

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE  
„ZWARTE HOUTVATENZIEKTE" DER FUTTER- UND  
ZUCKERRÜBE, VERURSACHT DURCH  
*PYTHIUM IRREGULARE* BUISMAN

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DE GRAAD VAN  
DOCTOR IN DE LANDBOUWKUNDE  
OP GEZAG VAN DE RECTOR MAGNIFICUS  
DR. H. J. C. TENDELOO, HOOGLERAAR IN DE  
SCHEIKUNDE, TE VERDEDIGEN TEGEN DE  
BEDENKINGEN VAN EEN COMMISSIE UIT  
DE SENAAT DER LANDBOUWHOGESCHOOL  
TE WAGENINGEN, OP VRIJDAG 13 APRIL 1951  
TE 15 UUR

DOOR

HÜSEYİN RAHMI GİRGİNKOÇ



H. VEENMAN & ZONEN \* WAGENINGEN \* 1951

Het is mij hoogst aangenaam U, Hooggeleerde QUANJER, hartelijk dank te zeggen voor de aanmoediging tot dit onderzoek, de vriendelijke gastvrijheid, welke gij mij in Uw instituut verleende, en de belangstelling, die U voor mijn werk hebt betoond.

Zeer in het bijzonder gaat mijn grote erkentelijkheid uit naar U, Hooggeleerde OORT, Hooggeachte promotor. Onder Uw leiding te mogen werken en dagelijks de steun te mogen ondervinden van Uw grote kennis en veelzijdige ervaring was voor mij een bijzonder voorrecht.

Een bijzonder woord van dank richt ik tot U, Zeergeleerde Mejuffrouw KERLING, voor de onvermoeibare interesse en voor de grote steun die ik tijdens mijn onderzoek van U mocht ondervinden. Voor mij zult gij, Mejuffrouw KERLING, steeds een symbool blijven van de vriendelijkheid en hulpvaardigheid, die ik in Nederland mocht ondervinden.

Zeer erkentelijk ben ik U, Hooggeleerde WESTERDIJK (Baarn) en Uw assistenten, voor Uw hulp bij de determinatie van *Pythium irregulare* en voor het verstrekken van schimmelcultures.

U, Hooggeleerde DEWEZ, EDELMAN en SCHUFFELEN dank ik zeer voor de vriendelijke wijze waarop gij mij tegemoet zijt gekomen.

Zum Abschluss meines Studiums möchte ich an dieser Stelle den massgebenden Herren der Türkischen Zuckerindustrie für die weitgehende Unterstützung, welche mir den Studienaufenthalt in Europa ermöglichte, sowie für das mir in reichem Masse zuteil gewordenen Vertrauen meinen verbindlichsten Dank aussprechen, ganz besonders auch im Hinblick auf die zur Beendigung der vorliegenden Arbeit und zur Promotion erforderliche, zusätzliche Verlängerung meines Aufenthaltes in Holland.

Herrn Dr. H. SCHNEIDER (Halle a. d. S.) bin ich für die Freundlichkeit das Manuskript durchzulesen besonderen Dank schuldig.

De Heren Ir L. P. ARENS, Dr J. VAN SCHUYLENBORGH en Ing. Agr. A. TANNERSEVER betuig ik mijn erkentelijkheid voor hun zeer gewaardeerde medewerking en raadgeving bij onderdelen van het onderzoek.

De Heren J. BOEKHORST en C. K. BAARS ben ik zeer dankbaar voor hun hulp bij het uitvoeren van de proeven en het vervaardigen van de foto's.

Niet in de laatste plaats ben ik dank verschuldigd aan Mej. M. ATEN voor haar hulp en nauwgezette werkzaamheden.

Tenslotte dank ik alle medewerkers en het personeel van het Laboratorium voor Phytopathologie en van het Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek van harte voor de prettige wijze, waarop zij mij in hun midden hebben opgenomen en voor de goede samenwerking, die ik mocht ondervinden.

## INHALTSVERZEICHNIS

Einleitung . . . . .	2
KAPITEL I – Beobachtungen auf dem Felde und Untersuchungen über den Einfluss der Bodenstruktur auf die Krankheit . . . . .	5
A. Krankheitsbild und Krankheitsverlauf . . . . .	5
B. Die Beziehungen zwischen der „Zwarte houtvatenziekte“ und dem Boden sowie der Witterung . . . . .	6
C. Übt die Bodenstruktur einen Einfluss auf die „Zwarte houtvaten- ziekte“ aus? . . . . .	8
1. Nach den praktischen Methoden . . . . .	8
2. Nach der wissenschaftlichen Methode . . . . .	9
KAPITEL II – Laboratoriumsversuche . . . . .	11
A. Allgemeines . . . . .	11
B. Isolierung des Pilzes . . . . .	12
C. Über den Erreger der „Zwarte houtvatenziekte“ . . . . .	13
D. Infektionsversuche . . . . .	16
1. Methodik . . . . .	17
2. Infektionsversuche mit den isolierten Pilzen . . . . .	18
3. Vergleichende Infektionsversuche mit einigen <i>Pythium irregulare</i> - Stämmen und einem <i>P. de Baryanum</i> -Stamm . . . . .	24
E. Untersuchungen über die toxischen Stoffwechselprodukte der <i>Pythium</i> -Arten bzw. Stämmen . . . . .	34
1. Versuche mit den Kulturfiltraten von <i>Pythium</i> -Stämmen nach der Blatt-Testmethode . . . . .	35
2. Über die Natur der toxischen Stoffe . . . . .	39
3. Können die Toxinstoffe von <i>Pythium irregulare</i> als Viren ange- sehen oder den Viren gleichgestellt werden? . . . . .	39
F. Untersuchungen über den Einfluss des Sauerstoffgehaltes der Boden- luft, der Bodenreaktion, des Wassergehaltes und der Temperatur des Bodens auf die „Zwarte houtvatenziekte“ . . . . .	40
1. Allgemeines . . . . .	40
2. Methodik . . . . .	41
3. Der Einfluss des Sauerstoffgehaltes der Bodenluft auf den Wirt, auf den Erreger und auf die Krankheit . . . . .	45
a. Auf den Wirt . . . . .	45
b. Auf den Erreger . . . . .	47
c. Auf die Krankheit . . . . .	48

4. Der Einfluss der Bodenreaktion auf den Wirt, auf den Erreger und auf die Krankheit . . . . .	49
a. Auf den Wirt . . . . .	49
b. Auf den Erreger . . . . .	50
c. Auf die Krankheit . . . . .	51
5. Der Einfluss der Temperatur des Bodens auf den Wirt, auf den Erreger und auf die Krankheit . . . . .	52
a. Auf den Wirt . . . . .	52
b. Auf den Erreger . . . . .	53
c. Auf die Krankheit . . . . .	54
6. Der Einfluss des Wassergehaltes des Bodens auf den Wirt, auf den Erreger und auf die Krankheit. . . . .	55
a. Auf den Wirt . . . . .	55
b. Auf den Erreger . . . . .	55
c. Auf die Krankheit . . . . .	55
SCHLUSSFOLGERUNGEN . . . . .	56
ZUSAMMENFASSUNG . . . . .	57
SUMMARY . . . . .	58
LITERATURVERZEICHNIS . . . . .	59

#### EINLEITUNG

Über die „Zwarte houtvatenziekte“ der Futter- und Zuckerrübe ist bis jetzt nicht viel gearbeitet worden. Anscheinend, weil diese Krankheit im allgemeinen keine grosse Verbreitung hat und in der Hauptsache auf eine bestimmte Bodenart (Humussandboden) beschränkt bleibt, auf welcher ein Zuckerrübenbau ohnehin nicht in Frage kommt und in der Regel nur Futterrübe angebaut wird. Über die durch die „Zwarte houtvatenziekte“ verursachten Verluste liegen in der Literatur keinerlei Angaben vor, jedoch sind diese nicht zu unterschätzen und dürften bei einem starken Auftreten der Krankheit mehr als 50 % des normalen Ernteertrages auf dem genannten Boden betragen.

Die Verbreitung der Krankheit, soweit sie mir aus der vorliegenden Literatur bekannt ist, beschränkt sich auf verschiedene Gebiete der Niederlande (Gelderland, Groningen, Noord-Brabant, Utrecht), auf Norddeutschland (8) sowie Dänemark (26).

Die „Zwarte houtvatenziekte“ und ihre Symptome wurden zum ersten Male von BRANDENBURG (6) beschrieben. Er isolierte aus den braun gefärbten Seitenwurzeln der kranken Futterrüben eine *Pythium*-Spezies mit glatten Oogonien, die er nicht weiter bestimmt hatte. Seine Infektionsversuche mit diesem Pilz verliefen sowohl in Wasserkulturen wie auch in Blumentöpfen mit Sandboden erfolg-

reich, wobei er den Beweis erbrachte, dass diese *Pythium*-Spezies der Erreger der Krankheit ist. Er behandelte sie in Verbindung mit der Urbarmachungskrankheit und ordnete sie als „Vergelingsziecte“ ein. Einige Jahre später erkannte BRANDBURG (7) jedoch, dass es sich bei dieser *Pythium*-Krankheit der Futterrübe nicht um eine Urbarmachungskrankheit sondern um eine andere selbständige Krankheit handelte, weil die erstere eine Cu-Mangelerkrankung darstellte und mit Cu-Düngung bekämpft werden konnte, während dieses bei der *Pythium*-Krankheit der Futterrübe nicht der Fall war.

Da aber unter „Vergelingsziecte“ alle Rübenkrankheiten mit Vergilbungserscheinungen auf den Blättern zusammengefasst worden waren, versuchten dann verschiedene Autoren auf diesem Gebiet Klarheit zu schaffen. So trennte QUANJER (44) die *Pythium*-Krankheit von der „Vergelingsziecte“ und nannte sie „Zwarte houtvatenziecte“, wobei der Name „Vergelingsziecte“ nur auf eine Viruskrankheit beschränkt blieb. DE HAAN (28) zeigte, dass Mn-Mangel auch Vergilbungserscheinungen auf den Blättern hervorruft. VAN SCHREVEN (50) erzielte auch eine Chlorose und Vergilbung durch Cu-Mangel. In einer weiteren Veröffentlichung beschrieb VAN SCHREVEN (49) sieben verschiedene Krankheiten der Rübe, welche eine Vergilbung oder mosaikartige Verfärbung der Blätter zur Folge haben. STEWART (54) beschrieb auch eine Krankheit der Zuckerrübe „sugar-beet yellows“ welche durch *Fusarium conglutinans* var. *betae* verursacht werden soll. Die Symptome dieser Krankheit sowohl auf den Blättern als auch im Rübenkörper stimmen mit denjenigen von der „Zwarte houtvatenziecte“ mehr oder weniger überein. In diesem Falle müsste die Isolierung des Pilzes sowie der Infektionsversuch mit diesem entscheiden, ob es sich dabei um eine *Pythium*- oder *Fusarium*-Krankheit handelt.

Wie bei der vorliegenden Literatur leicht festzustellen ist, sind die Ursachen der Vergilbungserscheinungen bei der Rübe mannigfaltig. Um eine Verwechslung mit den anderen Krankheiten zu vermeiden, finde ich es deshalb angebracht, hier eine kurze Beschreibung der Blattsymptome der „Zwarte houtvatenziecte“ zu geben und mit den Symptomen anderer zur Verwechslung in Frage kommenden Krankheiten zu vergleichen. Die ausführliche Beschreibung der Symptome und ihre Entwicklung wird in Kapitel I, A wiedergegeben.

Im Anfangsstadium der „Zwarte houtvatenziecte“ sind die feinen Blattnerve normal grün und die Blattgewebe zwischen denselben hellgrün bis gelblich. Bei weiterer Entwicklung bleiben allein noch Hauptnerve und Nerven 1. Ordnung mit einem schmalen Streifen des angrenzenden Parenchyms normal grün, während die feinen Nerven sich braun und die Partien zwischen Nerven 1. Ordnung zunächst gelb später braun verfärben und absterben. So wird die Oberfläche des Blattes durch ungleichmässiges Wachstum der einerseits grün bleibenden und andererseits gelb, später braun werdenden Teile desselben uneben. Schliesslich stirbt das ganze Blatt ab.

Die Anfangssymptome von Mn- und Cu-Mangel (siehe auch DE HAAN (28) und VAN SCHREVEN (50)) sind die gleichen wie die von der „Zwarte houtvatenziecte“. Bei weiterer Entwicklung kommt Mn-Mangel zur Verwechslung nicht mehr in Frage, da auf den hellgrünen Stellen kleine, weiss-gelbliche Flecken zum Vorschein kommen, die später meistens unter Braunverfärbung austrocknen und ausfallen, wobei verschieden grosse Löcher entstehen. Dagegen sterben die gelblich verfärbten Teile der Blätter bei Cu-Mangel später ab und nehmen graubraune bis graue oder weisse Farbe an. Die drei beschriebenen Krankheiten treten bereits nach dem Vereinzeln auf und die Chloroseerscheinungen beginnen zuerst an den älteren

Blättern, wobei die Herzblätter im allgemeinen symptomfrei bleiben.

Die „Vergelingsziecte“, welche durch ein Virus verursacht wird, tritt auf dem Felde viel später als die oben genannten Krankheiten auf, und zwar im Juli. Bei den viruskranken Pflanzen verfärben sich auch die feinen Blattnerven von Beginn an gelb und allein Hauptnerven und Nerven 1.u.2. Ordnung bleiben normal grün. Meistens verfärben sich diese später auch gelb, so dass das ganze Blatt homogen gelb bis bräunlich wird. Die ersten Vergilbungerscheinungen treten hier nicht an den älteren sondern an den höher stehenden Blättern auf. Ferner ist es charakteristisch für die Viruskrankheit, dass sich die Blätter hart anfühlen und beim Zusammenfalten knackend brechen. Das wichtigste Unterscheidungsmerkmal der Blattsymptome der „Zwarte houtvatenziecte“ von dieser besteht jedoch darin, dass bei der ersteren die feinen Blattnerven zunächst durch ihre grüne, später braune Farbe von dem Blattparenchym immer deutlich zu unterscheiden sind bis das Gewebe abstirbt, während dieses bei den viruskranken Blättern auch bei durchscheinendem Licht nicht möglich ist. Wenn die beiden Krankheiten bei einer Pflanze zugleich vorkommen sollten, was in den Monaten Juli bis September vielfach beobachtet werden kann, so beweist das Vorhandensein der dunkelbraun bis schwarz verfärbten Gefäße, dass es sich dabei um ein gemeinsames Auftreten von Virus- und Pythium-Krankheiten handelt. Denn wie QUANJER (44) mit dem Namen „Zwarte houtvatenziecte“ (Schwarze Gefässenkrankheit) zum Ausdruck bringt, beruht das sicherste Merkmal der Krankheit auf braun bis schwarze Verfärbung der Gefäße (Taf. 1, Abb. 1). Nicht selten können die Blattsymptome unterbleiben (s. Kapitel II, D.) oder durch Absterben der erkrankten und ausgetrockneten Blätter sich unserem Auge entziehen, während die Krankheit immer am Vorhandensein von dunkel gefärbten Gefäßen erkannt werden kann.

Veranlassung zu vorliegender Arbeit boten die Ansichten von CLEVERINGA (18). Er behauptete nämlich in seinen Vorträgen und Veröffentlichungen mehrmals, dass die meisten Pflanzenkrankheiten, darunter auch die „Zwarte houtvatenziecte“, durch schlechte Bodenstruktur verursacht oder durch diese in starkem Masse gefördert werden. Eine Verbesserung der Bodenstruktur durch Kulturmassnahmen sollte angeblich genügen, alle diese Krankheiten zu bekämpfen bzw. einzuschränken. Seine Behauptungen stützten sich dabei nicht auf wissenschaftlichen Untersuchungen sondern lediglich auf Feldbeobachtungen. Bei der vorliegenden Arbeit beschränkten wir uns jedoch nicht allein auf die Klärung der Strukturfrage, sondern dehnten unsere Untersuchungen weiterhin auch darauf aus die verschiedenen Faktoren, welche das Auftreten der Krankheit und den Krankheitsverlauf beeinflussen können, näher zu untersuchen, um damit einige Anhaltspunkte zu gewinnen, die eine Gewähr für eine in der Praxis mögliche Bekämpfung der Krankheit bieten. Zu diesem Zweck wurde zuerst die Krankheit auf dem Felde studiert und es wurden mehrere praktische und wissenschaftliche Strukturbestimmungen und pH-Messungen bei den kranken und gesunden Feldern durchgeführt (Kapitel I). Aus den Seitenwurzeln der kranken Pflanzen wurden Pilze isoliert und diese durch Infektionsversuche auf ihre Pathogenität in Bezug auf die „Zwarte houtvatenziecte“ geprüft (Kapitel II, A–D). Ferner wurden mit den Stoffwechselprodukten des Erregers Versuche vorgenommen, um das Auftreten der Krankheitserscheinungen zu erklären (Kapitel II, E). Nachdem die Krankheitssymptome bei den Infektionsversuchen mit dem Pilz erzielt werden konnten, wurden dann die Einflüsse des Wassergehaltes, der Wasserstoffionenkonzentration und der Temperatur des Bodens sowie des Sauerstoffgehaltes der Bodenluft auf die Krankheit untersucht (Kapitel II, F).

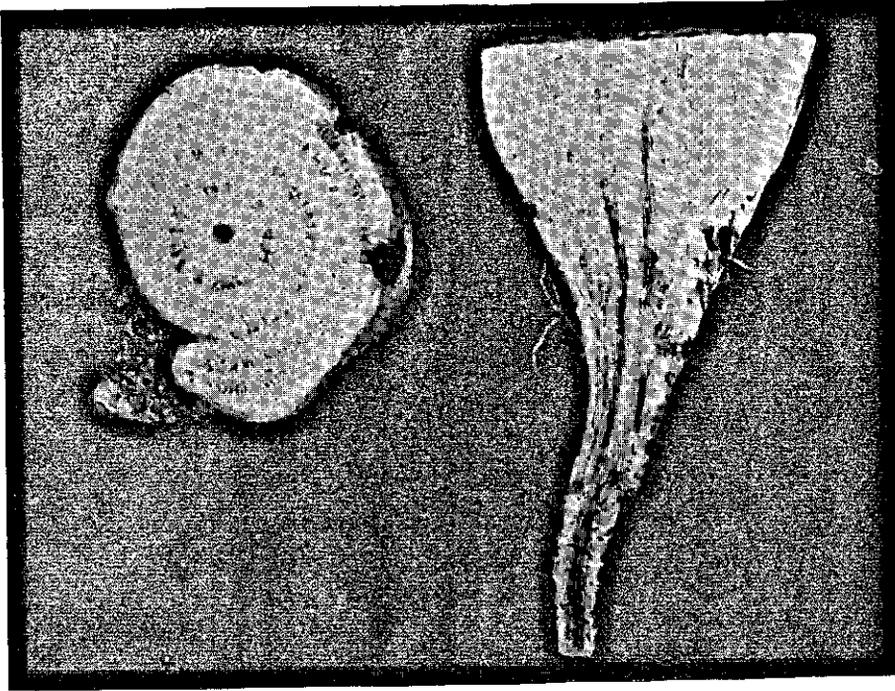


Abbildung 1. Schnitt durch eine kranke Futterrübe: Infolge des Befalles durch *Pythium irregulare* sind die Gefäße dunkelbraun bis schwarz verfärbt.

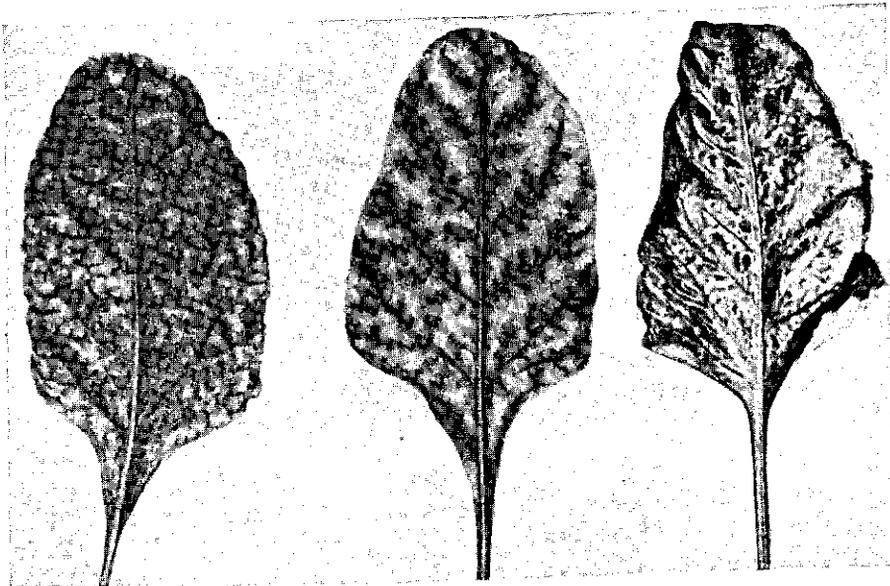


Abbildung 2. Blattsymptome der „Zwarte houtvatenziekte“.

## BEOBACHTUNGEN AUF DEM FELDE UND UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN EINFLUSS DER BODENSTRUKTUR AUF DIE KRANKHEIT

### A. KRANKHEITSBILD UND KRANKHEITSVERLAUF

Die Krankheit tritt bereits in Mai im Vierblattstadium der Pflanze auf. Da die Pflanzen aber zu dieser Zeit noch klein sind, fällt die Krankheit nicht besonders auf.

Der Erreger dieser Krankheiten kann die Pflanzen auch noch früher befallen, wie CLEVERINGA (18) und BRANDENBURG (8) berichten, aber er verursacht dann in diesem Keimstadium den Wurzelbrand (vgl. S. 25). Während manche andere *Pythium*-Arten bzw. -Stämme den Wurzelbrand zu verursachen und bei weiterem Wachstum der Pflanzen die Seitenwurzeln derselben anzugreifen vermögen sind nur einige Stämme von *Pythium irregulare* BUISMAN imstande, die „Zwarte houtvatenziekte“ hervorzurufen (vgl. S. 33).

In diesem Anfangsstadium der Krankheit kann man vielfach bei den jungen Pflanzen am Vorhandensein einer Abschnürung am Wurzelhalse erkennen, dass sie bereits an Wurzelbrand erkrankt waren aber diesen überstanden hatten. Später, im Juni, Juli treten die Symptome der „Zwarte houtvatenziekte“ deutlicher hervor. Sie nehmen immer an den äusseren und damit älteren Blättern ihren Anfang, und zwar meistens an den Spitzen der Blätter. Die zwischen den feinen Blattnerven liegenden Gewebe werden zunächst hellgrün, während die Nerven selbst ihre normal grüne Farbe behalten. In diesem Stadium kann das Mosaik bei durchfallendem Licht noch besser beobachtet werden. Beim Fortschreiten der Krankheit werden diese hellgrünen Flecken gelb und nehmen an Grösse zu, indem sie zusammenfliessen, wobei sich die feinen Nerven bräunlich verfärben und nur noch die Hauptnerven und Nerven 1. Ordnung mit einem schmalen Streifen von Blattgewebe entlang derselben normal grün bleiben (Taf. 1, Abb. 2). Schliesslich trocknen diese Partien zwischen den Nerven 1. Ordnung unter Braunverfärbung ein, wodurch die Blattoberfläche uneben wird und das Blatt bald darauf abstirbt. Dieser Vorgang, vom Beginn der Symptome bis zum Absterben des Blattes, dauert, jenach Stärke des Befalles, Grösse der Pflanze und damit des Blattes, 1–3 Wochen. Bei einem starken Befall, besonders bei kleinen Pflanzen, gehen alle Blätter ausser den Herzblättern in einigen Tagen zugrunde. Die Herzblätter bleiben jedoch fast immer symptomfrei. Ausser den beschriebenen Symptomen treten manchmal auch abweichende Symptome auf. Es entstehen auf den älteren Blättern unregelmässig verteilte, zunächst kleine dunkelgrüne Flecken, welche sich dann ausbreiten und unter Braunverfärbung absterben, so dass das ganze Blatt innerhalb einer Woche zugrunde geht. Dass es sich dabei um eine und dieselbe Krankheit handelt, bewiesen die Infektionsversuche sowie die mit den Stoffwechselprodukten des Pilzes durchgeführten Versuche. Die erkrankten Pflanzen weisen beim Durchschneiden der Rübenkörper dunkelbraun bis schwarz verfärbte Gefässbündel auf (Taf. 1, Abb. 1). Bei einer leichten Infektion beschränkt sich diese Verfärbung nur auf die Zentralgefässbündel im Wurzelschwanz, während im oberen Teil des Rübenkörpers eine schwache oder gar keine Verfärbung festgestellt werden kann. Solche Pflanzen zeigen aber auf den Blättern noch keine Krankheitserscheinungen. Bei einer starken Infektion dagegen verfärben sich alle Gefässbündel, die auf einem tan-

gentialen Schnitt in Form von schwarzen Punkten in Erscheinung treten. Die meist feinen Seitenwurzeln einer solchen Pflanze sind braun verfärbt und viele davon bereits abgestorben.

Das Absterben der erkrankten Pflanzen erfolgt nur im Jugendstadium, und zwar bis Mitte Juni. Später besitzen die Pflanzen jedoch genügend junge Blätter, die beim Absterben der älteren immerhin weiter wachsen können, welche aber dann früher oder später auch absterben. Dies wiederholt sich einige Male, bis die Pflanze sich von der Krankheit erholt, was im allgemeinen im Juli bis September der Fall ist. Die Zeit der Erholung scheint neben der Zeit und Stärke des Befalles weitgehend von den Wachstumsbedingungen der Pflanze abzuhängen, worauf wir später wieder zurückkommen. Die bereits im Jugendstadium stark befallenen Pflanzen erholen sich meistens im Spätsommer, während es bei den schwach oder später befallenen Pflanzen noch früher, und zwar im Juli-August geschieht, so dass man in dieser Jahreszeit im allgemeinen nur vereinzelt schwer kranke Pflanzen finden kann. Die schwer erkrankten Pflanzen erreichen jedoch auch nach der Überwindung der Krankheit nie die Grösse der gesunden Pflanzen. Sie bleiben meistens klein bis sehr klein. In der zweiten Septemberhälfte zeigen noch fast alle klein gebliebenen Rübenkörper dunkelbraun bis schwarz verfärbte Gefässe, während eine solche Verfärbung bei den grösseren Rüben selten gefunden werden kann.

Die Stärke der Gefässverfärbung nimmt zwar nach der Erholung der Pflanzen im Laufe des Dickenwachstums der Rübe ab, verschwindet aber im allgemeinen nicht vollständig.

#### B. DIE BEZIEHUNGEN ZWISCHEN DER „ZWARTE HOUTVATENZIEKTE“ UND DEM BODEN SOWIE DER WITTERUNG

Wie bereits in der Einleitung angedeutet wurde, scheint diese Krankheit an eine bestimmte Bodenart gebunden zu sein, und zwar an Sandboden. Sie tritt besonders stark in Humussandboden auf, während sie auch auf lehmigem Sandboden (bei Dieren) vorkommt. Auf Heide- und Geestböden Norddeutschlands soll sie auch sehr verbreitet sein (8). Kommt die Krankheit auf einem Feld stellenweise vor, so kann man zwischen gesundem und krankem Teile des Feldes meistens keine deutlichen Grenzen ziehen. Es ist auch nicht selten, dass zwischen den gesunden Pflanzen einige kranke oder aber in den kranken Flecken einige gesunde Pflanzen vorkommen.

Im Laufe der Jahre 1949 und 1950 besichtigte ich, meistens gemeinsam mit den Assistenten von einigen „Landbouwconsulenten“, mehr als hundert verschiedene Futter- und Zuckerrübenfelder auf verschiedenen Bodenarten in Gelderland (bei Zutphen, Dieren, Wageningen, usw.), in Zeeland und in Noord-Brabant. Wir konnten aber die „Zwarte houtvatenziekte“ nur auf Sandboden beobachten. Auf diesem tritt die Krankheit aber nicht überall auf, besser gesagt nicht im gleichen Masse. Besonders zeichnet sich neu umgebrochenes Weideland durch einen gesunden Pflanzenbestand aus. Jedoch konnte ich bei allen gesunden Rübenfeldern auf Sandboden nach längerem Suchen immer einige kranke Pflanzen finden, während es mir auf Lehm und Tonboden nie gelang. Diese Tatsache kann dadurch erklärt werden, dass das Vorhandensein des Erregers an eine bestimmte Gegebenheit des Bodens gebunden ist und er darum nur in den betreffenden Böden vorkommt (Diese Ansicht wird auch von BRANDENBURG (9) vertreten). Eine andere

Erklärung ist die, dass der Erreger erst unter den für die Rübe ungünstigen Wachstumsbedingungen imstande ist, die Pflanze zu befallen und damit die Krankheit zu verursachen. Denn wie bekannt ist, wächst die Rübe auf den betreffenden Sandböden nicht so gut wie auf dem, ihr besser zusagenden Lehm oder Tonboden. Die letztere Ansicht trifft jedoch nicht zu, da bei Infektionsversuchen mit dem Pilz in normalem Tonboden, welcher aus einem gesunden Rübenfeld stammte, die Krankheit erzielt wurde.

Es scheint aber sicher zu sein, dass beim Auftreten der „Zwarte houtvatenziekte“ und besonders bei der Stärke derselben nicht nur das Vorhandensein des Pilzes, sondern auch der Boden, die Bodenfruchtbarkeit, sowie die Witterung massgebend sind. In dieser Richtung sprechen auch die folgenden Beobachtungen. Auf dem lehmigen Sandboden (bei Dieren) tritt die Krankheit im Vorsommer bis Ende Juni überall auf, aber nie so stark wie auf dem Humussandboden. Nach den Angaben des Assistenten, Herrn J. W. TEN VELDE des „Landbouwconsulenten“ in Gelderland soll dies auch jedes Jahr der Fall sein. Im Sommer schon im Juli kann man von der Krankheit kaum etwas sehen. Alle Pflanzen erholen sich schnell von der Krankheit und wachsen ungestört weiter. Das gleiche geschieht auch in manchen von der Krankheit nicht stark betroffenen Feldern auf Humussandboden, welche bessere Fruchtbarkeit aufweisen als die Felder, auf welchen die Krankheit stark auftritt und die Pflanzen sich nicht schnell erholen können. Die Unterschiede in der Bodenfruchtbarkeit der genannten Böden sind sehr deutlich zu erkennen, wenn man den Stand der gesunden Pflanzen – wie oben angedeutet wurde, sind auf einem kranken Feld immerhin viele gesunde Pflanzen anzutreffen – auf den betreffenden Feldern zu gleicher Zeit vergleicht.

Auch die Witterung übt auf das Auftreten der Krankheit einen beträchtlichen Einfluss aus. Bei einem günstigen Witterungsverlauf in den Monaten Mai und Juni, welcher ein schnelles Wachstum der Rüben ermöglicht, beschränkt sich das Auftreten der „Zwarte houtvatenziekte“ auf das Mindestmass, während kühle und nasse Witterung in diesen Monaten starkes Auftreten der Krankheit begünstigt. Das letztere war im Jahre 1950 der Fall. Zwei Wochen lang anhaltende nasse und kühle Witterung in der zweiten Mai-Hälfte, in welcher das Wachstum der Rübe beinahe stillstand, hatte die Krankheit sehr stark gefördert, während bei der darauf folgenden warmen und trockenen Witterungsperiode die Pflanzen sich wieder mehr oder weniger schnell von der Krankheit erholten. CLEVERINGA (18) meint dagegen, dass die Krankheitssymptome bei der auf eine Regenperiode folgende Trockenheit noch stärker in Erscheinung treten, da die Pflanzen dann mehr Wasser verdunsten und damit auch mehr Stoffwechselprodukte des Pilzes von den Wurzeln zu den Blättern gebracht werden. Seine Beobachtungen würden soweit zutreffen, wenn es sich dabei um die ersten Tage der warmen und trockenen Witterungsperiode handelt. Denn die warme Witterung fördert auch bei genügender Bodenfeuchtigkeit das Wachstum des Pilzes, so dass in den ersten Tagen der eintretenden warmen Witterung tatsächlich eine grössere Zufuhr von Stoffwechselprodukten des Pilzes zu den Blättern zu erwarten ist, wodurch bis dahin schwache bis starke Symptome zeigende ältere Blätter in einigen Tagen absterben, während die schnell heranwachsenden jüngeren Blätter meistens zunächst gesund bleiben. Ob und wann die neuen Blätter wieder krank werden, hängt von dem Befall der neu gebildeten Seitenwurzeln, mit welchen die Blätter korrespondieren, ab. Der Pilz befällt nur die feinen Seitenwurzeln der Pflanzen, die dann unter dunkelbrauner Verfärbung absterben, wobei sie ihre Funktion als wasseraufnehmendes Organ nicht mehr erfüllen und auch keine Stoffwechselprodukte mehr

weiterführen können. Unter den günstigsten Bedingungen wachsen dann die Seitenwurzeln schnell und kräftig, so dass sie von dem Pilz nicht mehr in dem Masse befallen werden. Aus diesem Grunde verschwindet die Krankheit im August mehr oder weniger aus dem Felde, da die Seitenwurzeln der gut gewachsenen Pflanzen dann meistens so dick und kräftig sind, dass der Pilz sie nicht mehr zu befallen vermag.

