



# NACHRICHTENBLATT FÜR DEN DEUTSCHEN PFLANZENSCHUTZDIENST

Herausgegeben von der Deutschen Akademie der Landwirtschaftswissenschaften zu Berlin durch die Institute der Biologischen Zentralanstalt in Aschersleben, Berlin-Kleinmachnow, Naumburg/Saale

## Über die Wirkung von „Wofatox“ auf Pollen und Narbe der Rapsblanze

Von K. Stoll,

Deutsche Akademie der Landwirtschaftswissenschaften zu Berlin,

Biologische Zentralanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Phytopathologisches Institut Aschersleben.

Die Ausweitung der Rapsanbaufläche auf die Gebiete der subsarmatischen Klimaprovinz innerhalb der DDR hat den Pflanzenschutz vor neue, zum Teil ungewöhnliche Aufgaben gestellt. In den Bezirken außerhalb des ökologischen Optimums wird der Raps durch Krankheiten und Schädlinge bedroht, die in den maritimen Gebieten die Erträge nur unbedeutend beeinflussen. Ich erwähne unter den Schädlingen in erster Linie den Rapsglanzkäfer (*Meligethes aeneus* Fabr.), die Kohlschotenmücke (*Perrisia brassicae* Winn.), den großen Kohltrieb- rüßler (*Ceuthorrhynchus napi* Gyll.), den Kohlschoten- rüßler (*Ceuthorrhynchus assimilis* Payk), die Kohl- rübenblattwespe (*Athalia colibri* Christ) u. a. Schäd- linge, die neben der Kohlblattlaus (*Brevicoryne brassicae* L.) und dem Rapserdflor (*Psylliodes chrysocephala* L.) die Rentabilität unter gewissen Bedingungen in Frage stellen und R o e m e r im Jahre 1948 zu dem Ausspruch veranlaßten, daß der gesamte Rapsanbau in unserem mitteldeutschen Klima- gebiet ein einziges Fiasko sei. Im Hinblick darauf, daß der Anbau dieser Kulturpflanze unter den be- sonderen Klimaverhältnissen Mitteldeutschlands überwiegend ein phytopathologisches Problem ge- worden ist, hat man bald nach Kriegsende die synthetischen Kontaktinsektizide der Bekämpfung wichtiger Ölfruchtschädlinge dienstbar gemacht. Heute steht und fällt der Rapsanbau in Mittel- deutschland weitgehend mit der Wirksamkeit che- mischer Bekämpfungsmethoden. Die Ermittlung geeigneter Termine und Aufwandmengen der Kontaktinsektizide befindet sich heute noch vielfach im Stadium der Erprobung, die im wesentlichen auf die biologischen Besonderheiten der Schadinsekten und den annuellen Entwicklungsrhythmus der Pflanze Rücksicht nehmen muß.

Aus der Fülle der Fragen, die dem Pflanzenschutz im Ölfruchtbau erwachsen sind, sei an dieser Stelle ein Teilproblem herausgegriffen, das wohl nicht im Brennpunkt steht, jedoch in den letzten Jahren die Aufmerksamkeit der am Ölfruchtbau direkt oder indirekt interessierten Kreise, insbesondere der Im- ker, auf sich gelenkt hat.

Es handelt sich um die bereits gesetzlich geregelte Anwendung von Kontaktinsektiziden während der Blütezeit. Den Anstoß zur Bearbeitung dieser Frage gaben Beobachtungen des Imkermeisters Oeser über eine Beeinträchtigung des Fruchtansatzes und der Schotenentwicklung im Gefolge einer Behand- lung der Rapsbestände während der Blütezeit mit Estermitteln, zu denen in der DDR das Wolfener Präparat „Wofatox“ rechnet. Die Anwendbarkeit dieses Kontaktinsektizids während der Blütezeit ist damit zu einem Problem der pathologischen Physio- logie des Rapses geworden. Wir haben uns in der verflossenen Vegetationsperiode der Frage zuge- wandt, in wieweit eine Schädigung in wirtschaftlich fühlbarem Ausmaß nach Anwendung von Wofatox- staub in der Hauptblütezeit in Betracht gezogen werden muß.

Einleitend sei nachdrücklich unterstrichen, daß die Klärung dieser Frage auf experimentellem Wege nach dem verbreiteten Schema der Versuchs- parzellen mit unbehandelten Vergleichsflächen als Bezugsgröße erheblichen Schwierigkeiten begegnet. Wir müssen beachten, daß der Einsatz der fraglichen Kontaktinsektizide während der Blütezeit einerseits die Möglichkeit direkter Schädigungen des Frucht- ansatzes einschließt, andererseits durch Unter- drückung des Schädlingsbefalles eine für den Fruchtansatz nicht minder wichtige Komponente nahezu gänzlich ausschaltet. Wir führten einen Be- stäubungsversuch mit Wofatox im Freiland an Sommerraps durch. Zur Ausschaltung von Einwir- kungen der Niederschläge wurden Vergleichsparzel- len mit künstlicher Bedeckung nach folgendem Schema angelegt (Tab. 1):

Bald nach der Behandlung stellten sich die ersten Auswirkungen ein. Die nicht bestäubten Pflanzen wurden rasch von Blattläusen besiedelt, die sich namentlich im Schutz der Glasbedeckung vermeh- rten, während die mit Wofatox behandelten Pflanzen bis zum Abreifen der Schoten praktisch befallsfrei blieben. Es muß erwähnt werden, daß unsere dies- jährigen Feldversuche im Zeichen eines besonders heftigen Blattlausbefalles standen. Das am 1. August

Tabelle 1

Parzelle	Behandlungsart
1	bedeckt, unbehandelt
2	bedeckt, mit 10 kg/ha Wofatox bestäubt
3	bedeckt, mit 20 kg/ha Wofatox bestäubt
4	unbedeckt, unbehandelt
5	unbedeckt, mit 10 kg/ha Wofatox bestäubt
6	unbedeckt, mit 20 kg/ha Wofatox bestäubt

(Größe der Parzellen: 1,5 qm)

Bestäubungstermine; 28. 6. 1952, 5. 7. 1952, 12. 7. 1952)

1952 ermittelte Frischgewicht der grünen Schoten brachte folgendes Ergebnis eines Freilandversuches mit unbedenkten Vergleichsparzellen:

Tabelle 2

Erträge der sechs oben angeführten Parzellen, ausgedrückt durch das Gewicht der grünen Schoten, die am 1. August 1952 geerntet wurden:

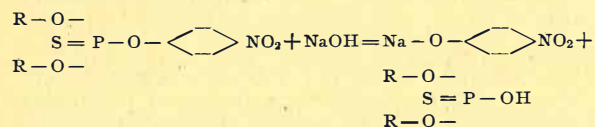
Parzelle	Frischgewicht in g
1	12
2	165
3	204
4	136
5	205
6	217

Das Ergebnis der Ertragsermittlung spiegelt somit im wesentlichen den insektiziden Effekt wider und läßt spezifisch phytotoxische Auswirkungen der Bestäubung während der Blütezeit nicht hervortreten. Diese werden nur dann zur Geltung kommen, wenn es gelingt, alle übrigen ertragsbeeinflussenden Komponenten fernzuhalten.

Bei dieser Sachlage haben wir unsere Untersuchungen in das Laboratorium verlegt, um störende Einflüsse der genannten Art zu eliminieren und uns zunächst der Frage zugewandt, unter welchen Voraussetzungen und an welcher Stelle des gesamten Blüh- und Befruchtungsvorganges mit einer Schädigung durch Wofatoxstaub zu rechnen ist. Die Untersuchungen sind z. Z. noch im Gange. Es soll kurz berichtet werden, zu welchen Teilergebnissen wir auf Grund von Untersuchungen am Rapspollen und an der befruchtungsfähigen Narbe gelangt sind.

Zuvor muß auf eine pathologisch wichtige Eigenschaft des vorliegenden Wirkstoffes hingewiesen werden. Der Ester ist ein in Wasser unlösliches, spezifisch schweres, farbloses Öl, das sich an der Luft rasch bräunt. In Gegenwart von Hydroxylionen zerfällt es unter Bildung eines intensiv gelbgefärbten Hydrolysates, das nach den Untersuchungen am analogen E 605 aus zwei Komponenten besteht, dem p-Nitrophenol, dessen dissoziierter Anteil die intensive Gelbfärbung bedingt, und einer Estersäure, auf deren Konstitution hier nicht näher eingegangen werden soll.

Demzufolge verläuft die Spaltung des Esters nach folgendem Schema:



Es ergibt sich das überraschende Resultat, daß neben dem p-Nitrophenolat nur die Alkylestersäuren auftreten. Die O-R-Gruppe wird nicht gespalten.

Das als Indikator der hydrolytischen Zerlegung in Erscheinung tretende p-Nitrophenol ist gleichzeitig zur quantitativen Erfassung des Esters in Handelspräparaten geeignet. Über neuere, verbesserte photometrische Methoden berichten Zeumer und Fischer (19).

Der unscharfe, auf Puffereigenschaften des Hydrolysats hinweisende Umschlagspunkt liegt in unserem Präparat im Bereich von 5,8 pH. Will man konstante Farblosigkeit erzielen, so muß dieser Grenzwert um einige Zehntel pH unterschritten werden. Die von Kohlwurzeln ausgeschiedene Atmungskohlensäure vermag den pH-Wert einer wäßrigen Wofatoxaufschwemmung bzw. ihres Filtrats nicht unter den Umschlagspunkt zu verschieben. Die Nährlösungen behalten auch nach wochenlanger Berührung mit dem Wurzelsystem ihren rein gelben Farbton, sofern nicht sekundäre Prozesse, über die sogleich berichtet werden soll, eine Zersetzung des Hydrolysats bewirken.

