

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

Zur qualitativen und quantitativen Bestimmung von 4-Oxycumarin-Derivaten

Von H. MELTZER

Aus der Biologischen Zentralanstalt Berlin

Über die wichtigsten Fortschritte in der Nagetierbekämpfung seit der Verwendung der Antikoagulantien aus der Cumaringruppe und der Entdeckung des Dicumarols durch LINK (1942) ist in der Literatur der letzten Jahre ausführlich berichtet worden (STEINIGER 1952, 1953; EHRENTRAUT 1953; TELLE 1955; LAUE 1952).

Wegen der stark toxischen Wirkung des Dicumarols auf Mensch und Haustier wurden vornehmlich zwei weniger gefährliche Oxycumarin-Derivate entwickelt, das Warfarin („Actosin“) und das Cumachlor („Tomorin“).

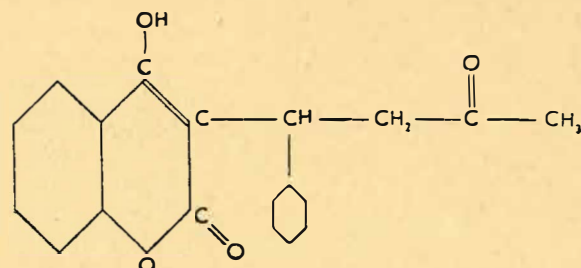
Als Abkömmling des 4-Oxycumarins erschien „Compound 42“ zuerst in Amerika im Handel und ist jetzt unter dem Namen Warfarin bekannt. Es ist ein 3-(α -Phenyl- β -acetylaethyl)-4-oxycumarin. Zur Zeit stellt dieses Präparat neben Cumachlor den am häufigsten verwendeten Wirkstoff zur Herstellung der Handelspräparate dar (FÜRST 1952, LAUE 1954). Das Cumachlor ist ein 3-(α -p-Chlorphenyl- β -acetylaethyl)-4-oxycumarin. Über die Löslichkeit und den Schmelzpunkt sowie andere charakteristische Eigenschaften des Warfarins berichten HUNOLD und SCHÜHLEIN 1952.

Die folgenden Formelbilder geben die Konstitution der bisher aufgeführten 4-Oxycumarin-Derivate wieder.

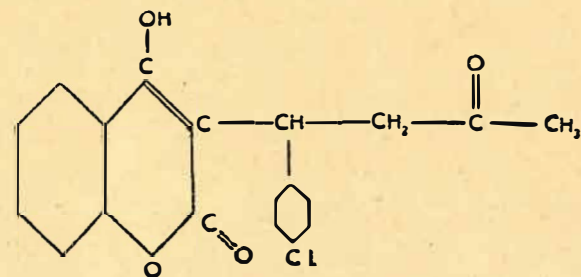
Im Jahre 1952 wurde von den Firmen C. F. Spieß & Sohn, Kleinkarlbach, und Pflanzenschutz G.m.b.H., Hamburg, ein neuer Wirkstoff unter der Bezeichnung „Fumarin“, ebenfalls eine Oxycumarinverbindung, in den Handel gebracht. In der Literatur wird dieses Präparat als 3-(α -Acetylfurfuryl)-4-oxycumarin bezeichnet. Nach STEINIGER (1953) ergaben Fütterungsversuche mit diesem Mittel, bei gleicher

Dosierung, gegenüber Warfarinpräparaten keine Differenz. Hervorzuheben ist jedoch seine mehr als doppelt so große Toxizität bei Wanderratten.

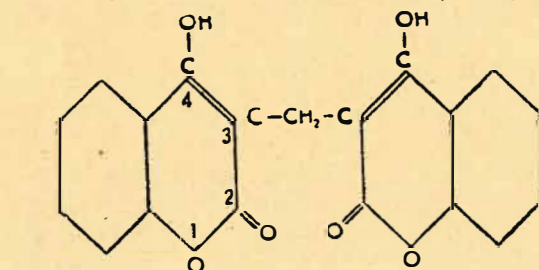
Die analytische Bestimmung dieser Wirkstoffe beschränkt sich nach Literaturangaben bisher nur auf den qualitativen Nachweis durch eine Farbreaktion, wobei nach LIEBEN bei der Einwirkung von Hypochlorit auf Oxycumarin über Trichloressigsäure Chloroform gebildet wird, das dann weiter nach FUJIWARA durch Erhitzen mit Pyridin eine Rotfärbung erzeugt. Laut HUNOLD und SCHÜHLEIN sollen durch diese Reaktion noch etwa 2 mg Warfarin nachweisbar sein. Über eine annähernd quantitative Bestimmung von Warfarin im Körpergewebe oder in Nahrungsmitteln durch das UV-Absorptionsspektrum referiert das chemische Zentralblatt, anonym (1955) sowie GOODWIN und POLLOCK (1954). Nach DUSINSKY (1954) lassen sich 4-Oxycumarine bromometrisch-potentiometrisch analysieren (Genauigkeit $\pm 2,5\%$). Ein maßanalytisches Verfahren zur Gehaltsbestimmung einiger Oxycumarin-Derivate



Warfarin



Cumachlor



Dicumarol

wurde von JANČIK und KÖRBL (1956) ausgearbeitet. Diese Methode beruht auf der Titration mit alkoholischer Kaliumhydroxydlösung in wasserfreiem Pyridin unter Verwendung eines besonderen Indikators.

Im folgenden werden einige typische Farbreaktionen beschrieben, die es ermöglichen, die Wirkstoffe Warfarin, Cumachlor, Dicumarol und Fumarin qualitativ zu ermitteln. Anschließend wird über die quantitative Analyse von Warfarin und Cumachlor berichtet.

Nach WEBER (1931) kann man zum Nachweis von Benzolkohlenwasserstoffen diese erst mit Nitriersäure behandeln und dann mit den Nitroverbindungen bestimmte Reaktionen ausführen.

Dieses Prinzip liegt auch der colorimetrischen Bestimmung von DDT nach SCHECHTER, SOLOWAY und HALLER (1945) sowie ALESSANDRINI (1948) zugrunde. Auf ähnlicher Basis werden im folgenden die Oxycumarin-Derivate in bestimmte Farblösungen übergeführt und colorimetriert.

Colorimetrische Bestimmung der Oxycumarin-Derivate

I. Qualitativer Nachweis von Warfarin, Cumachlor, Dicumarol und Fumarin

Bei den zur chemischen Untersuchung vorliegenden Proben wird es sich in der Regel um Rattenstreupulver oder Fraßköder (z. B. oxycumarinhaltige Weizenkörner) handeln. Die Isolierung des Wirkstoffes von den übrigen Begleitstoffen (mineralischen Trägersubstanzen und Getreideprodukten) erfolgt bei allen Handelspräparaten am besten durch Äthanol oder Methanol; letzteres weist eine etwas geringere Löslichkeit auf. In einem 100 ml „Erlenmeyer“ wird die etwa 0,02 g Oxycumarin entsprechende Menge Substanz mit 10 ml Äthylalkohol versetzt. Nach einstündigem Stehenlassen (öfteres Schütteln) wird von den Begleitstoffen in ein Becherglas abfiltriert, der Alkohol auf dem Wasserbad bis zu einigen ml eingeengt und der Rest in einem Reagensglas weiter verdampft. Die letzten Dämpfe saugt man mit einem an die Wasserstrahlpumpe angeschlossenen Glasröhrchen ab. Die abgekühlte Substanz wird mit 2 ml Nitriersäure (2 ml H_2SO_4 rein konz. $s = 1,84$ und 3 ml HNO_3 rauchend $s = 1,50$) versetzt und etwa 3 min auf $100^\circ C$ erhitzt (Wasserbad). Nach dem Abkühlen gibt man das Reaktionsgemisch durch einen Trichter in 10 ml dest. Wasser, die sich in einem Tropftrichter befinden. Man läßt wiederum abkühlen und schüttelt die wäßrige, schwach grünlich gefärbte Flüssigkeit mit 3 ml Benzol aus. Wenn sich die Schichten getrennt haben, wird die untere abgelassen, verworfen und das Benzol in ein trockenes Reagensglas gefüllt. Nun gibt man 5 ml 1n methanolische Natronlauge hinzu. Etwa eine Minute später schüttelt man gut durch und beobachtet die entstandene charakteristische Färbung. Wird die Nachweisreaktion mit Warfarin durchgeführt, so erhält man eine gelbe bis bräunliche Färbung, wohingegen Cumachlor einen kirschroten Farbton erzeugt. Dicumarol und Fumarin geben ebenfalls gelbe bis bräunlichgelbe Färbungen. Es wurde beobachtet, daß durch die Anwesenheit von Halogenen im Molekül der Cumarin-Derivate rote Lösungen entstehen. So gelingt es, durch Einführung von Brom in das chlorfreie Warfarin die charakteristische Rotfärbung zu erzielen. Diese Tatsache ist insofern von Bedeutung, als in dem folgen-

den Analysengang zur quantitativen Bestimmung eine intensiv gefärbte rote Lösung angestrebt wurde, um die colorimetrische Auswertung besser durchführen zu können. Cumarin, Dicumarol und Fumarin lassen sich unter den später beschriebenen Bedingungen nicht bromieren und geben daher keine Rotfärbung.