#### C. ÜBT DIE BODENSTRUKTUR EINEN EINFLUSS AUF DIE „ZWARTE HOUTVATEN- ZIEKTE“ AUS?

Nach CLEVERINGA (18) soll die „Zwarte houtvatenziekte“ durch schlechte, kompakte Bodenstruktur gefördert werden; so empfahl er der Praxis als Bekämpfungsmassnahme eine Strukturverbesserung durch Stallmist, Kompost- und Kalkdüngung sowie durch Bodenbearbeitung und Pflege, wie Offenhaltung der Bodenoberfläche durch mehrmaliges Hacken. Im Gegensatz zu seinen Behauptungen war bei meinen Feldbesichtigungen auf den kranken Feldern fast immer am Gewende des Ackers, wo der Boden gewöhnlich beim Umkehren des Pfluges usw. festgetreten wird, ein gesunder und besserer Pflanzenbestand zu beobachten.

Um festzustellen, ob tatsächlich die schlechte Struktur des Bodens die „Zwarte houtvatenziekte“ fördert und damit zwischen kranken und gesunden Feldern in Bezug auf Bodenstruktur ein Unterschied besteht, wurde die Struktur der betreffenden Böden an Hand der gemachten Bodenprofile untersucht. Diese Untersuchung wurde sowohl nach den wissenschaftlichen, wie auch praktischen Methoden durchgeführt.

##### 1. Nach den praktischen Methoden

Es wurden verschiedene Bodenprofile in kranken und gesunden Feldern aufgedigelt und die Struktur an Hand dieser untersucht bzw. verglichen. Die Widerstandsbestimmungen auf verschiedener Höhe des Bodenprofils gegen den Druck mit einem Druckmesser, wodurch die verdichteten oder verfestigten Lagen im Profil festgestellt werden können, zeigten, dass im allgemeinen die Ackerkrume bei den kranken Feldern ebenso fest oder locker, sogar in einigen Fällen noch lockerer war als bei den gesunden Feldern. Doch war bei den kranken Feldern fast immer eine stark verdichtete Pflugsohle auf 20–22 cm zu konstatieren, welche auf den gesunden Feldern zwar nicht immer fehlte aber meistens nicht so stark verdichtet war, wie auf den kranken Feldern, oder etwas tiefer etwa auf 25 cm lag. Das Vorhandensein einer Pflugsohle hemmt zwar das Wachstum der Pflanze (30) und dürfte deshalb auf eine Krankheit, besonders auf eine Wurzelkrankheit, fördernd wirken. Aber es dürfte in unserem Falle nicht der einzige Faktor im Hinblick auf die Beschaffenheit und den Zustand des Bodens sein, der die Krankheit beeinflusst. Denn auf ein und demselben Feld, wo stark kranke und gesunde Stellen vorkamen, war es uns an Hand der verschiedenen Bodenprofile in keinem Falle möglich, einen deutlichen Unterschied zwischen den kranken und gesunden Stellen in Bezug auf die Struktur und verfestigte Zone (Pflugsohle) des Bodens festzustellen. Wenn die Struktur des Bodens einen merkbaren Einfluss auf die Krankheit haben sollte, dann sollte er bei gleichbleibenden Faktoren, in Bezug auf die Bodeneigenschaften, Klima, usw., welche Bedingungen praktisch in einem kleinen Feld gegeben sind, in Erscheinung treten. Die Abwurfproben nach GÖRNING (24), welche uns einen Einblick in den Garezustand des Ackers und die Widerstands-

kraft der einzelnen Teile des Anstrichs gegen Zerfall und in die Verteilung der Struktur innerhalb des Querschnitts gewähren, zeigten auch, dass zwischen Bodenstruktur und Vorkommen der „Zwarte houtvatenziekte“ auf demselben Feld keine Korrelation besteht. Sogar sprachen sich die Resultate der Abwurfproben in den meisten Fällen gegen die von CLEVERINGA gemachten Behauptungen aus, indem die direkt neben den gesunden Pflanzen genommenen Proben eine noch kompaktere Struktur aufwiesen, als die auf dem gleichen Acker bei kranken Pflanzen genommenen Proben.

Es unterliegt keinem Zweifel, dass die Struktur des Bodens auf die Fruchtbarkeit desselben und damit auf das Wachstum der Pflanze einen Einfluss ausübt. So schreibt z.B. KRAUSE (32; S. 612) nach den Laboratoriumsversuchen von KWASNIKOW: „Die Bodenstruktur übt einen entscheidenden Einfluss auf sämtliche Wachstumsfaktoren, und damit auf die Höhe und Güte des Ernteertrages aus“. Dagegen konnte APSITS (3) bei seinen mehrjährigen Versuchen keine direkte Abhängigkeit zwischen Erntehöhe und Bodenstruktur feststellen; jedoch war eine gewisse Beziehung zwischen den beiden zu beobachten.

Der Einfluss des Bodens auf die „Zwarte houtvatenziekte“ sollte meiner Meinung nach mehr in Bodenart, Beschaffenheit und insbesondere in der Fruchtbarkeit als in der Struktur des Bodens gesucht werden; denn auf einem schweren, humusarmen Tonboden mit einer schlechten Struktur, wo der Boden so fest und stark verdichtet war, dass es uns grosse Mühe kostete ein Profil zu graben, trat diese Krankheit nicht auf und der Stand der Rübe war viel besser als derjenige auf den betreffenden Sandböden.

## 2. Nach der wissenschaftlichen Methode

Bei dieser Untersuchung beschränkten wir uns auf die Bestimmung des gesamten sowie kapillaren und nichtkapillaren Porenvolumens des Bodens, da diese Grössen uns einen sicheren Einblick in die Bodenstruktur gewähren. So hielt z.B. DOJARENKO es für möglich, die Struktur eines Bodens durch das Verhältnis des kapillaren zu dem nichtkapillaren Porenvolumen zu charakterisieren (vgl. KRAUSE (32)).

Die Bestimmungen des Porenvolumens wurden nach der durch VAN SCHUYLENBORGH (51) etwas geänderten Methode von DOJARENKO durchgeführt. Die Bodenproben wurden auf verschiedenen kranken und gesunden Feldern in einer Tiefe von 15 cm von der Bodenoberfläche genommen, und zwar von jedem Feld 5 Proben. Die hierfür verwendeten Eisenringe hatten einen Durchmesser sowie eine Höhe von 5 cm. Die Bodenproben wurden während 10–14 Tagen, bis zur Gewichtskonstanz, auf einem speziellen Sandbad gelassen, welches mit einem Filterpapier bedeckt war und ein konstantes Wasserniveau 8 cm unter der Oberfläche aufwies. Nach dem Wiegen wurden sie auf ein anderes Sandbad, bei welchem das Wasser bis auf die Oberfläche kam, gebracht. Sie blieben dort auch ebenso lange, wie auf dem ersten Sandbad. Dann wurden sie zum zweiten Male gewogen und im Thermostat bei 110 °C getrocknet und schliesslich wieder gewogen.

Im ersten Falle sollte das kapillare Porenvolumen und im zweiten Fall das Gesamtporenvolumen der Bodenproben mit Wasser gefüllt sein. Danach können wir mit Hilfe von drei Gewichtszahlen das Gesamtporenvolumen, sowie das kapillare und nicht kapillare Porenvolumen des Bodens ausrechnen. Die Ergebnisse sind in den Tabellen 1 und 2 wiedergegeben.

Eine Beurteilung der Struktur der untersuchten Böden an Hand dieser Zahlen konnte nicht ohne weiteres vorgenommen werden. Denn wir wissen nicht genau,

welche Struktur des Humussandbodens, mit anderen Worten, welche Grösse des Gesamtporenvolumens, sowie des kapillaren und nichtkapillaren Porenvolumens des Bodens, für das Wachstum der Pflanze am günstigsten ist. Nach den Berichten von KRAUSE (32) über die russischen Forschungen auf diesem Gebiete soll das optimale Verhältnis vom nichtkapillaren Porenvolumen zu dem Gesamtporenvolumen des Bodens in feuchten Gegenden Russlands 50 bis 55 % (DOJARENKO) und für die Schwarzerdeböden 35 bis 40 % (Kwasnikow) betragen. Bei den Untersuchungen von APSITS (3) über die Beziehung zwischen Bodenstruktur und Pflanzenwachstum waren die höchsten Erträge bei der Zuckerrübe bei einer Bodenstruktur mit 35–55 Porositätszahlen (es dürfte sich hier um Prozente des Bodenvolumens handeln) erzielt worden. Das Verhältnis des nichtkapillaren Porenvolumens zu dem Gesamtporenvolumen betrug in diesem Fall im Durchschnitt 36 %. Dagegen konnte ACHROMEIKO (1) bei optimaler Düngergabe keinen Einfluss der nichtkapillaren Porosität auf die Erntehöhe von Flachs und Hafer feststellen. Er fand jedoch einen solchen auf die Keimfähigkeit der betreffenden Pflanzen. Die russischen Forscher sollen mit verschiedenen Bodenarten gearbeitet haben (aber darunter war Humussandboden nicht angegeben) und APSITS arbeitete mit einem sandigen, humosen Lehm.

Obschon die Grösse des günstigsten Gesamtporenvolumens und das Verhältnis des nichtkapillaren Porenvolumens zu dem Gesamtporenvolumen jedoch je nach Bodenart und der Pflanze wechseln dürfte, könnte das Gesamtporenvolumen der im Jahre 1949 untersuchten Böden, schwankend zwischen 21–23 % des Bodenvolumens, als ungünstig, dagegen das Verhältnis des nichtkapillaren Porenvolumens zu dem Gesamtporenvolumen, mit Ausnahme von lehmigem Sandboden mit 18,4 %, als günstig beurteilt werden. Nach den Untersuchungen im Jahre 1950 wäre hingegen sowohl das Verhältnis des nichtkapillaren Porenvolumens zu dem Gesamtporenvolumen als auch das Gesamtporenvolumen der betreffenden Böden als ungünstig zu bezeichnen (Tab. 2).

Wenn wir die Ergebnisse in den Tabellen 1 und 2 vergleichen, so ist festzustellen,

TABELLE 1.

*Das kapillare, nichtkapillare und gesamte Porenvolumen von Bodenproben aus kranken und gesunden Feldern, Humussandboden (Juli 1949)*

Herkunft der Bodenproben		Porenvolumen in % vom Bodenvolumen			Nichtkap. Porenvol. in % vom Gesamt- poren- volumen
		gesamtes	kapillares	nichtkapillares	
Laren	krank	22,9 ± 0,54 <sup>1)</sup>	15,8 ± 0,52	7,1 ± 0,63	31,0
Borculo <sup>1)</sup>	krank	22,3 ± 1,34	13,7 ± 1,23	8,6 ± 2,49	38,5
Laag-Soeren	krank	21,5 ± 0,37	13,5 ± 1,10	8,0 ± 1,83	37,2
Ellecom <sup>2)</sup>	krank	22,3 ± 0,66	18,2 ± 0,43	4,1 ± 0,90	18,4
Bennekom, A	krank	20,9 ± 1,11	11,3 ± 0,84	9,6 ± 0,63	45,9
Borculo <sup>1)</sup>	gesund	23,4 ± 0,68	13,9 ± 1,23	9,5 ± 0,86	40,6
Bennekom, B	gesund	22,8 ± 1,44	15,0 ± 2,71	7,8 ± 2,22	34,2
Bennekom, C	gesund	21,9 ± 1,38	12,2 ± 0,39	9,7 ± 1,66	44,3

<sup>1)</sup> Die beiden Bodenproben stammen von demselben Feld.

<sup>2)</sup> Es handelt sich um einen lehmigen Sandboden.

<sup>3)</sup> Die mittlere Abweichung  $m$  wurde nach der Formel  $m = \sqrt{\frac{\sum a^2}{n(n-1)}}$  berechnet, wobei  $\sum a^2$  die Summe der Quadrate der Einzelabweichungen vom Mittelwert und  $n$  die Anzahl der Wiederholungen bedeutet.

dass das Verhältnis des nichtkapillaren Porenvolumens zu dem Gesamtporenvolumen bei der Bestimmung im Jahre 1950 rund um die Hälfte niedriger ist als im vorigen Jahre, während das Gesamtporenvolumen der Böden in beiden Jahren ungefähr unverändert bleibt. Dieser Unterschied sollte meines Erachtens nicht auf eine Verschlechterung der Bodenstruktur in diesem Jahre, sondern auf einen unterschiedlichen Wasserstand in dem ersten Sandbad während der Messungen zurückzuführen sein. Aus diesem Grunde ist den Ergebnissen der beiden Untersuchungen für die Beurteilung der Bodenstruktur keine grosse Bedeutung beizumessen.

Wir wollen auf die Beurteilung der untersuchten Bodenstruktur nicht weiter eingehen; denn diese Untersuchung hatte lediglich die Aufgabe festzustellen, ob zwischen kranken und gesunden Feldern ein Unterschied in Bezug auf die Porosität und damit auf die Bodenstruktur besteht, welcher auf einen eventuellen Einfluss der Bodenstruktur auf die „Zwarte houtvatenziekte“ hindeuten würde. Nach den vorliegenden Untersuchungsergebnissen von beiden Jahren könnte mit gewisser Sicherheit gesagt werden, dass ein solcher Unterschied zu mindest in Bezug

auf die Porosität nicht besteht. Diese Feststellung bekräftigt auch die vergleichenden Beobachtungen auf dem Felde, bei welchen zwischen den kranken und gesunden Feldern kein deutlicher Unterschied in Bezug auf die Bodenstruktur festgestellt werden konnte.

TABELLE 2.

Das kapillare, nichtkapillare und gesamte Porenvolumen von Bodenproben aus kranken und gesunden Feldern, Humussandboden (Juni 1950)

Herkunft der Bodenproben		Porenvolumen in % vom Bodenvolumen			Nichtkap. Porenv. in % vom Gesamtporenvolumen
		gesamtes	kapillares	nichtkapillares	
Bennekom, D	krank	19,9 ± 2,22	16,6 ± 2,70	3,3 ± 1,23	16,6
Bennekom, E	krank	26,9 ± 1,30	22,6 ± 1,34	4,3 ± 1,31	16,4
Spankeren, A	krank	19,0 ± 0,57	14,3 ± 1,14	4,7 ± 0,86	24,7
Spankeren, B	gesund	21,3 ± 1,44	16,5 ± 1,74	4,8 ± 0,47	22,5
Bennekom, B	gesund	22,1 ± 3,02	18,4 ± 2,58	3,7 ± 2,06	16,7
Bennekom, F	gesund	22,2 ± 0,49	17,2 ± 0,55	5,0 ± 0,71	22,5

## KAPITEL II

## LABORATORIUMSVERSUCHE

## A. ALLGEMEINES

Bereits im Jahre 1911 berichtete PETERS (40, 41) von einer Seitenwurzelkrankung der Futter- und Zuckerrübe. Er fand mehrmals an den dunkelbraun gefärbten und abgestorbenen Seitenwurzeln der Rüben *Aphanomyces laevis* DE BARY und *Pythium deBaryanum* HESSE. BRANDENBURG (6) isolierte aus den braun gefärbten Seitenwurzeln der kranken Futterrüben eine *Pythium*-Spezies, mit welcher er Infektionsversuche durchführte und typische Symptome der „Zwarte houtvatenziekte“ erzielte. Er bewies ferner bei den Versuchen mit Futterrüben in Wasserkulturen durch Zusatz von Stoffwechselprodukten des Pilzes in die

Nährlösung (6) und später bei den Versuchen mit Futterrübenblättern nach der Blatt-Testmethode (8), dass sowohl die typischen Krankheitserscheinungen an den Blättern als auch die Gefässverfärbungen im Rübenkörper durch toxische Stoffe hervorgerufen werden, welche von dem Pilz in den Seitenwurzeln abgeschieden und mit der Wasserzufuhr zu den Blättern transportiert werden. QUANTJER (44) bestätigte die Resultate von BRANDENBURG, soweit es den Infektionsversuch betrifft.

Bei der vorliegenden Arbeit wurden, wie in der Einleitung erwähnt, von den kranken Pflanzen verschiedene *Pythium*-Stämme isoliert, welche zunächst in Infektionsversuchen auf ihre Pathogenität und mittels ihrer Stoffwechselprodukte auf ihre Toxigenität geprüft wurden.

#### B. ISOLIERUNG DES PILZES

Bei der mikroskopischen Untersuchung konnte festgestellt werden, dass die Gefässe im Rübenkörper mit einer dunkelbraunen und bei den braun verfärbten Blattnerven mit einer gelbbraunen Masse gefüllt waren. Jedoch konnte weder in den Blättern noch im Rübenkörper ein Pilz beobachtet werden. Es war mir auch nicht möglich, aus diesen Teilen der kranken Pflanzen den Pilz zu isolieren. In den bräunlich gefärbten Seitenwurzeln dagegen konnte das Myzelium und die Fruchtkörper des Pilzes nachgewiesen werden.

Von den teilweise braun verfärbten Seitenwurzeln der an „Zwarte houtvatenziekte“ erkrankten Futterrüben aus verschiedenen Ortschaften und Feldern wurden in den Jahren 1949 14 und 1950 13 *Pythium*-Stämme isoliert. Um eine Austrocknung der Seitenwurzeln und damit ein Absterben des Pilzes während des Transportes zu vermeiden, wurden die Pflanzen mit etwas Erde zusammen ausgegraben und in Papier eingewickelt. Sie wurden dann am gleichen Tag ins Wasser gelegt. Nachdem sie einen Tag im Wasser gelegen hatten, wurden die Seitenwurzeln zuerst unter kräftig fliessendem Leitungswasser, dann im sterilen Wasser gründlich abgespült und danach auf den Nährboden gelegt. Als Nährboden wurde Haferflocken- oder Kartoffelglukose-Agar verwendet.

Wie verschiedene Autoren, die mit *Phycomyceten* gearbeitet haben, begegnete ich auch bei der Isolierung von *Pythium* der Schwierigkeit, den Pilz frei von Bakterien zu bekommen. Zu diesem Zweck wurden verschiedene Methoden angewendet. Das beste Resultat liess sich nach der folgenden Methode erzielen: Ein steriler Glasring, mit einem Durchmesser von ca. 14 mm, wird in eine mit Nährboden versehene Petrischale gebracht, und zwar entweder soweit eingedrückt bis er auf den Boden der Petrischale zu stehen kommt, so dass der Nährboden im Innern des Ringes von dem übrigen ganz getrennt ist, oder soweit herunter gedrückt, dass unter dem Ring noch eine Verbindung besteht. In beiden Fällen wird der Ring mit einem gewöhnlichen, auf der Bunsenflamme sterilisierten Deckglas zugedeckt, nachdem zuvor ein Stück Nährboden mit dem Pilz von der unreinen Kultur in den Ring hinein gebracht wurde. Damit das Deckglas bei der Bewegung der Petrischale nicht herunterfällt, wird es zuerst in derselben auf den Nährboden gelegt und dann auf den Ring gebracht. So bleibt an dem noch warmen Deckglas etwas Agar haften, wodurch es dann am Ring anklebt. Im ersten Falle wachsen die Luftmyzelien des Pilzes zwischen Ring und Deckglas hervor und gelangen so auf den Nährboden (Abb. 3). Im zweiten Falle dagegen wächst der Pilz zum grössten Teil unter und zum Teil auch über dem Ring. Offenbar können die Bakterien innerhalb des Nährbodens unter anaeroben Bedingungen nicht so gut wachsen, wodurch der

Pilz einen Vorsprung gewinnt. Im anderen Fall wird vom Luftmyzelium des Pilzes Gebrauch gemacht. Um den Pilz soviel wie möglich frei von Bakterien zu bekommen, muss man jedoch einige Male in dieser Weise überimpfen, da bei ersteren Überimpfungen die Bakterien vom zweiten Tage an wieder in der Petrischale auftreten und sich schnell verbreiten. Darum ist es notwendig, mit der Überimpfung nicht lange zu warten und sie sofort vorzunehmen, sobald das Pilzmyzelium in der Petrischale festzustellen ist, was gewöhnlich bei 24 °C 24 Stunden nach der Überimpfung der Fall ist. Meistens nach 2–4 maliger Überimpfung scheint der Pilz vollkommen bakterienfrei zu sein und füllt in wenigen Tagen die ganze Petrischale mit Luftmyzelium aus. Doch kommen nach 2–3 Wochen in Reinkulturen des Pilzes auf Haferflockenagar wieder Bakterien auf, was eine Überimpfung der Kulturen alle 3–4 Wochen notwendig macht. Wahrscheinlich leben die Bakterien auf dem Pilzmyzel im Symbiosezustand oder parasitisch. Diese Vermutung wird mit der Tatsache bekräftigt, dass zwei Überimpfungen von derselben Reinkultur, die einmal allein mit dem Luftmyzel und dann allein mit im Nährboden gewachsenem Myzelium durchgeführt wurden, dieselben Resultate ergaben, indem in beiden Kulturen zu gleicher Zeit – nach 12 Tagen – wieder Bakterien auftraten, welche als eine dünne Zone am unteren Teil der Kulturröhrchen zu beobachten waren. Bei dieser Gelegenheit sei bemerkt, dass der Nährboden keinen Tropfen Kondenswasser enthalten soll, da sonst die Bakterien überhandnehmen.

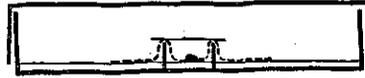


Abbildung 3

RAPER (45) beschrieb auch eine ähnliche Methode, welche er für die Befreiung der „Water molds“ von Bakterien mit Erfolg gebrauchte und auch für andere *Phycomyceten* empfahl. Er liess aber den Ring offen und brachte an die untere Seite des Ringes drei kleine Kugelchen an, damit der Ring nicht dicht am Boden der Petrischale aufsitzt und der Pilz hindurch wachsen kann. Mit den offenen Ringen habe ich keine guten Erfahrungen gemacht, weil sich die Bakterien in diesem Falle noch schneller verbreiten als bei geschlossenen. 's JACOB (31) versuchte *Pythium* mittels des Luftmyzeliums bakterienfrei zu bekommen. Seine Methode unterscheidet sich von der von mir beschriebenen insofern, als er das Deckglas lose auf dem Ring liegen liess und auf dieses ein Stück Nährboden brachte, worauf dasselbe beimpft wurde. Die gebildeten Hyphen wachsen dann vom Deckglas weiter auf den Nährboden in die Petrischale.

### C. ÜBER DEN ERREGER DER „ZWARTE HOUTVATENZIEKTE“

Alle in den Jahren 1949–1950 isolierte *Pythium*-Stämme sowie ein *Pythium*-Stamm 34 O<sub>2</sub>, isoliert von BRANDENBURG, mit welchem wir auch Infektionsversuche durchführten, zeigten morphologisch keinen wesentlichen Unterschied. Die Bestimmung des Pilzes bereitete aber anfänglich Schwierigkeiten. Wenn der Pilz, der auf Nährboden (Haferflocken-Karotten – und Kartoffelglukoseagar) gewachsen war, untersucht wurde, so wäre er als *Pythium de Baryanum* Hesse anzusprechen, denn die kugeligen oder fast kugeligen Oogonien sind mehr oder weniger glatt. Zwar ist die Oogoniumwand nicht immer regelmässig dick und es kommen ab und zu auch papillenartige, kleine Ausstülpungen vor (etwa bei 1–5 % der Oogonien) aber eine eigentliche irreguläre Ausstülpung, wie sie von BUISMAN (13) und MIDDLETON (39) gezeichnet ist, konnte auf den betreffenden Nährböden nicht beobachtet werden. Jedoch liegt die Grösse der Oogonien, Oosporen und

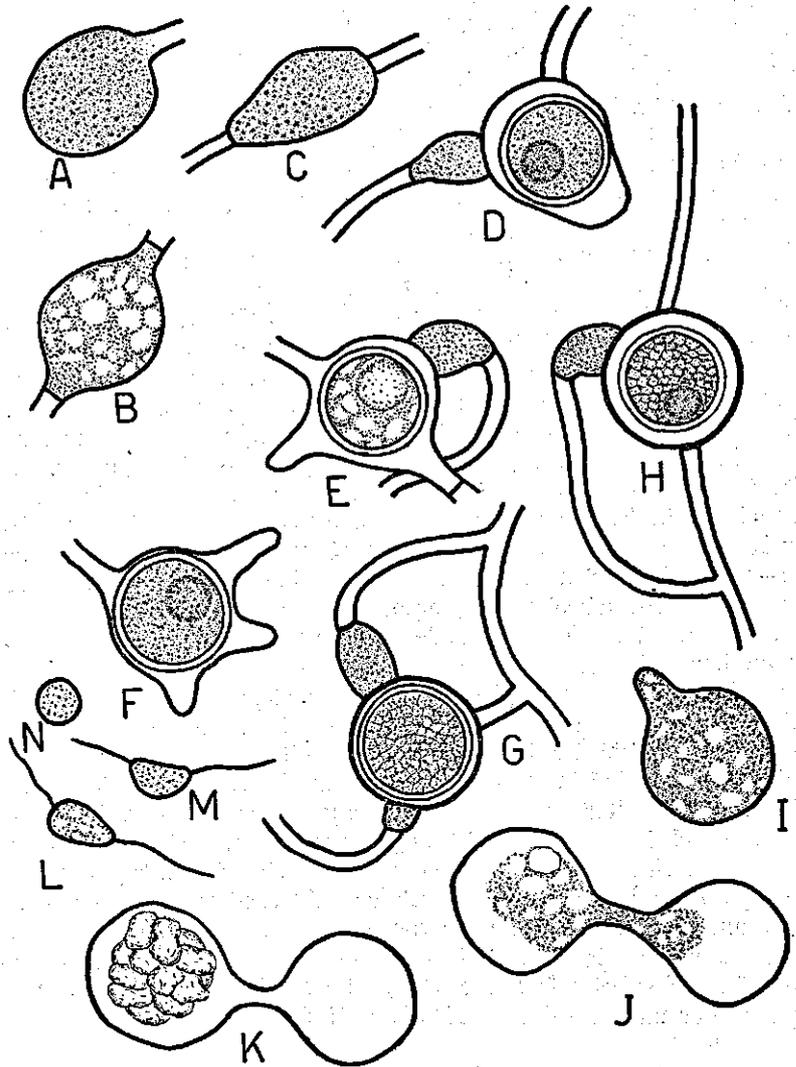


Abbildung 4. *Pythium irregulare* Buisman (Gezeichnet nach einer Wasseragar-Kultur). A-C: Sporangien D-F: Oogonien mit irregulären Ausstülpungen. G, H: Oogonien mit glatter Oogoniumwand. I-K: Schwärmsporenbildung. L, M: Schwärmsporen. N: Schwärmspore im Ruhezustand.

Sporangien oder Konidien unter dem Durchschnitt der von *P. de Baryanum* angegebenen (4, 39, 40) und stimmt mit derjenigen von *P. irregulare* (13, 39) überein. Wenn der von einer Reinkultur auf den genannten Nährböden stammende Pilz in steriles Wasser gebracht und nach einigen Tagen untersucht wird, so ist er als *Pythium irregulare* Buisman anzusprechen, da ein Teil der Oogonien in Wasser Ausstülpungen bilden. Das gleiche geschieht auch bei Übertragung auf Wasseragar (Abb. 4). So waren bei den untersuchten 15 Stämmen auf Haferflockenagar keine, im Wasser aber 8 bis 65 (von 100 gezählten) Oogonien mit irregulären Ausstülpungen festzustellen. Die Bildung der irregulären Ausstülp-

pungen bei den Oogonien scheint mit der Ernährung irgendwie in Zusammenhang zu stehen, denn die Anzahl der Irreguläre Oogonien in Wasser variiert je nach Art des Nährbodens, von welchem der Pilz entnommen wurde (Tab. 3).

TABELLE 3.

Die Bildung von irregulären Ausstülpungen an Oogonien der Einzosporenkultur No 2 auf verschiedenen Nährböden sowie im Wasser

Art der Nährböden	Von 500 Oogonien sind:											
	in Reinkultur auf Nährboden						im Wasser					
	nach ± 2 Wochen		nach 4 Wochen		nach 6 Wochen		nach ± 2 Wochen		nach 4 Wochen		nach 6 Wochen	
	glatt. in %	mit Ausst. <sup>1)</sup> in %	glatt. in %	mit Ausst. <sup>1)</sup> in %	glatt. in %	mit Ausst. <sup>1)</sup> in %	glatt. in %	mit Ausst. in %	glatt. in %	mit Ausst. in %	glatt. in %	mit Ausst. in %
Haferflockenagar	99	1	99	1	99	1	85	15	82	18	83	17
Karottenagar	99	1	100	-	100	-	95	5	95	5	88	12
Kart.-glukoseagar	100	-	99	-	100	-	95	5	94	6	94	6

<sup>1)</sup> Es handelt sich bei diesen um kleine, papillare Ausstülpungen.

Zum Vergleichszwecke wurden dann Reinkulturen von *P. de Baryanum* und *P. irregulare* (Stamm 130 C) aus dem „Centraal Bureau voor Schimmelcultures“ zu Baarn herangezogen. Dieser *P. irregulare*-Stamm wies auch nur in Wasser sowie auf Wasseragar Irreguläre Oogonien auf. Bei *P. de Baryanum* konnte dagegen weder auf Agarböden noch im Wasser eine Bildung von irregulären Ausstülpungen an den Oogonien beobachtet werden (Tab. 4). (Hinsichtlich der Tabellen 3 und 4 wäre zu bemerken, dass alle Stämme zu gleicher Zeit und von gleichalten Kulturen auf neue Nährböden übertragen wurden, von welchen ein Stück nach 2 Tagen ins sterile Wasser gelegt wurde. Die erste Untersuchung wurde dann 12 oder 13 Tage nach der Übertragung und die weiteren Unter-

TABELLE 4

Die Bildung von irregulären Ausstülpungen an Oogonien der *P. de Baryanum* und einiger *P. irregulare*-Stämme auf Nährboden sowie im Wasser

Bezeichnung des Stammes	Von 100 Oogonien sind											
	in Reinkultur auf Haferflockenagar						im Wasser					
	nach ± 2 Wochen		nach 4 Wochen		nach 6 Wochen		nach ± 2 Wochen		nach 4 Wochen		nach 6 Wochen	
	glatt.	mit Ausst. <sup>1)</sup>	glatt.	mit Ausst. <sup>1)</sup>	glatt.	mit Ausst. <sup>1)</sup>	glatt.	mit Ausst.	glatt.	mit Ausst.	glatt.	mit Ausst.
34 O <sub>1</sub> . . . . .	100	0	98	2	100	0	84	16	63	37	79	21
5b . . . . .	100	0	95	5	99	1	69	31	66	34	76	24
130 c . . . . .	-	-	98	2	-	-	92	8	90	10	88	12
<i>P. de Baryanum</i> . . . . .	100	0	100	0	100	0	99	1	100	0	99	1
1 spk 4 <sup>2)</sup> . . . . .	98	2	98	2	100	0	69	31	72	28	63	37
5 d . . . . .	100	0	99	1	100	0	94	6	83	17	84	16

<sup>1)</sup> Es handelt sich bei diesen um kleine, papillare Ausstülpungen.

<sup>2)</sup> Einzosporenkultur von dem Stamm 5b.

suchungen 2 bzw. 4 Wochen nach der ersten Untersuchung vorgenommen. Die Kulturen wurden im Thermostat bei 24 °C aufbewahrt).

Nach dieser Untersuchung müssen unsere Stämme als *Pythium irregulare* Buisman angesehen werden. Es sei hierbei erwähnt, dass der Pilz in „Centraalbureau voor Schimmelkultures“, Baarn, und durch Prof. MIDDLETON ebenso als *P. irregulare* determiniert wurde. Demnach ist der Pilz folgenderweise zu beschreiben: Oogonien mehr oder weniger kugelig, auf verschiedenen Nährböden glatt aber im Wasser sowie Wasseragar zum Teil mit irregulären Ausstülpungen. Sie sind terminal oder interkalar und messen 11,4  $\mu$ –22,8  $\mu$ , im Mittel (von 100 Oogonien) 18,0  $\mu$ . Die Oosporen sind frei in den Oogonien und weisen eine etwa 1–1,5  $\mu$  dicke Wand auf, Grösse: 9,8  $\mu$ –19,6  $\mu$ , im Mittel (von Oosporen) 15,1  $\mu$ . Die Sporangien bzw. Konidien sind kugelig bis oval, terminal oder interkalar und messen 12,0  $\mu$ –24,2  $\mu$ , im Mittel (von 100 Sporangien) 17,9  $\mu$ . An einem Oogonium sitzen im allgemeinen 1 manchmal auch 2 Antheridien, die androgyn oder diclyn angeordnet sind. Die Blasen sind ungefähr ebenso gross oder etwas grösser als Sporangien und enthalten 10–14 Schwärmsporen, die im Ruhezustand einen Durchmesser von 6–8  $\mu$  haben.