Tierkohle adsorbiert die farbige und vermutlich auch die farblose Komponente einer Wofatoxaufschwemmung in destilliertem Wasser weitgehend. Mit der Adsorption geht eine völlige Entgiftung gegenüber wofatoxempfindlichen Pflanzenorganen parallel. Kohlsämlinge, die in reinen p-Nitrophenollösungen und Wofatoxaufschwemmungen absterben, entwickeln sich auf einem mit Wofatox-Filtrat angereicherten Tierkohlefilter zu normalen, blühfähigen Pflanzen. Adsorptive Kräfte wirken auch im natürlichen Boden mit, worüber an anderer Stelle berichtet werden soll.

Der Wirkstoff unterliegt, wie Untersuchungen von Frohberger (2) gezeigt haben, im Pflanzenkörper raschem fermentativem Zerfall, der zu einem Verlust der Toxizität gegenüber der Pflanze führt. An der fermentativen Zersetzung sind höhere Pflanzen und Mikroorganismen in gleicher Weise beteiligt. Darüber hinaus tritt auch autoxydativer Zerfall häufig ein. Wir beobachteten an Wofatoxhydrolysaten unter völlig sterilen Bedingungen eine progressive, über mehrere Wochen sich erstreckende irreversible Entfärbung, verbunden mit weitgehender Entgiftung. Füllt man mehrere Reagenzröhrchen mit dem gelbgefärbten Filtrat, so beobachtet man bereits nach sechs bis acht Stunden in einzelnen Fällen eine völlige, irreversible Entfärbung, während andere Proben der gleichen Ausgangslösung ihre ursprüngliche Färbung wochenlang unverändert beibehalten. Diese Unregelmäßigkeiten verschwinden sofort, wenn man die Reagenzgläser einer besonders sorgfältigen Reinigung unterwirft oder Quarzglas verwendet. Eine zusätzliche Sterilisation bleibt jedoch ohne Wirkung. Intensives direktes Sonnenlicht beschleunigt die Zersetzung. Wir haben uns mit diesen Fragen nicht näher befaßt, vielmehr unsere Aufmerksamkeit der fermentativen Spaltung zugewandt.

Die von Frohberger (2) ermittelten Beziehungen konnten wir durch Untersuchungen über die von Kohlwurzeln ausgehende Entgiftung mit Wofatox ergänzen. Setzt man Blumenkohlsämlinge in Wofatoxfiltrate, so erfolgt in drei bis vier Tagen in Abhängigkeit von der Konzentration eine mehr oder weniger weitgehende Entfärbung der Lösung. Gleichzeitig treten an den Kohlpflanzen charakteristische Intoxikationen auf, über die Nolte (9) eingehend berichtet hat. Nach völliger Entfärbung der



Lösung bleiben derartige Symptome an frisch eingesetzten Kohlsämlingen aus. Wir konnten zeigen, daß die Kohlwurzel ein Ferment oder eine Gruppe von Fermenten in die Nährlösung abgibt, die in Abhängigkeit von der Temperatur, dem pH-Wert der Lösung und gewissen Begleitstoffen bzw. reaktionsfremden Ionen den Zerfall der Wofatoxkomponenten in wäßriger Lösung außerordentlich beschleunigen. Ansätze mit Wofatoxfiltrat zeigten ein Optimum der fermentativen Wirksamkeit um den Neutralpunkt, zwischen pH 6,5 und 7,0. Unterhalb pH 5 ist das Ferment unwirksam, im Bereich von pH 5 und pH 6,5 zeigt es eine abgestufte Aktivität. Temperaturen um den Gefrierpunkt des Wassers sowie oberhalb 60° C hemmen die Spaltung merklich. Das Temperaturoptimum liegt um 25° C. Von Schwermetallspuren erwies sich Cu (II) oberhalb 600 Gamma/L. als Hemmstoff der fermentativen Wofatoxspaltung. Andere Schwermetalle, wie Fe (III) und Mn (II), waren auch in höheren Konzentrationen, die in den üblichen Nährlösungen auftreten, ohne Einfluß. Tierkohlefiltrate der fermenthaltigen Nährlösung sind völlig unwirksam. Leuchtgas, das der Nährlösung zugeführt wird, verhindert die Spaltung irreversibel. Ob eine Blockierung der wirksamen funktionellen Gruppen des Ferments durch Leuchtgasbestandteile erfolgt oder ob lediglich Sauerstoffentzug verantwortlich ist, wurde nicht überprüft.

Zusammenfassend konnte unter Beweis gestellt werden, daß die Wurzel der Kohlpflanze einerseits große Mengen Wofatoxkomponenten ungehindert permeieren und in die oberirdischen Organe übertreten läßt, andererseits vermöge gewisser in das Medium ausgeschiedener Agentien eine völlige Zerlegung der toxischen Komponenten einer wäßrigen Wofatoxaufschwemmung herbeizuführen vermag. Die Intensität der Zerlegung sowie ihre Abhängigkeit von gewissen Außenfaktoren deuten auf eine fermentative Natur dieser Agentien. Von einer ausführlichen Darstellung muß an dieser Stelle abgesehen werden.

Die Pflanze ist somit kein wehrloser Spielball des einströmenden Toxins, sondern vermag sich seiner bereits vor dem Eintreten in das lebende Gewebe mehr oder weniger erfolgreich zu erwehren. Wie im folgenden gezeigt werden soll, ist diese Tatsache für die Bewertung der Esterschäden im allgemeinen sowie der Höhe ihrer Auswirkung von größter Bedeutung, die auch in unseren Untersuchungen über die Toxizität des Esters im Bereich der Infloreszenz klar hervorgetreten ist.

Wir gingen, um Giftwirkungen des Wofatox auf die Infloreszenz ihrer Natur und ihrem Umfang nach zu erfassen, von analogen Versuchen aus, die mit Wurzeln der Kohlsämlinge durchgeführt worden waren. Ganze Blütenstände von Sommerraps und Winterraps wurden eine Viertelstunde bis drei Stunden lang in das Filtrat von Wofatoxaufschwemmungen verschiedener Konzentrationen, Vergleichspflanzen in Leitungswasser getaucht und die Auswirkungen auf den Ertrag festgestellt.

Zur Zeit unserer Versuche wiesen die endständigen Fruchtdolden unentwickelte Blütenknospen, geöffnete Blüten und Schotenanlagen kurz nach dem Abwurf der Kronenblätter auf.

Eine vier Tage nach dem Tauchen vorgenommene Bonitierung führte zu nachstehendem Ergebnis (Tabelle 3):

Tabelle 3

Wirkung von Wofatoxaufschwemmung, filtriert, auf die Blüten des Rapses im Tauchversuch (s. o.)

Behandlungsart	Behandlungsdauer		unge-schädigt	leichte Schädigt.	mittl. Schädigt. welk	schwer geschädigt Verdorren d. Blütenst.
H <sub>2</sub> O	1/4 - 3 Std.	Knospen	3	—	—	—
		Blüten	3	—	—	—
		Schoten	3	—	—	—
Wt 50 g/l	1/4 - 2 Std.	Knospen	3	—	—	—
		Blüten	3	—	—	—
		Schoten	3	—	—	—
Wt 50 g/l	3 Std.	Knospen	1	1	—	1
		Blüten	1	1	1	—
		Schoten	3	—	—	—
Wt 100 g/l	1/4 - 1/2 Std.	Knospen	3	—	—	—
		Blüten	3	—	—	—
		Schoten	3	—	—	—
Wt 100 g/l	1 Std.	Knospen	2	1	—	—
		Blüten	3	—	—	—
		Schoten	3	—	—	—
Wt 100 g/l	2 Std.	Knospen	—	3	—	—
		Blüten	—	1	1	1
		Schoten	3	—	—	—
Wt 100 g/l	3 Std.	Knospen	1	—	1	1
		Blüten	—	—	1	2
		Schoten	1	1	1	—

Die Übersicht zeigt, daß Schäden erst in höheren Konzentrationen und nach längerem Einwirken sichtbar werden. Sie äußern sich im Welken des ganzen Blütenstandes und anschließendem Verdorren. Konzentrationen von 50 g Wofatoxstaub je Liter verursachen nur ausnahmsweise ein Abwelken des Blütenstandes.

Ob aus diesen Beobachtungen auf Zusammenhänge mit der in letzter Zeit häufig aufgetretenen „Rapsknospenwelke“ geschlossen werden darf, ist nicht geklärt. Die Ursache dieser in Sachsen-Anhalt verbreiteten Erkrankung der Rapsbestände, die 1951 zum Umbruch von rund 1000 ha nötigte, ist vermutlich nichtparasitärer Natur und wird gelegentlich mit einer unzureichenden Wasserversorgung der Bestände in Zusammenhang gebracht. Es ist begreiflich, daß der Raps in küstenfernen Trockengebieten nicht selten unter Anspannungen seiner Wasserbilanz leidet. Es wäre eine dankbare Aufgabe, zu untersuchen, wie weit durch Wofatoxbehandlung eine zusätzliche Verschärfung des Wasserhaushaltes in den kritischen Monaten eintreten kann. Nähere Angaben über die „Rapsknospenwelke“ findet man bei K. Müller (8).

Im weiteren Verlauf unserer Eintauchversuche stellten sich nicht unerhebliche Schäden an den Schoten ein. In den ersten Stadien, gekennzeichnet durch den Abwurf der Kronenblätter, überstanden die Schoten das Eintauchen im allgemeinen gut. Dagegen erfuhr die weitere Entwicklung der geöffneten Blüten und noch geschlossenen Knospen eine starke Depression. Die aus dem terminalen Knospenkranz der Trugdolde hervorgehenden Schotenanlagen verkümmerten, ohne normale keimfähige Samen auszubilden (vgl. Abb. 1). Das Endergebnis einer direkten Behandlung von Rapsblüten-



Abb 1. Einfluß von Wofatox-Aufschwemmung auf die Entwicklung der Rapsschoten.

Links: Normale, nicht behandelte Rapspflanze.