Nach PRICE und BOGERT (1934) führt man die Bromierung von festen Kohlenwasserstoffverbindungen folgendermaßen durch. Das zu bromierende Präparat wird in trockenem Chloroform gelöst und allmählich in kleinen Anteilen mit einer Lösung von 1 Volumen Brom in 9 Volumina Chloroform (trocken) versetzt, bis durch deutliche Braunfärbung die vollständige Bromaufnahme gewährleistet ist.

II. Quantitative Bestimmung der Cumarin-Derivate Warfarin und Cumachlor

A. Reagentien

1. Chloroform p. a. 150 g werden, falls erforderlich, mit Calciumchlorid getrocknet und von diesem abfiltriert.

2. Bromlösung. 2 ml Brom p. a., gelöst in 18 ml Chloroform (trocken).

3. Watte (fettfrei), 25 g reine Watte werden im Soxhlet mit Aceton extrahiert, bei $100^\circ C$ getrocknet und in einer dichtschießenden Flasche aufbewahrt.

4. Methanolische Natronlauge (Farbreagens). 4,0 g Natriumhydroxyd in Plätzchenform werden in 100 ml reinstem trockenem Methanol gelöst. Steht kein Methanol p. a. zur Verfügung, kann man es mit Magnesiumspänen (5–10 g/l) am Rückflußkühler kochen, evtl. unter Zusatz einer kleinen Menge Jod, bis das Magnesium verbraucht ist und anschließend destillieren. Darin löst man das schnell gewogene Natriumhydroxyd. Danach werden etwa 1,5 g feingeschnittenes blankes Natrium in kleinen Portionen unter Kühlung in die in einem „Erlenmeyer“ befindliche Lauge gegeben. Nach Klärung der so vorbereiteten methanolischen Natronlauge durch längeres Stehenlassen mischt man 2 ml Benzol im Reagensglas mit 4 ml dieser Lösung. Wenn sich beide Flüssigkeiten ohne Trübung vereinigen lassen, ist der Indikator richtig eingestellt. Im negativen Falle wird er mit etwas Methanol verdünnt, bis sich Benzol und Lauge im Verhältnis 1 : 2 völlig klar mischen lassen.

5. Benzol p. a.

6. Äther p. a.

7. Wirkstoffe für die Anlegung der Eichkurven, reines Warfarin 3-(α -Phenyl- β -acetylaethyl)-4-Oxycumarin vom Schmelzpt. $162-164^\circ C$. Cumachlor 3-(α -p-Chlorphenyl- β -acetylaethyl)-4-Oxycumarin vom Schmelzpunkt $163-164^\circ C$.

Die quantitative Analyse der Oxycumarine nach dem colorimetrischen Verfahren wird wie folgt durchgeführt. Die Abtrennung des Wirkstoffes von den Trägersubstanzen erfolgt durch Extraktion mit Äthanol. 20 g Fertigpräparat, genau gewogen, werden in einem verschlossenen „Schliffenmeyer“ mit 100 ml Äthanol nach öfterem Umschütteln über Nacht stehen gelassen. Die weitere Verarbeitung wird wie bei der qualitativen Bestimmung durchgeführt, wobei man nun, nach dem Filtrieren, mit Äthanol gründlich nachwäscht. Liegt Warfarin vor, so wird dieses nach der Isolierung, zur Erzielung einer späteren Rotfärbung, bromiert.

Man löst den mit Äthanol extrahierten Wirkstoff vor dem Nitrieren in einem kleineren Volumen von

trockenem Chloroform im Reagensglas (gerade so viel, wie etwa zur Lösung erforderlich) und läßt nun aus einer Pipette die bromhaltige Chloroformlösung tropfenweise unter Umschütteln hinzuzießen, bis eine deutliche Braunfärbung bestehen bleibt. Danach destilliert man das Chloroform durch Eintauchen des Reagensglases in ein heißes Wasserbad allmählich ab, wobei man vorher eine Glasperle als Siedestein in die Lösung gibt. Nun wird die abgekühlte Substanz, wie unter I beschrieben, mit 5 ml Nitriersäure behandelt und in einen mit 20 ml H₂O dest. gefüllten Tropftrichter gegeben. Reste des Reaktionsgemisches spült man mit etwas Wasser nach. Anschließend wird 5mal mit je 10 ml Äther ausgeschüttelt. Die wäßrige Schicht verwirft man und der Äther wird 3mal mit konz. NaCl-Lösung gewaschen. Man filtriert nun durch einen Pfropfen mit Äther benetzter fettfreier Watte in einem Gooch-Vorstöß langsam in einen 100 ml „Erlenmeyer“. Der Tropftrichter wird zweimal mit je 10 ml Äther nachgespült und auch dieser durch die Watte filtriert. Die vereinigten Ätherauszüge werden nach Zugabe einer Glasperle auf dem Wasserbad bis fast zur Trockene eingeengt. Um die ausgeschiedene Substanz von Feuchtigkeit zu befreien, löst man erstere in wenig Alkohol und vertreibt ihn genau wie den Äther. Die letzten Dämpfe werden noch in der Wärme durch ein am Vakuum angeschlossenes Glasröhrchen entfernt. Den Rückstand löst man auf dem warmen Wasserbad in 10 bis 20 ml Benzol p. a., spült nach dem Abkühlen quantitativ in einen 50-ml-Meßkolben über und füllt mit Benzol bis zur Marke auf. Sollte trotz Beachtung der Vorschriften die Benzollösung vor Zugabe der methanolischen Lauge nicht optisch klar sein, so lassen sich Spuren von Feuchtigkeit mit wasserfreiem Natriumsulfat und Abfiltrieren entfernen. Von dieser Endlösung werden genau 1 ml, 2 ml, 3 ml und 4 ml jeweils in 4 graduierte Reagensgläser pipettiert und mit methanolischer Natronlauge (Farbreagens) genau auf 10 ml aufgefüllt. Nach 2 min schüttelt man gut um; 15 min später hat die Rotfärbung ihr Maximum erreicht. Nun werden die 4 Lösungen einzeln in 10 ml Rundküvetten umgefüllt und im lichtelektrischen Colorimeter gemessen. Für die Durchführung der hier beschriebenen Analysen diente ein Colorimeter nach Lange.

Die einzelnen Bestimmungen werden wie folgt vorgenommen: Zuerst setzt man die mit dest. Wasser gefüllten Küvetten ein, kontrolliert den Nullpunkt des Zeigers, und nach Abdunkeln der rechten Zelle wird der Zeigerausschlag auf „100“ geregelt. Anschließend tauscht man die rechte Küvette gegen die mit der zu messenden Lösung aus und liest die Absorption in Prozent ab. Aus einer vorher angelegten Eichkurve ergibt sich der Gehalt der zu bestimmenden Wirkstoffe. Handelt es sich um die Analyse von Cumachlor, wird lediglich die Bromierung fortgelassen, da, wie erwähnt, Cumachlor nur nitriert, stets Rotfärbung erzeugt. Für jedes Oxycumarin-Derivat ist eine besondere Eichkurve anzulegen.

B. Eichlösung

Zur Herstellung der Eichlösung wird zweckmäßig 0,200 g reiner Wirkstoff nach der vorstehenden Arbeitsmethode erst bromiert, dann nitriert (bei Cumachlor nur nitriert), das Endprodukt in Benzol gelöst und in einem 50-ml-Meßkolben aufgefüllt. 1 ml dieser Lösung entspricht dem Gehalt von 4,0 mg Wirkstoff. Für die Anlegung der Eichkurve werden, wie vorher beschrieben, jeweils 1 ml, 2 ml,

3 ml und 4 ml mit dem Farbreagens auf 10 ml aufgefüllt und colorimetriert.

Tabelle 1 enthält die Zahlen, die sich aus einer Serie von Einzelbestimmungen als Mittelwerte für die Aufstellung der Eichkurve ergaben (Meßbereich 4–16 mg).

Die Zahlen für eine weitere Eichkurve (Meßbereich 1,6–3,2 mg) sind in Tabelle 2 zu finden. Diese Werte wurden aus einer Endlösung erhalten, die 10 ml der ersten Eichlösung enthielt und mit Benzol auf 50 ml aufgefüllt wurde. Dieses Mal kamen nur 2 ml, 3 ml und 4 ml zur Messung in Frage, da bei 1 ml (0,8 mg Wirkstoff) die Färbung zu schwach war. Die Erfassungsgrenze liegt also bei etwa 1,5 mg.