Die Bemühungen zur Erzielung von Schwärmsporen im „hängenden Tropfen“ nach der von 's JACOB (31) beschriebenen Methode sowie auch der von BUISMAN (13) und MEURS (38) verwendeten Methode nach PETRI (42) blieben erfolglos. MEURS brachte den Pilz, nachdem er in Petri-Lösung genügend Sporangien gebildet hatte, ins Wasser, wonach er dann in 1–24 Stunden die Schwärmsporen beobachten konnte.

Der Pilz bildete zwar in der Petri-Lösung noch mehr Sporangien, aber in frisches Wasser übertragen, konnte dann keine Schwärmsporenbildung erzielt werden. Schliesslich hatte folgende Methode Erfolg: Ein 2 Wochen alter Rübenkeimling wurde mit dem Pilz infiziert und in steriles Wasser gelegt. Nachdem der Pilz im Wasser genügend Myzelium und Sporangien gebildet hatte, wurde diese in ein Uhrglas gebracht und dazu mit Hilfe einer Bürette frisches Wasser in Tropfenform hinzugefügt. So waren dann im Uhrglas nach 1–2 Stunden zahlreiche Schwärmsporen festzustellen. Zur Beobachtung der Schwärmsporenbildung wurde von der „feuchten Kammer“ nach VAN LUYK (35) Gebrauch gemacht.

Da für die Bildung von Schwärmsporen Sauerstoff unentbehrlich ist, worauf bereits BUTLER (16) noch hinwies, wird das den Tropfen bildende Wasser ab und zu mit Hilfe eines Filterpapiere weggenommen und durch einen neuen Tropfen mit sauerstoffreichem, sterilem Wasser ersetzt. So konnte die Bildung der Schwärmsporen sehr leicht beobachtet werden. Dies geschieht, wie bereits von DE BARY (4) ausführlich beschrieben wurde, folgenderweise: Es entsteht zunächst eine kleine Ausstülpung am Sporangium, die schlagartig zu einer Blase wächst, wobei dann der Inhalt des Sporangiums durch den Verbindungsschlauch in die Blase wandert (Abb. 4). Die Form des Inhaltes in der Blase verändert sich jetzt durch ständige Bewegung desselben fortwährend; schliesslich wird die Differenzierung des Protoplasmas und die Bildung von Schwärmsporen deutlich, worauf diese durch eine an der Blasenwand entstandene Öffnung ins Freie gelangen und sich mit Hilfe von 2 Cilien schwimmend fortbewegen. Der ganze Vorgang dauert etwa 15 Minuten.

#### D. INFERTIONSVERSUCHE

Bevor wir auf die Besprechung der Infektionsversuche übergehen, sei einiges über die Methodik vorausgeschickt.

## 1. Methodik

Um eine Wiederholung zu vermeiden, werden hier die im allgemeinen verwendeten Methoden aufgeführt. Spezielle Methoden, welche bei einzelnen Versuchen Verwendung fanden, werden später unter den betreffenden Abschnitten erwähnt.

Für die Topfversuche wurden, je nach Ziel der Untersuchung, verschiedene Bodenarten verwendet. Sie wurden vor dem Gebrauch 2 Stunden bei 110–120 °C mit Dampf partiell sterilisiert. Für diejenige Versuche, für welche eine gründliche Sterilisation unerlässlich war, wurde der Boden in kleinen Mengen im Autoklav bei 110–120 °C 1 Stunde sterilisiert. Als Versuchstöpfe dienten gewöhnliche Blumentöpfe, welche auch im Autoklav bei 100–110 °C sterilisiert wurden. Die Grösse derselben richtete sich nach der Versuchsdauer.

Die Infektion wurde in verschiedenem Alter der Pflanzen vorgenommen. Als Infektionsmaterial wurden im allgemeinen auf Haferflockenagar gut gewachsene Pilzkulturen gebraucht, und zwar  $\frac{1}{4}$ – $\frac{1}{8}$  des Inhaltes einer Petrischale pro Pflanze. Dieses wurde direkt an die Wurzeln gebracht, die, je nach Grösse der Pflanze, in 4 bis 8 cm Tiefe von der Erde frei gemacht worden waren. Die Kontrollpflanzen wurden in gleicher Weise behandelt, jedoch bekamen sie gleiche Menge vom sterilen Haferflockenagar.

Für die Versuche in Wasserkulturen wurde die von der CRONE'sche Nährlösung<sup>1)</sup> mit Zusatz von folgenden Spurenelementen je Liter gebraucht: 1 g  $MnSO_4$ ; 0,5 g  $H_3BO_3$ ; 0,5 g  $CuSO_4$  und 0,5 g  $ZnSO_4$ . Als Gefässe dienten Marmeladegläser mit einem Inhalt von je 650 ccm. Die Deckel der Gläser waren in der Mitte mit einem Loch und dieses mit einem Kork versehen. In die Korke waren 1 bis 2 Löcher gebohrt, worin die Pflanzen gebracht wurden. Am Rande der Deckel war ein weiteres Loch angebracht, durch welches ein Glasrohr ins Gefäss hinein geleitet war. Dieses war mit einer Luftleitung verbunden, die an einem Staubsauger angeschlossen wurde. Der letztere besorgte dann die Luftzuführung.

Die Desinfektion der Gefässe sowie der Deckel und Glasrohre geschah mit Hilfe von Formalin, indem sie eine halbe Stunde in 4 % igem Formalin belassen und dann mit Leitungswasser gründlich gespült wurden. Die Korke wurden in Wasser gekocht.

Die Pflanzen für die Wasserkulturen wurden in Töpfen aufgezogen. Um die Wurzeln der Pflanzen beim Herausholen so wenig wie möglich zu beschädigen, wurden die Töpfe während 10–15 Minuten unter Wasser gesetzt, so dass der Boden aufweichen konnte und beim Hineingreifen mit den Händen keinen Widerstand leistete. Danach wurden die Pflanzen aus den Töpfen herausgenommen und mit Wasser vorsichtig abgespült. Sie wurden dann gleich in die Gefässe gebracht und mit Hilfe von Watte gestützt. Die Infektion wurde erst dann vorgenommen, nachdem sich die Pflanzen an die Wasserkultur angepasst hatten. Dies geschah in der Regel innerhalb einer Woche. Zur Infektion wurden auf Haferflockenagar gut gewachsene Pilzkulturen verwendet. Ein Stück von dieser Pilzkultur ( $\frac{1}{16}$ – $\frac{1}{8}$  des

<sup>1)</sup> Aus Versehen war für die Nährlösung an Stelle von  $Fe_2(PO_4)_3$ ,  $Fe_2(SO_4)_3$  genommen. Der Fehler wurde erst später entdeckt; deshalb konnten nicht mehr alle Versuche mit der richtigen Zusammensetzung wiederholt werden, so dass wir uns zum Vergleich nur mit der Wiederholung der Infektionsversuche mit den *Pythium irregulare*-Stämmen 34 O<sub>2</sub> und 5 b begnügen mussten. Da in diesem Versuch sowohl an den infizierten Pflanzen in Bezug auf den Krankheitsverlauf und die Krankheitsstärke, wie auch an den Kontrollpflanzen bei beiden Nährlösungen gar kein Unterschied festgestellt werden konnte, machte sich eine Wiederholung aller in Wasserkulturen durchgeführten Versuche nicht mehr notwendig.

Inhaltes einer Petrischale) wurde mit einem dünnen Faden an der Wurzel der Pflanzen angebunden. Bei den Kontrollpflanzen wurde an Stelle der Pilzkultur steriler Haferflockenagar genommen. Wenn sich die Versuche über mehr als 4 Wochen erstreckten, wurde die Nährlösung alle 3–4 Wochen erneuert.

Es wurde sowohl mit Zucker- wie auch mit Futterrüben gearbeitet. Die hierfür verwendeten Sorten waren Original Kleinwanzlebener „E“ bzw. Groeningia. Das Saatgut, das bereits trocken desinfiziert war, wurde mit Salzsäure noch einmal behandelt. Nachdem die Samen 20–30 Minuten in 25 % iger Salzsäure belassen worden waren, wurde die Säure durch Spülung mit Leitungswasser entfernt und der Rest durch ebenso langes Einweichen in Kalkmilch neutralisiert und schliesslich wurde wieder mit Wasser nachgewaschen. Die Ergebnisse dieser Behandlung waren für unseren Zweck befriedigend, so dass bei den Kontrollpflanzen nur selten einzelne Wurzelbrandfälle beobachtet werden konnten.

Die vorliegenden Versuche wurden im Glashaus durchgeführt. In den Wintermonaten von November bis März wurden die Pflanzen ausserdem von 16 bis 21 Uhr künstlich beleuchtet.

## 2. Infektionsversuche mit den isolierten Stämmen

Mit zwei von den isolierten Stämmen, 5b und 5d, wurden zunächst nur bei Futterrüben Versuche in Töpfen durchgeführt, um festzustellen, ob diese überhaupt imstande waren, die „Zwarte houtvatenziekte“ hervorzurufen. Der Versuch bestand aus 2 Reihen. Bei der ersten wurde die Infektion einen Tag vor und bei der zweiten zwei Wochen nach der Saat vorgenommen. Die 1. Versuchsreihe bestand aus 9 und die zweite aus 12 Töpfen, von welchen 3 bzw. 4 mit dem Stamm 5b, folgende 3 bzw. 4 mit dem Stamm 5d infiziert wurden. Die übrigen 3 bzw. 4 Töpfe dienten zur Kontrolle. Als Infektionsmaterial wurden Pilzkulturen sowohl für die 1. Versuchsreihe als auch für die Hälfte der Versuchstöpfe aus der 2. Reihe verwendet, welche auf einem Nährsubstrat, bestehend aus Gartenerde mit einem Zusatz von 6 % Hafermehl, gewachsen waren. Die Infektion der übrigen Hälfte der 2. Reihe wurde mit Pilzkulturen auf Haferflockenagar vorgenommen. Als Versuchsboden fand ein Humussandboden Verwendung, der von einem kranken Feld aus Laag-Soeren stammte. Die Töpfe waren mit 10 Knäueln besetzt und die aufgegangenen Pflanze (in der 2. Versuchsreihe) wurden vor der Infektion bis auf 8 je Topf vereinzelt.

Bei der 1. Versuchsreihe ging in den infizierten Töpfen gar keine Pflanze auf. Die Keimlinge wurden bereits, bevor sie die Bodenoberfläche erreichten, abgetötet. Die meisten Samen waren überhaupt nicht gekeimt. In den Kontrolltöpfen dagegen gingen die Pflanzen schon 5 Tage nach der Saat auf und nach 2 Wochen waren in jedem Topf mehr als 15 Keimlinge vorhanden.

In der 2. Versuchsreihe, bei welcher die Infektion 2 Wochen nach der Saat vorgenommen wurde, erkrankten fast alle Pflanzen an Wurzelbrand, wobei einige innerhalb einer Woche eingingen und die übrigen weiter wuchsen (Tab. 5). Zwei Wochen nach der Infektion konnte man bereits einen Unterschied zwischen den Kontrollpflanzen und infizierten Pflanzen feststellen, indem die letzteren deutlich kleiner geblieben waren, als die ersteren. Die älteren Blätter der infizierten Pflanzen wurden schlapp und starben unter Vergilbung ab, ohne jedoch die Symptome der „Zwarte houtvatenziekte“ zu zeigen. Etwa drei Wochen nach der Infektion traten auch die typischen Symptome der „Zwarte houtvatenziekte“ auf, und zwar nur bei einzelnen Pflanzen. Jedoch waren in der folgenden Woche bei rund

50 % der mit dem Stamm 5b infizierten Pflanzen schwache bis mittelstarke Symptome zu beobachten.

Die Krankheitserscheinungen sowie der Verlauf der Krankheit waren genau dieselben, wie auf dem Felde (s.S. 5). Das Blattgewebe zwischen den feinen Nerven wurde zunächst hellgrün, wobei dann die Nerven selbst als ein feines Netz in Erscheinung traten. Beim Fortschreiten der Krankheit verfärbten sich alle Blattnerven (ausser dem Hauptnerv und Nerven 1. Ordnung) braun und die zwischen den letzteren liegenden Partien gelb und später auch braun, wobei sie abstarben (Taf. 1, Abb. 2) und schliesslich das ganze Blatt zugrunde ging. Die ersten Krankheitssymptome traten hier auch bei den älteren Blättern auf. Jedoch erkrankten die Pflanzen nicht so stark wie es auf dem Felde der Fall ist, wo alle Blätter in einigen Tagen absterben und schliesslich die ganze Pflanze zugrunde geht. Im allgemeinen waren nach den Blattsymptomen 50 % der mit 5b und 16 % der mit 5d infizierten Pflanzen schwach bis mittelstark erkrankt. Bei dem Abschluss des Versuches, wobei alle Pflanzen durchgeschnitten wurden, konnten dagegen bei rund 80 % der mit 5b und 60 % der mit 5d infizierten Pflanzen schwach bis mittelstark verfärbte Gefässe festgestellt werden (Tab. 5). Und zwar wiesen alle Pflanzen, welche auf den Blättern Krankheitssymptome zeigten, eine mittelstarke Verfärbung in den Gefässbündeln auf, während die Pflanzen ohne Blattsymptome entweder keine oder meistens eine schwache Verfärbung, welche sich nur auf die Zentralgefässe beschränkte, aufwiesen. (Für die Bewertung der Stärke der Verfärbung der Gefässe im Rübenkörper siehe S 29.)

Dieser Versuch bewies, dass die beiden Stämme mehr oder weniger imstande waren, die „Zwarte houtvatenziekte“ zu verursachen. Der Stamm 5b wäre danach als mittelstark und 5d nur als schwach pathogen (in Bezug auf die „Zwarte houtvatenziekte“) zu bezeichnen. Wie ferner aus der Tabelle 5 ersichtlich ist, gab die Infizierung mit der Pilzkultur auf Agarboden gleiche, wenn nicht bessere, Resultate wie mit der Kultur auf Gartenerde. Aus diesem Grunde wurden bei allen späteren Versuchen nur die Pilzkulturen auf Agarboden als Infektionsmaterial verwendet.

BRANDENBURG (6) konnte bei seinen Versuchen bereits 28 Stunden nach der

TABELLE 5

*Infektionsversuche mit zwei Stämmen von Pythium irregulare bei der Futterrübe*  
(Gesät am: 23 Juni - Infiziert am: 6 Juli)

Topf No	Pythium irregulare Stamm.	Infektions Material	Anzahl Keimlinge		9 Wochen nach Infizierung Anzahl Pflanzen		
			bei der Infekt vorhanden	durch Wurzelbrand eingegangen	noch vorhanden	mit Blatt-sympt.	mit ver-färbten Gefässen
10-11	5 d	Agar	16	7	9	3	6
12-13	5 d	Erde	16	9	7	0	3
14-15	5 b	Agar	16	10	6	4	6
16-17	5 b	Erde	16	10	6	2	4
18-19	Kontr.	Agar	16	0	8 <sup>1)</sup>	0	0
20-21	Kontr.	Erde	16	0	8 <sup>1)</sup>	0	0

<sup>1)</sup> Die Kontrolltöpfe wurden 4 Wochen nach der Saat bis auf 4 Pflanzen vereinzelt, um etwa gleichen Pflanzenbestand, wie in den infizierten Töpfen, zu haben.

Infizierung die Krankheitssymptome auf den Blättern beobachten und die infizierten Pflanzen erkrankten so stark, das alle älteren Blätter innerhalb einer Woche zugrunde gingen. Er führte aber die Versuche mit 4–6 Wochen alten Pflanzen aus. Deshalb wurde dann, nachdem bei dem vorhergehenden Versuch 2 Wochen nach der Infektion keine Symptome der „Zwarte houtvatenziekte“ aufgetreten waren, ein neuer Versuch unternommen, um das günstige Alter der Pflanzen für die Infektion und damit für das Auftreten der Krankheit festzustellen. Dieser Versuch wurde sowohl mit Futter- als auch mit Zuckerrüben durchgeführt und umfasste vier Reihen. Alle Reihen wurden gleichzeitig gesät aber die Impfung erfolgte bei der 1. Reihe 2 Wochen und bei der 2, 3 und 4 Reihe 4, 6 bzw. 8 Wochen nach der Saat. Der Versuchsboden war ein Humussandboden. Zur Infektion wurden wieder die Stämme 5b und 5d verwendet.

Bei den Pflanzen, welche 2 bzw. 4 Wochen nach der Saat infiziert worden waren, war wiederum 1–2 Wochen nach der Infektion ein deutlicher Rückstand im Wachstum den Kontrollpflanzen gegenüber festzustellen. Jedoch waren die Symptome der „Zwarte houtvatenziekte“ auf den Blättern nur bei einzelnen Pflanzen zu beobachten. Die Pflanzen in den beiden letzten Versuchsreihen, welche 6 bzw. 8 Wochen nach der Saat infiziert worden waren, blieben äusserlich gesund und liessen gar keinen Unterschied den Kontrollpflanzen gegenüber erkennen. Zwischen Futter- und Zuckerrüben konnte im allgemeinen kein Unterschied festgestellt werden.

Der Versuch wurde in allen vier Versuchsreihen 8 Wochen nach der Infektion abgeschlossen, wobei die Rüben auf das Vorhandensein von dunkel verfärbten Gefässen geprüft wurden. Wie aus der Tabelle 6 ersichtlich ist, waren in allen Versuchsreihen die Gefässe von mehr als der Hälfte der infizierten Pflanzen verfärbt. Auffallend war es, dass der Stamm 5b, der im vorigen Versuch eine mittelstarke Pathogenität zeigte, in diesem Versuch sich als ebenso schwach pathogen wie der Stamm 5d erwies. Nur einzelne Pflanzen zeigten in der 1. und 2. Versuchsreihe schwach bis mittelstarke Krankheitssymptome an den Blättern und mittelstarke Verfärbungen in den Gefässen, während bei allen übrigen Pflanzen keine Blattsymptome und keine oder allein eine schwache Verfärbung, und zwar nur im Zentralgefäss, beobachtet werden konnte. Dass der Pilz die Seitenwurzeln der Pflanzen mehr oder weniger stark zu befallen vermochte, konnte an Hand der braun verfärbten Seitenwurzeln, von welchen der Pilz rückisoliert wurde, deutlich festgestellt werden.

Zusammenfassend kann nach den Ergebnissen dieses Versuches gesagt werden, dass die Stämme 5b und 5d bei den 6 und 8 Wochen alten Pflanzen keinen merklichen Schaden zu verursachen aber bei den noch jüngeren Pflanzen eine schwache Erkrankung hervorzurufen imstande sind, soweit es sich um die „Zwarte houtvatenziekte“ handelt. Es sei aber bemerkt, dass die zwei Wochen nach der Saat infizierten Pflanzen, bei welchen auch keine Symptome der „Zwarte houtvatenziekte“ an den Blättern und keine oder schwach verfärbte Gefässe im Rübenkörper zu beobachten waren, im Wachstum sehr stark zurückblieben. Obwohl sich viele von diesen später wieder erholten, war ein Wachstumsrückstand den Kontrollpflanzen gegenüber deutlich festzustellen. Da alle infizierten Pflanzen mehr oder weniger braun verfärbten und abgestorbene Seitenwurzeln aufwiesen, lag die Vermutung nahe, dass bei den vorliegenden Krankheiterscheinungen dem direkten Befall der Seitenwurzeln durch den Pilz noch grössere Bedeutung zukommen dürfte, als den von diesem abgeschiedenen Stoffwechselprodukten. Zu dieser Vermutung gaben uns besonders die Infektionsversuche in Wasserkulturen An-

TABELLE 6

*Infektionsversuche mit zwei Stämmen von Pythium irregulare  
bei verschiedenem Alter der Pflanzen (Gesät am: 10 Juli)*

Topf No	Pythium irregulare Stamm	Bei der Infizierung		8 Wochen nach Infizierung Anzahl Pflanzen	
		Alter der Pflanzen in Wochen	Anzahl Pflanzen pro Serie	mit Blatt- symptomen	mit verfärbten Gefäßen
<i>Futterrübe</i>					
1-2 . . . . .	5 d	2	(24) <sup>1)</sup> ; 8	2	7
3-4 . . . . .	5 b	2	(24) <sup>1)</sup> ; 8	3	7
5-6 . . . . .	Kontr.	2	8	0	1
7-8 . . . . .	5 d	4	8	0	8
9-10 . . . . .	5 b	4	8	0	5
11-12 . . . . .	Kontr.	4	8	0	2
13-15 . . . . .	5 d	6	9	0	7
16-18 . . . . .	5 b	6	9	0	6
19-20 . . . . .	Kontr.	6	6	0	0
21-24 . . . . .	5 d	8	8	0	5
25-28 . . . . .	5 b	8	8	0	4
29-32 . . . . .	Kontr.	8	8	0	0
<i>Zuckerrübe</i>					
1-2 . . . . .	5 d	2	(24) <sup>1)</sup> ; 8	0	5
3-4 . . . . .	5 b	2	(24) <sup>1)</sup> ; 8	1	6
5-6 . . . . .	Kontr.	2	8	0	0
7-8 . . . . .	5 d	4	8	2	7
9-10 . . . . .	5 b	4	8	1	8
11-12 . . . . .	Kontr.	4	8	0	2
13-15 . . . . .	5 d	6	9	0	6
16-18 . . . . .	5 b	6	9	0	6
19-20 . . . . .	Kontr.	6	6	0	0
21-24 . . . . .	5 d	8	8	0	3
25-28 . . . . .	5 b	8	8	0	4
29-32 . . . . .	Kontr.	8	8	0	0

<sup>1)</sup> Eine Woche nach der Infizierung, nachdem die Gefahr des Absterbens der Keimlinge durch Wurzelbrand nicht mehr bestand, wurden diese Töpfe auch bis auf 4 Pflanzen vereinzelt.

lass, welche zu gleicher Zeit mit dem bereits besprochenen Versuch durchgeführt wurden.

Dieser Infektionsversuch in Wasserkulturen wurde sowohl mit Futter- als auch mit Zuckerrüben vorgenommen. Die hierfür verwendeten Pflanzen waren vier Wochen alt. Der Versuch bestand aus zwei Reihen, von welchen die erstere täglich  $\frac{1}{2}$  Stunde und die letztere keine Luftzufuhr bekam. In jeder Reihe waren 24 Gefäße mit je 2 Pflanzen vorhanden. Die Hälfte von den Gefäßen enthielten Futterrüben und die übrige Hälfte Zuckerrüben. Für die Infektion wurden die Stämme 5b und 5d verwendet. Somit standen in beiden Versuchsreihen für Infizierung (je *Pythium*-Stamm) und für die Kontrolle 8 Futter- bzw. Zuckerrübenpflanzen zur Verfügung. Der Versuch wurde in den Monaten September und Oktober durchgeführt und dauerte zwei Monate.

Einige Tage nach der Infizierung konnte bereits das Hellbraunwerden der Seitenwurzeln beobachtet werden. Die äussersten Blätter wurden dann schlapp und in den folgenden Tagen starben sie unter Vergilbung ab, ohne jedoch die

Symptome der „Zwarte houtvatenziekte“ zu zeigen. Innerhalb 2–3 Wochen waren fast alle Seitenwurzeln der infizierten Pflanzen unter Braunverfärbung abgestorben. Die Rüben bildeten fortwährend neue Wurzeln, die wiederum von dem Pilz befallen wurden und bevor sie eine Länge von 1 cm erreichten, zugrunde gingen. Die ganze Oberfläche eines solchen Rübenkörpers war mit zahlreichen Seitenwurzeln besetzt, während bei den Kontrollpflanzen die Seitenwurzeln nur an den zwei Linien des Rübenkörpers gebildet wurden und die übrigen Stellen frei von Wurzeln waren.

Durch ständigen Verlust an Wurzeln und Blättern konnten die infizierten Pflanzen überhaupt nicht weiter wachsen und die Rüben blieben ebenso klein, wie sie zur Zeit der Infektion waren, während die Kontrollpflanzen ungestört weiter wuchsen. Ein deutlicher Unterschied zwischen den infizierten Pflanzen und den Kontrollpflanzen war bereits in der zweiten Woche festzustellen. Dieser Unterschied wurde in den folgenden Wochen viel grösser indem alle noch bei der Infektion vorhandenen Blätter abstarben, dagegen die neu gebildeten Blätter infolge des starken Seitenwurzelbefalles nicht weiter wachsen konnten. Einige Pflanzen, bei welchen nicht alle Seitenwurzeln zugrunde gingen oder ein Teil der neu gebildeten Wurzeln von dem Befall verschont blieb, machten einen besseren Eindruck.

Etwa zwei Wochen nach dem Einsetzen der Pflanzen in Nährlösung trat an den Blättern der meisten Pflanzen, auch bei manchen Kontrollpflanzen, eine leichte Chloroseerscheinung auf, und zwar immer zuerst an den jüngeren Blättern, welche dann in den folgenden Wochen bei den Kontrollpflanzen verschwand aber bei den infizierten noch stärker in Erscheinung trat. Die Hauptnerven und Nerven 1. Ordnung blieben normalgrün, während die Nerven 2. und 3. Ordnung mit einem schmalen Streifen entlang derselben sich dunkelgrün und das zwischen diesen Nerven liegende Blattgewebe zunächst hellgrün, später gelb verfärbten. Somit wurde das ganze Blatt homogen gelb, wobei nur die Blattnerven, ausser den feinsten Nerven, mit ihrer normalgrünen bis etwas dunkelgrünen Farbe hervortraten. Aber sowohl die Nerven als auch dieses gelbe Blattgewebe wurden dann nicht mehr braun und starben auch nicht ab (Taf. 2, Abb. 6).

Diese Chloroseerscheinungen gleichen zwar den Symptomen der „Zwarte houtvatenziekte“ auf dem Felde, jedoch weichen sie von denselben in verschiedenen Punkten ab. Das wichtigste Unterscheidungsmerkmal der „Zwarte houtvatenziekte“ von den anderen mosaikartigen Verfärbungen der Blätter besteht nämlich darin, dass die feinsten Blattnerven immer zu Beginn durch grüne, später braune Farbe von den übrigen Blatt-Teilen netzartig und deutlich zu unterscheiden sind. Dies war jedoch bei den beschriebenen Symptomen in der Wasserkultur nicht der Fall. Ferner unterblieb die Braunverfärbung der Nerven sowie die Braunfärbung der zwischen diesen liegenden Partien. Als letzter Punkt könnte erwähnt werden, dass die mosaikartige Verfärbung auf dem Felde immer an den ältesten Blättern beginnt und die Herzblätter fast immer symptomfrei bleiben, während hier genau das Gegenteil der Fall war.

Einige Pflanzen zeigten auch auf den älteren Blättern schwache bis mittelstarke Symptome der „Zwarte houtvatenziekte“, welche dann beim Abschluss des Versuches mittelstark verfärbte Gefässe im Rübenkörper aufwiesen. Bei den übrigen Pflanzen, die nur die oben beschriebene oder gar keine Chloroseerscheinung zeigten, war dagegen entweder eine schwache oder keine Verfärbung in den Gefässen festzustellen. Diese Erscheinung stimmt aber mit denjenigen in den vorhergehenden Topfversuchen und bei den Feldbeobachtungen nicht überein, weil dort

die Symptomstärke auf den Blättern im allgemeinen mit der Stärke der Verfärbung der Gefässe Hand in Hand ging.

Wie bereits erwähnt wurde, wird die „Zwarte houtvatenziekte“ durch toxische Stoffwechselprodukte des Pilzes hervorgerufen. Aber nach den Versuchen von BRANDENBURG (8) sind nur wenige *Pythium irregulare*-Stämme imstande, stark toxische Stoffwechselprodukte zu produzieren, während die Stoffwechselprodukte von einer Anzahl anderer Stämme keine oder nur eine schwache toxische Wirkung bei der Rübe aufwiesen. Nach den Resultaten der bisherigen Infektionsversuche sollten demnach die Stämme 5b und 5d schwach toxische Stoffwechselprodukte haben. Diese Annahme wurde auch bei den Versuchen, die mit den Ausscheidungsprodukten des Pilzes in synthetischer Nährlösung gemacht wurden, bestätigt (s.S. 36). Die in der Wasserkultur aufgetretene Chloroseerscheinung dürfte daher nicht auf eine Wirkung der Stoffwechselprodukte des Pilzes sondern auf den direkten Befall und dadurch auf eine Beschädigung der Seitenwurzeln zurückzuführen sein, wobei die Pflanze dann unter einen künstlichen Nährstoffmangel leidet. Aus diesem Grunde dürfte das Auftreten einer leichten Chlorose bei den Kontrollpflanzen, welche nach genügender Seitenwurzelbildung (etwa innerhalb 1–2 Wochen nach dem Auftreten) wieder verschwand, auf der Tatsache beruhen, dass bei dem Umsetzen der Pflanzen in die Wasserkultur viele Wurzeln verloren gehen und die übrigen vielfach beschädigt sind.

Der Umstand, dass bei den Pflanzen, die einige Wochen nach der Infizierung neue Wurzeln bildeten, welche vom Befall verschont blieben, die Chlorose der Blätter verschwand, obschon ein Teil der Wurzeln noch befallen war, dürfte diese Ansicht bekräftigen.

Es sei ferner in diesem Zusammenhang erwähnt, dass bei den von TANRISEVER<sup>1)</sup> durchgeführten Versuchen, welche in Glassand mit Zuckerrüben vorgenommen wurden, alle Pflanzen in den Versuchsreihen mit ungenügender Nährstoffgabe ähnliche Chloroseerscheinungen zeigten, obschon sie über ein normal ausgebildetes Wurzelsystem verfügten.

Dass bei den Infektionsversuchen in den Töpfen eine solche Chloroseerscheinung nicht auftrat, ist auch dadurch zu erklären, dass die Seitenwurzeln im Boden nie so stark befallen werden und die Pflanzen immerhin über so viele Wurzeln verfügen, dass sie genügend Nährstoff aufnehmen können. Dies konnte leicht festgestellt werden, indem die Pflanzen sorgfältig aus dem Boden herausgezogen und die Seitenwurzeln der infizierten Pflanzen und der Kontrollpflanzen verglichen wurden, nachdem die Wurzeln durch Waschen von der Erde befreit worden waren. Die Seitenwurzeln der infizierten Pflanzen waren zwar häufig bräunlich verfärbt aber zum grössten Teil sahen sie ebenso gesund aus, wie bei den Kontrollpflanzen.

In dem Infektionsversuch, der bei den 6 bzw. 8 Wochen alten Pflanzen in Wasserkulturen mit denselben *Pythium*-Stämmen durchgeführt wurde, war deutlicher zu beobachten, dass der Pilz die Wurzeln in der Wasserkultur noch stärker zu befallen vermag, als im Boden; denn obwohl der Pilz bei den infizierten Pflanzen im Boden keinen Schaden hervorrufen konnte (s.S. 20), war ein solcher in Wasserkulturen, besonders bei den 6 Wochen alten Pflanzen, deutlich festzustellen (Taf. 2, Abb. 5). Jedoch war der Wachstumsrückstand den Kontrollpflanzen gegenüber nicht so gross und es trat nur eine leichte Chlorose auf, die sich auf die jungen Blätter beschränkte.

<sup>1)</sup> Diese Arbeit wurde im hiesigen Institut vorgenommen, ist aber nicht veröffentlicht worden.

Zwischen den Versuchsreihen mit und ohne Luftführung konnte weder bei den infizierten noch bei den Kontrollpflanzen ein Unterschied festgestellt werden. Deshalb wurde bei den späteren Infektionsversuchen in Wasserkulturen die Luftzufuhr unterlassen. Ebenso war in diesem Versuch zwischen der Futter- und Zuckerrübe keinerlei Unterschiede zu beobachten.

Die in den Wintermonaten 1949–1950 mit den übrigen 12 *Pythium*-Stämmen vorgenommenen Infektionsversuche ergaben, dass keiner von ihnen imstande war, die Symptome der „Zwarte houtvatenziekte“ an den Blättern hervorzurufen, obwohl in manchen Infektionsreihen vielfach eine dunkelbraune Verfärbung des Zentralgefässes festgestellt werden konnte. Im Sommer 1950 wurden dann neue Stämme aus den Wurzeln kranker Futterrüben von verschiedenen Feldern in der Provinz Gelderland isoliert. Von den nun angefallenen 13 *Pythium*-Stämmen erwies sich nur ein Stamm, nämlich L<sub>2</sub>, als mittelstark- bis starkpathogen und alle übrigen 12 Stämme als schwach- bzw. nichtpathogen. Da aber die vergleichenden Infektionsversuche mit verschiedenen *Pythium*-Stämmen zu diesem Zeitpunkt bereits im Gange waren, konnte der Stamm L<sub>2</sub> in diese Versuche nicht mehr eingeschaltet werden.