Rechts: Mit Wofatox-Aufschwemmung (50 g Wofatox/L.) während der Blütezeit behandelte Infloreszenz. Schematisch.

ständen mit filtrierten Wofatoxaufschwemmungen bestimmter Konzentration zeigt ein Vergleich der Samenernte mit Kontrollpflanzen, deren Blütenstände in Wasser getaucht worden waren (vgl. Abb. 2).

Mit dieser Gegenüberstellung ist die Toxizität einer wässrigen Aufschwemmung des Kontaktinsektizids gegenüber der Rapsinfloreszenz grundsätzlich unter Beweis gestellt.

In der Natur ist eine derart unvermittelte Belastung der Blütenstände durch das gebotene Kontaktinsektizid nicht zu befürchten. Dagegen ist nicht von der Hand zu weisen, daß Lösungsvorgänge in Tau oder Regentropfen zu lokaler Anhäufung des Giftstoffes nach Behandlung der Blütenstände mit Wofatox führen können. Als besonders sensible Organe müssen wir die Pollenkörner und die Narbe ansehen, die dem Gift eine große, durch kutikuläre Auflagen nur wenig geschützte Angriffsfläche bieten. Wir haben uns daher zunächst auf die Untersuchung der Empfindlichkeit des reifen und heranreifenden Pollenkorns sowie der befruchtungsfähigen Narbe beschränkt. Dem Knospstadium haben wir nur wenige Versuche gewidmet.

Eingangs ist es notwendig, auf die Technik der Pollenkeimprüfung als Grundlage weiterer Versuche einzugehen. Der in destilliertem Wasser suspendierte Pollen platzt in wenigen Stunden, ohne Keimschläuche auszubilden. Das Plasma tritt in wechselnder Form heraus und läßt nach Anfärben mit Vitalfarbstoffen die beiden generativen Kerne, selten auch den vegetativen Kern erkennen. Pollenkeimversuche in destilliertem Wasser sind daher in erster Linie für Untersuchungen über die Folgen einer Wofatoxbehandlung am nackten Protoplasten geeignet. Zur Prüfung des Keimvermögens empfiehlt sich eine Rohrzuckerlösung bestimmter Konzentration, die eine Entwicklung normaler Keimschläuche ermöglicht. Die optimale Konzentration der Rohrzuckerlösung geht aus nachstehender Tabelle hervor, in der die Pollenkeimung von Raps und Blumenkohl in Rohrzuckerlösungen gegenübergestellt ist (Tabelle 4).

Tabelle 4

Entwicklung der Pollenkeimschläuche von Raps und Blumenkohl in Rohrzuckerlösungen verschiedener Konzentration

Rohrzucker-Konzentration	Verhalten des Pollens	
	Raps	Blumenkohl
5%	sehr lange Keimschläuche Keimung 20%	alle Pollenkörner geplatzt
10%	kürzere Keimschläuche Keimung 50%	meist geplatzt
15%	kurze Keimschläuche Keimung 60–70%	meist geplatzt, vereinzelt Keimschläuche
20%	gute Keimschlauchentw. Keimung 70–80%	Keimschläuche, doch meist geplatzt
25%	kürzere Keimschläuche Keimung 60%	gute Keimschlauchbildung Keimung 70%
30%	meist ungekeimt	gute Keimschlauchbildung Keimung 80%

Die Gegenüberstellung zeigt, daß der Pollen der geprüften Pflanzenarten in weit höheren Rohrzuckerkonzentrationen keimfähig ist, als den bisherigen Erfahrungen entspricht (vgl. Straßburger-Koernicke, 14).



Abb 2. Samenerträge von Rapsblütenständen, die den Einwirkungen einer Wofatox-Aufschwemmung während der Blütezeit ausgesetzt waren. Schematisch.

- a) Kontrollpflanze, 2 Stunden in dest. Wasser getaucht,
- b) 1/4 Stunde in Wofatox-Aufschwemmung 50 g/l,
- c) 1/2 Stunde in Wofatox-Aufschwemmung 50 g/l,
- d) 1 Stunde in Wofatox-Aufschwemmung 50 g/l,
- e) 2 Stunden in Wofatox-Aufschwemmung 50 g/l

Daneben jeweils charakteristische Formen des Samens.



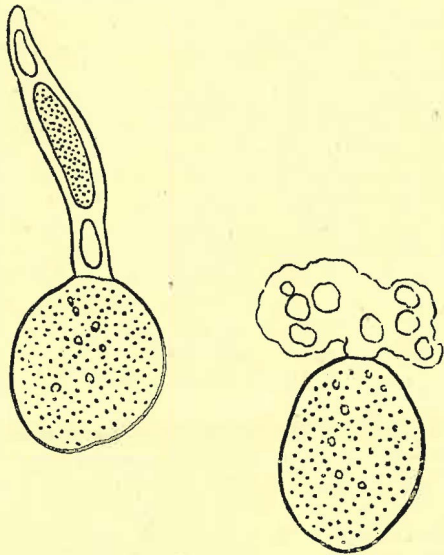


Abb. 3. Pollenkeimung des Rapses in destilliertem Wasser (rechts) und in 20prozentiger Rohrzuckerlösung. Schematisch.

Im übrigen kann die optimale Rohrzuckerkonzentration nach den Untersuchungen von Kühlwein und Anhäuser (6) am Gymnospermen-Pollen in Abhängigkeit vom Alter des Pollens Schwankungen unterliegen. So fanden die genannten Autoren für den frischen Pollen eine optimale Rohrzuckerkonzentration von 2 Prozent, für gealterten dagegen 10 bis 20 Prozent als optimale Konzentration. Die oben aufgeführten Werte beziehen sich auf den frisch geernteten Pollenstaub. Mit gealtertem Pollen haben wir diesbezügliche Versuche nicht durchgeführt.

Abbildung 3 veranschaulicht das Verhalten von Rapspollen in destilliertem Wasser und in Rohrzuckerlösung 15 Prozent. In der Durchführung der Pollenkeimprüfungen sind wir den Angaben von Svobda (17) gefolgt. Für die Aufbewahrung des Pollens eignet sich Lagerung über Kaliumkarbonatbrei bei Temperaturen dicht über dem Gefrierpunkt. Der Pollen wird zuvor kurzfristig über Kalziumchlorid vorgetrocknet.

Die unmittelbare Nachbarschaft lufttrockener Wofatoxkörner ist ohne Einfluß auf den Austritt und die Weiterentwicklung der Keimschläuche in einem Tropfen Rohrzuckerlösung, wie Abb. 4 zeigt.

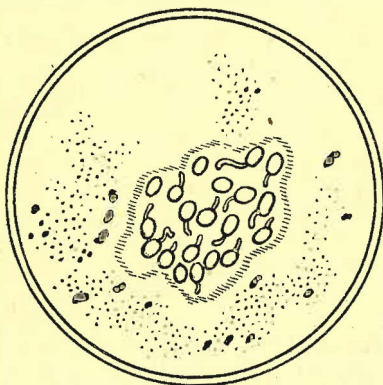


Abb. 4. Ungehinderte Pollenkeimung in einem reinen Wassertropfen, der von trockenem Wofatex-Staub dicht umgeben ist. Schematisch.

Tritt jedoch der Giftstaub in den Flüssigkeitstropfen ein, so erfolgt je nach der Dichte des Staubfilms eine mehr oder weniger deutliche Hemmung. Eine völlige, irreversible Depression findet statt, wenn auf ein Pollenkorn jeweils zehn oder mehr Staubteilchen der handelsüblichen Zubereitung des Wofatox innerhalb eines „zweidimensionalen“ Flüssigkeitsfilms entfallen. Darunter soll in diesem Zusammenhang jene etwa 30  $\mu$  starke Flüssigkeitslamelle verstanden werden, die sich auf der entfetteten Glasoberfläche durch Besprühen mit einer reinen Rohrzuckerlösung und Zusammenfließen des Tropfenrasters ausbildet. Treten nur zwei bis drei Giftstaubteilchen in einer derartigen Flüssigkeitsschicht mit einem Pollenkorn zusammen, so ist die Hemmung der Keimung gegenüber den Kontrollen belanglos.

Nachstehende Abbildung gibt die Verhältnisse schematisch wieder (Abb. 5).

Die genannten und bildlich dargestellten Zahlenverhältnisse, die die „Dosis toxica“ des Wofatoxstaubes für den Rapspollen wiedergeben, sind als Durchschnittswerte von vielen hunderten Zählungen anzusehen.

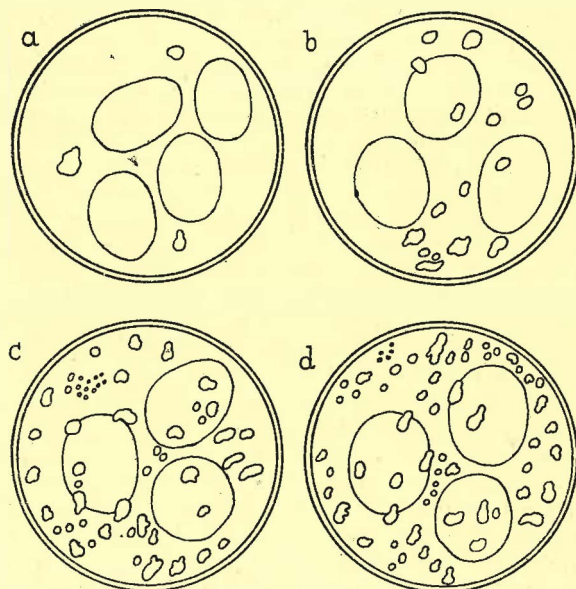


Abb. 5. Hemmung der Pollenkeimung in Wofatox-Aufschwemmungen verschiedener Dichte.

- a) 58 % Keimung,
- b) 18 % Keimung,
- c) keine Keimung,
- d) 70 % Keimung in Quarzstaub-Suspension.