Analysenbeispiel. Die aus einer Einwaage von 0,2030 g Warfarin erhaltenen Absorptionswerte sind in Tabelle 3 zu finden. Unter Einhaltung der angegebenen Vorschriften und Art der Berechnung ergibt sich aus dem mittleren Fehler der Mittelwerte der Eichkurve ein mittlerer Fehler der Gehaltsbestimmung einer Probe von höchstens $\pm 1,8\%$. Bei der Messung von jeweils 4 ml Wirkstofflösung in der Küvette wird der genaueste Absorptionswert erzielt und diese Fehlergrenze fast nie erreicht.

Ein Beispiel für die aus einer Einwaage von 20,00 g Fertigpräparat (Cumarin-Streupulver, 1prozentig) erhaltenen Absorptionswerte bringt Tabelle 4. Aus dem gefundenen Mittelwert errechnet sich für die untersuchte Probe ein Wirkstoffgehalt von 0,98 %.

Tabelle 1

Warfarin (aus Einwaage) mg	Absorption in %	mittlerer Fehler der Mittelwerte in % der Einwaage
4,0	53,5 \pm 0,3	\pm 1,3 %
8,0	69,5 \pm 0,2	\pm 1,2 %
12,0	76,5 \pm 0,2	\pm 0,8 %
16,0	81,0 \pm 0,1	\pm 0,3 %

Tabelle 2

Warfarin (aus Einwaage) mg	Absorption in %	mittlerer Fehler der Mittelwerte in % der Einwaage
1,6	30,3 \pm 0,5	\pm 3,1 %
2,4	36,3 \pm 0,4	\pm 2,0 %
3,2	44,2 \pm 0,3	\pm 1,1 %

Tabelle 3

Ansatz 1	Ansatz 2	Mittel	mg Ester (a. Eichkurve) in	g Ester Einwaage
50,6	52,8	51,7	3,9	0,195
68,2	71,4	69,8	8,2	0,205
76,3	77,1	76,7	12,1	0,202
80,6	81,5	81,1	16,1	0,201
				Mittel 0,201
Abweichung von der Einwaage			= - 0,002	
Fehler in Prozent			= - 0,98	

Tabelle 4

Ansatz 1	Ansatz 2	Mittel	mg Ester (a. Eichkurve) in	g Ester Einwaage
55,0	54,5	54,8	4,1	0,205
67,0	69,9	68,5	7,6	0,190
73,5	77,0	75,3	11,5	0,192
79,4	82,1	80,8	15,8	0,198
				Mittel 0,196

C. Nachweis kleiner Mengen von Oxycumarinen

Zur quantitativen Bestimmung der Cumarin-Derivate in Präparaten mit sehr kleinem Wirkstoffgehalt, z. B. oxycumarinhaltigen Weizenkörnern, geht man

von 10,00 g Einwaage des Handelspräparates aus. Das nach dem Verdampfen des Äthers gewonnene Produkt wird nun in 3 ml Benzol gelöst, mit dem Farbreagens bis 10 ml aufgefüllt, nach 2 min gut durchmischt und nach weiteren 15 min colorimetriert. Hierbei kann die Meßküvette nur einmal gefüllt werden. Vorschriftsmäßig werden für die Analyse von Proben stets 2 Ansätze gemacht.

Eine höhere Empfindlichkeit bei der quantitativen Analyse erreicht man, wenn ein Pulfrich-Photometer benutzt wird. Durch die Verwendung von Kleinküvetten kann das Endprodukt in entsprechend wenig Benzol gelöst werden, wobei man stets die Mischung Benzol-Farbreagens im Verhältnis 1:2 ansetzt. Bei dieser Arbeitsweise dürfte eine Erfassungsgrenze von 50–80 μ erreichbar sein.

Die Empfindlichkeit des qualitativen Nachweises von Oxycumarinen, d. h. die Grenze der Sichtbarkeit, wurde für Cumachlor bei Wirkstoffmengen von minimal 10 μ und für Warfarin bei 20 μ festgestellt. Für eine quantitative colorimetrische Bestimmung sind 1,5–2 mg Wirkstoff erforderlich, wobei, bei Benutzung des Lange-Colorimeters, die zu messende Lösung in der Küvette ein Volumen von 10 ml einnimmt. Bei kleineren Flüssigkeitsmengen steigt, gleicher Wirkstoffgehalt vorausgesetzt, die Farbintensität stark an.

Daraus ergibt sich die wesentlich günstigere Erfassungsgrenze beim qualitativen Nachweis.

Die polarographische Methode zur quantitativen Bestimmung von 4-Oxycumarin (Warfarin)

Während das bekannte Kontaktinsektizid DDT bereits polarographisch bestimmt werden kann (MELTZER 1954), lag der Gedanke nahe, auch Cumarinverbindungen auf diesem Wege zu analysieren. Nitriertes DDT läßt sich gut polarographieren, da es an der Quecksilber-Tropfelektrode reduziert wird, demzufolge durfte angenommen werden, daß auch nitriertes Oxycumarin bei der elektrolytischen Reduktion brauchbare Stufen ergeben würde.

In Anlehnung an die Methode zur Bestimmung von DDT wurden Versuche unternommen, nitrierte Oxycumarinverbindungen zu polarographieren. Dabei zeigte sich, daß diese gut ausgebildete Stufen ergaben, deren Höhe von der Menge des in der Lösung enthaltenen Wirkstoffes abhängig war. Voraussetzung für die Genauigkeit der polarographischen Messungen ist allerdings die Entfernung störender Nebenstoffe, die zu unerwünschten Kurvenverläufen führen können.

Reagentien und Material

Alle in der vorliegenden Arbeit verwendeten Chemikalien trugen die Bezeichnung p. a. oder DAB 6. Zur Reinigung wurde das als Lösungsmittel verwendete Aceton mit Permanganat und Soda angesetzt und anschließend überdestilliert. Als Testsubstanz diente 3-(α -Phenyl- β -acetylaethyl)-4-oxycumarin vom Schmelzpunkt: 162–164 ° C.

Experimentelles

Die polarographischen Messungen wurden mit einer Grundlösung durchgeführt, die 1 g Tetramethylammoniumjodid in 100 ml H₂O enthielt. Die „Leerlösung“ bestand aus 2,0 ml Grundlösung und 3,0 ml Aceton (60 ml Aceton und 40 ml H₂O).

Die Analysenlösung setzte sich aus 2 ml Grundlösung, 2 ml Aceton (60:40) und 1 ml Analysensubstanz-Lösung oder 2 ml Grundlösung, 1 ml Ace-

ton und 2 ml Analysensubstanz-Lösung zusammen. Die Analysensubstanz-Lösung enthielt 0,020 g nitriertes Warfarin in 50 ml reinem Aceton als Eichsubstanz, d. h. die dabei erhaltene Stufenhöhe wurde als hundertprozentiges Warfarin angenommen. Alle später gefundenen Werte wurden auf die Eichsubstanz bezogen.

Herstellung der Eichlösung

0,100 g Warfarin spült man mit Äthanol durch einen kleinen Trichter in ein Reagensglas. Durch Eintauchen in ein heißes Wasserbad wird das Lösungsmittel verdampft (Glasperle) und der ausgeschiedene Wirkstoff mit 5 ml Nitriersäure 3 min auf 100 ° C erhitzt (Wasserbad). Das abgekühlte Reaktionsgemisch gießt man in einen mit 20 ml dest. Wasser gefüllten Tropftrichter und spült 2mal mit etwas Wasser nach. Nach dem Abkühlen wird 2mal mit je 5 ml Benzol ausgeschüttelt. Die vereinigten Benzolanszüge wäscht man 2mal mit je 5 ml gesättigter NaCl-Lösung, indem man, ohne zu schütteln, den beiderseitig geschlossenen Schütteltrichter langsam um seine eigene Achse dreht, sowohl in waagerechter als auch in senkrechter Lage. Es soll dabei die ganze innere Wandung des Schütteltrichters mit der Kochsalzlösung abgespült werden. Sodann wird die wäßrige Schicht abgelassen und das Benzol in einem kleinen Becherglas auf dem Wasserbad eingengt. Den Rückstand löst man in reinstem Aceton, spült quantitativ in einem 50 ml Meßkolben über und füllt bis zur Marke auf. Von dieser Lösung werden 10 ml abpipettiert und in einem 50 ml Meßkolben wieder auf 50 ml aufgefüllt. Aus der erhaltenen Endlösung entnimmt man für jede polarographische Messung je 1 bzw. 2 ml.

Fertigpräparaten entzieht man den Wirkstoff durch Extraktion mit Äthanol (über Nacht stehen lassen), filtriert durch ein Glasfilter, wäscht gründlich nach und behandelt weiter, wie bei der Eichsubstanz.