### 3. Vergleichende Infektionsversuche mit einigen *Pythium irregularis*-Stämmen und einem *P. de Baryanum*-Stamm

Nachdem sich die isolierten *Pythium*-Stämme bei den Infektionsversuchen des Jahres 1949 als schwachpathogen erwiesen hatten, fanden wir es zweckmässig, auch mit einem hochpathogenen *Pythium*-Stamm vergleichende Versuche durchzuführen. Freundlicherweise stellte mir dan Prof. BRANDENBURG einen solchen hochpathogenen Stamm, 34 O<sub>2</sub>, zur Verfügung, wofür ich ihm an dieser Stelle meinen besonderen Dank aussprechen möchte.

Die Infektionsversuche mit diesem Stamm 34 O<sub>2</sub> wurden zunächst bei fünf Wochen alten Futter- und Zuckerrüben durchgeführt. Die Resultaten waren überraschend. Schon einen Tag nach der Infektion wurden die älteren Blätter der infizierten Pflanzen schlapp und am zweiten Tag konnten auf diesen die typischen mosaikartigen Verfärbungen festgestellt werden. Die Krankheitssymptome und ihr Verlauf waren genau dieselben, wie sie auf dem Felde beobachtet wurden. Alle Blätter, ausser den Herzblättern, zeigten innerhalb einer Woche starke Symptome, wobei dann die älteren bzw. äussersten unter Braunverfärbung abstarben. Die Gefässbündel im Rübenkörper waren auch dunkelbraun bis schwärzlich verfärbt. Beim Durchschneiden der Pflanzen in verschiedenen Krankheitsstadien konnte eindeutig festgestellt werden, dass die Stärke der Krankheitssymptome an den Blättern mit steigender Stärke der Verfärbung der Gefässe im Rübenkörper zunahm. Dies war bei den Feldbeobachtungen und auch bei den früheren Infektionsversuchen mit den schwachpathogenen Stämmen 5b und 5d ebenso der Fall. Zwischen Futter- und Zuckerrüben konnte wiederum kein Unterschied festgestellt werden; darum wurden die übrigen Versuche nur mit der Futterrübe durchgeführt.

Nachdem wir uns von der hohen Pathogenität des Stammes 34 O<sub>2</sub> überzeugt hatten, wurde dann ein vergleichender Infektionsversuch mit diesem und den Stämmen 5b und 5d vorgenommen. In diesem Versuch wurde auch eine Kultur von *Pythium de Baryanum* Hesse (Stamm Meredith, isoliert von einem Zuckerrübenkeimling), die wir vom „Centraalbureau voor schimmelcultures Baarn“ bekamen, herangezogen. Die Einschaltung von *P. de Baryanum* in den Versuch erfolgte aus

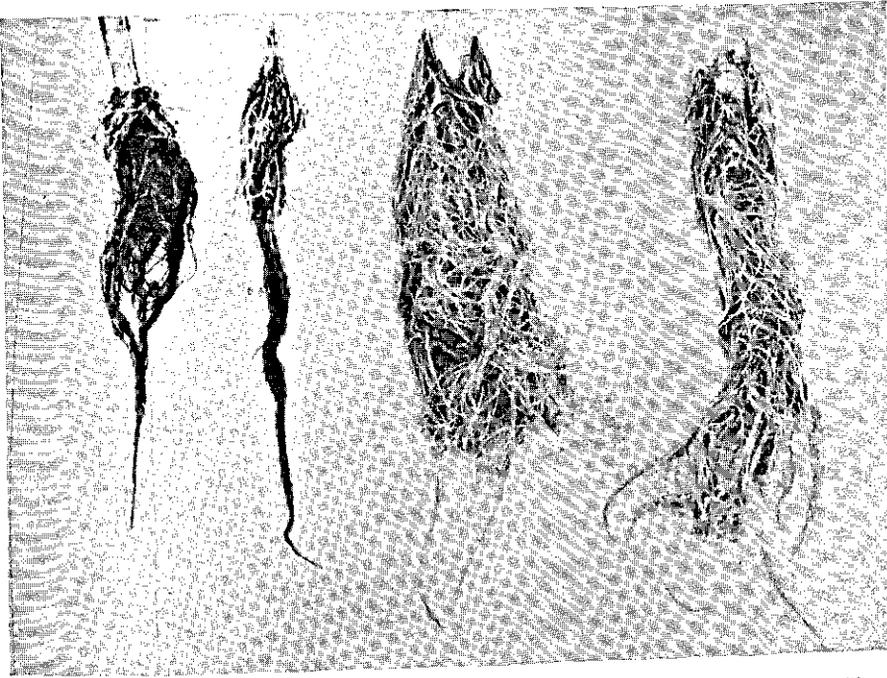


Abbildung 5. Die Wurzeln der mit den Stämmen 5b und 5d, infizierten Futterrüben und der Kontrollpflanzen in Wasserkultur. Zur Zeit der Infektion waren die Pflanzen 6 Wochen alt; photographiert 3 Wochen nach der Infizierung.

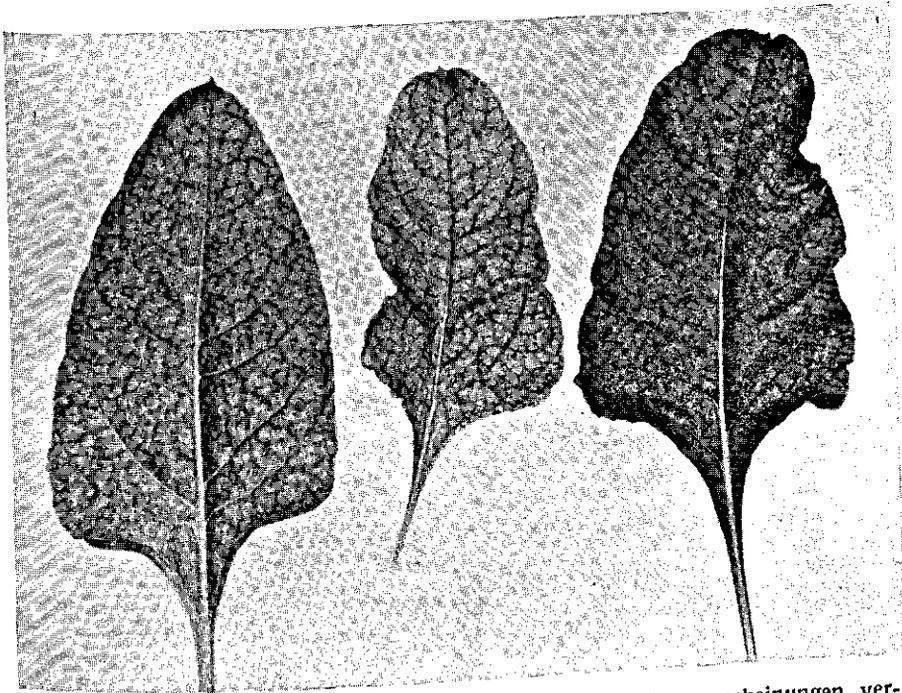


Abbildung 6. Futterrübenblätter mit verschieden starken Chloroseerscheinungen, verursacht durch die Seitenwurzelerkrankung in Wasserkulturen.

dem Grunde, weil er als wichtigster Wurzelbranderreger bei der Rübe bekannt ist (12, 15, 20, 40) und PETERS (40, 41), wie bereits erwähnt wurde, aus braun verfärbten Seitenwurzeln der Rübe auch *P. de Baryanum* isoliert hatte.

Da die „Zwarte houtvatenziekte“, so weit es uns bekannt ist, nur auf Sandboden vorkommt, wollten wir bei diesem Versuch gleichzeitig untersuchen, wie weit der Pilz in einem anderen, in Bezug auf das Wachstum der Rüben besseren Boden imstande ist, die Krankheit hervorzurufen. Zu diesem Zweck wurde neben einem Humussandboden, welcher von einem kranken Feld stammte, eine Gartenerde verwendet. (Bei der Gartenerde handelt es sich um einen humosen, nährstoffreichen Boden, der, wie üblich, durch Mischung von Blatterde, Stallmist, Ton- und Sandboden hergestellt wird). Der Versuch umfasste somit 2 Reihen mit verschiedenen Bodenarten. In jeder Reihe waren 25 Töpfe und in jedem Topf 8 Pflanzen vorhanden. Damit standen für die Infektion mit einer von den betreffenden 4 Pilzkulturen und für die Kontrolle 40 Pflanzen zur Verfügung. Die Infizierung erfolgte zwei Wochen nach der Saat.

Bereits nach 2 Tagen erkrankten fast alle mit den Stämmen 34 O<sub>2</sub> und 5b infizierten Keimlinge in beiden Versuchsreihen an Wurzelbrand, wobei die meisten von ihnen am dritten Tag zugrunde gingen. Dagegen konnte bei der Infektionsserie mit *P. de Baryanum*, auch eine Woche nach der Infizierung, nur bei weniger als 25 % der Keimlinge Wurzelbrand festgestellt werden, während die Wurzelbrandfälle bei den mit dem Stamm 5d infizierten Keimlingen rund 50 % betrug (Tab. 7). Es starben jedoch bei der ersteren nur einzelne und bei der letzteren etwa  $\frac{1}{4}$  der Keimlinge ab. Damit erwiesen sich, wenn wir in der Tabelle 7 zunächst den Wurzelbrand betrachten, die *P. irregulare*-Stämme 34 O<sub>2</sub> und 5b viel stärker pathogen als der *P. de Baryanum*-Stamm, während der Stamm 5d eine Mittelstellung zwischen den beiden einnimmt. Von den *P. irregulare*-Stämmen scheint 34 O<sub>2</sub> auch in Bezug auf den Wurzelbrand stärker pathogen als 5b und 5d zu sein, da der erstere innerhalb einiger Tage alle Pflanzen und die letzteren innerhalb von zwei Wochen nur  $\frac{2}{3}$  bis  $\frac{1}{4}$  der Pflanzen abzutöten vermochten. Es dürfte dabei ohne Zweifel angenommen werden, wie auch später nachgewiesen wurde, dass bei der so schnellen und starken Wirkung von 34 O<sub>2</sub> auch die toxischen Abscheidungsprodukte des Pilzes einen Anteil haben mussten und aus diesem Grunde nur einer von den infizierten 80 Keimlingen den Wurzelbrand überstand. Es konnte aber in diesem Versuch die Verfärbung des Zentralgefäßes nicht deutlich beobachten werden, weil das ganze Hypokotyl braun verfärbt war. Bei einer Wiederholung des Versuches nur mit den Stämmen 34 O<sub>2</sub> und 5b, wobei die Keimlinge 24 bzw. 48 Stunden nach der Infizierung geschnitten wurden, also, bevor das ganze Hypokotyl sich braun verfärbte und abstarb, konnte bei den mit 5b infizierten Keimlingen keine und bei den mit 34 O<sub>2</sub> infizierten eine leichtbraune Verfärbung des Zentralgefäßes festgestellt werden.

Diese mit dem Stamm 34 O<sub>2</sub> im Keimlingsstadium verursachte Krankheit könnte jedoch nicht als „Zwarte houtvatenziekte“ angesehen werden, obschon die Gefäße braun verfärbt waren, da alle Keimlinge genau gleiche Krankheitserscheinungen (Wurzelbrand) zeigten, wie die mit anderen Stämmen infizierten Pflanzen. Diese Krankheitserscheinung wurde von verschiedenen Autoren (12, 19, 20, 40) als Wurzelbrand beschrieben, und zwar wie folgt: Schon einen Tag nach der Infizierung tritt am Wurzelhalse eine leichte Verfärbung auf, so dass dieser etwas glasig aussieht, während die Pflanze im oberen Teil noch gesund ist. In den folgenden Tagen verbreitet sich die Verfärbung und Glasigkeit sehr schnell nach oben hin, wobei der Keimling seine Turgeszenz verliert, zusammenbricht und

TABELLE 7

Vergleichende Infektionsversuche mit drei *P. irregulare* und einem *P. de Baryanum*-Stamm in Sandboden und in Gartenerde (40 Pflanzen pro Serie)

Bodenart	Pythium Stamm	1 Woche nach Infizierung		4 Wochen nach Infizierung		
		Anzahl Keimlinge, an Wurzelbrand		Anzahl noch vorhand. Pflanzen	Anzahl Pflanzen mit verf. Gef. in % d. vorhandenen	Durchschn. Stärke d. Sympt. i. Rübenkörper <sup>1)</sup>
erkrankt	abgestorben					
Humussand:	34 O <sub>2</sub>	40	38	0		
	5 b	40	19	16	81	+
	5 d	19	7	29	69	+
	P. de B.	9	2	36	25	(+)/+
	Kontr.	0	0	40	10	(+)
Gartenerde:	34 O <sub>2</sub>	40	34	1	100	+++
	5 b	28	17	20	95	+/+++
	5 d	19	6	27	85	+/+++
	P. de B.	6	0	39	49	(+)/+
	Kontr.	0	0	40	15	(+)

<sup>1)</sup> Über die Bewertung der Stärke der Symptome im Rübenkörper siehe S. 29.

schliesslich unter Dunkelverfärbung zu einem dünnen Faden eintrocknet.

Wie bei den früheren Infektionsversuchen blieben die meisten infizierten Pflanzen, die den Wurzelbrand überstanden hatten, (ausser den mit *P. de Baryanum* infizierten) im weiteren Wachstum sehr stark hinter den Kontrollpflanzen zurück. Jedoch traten die typischen Blattsymptome der „Zwarte houtvatenziekte“ nur bei der mit 34 O<sub>2</sub> infizierten und einzig übriggebliebenen Pflanze sowie bei zwei mit 5b infizierten Pflanzen im Sandboden auf. Deshalb wurden die Blattsymptome in der Tabelle 7 nicht aufgeführt.

In der 2. Versuchsreihe mit Gartenerde traten bei den mit 5b und 5d infizierten Pflanzen etwa 3 Wochen nach der Infizierung eine merkwürdige Erscheinung auf. Einige Blätter der meisten klein gebliebenen Pflanzen starben immer von der Spitze her bis zur Mitte des Blattes unter Braunverfärbung ab, ohne jedoch die Symptome der „Zwarte houtvatenziekte“ zu zeigen. Meistens blieb der übrige, untere Teil des Blattes normal und wuchs weiter, wobei die abgestorbene Spitze zusammenschrumpfte. In manchen Fällen ging die Braunverfärbung und Austrocknung bis zum Blattstiel weiter, wobei das ganze Blatt zugrunde ging. Diese Erscheinung trat nur bei klein gebliebenen, dementsprechend stark befallenen Pflanzen auf aber nur in der Gartenerde. Sie wurde niemals in Sandboden beobachtet. Eine spätere Wiederholung des Versuches mit den beiden Bodenarten ergaben gleiche Resultate. Jedoch traten diese Erscheinungen bei der Infektion von vier Wochen alten Pflanzen nicht mehr auf. Sie dürfte mit der „Zwarte houtvatenziekte“ im Zusammenhang stehen, da diese Pflanzen immer schwach bis mittelstark verfärbte Gefässe aufwiesen. Charakteristisch hierbei ist noch, dass sie nur an den kleinen äusseren Blättern der sehr klein gebliebenen Pflanzen auftritt und bei weiterem Wachstum der Pflanzen nicht mehr vorkommt. Dies gibt Anlass zur Vermutung, dass die Blätter nicht nur in verschiedenen Altersstadien sondern auch im gleichen Alter den von dem Pilz abgeschiedenen Toxinstoffen gegenüber verschieden reagieren (vgl. S. 38). Aus diesem Grunde dürfte das Auftreten der

betreffenden Erscheinung (das Absterben der Blattspitzen unter Braunverfärbung) nur in der Gartenerde auf eine unterschiedliche physiologische Reaktion der Blätter in den beiden Bodenarten zurückzuführen sein.

Wenn wir die Versuchsreihen mit verschiedenen Bodenarten vergleichen, so sind keine grossen Unterschiede zwischen den beiden festzustellen, jedoch sind die Wurzelbrandfälle bzw. ist die Anzahl der abgestorbenen Keimlinge in Gartenerde etwas geringer als in Sandboden. So überstand in der Infektionsserie mit  $34 O_2$  nur eine Pflanze den Wurzelbrand, und zwar in der zweiten Reihe mit Gartenerde. Im allgemeinen erholten sich die Pflanzen in der Gartenerde noch früher von der Krankheit und der Stand der Pflanzen war sowohl bei den infizierten wie auch in den Kontrolltöpfen besser als in Sandboden. Dass in einem guten Boden, in Bezug auf das Wachstum der Pflanzen, auch stark befallene Pflanzen sich von der Krankheit erholen können, bewies die in der Gartenerde übriggebliebene Pflanze. Wie bereits erwähnt wurde, gingen fast alle mit  $34 O_2$  infizierten Keimlinge in den beiden Versuchsreihen innerhalb von einigen Tagen gänzlich ein und einige waren kurz vor dem Absterben. Da die Pflanzen sehr klein und alle ihre Blätter abgestorben waren, schien es zwecklos sie weiter im Versuch beizubehalten; jedoch wurden die Töpfe nicht eher entfernt, bevor alle Pflanzen gänzlich vertrocknet waren. So entwickelte dann eine von den hoffnungslosen Keimlingen noch neue Herzblätter, welche nach einigen Tagen unter Braunverfärbung abstarben aber wieder durch neue ersetzt wurden. Dies wiederholte sich einige Male, wobei die Pflanze weiter wuchs und 6 Wochen nach der Infizierung eine Höhe von 15 cm erreichte. Ihre Herzblätter waren nunmehr symptomfrei und nur noch die älteren Blätter zeigten Krankheitssymptome.

Die Hälfte der in den Töpfen vorhandenen Pflanzen wurden 4 und die übrigen 6 Wochen nach der Infizierung geschnitten und die Stärke der Verfärbung der Gefässe kontrolliert. Da aber zwischen beiden Kontrollen im allgemeinen kein Unterschied bestand, wurden sie in der Tabelle 7 nicht getrennt aufgeführt.

Wenn wir die *Pythium*-Arten bzw.-Stämme an Hand der Anzahl der Pflanzen mit verfärbten Gefässen und besonders der Stärke der Verfärbung in Bezug auf die „Zwarte houtvaziekte“ vergleichen, so müssen wir den *P. de Baryanum*-Stamm als nicht, 5b und 5d als schwach und  $34 O_2$  als stark pathogen bezeichnen. Zwar wiesen rund  $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$  der mit *P. de Baryanum* infizierten Pflanzen sehr schwach bis schwach verfärbte Gefässbündel auf aber solche leichte Verfärbungen, welche sich nur auf das Zentralgefäss beschränkten, kamen auch bei den Kontrollpflanzen ab und zu vor; ausserdem blieben sie im Wachstum den Kontrollpflanzen gegenüber auch nicht zurück, so dass zwischen den beiden kein Unterschied festgestellt werden konnte. Die Stämme 5b und 5d verhielten sich wie in den früheren Infektionsversuchen.

Das Absterben aller Pflanzen (bis auf eine) in den mit  $34 O_2$  infizierten Serien an Wurzelbrand machte einen Vergleich zwischen den beiden Versuchsreihen unmöglich, weshalb dann ein neuer Infektionsversuch nur mit den Stämmen  $34 O_2$  und 5b bei vier Wochen alte Pflanzen vorgenommen wurde. Dieser Versuch bestand ebenfalls aus zwei Reihen, und zwar wurde die erste mit Sandboden und die zweite mit Gartenerde angesetzt. In jeder Reihe waren 10 Versuchstöpfe vorhanden, von welchen je 4 mit dem Stamm  $34 O_2$  bzw. 5b infiziert und die letzten 2 als Kontrolle verwendet wurden. Alle Töpfe enthielten 8 Pflanzen.

Zwei Tage nach der Infizierung traten bereits bei den mit  $34 O_2$  infizierten Pflanzen die typischen Symptome an den älteren Blättern auf. Schon innerhalb von fünf Tagen lagen mehr als die Hälfte der Pflanzen in der ersten und nur einige in

der 2. Versuchsreihe auf dem Boden. Die Hauptnerven der noch kleinen Blätter waren braun verfärbt, und starben ab, bevor sie den ganzen Krankheitsverlauf durchgemacht hatten. Zum grössten Teil gingen diese Pflanzen zugrunde, während die übrigen neue Herzblätter bildeten und weiter wuchsen (Tab. 8). In der zweiten Woche waren alle mit 34 O<sub>2</sub> infizierten Pflanzen in der 2. Versuchsreihe ebenso stark erkrankt wie in der 1. Reihe. Alle älteren Blätter waren abgestorben, so dass nur Herzblätter übrigblieben, welche nun auch meistens typische Krankheitsercheinungen zeigten. Als Unterschied zwischen beiden Versuchsreihen wäre zu bemerken, dass die in der Gartenerde befindlichen Pflanzen ständig mehr neue Blätter bildeten, als diejenigen im Sandboden, wobei wiederum die älteren davon unter Braunverfärbung abstarben. Bis zum Abschluss des Versuches konnten sich die Pflanzen in keiner Reihe von der Krankheit richtig erholen, jedoch machte der Stand der Pflanzen in der Gartenerde einen besseren Eindruck als der im Sandboden. Bei den mit 5b infizierten Pflanzen zeigten nur drei in der 1. Versuchsreihe etwa 10 Tage nach der Infizierung leichte Chloroseerscheinungen, während in der Gartenerde keinerlei Symptome zu beobachten waren; jedoch konnte bei ihnen, wenn auch nicht so deutlich wie in der 1. Versuchsreihe, ein Wachstumsrückstand den Kontrollpflanzen gegenüber festgestellt werden.

Die Hälfte der noch vorhandenen Pflanzen wurde drei und die übrigen fünf Wochen nach der Infizierung durchgeschnitten. Wie aus der Tabelle 6 ersichtlich ist, war in den beiden Fällen kein Unterschied zwischen den Versuchsreihen in Bezug auf die Stärke der Verfärbung der Gefässe und damit auf die Stärke des Befalles sowie der Krankheit festzustellen.

TABELLE 8

Vergleichender Infektionsversuch mit den *P. irregulare*-Stämmen 34 O<sub>2</sub> und 5 b in Sandboden und in Gartenerde (32 Pflanzen pro Serie)

Bodenart	<i>P. irregulare</i> Stamm	1 Woche nach Infizierung		3 Wochen nach Infizierung				5 Wochen nach Infizierung			
		Anzahl Pfl. mit Blattsympt. in % d. vorhand.	Durchschnittl. Stärke d. Blattsymptome	Anzahl Pflanzen		Anzahl Pflanzen		Anzahl Pflanzen		Anzahl Pflanzen	
				bereits abgestorben	mit Blattsympt. in % d. vorhandenen	mit verfärbt. Gefässen in % d. geschnittenen	Durchschnittl. Stärke d. Symptome im Rübenkörper	mit Blattsympt. in % d. vorhandenen	mit verfärbt. Gefässen in % d. geschnittenen	Durchschnittl. Stärke d. Symptome im Rübenkörper	
Sand:	34 O <sub>2</sub>	100	++++	14	100	100	+++	100	100	++++	
	5 b	0	0	0	10	33	+	7	73	+	
	Kontr.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Gartenerde:	34 O <sub>2</sub>	96	++	6	100	100	+++	100	100	++++	
	5 b	0	0	0	0	50	+	0	66	+	
	Kontr.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

Da bei dem Vergleich von verschiedenen stark pathogenen Pilzstämmen und insbesondere bei den späteren Versuchen, bei welchen der Einfluss verschiedener Faktoren auf die Krankheit untersucht wurde, nicht nur die Anzahl der erkrankten Pflanzen sondern auch die Stärke der Erkrankung und damit der Krankheitssymptome massgebend sind, waren wir veranlasst, eine einheitliche Methode für die Bewertung der Stärke der Krankheit aufzustellen. Dabei wurden die Krankheitssymptome sowohl im Rübenkörper als auch an den Blättern berücksichtigt. Die Bewertung wurde folgenderweise vorgenommen:

(Das in Klammern Geschriebene bezieht sich auf die Bezeichnung der Stärke der Krankheit bzw. der Symptome im Text.)

Stärke der Symptome im Rübenkörper:

- Keine Verfärbung, gesund.
- (+) Nur Zentralgefäß gelblich bis gelbbraunlich verfärbt (sehr schwach).
- + Zentralgefäß braun verfärbt (leicht bzw. schwach).
- ++ Einige Gefässbündel braun bis schwarz verfärbt (mittelstark).
- +++ Mehr als die Hälfte der Gefässbündel dunkelbraun bis schwarz verfärbt (stark).
- ++++ Alle Gefässbündel dunkelbraun bis schwarz verfärbt (sehr stark).

Stärke der Blattsymptome:

- Normal, gesund.
- + Blattnerven normalgrün und nur die zwischen den feinen Nerven liegenden Partien hellgrün (leicht bzw. schwach).
- ++ Hauptnerven und Nerven 1. Ordnung noch normalgrün, Blattgewebe zwischen denselben gelb; feine Nerven hellbraun (mittelstark).
- +++ Hauptnerven und Nerven 1. Ordnung noch normalgrün, Blattgewebe zwischen denselben unter Braunverfärbung abgestorben (stark).
- ++++ Das ganze Blatt abgestorben (sehr stark).

Es sei noch bemerkt, dass die Stärke der Verfärbung im Rübenkörper zu jeder Zeit einen sicheren Mass-Stab für die Bewertung des Krankheitszustandes darstellt, während eine Begutachtung der Blattsymptome zu einem gegebenen Zeitpunkt uns im allgemeinen keine zuverlässigen Daten über die Stärke der Krankheit vermitteln kann; denn durch Absterben der erkrankten älteren Blätter entziehen sich die stärksten Symptome unserem Auge, so dass bei einer stark erkrankten Pflanze von Zeit zu Zeit verschieden starke Blattsymptome festgestellt werden. Ferner kann eine mittelstark erkrankte Pflanze ebenso starke Blattsymptome zeigen, wie eine andere schwer erkrankte. Der Unterschied zwischen den beiden besteht nämlich nur darin, dass bei der ersteren die Krankheitserscheinungen innerhalb von einigen Wochen ebensoweit fortschreiten, während es bei den letzteren in einigen Tagen geschieht. Aus diesen Gründen könnte die Stärke der Blattsymptome zum Vergleichszwecke und für die Beurteilung der Stärke der Krankheit nur von einer Woche bis zu 10 Tagen nach der Infizierung in Frage kommen, weshalb in Tabelle 8 sowie auch in den später folgenden Tabellen die Stärke der Blattsymptome nur bei der ersten Begutachtung, und zwar eine Woche nach der Infizierung, aufgeführt wurde.

Zweifellos könnte die Anzahl der abgestorbenen Blätter in einem bestimmten Zeitabschnitt auch einen sicheren Mass-Stab für die Bewertung der Krankheitsstärke bilden. In diesem Falle müssten jedoch jeden Tag Begutachtungen vorgenommen werden, um einen eventuellen Fehler, der durch Verfaulen und Verschwinden der abgestorbenen Blätter (besonders bei den kleinen Pflanzen) entstehen könnte, zu vermeiden. Weil aber die Stärke der Symptome im Rübenkörper allein uns eine richtige Bewertung und Beurteilung des Krankheitszustandes gewährt, wurde von der erwähnten Möglichkeit abgesehen.

Es ist ferner zu bemerken, dass die Pflanzen mit einem gelb bis gelbbraunlich verfärbten Zentralgefäße (+) in der Tabelle 8 und auch bei den folgenden Versuchen nicht mehr als erkrankt sondern als gesund angesehen wurden, da solche Verfärbungen auch bei den Kontrollpflanzen im sterilisierten Boden sowie in Wasserkulturen vorkamen, obschon ihre Wurzeln ganz gesund waren.

Bei der Betrachtung der Tabellen 7 und 8 ist festzustellen, dass zwar die ersten Krankheitserscheinungen (in Tabelle 7 in Bezug auf den Wurzelbrand und in 8 in Bezug auf die „Zwarte houtvatenziekte“) in den beiden Versuchsreihen gleichzeitig auftraten aber dann die Pflanzen im Sandboden im allgemeinen noch früher stark erkrankt waren und demzufolge in dieser Reihe noch mehr Pflanzen abstarben als in der zweiten. Dieser Unterschied wäre aber neben der besseren Fruchtbarkeit der Gartenerde, was bei den Kontrollpflanzen deutlich zum Ausdruck kam, auch auf die Tatsache zurückzuführen, dass die Pflanzen in der Gartenerde zur Zeit der Infizierung (besonders bei dem letzten Versuch) kräftiger entwickelt und somit grösser waren, als diejenigen im Sandboden. Aus diesem

Grunde konnten wir nicht mit Sicherheit beurteilen, ob der bessere Stand der infizierten Pflanzen in der 2. Versuchsreihe, welcher besonders gegen Ende des Versuches deutlich zu beobachten war, auf einen Unterschied in Bezug auf die Grösse der Pflanzen zur Zeit der Infizierung oder in Bezug auf die Bodenfruchtbarkeit in den beiden Versuchsreihen zurückzuführen war. Wir waren doch geneigt, diesen Unterschied der Wirkung des letztgenannten Faktors zuzuschreiben, da bei den Feldbeobachtungen eine frühere Erholung der auch schwer erkrankten Pflanzen in den Böden mit besserer Fruchtbarkeit deutlich zu erkennen war. Diese Frage bedürfte jedoch einer näheren Prüfung. Deshalb wurde ein neuer Versuch vorgenommen, bei welchem die Wirkung des Nährstoffgehaltes des Bodens auf die Krankheit untersucht wurde. Wir kamen auf diese Untersuchung aus der Überlegung, dass, wenn die bessere Bodenfruchtbarkeit eine schnellere Erholung der erkrankten Pflanzen zur Folge haben sollte, dann könnte diese Wirkung mehr oder weniger auch durch Düngung erzielt werden.

Zu diesem Versuch fand ein Humussandboden, der bereits Pflanzen getragen hatte und somit an Nährstoffen verarmt war, Verwendung. Der Versuch umfasste drei Reihen und jede Reihe 9 Töpfe, von welchen je 3 mit dem Stamm 34 O<sub>2</sub> bzw. 5b infiziert wurden, während die letzten 3 zur Kontrolle dienten. Den verschiedenen Versuchsreihen wurden folgende Düngermengen pro Topf verabreicht:

1. Reihe: 6 g Natronsalpeter; 6 g Superphosphat und 4 g Kalisalz (40 %).
2. Reihe: 2 g Natronsalpeter; 2 g Superphosphat und 1,5 g Kalisalz (40 %).
3. Reihe: keine Düngung.

Als Versuchstöpfe dienten gewöhnliche Blumentöpfe, welche etwa 3 kg lufttrockenen Boden enthielten. Sie wurden gleich nach der Einarbeitung der Düngergaben mit den Knäueln beschickt. Die aufgelaufenen Pflanzen wurden dann bis auf 8 je Topf vereinzelt. Weil wir bei diesem Versuch nur den Einfluss des Nährstoffgehaltes des Bodens auf die Erholung der Pflanzen von der Krankheit zu untersuchen beabsichtigten, wurde die Infektion 6 Wochen nach der Saat vorgenommen. Es sei noch erwähnt, dass zwischen den Pflanzen der verschiedenen Reihen zur Zeit der Infektion nur ein sehr geringer Unterschied in Bezug auf die Grösse bestand.

