdringungs- und Ausbreitungs-widerstand entgegengesetzt. Wie wir nachweisen konnten, produzieren *Mycosphaerella pinodes*, *Ascochyta pinodella* und *A. pisi* Pektininasen und die beiden ersten Arten auch Cellulinasen, deren Aktivität in hohem Maße von hochkondensierten, aber noch wasserlöslichen Leucoanthocyankomponenten gehemmt wird. Die durch die Leucoanthocyaninkrustierung ohnehin schon verminderte fermentative Angreifbarkeit der Zellmembranen der Samenschalenzellen wird damit durch die fortlaufende Blockierung der pilzlichen Pektininasen und Cellulinasen zusätzlich herabgesetzt. Die offenbar auf dem Gerbstoffcharakter der hochkondensierten Substanzen, d. h. auf der Abbindung des Fermenteiweißes beruhende Inaktivierung dürfte sich sicher auch auf andere Ferment-systeme der Pathogene erstrecken.

Besonders die Hemmung pektolytischer Enzyme durch verschiedene Polyphenole teilten auch andere Autoren mit. So wirken z. B. nach COLE (1958) in mit *Sclerotinia fructigena* infizierten Äpfeln die Polymerisationsprodukte¹ von Leucoanthocyane hemmend auf die Polygalacturonase des Pilzes, so daß die befallenen Stellen der Früchte nicht weich werden. Eine ähnliche Hemmung von Polygalacturonase erzielten POLLARD u. a. (1958) mit einem Leucoanthocyan-Präparat aus Birnen, und sie schrieben den Effekt der eiweißfallenden Wirkung dieser Substanzen zu. Des weiteren berichteten auch GROSSMANN (1958), HATHWAY u. SEAKINS (1958), RAMASWAMY u. LAMB

¹ Die Polymerisation der Leucoanthocyane nach COLE scheint unserer von FREUDENBERG (1960) übernommenen „Kondensation“ zu entsprechen.

(1958) und BYRDE u. a. (1960) über Hemmungen pektolytischer Enzyme durch verschiedene Polyphenole. Ein Cellulase-Inhibitor in den Blättern einer *Vitis*-Art ist vermutlich auch ein hochmolekularer Phenolkörper (BELL u. a. 1960). Eine während der Keimung der Samen von *Vicia faba* L. in Aktion tretende Saccharase wird durch Inhaltsstoffe der Samenschale gehemmt (PRIDHAM 1958). Es könnte sich auch hier um die Wirkung gerbstoffartiger Substanzen handeln, denn verschiedene Varietäten von *V. faba* enthalten Leucoanthocyane in der Testa (DICKINSON u. a. 1957).

Verschiedene Hinweise, z. B. die Unterdrückung der Entwicklung von Bakterien auf leucoanthocyanhaltigen Erbsensamenschalen und die Gerbstoffnatur, deuten auf ein relativ breites antimikrobielles Wirkungsspektrum der Leucoanthocyane hin. Es ist daher sehr wahrscheinlich, daß sie auch in den Samenschalen anderer Pflanzen — besonders unter den Leguminosen — ebenfalls einen barrierefähigen Schutz gegen die Angriffe von Mikroorganismen darstellen. So fanden z. B. JACOBS u. DADD (1959) und THOMPSON (1960) in den Samenschalen von *Lathyrus odoratus*, *Trifolium subterraneum* L., *T. repens* L. und *Medicago sativa* L. antibakterielle Substanzen, über deren chemische Natur allerdings bisher nur wenig bekannt sein dürfte. Die Samen von *Vicia villosa* Roth. geben während der Quellung gerbstoffartige Substanzen ab, die das Wachstum von Streptomyzeten hemmen (VODERBERG 1959). Es ist hier unklar, ob es sich um Inhaltsstoffe der Samenschale handelt. Nach unseren Untersuchungen enthält auch die Testa von *V. villosa* Leucoanthocyane.