Apparatur

Zur Durchführung der polarographischen Bestimmungen diente ein Heyrovsky-Gerät. Als günstigste Tropfzeit der Kapillar-Elektrode ergab sich die Zeit von 2 sek (in dem verwendeten Elektrolyten). Eine eigens vom Glasbläser hergestellte Glaszelle mit eingeschliffenem Deckel und zwei Bohrungen einerseits für die Tropfkapillare, andererseits zur Einführung eines dünnen Glasrohres für die Gaseinleitung wurde bei den Messungen benutzt. Die Raumtemperatur während der Arbeiten betrug 20 bis 22 ° C. Um Störungen durch Sauerstoff auszuschließen, wurde vor der Messung ein durch Pyrogallol gereinigter Wasserstoffstrom 10 min lang durch die Lösung in der Zelle geleitet und während der Kurvenaufnahme der Raum über dem Flüssigkeitsspiegel mit Wasserstoff gesättigt.

Wie bereits erwähnt, ergab das nitrierte Warfarin eine deutlich ausgebildete Stufe. Es wurde ohne Maximadämpfer und ohne Puffer gearbeitet. Das Maximum der polarographischen Welle liegt mit der verwendeten Grundlösung bei einer Spannung von –1,6 Volt. Da der Kurvenverlauf von 0 an einen steilen Anstieg aufweist, muß in diesem Falle die Stufenhöhe von der Null-Linie aus gemessen werden, und zwar unter Abzug des Anstiegs der Leerlösung bei –1,6 Volt. Abbildung 1 zeigt den Kurvenverlauf des nitrierten Warfarins bei einer Empfindlichkeit von 1:150.

Jede Messung wurde fünfmal durchgeführt und das Mittel der Stufenhöhe errechnet. Betrug die

mittlere Stufenhöhe z. B. b mm und die der Eichsubstanz a mm (= 100%), so errechnet sich daraus die gesuchte Konzentration $x\%$ Warfarin folgendermaßen:

$$\frac{b \cdot 100}{a} = x\% \text{ Warfarin}$$

Diese Methode eignet sich vornehmlich für Präparate mit anorganischen Trägersubstanzen, weniger für Handelszubereitungen, die mit gemahlene Getreideprodukten gestreckt sind. Letztere verursachen Störungen des Kurvenverlaufes durch Nebenstoffe, die bei der Extraktion in den Analysengang gelangen.

Die quantitative Bestimmung des Wirkstoffes in oxycumarinhaltigen Weizenkörnern

Die zur Nagetierbekämpfung angewandten giftigen Weizenkörner können auf polarographischem Wege folgendermaßen analysiert werden. 10,00 g des Fertigpräparates werden unter öfterem Schütteln mit genau 20 ml Äthanol p. a. im verschlossenen „Schliffenmeyer“ extrahiert und dann über Nacht stehen gelassen. Am nächsten Tage zentrifugiert man die alkoholische Lösung und pipettiert 10 ml der klaren Flüssigkeit in ein kleines Becherglas ab. Auf dem Wasserbad wird eingeengt (Glasperle als Siedestein), der Rest in Aceton (reinst) in der Wärme gelöst und in ein trockenes Reagenzglas übergespült. Nach dem Eindampfen zur Trockene nitrirt man den Rückstand mit 5 ml Nitriersäure und behandelt weiter, wie bei der Eichlösung. Das nach dem Eindampfen des Benzols gewonnene Produkt wird nun in 12,5 ml Aceton in einen schmalen, graduierten Schüttelzylinder von 25 ml in Lösung gebracht. Hiervon entnimmt man für jede polarographische Messung je 1 bzw. 2 ml. Diese Endlösung enthält dann theoretisch denselben Wirkstoffgehalt wie die Eichlösung, wobei ein Gehalt von 0,1% Oxycumarin vorausgesetzt wurde. Die bei der Analyse oxycumarinhaltiger Weizenkörner erhaltenen Kurven gibt die Abbildung 2 wieder. Aus der Stufenhöhe errechnet sich in diesem Falle ein Wirkstoffgehalt von 0,09% (Sollwert: 0,1%).

Eine massanalytische Bestimmung des Oxycumarinderivates (Warfarin) in Handelspräparaten

Zur möglichst schnellen Bestimmung des Wirkstoffgehaltes von Nagetierbekämpfungsmitteln auf Oxycumarinbasis wurde eine Massenanalyse entwickelt.

Sie beruht darauf, daß sich nitrirt Oxycumarin unter Verwendung von Bromthymolblau als Indikator mit eingestellter Natronlauge titrieren läßt.

Experimentelles

1. Titration des reinen Wirkstoffes (Warfarin). 0,200 g Warfarin wird mit 5 ml Nitriersäure versetzt, etwa 3 min im kochenden Wasserbad erhitzt und das Produkt unter Nachspülen mit H_2O dest. in einen mit 20 ml Wasser gefüllten Tropftrichter gegeben. Anschließend schüttelt man zweimal mit je 25 ml Äther aus. Nach Ablassen der wäßrigen Schicht wird der Äther solange mit konz. NaCl-Lösung gewaschen, bis gegen Lakmus keine Rotfärbung mehr auftritt. Den Äther filtriert man nun durch einen Pfropfen mit Äther benetzter Watte in ein Becherglas. Der Tropftrichter wird zweimal mit je 5 ml Äther nachgespült und auch dieser durch die Watte filtriert. Die vereinigten Ätherauszüge werden auf dem Wasserbad bis zur Trockene eingedampft. Den Rück-

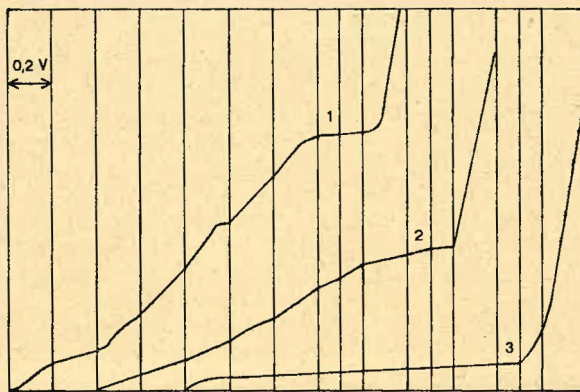


Abb. 1: Polarogramme: 1. Eichlösung, nitrirtes Oxycumarin, 2 ml, 2. dasselbe 1 ml, 3. „Leertlösung“, Empf. 1:150

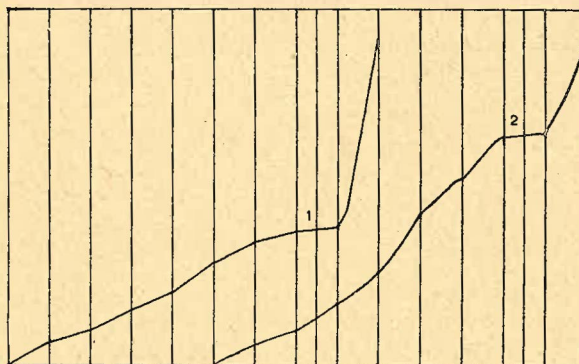


Abb. 2: Polarogramme: 1. Oxycumarinhaltige Weizenkörner, 1 ml, 2. dasselbe 2 ml, Empf. 1:150

stand löst man anschließend in 10 ml $n/10$ NaOH und spült mit dest. Wasser in einen Titrierkolben über. Nach Zugabe von 8 Tropfen Bromthymolblaulösung als Indikator wird mit $n/10$ HCl zurücktitriert bis zum Farbumschlag von dunkel-blaugrün nach hell-gelbgrün. Da der Umschlagspunkt nicht ganz scharf einsetzt, muß bei den folgenden Analysen stets bis zum gleichen Farbton titriert werden, um genaue Ergebnisse zu erzielen. Zweckmäßig führt man daher mehrere Titrationen mit dem reinen Wirkstoff durch und legt den Umschlagspunkt bezüglich seines Farbtons dabei fest. Der Verbrauch für 0,2 g Warfarin betrug 3,1 ml $n/10$ NaOH, d. h. bei Vorlage von 10 ml $n/10$ NaOH wurden 6,9 ml $n/10$ HCl verbraucht.

2. Bestimmung des Wirkstoffgehaltes in Handelspräparaten. 20 g Fertigpräparat, genau gewogen, werden in einem verschlossenen „Schliffenmeyer“ mit etwa 50 ml Äthanol über Nacht stehen gelassen, wobei die Substanz von der Flüssigkeit bedeckt sein soll. Dann wird in ein Becherglas filtriert unter gründlichem Nachwaschen mit Äthanol. Anschließend dampft man auf dem Wasserbad zur Trockene ein und behandelt den Rückstand weiter, wie bei dem reinen Wirkstoff beschrieben wurde. Die Fehlergrenze beträgt, bezogen auf das reine Warfarin, etwa $\pm 5\%$.

Der Nachweis von Oxycumarin in tierischen Organen

Die Erfahrungen, die seit der Einführung der 4-Oxycumarinverbindungen in den letzten Jahren gesammelt wurden, haben gezeigt, daß man bei Anwendung dieser Präparate zur Nagetierbekämpfung in den meisten Fällen sehr gute Erfolge erzielte.