Zwischen völliger Unterdrückung und normaler Keimung bestehen Übergänge als Auswirkungen subletaler Dosen des Giftstoffes. Sehr häufig beobachtet man in dem durch die „Dosis toxica“ und die „Dosis tolerata“ umgrenzten Konzentrationsbereich eine Reduktion der Schlauchlänge, Platzen der Intine sowie Mißbildungen, die den von Schoch-Bodmer (12) für *Primula vulgaris* beschriebenen und abgebildeten Blasen sehr ähnlich sind.

Einige charakteristische Formen als Auswirkungen subletaler Dosen des Wofatox sind in Abb. 6 dargestellt.

Die vorstehend geschilderten Versuche haben gezeigt, daß die Anwesenheit tropfbar flüssigen Wassers für die Entfaltung der toxischen Wirksamkeit unentbehrlich ist, und daß der Ester zuvor in

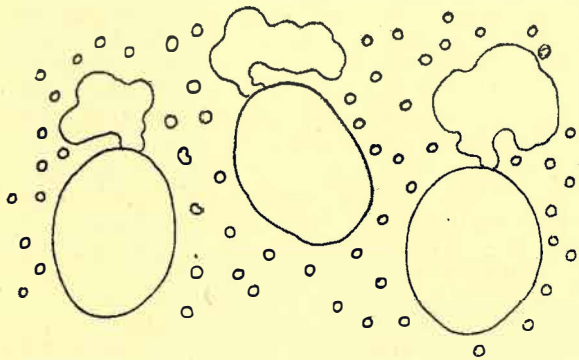


Abb. 6. In Wofatox-Aufschwemmung (60 g/l) keimende Pollenkörner mit blasenartigen Mißbildungen der Keimschläuche. Schematisch.

Lösung gehen muß, um jene Schäden hervorzurufen, die wir am Rapspollen beobachten konnten. Es ist sehr wahrscheinlich, daß die Toxizität des Präparats auf die beiden oben angeführten Komponenten der hydrolytischen Spaltung übergeht. Sofern diese Annahme zutrifft, würde dem Komplex phytotoxischer Wirkungen ein Mechanismus zugrunde liegen, der von den Vorgängen am und im Insektenkörper wesentlich abweicht. Hier würden gerade die lipophilen Eigenschaften der Kontaktinsektizide für das Eindringen in das Hautskelett in Anspruch genommen, wogegen hydrophile Spaltprodukte bisher im Zusammenhang mit den insektiziden Eigenschaften nicht diskutiert wurden. Wenn im folgenden von toxischen Wirkungen des Esters die Rede ist, so soll jenes Hydrolysat gemeint sein, das man durch Aufschwemmen von Wofatoxstaub in Wasser gewinnt. Wir prüften nunmehr ein Filtrat von Wofatoxaufschwemmung in Wasser auf seine Wirksamkeit gegenüber Rapspollen. Wie Abb. 7 zeigt, findet mit steigender Konzentration des Hydrolysats eine zunehmende Hemmung der Pollenkeimung statt.

Man erkennt im Bereich von 0 bis 20 g Wofatox / l einen raschen, dann nachlassenden Abfall der Keimprozentage. Oberhalb 60 g/l sind nur noch wenige Pollenkörner keimfähig. Unter der Voraussetzung, daß Staubsuspensionen von Wofatox sich toxisch ebenso verhalten wie ihre Filtrate, wären wir zu dem Schluß berechtigt, daß eine an der Exine haftende Staubmenge von zehn Teilchen in unmittelbarer Umgebung des sensiblen Plasmas einer Wirkstoffkonzentration von mindestens 60 g Wofatoxaufschwemmung in einem Liter Wasser entspricht.

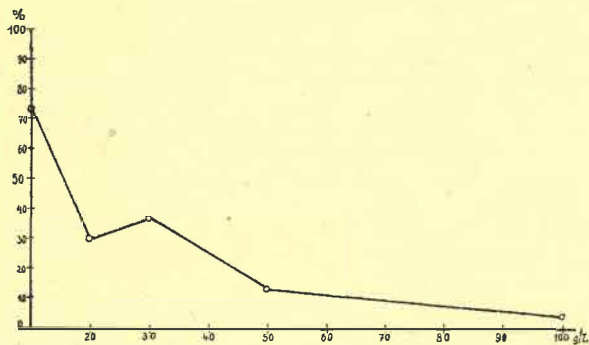


Abb. 7. Pollenkeimung des Rapses in Abhängigkeit von der Konzentration einer Aufschwemmung des Wofatox in Wasser. Abszisse: Anzahl Gramm Wofatox, aufgeschwemmt in 1 Liter Wasser. Ordinate: Keimprozentage.

Wir stellen zusammenfassend fest, daß für das Eintreten einer Schädigung zwei Vorbedingungen erfüllt sein müssen: die Anwesenheit von Wasser und eine bestimmte Grenzkonzentration der toxisch wirksamen Substanz. Es ergibt sich nunmehr die praktisch wichtige Frage, unter welchen Voraussetzungen diese beiden Faktoren zeitlich und räumlich zusammentreffen können. Ein Blick auf das von Fruwirth (3) entworfene, von uns ergänzte Diagramm des Aufblühhhythmus lehrt, daß Wassertropfen in Form von Tau, Nebel oder Sprühregen nur in der Zeit von 9 Uhr morgens bis 6 Uhr abends die Antheren benetzen können (Abb. 8). In den übrigen Tages- und Nachtstunden sind die Blütenorgane durch die periodisch sich schließenden Kronenblätter geschützt. Nur ausnahmsweise beobachteten wir an tiefer inserierten Blüten bald nach dem Öffnen Taubenetzung der Antheren und Filamente. Die geringe Feinheit des Taurasters bewies jedoch, daß es nicht durch unmittelbare Kondensationsvorgänge an den Antheren und Filamenten selbst, sondern durch Abrollen zusammenhängender größerer Tautropfen von höher inserierten Blättern benachbarter Pflanzen entstanden sein kann. Wiederholt konnten wir eine derartige sekundäre Taubenetzung an den Antheren von Rapspflanzen beobachten, die infolge Kohldrehherzmückenbefall die normale Größe der blühhfähigen Triebe nicht mehr erreichten, sondern mit ihren Blütenständen gewissermaßen „sitzen blieben“. Im übrigen ist uns weder an Winterraps noch an Sommerraps eine Benetzung der Antheren nach reichlichem Taufall begegnet. Die Benetzbarkeit der Antheren und des Pollens ist dank einer wasserabweisenden Oberfläche sehr gering. Regentropfen gleiten rasch ab. Die Theken öffnen sich im übrigen nur bei trockenem, sonnigen Wetter.

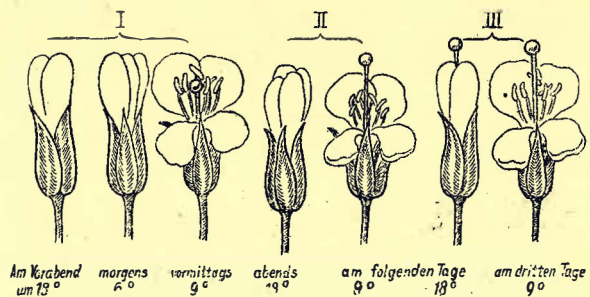


Abb. 8. Öffnungs- und Schließbewegungen der Rapsblüte. Schematisch. (Nach Fruwirth, erweitert).

Die Aussicht, daß Wofatoxstaub mit Wassertropfen in unmittelbarer Nachbarschaft der Antheren zusammentrifft, ist mit Rücksicht auf die ausgeprägte diurnale Periodizität der Öffnungsbewegungen, der Periodizität des Taufalles sowie der Oberflächeneigenschaften der Antheren und Pollenwände recht gering zu bewerten.

Die Aufwandmenge des Wofatox, der wir unsere besondere Aufmerksamkeit zugewandt haben, ist für die Praxis der Schädlingsbekämpfung im Ölfruchtbau mit durchschnittlich 10 kg/ha bemessen worden. In Ausnahmefällen wird diese Dosierung überschritten. Sie wird für späte Sommerölfrüchte, etwa ab Mitte Juni, als notwendig erachtet, da die jungen Imagines des Rapsglanzkäfers eine erhöhte Widerstandsfähigkeit gegenüber Wofatox offenbaren. Gelegentlich wird die Aufwandmenge auch zur Be-



kämpfung des Rapsstengelrüßlers und der Kohlrübenblattwespe erhöht. Daneben erfordert auch die Bekämpfung des Schotenrüßlers eine höhere Dosierung.

Die erwähnte, der Norm entsprechende Aufwandmenge von 10 kg/ha ruft einen mit unbewaffnetem Auge nicht mehr wahrnehmbaren Belag auf den Pflanzenteilen hervor. Deutlich sichtbare, weiße Staubbeläge treten erst oberhalb 30 kg/ha auf. Wir konnten feststellen, daß die normale Dosierung sich der kritischen Dichte des Staubfilms auf den Blüten der Rapspflanze bedenklich nähern kann, wenn der Staubbelag ungleichmäßig verteilt wird. Mit dieser Möglichkeit muß häufig gerechnet werden, da die Praxis in der Regel zu dicht stäubt, in der irrigen Meinung, die Wirksamkeit des Verfahrens durch erhöhte Dosierung steigern zu können.

Es ergibt sich somit zusammenfassend, daß eine Schädigung des Rapspollens durch unmittelbaren Kontakt mit Wofatoxstaub auch unter Freilandbedingungen prinzipiell nicht ausgeschlossen erscheint.