Die Vermutung, daß die fluoreszierenden phenolischen Substanzen C und besonders F die Ursache der unterschiedlichen Fußinfektionsanfälligkeit der weißblühenden Erbsen sein könnten, stützte sich vor allem auf die interessante Feststellung, nach der sie bei der Mehrzahl der geprüften, in der Regel als relativ widerstandsfähig geltenden Schalerbsensorten in der Testa vorkommen, bei den meisten der z. T. extrem anfälligen Markerbsen dagegen fehlen. Obwohl wir *in vitro* die antifungale Wirkung der Substanz F nachweisen konnten, führten die Ergebnisse anderer Versuche nicht zur Bestätigung der anfänglich vermuteten Resistenzzusammenhänge. Die beobachtete fungistatische Wirkung der Substanz F erschien sofort als fragwürdig, als wir für die Phenolcarbon- und Oxyzimtsäuren, für Arbutin und Hydrochinon in etwa entsprechenden Konzentrationen an *M. pinodes* ähnliche Hemmefekte feststellen konnten, obwohl diese Substanzen selbst in den Samenschalen hochanfälliger Markerbsen vorkommen und dort *in vivo* offensichtlich keine Rolle spielen. Wir möchten an dieser Stelle nochmals darauf hinweisen, wie leicht aus dem bloßen Nachweis antimikrobieller Effekte Fehlschlüsse gezogen werden können. Für die phenolischen Testa-Inhaltsstoffe der weißblühenden Erbsensorten halten wir zusammenfassend die Feststellung für gerechtfertigt, daß sie im Falle der Besiedlung der Samenschalen im wesentlichen ohne Einfluß auf die Entwicklung der Fußkrankheitserreger sind und daß die beobachtete abgestufte Anfälligkeit dieser Sorten nicht auf phenolischen Inhaltsstoffen der Testa beruhen kann.

Die Resistenzunterschiede zwischen Schal- und Markerbsensorten können daher im Falle der Fußinfektion nur auf Besonderheiten des Keimlings beruhen. In diesem Zusammenhang ist z. B. die Beob-

achtung kutikulärer Eindringungsresistenz zu erwähnen (GILCHRIST 1926; BREWER 1960). Weiterhin sind manche Sorten durch ein ausgeprägtes Regenerationsvermögen in der Lage, einen frühzeitigen Verlust der Hauptwurzel durch korrelative Bildung von Adventivwurzeln auszugleichen (STOLL 1951). Die vom gleichen Autor vertretene Ansicht, daß der Erbse eine plasmatisch bedingte Fußkrankheitsresistenz offenbar fehle, möchten wir nicht unterstützen, denn verschiedene Untersuchungen (u. a. BREWER u. McNEILL 1953; BREWER 1960) deuten auf die Existenz echter Abwehrreaktionen hin. So wird in Erbsenhülsen nach Infektion durch verschiedene Pilzarten als Ergebnis der Wirt-Parasit-Auseinandersetzung ein antifungal wirksames Phytoalexin, das Pisatin gebildet (CRUICKSHANK u. PERRIN 1960, 1961), dessen chemische Struktur bereits geklärt werden konnte (PERRIN u. BOTTOMLEY 1961). Ob in Keimlingen mit ähnlichen Reaktionen gerechnet werden kann, bleibt noch zu untersuchen. Einer der Welkeerreger der Erbse, *Fusarium oxysporum* f. *pisi* (Lin.) Sn. et H. wird durch Wurzelexudate welkeresistenter Sorten gehemmt (BUXTON 1957, 1960). Die Fußkrankheitserreger betreffende, ähnliche Effekte sind nicht ausgeschlossen. Leucoanthocyane können weder im Keimling noch in den krautigen Teilen der Erbsenpflanze eine Resistenzursache sein; sie kommen außer in den Samenschalen nur im Funiculus, in bestimmten Teilen des Blütenstiel und der Basis der verwachsenen Nebenblätter vor.

Die Barriereresistenz-Wirkung der leucoanthocyanhaltigen Samenschalen ist -- von Futtererbsen abgesehen -- züchterisch nicht zu nutzen, wenn man nicht weitgehende Zugeständnisse hinsichtlich der geschmacklichen Qualitätsforderungen machen will. Die ausnahmslose qualitative Minderwertigkeit der buntblühenden Sorten ist eben auf die Leucoanthocyane zurückzuführen; sie sind die Ursache eines gerbstoffartig adstringierenden Geschmackes und unerwünschter Bräunungen, die bei der Verwendung als Trockenspeiseerbsen wie auch bei der Grünkonservierung auftreten. Hohe Krankheitsresistenz und gute Qualität schließen sich leider, wie schon wiederholt beobachtet (z. B. REUTHER 1961), nicht selten gegenseitig aus. Sollten uns nicht bekannte Schal- und Markerbsenformen existieren, deren Samenschalen einen so hohen Phenolkörpergehalt aufweisen, daß damit eine effektive Resistenzwirkung verbunden ist, dann steht man, was die züchterische Nutzbarkeit anbelangt, vor dem gleichen Dilemma wie bei den buntblühenden Sorten, denn auch in diesem Falle wäre mit geschmacklichen Beeinträchtigungen zu rechnen. Eine geeignete Grundlage der Resistenzzüchtung können demnach nur die Abwehrpotenzen sein, die die lebende Erbsenpflanze einer Fußinfektion entgegenzusetzen hat.