Über die Wirkung im einzelnen und die Krankheitssymptome, die zum Tode führen, ist bereits in

der Fachliteratur ausführlich berichtet worden. Die bisherigen Forschungsergebnisse über die Toxizität der Oxycumarinderivate führten zu der Erkenntnis, daß die Hauptwirkung dieser Präparate auf der Herabsetzung der Blutgerinnungsfähigkeit bei Wirbeltieren beruht. Die toxischen Cumarinverbindungen werden daher auch als Antikoagulantien bezeichnet. Außer der blutgerinnungshemmenden Wirkung wurden Schädigungen an den Arterien, eine erhöhte Kapillardurchlässigkeit (innere Blutungen), sowie ein Zerfall der roten Blutkörperchen festgestellt. Über dabei etwa auftretende Umsetzungen chemischer Art im Tierkörper ist bisher noch nichts bekannt (TELLE 1955). Die folgenden Versuche wurden ausgeführt, um erstens festzustellen, ob im Blut und in den Organen vergifteter Mäuse Oxycumarin nachzuweisen ist, und zweitens, in welchen Organen eine besonders hohe Anreicherung der aufgenommenen Giftmenge stattfindet. Endlich sollte ermittelt werden, ob die Oxycumarin-Derivate unverändert vorgefunden werden, d. h. ob die bereits früher erwähnten Farbreaktionen auf einen Nichtabbau oder eine chemische Veränderung der Wirkstoffe im tierischen Körper schließen lassen.

Experimentelles

Die Untersuchungen in dieser Richtung wurden mit weißen Mäusen durchgeführt. Zur Verfütterung gelangten ein Warfarin enthaltendes Handelspräparat mit 1% Wirkstoff sowie ein gleichwertiges Cumachlor-Streupulver, das z. Z. nicht mehr im Handel ist.

Je 10 weiße Mäuse wurden einzeln gehalten und erhielten vor Versuchsbeginn Normalfutter und Wasser. Die Tiere kamen in Glasschalen von 20 cm Ø und wurden zwei Tage lang nur mit je 2 g des Handelspräparates in Brot vermischt gefüttert. Bei dieser Versuchsanordnung konnte einwandfrei festgestellt werden, ob alles Brotgemisch aufgefressen wurde oder nicht. Im allgemeinen nahmen die Tiere das vergiftete Futter restlos auf. Am dritten Tage konnten äußerlich keine Erkrankungserscheinungen, wie z. B. Lähmung oder Nachlassen der Lebhaftigkeit, festgestellt werden. Da eine chemische Untersuchung des Blutes der Tiere erforderlich war, wurden diese, vor ihrem durch Oxycumarin eintretenden Exitus, abgetötet und das Blut sofort frisch isoliert.

10 weiße Mäuse, die das erwähnte Gifffutter restlos aufgenommen hatten, betäubten wir in einem Glasgefäß, das am Boden mit Äther getränkte Watte enthielt. Durch Abtrennen des Kopfes wurden die Tiere der Reihe nach entblutet und das Blut in einer Schale aufgefangen. In der Schale befanden sich 10 ml einer 10prozentigen Natriumcitratlösung zur Verhinderung der sonst eintretenden Blutgerinnung an der Luft. Diese Mischung wurde in ein Becherglas gegeben und mit 20 ml Aceton versetzt, der dabei gebildete Niederschlag mit einer Handzentrifuge abgeschleudert und die klare Lösung solange mit kleinen Portionen von Aceton versetzt, bis die mehrmals zentrifugierte Flüssigkeit klar blieb. Die zum Schluß farblose Lösung wurde auf dem Wasserbad völlig eingedampft und der Rückstand wie bei der qualitativen Oxycumarin-Analyse weiter behandelt. Trotz mehrmaliger Wiederholung dieser Versuche konnte im Blut vergifteter Mäuse nur eine ganz geringe Menge an Warfarin bzw. Cumachlor nachgewiesen werden. Zum Vergleich wurden Blindproben mit Mäuseblut unvergifteter Tiere durchgeführt.

In den nun folgenden Versuchen isolierten wir die inneren Organe vergifteter Mäuse, und zwar Leber, Niere, Magen und Darm. In vier Erlenmeyer-Kolben wurden die Organe von 10 Tieren getrennt gesammelt, zerkleinert und zwölf Stunden lang mit Aceton bedeckt, sich selbst überlassen. Die einzelnen Lösungen wurden filtriert, die klaren Acetonauszüge eingedampft und wie vorher auf Wirkstoffgehalt geprüft. Wiederholte Untersuchungen ergaben dann den folgenden Befund: Die stärkste Anreicherung an Oxycumarin fand sich in der Leber, etwas weniger Wirkstoff enthielten der Darm und der Magen, während die Niere den geringsten Anteil aufwies. Auf Grund der üblichen Farbreaktionen kann angenommen werden, daß das Oxycumarin chemisch unverändert von den Organen gespeichert wird und sich vor allem in der Leber anreichert, so daß Vergiftungen an Tieren am besten mit Hilfe einer Analyse der Leber nachgewiesen werden können.

Wie die geschilderten Versuche gezeigt haben, findet sich die Hauptmenge des Wirkstoffes bei Mäusen, die mit Cumarinverbindungen gefüttert wurden, nicht in den „ersten Giftwegen“, d. h. im Magendarmkanal, sondern in den „zweiten Giftwegen“, also vor allem in der Leber, wobei die Intensität der Färbung beim Nachweis Rückschlüsse auf die aufgenommene Menge des Wirkstoffes gestattet.

Sollten durch unglückliche Umstände, z. B. bei Haustieren, tödliche Vergiftungsfälle durch Aufnahme von Oxycumarin-Präparaten eintreten, so wäre, abgesehen von den allgemeinen Symptomen, eine sichere Diagnose der Vergiftung erst durch den chemischen Nachweis, in diesem Falle des Oxycumarins, gegeben. Während viele organische Gifte derart leicht zersetzlich sind, daß ihre Identifizierung in den Organen unmöglich wird, sind die Cumarinderivate auch nach mehreren Tagen unverändert nachweisbar.

In der Strafprozeßordnung lesen wir: „Liegt der Verdacht einer Vergiftung vor, so ist die Untersuchung der in der Leiche oder sonst gefundenen verdächtigen Stoffe durch einen Chemiker oder durch eine für solche Untersuchungen bestehende Fachbehörde vorzunehmen.“

Aus diesem Grunde sollte hier festgestellt werden, ob das Oxycumarin nach 10 Tagen im toten Tierkörper gut nachweisbar ist.

Dieses Mal wurden 6 weiße Mäuse, wie beschrieben, mit Warfarin 2 Tage lang gefüttert und am dritten Tage getötet. Die Tiere lagerten sodann 10 Tage lang bei Zimmertemperatur. Nach dieser Frist wurde die Leber der Mäuse extrahiert und die Farbreaktion auf Oxycumarin durchgeführt. Die chemische Analyse verlief positiv und entsprach voll und ganz den vorherigen Untersuchungen.

Zum Chemismus der Bromierung und Nitrierung von Oxycumarinverbindungen

Mit Hilfe der Beilsteinschen Probe (Erhitzen der Substanz an Kupferoxyd in der Flamme) konnte die Aufnahme von Brom nur bei bromiertem Warfarin nachgewiesen werden. Eine Nitrierung findet dagegen bei allen erwähnten Cumarin-Derivaten statt, also bei reinem Cumarin, Dicumarol, Cumachlor, Fumarin und Warfarin. Daß es sich hierbei um eine echte Nitrierung handelt, wurde durch den Nachweis von Stickstoff nach LASSAIGNE (Glühen der Probe mit met. Natrium und Fällung als Berliner Blau)

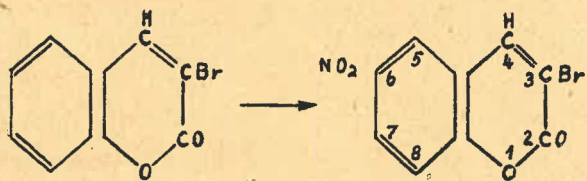
bewiesen. Ferner wurde nitriertes Warfarin mit Zink und Salzsäure zum Amin reduziert, mit Natriumnitrit diazotiert und mit α -Naphthol gekuppelt. Dabei konnte die charakteristische Rotfärbung durch den gebildeten Azofarbstoff nachgewiesen werden.