Die Bedeutung des Zeitfaktors wurde von uns noch nicht geklärt. Die Keimung des Rapspollens erfolgt in Rohrzuckerlösung nach sechs bis acht Stunden. Vereinzelt treten Keimschläuche bereits nach zwei Stunden in ansehnlicher Länge hervor. In diesem Zeitabschnitt können bei entsprechenden Konzentrationen des Wofatox Schäden eintreten. Einwandfrei sind sie jedoch erst nach Ablauf von acht Stunden gesichert. Mit Rücksicht auf die besonderen blütenbiologischen Eigentümlichkeiten der Rapspflanze, die man teils den Fremdbefruchtern, teils den Selbstbefruchtern zurechnet (vgl. Faber, Fischer und Kalt, 1), darf angenommen werden, daß der Pollen bald nach dem Aufreißen der Antherenwände auf die Narbe gelangt und nur sehr kurze Zeit an dem nach außen gestülpten Endothecium haftet. Für eine baldige Verfrachtung des Pollens sorgen einerseits charakteristische Torsionen der Filamente, andererseits die Rapsglanzkäfer, die als Pollenüberträger eine gewisse Rolle spielen (vgl. Faber, Fischer und Kalt, 1). Der an dem Pollen haftende Wofatoxstaub gelangt damit unter den Einfluß der auf der Narbe herrschenden Bedingungen phytotoxischer Wirksamkeit, die denjenigen einer Rohrzuckerlösung nur sehr oberflächlich ähneln. Hierüber soll weiter unten ausführlich berichtet werden.

Wir wenden uns jetzt den Wirkungen des Wofatoxstaubes auf den unreifen, in den Theken der Knospen eingeschlossenen Pollen zu. Da dieser auch in Rohrzuckerlösungen nicht keimt, kann der Grad der Keimschlauchentwicklung hier nicht als Maßstab der Toxizität dienen. Auf der Suche nach anderweitigen Symptomen einer Schädigung durch Wofatox überprüften wir das Speicherungsvermögen für fluoreszierende Vitalfarbstoffe. Die von Strugger (15) angeregte und von zahlreichen Autoren mit recht wechselndem Ergebnis angewandte Methode der Lumineszenzoptischen Analyse lebender Protoplasten konnten wir mit Erfolg am Rapspollen erproben.

Als Fluorochrom bewährte sich das Acridinorange, das in einer Konzentration von 1 : 50 000 eine leuchtende Fluoreszenz im lang- und kurzwelligen Violett verleiht. Die am gesunden, nicht geschädigten Pollen auftretenden Fluoreszenzbilder lassen sich zwanglos in Kategorien einordnen, die der von Strugger

(16) vorgeschlagenen Klassifizierung plasmatischer Zustände nach ihrer Anfärbbarkeit mit Acridinfarbstoffen weitgehend entsprechen. Demzufolge unterscheiden wir am reifen und unreifen Rapspollen nach Fluorochromierung:

1. Eine leuchtend smaragdgrüne, homogene Fluoreszenz, die der überwiegenden Mehrzahl „reifer“ Pollenkörner zukommt.
2. Eine Fluoreszenz, die zwischen leuchtendem Smaragdgrün und reinem Ockergelb zahlreiche Übergänge umfaßt. Dieses Verhalten zeigt regelmäßig ein gewisser Prozentsatz „reifer“, d. h. aus Antheren entlassener sowie unreifer Pollen bei teils homogener, teils inhomogener Verteilung des emittierenden Substrats.
3. Ein helles Smaragdgrün, das ein grobkörnig-spumoidales Plasma deutlich zu erkennen gibt. Dieses Verhalten ist für das unreife Pollenkorn charakteristisch, das den lateral inserierten Blütenknospen der Trugdolde angehört. Diese Blütenknospen sind äußerlich an ihrer Gelbspitzigkeit zu erkennen.
4. Eine ins Orange übergehende Fluoreszenz, die teils homogen, teils inhomogen aufleuchtet. Sie tritt an reifen und unreifen Pollenkörnern auf.
5. Eine gleißend-kupferrote Fluoreszenz, die ausnahmsweise an reifem, etwas häufiger an unreifem Pollen auftritt.
6. Eine tief dunkelgrüne, homogene Fluoreszenz, die wir nur an den relativ kleinen, querschnittsrunden Pollenkörnern der jüngsten, terminal inserierten Knospenanlagen der Trugdolde angetroffen haben und dem Zustand voller Lebensaktivität im Sinne der von Strugger (16) getroffenen Einteilung entsprechen dürfte.

Tabelle 5 gibt den prozentualen Anteil der häufigeren Fluoreszenzbilder unter Berücksichtigung der Reifegrade des Pollens in abgerundeten Werten wieder.

Tabelle 5

Grün homogen	grün, grobkörnig-spumoidal	grün bis rein gelb grobkörnig-spumoidal	dunkelgrün homogen
A. Pollen des Blütenstadiums I (vgl. Abb. 8), zumeist als „reif“ bezeichnet			
50	—	50	—
80	—	20	—
90	—	10	—
60	—	40	—
50	—	50	—
80	—	20	—
90	—	10	—
60	—	40	—
70	—	30	—
70	—	30	—
70	20	10	—
100	—	—	—
80	20	—	—
90	10	—	—
B. Unreifer Pollen, aus gelbspitzigen, am Rande der Trugdolden inserierten Blütenknospen freipräpariert.			
—	80	20	—
—	80	20	—
—	80	20	—
4	80	16	—
—	100	—	—
C. Unreifer Pollen, aus terminal an der Trugdolde inserierten, nicht gelbspitzigen Knospenanlagen.			
—	—	—	100
—	—	—	100
—	—	—	100
—	—	—	100

Mit diesen Beobachtungen ist unter Beweis gestellt, daß der Rapspollen in Abhängigkeit von der jeweiligen Entwicklungsstufe eine unterschiedliche Fluoreszenz aufweist und der aus den Antheren entlassene Pollen ein Gemisch verschiedener Reifegrade darstellt, das dem lumineszenzoptischen Bild eine überraschende Farbenmannigfaltigkeit verleiht. Der prozentuale Anteil der einzelnen Entwicklungsstadien unterliegt, wie ersichtlich, größten Schwankungen. Wir stellten fest, daß diese Schwankungen weitgehend durch die wechselnden Außenbedingungen des Abreifens hervorgerufen werden. Im Laboratorium heranreifender Pollen weicht lumineszenzoptisch von dem unter natürlichen Freilandverhältnissen heranreifenden beträchtlich ab. Ein 15 Minuten währendes Einwirken warmer Föhnluft zwischen 27 und 30° C, die viele Antheren vorzeitig platzen läßt, verschiebt das lumineszenzoptische Bild weiter zu Gunsten des Anteils unreifer Pollenkörner.

Für vergleichende Untersuchungen ist es ein unabweisbares Erfordernis, den Pollen unter Einhaltung gleichmäßiger und kontrollierbarer Reifebedingungen zur Entwicklung zu bringen und seine Zusammensetzung regelmäßig auf lumineszenzoptischem Wege zu überprüfen. Die Nichtbeachtung dieser Vorschrift kann in vergleichenden toxikologischen Untersuchungen zu Mißdeutungen und Fehlschlüssen führen, wenn die Einheitlichkeit des zu prüfenden Pollenmaterials in physiologischer Hinsicht nicht ausreichend gesichert ist.

Den Einfluß einer Wofatoxbehandlung auf den Grad der Acridinorangespeicherung prüften wir durch achtstündiges Einwirken einer Lösung des Vitalfarbstoffes in Wofatoxfiltrat abgestufter Konzentration, in Vergleichsversuchen durch Einwirken von Acridinorange 1 : 50 000 in Leitungswasser.

Das lumineszenzoptische Verhalten von reifem und unreifem Pollen geht aus nachstehenden Tabellen hervor (Tabelle 6 und 7).

Tabelle 6

**Lumineszenzoptisches Verhalten von „reifem“ Rapspollen des Blütenstadiums I in abgestuften Wofatoxkonzentrationen**

Wofatox g/l (Filtrat)	Fluoreszenzbild
10	keine lumineszenzoptisch wahrnehmbare Beeinflussung des Plasmas.
25	Plasma homogen smaragdgrün fluoreszierend.
40	Plasma durchgehend homogen smaragdgrün fluoreszierend.
60	durchgehend homogen smaragdgrüne Fluoreszenz
100	durchgehend homogen smaragdgrüne Fluoreszenz

Es zeigt sich überraschend, daß reifer Pollen durch Wofatoxbehandlung selbst in letaler Dosierung optisch wahrnehmbare Änderungen des Plasmas nicht erfährt. Die Speicherung des Vitalfarbstoffes wird weder gefördert noch beeinträchtigt.

Völlig abweichende Ergebnisse wurden mit unreifem Pollen der Gruppe B (siehe Tab. 5) erhalten. Hier führt Wofatoxbehandlung zu einer erhöhten Speichertätigkeit. Das grobkörnig-spumoidale Plasma erfährt eine zunehmende Homogenisierung seiner Struktur. Gleichzeitig tritt ein auffällig erhöhtes Speicherungsvermögen der Exine unter der Einwirkung von Wofatox in höheren Konzentrationen auf und bedingt eine grellrote, homogene Fluoreszenz. Durch leichtes Andrücken des Deckglases gelingt es,

einzelne Pollenkörner zum Platzen und Austreten des Plasmas zu bringen. Man erkennt alsdann die gleißend rot fluoreszierende Exine neben dem rot fluoreszierenden Plasma. Tabelle 7 gibt das Verhalten der Pollenkörner in verschiedenen Wofatoxkonzentrationen wieder.

Tabelle 7

**Unreifer Pollen gemäß Gruppe B der Tabelle 5**

Wofatox g/l (Filtrat)	Fluoreszenzbild
10	inhomogene grüne bis gelbe Fluoreszenz.
25	grün-gelbe bis gelb-orange inhomogene Fluoreszenz.
40	gelbe bis rot-orange, teilweise homogene Fluoreszenz.
60	intensive rot-orange bis gleißend rote Fluoreszenz.
100	intensive Rotfluoreszenz.