Für die Überlassung des Themas und sein ständiges Interesse am Fortgang der Arbeit möchte ich Herrn Prof. Dr. A. SCHNEIDER (Quedlinburg) meinen verbindlichsten Dank aussprechen.

E. Zusammenfassung

Alle untersuchten Erbsensorten enthalten ohne auffällige Unterschiede in den Samenschalen in sehr geringen Mengen p-Hydroxybenzoe-, Protocatechu-, Vanillin-, Syringa-, p-Cumar- und Ferulasäure und in etwas höheren Konzentrationen Arbutin, ein weiteres

Hydrochinonglucosid (vermutlich ein Diglucosid) und ein Syringasäure-„glykosid“.

Beschränkt auf buntblühende Sorten ist das Vorkommen von Leucoanthocyane in bemerkenswert hohen Konzentrationen (bis 13,5% des Tr.-gew. der Samenschalen). Die zahlenmäßig vorherrschenden violettblühenden Sorten enthalten in der Testa Leucodelphinidin und teilweise Spuren von Leucocyanidin, die selteneren rosa bis hellroten Sorten nur Leucocyanidin. Zwischen den Leucoanthocyane und den Anthocyanidinen der Blütenfarbstoffe bestehen substitutionelle Beziehungen. Zusammen mit Leucodelphinidin tritt Gallussäure in den Samenschalen auf.

LEDIGLICH bei weißblühenden Schal- und Markerbsensorten scheinen in der Testa die im UV-Licht intensiv fluoreszierenden phenolischen Substanzen C und F vorzukommen. Die Substanzen konnten vorläufig noch nicht identifiziert werden.

Die Leucoanthocyane hemmen Wachstum und Sporulation von *Mycosphaerella pinodes*. Die niederen Konzentrationsstufen sind wirksamer als die gerbstoffartig hochkondensierten Komponenten.

Mycosphaerella pinodes, *Ascochyta pinodella* und *A. pisi* produzieren auf leucoanthocyanfreien Samenschalendekokten Pektinasen, die beiden ersten Arten außerdem Celluläsen. Die Aktivität der Fermente wird durch hochkondensiertes Leucodelphinidin gehemmt; die Hemmung beruht vermutlich auf der eisweißfallenden Wirkung der gerbstoffartigen Substanz. Schwach kondensiertes Leucodelphinidin, dem die ausgeprägten Gerbstoffeigenschaften noch fehlen, war (bei Pektinasen) nahezu wirkungslos.

Die Fußinfektions-Scheinresistenz der buntblühenden Erbsensorten wird demnach durch die Durchdringungs- und Ausbreitungsbarriere der Leucoanthocyane verursacht.

Obwohl sich für die Substanz F und die anderen allgemein vorkommenden Phenolkörper an *M. pinodes* in vitro fungistatische Effekte nachweisen ließen, reichen die Konzentrationen in den Samenschalen nicht aus, um die Resistenzunterschiede zwischen Schal- und Markerbsensorten zu erklären.