Unter anderem sollte bestimmt werden, wieviel Brom vom Warfarin durch Substitution aufgenommen wird. Zur Klärung dieser Frage wurden 4 Einwaagen von je 0,1540 g Warfarin im Reagensglas in Chloroform gelöst und mit einer bromhaltigen Chloroformlösung bis zur bleibenden braunroten Färbung versetzt. Nun wurde das Chloroform sowie überschüssiges Brom verdampft und der abgekühlte Rückstand mit 3 ml Nitriersäure 3 min lang im heißen Wasserbad unter Schütteln behandelt. Diese Lösung wurde, nach dem Abkühlen, in einen 20 ml H_2O enthaltenden Tropftrichter gegeben und das Reagensglas mit H_2O nachgespült. Es folgte ein 3maliges Ausschütteln mit je 20 ml Äther, Ablassen der unteren wäßrigen Schicht und Waschen des Äthers mit einer gesättigten Na_2SO_4 -Lösung bis zur Neutralität gegen Lakmuspapier. Dann wurde der Äther auf dem Wasserbad eingedampft und der Rückstand mit 50 ml 1 n methanol. Natronlauge am Rückflußkühler unter leichtem Sieden eine Stunde lang verseift. Nach dem Ansäuern mit HNO_3 folgte die Bestimmung der abgespaltenen Brommenge durch Mikrotitration nach VOLHARD.

Der unter diesen Bedingungen ermittelte Silbernitratverbrauch entsprach bei den gegebenen Einwaagen einem Atom Brom für ein Molekül Warfarin.

Um die Anzahl der bei der Nitrierung aufgenommenen Nitrogruppen zu bestimmen, wurde das bromierte und nitrierte Warfarin in alkoholischer Lösung mit granuliertem Zink und verdünnter Salzsäure zur entsprechenden Aminoverbindung reduziert. Es folgte eine Umkristallisation der gewonnenen Substanz aus Alkohol und anschließend eine Stickstoffbestimmung nach KJELDAHI. Die aus mehreren Einwaagen erhaltenen Mengen Stickstoff ließen auf das Vorhandensein einer Nitrogruppe in der bromierten und nitrierten Verbindung schließen. Dieses aus Warfarin gewonnene Präparat ist eine dunkelbraune pulverförmige Substanz, die sich in Wasser nicht löst, in heißem Alkohol und Eisessig dagegen in Lösung geht. Beim Erhitzen der Verbindung tritt oberhalb von $300^\circ C$ allmähliche Zersetzung ein.

Nach STRUSS (1907) entsteht beim Nitrieren von Coumarin nur das 6-Nitrocoumarin, und aus 3-Bromcoumarin beim Lösen in rauchender Salpetersäure bildet sich entsprechend 3-Brom-6-Nitrocoumarin.



Es wurde bereits erwähnt, daß nach erfolgter Bromaufnahme und Nitrierung des Oxycumarin-Derivates Warfarin eine Nitrogruppe durch Stickstoffbestimmung nachgewiesen werden konnte. Analog darf man wohl daraus schließen, daß die Nitrogruppe wie beim Coumarin die 6-Stellung einnimmt. Das Coumachlor, welches bereits ein Chloratom enthält und, wie zu Anfang beschrieben, nur einer Nitrierung unterworfen wurde, ergibt, in Benzol

gelöst und mit methanolischer Natronlauge versetzt, die charakteristische Rotfärbung.

Wird Warfarin zunächst bromiert und anschließend nitriert, so erhält man mit der entstandenen Substanz dieselbe Rotfärbung wie bei nitriertem Coumachlor. Auf Grund der gleichen Farbreaktion kann angenommen werden, daß die Bromaufnahme in der Seitenkette erfolgt, wobei die Frage, ob gleichzeitig Spaltprodukte gebildet werden, offen bleiben muß. Alle hier zitierten Coumarin-Derivate, außer Warfarin, ließen sich unter den beschriebenen Bedingungen nicht bromieren und ergaben deshalb auch keine rote Farbreaktion.

Eine weitere Diskussion oder Bearbeitung des damit angeschnittenen Fragenkomplexes würde jedoch umfangreicheres experimentelles Material erfordern und den Rahmen dieser Arbeit überschreiten.

Zusammenfassung

Einleitend werden Konstitution und Formelbilder verschiedener 4-Oxycumarin-Derivate und bereits bekannte analytische Methoden angeführt, sowie drei neue Analysenverfahren beschrieben. Das erste beruht auf dem qualitativen und quantitativen colorimetrischen Nachweis von Warfarin und Coumachlor; sie werden in bestimmte Farblösungen übergeführt, indem der Wirkstoff Warfarin zuerst bromiert und dann nitriert, Coumachlor hingegen nur nitriert wird. Beide Oxycumarine, in Benzol gelöst und mit starker methanolischer Natronlauge 1:2 versetzt, ergeben eine intensive rote Farblösung, wobei die Farbtiefe proportional dem Wirkstoffgehalt ist. Mit Hilfe eines lichtelektrischen Colorimeters wird die Rotfärbung gemessen.

Die zweite Analyse dient zur quantitativen Oxycumarin-Bestimmung auf polarographischem Wege. Der Wirkstoff wird in seine Nitroverbindung übergeführt und in einer Grundlösung von Tetramethylammoniumjodid mit Aceton und Wasser polarographiert; die Stufenhöhe ist vom Wirkstoffgehalt abhängig, wobei auf die Entfernung störender Nebensubstanzen zu achten ist. Auch die zur Nagetierbekämpfung angewandten gifthaltigen Weizenkörner können polarographisch analysiert werden.

Die dritte quantitative Bestimmung von Warfarin wird auf dem Wege der Maßanalyse durchgeführt und eignet sich für Handelspräparate mit einem Wirkstoffgehalt von ca. 1%. Die Methode beruht darauf, daß sich nitriertes Oxycumarin unter Verwendung von Bromthymolblau als Indikator mit eingestellter Natronlauge titrieren läßt. Die Fehlergrenze beträgt etwa $\pm 5\%$.

Der colorimetrische Nachweis von Oxycumarin in tierischen Organen ergab, daß in der Leber weißer Mäuse eine maximale Anreicherung des Giftes erfolgt, während in den „ersten Giftwegen“ und im Blut nur geringe Mengen nachweisbar sind. Nach Tötung der infizierten Mäuse ließ sich noch zehn Tage später der Wirkstoff einwandfrei in der Leber identifizieren.

Abschließend wird der Chemismus der Bromierung und Nitrierung von Oxycumarin-Verbindungen eingehend erläutert und festgestellt, daß diese, außer Warfarin, sich nicht bromieren ließen und daher auch keine rote Farbreaktion zeigten.

Summary

Report is given concerning the qualitative and quantitative estimation of the 4-hydroxy coumarins warfarin and coumachlor. Three methods of analysis

are taken into consideration. The first method is based on the colorimetric determination, in the second case a polarographic method is applied to, while the third one is performed by means of volumetric analysis.

In order to trace hydroxy coumarin within the animal organism, experiments are described wherein the effective material was determined in the organs of poisoned mice and the principal constituent of the hydroxy coumarin was found in the liver. Finally, the chemical proceedings fundamental to these methods of analysis, are discussed.

Краткое содержание

Излагается качественное и количественное определение 4-оксикумаринов — Варварина и Кумахлора тремя методами анализа: колориметрическим, полярографическим и титрованием. Описаны опыты определения оксикумарина в животном организме. Действующее вещество определялось во внутренних органах отравленных мышей, большая часть оксикумарина была найдена в печени. В заключении обсуждаются химические процессы, на которых основаны методы анализа.