Wie bei den früheren Versuchen waren die meisten der mit 34 O<sub>2</sub> infizierten Pflanzen schon in der zweiten Woche stark erkrankt, wobei zwischen den Reihen weder nach den Blattsymptomen noch nach den Symptomen im Rübenkörper (vier Pflanzen von jedem Topf wurden zwei Wochen nach der Infektion geschnitten) ein Unterschied festgestellt werden konnte. Die mit 5b infizierten Pflanzen zeigten gar keine Symptome an den Blättern (ausser Schlappwerden und unter Vergilbung Absterben der älteren Blätter), jedoch ab und zu eine leichte Verfärbung im Zentralgefässbündel. Erst nach der zweiten Woche war zwischen den mit 5b infizierten und den Kontrollpflanzen in allen Reihen ein kleiner Unterschied zu beobachten. Dieser Unterschied verschwand aber wieder einige Woche später in der 1. und 2. Reihe und gegen Ende des Versuches auch in der 3. Reihe. Die meisten mit 34 O<sub>2</sub> infizierten Pflanzen in der 1. und 2. Reihe und rund die Hälfte in der 3. Reihe erholten sich zwar etwa einen Monat nach der Infektion, indem die äusseren Blätter nur noch schwache Krankheitserscheinungen zeigten und erst nach einigen Wochen abstarben; aber viele Pflanzen in der 3. Reihe zeigten immerhin noch stärkere Symptome als diejenigen in den anderen Reihen, so dass sie im Wachstum bis zum Abschluss des Versuches (drei Monate nach der Infektion) im allgemeinen stark hinter den Kontrollpflanzen zurückblieben, während in der

1. und 2. Reihe mit Ausnahme von einzelnen Pflanzen kein deutlicher Unterschied mehr zwischen den infizierten Pflanzen und den Kontrollpflanzen festzustellen war. Dass die Pflanzen in allen Reihen ebenso stark erkrankt waren, bewies beim Abschluss des Versuches das Vorhandensein mittelstarker bis starker Krankheitssymptome im Rübenkörper. Bei den meisten mit 5b infizierten Pflanzen war wiederum nur eine Verfärbung des Zentralgefässes festzustellen, wobei bei ihnen auch kein Zusammenhang zwischen der Düngergabe und dem Vorhandensein einer Verfärbung im Zentralgefäss gefunden werden konnte. Die Wirkung der Düngergabe äusserte sich auch sehr deutlich bei den Kontrollreihen, indem die Kontrollpflanzen in der 3. Reihe viel kleiner blieben als in den übrigen Reihen, während zwischen den Kontrollpflanzen der 1. und 2. Reihe kein deutlicher Unterschied zu beobachten war.

Aus den Ergebnissen dieser Versuche geht hervor, dass die Güte des Bodens (soweit es sich um die chemischen und physikalischen Eigenschaften derselben handelt; denn die Mikroorganismen fehlen) die Stärke des Befalles sowie der Krankheit nicht direkt beeinflusst, sondern, dass sie vielmehr den Pflanzen die Überwindung der Krankheit und eine schnellere Erholung von derselben ermöglicht.

Bei einem weiteren Infektionsversuch wollten wir untersuchen, ob der hochpathogene Stamm 34 O<sub>2</sub> die Seitenwurzeln der Rübe noch stärker zu befallen vermag, als andere Stämme von *P. irregulare* und *P. de Baryanum*. Zu diesem Zweck wurden bereits bei den letzten Versuchen die Wurzeln der mit verschiedenen Stämmen infizierten Pflanzen untereinander verglichen. Alle infizierten Pflanzen wiesen zwar braunverfärbte Seitenwurzeln auf; aber über die Stärke des Befalles in den verschiedenen Infektionsserien konnte im allgemeinen nicht etwas Sicheres gesagt werden, obschon bei den mit *P. de Baryanum* infizierten Pflanzen noch weniger gebräunte bzw. abgestorbene Wurzeln festzustellen waren als bei den Pflanzen in den übrigen Infektionsserien, weil ein ziemlich grosser Verlust an Seitenwurzeln beim Ausgraben sowie Waschen der Pflanzen unvermeidlich war. Es wurde deshalb ein neuer Versuch in Wasserkulturen angesetzt. In diesem Versuch waren 24 Gefässe und in jedem Gefäss 3 Pflanzen vorhanden. Zur Infektion fanden neben den Stämmen 34 O<sub>2</sub>, 5b, 5d und *P. de Baryanum* ein anderer *P. irregulare*-Stamm, 130 C, aus Baarn (isoliert von Erbsen) Verwendung. Die Versuchspflanzen waren 6 Wochen alt. Mit der Einbeziehung des Stammes 130 C war beabsichtigt zu untersuchen, inwieweit andere *P. irregulare*-Stämme die Seitenwurzeln der Rübe zu befallen bzw. die „Zwarte houtvatenziekte“ zu verursachen vermochten.

Die Seitenwurzeln aller infizierten Pflanzen waren bereits nach einer Woche zum Teil braun verfärbt, und zwar in den Infektionsreihen mit den Stämmen 5d, 5b und *P. de Baryanum* etwas stärker als in den Reihen mit 130 C und 34 O<sub>2</sub> (Tab. 9). Die Befallstärke, also die Anzahl der verfärbten Wurzeln, blieb jedoch bei den mit 130 C und *P. de Baryanum* infizierten Pflanzen bis zum Abschluss des Versuches ungefähr auf der gleichen Höhe, sogar ging sie bei den Letztgenannten etwas zurück, indem die meisten der neugebildeten Wurzeln von der Infektion verschont blieben, während sie bei den mit 34 O<sub>2</sub>, 5b und 5d infizierten Pflanzen schnell zunahm, sodass fast alle Wurzeln schon nach zwei Wochen braun verfärbt waren und viele davon zugrunde gingen. Ihr Absterben hatte die Neubildung von Seitenwurzeln zur Folge, die dann meistens immer wieder einer neuen Infektion zum Opfer fielen. Die Kontrollpflanzen besaßen dagegen kräftig entwickelte gesunde Seitenwurzeln.

TABELLE 9

Vergleichende Infektionsversuche mit vier *P. irregulare*-Stämmen und einem *P. de Baryanum*-Stamm in Wasserkulturen (12 Pflanzen pro Serie)

Pythium-Stamm.	1 Woche nach Infizierung			4 Wochen nach Infizierung		
	Anzahl Pflanzen mit verfärbt. Gefässen in % d. geschnittenen	Durchschn. Stärke		Anzahl Pflanzen mit verfärbt. Gefässen in % d. geschnittenen	Durchschn. Stärke	
		der Symptome im Rübenkörper	des Seitenwurzelbefalles <sup>1)</sup>		der Symptome im Rübenkörper	des Seitenwurzelbefalles <sup>1)</sup>
130 C . . . . .	0	-	+	0	-	+
<i>P. de B.</i> . . . . .	0	-	+ / ++	25	+	+
5 d . . . . .	0	-	+/+++	62	+	+++
5 b . . . . .	0	-	+ / ++	50	+	+++
34 O <sub>2</sub> . . . . .	100	++	+	100	+++	+++
Kont. . . . .	0	-	-	0	-	-

<sup>1)</sup> +: Ein geringer Teil der Seitenwurzeln gebräunt; ++++: Alle Seitenwurzeln dunkelbraun verfärbt bzw. abgestorben.

Die typischen Symptome der „Zwarte houtvatenziekte“ traten wiederum nur bei den mit 34 O<sub>2</sub> infizierten Pflanzen auf, und zwar bereits am dritten Tage, während solche bei keiner von den mit anderen Stämmen infizierten Pflanzen festgestellt werden konnte. Jedoch blieben alle infizierten Pflanzen mehr oder weniger im Wachstum zurück, so dass von der zweiten Woche ab ein deutlicher Unterschied zwischen den Kontrollpflanzen und den infizierten Pflanzen zu beobachten war. Dieser Unterschied war am geringsten in den Infektionsreihen mit den Stämmen 130 C und *P. de Baryanum*, am grössten bei den mit 34 O<sub>2</sub> infizierten Pflanzen, während die Infektionsreihen mit 5b und 5d eine Mittelstellung einnahmen. Die mit dem Stamm 34 O<sub>2</sub> infizierten Pflanzen konnten überhaupt nicht weiter wachsen. Ihre Blätter starben unter Braunverfärbung fortwährend ab, so dass sie nur noch wenige, kleine Blätter besaßen (Taf. 3, Abb. 7). Bei allen infizierten Pflanzen trat ferner eine leichte Chloroseerscheinung auf, wie bei dem früheren Infektionsversuch in der Wasserkultur beschrieben wurde (s.S. 22). Sie war besonders leicht in den Infektionsreihen mit den Stämmen 130 C sowie *P. de Baryanum*. Interessant war es, dass die gleiche Chloroseerscheinung auch an den Herzblättern der meisten Pflanzen in der Infektionsreihe mit dem hochpathogenem Stamm 34 O<sub>2</sub> zu beobachten war, und zwar ebenso stark wie bei den Reihen mit 5b und 5d. Diese Tatsachen bekräftigen unsere Annahme, nach welcher diese Chlorose auf eine direkte Beschädigung der Seitenwurzeln infolge des Pilzbefalles und damit auf einen künstlich herbeigeführten Nährstoffmangel zurückgeführt wurde (s.S. 23).

Von den 12 Versuchspflanzen in jeder Infektionsreihe bzw. Kontrollreihe wurden 4 eine Woche und die übrigen 8 vier Wochen nach der Infizierung geschnitten. Wie aus der Tabelle 9 ersichtlich ist, konnte der Stamm 34 O<sub>2</sub> schon bei einem schwachen Seitenwurzelbefall mittelstarke Symptome der „Zwarte houtvatenziekte“ verursachen, während die Stämme 5b und 5d auch bei einem starken Befall der Seitenwurzeln bei rund 55 % der Pflanzen nur eine Verfärbung des Zentralgefässes hervorzurufen vermochten. Die Stämme 130 C und *P. de Baryanum* konnten zwar die Seitenwurzeln befallen, jedoch waren sie praktisch nicht



B

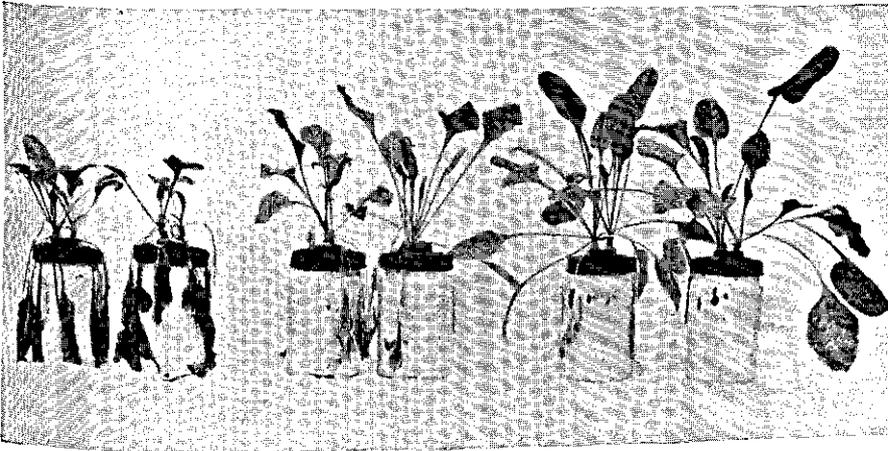


Abbildung 7. Infektionsversuche mit 6 Wochen alten Futterrübenpflanzen. A: Eine Woche nach der Infizierung: rechts Kontrollpflanzen; links infiziert mit dem hochpathogenen Stamm 34 O<sub>2</sub>.  
 B: 3 Wochen nach der Infizierung, v.r.n.l. 2 Kontrollgefäße, 2 Gefäße infiziert mit dem schwachpathogenen Stamm 5b und 2 Gefäße infiziert mit dem hochpathogenen Stamm 34 O<sub>2</sub>.

TAFEL 4

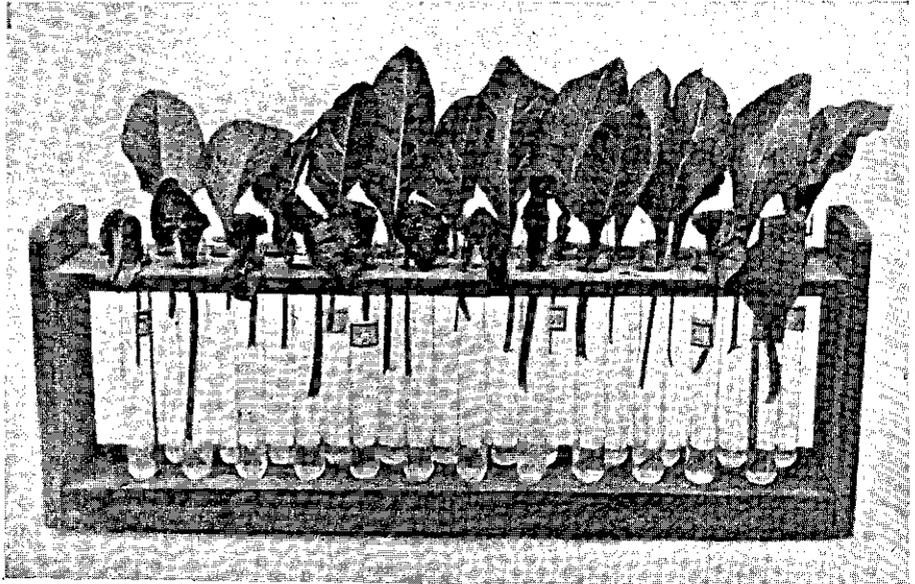


Abbildung 8. Blatt-Test mit Futterrüben im Kulturfiltrat des hochpathogenen Stammes 34 O<sub>2</sub> (erste Reihe). Hintere Reihe: Kontrollblätter in Knop'scher Nährlösung + 1 % Saccharose, 48 Std. nach Versuchsbeginn, 3 Konzentrationen zu je 4 Blättern v.l.n.r. 1<sup>-1</sup>, 10<sup>-1</sup>, 10<sup>-2</sup>.

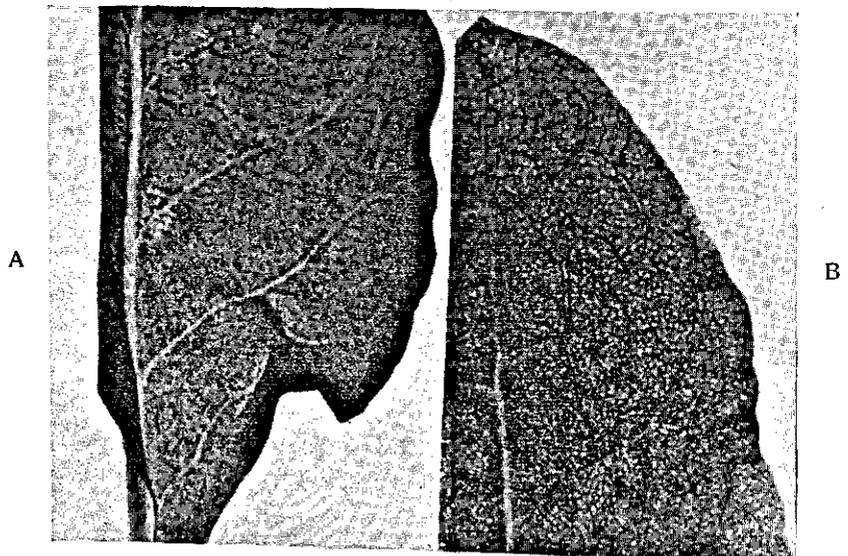


Abbildung 9. Blatt-Test mit Futterrüben im Kulturfiltrat des hochpathogenen Stammes 34 O<sub>2</sub>. Konzentration des Kulturfiltrates 10<sup>-2</sup>, photographiert 48 Std. nach Versuchsbeginn. A. Nekrotische Pünktchen, B. Nervennekrose.

imstande, die „Zwarte houtvatenziekte“ zu verursachen. Der Infektionsversuch in Wasserkulturen wurde mit den Stämmen 34 O<sub>2</sub> und 5b zweimal wiederholt. Die Ergebnisse blieben unverändert.

Dieser Versuch zeigte deutlich, dass wir zwei Krankheiten der Rübe, welche durch den Befall der Seitenwurzeln von *Pythium irregulare* verursacht werden, zu unterscheiden haben, und zwar eine Seitenwurzelerkrankung und die sogenannte „Zwarte houtvatenziekte“. Die letztere wird, wie vielfach erwähnt wurde, durch die von dem Pilz (34 O<sub>2</sub>) ausgeschiedenen Toxinstoff hervorgerufen, wobei der Befall der Seitenwurzeln nur einen geringen Anteil haben dürfte, während die erstere durch den Befall der Seitenwurzeln von dem Pilz (130 C) verursacht wird. Die Stämme 5b und 5d müssten nach den Ergebnissen der bisherigen Infektionsversuche zuerst als Erreger der Seitenwurzelerkrankung und dann der „Zwarte houtvatenziekte“ angesehen werden, und zwar starkpathogen in Bezug auf die erstere Krankheit und schwachpathogen in Bezug auf die letztere.

In diesem Zusammenhang sei darauf hingewiesen, dass die Stämme von *Pythium irregulare* hinsichtlich der „Zwarte houtvatenziekte“ ein praktisches Beispiel für die Unterscheidung der Begriffe Aggressivität oder Befallsenergie und Pathogenität darstellen, und zwar in dem Sinne, dass die beiden Begriffe in diesem Falle nicht parallel gehen.

Die Aggressivität wird von GAÜMANN (23; S. 263) folgendermassen beschrieben: „Unter Aggressivität oder Befallsenergie verstehen wir die Fähigkeit eines Erregers, seinen Wirt anzugreifen (ihn zu infizieren), ihn zu bewohnen (in ihm zu leben), seine Widerstand zu überwinden, ihn zur eigenen Ernährung zu benützen und sich in oder auf ihm zu vermehren.“ In dieser Hinsicht besteht zwischen den betreffenden Stämmen kein wesentlicher Unterschied. Sie vermögen die Seitenwurzeln der Rübe gleich stark zu befallen, was an den dunkelbraun werdenden und absterbenden Seitenwurzeln sehr deutlich zu erkennen ist. Dagegen weisen sie in Bezug auf die Pathogenität, unter welcher wir die krankmachende Fähigkeit eines Erregers verstehen (22, 23), einen grossen Unterschied auf (so weit es sich um die „Zwarte houtvatenziekte“ und damit um das charakteristische Krankheitsbild an den Blättern und die Verfärbung der Holzgefässe handelt). Dies beruht, wie die Infektionsversuche und die Versuche mit den Stoffwechselprodukten der betreffenden Stämme zeigen (s.S. 26 u. 36), auf das unterschiedliche Toxinbildungsvermögen derselben.

Die von GAÜMANN, NAEF-ROTH und MIESCHER (23) mit einem schwach- bzw. hochpathogenen *Fusarium lycopersici*-Stamm durchgeführten Versuche ergaben, dass die Pathogenität *in vivo* und die Toxigenität *in vitro* bei den betreffenden zwei *Fusarium*-Stämmen im umgekehrten Verhältnis zu einander standen. Im Gegensatz zu ihrer Feststellung besteht bei den untersuchten 26 Stämmen von *Pythium irregulare* immer ein Parallelismus zwischen der Pathogenität *in vivo* und der Toxigenität *in vitro* (s.S. 36 und vgl. BRANDENBURG (8)).

Wie frühere Infektionsversuche deutlich zeigten, verursachen zwar die Stämme 5b und 5d in Wasserkulturen grosse Schäden, welche aber mit dem Alter der zur Infektion verwendeten Pflanzen an Bedeutung abnehmen. So können z.B. weder die betreffenden Stämme noch der hochpathogene Stamm 34 O<sub>2</sub> bei den 3 Monate alten Pflanzen, welche erst 6 Wochen nach der Überbringung in die Wasserkultur beimpft wurden und deshalb zur Zeit der Infizierung über ein kräftig entwickeltes Wurzelsystem verfügten, keine merklichen Schäden an den Seitenwurzeln herbeiführen. Lediglich war nur eine leichte Bräunung festzustellen, welche sehr beschränkt blieb. Der Stamm 34 O<sub>2</sub> konnte jedoch auch bei einem solchen schwachen

Befall leichte bis mittelstarke Symptome der „Zwarte houtvatenziekte“ zustandebringen.

Die weiteren Infektionsversuche in dem sterilisierten und nichtsterilisierten Boden (es handelt sich um einen Humussandboden, auf welchem die „Zwarte houtvatenziekte“ nicht vorkam) zeigten, dass der Stamm 5b auch bei den 4 Wochen alten Pflanzen im nichtsterilisierten Boden gar keine Schäden zu verursachen vermöchte, während die mit 34 O<sub>2</sub> infizierten Pflanzen auch hier an „Zwarte houtvatenziekte“ erkrankt waren und demzufolge den Kontrollpflanzen gegenüber im Wachstum zurückblieben; jedoch war die Erkrankung nicht so stark, wie im sterilen Sandboden. Wir dürfen aus dieser Tatsache schliessen, a) dass der Seitenwurzelerkrankung in der Praxis keine grosse Bedeutung beizumessen ist; b) dass die beiden mit sterilem Boden durchgeführten Infektionsversuchen erzielten Resultate nicht ohne weiteres auf die Praxis übertragen werden können, wenn es sich bei dem Krankheitserreger um einen Bodenparasit handelt (14, 21, 36, 43). Es sei hierbei noch erwähnt, dass der Unterschied der Versuchsergebnisse im sterilisierten und nichtsterilisierten Boden auf die antagonistische Wirkung der im Boden vorhandenen Mikroorganismen zurückzuführen ist (37).

#### E. UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE TOXISCHEN STOFFWECHSELPRODUKTE DER *Pythium*-ARTEN BZW. -STÄMME

Es sind in der Literatur verschiedene Fälle bekannt, bei welchen die Stoffwechselprodukte des Pilzes bei bestimmten Kulturpflanzen auf die Wirtszelle giftig wirken und bestimmte Krankheitserscheinungen hervorrufen. So lösen z.B. die toxischen Stoffwechselprodukte von *Pythium de Baryanum* Hesse eine tödliche Wirkung in den Zellen von Kartoffeln aus (29); die von *Fusarium lycopersici* Sacc. rufen die bekannte Welkekrankheit der Tomaten (17), und die von *Stereum purpureum* die Milchglanz-Krankheit der Obstbäume (10, 27) hervor. Die toxische Wirkung der Stoffwechselprodukte von *Pythium irregulare* Buisman ist nur aus den Untersuchungen von BRANDENBURG (6, 8, 9) bekannt.

Wie bereits in der Einleitung angedeutet wurde, ist die „Zwarte houtvatenziekte“ zum ersten Male von BRANDENBURG (6) untersucht worden. Da er in den dunkelbraunverfärbten Gefässen und in den erkrankten Blättern keinen Pilz feststellen konnte, vermutete er, dass die Krankheitserscheinungen durch die von dem Pilz abgeschiedenen toxischen Stoffwechselprodukte, welche von den befallenen Seitenwurzeln mit dem Transpirationsstrom in die Blätter gelangen, verursacht werden dürften. Es gelang ihm dann durch Hinzufügen von Stoffwechselprodukten des Pilzes, welche durch das Wachsen desselben während 2–3 Wochen in einer synthetischen Nährlösung gewonnen wurden, in die Nährlösung der Futterrüben in Wasserkulturen die Richtigkeit dieser Annahme nachzuweisen. An den Blättern wiesen nach 2–3 Wochen 40–90% der Pflanzen braunverfärbte Zentralgefässe auf. Bei den Pflanzen in den Kontrollgefässen, die die gleiche Menge einer  $\frac{1}{2}$  Stunde lang gekochten Kulturflüssigkeit bekamen, konnte keine solche Verfärbung in den Zentralgefässen festgestellt werden.

Später verwendete BRANDENBURG (8) für die Prüfung der *P. irregulare*-Stämme auf ihre Toxigenität Futterrübenblätter, welche in die in der oben erwähnten Weise gewonnene Kultur-Nährlösung gesetzt wurden. Die Blätter wurden nur eine kurze Zeit (25 Minuten) in diesen Toxinlösungen mit verschiedener Verdünnung von 10<sup>-1</sup> bis 10<sup>-3</sup> oder 10<sup>-4</sup> gelassen, da sonst ein störendes Welken auftrat.

Aus den Wurzeln kranker Futterrüben von verschiedenen Feldern isolierte BRANDENBURG 15 *P. irregulare*-Stämme, von welchen sich im Infektionsversuch 6 als stark- und 9 als schwach- bzw. nichtpathogen erwiesen hatten. Mit Hilfe des Blatt-Testes konnte er nachweisen, dass die Unterschiede in der Pathogenität der 15 Stämme auf die Verschiedenheit in der Toxinproduktion beruhen. Nach BRANDENBURG sollen alle Stämme zwar gewisse Stoffwechselprodukte in etwa gleicher Quantität in die Nährlösung ausscheiden, die aber in ihrer toxischen Auswirkung auf die Zellen der Wirtspflanze verschieden sind, was sowohl im Infektionsversuch als auch im Blatt-Test durch die krassen Unterschiede zum Ausdruck kam. Er stellte ferner fest, dass diese Unterschiede nicht nur hinsichtlich der an die Nährlösung abgegebenen Stoffe, sondern auch für das Plasma der Pilze selbst gelten. So zeigte ausser der Nährflüssigkeit auch die Myzeldecke nach ihrer Zermahlung und Aufnahme in einer dem Volumen der Nährflüssigkeit entsprechenden Menge Wasser etwa dieselbe toxische Wirkung, und zwar sowohl in qualitativer als auch in quantitativer Hinsicht.

In der vorliegenden Arbeit beschränkten wir uns auf die Gewinnung der Stoffwechselprodukte von verschiedenen *Pythium*-Arten bzw.-Stämmen, welche dann in Wasserkulturen bzw. nach dem Blatt-Test auf ihre Toxizität geprüft wurden. Als Nährsubstanz für das Wachstum des Pilzes wurde die Nährlösung nach KNOP mit 1 % Saccharose verwendet. Der Pilz entwickelte sich in dieser sehr gut und bildete innerhalb von 2 Wochen eine ziemlich dicke Myzeldecke. In der Regel wurde diese nach 2-3 Wochen entfernt und die Flüssigkeit durch Jenaglasfilter No 3 filtriert.

Die Prüfung der Toxizität der Filtrate, indem der Nährlösung der Versuchspflanzen in Wasserkulturen ein bestimmter Prozentsatz von den betreffenden Filtraten, nämlich 1-5-10-25 %, beigegeben wurde, erwies sich als ungeeignet. Denn infolge der hohen Konzentration an Saccharose in den Reihen mit 10 und 25 % Filtrat siedelten sich auch in den Kontrollgefässen mit 1 % Saccharose ohne Kulturfiltrat verschiedene Pilze an, wobei die äusseren Blätter der Pflanzen in den betreffenden Gefässen unter Vergilbung abstarben, ohne die typischen Symptome der „Zwarte houtvatenziekte“ zu zeigen. Zwar konnte schon nach 3 Tagen bei den meisten Pflanzen eine Dunkelbraunverfärbung der Zentralgefässe festgestellt werden, jedoch kamen solche Verfärbungen auch ab und zu bei den Kontrollpflanzen vor. In den Reihen mit 1 und 5 % Filtrat-Zugabe war gar keine oder nur selten eine Verfärbung im Rübenkörper zu beobachten. Dieser Nachteil könnte wohl beseitigt werden, wenn man die Stoffwechselprodukte im Kulturfiltrat mit 6/10 gesättigter Ammoniumsulfatlösung ausfällt (8, 9) und diesen Niederschlag nach der Auflösung im Wasser zur Wasserkultur hinzufügt. Da aber der Blatt-Test sich als eine sehr gute Methode für die Prüfung der Toxizität von Kulturfiltraten erwies, wurde dann nur nach dieser Methode gearbeitet.

#### 1. Versuche mit den Kulturfiltraten von *Pythium*-Stämmen nach der Blatt-Testmethode

Diese Versuche wurden bei einer Zimmertemperatur von 20-22 °C und einer relativen Luftfeuchtigkeit von etwa 55 %-65 % im allgemeinen mit vier verschiedenen Verdünnungen (100-25-10 und 1 %) durchgeführt und einige Male wiederholt. Hierfür wurden Futterrübenblätter möglichst von gleichem Altersstadium verwendet, und zwar 4 Blätter je Verdünnungsreihe. Zur Kontrolle diente KNOP'sche Nährlösung + 1% Saccharose, die entsprechend verdünnt worden

war. Die Dauer der Versuche war durch Schlappwerden der Kontrollblätter am dritten Tage begrenzt, so dass sie in der Regel nach 2–3 Tagen abgeschlossen wurden.

Von den untersuchten Kulturfiltraten der 26 *P. irregulare*-Stämme und des *P. de Baryanum*-Stammes vermochten nur 10 schwache bis starke und 17 gar keine Krankheitserscheinungen an den Blättern auszulösen, wobei diese Ergebnisse mit den Resultaten der Infektionsversuche vollkommen übereinstimmten. So erwiesen sich die Kulturfiltrate des hochpathogenen Stammes 34 O<sub>2</sub> als stark, die von 5b sowie 5d als schwach und die von 130 C und *P. de Baryanum* als nicht-toxisch, während der Stamm L<sub>2</sub> hinsichtlich der Toxizität des Kulturfiltrates eine Mittelstellung zwischen den erstgenannten Stämmen einnahm. In der Tabelle 10 werden die Versuchsergebnisse von einigen Stämmen mit verschiedenem Toxigenitäts-Grade aufgeführt. Wie auf dieser Tabelle festzustellen ist, stehen die auf synthetischer Nährlösung ausgeschiedenen Stoffwechselprodukte der betreffenden Stämme (34 O<sub>2</sub> : L<sub>2</sub> : 5b und 5d) hinsichtlich der Toxizität in einem Verhältnis ungefähr von 1 : 10 : 100 zueinander.

Es sei hierbei erwähnt, dass das Kulturfiltrat von dem Stamm 5b bei der ersten Untersuchung im Blatt-Test eine mittelstarke Toxizität aufwies, welche dem Kulturfiltrat von L<sub>2</sub> gleichkommt, so dass es auch bei einer Verdünnung von  $\frac{1}{100}$  noch leichte Symptome an den Blättern hervorbrachte. Der betreffende Stamm hat aber im Verlaufe von einigen Monaten seine Pathogenität bzw. Toxigenität zum Teil eingebüsst, denn, obschon er in dem ersten Infektionsversuch eine mittelstarke Pathogenität (s.S. 19) und zu gleicher Zeit auch im Blatt-Test eine gleich starke Toxigenität aufwies, konnte diese später weder in den mehrmals wiederholten Infektionsversuchen noch im Blatt-Test nachgewiesen werden. Da wir nicht mit einer Zoosporen-Kultur arbeiteten, dürfte auch angenommen werden, dass es sich eventuell bei der Kultur zunächst um eine Mischung mit einem hoch- und schwachpathogenen Stamm handelte und bei weiteren Überimpfungen der nur schwachpathogene Stamm in der Kultur zurückblieb. Diese Möglichkeit scheint uns weniger wahrscheinlich zu sein, weil BRANDENBURG (8) auch von einem ähnlichen Fall berichtet. Zwei von ihm isolierte Stämme 15 b<sup>11</sup> und 16b<sub>2</sub> verloren nämlich im Laufe der Zeit ihre hohe Pathogenität, und zwar erstere nach einigen Jahren und letztere nach 3 Monaten.