Literatur

1. ANDERSON, J. D., L. HOUGH and J. B. PRIDHAM: The reaction of carbohydrates with phenolic glucosides. Biochem. J. **77**, 564–567 (1960). — 2. ANGELL, H. R., J. C. WALKER and K. P. LINK: The relation of protocatechuic acid to disease resistance in the onion. Phytopathology **20**, 431–438 (1930). — 3. BATE-SMITH, E. C.: Leucoanthocyanins. I. Detection and identification of anthocyanidins formed from leucoanthocyanins in plant tissue. Biochem. J. **58**, 122–125 (1954). — 4. BATE-SMITH, E. C., and N. H. LERNER: Leucoanthocyanins. II. Systematic distribution of leucoanthocyanins in leaves. Biochem. J. **58**, 126–132 (1954). — 5. BATE-SMITH, E. C., and P. RIBEREAU-GAYON: Leucoanthocyanins in seeds. Qualitas Plant. et Mat. veg. **5**, 189–198 (1959). — 6. BAUMANN, G.: Untersuchungen zur Biologie von *Mycosphaerella pinodes* (Berk. et Blox.) Stone. Kühn-Archiv **67**, 305–383 (1953). — 7. BELL, T. A., L. W. AURAND and J. L. ETCHELLS: Cellulase inhibitor in grape leaves. Bot. Gaz. **122**, 143–148 (1960). — 8. BÖRNER, H.: Nachweis phenolischer Verbindungen in Leinsamen und ihre Abgabe während der Quellung. Flora **145**, 479–496 (1958). — 9. BOSER, H.: Modellversuche zur Hemmung der Dehydrogenasen durch Pflanzeninhaltsstoffe. Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **316**, 284–286 (1959). — 10. BREWER, D.: Studies in *Ascochyta pisi* Lib. Canad. J. Bot. **38**, 705–717 (1960). — 11. BREWER, D., and B. H. McNEILL: Preliminary studies in *Ascochyta pisi*. Canad. J. Bot. **31**, 739–744 (1953). — 12. BUTIN, H., u. V. LOESCHKE: Nachweis fungistatischer Stoffe in der Rinde verschiedener Pappelsorten. Naturwiss. **47**, 451–452 (1960). — 13. BUXTON, E. W.: Some effects of pea root exudates on physiologic races of *Fusarium oxysporum* Fr. f. *pisi* (Linf.) Snyder and Hansen. Trans. Brit. Mycol. Soc. **40**, 145–154 (1957). — 14. BUXTON, E. W.: Effects of pea root exudate on the antagonism of some rhizosphere microorganisms towards *Fusarium oxysporum* f. *pisi*. J. gen. Microbiol. **22**, 678–689 (1960). — 15. BYRDE, R. J. W., A. H. FIELDING and A. H. WILLIAMS: The role of oxidized polyphenols in the