Literaturverzeichnis

- ALESSANDRINI, M. E.: Ein colorimetrisches Verfahren zur Bestimmung von DDT. Ann. Chim. appl. 1948, 38, 53, 414—422. Ref. Fresenius Zeitschr. f. anal. Chem., 1952, 136, 68
- DUSINSKY, G.: Die bromometrische Bestimmung von 4-Oxycumarin und seinen bis-Derivaten. Chem. Listy, 1954, 48, 1869, Staatl. Inst. Z. Arzneimittelnkontr. Bratislava (ČSR). Ref. Fresenius Zeitschr. f. anal. Chem., 1955/56, 148, 314
- EHRENTRAUT, P.: Bekämpfungsergebnisse mit einem neuen Coumarin-Mittel. Nachr.bl. Dtsch. Pfl.schutzd., Berlin N. F., 1953, 7, (7), 124
- FÜRST, H.: Chemie und Pflanzenschutz, 1952, 36, 75—76, Verlag Technik, Berlin.
- GOODWIN, R. H. und B. M. POLLOCK: Ultraviolet-Absorptionsspektren von Coumarin-Derivaten. Arch. of Biochem. a. Biophysics, 1954 49, 1—6
- HUNOLD, G. A. und B. SCHÜHLEIN: Analytischer Beitrag zur Bestimmung der Rattengiftstoffe Actosin und Tomorin. Ztschr. f. Hygien. Zoolog., 1952, 40, (5—6), 129
- JANČIK, F. und J. KÖRBL: 4-Hydroxycumarinbestimmung durch Titration. Českoslov. Farmac., 1956, 5, 408, Staatsanstalt f. Arzneimittelkontr., Prag. Ref. Fresenius, Zeitschr. f. anal. Chem., 1957, 157, 76
- LAUE, G.: Die neuen Coumarin-Mittel zur Rattenbekämpfung. Nachr.bl. Dtsch. Pfl.schutzd., Berlin N. F., 1952, 6, (7), 127
- LAUE, G.: Coumarin-Derivate mit antikoagulierenden Eigenschaften und ihre mögliche Anwendung in der Nagerbekämpfung. Nachr.bl. Dtsch. Pfl.schutzd., Berlin N. F., 1954, 8, (8), 148
- MELTZER, H.: Eine polarographische Methode zur quantitativen Bestimmung von DDT. Nachr.bl. Dtsch. Pfl.schutzd., Berlin N. F., 1954, 8, (5), 86
- PRICE, D. und M. T. BOGERT: The synthesis of certain methoxychalcones and methoxybenzal- β -coumaranones from methoxyacetophenones and nitrobenzaldehydes. Journ. of the Americ. Chem. Society, 1934, 56, II, 2447
- SCHECHTER, M. S., S. B. SOLOWAY, R. A. HAYES und H. L. HALLER: Colorimetrische Bestimmung von DDT. Ind. Eng. Chem. Anal. Ed., 1945, 17, 704—709
- STEINIGER, F.: Über die Giftigkeit des Actosin-Wirkstoffs für Haustiere. Nachr.bl. Dtsch. Pfl.schutzd. Braunschweig, 1952, 4, (10), 149
- STEINIGER, F.: Fortschritte in der Rattenbekämpfung. Nachr.bl. Dtsch. Pfl.schutzd. Braunschweig, 1953, 5, (4), 53
- STEINIGER, F.: Über die Wirksamkeit des „Fumarin“, eines neuen Antikoagulans zur Rattenbekämpfung. Nachr.bl. Dtsch. Pfl.schutzd., Braunschweig, 1953, 5, (11), 167
- STRUSS, E. A.: Über das 4-Nitrocumarin und seine Umwandlungsprodukte. Dissertation Rostock 1907
- TELLE, H.-J.: Beiträge zur Anwendung cumarinhaltiger Präparate in der Nagetierbekämpfung. Nachr.bl. Dtsch. Pfl.schutzd., Berlin N. F. 1955, 9, (4), 61
- WEBER, H.-H.: Zur Methodik der Analyse technischer Lösungsmittel. Chem. Ztg., 1931, 55, 201
- ANONYM: Warfarin — ein neues Nagetierbekämpfungsmittel. Prakt. Chem., Wien, 1951, 250—251. Ref. Chem. Zentralbl., 1955, 126, 4438

Untersudungen über die Möglichkeiten zum frühzeitigen Nachweis von Pflanzenkrankheiten mit Hilfe der Anwelkmethode

2. Mitteilung: Das Transpirationsverhalten virusinfizierter Pflanzen der Gattungen *Nicotiana*, *Datura* und *Hyoscyamus*

Von G. SCHUSTER

Aus dem Institut für Phytopathologie der Karl-Marx-Universität Leipzig

Es ist anzunehmen, daß Virusbefall nicht nur die Umsteuerung zahlreicher assimilatorischer und dissimilatorischer Prozesse, sondern auch Eingriffe in den Wasserhaushalt der Wirtspflanzen zur Folge hat. So liegt beispielsweise nahe, das vorzeitige Eintrocknen von Blättern und Sprossen virusbefallener Pflanzen u. a. auf virusinduzierte Veränderungen in der Wasserbilanz zurückzuführen. Insbesondere ist hierbei an eine Erhöhung der Transpirationsintensität bzw. an eine Verringerung des Transpirations- und Welkewiderstandes zu denken.

Derartigen Veränderungen des Transpirationsverhaltens ist insofern besondere Bedeutung beizumessen, als die Wasserabgabe der Pflanzen in der Anwelkmethode (ARLAND 1929 a, 1929 b, 1950, 1952 a, 1952 b, 1956) als Indikator für die Zweckmäßigkeit bestimmter acker- und pflanzenbaulicher Kulturmaßnahmen, wie Düngung, Saatterrichtung, Bodenlockerung usw. herangezogen wird. Wenn die Wasserabgabe aus dem Boden gelöster, wurzelloser und an den Schnittstellen mit Paraffin abgedichteter Pflanzen durch zwei, in der

Regel im Abstand von 30 Minuten erfolgende Wägungen unter Einhaltung bestimmter Maßnahmen ermittelt und auf 100 g transpirierende Pflanzenmasse bezogen wird, entsprechen im allgemeinen niedrige Transpirationswerte günstigen Wachstumsbedingungen und guten Ernteerträgen und umgekehrt. Insofern Virusbefall ebenso wie ungeeignete Kulturbedingungen eine Erhöhung der im Wege der Anwelkmethode ermittelten Transpirationswerte zur Folge hat, wäre daher u. U. eine Erweiterung des Anwendungsbereiches der Anwelkmethode auf die Diagnose von Virusinfektionen möglich, ein Umstand, der insbesondere im Hinblick auf Frühdiagnosen sowie auf latenten und maskierten Virusbefall von Bedeutung wäre (MÜHLE 1955). Untersuchungen über das Transpirationsverhalten virusinfizierter Pflanzen ließen daher nicht nur eine Erweiterung der Kenntnisse über die pathologische Physiologie pflanzlicher Virosen, sondern darüber hinaus gewisse praktische Hinweise zur Verbesserung der Virusdiagnostik erhoffen.

Als Versuchspflanzen fanden verschiedene Arten, Varietäten bzw. Sorten der Gattungen *Nicotiana*, *Datura* und *Hyoscyamus* Verwendung. Die Anzucht der Pflanzen erfolgte nach der von ARLAND (1952 b) gegebenen Anleitung zur Durchführung der Anwelkmethode in emaillierten Vegetationsschalen (Mitscherlichuntersetzern) mit einem inneren Durchmesser von 24 cm und einer lichten Höhe von 6 cm. Jedes Gefäß enthielt 2800 g lufttrockenen, humosen Gartenboden. Der Wassergehalt des Bodens wurde durch tägliche Wasserzufuhr unter Gewichtskontrolle auf 60% der wasserfassenden Kraft gehalten. Die Schalen waren dergestalt mit jeweils 10 Pflanzen besetzt, daß jeder einzelnen Pflanze etwa das gleiche Bodenvolumen zur Verfügung stand.

In einem geeigneten Entwicklungsstadium, in der Regel im Vierblattstadium, wurden die Pflanzen mit dem Kartoffel-X-Virus (Ringspot-Stamm H 19), dem Kartoffel-Y-Virus¹⁾ oder mit beiden Viren gleichzeitig infiziert. Die mechanische Übertragung erfolgte mittels Pistill auf die zweit- und drittältesten Blätter, wobei bei *Datura* und *Hyoscyamus* ein Abrasivum (Karbörundpuder) Verwendung fand. Bei *Nicotiana* wurde ohne Abrasivum gearbeitet. Die nicht infizierten Kontrollen wurden jeweils der gleichen Behandlung unterzogen, nur daß an Stelle des Inokulums Wasser verwendet wurde.

Die Transpirationsuntersuchungen wurden im allgemeinen etwa 4 Wochen nach der Infektion vorgenommen, wenn deutliche Befallssymptome auf den Blättern der infizierten Pflanzen und häufig auch Wuchsdepressionen starke Eingriffe des Virus in den Stoffwechsel der Wirtspflanze erkennen ließen. Die Pflanzen wurden dicht über dem Erdboden abgeschnitten und nach sofortiger Abdichtung der Schnittstelle durch einen Überzug von niedrig siedendem Paraffin nach den für die Anwelkmethode geltenden Arbeitsanweisungen den Transpirationsuntersuchungen unterzogen. In der Regel erfolgten bei jedem Versuchsglied 3 Paralleluntersuchungen an je 6 Pflanzen. Für die Wägungen stand eine von ENZMANN für Transpirationsmessungen entwickelte, halbautomatische Spezialwaage mit einer Genauigkeit von $\pm 0,005$ g zur Verfügung.

¹⁾ Für die Überlassung der Virusstämmen sei auch an dieser Stelle Herrn Regierungsrat Dr. BERCKS, Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Institut für Viroserologie, Braunschweig, nochmals unser verbindlichster Dank ausgesprochen.

Die Anwelkdauer, d. h. die Expositionszeit zwischen erster und zweiter Wägung, während der die Wasserabgabe der Pflanzen bestimmt wird, war in Vorversuchen für die Arten und Varietäten bzw. Sorten der Gattungen *Nicotiana* und *Datura* mit 45 Minuten und für *Hyoscyamus niger* mit 40 Minuten festgelegt worden. Innerhalb dieser Zeit wurde so viel Wasser abgegeben, daß die Ermittlung des Wasserverlustes bei Verwendung der angeführten Spezialwaage nur noch mit geringen relativen Wägefehlern belastet war, während andererseits noch keine wesentlichen Veränderungen der Transpirationsintensität erfolgten, wie sie bei abgeschnittenen Pflanzenteilen bei längeren Expositionszeiten durch Spaltöffnungsschluß und Erschöpfung des Wasservorrates in Erscheinung treten. In kürzeren Intervallen (3 Minuten) durchgeführte Wägungen hatten erkennen lassen, daß die Wasserabgabe je Intervall bei den genannten Pflanzenarten erst nach Expositionszeiten, die die angeführten Zeiten um 20 bis 30% übersteigen, größere, das Versuchsziel gefährdende Veränderungen erfährt.