Die vorstehende Aufteilung der Farbenskala soll einer ersten Orientierung dienen. Im einzelnen treten jedoch in Abhängigkeit von äußeren Umständen, denen der heranreifende Pollen ausgesetzt ist, Abweichungen der Farbqualität und ihrer Verteilung auf die einzelnen Wirkstoffkonzentrationen in Erscheinung. Als allgemein gültige Regel kann vielmehr nur das bereits erwähnte, in der Tabelle zum Ausdruck kommende erhöhte Speicherungsvermögen des unreifen Pollens im Bereich gewisser Wofatoxkonzentrationen angesehen werden.

Als besondere Eigentümlichkeit des unreifen Pollens kann die verstärkte Einlagerung des Vitalfarbstoffes Acridinorange in die Exine unter der Einwirkung des Wofatox gelten. Es ist zur Zeit nicht bekannt, ob sich hierin eine Gesamtschädigung des unreifen Pollens manifestiert. Voraussichtlich liegen primär Verschiebungen der Azidität und darauf zurückgehende Änderungen des Gelzustandes der Membran vor. Daneben kann auch eine Imprägnierung durch exosmierende Bestandteile des geschädigten bzw. abgestorbenen Protoplasten in Frage kommen.

Wir halten zusammenfassend fest, daß eine Behandlung unreifer Pollenkörner im oben gekennzeichneten Entwicklungsstadium gewisse strukturelle Veränderungen des Plasmas und der Zellwand nach sich zieht. Ob daraus eine nachhaltige Schädigung gefolgert werden kann, muß offengelassen werden. Rückschlüsse aus den an Hefezellen erkannten Gesetzmäßigkeiten sind wohl nicht vorbehaltlos zulässig.

Die in den ersten Entwicklungsstadien befindlichen Pollenkörner der jüngsten, terminal inserierten Knospenanlagen weichen lumineszenzoptisch ab. Die kleinen, im Querschnitt kreisrunden, nicht elliptischen, völlig strukturlosen Gebilde verlieren unter dem Einfluß des Wofatox in höheren Konzentrationen (oberhalb 60 g/l) ihre homogene, tief dunkelgrüne Fluoreszenz gänzlich und treten im Dunkelfeld nur äußerst schwach konturiert hervor. Metachromasie infolge unterschiedlicher Speichertätigkeit wurde nicht beobachtet.

Das Gesamtergebnis einer Vitalfluorochromierung reifer und heranreifender Pollenkörner beweist, daß schädigende Einwirkungen des Wofatox mit einer erhöhten Farbstoffeinlagerung nicht immer parallel gehen. Reifer Pollen wird durch Wofatoxbehandlung im Sinne einer erhöhten Speichertätigkeit gegenüber dem Vitalfluorochrom Acridinorange nicht beeinflusst. Dagegen wird das Plasma und in weitem Um-



fang auch die Membran heranreifender Pollenkörner durch Wofatox in einer Richtung verändert, die eine erhöhte Farbstoffspeicherung zur Folge hat. Auf eine spezifische Schädigung einzelner Entwicklungsstufen kann aus diesen Beobachtungen noch nicht geschlossen werden.

Das lumineszenzoptische Verhalten des Rapspollens ist somit nicht nur zur Differenzierung von Entwicklungsstufen des Pollens, sondern teils auch zur Kennzeichnung ihrer Sensibilität gegenüber Wofatox geeignet.

Es bleibt weiteren Untersuchungen vorbehalten, zu entscheiden, ob die beobachteten Wofatoxschäden auf einer Blockierung spezifischer Pollenfermente oder gewisser lebensnotwendiger Wirkstoffe beruhen. Nach den Untersuchungen von Ha e c k e l (4) ist der Nachweis verschiedener Pollenfermente qualitativ gelungen. Über Vorkommen und Bedeutung von Wuchshormonen (Auxinen, Vitamin-B) unterrichten die Arbeiten von Kühlwein-Anhäuser (6), Sagromsky (11), P. F. Smith (13) u. a. Demzufolge sind diese Stoffe für die Aktivität des Pollenkorns lebensnotwendig. Mit zunehmender Alterung des Pollens erfährt der Aneurin Gehalt eine Senkung, die durch Zufuhr von außen wieder ausgeglichen werden kann. Über den Einfluß von Wofatox auf pflanzliche Wuchshormone ist näheres nicht bekannt. Es lag nicht im Plan unserer orientierenden Versuche, die Natur der Wofatoxschäden in dieser Richtung weiter zu verfolgen.

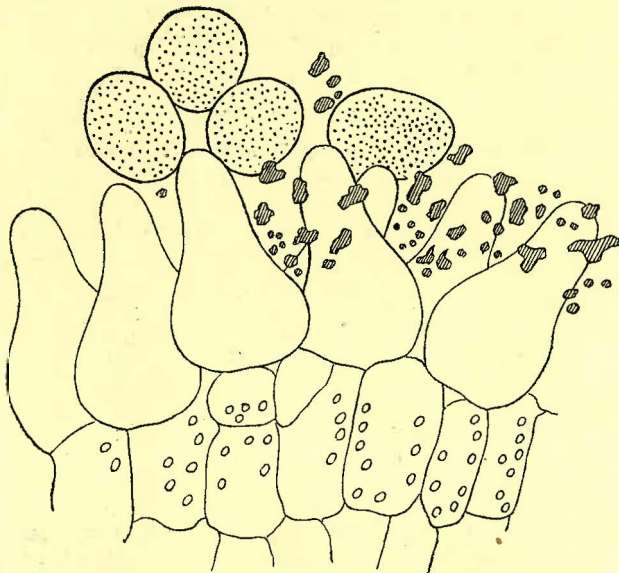


Abb. 9. Rapsblüte, Narbenpapillen, Pollenkörner und Wofatox-Staub zur Veranschaulichung der Größenverhältnisse. Schematisch.

Die vorstehend mitgeteilten Ergebnisse beruhen auf Versuchen mit Rapspollen, der dem Wofatox unmittelbar nach Freipräparieren ausgesetzt war. Wir konnten feststellen, daß der Wirkstoff des Wofatox nicht nur die Antherenwände leicht durchdringt, sondern auch von Kelch- und Kronenblättern nicht zurückgehalten wird. Als Indikator des Eindringungsvermögens haben wir mit großem Vorteil das oben mitgeteilte erhöhte Speicherungsvermögen unreifer Rapspollenkörner in den Dienst unserer Untersuchungen gestellt. Eine umfassende Darstellung unserer Ergebnisse zur Anwendung „biologischer Indikatoren“ auf dem Gebiete der Wofatox-

wirkungen muß späteren Veröffentlichungen vorbehalten bleiben.

Wir wenden uns nunmehr den toxikologischen Fragen im Bereich des Gynäceums zu. Unseren Beobachtungen zufolge ist die Narbe der Rapsblüte in weit höherem Maße den Einwirkungen des Wirkstoffes ausgesetzt. Hierfür sind zwei hervortretende Eigenschaften der Narbe verantwortlich:

1. Die große papillöse Oberfläche hält nach lockerem Bestäuben mit Wofatox eine ungleich höhere Giftmenge zurück als der Pollen. Wir fanden, daß die Narbe im Stadium I maximal das 200fache der kritischen, für den Pollen letalen Dosis zwischen ihren Papillen aufnehmen kann (vgl. Abbildung 9).
2. Die Narbe ist in den Stadien I und II auch bei trockenem sonnigen, für die Schädlingsbekämpfung besonders geeignetem Wetter dank einer intensiven Sekretionstätigkeit feucht. Das Narbensekret ermöglicht nicht allein die Keimung der Pollenkörner und das Wachstum der Pollenschläuche, sondern vermag darüber hinaus beträchtliche Wirkstoffmengen des Wofatox in Lösung zu bringen, kenntlich am intensiv gelbgefärbten p-Nitrophenol. Wir mußten daher mit einer nachhaltigen Schädigung des Bestäubungs- und Befruchtungsvorganges nach Auftragen von Wofatox auf die Narbenoberfläche rechnen.

Der geringe Umfang unserer bisherigen Versuche gestattet noch keine Rückschlüsse auf eine Hemmung des Befruchtungsvorganges durch Wofatox. Wir können nur zeigen, daß die Entwicklung des Fruchtknotens nach Auftragen von Wofatoxstaub nicht durchgehend gehemmt wird. Bepudern der Narbe mit Wofatoxstaub hatte nachstehend aufgeführtes Ergebnis (Tabelle 8).

Tabelle 8

**Schotenentwicklung nach Behandlung der Narbe in verschiedenen Stadien mit Wofatoxstaub**

Narbenstadium	Anzahl bepudelter Narben	Anzahl normaler Schoten
I	22	11
III	11	9
IV	20	19

Eine Wiederholung des ersten orientierenden Versuches ergab von 17 mit Wofatoxstaub bepuderten Narben der Stadien I und II in acht Fällen normale Schotenentwicklung und Samenreife.

Fortgeführte Versuche mit Wofatoxfiltraten (100 g Wofatox/Liter aufgeschwemmt und filtriert) führten zu nachstehenden Ergebnissen (Tabelle 9).

Tabelle 9

**Schotenentwicklung nach Behandlung der Narbe mit Wofatoxfiltrat**

Narbenstadium	Anzahl behandelter Narben	Anzahl normal entwickelter Schoten
I	18	11
II	10	8

Als Erklärung für die in einzelnen Fällen überraschende Wirkungslosigkeit des Wofatox können gegenwärtig drei Möglichkeiten herangezogen werden:

1. Die Befruchtung kann in dem betreffenden Stadium, in dem das Wofatox wirkungslos blieb, soweit fortgeschritten sein, daß eine Begiftung der Narbe keine Schäden mehr hervorrufen konnte.
2. Behandeln der Narbe im befruchtungsfähigen Stadium kann eine agamische, sogenannte Reizfruchtung auslösen, die zu parthenogenetischer Entwicklung der Samenanlagen anregt. Als reizauslösende Agentien sind nach der zusammenfassenden Darstellung von v. Tschermak-Seysenegg (18) die verschiedensten, zum Teil heterogen zusammengesetzten unbelebten Körper bekanntgeworden, die in Staubform eine Irritation der Narbe hervorrufen. Talkum, Kreide, Quarzstaub, pulverisierte Maisstärke, Dextrin, abgetöteter inaktiver Pollen u. a. sind an zahlreichen Pflanzenfamilien überprüft und als Wirkstoff im angedeuteten Sinn bezeichnet worden.
3. Der Giftstoff wird auf der Narbe selbst in eine inaktive Form überführt.