- varietal resistance of apples to brown rot. Aus: Phenolics in plants in health and disease. Oxford: Pergamon Press 1960, 95–99. — 16. CLARK, R. S., J. KUC, R. E. HENZE and F. W. QUACKENBUSH: The nature and fungitoxicity of an amino acid addition product of chlorogenic acid. *Phytopathology* **49**, 594–597 (1959). — 17. CLAUSS, E.: Die phenolischen Inhaltsstoffe der Samenschalen von *Pisum sativum* L. und ihre Bedeutung für die Resistenz gegen die Erreger der Fußkrankheit. *Naturwiss.* **48**, 106 (1961). — 18. COLE, M.: Oxidation products of leucoanthocyanins as inhibitors of fungal polygalacturonase in rotting apple fruit. *Nature* **181**, 1596–1597 (1958). — 19. CRUICKSHANK, I. A. M., and D. R. PERRIN: Isolation of a phytoalexin from *Pisum sativum* L. *Nature* **187**, 799–800 (1960). — 20. CRUICKSHANK, I. A. M., and D. R. PERRIN: Studies on phytoalexins. III. The isolation, assay and general properties of a phytoalexin from *Pisum sativum* L. *Austral. J. Biol. Sci.* **14**, 336–348 (1961). — 21. DICKINSON, D., M. KNIGHT and D. I. REES: Varieties of broad bean suitable for canning. *Chem. and Ind.* **1957**, 1503. — 22. EMILSSON, B.: The relation between content of chlorogenic acid and scab resistance in potato varieties. *Acta Agric. Scand.* **3**, 328–333 (1953). — 23. EWING, E. E.: Factors for resistance to pre-emergence damping-off in pea (*Pisum sativum* L.) incited by *Pythium ultimum* Trow. Diss. Cornell University 1959; zit. nach: *Plant Breeding Abstr.* **XXXI**, Nr. 1, 1098 (1961) und *Horticult. Abstr.* **30**, Nr. 3, 3834 (1960). — 24. FARKAS, G. L., and Z. KIRALY: Enzymological aspects of plant diseases. I. Oxidative enzymes. *Phytopathol. Z.* **31**, 251–272 (1958). — 25. FARKAS, G. L., and Z. KIRALY: Role of phenolic compounds in the physiology of plant diseases and disease resistance. *Phytopathol. Z.* **44**, 105–150 (1962). — 26. FEENSTRA, W. J.: Biochemical aspects of seedcoat colour inheritance in *Phaseolus vulgaris* L. *Meded. v. d. Landbouwhogeschool Wageningen (Nederland)* **60**, 1–53 (1960). — 27. FLAIG, W., u. K. HAIDER: Die Verwertung phenolischer Verbindungen durch Weißfäulepilze. *Arch. Mikrobiol.* **40**, 212–223 (1961). — 28. FREUDENBERG, K.: Catechine und Hydroxyflavandiole als Gerbstoffbildner. *Experientia* **16**, 101–105 (1960). — 29. FRIEDRICH, H.: Untersuchungen über den Gerbstoff von *Bergenia*-Arten und seine Beziehungen zum Arbutin. *Pharmazie* **9**, 138–155 (1954). — 30. FRIEDRICH, H.: Untersuchungen über die phenolischen Inhaltsstoffe von *Pyrus communis* L. 7. Mitt. Pyrosid. *Pharmazie* **15**, 650–654 (1960). — 31. GÄUMANN, E.: Pflanzliche Infektionslehre. Basel: Verlag Birkhäuser 1951, 681 S. — 32. GILCHRIST, G. G.: The nature of resistance to footrot caused by *Ascochyta* spp. and some other fungi in the epicotyl of pea. *Phytopathology* **16**, 269–276 (1926). — 33. GROSSMANN, F.: Über die Hemmung pektolytischer Enzyme von *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici* durch Gerbstoffe. *Naturwiss.* **45**, 113–114 (1958). — 34. HARBORNE, J. B.: Flavonoid pigments of *Lathyrus odoratus*. *Nature* **187**, 240–241 (1960). — 35. HATFIELD, W. C., J. C. WALKER and J. H. OWEN: Antibiotic substances in onion in relation to disease resistance. *J. Agr. Res.* **77**, 115–135 (1948). — 36. HATHWAY, D. E., and J. W. T. SEAKINS: The influence of tannins on the degradation of pectin by pectinase enzymes. *Biochem. J.* **70**, 158–163 (1958). — 37. HENKE, O.: Über die Bedeutung der Stickstoffverbindungen für die Stoffwechselphysiologischen Beziehungen zwischen Parasit und Wirt am Beispiel Reblaus-Rebe. *Phytopathol. Z.* **41**, 387–426 (1961). — 38. HENNIG, K., u. R. BURKHARDT: Der Nachweis phenolartiger Verbindungen und hydroaromatischer Oxycarbon-säuren in Traubenbestandteilen, Wein und weinähnlichen Getränken. *Weinberg u. Keller* **5**, 542–552, 593–600 (1958). — 39. HERRMANN, K.: Über den Nachweis und die Unterscheidung ein- und mehrwertiger Phenole auf dem Papierchromatogramm. *Pharmaz. Zentralhalle* **95**, 56–61 (1956a). — 40. HERRMANN, K.: Über Kaffeesäure und Chlorogensäure. *Pharmazie* **11**, 433–449 (1956b). — 41. HERRMANN, K.: Über Oxydationsfermente und phenolische Substrate in Gemüse und Obst. I. Mitt. Oxyzimtsäuren in Gemüse. *Z. Lebensm.-Unters. u. -Forschg.* **106**, 341–348 (1957). — 42. HERRMANN, K.: Über Oxydationsfermente und phenolische Substrate in Gemüse und Obst. III. Catechine, Oxyzimtsäuren und o-Polyphenoloxidase in Obst. *Z. Lebensm.-Unters. u. -Forschg.