Die im Blatt-Test durch die toxischen Stoffe der schwach und stark pathogenen Stämme verursachten Krankheitserscheinungen sind im Grunde genommen dieselben, welche bei den Infektionsversuchen auftreten; jedoch ist infolge starker Konzentration der toxischen Ausscheidungsprodukte im Kulturfiltrat die Wirkung derselben in den Blättern eine viel stärkere, als es normalerweise beim Infektionsversuch der Fall war. Dadurch konnten auch schwachpathogene Stämme, welche in den Infektionsversuchen keine oder nur ab und zu Krankheitssymptome an den Blättern aber in den meisten Fällen solche im Rübenkörper hervorzubringen vermochten, durch ihre Kulturfiltrate im Blatt-Test bei einer Konzentration von 100–25 % eine Erkrankung der meisten Blätter herbeiführen. So tritt auf dem unverdünnten Kulturfiltrat des hochpathogenen Stammes 34 O<sub>2</sub> bereits nach ca. 10 Stunden eine leichte Nervennekrose auf, wobei sich dann Hauptnerven und Nerven 1. Ordnung braunverfärben und demzufolge das Blatt innerhalb von 24 Stunden zusammenschrumpft und abstirbt (Taf. 4, Abb. 8), welche Erscheinung auch in den Infektionsversuchen mit demselben Stamm bei den jungen Pflanzen sehr oft zu beobachten war. In diesem Falle werden die Leitbündel der grösseren Nerven (Hauptnerven und Nerven 1. Ord.) durch die starke Toxinzufuhr in kurzer

TABELLE 10

*Die Wirkung der Kulturfiltrate der stark-, schwach- und nichtpathogenen  
Pythium-Stämme im Blatt-Test*

Bezeichnung des Stammes	Konzent. des Filtrates	Symptome	
		nach 24 Stunden	nach 48 Stunden
34 O <sub>2</sub> :	100 %	Zusammengeschrumpft; Hauptnerven und Nerven 1. Ordnung braun	Dasselbe
	25 %	Schlapp, alle feine Nerven dunkelverfärbt	Die meisten Blätter zusam- mengeschrumpft. Hauptner- ven und Nerven 1. Ordnung braun
	10 %	Feine Nerven dunkelver- färbt; dunkelgrün bis braune nekrotische Pünkt- chen	Alle Nerven, ausser den Hauptnerven, und ein Teil des Parenchyms braun
	1 %	Die meisten Blätter nor- mal; nekrotische dunkel- grüne Pünktchen	Feine Nerven dunkelgrün bis braun; kleine braune nekrotische Flecken
L <sub>2</sub> :	100 %	Feine Nerven dunkelver- färbt; dunkelgrüne nekro- tische Pünktchen	Alle Nerven, ausser den Hauptnerven und Nerven. 1. Ordnung braun; grosse braune nekrotische Flecken
	25 %	Dunkelgrüne nekrotische Pünktchen	Feine Nerven dunkelver- färbt; kleine braune nekro- tische Flecken
	10 %	Normal	Feine Nerven dunkelver- färbt; kleine dunkelgrüne bis braune, nekrotische Flecken
	1 %	Normal	Die meisten Blätter normal; nekrotische, dunkelgrüne Pünktchen
5 d:	100 %	Normale bis feinste Nerven dunkelverfärbt	Feine Nerven braun; kleine bis grosse nekrotische Flek- ken
	25 %	Normal	Feine Nerven dunkelver- färbt; dunkelgrün bis brau- ne Pünktchen
	10 %	Normal	Normal
	1 %	Normal	Normal
130 C:	100 %	Normal	Normal bis etwas schlapp
	25 %	Normal	Normal bis etwas schlapp
	10 %	Normal	Normal
	1 %	Normal	Normal
Kontrolle:	100 %	Normal	Normal bis etwas schlapp
	25 %	Normal	Normal bis etwas schlapp
	10 %	Normal	Normal
	1 %	Normal	Normal

Zeit ausser Funktion gesetzt und mit einer dunklen Substanz verstopft, so dass ein weiterer Wasser- und damit auch Toxinaufstieg unterbleibt, wodurch das Blatt unter Wassermangel welkt und zusammenschrumpft, bevor die feineren Nerven

sich braunverfärben. Dass hier tatsächlich eine Verstopfung der Leitbündel zugrunde lag, konnte dadurch bewiesen werden, indem unter Druck (60 cm) durch die Stiele solcher Blätter zugeführtes Wasser, welches mit Eosin gefärbt war, innerhalb 16 Stunden bis etwa zur Mitte der Hauptnerven und Nerven 1. Ord. aufstieg, während es schon nach 1,5 Stunden an den letzten Leitbündelendigungen des Kontrollblattes mit blossem Auge festzustellen war. Dieses schnelle Welken der Blätter auf unverdünntem Kulturfiltrat von dem Stamm 34 O<sub>2</sub> kann dadurch vermieden werden, indem die Blätter nur eine kurze Zeit ( $\frac{1}{2}$  Stunde) in diesem belassen und dann in Leitungswasser gebracht werden. Bei dieser Methode tritt zwar die Nervennekrose sehr deutlich hervor aber nur mit dem Kulturfiltrate von 34 O<sub>2</sub>, während eine solche Nekrose mit den Kulturfiltraten von schwachpathogenen Stämmen unterbleibt. Deshalb eignet sich diese Methode zum Vergleich von schwach- und starkpathogenen Stämmen nicht so gut. Eine starke Verdünnung des Kulturfiltrates, wobei die Blätter fortwährend in diesem belassen werden, hat aber den gleichen Effekt, so dass dann mit Hilfe verschiedener Verdünnungsreihen die Stärke der Toxizität der Stoffwechselprodukte von verschiedenen Stämmen deutlich festgestellt werden kann.

Auf den unverdünnten Kulturfiltraten der schwachpathogenen Stämme sowie verdünnten ( $10^{-1}$  bis  $10^{-2}$ ) Kulturfiltraten des hochpathogenen Stammes 34 O<sub>2</sub> tritt neben den gewöhnlichen Krankheitssymptomen (Dunkelverfärbung der feinen Blattnerven und gleichzeitige Aufhellung der Blattgewebe) häufig ein anderes Symptom auf, welches bereits früher (S. 5) beschrieben wurde, nämlich, es entstehen zunächst sehr kleine, dunkelgrüne, nekrotische Flecken, die sich schon nach einer kurzen Zeit braunverfärben (Taf. 4, Abb. 9, A.). In der Regel schliessen sich diese Pünktchen am folgenden Tag zusammen, wobei dann gewöhnlich eine netzartige Nervennekrose in Erscheinung tritt. Dieser Vorgang geht meistens am ganzen Blatt gleichmässig vor sich, jedoch nehmen diese Flecken manchmal stellenweise an Grösse zu, indem das umliegende Parenchym sich auch braunverfärbt und somit die kleinen Flecken zusammenfliessen, wobei dann grössere nekrotische Flecken zustande kommen.

Die mikroskopischen Untersuchungen zeigten, dass es sich bei den braunen nekrotischen Pünktchen um die Leitbündelendigungen handelt. Bei den braunverfärbten Nerven scheinen die Gefässe mit einer braunen Masse gefüllt und die Parenchymscheiden sowie die zunächstliegenden Zellen, deren Wände und Inhalte braunverfärbt sind, abgestorben zu sein. Die Aufhellung des zwischen den Nerven liegenden Blattgewebes beruht auf der Zerstörung des Chlorophylls in den Parenchymzellen. Während die Chlorophyllkörner bei einem gesunden Blatt an den Wänden der Parenchymzellen angeordnet sind, liegen sie in den Zellen des kranken Blattes unregelmässig verteilt. Zum Teil haben sie ihre grüne Farbe verloren. Bei einer vollständigen Zerstörung und Vergilbung der Chlorophyllkörner wird das betreffende Gewebe gelb und stirbt später unter Braunverfärbung ab.

Es sei noch darauf hingewiesen, dass die Blätter von verschiedenem Altersstadium den Toxinstoffen gegenüber unterschiedlich reagieren. So sind besonders die Herzblätter unempfindlich. Im allgemeinen sind die Kulturfiltrate von schwachpathogenen Stämmen nicht imstande, eine Erkrankung der Herzblätter herbeizuführen. Bei dem Kulturfiltrat des hochpathogenen Stammes 34 O<sub>2</sub> tritt zwar die Nervennekrose auf, jedoch nur bis zu einer Verdünnung von  $10^{-1}$ . Diese Tatsache erklärt, warum die Herzblätter in den Infektionsversuchen sowie auf dem Felde in der Regel symptomfrei blieben und eine Erkrankung derselben nur bei den jungen und stark befallenen Pflanzen vorkam.

## 2. Über die Natur der toxischen Stoffe

Beim Filtrieren der Kultur-Nährlösung durch Jenaglasfilter No 3 bleibt die Toxizität derselben vollkommen erhalten. Jedoch büsst die Kultur-Nährlösung nach der Filtration durch Chamberlainfilter No 5 und No 7 stark an Toxizität ein, so dass nun die Kulturfiltrate des hochpathogenen Stammes 34 O<sub>2</sub> im Blatt-Test schwachtoxisch und der schwachpathogenen Stämme nichttoxisch wirken. Wahrscheinlich sind die Moleküle des Toxinstoffes, bei welchem es sich um ein Eiweiss handeln soll (8) zu gross, um durch die Poren des Filters hindurchzugehen, so dass nur Bruchteile derselben ins Filtrat gelangen oder aber die Toxinstoffe werden wegen der grossen Oberfläche von dem Filter weitgehend adsorbiert. Durch Kochen wird das Toxin zerstört; jedoch wirken  $\frac{1}{2}$  Stunde bei 100 °C gekochte Filtrate des Stammes 34 O<sub>2</sub> im Blatt-Test immer noch, wenn auch schwach, toxisch. Das Toxin lässt sich aus Kulturfiltraten durch Aussalzung mit  $\frac{6}{10}$  gesättigter Ammoniumsulfatlösung gewinnen und in trockener Form aufbewahren (BRANDENBURG (8)). Das Toxin konnte aus den erkrankten Blättern nicht zurückgewonnen werden; offenbar wird es im Blatt aufgebraucht.

Auf die Natur der toxischen Stoffe, welche BRANDENBURG in seinen Veröffentlichungen (8, 9) ausführlich behandelt, wollen wir nicht weiter eingehen, da es im Rahmen dieser Arbeit zu weit führen würde. Es sei aber nur noch folgende Frage erörtert:

### C. KÖNNEN DIE TOXINSTOFFE VON *Pythium irregulare* ALS VIREN ANGESEHEN ODER DEN VIREN GLEICHGESTELLT WERDEN?

Nach dem bisher Gesagten scheint, wie auch BRANDENBURG (8) erwähnt, zwischen diesen Toxinstoffen und den Viren eine grosse Ähnlichkeit zu bestehen, und zwar sowohl in Bezug auf ihre Natur als auch in ihrer Wirkung auf die Wirtspflanze. So konnte BRANDENBURG durch Übertragungsversuche von Stoffwechselprodukten von einem hochpathogenen Stamm auf die 10 nicht- bzw. schwachpathogenen Stämme beweisen, dass die Pathogenität der nicht- bzw. schwachpathogenen Stämme in dem Masse verändert wird, dass sie nunmehr wie ein starkpathogener Stamm wirken. (Es wurden nur 5 Stämme hochpathogen bzw. starktoxisch, während bei den übrigen 5 Stämmen keine Veränderung in der Pathogenität festgestellt werden konnte.) Diese Veränderung im pathogenen Verhalten, die auch nach mehrmaliger Übertragung auf neue Nährboden erhalten blieb, konnte sowohl im Infektionsversuch als auch im Blatt-Test bestätigt werden.

Wie kann diese Tatsache erklärt werden? Sollte der Toxinstoff in den Myzelien von schwachpathogenen Stämmen eine Mutation auslösen? Oder sollte es sich bei diesem Toxinstoff um ein Virus handeln, welches nur auf bestimmten Pilzstämmen, in unserem Falle auf *P. irregulare*-Stämmen, vorkommt?

Das Auftreten einer Mutation bei 5 verschiedenen Stämmen in einer und derselben Richtung scheint uns weniger wahrscheinlich zu sein. Wenn wir annehmen, dass es sich bei dem betreffenden Giftstoffe um ein Virus handelt, dann können wir die oben gestellte Frage leichter beantworten, nämlich dadurch, dass die Stämme bei dem Übertragungsversuch mit dem Virus infiziert wurden. Das Virus wird dann mit dem Wachstum des Pilzes zusammen vermehrt und demzufolge wirken die nicht- bzw. schwachpathogenen Stämme nunmehr ebenso hochpathogen wie der Stamm, von welchem der Toxinstoff bzw. das Virus stammte. Dass beim Übertragungsversuch von BRANDENBURG nur 5 von den infizierten 10 nicht-

bzw. schwachpathogenen Stämmen hochpathogen geworden waren, dürfte auch diese Annahme bekräftigen, und zwar in dem Sinne, dass das betreffende Virus nur auf bestimmte Stämme übergehen bzw. sich in diesen vermehren oder von diesen vermehrt werden kann.

Es wird wohl nicht leicht möglich sein den Beweis dieser Annahme zu erbringen, solange wir nicht genau wissen, um was es sich eigentlich bei den Viren sowie bei den betreffenden toxischen Stoffen handelt.

#### F. UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN EINFLUSS DES SAUERSTOFFGEHALTES DER BODENLUFT, DER BODENREAKTION, DES WASSERGEHALTES UND DER TEMPERATUR DES BODENS AUF DIE „ZWARTE HOUTVATENZIEKTE“

##### 1. Allgemeines

Wie unter Kapitel I behandelt wurde, war auf dem Felde ein gewisser Einfluss des Bodens, der Bodenfeuchtigkeit und der Temperatur auf die Krankheit zu konstatieren. Einen Einfluss der Bodenstruktur konnte aber nicht mit Sicherheit festgestellt werden. Ebenso ergab sich zwischen dem Vorkommen sowie der Stärke der Krankheit und der Azidität des Bodens nach den pH-Messungen von verschiedenen kranken und gesunden Feldern keine gesetzmässige Abhängigkeit. Jedoch war der Säuregrad des Bodens (Es handelt sich nur um Humussandboden) in den kranken Feldern im allgemeinen etwas höher als in den gesunden, und zwar bei den ersteren auf pH 5,0–5,7 und bei den letzteren auf pH 5,5–6,0.

Mit den folgenden 3 Versuchen wollten wir untersuchen, inwieweit die genannten Faktoren, nämlich Feuchtigkeit, Temperatur, Azidität und Struktur des Bodens, einen Einfluss auf die „Zwarte houtvatenziekte“ auszuüben vermögen. Eine Versuchsaufstellung mit variierender Bodenstruktur stiess auf methodische Schwierigkeiten, da wir mit unserem Versuchsboden verschiedene Bodenfraktionen nicht herstellen konnten. Deshalb versuchten wir durch einen indirekten Weg, und zwar mit Hilfe des Lufthaushaltes des Bodens bzw. Sauerstoffgehaltes der Bodenluft, einen Einblick in den Einfluss der Bodenstruktur auf die „Zwarte houtvatenziekte“ zu bekommen (s.S. 45).

Für das Zustandekommen einer parasitischen Krankheit ist das Zusammenspiel zwischen Wirt und Erreger massgebend und hängt weitgehend von den Umwelteinflüssen, dem Milieu, somit von den Wachstumsbedingungen sowohl des Wirtes als auch des Erregers ab. Deshalb müssten bei einer Untersuchung über die Einflüsse der verschiedenen Faktoren auf eine Krankheit auch diese beiden Partner berücksichtigt werden, um die Wirkungsweise der einzelnen Faktoren auf die Krankheit richtig einschätzen und zutreffende Gegenmassnahmen einleiten zu können. Die Faktoren, die die Wachstumsbedingungen schaffen, sind aber mehr oder weniger von einander abhängig und wirken auf das Wachstum des Wirtes oder Erregers nie allein sondern in Kombinationen ein. Darum sollte der Einfluss derselben nicht auf die Wirkungen der einzelnen Faktoren, sondern vielmehr auf die Wirkungen der Faktorenkomplexe beruhen. Wie FRIEDRICHs schreibt: „Das Milieu ist eine Einheit, in der die Faktoren nicht unabhängig von einander variieren und wirken, so dass keiner von ihnen allein ausschlaggebend ist und wir höchstens von einer unmittelbar ausschlaggebenden, daher wichtigsten neben weniger wichtigen sprechen können“ (SORAUER (52); S. 140). Zu diesem Zweck müssen wir zunächst einzelne Faktoren isolieren und ihre Wirkungen auf die Krankheit sowohl allein als auch in Kombinationen untereinander untersuchen.

Bei der vorliegenden Arbeit beschränkten wir uns auf die Kombinationen von 2 verschiedenen Faktoren, und zwar folgenderweise: Sauerstoffgehalt der Bodluft und Reaktion des Bodens (Versuch 1); Reaktion und Wassergehalt des Bodens (Versuch 2); und schliesslich Wassergehalt und Temperatur des Bodens (Versuch 3). Der Einfluss dieser Faktoren bzw. Faktorenkombinationen wurde sowohl auf die Krankheit als auch auf das Wachstum des Pilzes sowie der Pflanze untersucht. Für die Letztgenannte wurden keine besondere Versuche vorgenommen, vielmehr wurde zu diesem Zweck von den Kontrollpflanzen Gebrauch gemacht. Durch Kombination von 2 Faktoren nahm aber der Umfang der Arbeit zu, so dass wir uns nur mit 3 Variationen der betreffenden Faktoren begnügen mussten.

## 2. Methodik

Die Aufstellung der 3 Versuche war im Grunde genommen dieselbe jedoch im Detail verschieden. Deshalb sei zunächst der gemeinsame und danach der die einzelnen Versuche betreffende Teil der Aufstellung besprochen.

Der verwendete Boden stammte von einem kranken Feld in Laag-Soeren. Es handelt sich um einen Humussandboden, von welchem die Resultate der Schlämmanalyse sowie der Humusgehalt in der Tabelle 11 wiedergegeben ist.

TABELLE 11

*Schlämmanalyse des normalen Versuchsbodens, sowie Humusgehalt desselben*

Humusgehalt	Sand			Abschlümmbare Bestandteile < 16 $\mu$
	total > 16 $\mu$	grob > 90 $\mu$	fein 90-16 $\mu$	
4 % . . . . .	91 %	69 %	22 %	5 %

Der normale Versuchsboden besass einen Säuregrad von pH 5,6. Die Veränderung der Azidität des Ausgangsbodens wurde durch Zufügen von  $\frac{1}{10}$  n NaOH bzw.  $\frac{1}{10}$  n HCl vorgenommen, um das Pufferungsvermögen des Bodens festzustellen (Abb. 10).

Nach Sterilisation des Versuchsbodens mit dem Dampf wurde dann der Säuregrad desselben durch Zusatz von Kalziumhydroxyd bzw. Salzsäure auf die gewünschte Höhe gebracht, und zwar auf pH 4,4; 5,8 (unbehandelt) und 7,1. (Da die Pflanzen im Versuch 1 bei pH 4,4 nicht weiter wuchsen und abstarben wurde für den Versuch 2 das pH der ersten Versuchsreihe auf 4,9 gebracht.) Die Messungen der Wasserstoffionenkonzentration des Bodens sowie der Nährlösung wurde mit dem pH-Apparat „Electrofact“ durchgeführt. Bis zum Gebrauch wurde der Boden 2-4 Monate in Kisten aufbewahrt. Vor der Verwendung wurde er an der Luft getrocknet und nachdem die Töpfe mit einer bestimmten Menge von lufttrockenen Boden (2.250-3.000 kg) gefüllt waren, wurde sein Wassergehalt auf die gewünschte Wasserkapazität gebracht. Die Wasserkapazität, die angibt, welche Wassermenge der betreffende Boden maximal kapillar zurückhalten kann, be-  
trug für unseren Versuchsboden 28 ccm pro 100 g. (Diese absolute Wasserkapazität wird mit 100 % bezeichnet.)

Um eine möglichst gleichmässige Verteilung des Wassers zu erzielen, wurde in die Mitte der Töpfe bis zu einer Tiefe von  $\frac{2}{3}$  derselben ein Glasrohr angebracht, welches unten geschlossen, in 4 Richtungen auf verschiedener Höhe mit 4 Löchern

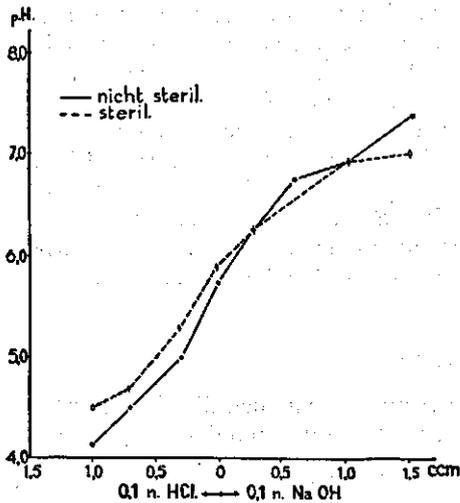


Abbildung 10. Veränderung der Azidität des normalen und sterilisierten Bodens durch Zusatz von Salzsäure und Natriumhydroxyd.

5b wurde beabsichtigt zu untersuchen, ob dieser imstande ist, die Pflanzen bei ungünstigen Wachstumsfaktoren, wie Sauerstoffmangel im Boden, hohe Feuchtigkeit und Azidität des Bodens etc., stärker zu schädigen. Die Infektion wurde mit beiden Stämmen nicht gleichzeitig durchgeführt sondern sie erfolgte mit 5b 4 Wochen und mit 34 O<sub>2</sub> 6–7 Wochen nach der Saat. Damit wollten wir das schnelle Absterben der mit 34 O<sub>2</sub> infizierten Pflanzen vermeiden, um einen eventuellen Einfluss der betreffenden Faktoren auf die Krankheit deutlich beobachten zu können. Die Änderung der zu prüfenden Faktoren, ausser der Bodenreaktion, in den verschiedenen Versuchsreihen wurde erst 2–5 Tage vor der Infektion vorgenommen, so dass die Pflanzen in den Reihen zur Zeit der Infizierung gleich gross waren.

Die Versuchstöpfe enthielten je 6 Pflanzen, von welchen je 3 eine Woche nach der Infizierung mit dem Stamm 34 O<sub>2</sub> herausgezogen und auf das Vorhandensein bzw. die Stärke der Verfärbung geprüft wurden, wobei dann für die übriggebliebenen Pflanzen im weiteren Wachstum noch mehr Raum zur Verfügung stand.

Es ist schon bekannt, dass im allgemeinen die Pilze im sterilisierten Boden kräftiger wachsen als im nichtsterilisierten, da ihre Konkurrenten fehlen. So können sogar sonst im Felde nicht oder schwach pathogene Pilze hier eine Krankheit hervorrufen (14, 38, 43). Um das zu vermeiden und im Versuchsboden möglichst natürliche Bedingungen zu schaffen, brachten PFÄLTZER (43) und MEURS (38) in den Boden nach der Sterilisation mit Dampf einige Saprophyten. Dies war in unserem Versuch nicht mehr notwendig, da bei der Aufbewahrung des Bodens sowie bei der Trocknung an der Luft sich zahlreiche Saprophyten ansiedelten. (Wurde der Boden mit Haferflocken gemischt, so entwickelten sich dann in einigen Tagen verschiedene Pilze und Bakterien.) Demzufolge vermochte der schwachpathogene Stamm 5b in keinem Versuch, wie es bei dem Infektionsversuch im nichtsterilen Boden der Fall war, die Blattsymptome, wohl aber ab und zu eine Verfärbung des Zentralgefässes hervorzubringen. Im allgemeinen war auch zwischen den mit 5b infizierten Pflanzen und den Kontrollpflanzen hinsichtlich des weiteren Wachs-

versehen und bis zum obersten Loch mit Glassand gefüllt war. Durch tägliches Wiegen wurde der Wassergehalt des Bodens konstant gehalten, wobei das Gewicht der Pflanzen berücksichtigt wurde.

Die Versuche umfassten 9 Serien, welche aus der Kombination von 3 Variationen der 2 Faktoren, wie z.B. 3 verschiedene Feuchtigkeits- und pH-Reihen, entstanden. Im ganzen Versuch befanden sich 54 Töpfe, somit waren in jeder Reihe 18 und in jeder Serie 6 Töpfe vorhanden. Von diesen 6 Töpfen wurden 3 mit dem schwachpathogenen Stamm 5b und 2 mit dem hochpathogenen Stamm 34 O<sub>2</sub> infiziert, während der letzte Topf zur Kontrolle diente. Mit der Verwendung des schwachpathogenen Stammes

tums kein wesentlicher Unterschied festzustellen. Deshalb werden bei der Besprechung der Versuchsergebnisse nur die mit dem hochpathogenen Stamm 34 O<sub>2</sub> infizierten Pflanzen berücksichtigt.

Wie bereits erwähnt, wurde der Einfluss der zu prüfenden Faktoren auch auf das Wachstum des Pilzes untersucht. Zu diesem Zweck fand als Nährmedium ausser Agarnährboden der gleiche Versuchsboden, zu welchem in diesem Falle 5 % Hafermehl beigemischt worden war, verwendet. Die Versuche wurden in Erlenmeyerkolben mit einem Inhalt von 250 ccm, welche 100 g Versuchsboden enthielten, durchgeführt. Die Kombination der Faktoren sowie die Variationen derselben war die gleiche, wie bei den Versuchen mit Pflanzen, die unten für jeden Versuch extra angegeben wird. In jeder Versuchsserie waren 2–3 Kolben vorhanden. Die Untersuchung wurde nur mit dem *Pythium irregulare*-Stamm 34 O<sub>2</sub> vorgenommen.

#### Versuch 1.

Kombinierte Faktoren: Sauerstoffgehalt der Bodenluft und Bodenreaktion.

Der Sauerstoffgehalt der Bodenluft in den Versuchstöpfen wurde durch Zuführung von einem bestimmten Sauerstoff + Stickstoff-Gasgemisch konstant gehalten. Die hierfür verwendeten 3 Gasmischungen enthielten: 3–5 % (im Mittel: 4 %); 8–11 % (im Mittel: 9 %) bzw. 20–22 % (im Mittel: 21 %) Sauerstoff. Der übrige Teil der Gasmischung bestand aus Stickstoff. Der Säuregrad der 3 pH-Reihen betrug: pH 4,4; 5,8 und 7,1. Der Wassergehalt des Bodens wurde auf 45 % der absoluten Wasserkapazität konstant gehalten.

Als Versuchsgefäße dienten Glastöpfe, welche einen Durchmesser von 12 cm und eine Höhe von 24 cm hatten. Sie waren aussen mit Karton umgeben und standen in hölzernen Kisten, die um den Topf herum mit einem Deckel geschlossen waren. In die Glastöpfe wurde zuerst eine Kieslage von 1–1,5 cm Höhe und bis in die Kieslage hinein ein Kapillarrohr, mit einer Länge von 25 cm und einem Innendurchmesser von 1 mm, gebracht. Nach der Bedeckung der Kieslage mit Glaswolle wurden die Töpfe dann mit dem Versuchsboden gefüllt. Die Kieslage ermöglichte eine gleichmässige Verteilung der durch das Kapillarrohr zugeführte Gasmischung, wobei eine Verstopfung des Kapillarrohrs mit Boden vermieden wurde. Die Glastöpfe wurden durch eine halbstündige Behandlung mit 4 % Formalin und der Kies im Autoklav desinfiziert bzw. sterilisiert.

Ein Gaszylinder, welcher mit einer der oben erwähnten Gasmischung gefüllt war, lieferte die für 18 Versuchstöpfe benötigte Gasmenge (1 Liter pro Topf und pro Stunde). Dieses Gasgemisch wurde mit Hilfe einer Gasleitung auf die verschiedenen Töpfe verteilt. Jede Zufuhrleitung endete mit einem Kapillarrohr (K) (Taf. 5, Abb. 11 und 12). In diese waren 2 kleine T-Stücke (t' und t'') angebracht. Zwischen t' und t'' befand sich ein weiteres Kapillarrohr (Z) mit einem Innendurchmesser von 0,5 mm und einer Länge von 2 cm einerseits und ein U-Kapillarrohr andererseits angebracht. Die U-Kapillarrohren hatten einen Innendurchmesser von 1 mm und enthielten gefärbtes Wasser, dessen Höhe im Gleichgewichtszustand mit einem roten Strich vermerkt wurde.

Zunächst wurde die Frage geklärt, ob bei unserer Versuchsanordnung durch die verwendeten Kapillarrohren (K) eine gleichmässige Verteilung der Gasmischung in alle Töpfe gewährleistet ist oder ob die ersten Töpfe mehr und die letzten weniger Gas bekommen. Zu diesem Zweck wurden an Stelle der Versuchstöpfe 6 mit Wasser gefüllte Glaszylinder genommen, welche mit offener Seite im Wasser standen. Bei der Gaseinleitung wurde durch gleichmässiges Herabsinken

der Wassersäule in allen 6 Zylindern deutlich, dass diese Anforderung erfüllt war. Die Gaszuführung wurde durch Reduzierventile so reguliert, dass 18 Liter Gasgemisch pro Stunde ausströmte und damit jeder Topf 1 l. pro Stunde erhielt. Die Messung wurde entweder mit einem Gasmesser oder mit Hilfe eines Messzylinders vorgenommen und auch von Zeit zu Zeit kontrolliert. Durch die tägliche Notierung des abnehmenden Gasdruckes in den Zylindern konnte auch die täglich zugeführte Gasmenge kontrolliert werden.

Die Kontrolle der für die einzelnen Töpfe pro Stunde erforderlichen Gasmenge wurde mit Hilfe der vor den Versuchstöpfen angebrachten U-Röhren durchgeführt. Durch die zwischen  $t'$  und  $t''$  befindliche Kapillare (Z) wird die Geschwindigkeit des Gasstroms an beiden Öffnungen des U-Rohrs verschieden gross, wodurch ein Druckunterschied an den beiden Öffnungen entsteht. Dieser Druckunterschied steigt mit der Gasgeschwindigkeit proportional, was mit Hilfe des U-Rohres festgestellt wird. Bei einer Gaszuführung von 1 l. pro Stunde je Topf steigt die Flüssigkeit in dem U-Rohr um 1–2 mm. Bei der täglichen Kontrolle wurde die Gaszuführung für einen Moment erhöht, so dass die Flüssigkeit in den U-Röhren um einige cm stieg, wobei eine schnelle und sichere Kontrolle ermöglicht wurde. Im Falle einer Verstopfung der Gasleitung der einzelnen Versuchstöpfe und damit ausbleibender Gaszuführung, bleibt der Stand der Flüssigkeit im U-Rohr unverändert, und zwar am roten Strich. Solche Störungen kamen nur zu Beginn des Versuches bei einzelnen Versuchstöpfen vor. Nach Beseitigung der Verstopfung der Kapillarröhre verlief die Gaszuführung normal.

Die Gasmischung wurde in Gaszylindern bezogen. Der Sauerstoffgehalt der Mischung eines jeden Zylinders wurde kontrolliert. Die Bestimmung des Sauerstoffgehaltes wurde mit dem Orsatapparat (5) durchgeführt; als Absorptionsmittel wurde alkalische Pyrogallol-Lösung verwendet.

### Versuch 2

Kombinierte Faktoren: Wassergehalt und Azidität des Bodens.

Der Wassergehalt der 3 Feuchtigkeitsreihen betrug: 20 %; 50 %; bzw. 80 % der absoluten Wasserkapazität und der Säuregrad der 3 pH-Reihen war: pH 4,9; 5,8 bzw. pH 7,1.

Für diesen Versuch wurden gewöhnliche Blumentöpfe, welche in Autoklav sterilisiert worden waren, verwendet. Um eine Wasserverdunstung durch den Topf hindurch zu vermeiden, wurde die äussere Seite der Töpfe mit einem Kittbelag versehen.

Die Versuche 1 und 2 wurden im Glashaus durchgeführt, wo die Temperatur zwischen 20 °C und 28 °C variierte und dauerte 3 Monate (Mai bis August).

### Versuch 3

Kombinierte Faktoren: Temperatur und Wassergehalt des Bodens.

Die Temperatur der 3 Temperatur-Reihen war: 15°, 20° bzw. 25 °C und der Wassergehalt der 3 Feuchtigkeitsreihen derselbe, wie in Versuch 2. Der Säuregrad des Bodens betrug: pH 5,8. (Der Wassergehalt des Bodens wurde sowohl in diesem als auch im Versuch 2 bis zur Infektion auf 50 % der absoluten Wasserkapazität gehalten).

Als Versuchsgefässe fanden Metalltöpfe, welche einen Durchmesser von 12 cm und eine Höhe von 24 cm hatten, Verwendung. Sie standen in Wisconsintanks (25), die durch Heizung bzw. Kühlung auf den obengenannten Temperaturen gehalten

wurden. Die Wisconsintanks waren in einem Glashaus, das nur oben bedeckt und an den Seiten offen war, untergestellt.

Der Versuch wurde in den Monaten August-Oktober durchgeführt und dauerte 11 Wochen.

### 3. Der Einfluss des Sauerstoffgehaltes der Bodenluft auf den Wirt, auf den Erreger und auf die Krankheit (Versuch 1)

Die Bodenstruktur ist ein physikalischer Zustand und beeinflusst weitgehend Wasser-, Wärme- und insbesondere den Lufthaushalt des Bodens. Der Lufthaushalt des Bodens und die Zusammensetzung der Bodenluft hängt hauptsächlich von der Bodenstruktur ab und wirkt umgekehrt auch bestimmend auf diese. Deshalb dürfte der Lufthaushalt des Bodens im Rahmen eines Einflusses der Bodenstruktur auf die Pflanzen sowie auf eine Krankheit als wichtigster Faktor angesehen werden.

Wie im allgemeinen bekannt ist, hat die Bodenluft nicht die gleiche Zusammensetzung wie die atmosphärische Luft. In der Zusammensetzung der Bodenluft findet eine Verschiebung statt, indem der Kohlensäuregehalt auf Kosten des Sauerstoffgehaltes der Luft zunimmt. Diese Verschiebung ändert sich je nach Bodenbeschaffenheit und Bodenstruktur und nimmt im allgemeinen mit der wachsenden Tiefe zu. So fand LAU (vgl. LUNDEGARDH (34); S. 165-166) in verschiedener Tiefe folgende Kohlensäuregehalte.

	Sandboden in %	Lehmboden in %	Moorboden in %
CO <sub>2</sub> - Gehalt in 15 cm Tiefe . . .	0,09 - 0,19	0,05 - 0,27	0,10 - 0,75
CO <sub>2</sub> - Gehalt in 30 cm Tiefe . . .	0,06 - 0,24	0,09 - 0,47	0,34 - 1,12
CO <sub>2</sub> - Gehalt in 60 cm Tiefe . . .	0,11 - 0,57	0,20 - 1,13	1,01 - 3,77

Unter Umständen, bei Stallmistdüngung und Verhinderung des normalen Gasaustausches mit der atmosphärischen Luft, kann der Kohlensäuregehalt der Bodenluft beträchtlich ansteigen. So fand RUSSEL und APPELYARD (vgl. LUNDEGARDH (34) S. 165-166) bei einer Tiefe von 15 cm auf feuchten Wiesen im Mittel 1,5-2,7 % CO<sub>2</sub> und auf einem mit Stallmist gedüngten Kulturboden maximale Werte bis 2,3 % CO<sub>2</sub>. Wie russische Forscher feststellten, kann der Sauerstoffgehalt der Bodenluft bei einer sehr starken Verdichtung bzw. Verschlammung des Bodens bis auf 10,7 % herabsinken (32).