Wir sind zur Zeit von einer einwandfreien experimentellen Entscheidung noch weit entfernt und können zu den drei aufgeführten Punkten nur auf Grund einiger orientierender Versuche Stellung nehmen.

Zu 1: Die Narbe des Stadiums I wird wenige Stunden nach dem erstmaligen Öffnen der Blüte bestäubt. Bereits in den Mittagsstunden ist ein dichter Pollenbesatz zwischen den Narbenpapillen dieses Stadiums nachweisbar. Torsionsbewegungen der Filamente haben daran den größten Anteil, da die Bestäubung auch in Abwesenheit des Rapsglanzkäfers reibungslos verläuft. Durch Kappen der Narbe um die Mittagszeit wird die Schotenentwicklung fast völlig unterdrückt.

Im Stadium II der Narbe führt ein gleichartiger Eingriff teils zu normaler, teils zu gehemmter Schotenentwicklung, wie Tabelle 10 zeigt.

Tabelle 10

**Schotenentwicklung von Blüten mit gekappten Narben in verschiedenen Stadien der Entwicklung**

Stadium	Anzahl gekappter Narben	Anzahl normal entwickelter Schoten
I	24	9
II	9	7
III	22	16

Die Befruchtung muß demzufolge innerhalb eines sehr engen, durch das Narbenstadium I charakterisierten Zeitintervalls ablaufen und im Stadium II praktisch abgeschlossen sein.

Zu 2: Wir haben die Möglichkeit einer Reizfruchtung an Versuchen mit Quarzstaub experimentell nachgeprüft. Bepudern der Narben mit Quarzstaub hatte folgendes Ergebnis:

Tabelle 11

Narbenstadium	Anzahl mit Quarzstaub behandelte Narben	Anzahl normal entwickelter Schoten
I	33	21
II	11	5
III	18	11

Die in vorstehender Tabelle niedergelegten Ergebnisse, die unter Ausschluß einer Pollenbestäubung gewonnen wurden, lassen die Möglichkeit einer durch Quarzstaub ausgelösten Reizfruchtung noch offen. Es ist denkbar, daß Träger- und Füllstoffe des Kontaktinsektizids Wirkungen auslösen können, die einer Reizfruchtung gleichkommen. Solange jedoch die zytologisch-genetische Analyse noch aussteht, muß die Frage parthenogenetischer Samenentwicklung nach Wofatoxbestäubung als ungeklärt betrachtet werden.

Zu 3: Nach unseren oben geschilderten, mit Kohlwurzeln durchgeführten Untersuchungen sind fermentativ bedingte Prozesse im Narbenbereich zu erwarten. Narbenpapillen und Pollenschläuche sondern Fermente in das umgebende Substrat ab. Über eine Neutralisation von Hemmstoffen durch Pollenschläuche berichtete kürzlich Pohl (10). Darüber hinaus liegen eigene Beobachtungen über eine Entgiftung des Wofatoxwirkstoffes auf der sekretionsfähigen Narbe vor. Unsere Versuchsanordnung beruhte auf der in Abbildung 5 dargestellten Methode des Pollenkeimtestes. Wofatoxstaub wird in dünner Schicht auf die Narbe verteilt und nach 15-stündigem Verweilen einer Pollenkeimprüfung unterzogen. Da die Beobachtung der Keimschlauchentwicklung auf der Narbe der Rapsblüte Schwierigkeiten bereitet, haben wir den Staubfilm auf Deckgläser abgetupft, mit Pollenstaub beschickt und in feuchten Kammern unter Verwendung von Rohrzuckerlösung aufbewahrt.

Die mit verschiedenen Narbenstadien gewonnenen Ergebnisse sind nachstehend gegenübergestellt (Tabelle 12):

Tabelle 12

**Wofatoxentgiftung auf Narben des Rapses in verschiedenen Stadien**

Narbenstadium	Anzahl Narben	Keim-% Rapspollen
I	1	80
I	8	60—70
I	8	50
I	7	0
II	8	75
II	5	65
II	7	55
III	9	0
Kontrolle	1	70

Abbildung 10 veranschaulicht die Entgiftung des Wofatoxstaubes in Abhängigkeit vom Narbenstadium im Pollenkeimtest.

Mit diesen Versuchsergebnissen ist nachgewiesen, daß der Wofatoxstaub nach 15-stündigem Verweilen auf der sekretionsfähigen Narbe (Stadium I und II) eine völlige Inaktivierung seiner die Pollenkeimung hemmenden Konstituenten erfährt. Das Narbenstadium III und die anschließenden Stadien, die den Übergang zur beginnenden Schotenentwicklung vermitteln und durch fortschreitenden Turgeszenzverlust gekennzeichnet sind, inaktivieren das Wofatox nicht mehr. Dieses bewahrt auch nach mehrtägigem Verweilen auf der Narbe seine volle Toxizität gegenüber dem Rapspollen.

Mikroskopisch zeigen sich gewisse Unterschiede hinsichtlich des Zellinhalts der Narbenpapillen verschiedener Entwicklungsstadien, wie Abbildung 11



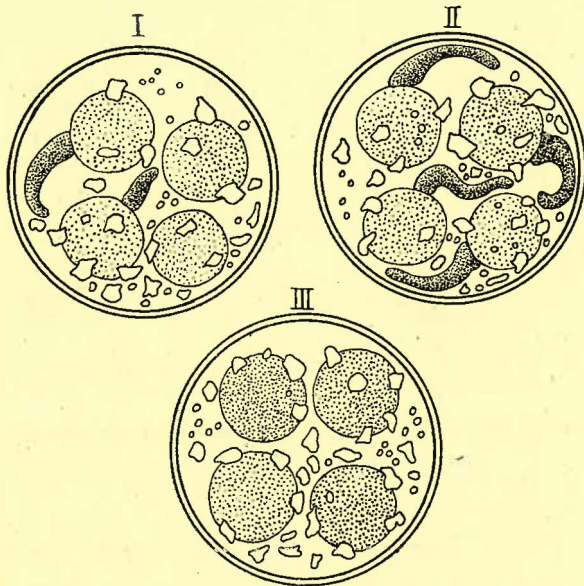


Abb. 10. Pollenkeimung in Wofatox-Staub nach zehnstündiger Einwirkung von Narbensekret. Narbenstadium I bis III. Schematisch.

zeigt. Die Papillen des Narbenstadiums I sind überwiegend mit Plasma gefüllt und weisen 1 bis 2 zentral gelegene Vakuolen auf. Im Narbenstadium II vergrößern sich die Vakuolen und nehmen im Stadium III bis auf einen dünnen wandständigen Plasmabelag das ganze Volumen der Zelle ein. Ob die sekretorische Funktion in diesem Stadium völlig erloschen ist, steht nicht fest. Die Abbildung zeigt, daß die entgiftende Funktion der Narbe mit einer Zurückdrängung plasmatischer Bestandteile der Narbenpapillen sukzessive abnimmt. Die Turgeszenz ist an sich noch keine hinreichende Voraussetzung der Wirksamkeit im angeführten Sinn. Diese hängt vielmehr von gewissen Eigenschaften der Papillen ab, die zytologisch in einer spumoidalen Beschaffenheit des Plasmas zum Ausdruck kommen. Die Frage, ob hier fermentative Prozesse in gleicher Weise ablaufen, wie in den oben geschilderten Versuchen mit in Wofatoxaufschwemmung eintauchenden Wurzeln von Kohlsämlingen, ist bisher noch nicht entschieden. Nach den Untersuchungen von Hochapfel (5) ist es denkbar, daß der Wirkstoff des Wofatox gewisse Fermente des Narbensekretes in gleicher Weise aktiviert, wie die Dehydrasen der vom genannten Autor untersuchten Samen durch das analog gebaute E 605 eine Aktivierung erfahren.

Zusammenfassend können wir über die Wirksamkeit des auf der Narbe lagernden Wofatoxfilms daran festhalten, daß eine völlige Unterdrückung des Fruchtansatzes selbst nach frühzeitigem Auftragen des Giftstaubes niemals eintritt. Die Gründe für dieses unerwartete Versuchsergebnis können in verschiedener Richtung gesucht werden. Einwandfrei gesichert ist nur die Zersetzung des Wirkstoffes unter dem Einfluß des Narbensekrets. Beziehungen der Pollenkeimung zu den auf die Narbe der Apfelblüte aufgestäubten Fungiziden wurden von Mac Daniels und Hildebrand (7) erörtert.