* **108**, 152–157 (1958a). — 43. HERRMANN, K.: Über Oxyzimtsäuren in Getreideblättern. *Naturwiss.* **45**, 111–112 (1958b). — 44. HERRMANN, K.: Über Oxyzimtsäuren mit Ausnahme der Kaffeesäure und der Chlorogensäuren. *Pharmazie* **13**, 266–276 (1958c). — 45. HERRMANN, K.: Über das Vorkommen von Gerbstoffen, Oxyzimtsäuren und Oxycumarinen in den Blattdrogen des DAB 6. *Arch. Pharmazie* **292/64**, 325–329 (1959). — 46. HOLM, E. T., and A. P. ADAMS: An investigation of the relationship of the chlorogenic acid and phenol oxidase content of a potato variety and its resistance to common scab. *Enzymologia (Den Haag)* **22**, 245–250 (1960). — 47. IBRAHIM, R. K., and G. H. N. TOWERS: The identification, by chromatography, of plant phenolic acids. *Arch. Biochem. Biophysics* **87**, 125–128 (1960). — 48. JACOBS, S. E., and A. H. DADD: Antibacterial substances in seed coats and their role in the infection of sweet peas by *Corynebacterium fascians* (Tilf.) Dowson. *Ann. appl. Biol.* **47**, 666–672 (1959). — 49. JOHNSON, G., and L. A. SCHAALE: Relation of chlorogenic acid to scab resistance in potatoes. *Science* **115**, 627–629 (1952). — 50. JOHNSON, G., and L. A. SCHAALE: Chlorogenic acid and other ortho-dihydricphenols in scab-resistant „Russet Burbank“ and scab-susceptible „Triumph“ potato tubers of different maturities. *Phytopathology* **47**, 253–255 (1957). — 51. JOHNSON, G., and L. A. SCHAALE: Accumulation of phenolic substances and ascorbic acid in potato tuber tissue upon injury and their possible role in disease resistance. *Amer. Potato J.* **34**, 200–209 (1957). — 52. KERLING, L. C. P.: Aantasting van erwten door *Mycosphaerella pinodes* (Berk. et Blox.) Stone. *Tijdschr. o. Plantenziekten* **55**, 41–68 (1949). — 53. KIRKHAM, D. S., and A. E. FLOOD: Inhibition of *Venturia* spp. by analogues of host metabolites. *Nature* **178**, 422–423 (1956). — 54. KNÖSEL, D.: Über die Wirkung aus Pflanzenresten freiwerdender, phenolischer Substanzen auf Mikroorganismen des Bodens. I. Der Einfluß von p-Oxybenzoësäure auf die Entwicklung von Pilzen, Actinomyceten und Bakterien. *Z. Pfl.-Ernährg., Dün., Bodenk.* **80**, 225–237 (1958). — 55. KNÖSEL, D.: Über die Wirkung aus Pflanzenresten freiwerdender phenolischer Substanzen auf Mikroorganismen des Bodens. II. Versuche mit p-Cumarsäure, Feruläsäure und Vanilinsäure. *Z. Pfl. Ernährg., Dün., Bodenk.* **85**, 58–66 (1959). — 56. KUC, J., A. J. ULLSTRUP and F. W. QUACKENBUSH: Production of fungistatic substances by plant tissues after inoculation. *Science* **122**, 1186–1187 (1955). — 57. KUC, J., R. E. HENZE, A. J. ULLSTRUP and F. W. QUACKENBUSH: Chlorogenic and caffeic acids as fungistatic agents produced by potatoes in response to inoculation with *Helminthosporium carbonum*. *J. Amer. chem. Soc.* **78**, 3123–3125 (1956). — 58. LEE, S., and D. LE TOURNEAU: Chlorogenic acid content and *Verticillium* wilt resistance of potatoes. *Phytopathology* **48**, 268–274 (1958). — 59. LEHMANN, C. R.: Das morphologische System der Saaterbsen (*Pisum sativum* L. sens. lat. Gov. ssp. *sativum*). *Züchter* **24**, 316–337 (1954). — 60. LINK, K. P., and J. C. WALKER: The isolation of catechol from pigmented onion scales and its significance in relation to diseases in onion. *J. Biol. Chem.* **100**, 379–383 (1933). — 61. LYALL, L. H., and V. R. WALLEN: The inheritance of resistance to *Ascochyta pisi* Lib. in peas. *Canad. J. Plant Sci.* **38**, 215–218 (1958). — 62. LYR, H.: Die Wirkungsweise toxischer Kernholz-Inhaltsstoffe (Thujaplicine and Pinosylvine) auf den Stoffwechsel von Mikroorganismen. *Flora* **150**, 227–242 (1961). — 63. MATHIAS, W.: Über ein papierchromatographisches Verfahren für Serienuntersuchungen in der Pflanzenzüchtung. *Züchter* **24**, 313–316 (1954). — 64. MENON, R., u. L. SCHACHINGER: Die Rolle des Phenols bei der Widerstandsfähigkeit der Tomatenpflanzen gegen Infektionen. *Ber. Dtsch. Bot. Ges.* **70**, 11–20 (1957). — 65. MÜLLER, H.: Untersuchungen zur Frage wechselseitiger Beziehungen zwischen keimenden Samen und Mikroorganismen in Samennähe. *Arch. Mikrobiol.* **41**, 351–382 (1962). — 66. NEWTON, R., and J. A. ANDERSON: Studies on the nature of rust resistance in wheat. IV. Phenolic compounds of the wheat plants. *Canad. J. Res. C*, **1**, 86–99 (1929). — 67. OGDEN, H. P.: Winter pea breeding. *Tenn. Agr. Expt. Sta. Ann. Rep.* **48**, 11–12 (1936). — 68. OKU, K.: Biochemical studies on *Cochliobolus miyabeanus*. IV. Fungicidal action of polyphenols and the role of polyphenoloxidase of the fungus. *Phyto-*