#### a. Der Einfluss auf den Wirt

Bei einer Erhöhung des Kohlensäuregehaltes der Bodenluft nimmt demgemäß der Sauerstoffgehalt derselben ab. Wenn auch nicht bei einer Verminderung des Sauerstoffgehaltes um einige Prozente eine Wirkung des Sauerstoffmangels auf das Wachstum der Pflanze oder auf eine Krankheit zu erwarten ist, so dürfte dies doch bei weiterem Sinken des Sauerstoffgehaltes zu mindest bei manchen Pflanzen der Fall sein. So geben verschiedene Autoren für das schlechte Wachstum der Kulturpflanzen oder für das Auftreten einiger Wurzelkrankheiten die schlechte Bodenstruktur und damit den Sauerstoffmangel im Boden als Ursache an (vgl. SORAUER (53) und ROODENBURG (47)). Wenn es sich dabei um stagnierendes Wasser handeln würde, dann würde dies wohl auf einen Sauerstoffmangel zurückzuführen sein. Aber bei einem schlechten Wachstum der Pflanzen oder bei Er-

krankungen, die in Verbindung mit Luftmangel oder höherem Kohlensäuregehalt der Bodenluft beobachtet werden, könnte man nicht mit Sicherheit sagen, ob Sauerstoffmangel oder Kohlensäureüberschuss als Ursache angesehen werden soll. Wie die Versuche von russischen Forschern zeigten, nimmt der Sauerstoffgehalt der Bodenluft mit sinkendem Luftgehalt des Bodens ab, und zwar folgenderweise: (vgl. KRAUSE (32), S. 612).

Luftgehalt in Volumenprozenten des Bodens	2,7	24,5	25,6	35,1
Sauerstoffgehalt der Bodenluft in %	5,4	18,6	19,3	19,4

Darum sollte es sich bei einem Luftmangel im Boden nicht nur um einen Sauerstoffmangel, sondern auch um einen Kohlensäureüberschuss handeln, da meist das Sauerstoffdefizit mit einer entsprechenden Steigerung des Kohlensäuregehaltes verbunden ist.

Über einen Einfluss des Sauerstoffmangels auf das Wachstum der Pflanze sind in der vorliegenden Literatur sehr wenige Versuche zu finden. So konnte ROODENBURG (47) durch Sauerstoffmangel bei seinen drei Versuchspflanzen (Bohne, Rote Rübe und Tulpe) nur bei der Tulpe eine Wachstumshemmung herbeiführen. Er führte einen Sauerstoffmangel in den Versuchstöpfen herbei, indem er die Oberfläche des Versuchsbodens mit Paraffin abschloss, wobei der Gasaustausch mit der atmosphärischen Luft, wenn nicht gänzlich, doch beträchtlich gehindert wurde. In dieser Weise erzielte er jedoch nicht nur einen Sauerstoffmangel, sondern auch einen Kohlensäureüberschuss, so dass das schlechte Wachstum der Tulpe im paraffinierten Topf ebenso gut auf die Wirkung des Letztgenannten zurückgeführt werden kann. Um eine Wirkung des Kohlensäureüberschusses auszuschalten, wurde bei dem vorliegenden Versuch keine Kohlensäure in die Gasmischung aufgenommen, obschon, wie oben angedeutet wurde, ein Sauerstoffmangel in der Natur meistens mit einem Kohlensäureüberschuss begleitet ist.

Bereits drei Wochen nach Beginn der Begasung der Versuchstöpfe war ein Unterschied zwischen den Sauerstoff-Reihen in Bezug auf Wurzelwachstum und Pflanzengröße zu beobachten. Die Pflanzen in der Reihe mit 4 % O<sub>2</sub> waren deutlich kleiner geblieben, als in den beiden anderen Reihen. Ihre Blätter waren im allgemeinen dunkler grün und waren tagsüber schlapp. Die Blätter der Pflanzen in den Versuchsreihen mit 9 % O<sub>2</sub> und 21 % O<sub>2</sub> wurden dagegen nur an sehr warmen Tagen schlapp, was eigentlich auch eine normale Erscheinung ist. Zwischen den Pflanzen in den letztgenannten Reihen war kein merklicher Unterschied festzustellen.

Die Wirkung des Sauerstoffmangels war jedoch beim Wurzelwachstum noch deutlicher zu konstatieren. Zu diesem Zweck wurden die Versuchstöpfe aus den Kisten herausgenommen und die Ausbreitung sowie Stärke des Wurzelwachstums in verschiedenen Sauerstoff-Reihen verglichen. Die Seitenwurzeln der Pflanzen waren bis an die Wände der Glastöpfe gewachsen, so dass ihre Ausbreitung sehr gut beobachtet werden konnte. Während die Seitenwurzeln sich bei 21 % O<sub>2</sub> auf der ganzen Höhe des Topfes ebenso stark ausgebreitet hatten, war bei 4% O<sub>2</sub> nur bis auf  $\frac{1}{3}$  -  $\frac{1}{2}$  der Topfhöhe ein schwaches Wurzelwachstum festzustellen. Weiter oben kamen auch einzelne Seitenwurzeln vor aber sie waren meistens bräunlich verfärbt und viele von ihnen schienen abgestorben zu sein. Das Wurzelwachstum in der Reihe mit 9 % O<sub>2</sub> nahm vielfach eine Mittelstellung ein. Die Seitenwurzeln waren in dieser Versuchsreihe auch auf der ganzen Topfhöhe verbreitet, aber mit einer nach oben hin abnehmenden Stärke, so dass in der oberen Hälfte des Topfes etwas weniger Seitenwurzeln zu beobachten waren, als in der

Reihe mit 21 %  $O_2$ . Dieser Wachstumsunterschied der Wurzeln in verschiedener Höhe der Versuchstöpfe dürfte dadurch zustande gekommen sein, dass der Sauerstoff der zugeführten Gasmischung zum grössten Teil von den Wurzeln, die am unteren Ende der Töpfe gebildet worden waren, verbraucht wurde, so dass die Gasmischung bei weiterem Hinaufsteigen an Sauerstoff ärmer wurde, als ursprünglich. Dadurch herrschte im oberen Teil der Töpfe noch mehr Sauerstoffmangel als in unteren Teil, wobei dann das Wurzelwachstum, besonders in der Reihe mit 4 %  $O_2$ , oben noch stärker gehemmt wurde, als am unteren Teil der Töpfe. Jedoch war die Hemmung des Wurzelwachstums bei 9 %  $O_2$  unwesentlich, so dass die Pflanzen selbst gar keinen Unterschied von denjenigen der Versuchsreihe mit 21 %  $O_2$  erkennen liessen.

Über die Atmung der Wurzeln liegen in der Literatur nur wenige Angaben vor. So wird von KUDRJAWZEWA (vgl. KRAUSE (32), S. 630) ein täglicher Bedarf der Feldpflanzen an Sauerstoff von durchschnittlich 1 mg  $O_2$  auf 1 g Trockensubstanz angegeben (schwankend zwischen 0,35 mg bei Mais und 1,28 mg bei Erbse). Nach STOKLASA (55) soll die Kohlensäureproduktion eines Weizenfeldes durch die Wurzelatmung 60 kg Hektar und Tag betragen. LUNDEGARDH (34) bestimmte die Wurzelatmung bei Hafer und gab eine  $CO_2$ -Produktion von 0,13 g per Stunde und Quadratmeter an.

Umgerechnet auf Sauerstoff würde der Bedarf der Wurzeln an Sauerstoff für einen von unseren Versuchstöpfen nach den Angaben von LUNDEGARDH 0,0033 g, nach STOKLASA 0,0063 g und nach KUDRJAWZEWA (berechnet für 50 g Trockensubstanz) 0,0028 g pro Stunde betragen. Wenn wir annehmen dass die Mikroorganismen ebensoviel Sauerstoff verbrauchen, wie die Pflanzenwurzeln (STOKLASA schätzt die  $CO_2$ -Produktion der Mikroorganismen auf 75 kg je Tag und Hektar), so kommen wir auf einen Sauerstoffbedarf von 0,0066 bis 0,013 g pro Topf und Stunde. In unserem Versuch wurde bei niedrigstem Sauerstoffgehalt der Gasmischung (3–5 %  $O_2$ ) 0,043 bis 0,072 g  $O_2$  pro Stunde durch die Töpfe geleitet, was eigentlich den Bedarf vollständig decken sollte, wenn auch der Bedarf der Rübenwurzeln an Sauerstoff 3 Mal höher liegen sollte, als bei den oben genannten Versuchspflanzen. Dagegen wurde nicht nur bei 4 % sondern auch bei 9 % Sauerstoffgehalt eine Hemmung des Wurzelwachstums beobachtet.

#### b. Der Einfluss auf den Erreger

Im allgemeinen sind die Pilze gegen Sauerstoffmangel oder Kohlensäureüberschuss nicht besonders empfindlich. LUNDEGARDH (33) konnte z.B. bei einer Erhöhung des Kohlensäuregehaltes auf 2–5 % gar keine Hemmung des Wachstums bei *Fusarium avenaceum* und *F. herbarum* und sogar eine Förderung des Wachstums bei *Gibberella saubinetii* (2–7 %  $CO_2$ ) und *Fusarium culmorum* (2–3 %  $CO_2$ ) konstatieren. Nach den Untersuchungen von BROWN (11) hatte O-Partialdruck der Luft in breiten Grenzen nur eine geringe Wirkung auf die Keimung der Pilzsporen sowie auf das Wachstum der Pilze *Botrytis*, *Fusarium* und *Alternaria*.

Die Untersuchung über den Einfluss des Sauerstoffgehaltes der Bodenluft auf Wachstum des Pilzes wurde in gleicher Versuchsanordnung durchgeführt, wie bei den Pflanzen (s.S. 43). Hier wurden nur an Stelle der Glastöpfe Erlenmeyer-Kolben verwendet. Sie waren mit einem Gummistopfen versehen, durch welchen ein Kapillarrohr bis an die Kieslage und ein zweites dünnes Glasrohr bis unter den Stopfen in den Kolben hineinragten. Das Kapillarrohr diente wiederum für die Gaszuführung und das zweite Glasrohr ermöglichte ein Entweichen der Gase

aus dem Kolben. Das ganze wurde dann im Autoklav sterilisiert. Für die Impfung fand nur der *P. irregulare*-Stamm 34 O<sub>2</sub> Verwendung. Der Versuch wurde in einem verdunkelten Raum durchgeführt, wo die Temperatur zwischen 17 °C und 20 °C variierte, und dauerte 2 Wochen.

Schon nach einer Woche hatte der Pilz bei pH 7,1 in allen 3 Sauerstoff-Reihen den Boden stark durchwachsen und die ganze Oberfläche mit Hyphen bedeckt, während das Wachstum des Pilzes bei PH 4,4 sich auf einen kleinen Flecken von einigen Millimeter Durchmesser beschränkte. Es war bei keiner Kombination ein Einfluss des Sauerstoffgehaltes der Luft auf das Wachstum von *Pythium irregulare* festzustellen.

### c. Der Einfluss auf die Krankheit

Über die Wirkung der Bodenluft auf die Krankheit liegen in der Literatur verschiedene Angaben über Versuche vor. Sie berücksichtigen aber dabei nur den Kohlensäuregehalt der Bodenluft. So stellte LUNDEGARDH (33) fest, dass die Infektion keimender oder ausgewachsener Weizenpflanzen durch *Fusarium avenaceum* und *F. culmorum* bei einer Erhöhung des Kohlensäuregehaltes auf 2–6 % deutlich begünstigt wird. VOLK (56), der mit Roggen und *Fusarium nivale* arbeitete, erzielte durch Erhöhung des CO<sub>2</sub>-Gehaltes der Bodenluft eine nicht unwesentliche Steigerung der Befallszahl.

Der Sauerstoffmangel im Boden könnte eine Hemmung des Wurzelwachstums zur Folge haben, wodurch dann eventuell ein Befall der Wurzel durch Bodenparasiten begünstigt würde. Es ist in der vorliegenden Literatur jedoch kein Versuch über den Einfluss des Sauerstoffmangels auf eine Krankheit bekannt.

In unserem Versuch konnte zwar, wie bereits besprochen wurde, ein Einfluss des Sauerstoffmangels auf das Wachstum der Wurzeln beobachtet werden, jedoch war ein solcher auf die „Zwarte houtvaterziekte“ nicht deutlich festzustellen. Wie Tabelle 12 zeigt, waren die Pflanzen in der Reihe mit 9 % O<sub>2</sub> stärker erkrankt als in den anderen Reihen.

TABELLE 12

*Einfluss der Bodenreaktion und des Sauerstoffgehaltes der Bodenluft auf die „Zwarte houtvaterziekte“*  
(12 Pflanzen pro Serie; die Kontrollpflanzen waren in allen Serien gesund)

Versuchsreihen		1 Woche nach Infizierung				5 Wochen nach Infizierung		
		Anzahl Pflanzen		Durchschn. Stärke der Symptome		Anzahl Pflanzen		Durchschn. Stärke der Symptome
pH	O-Gehalt in %	mit Blatt-sympt. in % d. vorhandenen	mit verfärbt. Gefäßen in % d. geschnittenen	an den Blättern	im Rübenkörper	mit Blatt-sympt. in % d. vorhandenen	mit verfärbt. Gefäßen in % d. geschnittenen	im Rübenkörper
5,8	4	100	100	+	+	100	100	++/++++
	9	100	100	+ / + +	+ / + +	100	100	+ + +
	21	83	66	+	+	100	100	+ +
7,1	4	8	0	+	-	0	50	+ +
	9	83	83	+	+	100	100	+ + / + + + +
	21	0	0	-	-	0	50	+

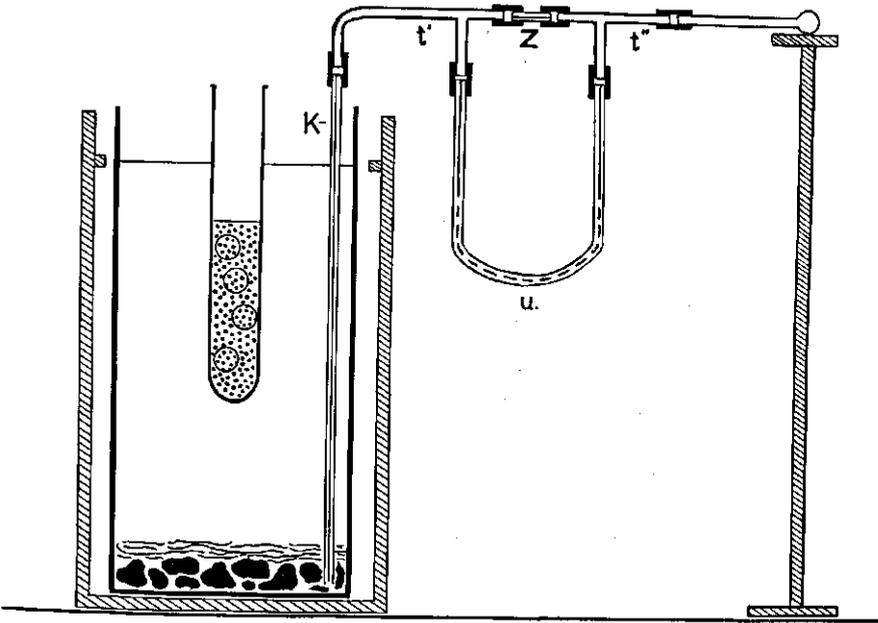


Abbildung 11. Versuchsanordnung.

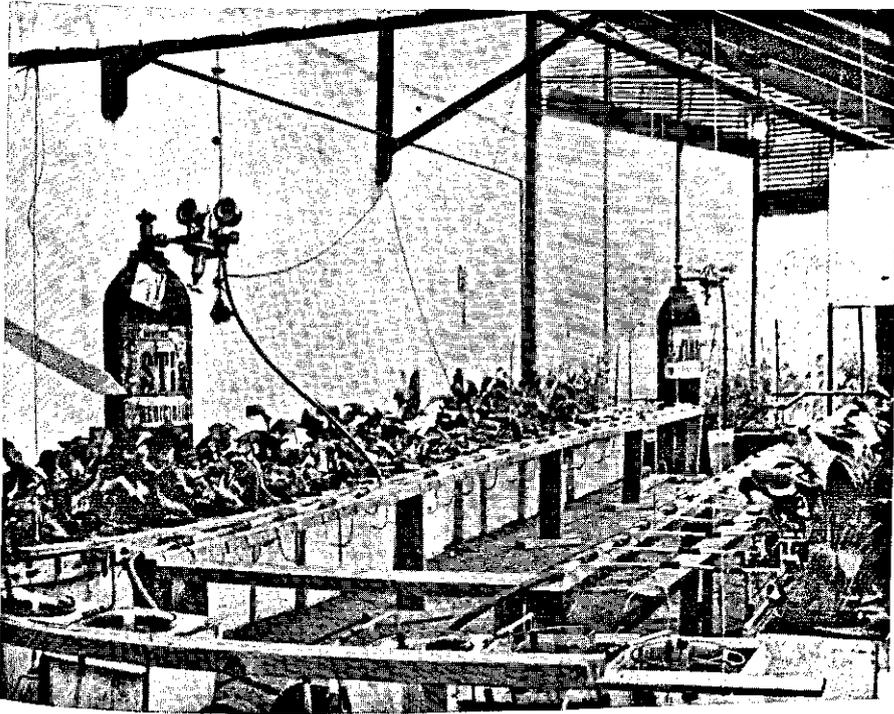


Abbildung 12. Versuchsaufstellung.

TAFEL 6

A



B



Abbildung 13. Einfluss der Bodenreaktion auf die „Zwarte houtvatenziekte“ v.l.n.r. pH 4,8, 5,8 und 7,1. Im Hintergrund Infektionsreihen, im Vordergrund Kontrollreihen. Wassergehalt des Bodens: A-20 %, B-50 % der absoluten Wasserkapazität.

Zu erwarten wäre aber, wenn der Sauerstoffmangel die Krankheit begünstigen sollte, dass die Pflanzen bei 4 % O<sub>2</sub> stärker erkrankt wären als diejenigen bei 9 % O<sub>2</sub> und die Stärke der Erkrankung mit der Steigerung des Sauerstoffgehaltes der Gasmischung abnahm. Es ist zwar bei der Reihe mit 21 % O<sub>2</sub> eine Abnahme hinsichtlich der Anzahl der erkrankten Pflanzen und der Stärke der Erkrankung festzustellen; diese wird aber von der Reihe mit 4 % O<sub>2</sub> gefolgt.

Wenn wir den Einfluss des Sauerstoffgehaltes der Bodenluft auf die „Zwarte houtvatenziekte“ in Verbindung mit verschiedenen Wasserstoffionenkonzentrationen des Bodens betrachten, so können wir feststellen, dass sowohl die Anzahl der erkrankten Pflanzen als auch die Stärke der Erkrankung bei pH 7,1 in allen O-Reihen abnimmt, die Reihenfolge der Stärke der Erkrankung nach dem Sauerstoffgehalt in beiden pH-Reihen aber gleich bleibt. (Die Versuchsreihe mit pH 4,4 war bereits vom Versuch ausgeschaltet, da die Pflanzen einiger Zeit nach dem Aufgang zugrunde gingen; anscheinend ist der Säuregrad des Bodens, pH 4,4, für das Wachstum der Rüben zu niedrig gewesen.)

Zusammenfassend kann nach den Ergebnissen dieses Versuches gezagt werden, dass zwischen dem Sauerstoffgehalt des Bodens und der „Zwarte houtvatenziekte“ keine direkte Abhängigkeit besteht. Eine gewisse Beziehung zwischen Sauerstoffgehalt und Krankheit scheint jedoch nicht ausgeschlossen zu sein. Eine Wiederholung des Versuches könnte vielleicht in dieser Frage Klarheit schaffen.

#### 4. Der Einfluss der Bodenreaktion auf den Wirt, auf den Erreger und auf die Krankheit (Versuch 1 und 2)

##### a. Der Einfluss auf den Wirt

Die Rübe ist als eine säurefeindliche Pflanze bekannt. Sie bevorzugt einen neutral bis schwach alkalischen Boden, was auch in unseren Versuchen deutlich zum Ausdruck kam. Im Versuch 1 liefen die Pflanzen bei pH 4,4 nur spärlich auf, von welchen dann in den darauffolgenden Wochen noch einige eingingen, so dass nach 3 Wochen nur noch wenige Pflanzen übriggeblieben waren. Darauf wurden die Pflanzen aus allen Versuchsreihen entfernt und die Töpfe mit 10 vorgekeimten Knäueln von neuem besät. Jedoch wuchsen die Keimlinge wiederum bei pH 4,4 schlecht und blieben im 2-4 Blattstadium bis sie schliesslich abstarben. Die meisten von ihnen gingen bereits innerhalb 3 Wochen ein und 6 Wochen nach der Saat war in dieser pH-Reihe keine Pflanze mehr übriggeblieben.

Das Absterben der Keimlinge erfolgte wie bei den wurzelbrandigen Keimlingen, jedoch konnte bei mikroskopischer Untersuchung kein Pilz festgestellt werden. Deshalb müsste diese Erscheinung als eine physiologische Krankheit angesehen werden, welche auf eine direkte Beschädigung des Hypokotyls durch die im Boden vorhandene freie Säure beruhen dürfte. ALBRECHT and JENNY (2) bewiesen aber, dass bei dem physiologischen „damping-off“ der Sojabohnen, das auch im sterilen Boden bei niedrigem pH vorkam und mit steigendem pH abnahm, die H-Ionenkonzentration keine Rolle spielt sondern die Ca-Ionenkonzentration dafür verantwortlich ist. Nach den Untersuchungen der genannten Autoren betragen die „damping-off“-Fälle bei einer Ca-Ionenkonzentration von 0,86 · 10<sup>-2</sup> M.E. Ca pro Pflanze bei pH 4,4 40 %, während sie bei einer höheren Ca-Ionenkonzentration (3,08 · 10<sup>-2</sup> M.E. Ca pro Pflanze) bei gleichbleibendem pH bis auf 0 % sank. Es ist daher in unserem Falle auch nicht ausgeschlossen, dass die Ca-Ionen oder manche andere Elemente, die durch die Säurezugabe in eine unlösliche Form übergeführt

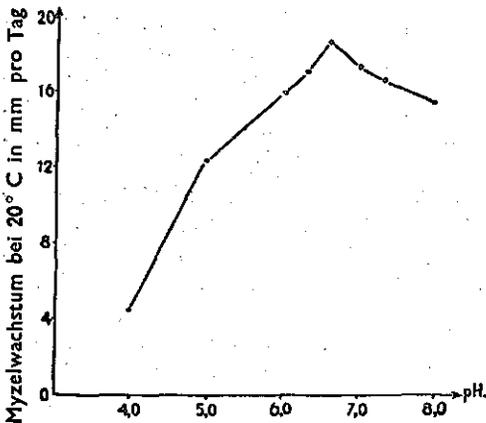


Abbildung 14. Einfluss der Azidität des Agarbodens auf das Wachstum von *Pythium irregulare*.

werden, eine Rolle spielen.

Bei pH 4,9 wird das Wachstum der Rübe auch stark gehemmt, und zwar besonders stark im Jugendstadium bis zu einem Alter von 2 Monaten, jedoch ging keine Pflanze ein. Es trat bei allen Pflanzen dieser pH-Reihe eine Chloroseerscheinung auf, welche mit den Symptomen der „Zwarte houtvatenziekte“ nicht zu verwechseln war. Diese Chlorose verschwand aber etwa 6 bis 7 Wochen nach der Saat wieder vollständig.

Wie zu erwarten ist, entwickelte sich die Rübe am besten in der Versuchsreihe mit pH 7,1. Bei pH 5,8 waren die Pflanzen etwas kleiner und bei pH 4,9 zeigten sie ein stark gehemmtes Wachstum.

#### b. Der Einfluss auf den Erreger

Über den Einfluss der Azidität auf das Wachstum von *Pythium irregulare* liegen in der Literatur nur einzelne Angaben vor. Nach den Untersuchungen von RORN and RIKER (48) wächst *P. irregulare* zwischen pH 5,0 und 8,0 gut. Die extreme Grenzen lagen etwa bei pH 3,7 und 9,0.

Für das Wachstum des Pilzes wurde als Nährboden Kartoffelglukose-Agar verwendet. Die Reaktionsänderungen erfolgten durch Zusätze von Milchsäure und Kalziumhydroxyd. Wie aus der Abb. 14 ersichtlich ist, wächst *Pythium irregulare* zwischen pH 6,0 und 8,0 gut, wobei das Optimum etwa bei pH 6,6 liegt.

Um festzustellen, ob die auf Agarboden erzielten Resultate auch für den Versuchsboden Gültigkeit haben und insbesondere, wie der Pilz sich in verschiedenen Kombinationen von Reaktion und Wassergehalt des Bodens verhält, wurde das Wachstum des Pilzes auch im Versuchsboden untersucht. Es zeigte sich bei dem ersten Versuch, dass nicht nur das radiale Wachstum, sondern auch die Stärke desselben von Bedeutung ist. Deshalb wurde dann neben der Wachstumsbreite auch die Wachstumsstärke berücksichtigt. Die Letztgenannte ist aber nicht genau zu bestimmen. Wir versuchten jedoch diese folgenderweise zu bewerten: Das stärkste Wachstum, das bei pH 7,0 und bei einem Wassergehalt von 80 % der absoten Wasserkapazität 8 Tage nach der Impfung zu beobachten war, wurde mit V und das gerade noch mit blosssem Auge zu beobachtende Pilzwachstum wurde mit I und die Übergänge von I bis V mit II, III und IV bezeichnet. Die Resultate sind in der Tabelle 13 zusammengestellt. Aus dieser Tabelle geht hervor, dass die Wirkung der Bodenreaktion bei einem niedrigen Wassergehalt sehr gering und bei einem höheren Wassergehalt dagegen gross ist. Obschon hinsichtlich des linearen Myzelwachstums zwischen pH 5,8 und 7,0 sowohl auf dem Kartoffelglukose-Agar wie auch im Versuchsboden kein deutlicher Unterschied zu erkennen ist, so besteht hinsichtlich der Üppigkeit des Myzelwachstums ein grosser Unterschied. Bei pH 4,9 ist die Entwicklung des Pilzes im Versuchsboden auch bei einem hohen Wassergehalt sehr schwach und langsam.

### c. Der Einfluss auf die Krankheit

Nach den Ergebnissen der Versuche 1 und 2 kann der Pilz die Futterrübe bei allen 3 pH-Reihen befallen und damit die „Zwarte houtvatenziekte“ verursachen. Die Resultate dieser Versuche, welche in den Tabellen 12 und 14 zusammengestellt sind, lassen jedoch einen gewissen Einfluss der Bodenreaktion auf die Stärke der Krankheit erkennen (Taf. 6, Abb. 13). Wenn wir zunächst die Tabelle 12 betrachten, so ist in den O-Reihen mit 4 % und 21 % O<sub>2</sub> eine starke Abnahme der Erkrankung bei pH 7,1 festzustellen. Diese Abnahme ist jedoch bei 9 % O<sub>2</sub> gering. Ebenso war im zweiten Versuch (Tab. 14) zwischen den Reihen mit pH 5,8 und 7,1 bei allen Feuchtigkeitsreihen kein grosser Unterschied zu konstatieren. Deshalb dürften bei den betreffenden O-Reihen (Versuch I; Tab. 12) andere Faktoren, welche sich unserer Kenntnis entziehen, eine Rolle gespielt haben. Im 2. Versuch waren alle infizierten Pflanzen bereits eine Woche nach der Impfung mittelstark bis sehr stark erkrankt, wobei einige von ihnen zugrunde gingen. Die Kontrollpflanzen blieben gesund.

TABELLE 13

Einfluss des Wassergehaltes des Bodens und der Bodenreaktion auf das Wachstum von *Pythium irregulare* bei 20° C

Wassergehalt in % d. absoluten Wasserkap.	pH	Nach 3 Tagen		Nach 8 Tagen	
		Durchmesser der Kultur im Mittel in cm <sup>1</sup> )	Wachstums- stärke im Mittel <sup>2)</sup>	Durchmesser der Kultur im Mittel in cm <sup>1</sup> )	Wachstums- stärke im Mittel <sup>2)</sup>
20	4,9	0	0	0,5	0-I
	5,8	1	0-I	1,5	0-I
	7,0	1	0-I	2	0-I
50	4,9	3	I	3	I
	5,8	6,5	I	8	I-II
	7,0	8	I-II	8	IV
80	4,9	5	I	5	I
	5,8	8	I-II	8	II
	7,0	8	III-IV	8	V

<sup>1)</sup> Der Durchmesser der Oberfläche des Versuchsbodens betrug 8 cm.

<sup>2)</sup> Für die Bewertung der Wachstumsstärke ziehe Text S. 50.

Der Einfluss der Bodenreaktion auf die Krankheit ist eine Resultat der Wirkung derselben einerseits auf die Pflanze und andererseits auf den Parasit, was in der Tabelle 14 zum Ausdruck kommt. Dabei ist jedoch dem Einfluss der Azidität auf das Pflanzenwachstum noch mehr Bedeutung beizumessen, als demjenigen auf den Pilz. Dies wird besonders deutlich, wenn wir nur die Anzahl der abgestorbenen Pflanzen in den verschiedenen pH-Reihen berücksichtigen. Die Pflanzen bei pH 4,9, welche im Wachstum stark zurückgeblieben waren, litten noch mehr an der Krankheit als in den anderen pH-Reihen. Demzufolge gingen in dieser Reihe bereits innerhalb einer Woche rund 35 % der vorhandenen und nach der ersten Woche 50 % der übriggebliebenen Pflanzen zugrunde. Bei pH 5,8 starben dagegen nur 28 % der Pflanzen ab, und zwar nach der ersten Woche, während bei pH 7,1 keine Pflanze einging. Der Pilz vermochte also auch bei den für ihn ungünstigen Wachstumsbedingungen hinsichtlich der Azidität und Feuchtigkeit des Bodens

TABELLE 14

*Einfluss des Wassergehaltes des Bodens und der Bodenreaktion auf die  
„Zwarte houtvatenziekte“  
(12 Pflanzen pro Serie. Erkrankte Pflanzen in allen Infektionsserien 100 %,  
in den Kontrollserien 0 %)*

Versuchsreihen		1 Woche nach Infizierung			5 Wochen nach Infizierung	
Wassergehalt in % d. absoluten wasserkap.	pH	Anzahl Pflanzen bereits abgest. in %	Durchschn. Stärke d. Symptome		Anzahl Pflanzen nach 1 Woche abgestorben	Durchschn. Stärke d. Sympt. im Rübenkörper
			an den Blättern	im Rübenkörper		
20	4,9	33	+++	++	50	++
	5,8	0	++	++	16	+++
	7,1	0	++	++	0	+++
50	4,9	16	+++	++	16	++/+++
	5,8	0	++/+++	++	16	+++
	7,1	0	++	++	0	+++
80	4,9	58	++++	++++	80	++++
	5,8	0	++++	++++	50	++++
	7,1	0	+++/	+++	0	+++
			++++			

die in einem schlechten Dispositionszustand befindliche Futterrübe zum Absterben zu bringen.

Die Wachstumsstärke des Pilzes scheint nach der Tabelle 14 keinen oder nur einen geringen Einfluss auf die Stärke der Erkrankung auszuüben. So nimmt die Stärke der Symptome bei einem Wassergehalt von 80 % und bei pH 7,1 ab, während der Pilz im Versuchsboden bei diesem pH noch kräftiger wächst als bei pH 5,8 und 4,9 (s.S. 51). Bei einem Wassergehalt von 20 und 50 % ist jedoch bei der zweiten Begutachtung (5 Wochen nach der Infizierung) eine Abnahme der Stärke der Symptome im Rübenkörper bei pH 4,9 festzustellen. Entsprechend der Pilzentwicklung war zwar der Befall der Seitenwurzeln bei pH 4,9 viel geringer als in den Reihen mit pH 5,8 und 7,1, aber der Unterschied zwischen den Pflanzen dieser Reihen hinsichtlich der Entwicklung war so gross, dass bei pH 4,9 verhältnismässig wenig zugeführte toxischen Stoffwechselprodukte des Pilzes genügten, bei den sehr kleingeblichen Pflanzen mittelstarke bis sehr starke Symptome hervorzurufen und sogar diese abzutöten. Dagegen konnten bei pH 7,1 kräftig entwickelten Pflanzen trotz des starken Seitenwurzelnbefalles und damit starker Toxinzufuhr weiter wachsen, wobei die älteren Blätter fortwährend abstarben und jüngere ihre Stellen einnahmen.