Die bisher geschilderten Untersuchungen beschränkten sich auf toxische Vorgänge im ersten Abschnitt des Bestäubungs- und Befruchtungsvorganges. Beobachtungen über Wofatoxwirkungen auf die im Pollenschlauch wandernden Kerne liegen in

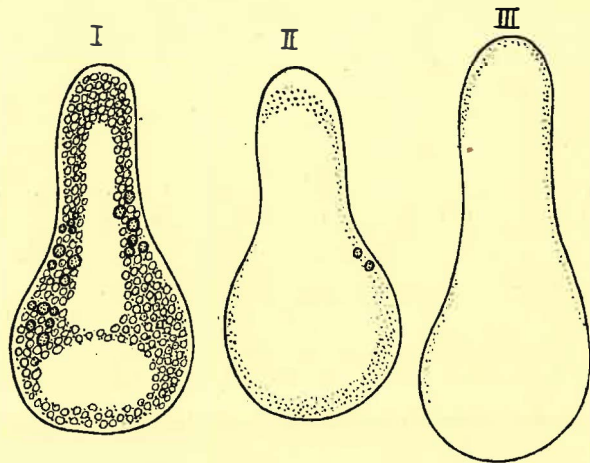


Abb. 11. Zellinhalt der Narbenpapillen der Rapsblüte in verschiedenen Entwicklungsstadien. Schematisch.

noch unzureichender Ausdehnung vor. Nach Fluorochromierung von Pollenschläuchen in Acridinorange leuchten die generativen Kerne hell smaragdgrün auf und lassen vier Nukleolen in einem optisch leeren Medium mit aller Deutlichkeit hervortreten. Der vegetative Pollenschlauchkern ist kaum sichtbar oder unsichtbar. Fluorochromierung in Wofatoxfiltrat ruft keine lumineszenzoptischen Änderungen gegenüber den Kontrollen hervor. Behandelt man zuvor mit reinem Wofatoxfiltrat, so treten Änderungen des lumineszenzoptischen Bildes in Abhängigkeit von der Azidität der Farbstofflösung auf, Änderungen, die sich auf die Fluoreszenzhelligkeit der Kernbestandteile, weniger auf den Farbton des ausgestrahlten Fluoreszenzlichtes beziehen. Bevor jedoch eine Auswertung dieser Beobachtungen erfolgen kann, müssen Ergebnisse fortgeführter Untersuchungen abgewartet werden.

Die verschiedenartigen Hilfsfunktionen, die die geöffnete Blüte des Rapses zur Sicherung des Bestäubungs- und Befruchtungsvorganges betätigt, haben wir in unseren Arbeiten zur Toxikologie esterhaltiger Kontaktinsektizide bisher unberücksichtigt gelassen. Im Rahmen der vorliegenden, einleitend skizzierten Fragestellung dürfen sie jedoch nicht gänzlich übergangen werden. Zu den weitaus auffälligsten Hilfsfunktionen zählen die bereits vielfach angeführten diurnalen Öffnungs- und Schließbewegungen der Korolle, die gleichfalls erwähnten Torsionsbewegungen der Filamente und die Absonderung von Duftstoffen durch die am Grunde der Filamente inserierten Nektarien. Ihre Beeinflussbarkeit durch Wofatoxstaub ist weder dem Umfang noch der Richtung nach bekannt. Die Bearbeitung dieser Frage kann erst für die kommende Vegetationsperiode in Aussicht gestellt werden.

#### Zusammenfassung der Ergebnisse:

Auf Grund experimentell gestützter Beobachtungen wird die Toxizität des unter der handelsüblichen Bezeichnung „Wofatox“ bekannten esterhaltigen Kontaktinsektizides gegenüber der entwickelten und unentwickelten Rapsblüte (*Brassica napus* L.) überprüft.

Die vorliegenden Ergebnisse haben unter Beweis gestellt, daß das „Wofatox“ auf lebensfähigen Rapspollen giftig im Sinne einer Beeinträchtigung der Keimung und Pollenschlauchentwicklung wirkt. Als

„Dosis toxica“ wurde eine Konzentration ermittelt, die einer filtrierten Wofatoxaufschwemmung von rund 60 g/Liter Wasser entspricht. Sie gleicht einer Staubdichte von rund 10 Partikeln je Pollenkorn innerhalb eines Flüssigkeitsfilms von rund 30  $\mu$  Stärke.

Das Auftreten einer der Dosis toxica entsprechenden Grenzkonzentration unter natürlichen Bedingungen im Freiland wird diskutiert. Die Voraussetzungen für eine Gefährdung des Pollens durch unmittelbare Berührung mit dem Wofatoxstaub sind nur ausnahmsweise verwirklicht.

Behandeln von bestäubungsfähigen Narben der Rapsblüte mit Wofatox führt nicht zu restloser Unterdrückung des Schotenansatzes. Die Gründe hierfür liegen u. a. in einer entgiftenden Wirkung des Narbensekretes auf den Wofatoxstaub. Die Entgiftung ist an bestimmte Narbenstadien gebunden und weist gewisse Parallelen zu den zytologischen Eigenschaften der sekretionsfähigen Narbenpapille auf.

#### Literaturverzeichnis:

1. Faber, F., Fischer, G. und Kalt, B. (1920), Die biologische Bedeutung des Raps- glanzkäfers für Raps, Rübsen und Senf. Landw. Jahrb. **54**, 681—701.
2. Frohberger, P. (1949), Über das Verhalten des Insektizids E 605 auf und in der Pflanze. Nachrbl. des dtsh. Pflanzenschutzdienstes Braunschweig, S. 155.
3. Fruwirth, C. (1904), Die Züchtung der landwirtschaftlichen Kulturpflanzen, Berlin, Verlag P. Parey, Bd. II, 136.
4. Haeckel, A. (1951), Beitrag zur Kenntnis der Pollenfermente. Planta, **39**, 431—459.
5. Hochapfel, H. (1951), Keimphysiologische Versuche mit E 605 forte bei Obstsaaten. Mitt. Biol. Zentralanstalt f. Land- u. Forstw., Berlin-Dahlem, Heft **70**, 96—98.
6. Kühlwein, H. und Anhäuser, W. (1951), Veränderungen des Gymnospermen-Pollens durch Lagerung. Planta, **39**, 476—479.
7. MacDaniels, L. H. und Hildebrand, E. M. (1939), A study of pollen germination upon the stigmas of apple flowers treated with fungicides. Proc. amer. soc. hort. Sa. **37**, 137—140.
8. Müller, K. (1951), Zum Auftreten der Knospenwelke am Winterraps in Sachsen-Anhalt. Nachrbl. dtsh. Pflschutzd. n. F. **5**, 155—156.
9. Nolte, H.-W. (1951), Blumenkohlschädigung durch E-Präparate beim Erdtopf-Kohlfliegenbekämpfungsverfahren. Nachrbl. dtsh. Pflschutzd. n. F. **5**, 183—185.
10. Pohl, R. (1951), Wirkung von Wuchsstoff und Hemmstoff auf das Wachstum der Pollenschläuche von Petunia. Biol. Zbl., **70**, 119—128.
11. Sagromsky, H. (1947), Über einige Bestimmungen des Vitamin-B<sub>1</sub>-Gehaltes von Pollen mit Hilfe des Phycomyces-Testes. Biol. Zbl., **66**, 140—146.
12. Schoch-Bodmer, H. (1945), Über das Spitzenwachstum der Pollenschläuche. Ber. Schweiz. bot. Ges., **55**, 154—168.
13. Smith, P. F. (1942), Studies on the growth of pollen with respect to temperature, auxins, colchicin and Vitamin B<sub>1</sub>. Amer. Journ. bot., **29**, 56—66.
14. Straßburger-Koernicke, (1913), Das Botanische Praktikum, 5. Auflage, 597—599.
15. Strugger, S. (1948), Fluoreszenzmikroskopie und Mikrobiologie. Hannover.
16. Strugger, S. (1949), Praktikum der Zell- u. Gewebephysiologie der Pflanzen. Berlin.
17. Svoboda, F. (1943), Beobachtungen bei Pollenkeimprüfungen. Die Gartenbauwissenschaft, **17**, 95—105.
18. Tschermak-Seysenegg, E. v. (1949), Reizfruchtung (Samenbildung ohne Befruchtung). Biologia generalis, **19**, 3—50.
19. Zeumer, H. und Fischer, W. (1952), Beitrag zur Analyse von E 605-Präparaten. Ztschr. anal. Chemie, **135**, 401—409.

## Ein Beitrag zur Frage der Beeinflussung des Winterweizens durch nicht zeitgerechte Anwendung hormonhaltiger Unkrautbekämpfungsmittel

Von Dr. H. A. Schmidt

Biologische Zentralanstalt der Deutschen Akademie der Landwirtschaftswissenschaften zu Berlin, Zweigstelle Rostock

Es ist bekannt, daß durch nicht zeitgerechte Anwendung von Hormonpräparaten zur Bekämpfung von Unkräutern Schäden an den Getreidepflanzen entstehen können, die sich oft in binsenartig dünnen Blättern, Steckenbleiben in den Blattscheiden, Ährenmißbildungen und speziell beim Hafer in Fahnenrispigkeit auswirken. Derartige Erscheinungen treten im allgemeinen auf, wenn die Bekämpfung der Unkräuter vor oder während der Bestockung der Getreidepflanzen vorgenommen wird. Hierüber liegen Beobachtungen von Rademacher (1949), Holz (1950), Dame (1950) und Hochapfel (1950) vor. Rademacher (1949) weist außerdem noch auf die Möglichkeit von Schäden an Getreidepflanzen hin, wenn die Unkrautbekämpfung mit Hormonpräparaten nach erfolgtem Ährenschieben durchgeführt wird. Ähnliche Beobachtungen machte H. Müller

(1952), der an Hand einer schematischen Darstellung als günstigsten Termin der Anwendung von Hormonpräparaten zur Unkrautbekämpfung die Zeit nach erfolgter Bestockung bis vor Beginn des Ährenschiebens empfiehlt. Nach ihm entstehen bei Anwendung der Hormonmittel vor der Bestockung Verbindungen, zur Zeit des Schossens und Ährenschiebens Ährensäden. Auch Holz (1949) ist der Meinung, daß nach der Bestockung ein Stadium bei den Getreidepflanzen folgt, in dem die Wuchsstoffbehandlung, wenigstens äußerlich, keinerlei Schädigungen verursacht. Sich widersprechende Beobachtungen erklärt Rademacher (1952) mit der unterschiedlichen Sortenempfindlichkeit der Getreidearten. Nach Rademacher kommt es entscheidend darauf an, in welchem physiologischen Wuchsstadium und bei welcher Witterung eine Getreidesorte von