- pathol. Z. **38**, 342–354 (1960). — 69. PERRIN, D. R., and W. BOTTOMLEY: Pisatin: an antifungal substance from *Pisum sativum* L. Nature **191**, 76–77 (1961). — 70. POLLARD, A., M. E. KIESER and D. J. SISONS: Inactivation of pectic enzymes by fruit phenolics. Chem. and Ind. 1958, 952. — 71. PRIDHAM, J. B.: Occurrence and metabolism of oligosaccharides in the broad bean (*Vicia faba*). Nature **182**, 1687–1688 (1958). — 72. RAIBLE, K., u. A. I. VIRTANEN: Über einen antifungalen Faktor aus den grünen Teilen der Heidelbeerplantze (*Vaccinium myrtillus*). Acta chem. scand. **11**, 1432–1434 (1957). — 73. RAMASWAMY, M. S., and J. LAMB: Studies on the „fermentation“ of Ceylon tea. X. Pectic enzymes in tea leaf. J. sci. Food Agric. **9**, 46–56 (1958). — 74. REUTHER, G.: Genetisch-biochemische Untersuchungen an Rebenbastarden. Züchter **31**, 319–328 (1961). — 75. REZNIK, H.: Vergleichende Biochemie der Phenylpropane. Ergeb. d. Biologie **23**, 14–46 (1960). — 76. RILEY, R. F.: Paper partition chromatography of some simple phenols. J. Amer. chem. Soc. **72**, 5782–5783 (1950). — 77. ROBINSON, G. M., and R. ROBINSON: A survey of anthocyanins. III. Notes on the distribution of leucoanthocyanins. Biochem. J. **27**, 206–212 (1933). — 78. ROBINSON, G. M., and R. ROBINSON: A survey of anthocyanins. IV. Biochem. J. **28**, 1712–1720 (1934). — 79. ROUX, D. G., and S. R. EVELYN: Condensed tannins. II. Biogenesis of condensed tannins based on leucoanthocyanins. Biochem. J. **70**, 344–349 (1958). — 80. SCHAAL, L. A., and G. JOHNSON: The inhibitory effect of phenolic compounds on the growth of *Streptomyces scabies* as related to the mechanism of scab resistance. Phytopathology **45**, 626–628 (1955). — 81. SCHNEIDER, A.: Über das Vorkommen gerbstoffartiger Kondensationsprodukte von Anthocyanidinen in den Samenschalen von *Pisum arvense*. Naturwiss. **39**, 452–453 (1952). — 82. SIEBS, E.: Untersuchungen über die Schorfresistenz von Birnen. III. Stofflicher Hinweis auf die Grundlagen der Blattschorfresistenz. Phytopathol. Z. **23**, 37–48 (1955). — 83. SKOLKO, A. J., J. W. GROVES and V. R. WALLEN: Ascochyta diseases of peas in Canada — with special reference to seed transmission. Canad. J. Agric. Sci. **34**, 417–428 (1954). — 84. SÖRGEL, G.: Über eine neue Kulturmethode für Mikroorganismen. Züchter **21**, 322–324 (1951). — 85. SÖRGEL, G.: 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. Züchter **22**, 4–26 (1952). — 86. SÖRGEL, G.: Die Problematik der bisherigen Vorstellungen über die Resistenz gegen pilzliche Krankheitserreger, erläutert am Beispiel der Fuß- und Fleckenkrankheit der Erbse. Sitzungsber. DAL. Bd. V, H. 16, 1–20 (1956a). — 87. SÖRGEL, G.: Vergleichende Untersuchungen über die Konidienkeimung von *Mycosphaerella pinodes* (Berk. et Blox.) Stone, *Ascochyta pisi* Lib. und *Ascochyta pinodella* Jones in Abhängigkeit von der Temperatur. Phytopathol. Z. **28**, 187–204 (1956b). — 88. STOLL, K.: Resistenzprüfungen an Leguminosen gegenüber dem Fußkrankheitserreger *Ascochyta pinodella* Jones. Z. f. Pflanzenzüchtg. **29**, 175–192 (1951). — 89. SWAIN, T.: The identification of Coumarins and related compounds by filter-paper chromatography. Biochem. J. **53**, 200–208 (1953). — 90. THOMPSON, J. A.: Inhibition of nodule bacteria by an antibiotic from legume seed coats. Nature **187**, 619–620 (1960). — 91. TURNER, E. M. C.: The nature of the resistance of oats to the takeall fungus. III. Distribution of the inhibitor in oat seedlings. J. Exp. Bot. **11**, 403–412 (1960). — 92. URITANI, I.: Phytopathological chemistry of the black-rotted sweet potato. Part 5. Part 7. J. Agric. chem. Soc. Japan **27**, 57–62, 165–168 (1953). — 93. VODERBERG, K.: Hemmstoffe aus quellenden und keimenden Samen von *Vicia villosa* Roth. Naturwiss. **46**, 406 (1959). — 94. WAGNER, G., u. M. BÖHM: Über den papierchromatographischen Nachweis von Methylarbutin neben Arbutin. Pharmazie **12**, 363–366 (1957). — 95. WAKIMOTO, S., and H. YOSHII: Relation between polyphenols contained in plants and phytopathogenic fungi. I. Polyphenols contained in rice plants. Ann. Phytopath. Soc. Japan **23**, 79–84 (1958). — 96. WAKIMOTO, S., H. IKARI and H. YOSHII: Relation between polyphenols contained in plants and phytopathogenic fungi. IV. u. V. Sci. Bull. Fac. Agric., Kyushu Univ. **17**, 383–393, 395–402 (1960). — 97. WALKER, J. C., and K. LINK: Toxicity of phenolic compounds of certain onion bulb parasites. Bot. Gaz. **96**, 468–484 (1935). — 98. WEIMER, J. L.: Australian winter field pea diseases and their control in the south. US Dept. Agr. Circ. 1940, 565. — 99. WEIMER, J. L.: Resistance of *Lathyrus* spp. and *Pisum* spp. to *Ascochyta pinodella* and *Mycosphaerella pinodes*. J. Agric. Res. **75**, 181–190 (1947). — 100. WINTER, A. G.: Infektion und Ernährung im Lichte der Antibioticaforschung dargestellt am Beispiel der Senföle. Naturwiss. Rundsch. **12**, 131–137 (1959). — 101. WOLFFGANG, H., u. G. M. HOFFMANN: Die Bedeutung der Chlorogensäure als Resistenzfaktor des Kartoffelschorfes. Züchter **29**, 335–339 (1959).