Zusammenfassend müssen wir feststellen, dass die Stärke der Krankheit mit steigendem Säuregrad des Bodens (von pH 7,1 bis 4,9) zunimmt, obgleich der Befall der Seitenwurzeln bei pH 4,9 geringer ist als bei 5,8 und 7,1.

### 5. Der Einfluss der Temperatur des Bodens auf den Wirt, auf den Erreger und auf die Krankheit (Versuch 3)

#### a. Der Einfluss auf den Wirt

Wir begnügen uns hier nur mit der Betrachtung der Wirkung der verschiedenen

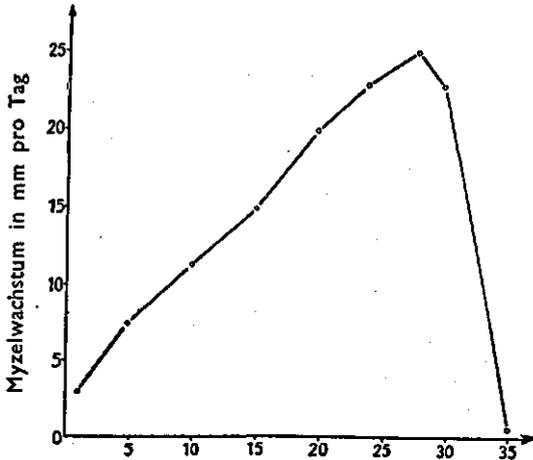


Abbildung 15. Einfluss der Temperatur auf das Wachstum von *Pythium irregulare*.

Bodentemperaturen auf die Kontrollpflanzen.

Die Pflanzen wuchsen zunächst in allen Versuchsreihen bei gleicher Temperatur, und zwar bei 20 °C. Erst 4 Wochen nach der Saat (2 Tage vor der Infizierung) wurde die Temperatur der 3 verschiedenen Temperatur-Reihen verändert und auf 15 °C, 20 °C bzw. 25 °C gebracht. Bei weiterem Wachstum war jedoch im allgemeinen zwischen den Kontrollpflanzen in den verschiedenen Temperatur-Reihen (bei gleichbleibendem Wassergehalt) kein deutlicher Unterschied festzustellen.

Es sei hierbei noch erwähnt, dass zu dieser Jahreszeit (September bis zur ersten Oktoberhälfte) ungewöhnlich kühle Witterung herrschte, wodurch die Pflanzen im Wachstum etwas gehemmt wurden.

#### b. Der Einfluss auf den Erreger

MIDDLETON (39) gibt für das Wachstum von *Pythium irregulare* folgende Werte an: Minimum: 1 °C, Optimum: 28 °C und Maximum: 35 °C. ROTH and RIKER (48) stellten als optimale Wachstumstemperatur 28 °C fest.

Der Pilz wächst auf Kartoffelglukose-Agar etwa zwischen den Temperaturen 1 °C und 35 °C und zwar zwischen 15 °C und 30 °C gut, wobei das Optimum etwa bei 28 °C liegt (Abb. 15). Im Versuchsboden war zwar auch ein besseres Wachstum

TABELLE 15

Einfluss des Wassergehaltes des Bodens und der Temperatur auf das Wachstum von *Pythium irregulare* (pH des Versuchsbodens 5,8)

Wassergehalt in % d. absoluten Wasserkap.	Temperatur	Nach 3 Tagen		Nach 8 Tagen	
		Durchmesser der Kultur im Mittel in cm <sup>1)</sup>	Wachstumsstärke im Mittel <sup>2)</sup>	Durchmesser der Kultur im Mittel in cm <sup>1)</sup>	Wachstumsstärke im Mittel <sup>2)</sup>
20	15 °C	0,5	I	1,5	I
	20 °C	1	I	2,5	I
	25 °C	1	I	3	I-II
50	15 °C	5	I-II	8	II
	20 °C	8	I-II	8	II
	25 °C	8	II	8	II-III
80	15 °C	8	II	8	II-III
	20 °C	8	II	8	III
	25 °C	8	III	8	IV

<sup>1)</sup> Der Durchmesser der Oberfläche des Versuchsbodens betrug 8 cm.

<sup>2)</sup> Für die Bewertung der Wachstumsstärke siehe Text S. 50.

TABELLE 16

*Einfluss des Wassergehaltes des Bodens und der Temperatur auf die  
„Zwarte Houtvatenziekte“ (Die Kontrollpflanzen in allen Serien blieben gesund)*

Versuchsreihen		1 Woche nach Infizierung				4 Wochen nach Infizierung		
		Anzahl Pflanzen		Durchschn. Stärke d. Symptome		Anzahl Pflanzen	Durchschn. Stärke d. Symptome	
Wassergehalt in % d. absoluten Wasserkap.	Temperatur	mit Blattsympt. in % d. vorhandenen	mit verfärb. Gefässen in % d. geschnittenen	an den Blättern	im Rübenkörper	mit Blattsympt. in % d. vorhandenen	mit verfärb. Gefässen in % d. geschnittenen	im Rübenkörper
20	15 °C	0	0	-	-	0	16	+
	20 °C	8	16	+	+	16	50	+
	25 °C	75	66	+	+	50	100	++
50	15 °C	50	33	+	+/+++	33	66	+
	20 °C	60	66	+/+++	+/+++	60	80	++
	25 °C	100	100	++	++/++++	80	100	+++
80	15 °C	80	80	+/+++	+	40	100	++
	20 °C	58	50	+/+++	+/+++	66	83	+/+++
	25 °C	100	100	++	++/++++	66	100	++

des Pilzes bei höheren Temperaturen festzustellen, aber der Unterschied zwischen den Temperatur-Reihen war gering, während zwischen den Feuchtigkeitsreihen ein grosser Unterschied bestand (Tab. 15).

#### *c. Der Einfluss auf die Krankheit*

Die Ergebnisse vom Versuch 3 lassen einen gewissen Einfluss der Temperatur auf die Krankheit erkennen. Wie auf der Tabelle 16 festzustellen ist, ist dieser Einfluss bei einem niedrigen Wassergehalt des Bodens (20 %) besonders gross. Dieser nimmt aber mit steigendem Wassergehalt an Bedeutung ab, so dass wir bei einem Wassergehalt von 80 % der absoluten Wasserkapazität bei der zweiten Begutachtung (4 Wochen nach der Infizierung) von einem solchen Einfluss nicht mehr sprechen können. ROTH and RIKER (48), die mit dem Wurzelbrand bei der Fichte, verursacht durch *Pythium irregulare*, arbeiteten, erzielten auch ähnliche Resultate. Während bei pH 6,4 und 60 % der absoluten Wasserkapazität die Wurzelbrand-Fälle bei 12 ° bis 24 °C gleichblieben und beinahe 100 % betrug, wurde bei pH 5,5 und 40 % der Wasserkapazität bei 12 °C kein, bei 15 °C ein geringer (etwa 13 %) und bei 24 °C der höchste Befall (65 %) festgestellt.

Der Unterschied zwischen den verschiedenen Feuchtigkeits-Reihen hinsichtlich des Einflusses der Temperatur auf die Krankheit (Tab. 16) ist in erster Linie auf das unterschiedliche Wachstum des Pilzes in den betreffenden Reihen bzw. Serien zurückzuführen. Denn es war, wie bereits besprochen, zwischen den Kontrollpflanzen von verschiedenen Temperatur-Reihen kein Unterschied zu beobachten. Zwar war der Unterschied in den verschiedenen Temperatur-Reihen hinsichtlich des Pilzwachstums auch nicht gross, aber dieser geringe Unterschied könnte bei einem schwachen Wachstum des Pilzes doch zur Auswirkung kommen. Es dürfte hierbei auch der Einfluss der Temperatur auf das Wurzelwachstum und auf die

Infektion, die wir im Rahmen dieses Versuches nicht berücksichtigt hatten, eine Rolle gespielt haben.

Zusammenfassend: Die Temperatur übt einen deutlichen Einfluss auf die „Zwarte houtvatenziekte“ aus. Dieser Einfluss nimmt mit steigendem Wassergehalt des Bodens ab.

## 6. Der Einfluss des Wassergehaltes des Bodens auf den Wirt, auf den Erreger und auf die Krankheit (Versuch 2 und 3)

### a. Der Einfluss auf den Wirt

Wir wollen hier nicht die Rolle des Wassergehaltes des Bodens beim Rübenwachstum behandeln, sondern wir beschränken uns auf den Vergleich der Kontrollpflanzen in verschiedenen Feuchtigkeits-Reihen. Wie bereits unter Methodik angedeutet wurde, wurde der Wassergehalt des Bodens in verschiedenen Feuchtigkeits-Reihen zunächst auf 50 % der absoluten Wasserkapazität gehalten (Versuch 2 und 3) und erst einige Tage vor der Infizierung verändert und auf 20 %, 50 % bzw. 80 % der absoluten Wasserkapazität gebracht. In den darauffolgenden Wochen wuchsen die Pflanzen der Versuchsreihen mit 50 und 80 % Wassergehalt normal weiter, während die Pflanzen in der Reihe mit 20 % Wassergehalt im Wachstum beinahe stillstanden. Ihre Blätter wurden tagsüber schlapp, jedoch ging keine von ihnen ein. Die Pflanzen der Reihe mit 80 % Wassergehalt waren im allgemeinen etwas grösser als diejenigen in der Reihe mit 50 % Wassergehalt, obgleich ihre älteren Blätter vergilbten, was auf einen Luftmangel im Boden zurückzuführen ist.

### b. Der Einfluss auf den Erreger

Die mit dem Pilz im Versuchsboden durchgeführten Versuche, bei welchen der Wassergehalt des Bodens mit der Bodenreaktion bzw. mit der Temperatur kombiniert wurde, zeigten, dass das Wachstum des Pilzes in allen Kombinationen mit steigendem Wassergehalt des Bodens begünstigt wird. Wie in den Tabellen 13 und 15 festzustellen ist, wächst der Pilz bei einem niedrigen Wassergehalt des Bodens sehr langsam, kümmerlich und bei höherem Wassergehalt dagegen schnell und kräftig. Der Unterschied hinsichtlich der Pilzentwicklung war zwischen den Reihen mit 20 % und 50 % Wassergehalt viel grösser als zwischen denjenigen mit 50 % und 80 % Wassergehalt.

### c. Der Einfluss auf die Krankheit

Der Einfluss des Wassergehaltes des Bodens auf die Krankheit kam in beiden Versuchen (Versuch 2 und 3) deutlich zum Ausdruck. Wenn wir die Tabellen 14 und 16 betrachten, so stellen wir fest, dass die Stärke der Symptome im allgemeinen mit steigendem Wassergehalt des Bodens zunimmt. Die Grösse der Kontrollpflanzen nahm aber auch mit steigendem Wassergehalt zu. Deshalb ist die stärkere Erkrankung der Pflanzen in den Versuchsreihen mit 50 und 80 % Wassergehalt in erster Linie dem besseren Wachstum des Pilzes im Boden zuzuschreiben. Hier dürfte jedoch der Einfluss der Bodenfeuchtigkeit auf die Wurzelentwicklung auch eine Rolle gespielt haben. Denn das Wurzelsystem besteht bei einem Wassermangel im Boden aus wenigen, hauptsächlich dickeren und bei genügender bzw. hoher Feuchtigkeit, bis 70 % der wasserhaltenden Kraft, aus vielen

feinen Seitenwurzeln (46). Wie die Vorversuche zeigten, vermag der Pilz nur die feinen Seitenwurzeln, zu befallen, wodurch dann der Befall der Wurzeln in den Reihen mit 50 % und 80 % Wassergehalt begünstigt wurde. Die Anzahl abgestorbener Pflanzen in der Reihe mit pH 4,9 macht jedoch hier eine Ausnahme (Versuch 2; Tab. 14), indem bei 20 % Wassergehalt noch mehr Pflanzen eingingen als bei 50 %. Dies ist die Folge der sehr ungünstigen Wachstumsbedingungen der Pflanzen in der letztgenannten Serie. So gingen einige von den im Wachstum stark zurückgebliebenen Pflanzen infolge des Wassermangels schon bei einem verhältnismässig schwachen Befall zugrunde.

Wenn wir die Ergebnisse der Versuche 2 und 3 in den Tabellen 14 bzw. 16 vergleichen, so fällt es auf, dass die Pflanzen bei den ersteren noch stärker erkrankt waren als bei den letzteren. Dieser Unterschied wäre darauf zurückzuführen, dass die Versuche in verschiedenen Jahreszeiten und damit bei unterschiedlicher Aussentemperatur durchgeführt wurden. Denn die ziemlich hohen Temperaturen im Glashaus (variierend zwischen 20 ° und 28 °C) hatten eine hohe Transpiration der Pflanzen zur Folge (Versuch 2), wobei dann entsprechend dem grossen Transpirationsstrom mehr toxische Stoffwechselprodukte des Pilzes in die Pflanze gelangten, als im Versuch 3, bei welchem genau das Gegenteil der Fall war, weil in den Herbstmonaten 1950 eine ungewöhnlich kühle Witterung herrschte, wobei die Tagestemperaturen zwischen 8–20 schwankten.

#### SCHLUSSFOLGERUNGEN

Die vorliegenden Untersuchungen zeigen, dass die Pflanzen beim Vorhandensein des Erregers bei fast allen Umweltbedingungen erkranken aber bei günstigen Wachstumsbedingungen die Krankheit besser überstehen und sich schneller erholen. Es sind daher hier die das Rübenwachstum fördernden Massnahmen zu empfehlen. Vor allem ist die Kalkung der saueren und die Entwässerung der nassen Böden zu erwähnen. Die Kulturmassnahmen, wie Stallmistgabe und zeitige Unkrautvertilgung durch mehrmaliges Hacken, welche eigentlich mit dem Rübenbau eng verbunden sind, sollen nicht vernachlässigt werden, was aber bei verschiedenen Kleinbauern doch noch geschieht. Für eine ausreichende Bekämpfung der Krankheit bieten jedoch diese Massnahmen keine Gewähr.

Von grosser Wichtigkeit ist die natürliche Mikroorganismenflora im Boden. Wie diesbezügliche infektionsversuche mit sterilisiertem und nicht sterilisiertem Ton- und Humussandboden erkennen liessen, waren die in sterilisiertem Boden kultivierten Pflanzen in beiden Bodenarten viel stärker erkrankt als diejenigen in nicht sterilisiertem Boden. Während die Pflanzen in beiden sterilisierten Bodenarten mehr oder weniger gleich stark erkrankt waren, wiesen die in nicht sterilisiertem Boden befindlichen Pflanzen in dieser Beziehung grosse Unterschiede auf. So zeigten in nicht sterilisiertem Tonboden nur wenige Pflanzen leichte Krankheitserscheinungen an den Blättern, welche nach einigen Wochen durch Absterben der älteren Blätter verschwanden und nicht wieder auftraten. Im nicht sterilisierten Humussandboden, der von einem gesunden Feld stammte, waren dagegen alle Pflanzen leicht bis stark erkrankt. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass bei dem Auftreten der Krankheit sowie hinsichtlich der Stärke derselben nicht nur das Vorhandensein des Erregers, sondern auch die Anwesenheit seiner Antagonisten ausschlaggebend ist. Die Stallmistdüngung kann in dieser Richtung gute Dienste leisten, da mit dieser verschiedene Mikroorganismen dem Boden zugeführt werden.

## ZUSAMMENFASSUNG

1. Die „Zwarte houtvatenziekte“ der Futterrübe wurde auf dem Felde in Verbindung mit der Witterung und Bodenstruktur studiert.
2. Auf Grund von Feldbeobachtungen wurde festgestellt, dass die Krankheit ausschliesslich auf leichteren Bodenarten (auf Humussandboden und lehmigen Sandboden) auftritt.
3. Die nasse und kühle Witterung in den Monaten Mai und Juni begünstigt ein starkes Auftreten der Krankheit.
4. Es konnte kein Unterschied zwischen den kranken und gesunden Feldern hinsichtlich der Bodenstruktur festgestellt werden.
5. Es wurden mit verschiedenen Stämmen von *Pythium irregulare* und *Pythium de Baryanum* bei Futter- und Zuckerrüben Infektionsversuche durchgeführt und die Toxigenität derselben mit Hilfe von in synthetischer Nährlösung abgeschiedenen Stoffwechselprodukten geprüft.
6. Zwischen Futter- und Zuckerrübe konnte hinsichtlich der „Zwarte houtvatenziekte“ kein Unterschied festgestellt werden.
7. Verschiedene *Pythium irregulare*-Stämme vermögen im Keimstadium der Rüben den Wurzelbrand und später die Seitenwurzelerkrankung hervorzurufen. Es sind aber nur wenige Stämme imstande, die „Zwarte houtvatenziekte“ zu verursachen.
8. Der Nährstoffgehalt des Bodens übt auf die Stärke der Erkrankung keinen auf die Überwindung der Krankheit (bzw. auf eine frühere oder spätere Erholung der Pflanzen von der Krankheit) aber einen deutlichen Einfluss aus.
9. Die „Zwarte houtvatenziekte“ wird durch toxische Stoffwechselprodukte des Pilzes, welche in den Seitenwurzeln abgeschieden werden und mit dem Transpirationsstrom in die Pflanze gelangen, verursacht.
10. Die hinsichtlich der „Zwarte houtvatenziekte“ verschieden stark pathogenen Stämme weisen in ihrem Kulturfiltrate auch verschieden starke Toxigenität auf, und zwar besteht zwischen der Pathogenität in vivo und der Toxigenität in vitro immer ein Parallelismus.
11. Ferner wurde der Einfluss des Sauerstoffgehaltes der Bodenluft, der Bodenreaktion, der Temperatur und des Wassergehaltes des Bodens auf die „Zwarte houtvatenziekte“ untersucht.
12. Zwischen dem Sauerstoffgehalt der Bodenluft und der „Zwarte houtvatenziekte“ konnte keine direkte Abhängigkeit festgestellt werden.
13. Die Stärke der Erkrankung nimmt mit sinkendem pH-Wert des Bodens (von pH 7,1 bis 4,9) zu. Während bei pH 4,9 rund 35 % der Pflanzen innerhalb einer Woche und 50 % der übriggebliebenen in den folgenden Wochen eingingen, starben bei pH 5,8 nur 28 % der Pflanzen ab, und zwar erst nach der zweiten Woche. Bei pH 7,1 ging dagegen keine Pflanze ein.
14. Die Temperatur übt auf die „Zwarte houtvatenziekte“ einen gewissen Einfluss aus. Dieser Einfluss kommt bei einem Wassergehalt von 20 und 50 % der absoluten Wasserkapazität des Bodens besonders deutlich zum Ausdruck. Bei einem hohen Wassergehalt des Bodens (80 % des absoluten Wasserkapazität) dagegen war zwischen den Pflanzen der Temperatur-Reihen 15°, 20° und 25 °C hinsichtlich der Stärke der Erkrankung nur ein geringer Unterschied festzustellen. Es war sogar bei der zweiten Begutachtung (4 Wochen nach der Infizierung) überhaupt keinsolcher Unterschied mehr zu konstatieren.
15. Mit steigendem Wassergehalt des Bodens nimmt die Anzahl der erkrankten Pflanzen sowie die Stärke der Erkrankung zu.

## SUMMARY

The Black vessel disease of the beet, a disease characterized by a mosaic pattern on the leaves and a black discoloration of the xylem vessels (fig. 1 and 2), was studied in the field and in the greenhouse. Observations were made and experiments were carried out in relation to the factors influencing the condition of the soil.

Extensive field observations made it evident that the disease exclusively occurs on sandy soils, generally of the lighter type, sometimes also on sandy loam.

Wet and cool weather during May and June favours a heavy incidence of the disease.

No difference in soil structure could be found between healthy and diseased fields (table 1 and 2).

Several strains of *Pythium irregulare* and one strain of *P. de Baryanum* were used in the experiments in the greenhouse. The species could be distinguished by the form of the oogonia (table 3, 4 and fig. 4).

The pathogenicity was tested in water- and in soil cultures. The toxicity of the staling products secreted by the fungus in the culture medium was determined using single leaves (fig. 8).

The strains were different in their pathogenicity. *P. de Baryanum* and all the strains of *P. irregulare* were able to cause damping-off and to attack the secondary roots in a later stage (table 5-9, fig. 5), but only a few strains of *P. irregulare* could cause the symptoms of the Black vessel disease (fig. 7).

Toxic metabolic products of the fungus, secreted in the lateral roots and transported through the water-conducting tissues, cause the symptoms of the Black vessel disease (fig. 8 and 9).

A correlation exists between the degree of pathogenicity of the different strains of *Pythium irregulare* in vivo and the degree of toxicity of their staling products in vitro (table 8, 9 and 10).

No difference could be found between mangold and sugarbeet with regard to the Black vessel disease (table 6).

The amount of nutrients in the soil has no influence on the severity of the disease. It has, however, a marked influence on the recovery of the plants, which may occur sooner or later.

The influence of the oxygen content of the air present in the soil on the Black vessel disease was determined, as well as the influence of the temperature, the moisture content and the pH of the soil (fig. 11 and 12).

No relation between the oxygen content of the air in the soil on the occurrence and severity of the disease could be established (table 12).

The severity of the disease determined by the symptoms and by the number of diseased and dying plants increased with declining pH-values of the soil (from pH 7.1 to 4.9) (fig. 10 and 13). At pH 4.9 about 35% of the inoculated plants were killed within a week and 50% of the remaining plants died during the following weeks. At a pH 5.8, however, 28% of the plants died off only after the second week. No plants died at a pH 7.1 (table 14).

The influence of the temperature on the Black vessel disease is clearest at a moisture content of 20-50% of the moisture holding capacity of the soil, the disease being more severe at a higher temperature. At 80%, however, the attack was the same at 15°, 20° and 25° C or nearly so (table 16).

There is a positive correlation between the severity of the disease and the moisture content of the soil (table 14 and 16).

## LITERATURVERZEICHNIS

1. ACHROMEIKO, A., Zur Frage über den Einfluss der Struktur des Bodens auf dessen Fruchtbarkeit. Pfl. ern. Düng. Bodenk. A. 11, 36–50 (1928).
2. ALBRECHT, W. A. & JENNY, H., Available soil calcium in relation to „Damping-off“ of soy bean seedlings. Bot. Gaz. 92, 263–278 (1931).
3. APSISTS, J., Bodenstruktur und Pflanzenwachstum. Bodenk. u. Pfl. ern. 3, 336–345 (1937).
4. BARY, A. de., Zur Kenntnis der *Peronosporaeen*. Bot. Ztg. 39, 542 (1881).
5. BERL-LUNGE., Chemisch-technische Untersuchungsmethode. Berlin, 1, 652–654; 687–691 (1931).
6. BRANDENBURG, E., Onderzoekingen over ontginningsziekte. Tijdschr. Pl. ziekten, 37, 17–48 (1931).
7. ———, Ontginningsziekte en kopergebrek. Med. Inst. Suikerbietenteelt, 9, 254 (1935).
8. ———, Über ein pilzliches Toxin in der Gattung *Pythium* und seine Wirkung auf die Wirtspflanze. Z. Pfl.-krankh. u. Pfl.-schutz, 55, 129–138 (1948).
9. ———, Über die Bildung von „Toxinen“ in der Gattung *Pythium* und ihre Wirkung auf die Pflanze. Auszug aus einem Vortrag, gehalten auf der Pflanzenschutztagung in Fulda 11.10.1949.
10. BROOKS, F. T. & BRENCHLEY, G. H., Silver-leaf disease. J. Pom. & Hort. Sci. 5, 61 (1926).
11. BROWN, W., On the germination and growth of fungi at various temperatures and in various concentrations of oxygen and of carbon-dioxyde. Ann. Bot. 36, 257–283 (1922).
12. BUCHHOLZ, W. F., Factors influencing the pathogenicity of *Pythium de Baryanum* on sugar beet seedlings. Phytopath. 28, 448–474 (1939).
13. BUISMAN, C. J., Root rots caused by *Phycomycetes*. Med. Phytopath. Lab. „W. C. Scholten“ 11, 1–51 (1927).
14. BUSSE, W. u. ULRICH, P., Über das Vorkommen von Wurzelbranderregeren auf der Rübensaat. Arb. Kais. Biol. Anst. Land- u. Forstw. 6, 373–384 (1908).
15. ———, PETERS, L. u. ULRICH, P., Über das Vorkommen von Wurzelbranderregeren im Boden. Arb. Kais. Biol. Anst. Land- u. Forstw. 6, 260–302 (1913).
16. BUTLER, E. J., An account of the genus *Pythium* and some Chytridiaceae. Mem. Dept. Agr. India Bot. 1, 1–160 (1907).
17. CLAUSON-KAAS, N., PLATTNER, PL. A. u. GAÜMANN, E., Über ein welkeerzeugendes Stoffwechselprodukt von *Fusarium lycopersici* Sacc., Ber. Schweiz. Bot. Ges. 54, 523–528 (1944).
18. CLEVERINGA, O. J., De betekenis van de structuur (werkzaamheid) van de bouwgrond in verband met het optreden van plantenziekten en beschadigingen. Landbouwk. Tijdschr. 50, 21 (1938).
19. COONS, G. H. and STEWART, D., Prevelation of seedling diseases of sugar beets. Phytopath. 17, 259–296 (1927).
20. EDSON, H. A., Seedling diseases of sugar beets and their relation to root-rot and crown-rot. J. Agr. Res. 4, 135–168 (1915).
21. GARRETT, S. D., Soil-borne fungi and the control of root disease. Imp. Bureau Soil Sci. Techn. Comm. No 34 (1939).
22. GAÜMANN, E., Pflanzliche Infektionslehre. Basel (1946).
23. ———, NAEF-ROTH u. MIESCHER, G., Untersuchungen über das Lycopersmin. Phytopath. Z. 16, 257 (1950).

24. GÖRBLING, J., Die Grundlagen der Gare im praktischen Ackerbau. Hannover, 1, 31–32 (1948).
25. GORENZ, A. M. LARSON, R. H. & WALKER, J. C., Factors affecting pathogenicity of pink root fungus of onions. J. Agr. Res. 78, 1–18 (1949).
26. GRAM, E. o. BOVIEN, P., Rodfrugternes sygdomme og skadedyr. Kobenhavn. (1942).
27. GROSJEAN, J., Het vraagstuk van de loodglansziekte bij vruchtbomen. Tijdschr. Pl.-ziekten 49, 172–178 (1943).
28. HAAN, K. DE., Mangaangebreek bij suikerbieten. Nieuwe Veldbode, 1, 1102 (1934).
29. HAWKINS, L. A. & HARVEY, R. B., Physiological study of the parasitism of *Pythium de Baryanum* Hesse on the potato tuber. J. Agr. Res. 18, 275–298 (1919).
30. HEYL, W., Der Einfluss der Bodenstrukturerkrankungen auf die Wurzelentwicklung landwirtschaftlicher Kulturpflanzen. Kühn-Archiv, 56, 215–235 (1942).
31. 's JACOB, J. L., Een nieuwe bibitziekte in de Besoeki tabak. Med. Besoekisch Proefst. 50, 53–68 (1933).
32. KRAUSE, M., Russische Forschungen auf dem Gebiete der Bodenstruktur. Landw. Jb. 73, 603–690 (1931).
33. LUNDEGARDH, H., Die Bedeutung des Kohlensäuregehaltes und der Wasserstoffionkonzentration des Bodens für die Entstehung der Fusariosen. Botaniska Notiser, H. 1, 25–52 (1923).
34. ———, Der Kreislauf der Kohlensäure in der Natur. Jena, 203–207 (1924).
35. LUYK, A. VAN., Pilzkulturen in feuchten Kammern. Med. Phytopath. Lab. „W. C. Scholten” 11, 58–59 (1927).
36. ———, Untersuchungen über Krankheiten der Gräser. Ibid. 13, 1–22 (1934).
37. ———, Antogonism between various microorganisms and different species of the genus *Pythium*, parasitizing upon grasses and lucerne. Ibid. 14, 43–83 (1938).
38. MEURS, A., Wortelrot veroorzaakt door schimmels uit de geslachten *Pythium* Pringsheim en *Aphanomyces* de Bary. Diss. Baarn (1928).
39. MIDDLETON, J. T., The taxonomy, host range and geographic distribution of the genus *Pythium*. Mem. Torrey Bot. Club. 20, No 1 (1943).
40. PETERS, L., Über die Erreger des Wurzelbrandes. Arb. Kais. Biol. Anst. Land- u. Forstw. 8, 211–259 (1911).
41. ———, Seitenwurzelerkrankungen der Futter- und Zuckerrüben. Mitt. Kais. Biol. Anst. Land- u. Forstw. No 11 (1911).
42. PETRI, L., Nuove osservazioni sulla biologia e sul parassitismo della „*Blepharospora cambivora*”. Ann. R. Istituto super. forest. nazionale. 9, 1–10 (1924).
43. PFÄLTZER, A., Het vrucht- en bladvuur van de komkommer. Diss. Baarn. (1927).
44. QUANJER, H. M., Enkele kenmerken der „Vergelings”-ziekte van suiker- en voederbieten ter onderscheiding van de „Zwarte houtvaten”-ziekte. Tijdschr. Pl.-ziekten 40, 1–14 (1934).
45. RAPER, J. R., A method of freeing fungi from bacterial contamination. Sci. 85, 342 (1937).
46. ROEMER, TH. — SCHEFFER, F., Lehrbuch des Ackerbaues. Berlin, 132–148 (1949).

47. ROODENBURG, J. W. M., Zuurstofgebrek in den grond in verband met wortelrot. Diss. Baarn. (1927).
48. ROTH, L. F. & RIKER, A. J., Influence of temperature, moisture, and soil reaction on the damping-off of red pine seedlings by *Pythium* and *Rhizoctonia*. J. Agr. Res. 67, 265-285 (1943).
49. SCHREVEN, D. A. VAN., De vergelingsziekte bij de biet en haar oorzaak. Med. Inst. Suikerbieteelt. 2-8 (1936).
50. ———, Kopergebrek bij de suikerbiet. Ibid. 37-52 (1936).
51. SCHUYLENBORGH, J. VAN., A study on soil structure. Diss. Wageningen. (1947).
52. SORAUER, P., Handbuch der Pflanzenkrankheiten, 1, Teil I, 140 (1933).
53. ———, Handbuch der Pflanzenkrankheiten, 1, Teil II, 116-127 (1933).
54. STEWART, D., Sugar-beets yellows caused by *Fusarium conglomerans* var. *betae*. Phytopath. 21, 59-70 (1931).
55. STOKLASA, J., Beitrag zur Kenntnis der Nährstoffaufnahme unserer Halmfrüchte. Fühling's Landw. Ztg. 58, 793-813 (1909).
56. VOLK, A., Einflüsse des Bodens der Luft und des Lichtes auf die Empfänglichkeit der Pflanzen für Krankheiten. Phytopath. Z. 3, 1-88 (1931).

## STELLINGEN

### I

De opvatting van CLEVERINGA, dat slechte bodemstructuur het optreden van de Zwarte houtvatenziekte bij bieten bevordert, wordt niet door de feiten ondersteund.

### II

*Pythium irregulare* BUISMAN is in het algemeen zowel wat betreft wortelbrand als ook wat betreft wortelaantasting van de bieten sterker pathogeen dan *Pythium de Baryanum* HESSE.

### III

De conclusies, die uit infectieproeven met gesteriliseerde grond getrokken kunnen worden, behoeven niet altijd voor de praktijk geldigheid te hebben.

### IV

De toxine van *Pythium irregulare* kan evenals die van *Paramaecium aurelia* als een virus worden beschouwd.

### V

De invoering van de suikerbietenteelt in landbouwbedrijven leidt tot een intensivering van het bedrijf.

### VI

Het gebruik van gecalibreerd bietenzaad verdient de voorkeur boven het gebruik van gesegmenteerd zaad, omdat bij gecalibreerd zaad de opkomst en eerste groei beter en regelmatiger verloopt.

### VII

De bodemeenheden, die door de moderne bodemkartering worden vastgesteld, kunnen als een objectieve grondslag dienen van alle landbouwkundige vraagstukken, die met de bodem verband houden.

### VIII

Voor de bepalingen van de bodemvruchtbaarheid in de gebieden, waar door de mens weinig of geen plantenvoedingsstoffen aan de bodem worden toegevoegd, hebben mineralogische methoden de voorkeur boven chemische.

### IX

Het is niet mogelijk de bodemstructuur met één bepalingmethode te karakteriseren.

## X

Ter intensivering van de landbouw in Turkije moet de bestaande voorlichtingsdienst verder uitgebouwd en de oprichting van landbouwcoöperaties bevorderd worden.

## XI

De vorming van verenigde staten van Europa door opheffing van grenzen zal tot verhoging van levenspeil in alle Europese landen leiden.