Aus dem Institut für Pflanzenzüchtung Quedlinburg
der Deutschen Akademie der Landwirtschaftswissenschaften zu Berlin

Der Einfluß von Umweltbedingungen auf die Artkreuzung *Digitalis purpurea* L. × *Digitalis lutea* L.*

Von MARTIN STEIN

Mit 4 Abbildungen

Artkreuzungen werden heute in großem Umfang durchgeführt, um bestimmte genetische oder cytologische Fragen zu bearbeiten und um in der Pflanzenzüchtung wertvolles Ausgangsmaterial zu gewinnen. Überblickt man aber die Vielzahl der Artkreuzungen, so fällt auf, daß mitunter widersprechende Ergebnisse gefunden wurden. Wie bereits GÄRTNER (1849) berichtete, entstehen bei Artkreuzungen, die gewöhnlich schlecht gelingen, manchmal relativ viel Bastarde. Andererseits mißlingen gelegentlich Artkreuzungen, bei denen sich im allgemeinen Bastarde leicht herstellen lassen. Diese auffälligen

Widersprüche, die immer wieder festgestellt wurden, lassen sich zum Teil zweifellos auf das idiotypisch unterschiedliche Ausgangsmaterial der einzelnen Autoren zurückführen. Es konnte aber manchmal beobachtet werden, daß die Kreuzungen auch durch den Einfluß von Umweltbedingungen sehr verschiedenen gelingen können (Zusammenfassung OEHLER 1958). Darüber hinaus zeigte bereits DE VRIES (1915) bei genetischen Untersuchungen, daß Außenfaktoren auf das Kreuzungsergebnis einen erheblichen Einfluß haben können. Alle diese Feststellungen wurden aber bisher kaum beachtet und nie näher untersucht. Die folgenden Ausführungen sollen nun einen Einblick ermöglichen, in welchem Ausmaß Umweltbedingun-

* Quedlinburger Beiträge z. Züchtungsforschung Nr. 59.