Die Ergebnisse der Untersuchungen ließen eindeutige Beziehungen zwischen Virusbefall und Transpirationsintensität erkennen. Je stärkere Schäden an den virusinfizierten Pflanzen auftraten, desto höhere Transpirationswerte wurden im allgemeinen ermittelt. Dementsprechend wiesen Pflanzen mit Mischinfektion in der Regel die größte Transpirationserhöhung auf. Bisweilen belief sich die Wasserabgabe der entsprechenden Pflanzen auf mehr als das Doppelte der Wasserabgabe gesunder Kontrollen. Diese starke Transpirationserhöhung dürfte wesentlich zum raschen Eintrocknen der Blätter bzw. der gesamten Sprosse stark virusgeschädigter Pflanzen beitragen. Bei geringen Virussschäden, z. B. bei schwacher Adernaufhellung, wie sie nach Infektion bestimmter *Nicotiana*-Arten und -Sorten mit dem Kartoffel-Y-Virus vielfach in Erscheinung tritt, war dagegen häufig nur eine geringe oder überhaupt keine Transpirationserhöhung zu verzeichnen. Die Blätter und Sprosse blieben dementsprechend auch voll turgeszent und zeigten keine Eintrocknungserscheinungen.

Geringfügigere Veränderungen der Transpirationsintensität waren in der Regel nicht statistisch gesichert, da zwischen den verschiedenen Wiederholungen der einzelnen Versuchsglieder häufig ebenfalls gewisse Abweichungen in Erscheinung traten. Diese dürften sich jedoch bei Erhöhung der Pflanzenzahl je Wiederholung beträchtlich verringern.

Als Beispiel für die erhaltenen Ergebnisse sind in Tab. 1 bis 4 die Werte von Untersuchungen an *Nicotiana tabacum* cv. Samsun Bashi Bagli, *Nicotiana tabacum* cv. White Burley, *Datura stramonium* var. *inermis* und *Hyoscyamus niger* zusammen mit verschiedenen, den Versuchsverlauf charakterisierenden allgemeinen Versuchsangaben angeführt.

Ähnliche Werte wurden auch bei zwei weiteren Parallelversuchen an *Nicotiana tabacum* cv. Samsun Bashi Bagli sowie bei Untersuchungen an *Nicotiana tabacum* St. D 23, *Nic. tab.* St. NFT 51, *Nicotiana glutinosa* und *Nicotiana rustica* erhalten. Lediglich in einigen Versuchsreihen, bei denen der Virusbefall besonders weit fortgeschritten war und zu besonders starken Schädigungen geführt hatte, waren abwei-

Tabelle 1

Der Einfluß von Virusbefall auf die Transpirationsintensität von *Nicotiana tabacum* cv. Samsun Bashi Bagli

A. Allgemeine Versuchsangaben

Versuchspflanze: *Nicotiana tabacum* L. cv. Samsun Bashi Bagli
 Bodenbeschaffenheit: humoser Gartenboden
 Wasserkapazität: 35,88%
 Herkunft des Bodens: Garten des Instituts für Phytopathologie, Leipzig
 Sättigung der Wasserkapazität: 60%
 Aussaat in Anzuchtkästen: 18. 3. 1955
 Aufgang: 26. 3. 1955
 pikiert: 1. 4. 1955
 Bepflanzen der Vegetationsschalen: 5. 5. 1955
 Infektion: 20. 5. 1955
 Tag der Auswertung: 15. 6. 1955
 Beurteilung der Pflanzen am Tage der Auswertung:
 Anzahl der Blätter: 4-6

nicht infizierte Kontrolle: keine Symptome
 Wuchshöhe: 15-17 cm
 Infektion Kartoffel-X-Virus: auf den Blättern ringförmige Nekrosen
 Wuchshöhe: 11-13 cm
 Infektion Kartoffel-Y-Virus: Aufhellung der Blattadern
 Wuchshöhe: 15-18 cm
 Mischinfektion Kartoffel-X- und Kartoffel-Y-Virus: starke ringförmige Nekrosen bzw. Schildpattmuster
 Wuchshöhe: 7-8 cm
 Temperatur am Tage der Auswertung im Versuchsraum im Durchschnitt: 19,3 °C
 Relative Luftfeuchtigkeit am Tage der Auswertung im Versuchsraum im Durchschnitt: 76%
 Anwelkdauer: 45 Minuten

B. Ergebnisse der Transpirationsbestimmung und der Oberflächenmessung

Anzahl der Pflanzen	Anzahl der Parallelunters.	Infektion	Pflanzengewicht in g	Welkeverlust in g	Welkeverlust je 100 g Pflanzenmasse in g $\pm \sigma_M$	Differenz zur Kontrolle $\pm \sigma_{Diff.}$	Relativzahl (Kontr. = 100)	Transp. Oberfl. je 100 g transp. Pflanzenmasse	Wasserabgabe bez. auf 1000 cm ² transp. Oberfl. in g
18	3	nicht infiz. Kontrolle	82,57	1,72	2,083 \pm 0,26		100	6985,24	0,30
18	3	Kart.-X-Virus	63,98	1,61	2,516 \pm 0,55	+ 0,433 \pm 0,607	121	6934,81	0,36
18	3	Kart.-Y-Virus	95,49	3,59	3,760 \pm 0,03	+ 1,677 \pm 0,259	181	6446,84	0,58
18	3	Mischinfekt. Kartoffel-X- u. -Y-Virus	56,24	2,46	4,374 \pm 0,20	+ 2,291 \pm 0,324	210	7017,55	0,57

+) σ_M und $\sigma_{Diff.}$ nach WEBER 1948

chende Ergebnisse zu verzeichnen. So traten in zwei Versuchen mit *Nicotiana tabacum* cv. Geudertheimer bzw. *Datura stramonium* var. *stramonium* zwischen infizierten Pflanzen und nicht infizierten Kontrollen nur sehr geringe Transpirationsunterschiede auf, und in vier Versuchen mit *Nicotiana tabacum* cv. Havana 2 c, *Nic. tab. St. O 20*, *Nic. tab. St. NFT 51* und *Datura stramonium* var. *tatula* zeigten die infizierten Pflanzen geringere Transpirationsverluste als die gesunden Kontrollen.

Diese abweichenden Ergebnisse dürften einmal dadurch zu erklären sein, daß die ältesten Blätter der infizierten Pflanzen infolge besonders rascher Fortschritte des Virusbefalles zum Zeitpunkt der Untersuchungen bereits abgestorben und vielfach abgeworfen waren. Hierdurch war die transpirierende Oberfläche der virusbefallenen Pflanzen im Vergleich zu derjenigen nicht infizierter Kontrollen bei verhältnismäßig geringer Gewichtsverringerung wesentlich vermindert worden, ein Umstand, der sich bei der Anwelkmethode in einer Verminderung der auf 100 g Frischmasse bezogenen Wasserabgabe auswirken muß. Darüber hinaus waren viele ältere und z. T. auch jüngere Blätter virusinfizierter Pflanzen in den Versuchsreihen mit abweichenden Ergebnissen häufig nicht mehr voll turgeszent. Sie wiesen offensichtlich ein Wasserdefizit auf, welches dadurch entstanden sein dürfte, daß die Blätter infolge einer ursprünglich stärkeren Transpirationserhöhung mehr Wasser abgegeben hatten, als durch die Wurzel ergänzt werden konnte. Infolgedessen waren die entsprechenden Pflanzen während der Untersuchun-

gen nicht mehr in der Lage, so stark wie die nicht infizierten, voll turgeszenten Kontrollpflanzen zu transpirieren, so daß es bei stark virusgeschädigten Pflanzen auch aus diesem Grunde zu einer scheinbaren Umkehr des Transpirationsverhaltens kam, wie sie in ähnlicher Weise von MAHLKE (1955) an verschiedenen mit Stickstoff versorgten Haferpflanzen bei ungenügender Wasserversorgung nachgewiesen wurde. Im Hinblick auf diese Befunde empfiehlt es sich, stark geschädigte, nicht voll turgeszente virusinfizierte Pflanzen von den Transpirationsuntersuchungen auszuschließen.

Zwei weitere Versuchsreihen mit *Nicotiana tabacum* cv. Samsun Bashi Bagli und *Datura stramonium* var. *stramonium* dienten der Klärung der Frage wie sich das Transpirationsverhalten virusinfizierter Pflanzen im Vergleich zu gleichaltrigen, nicht infizierten Kontrollen mit Vergrößerung des zeitlichen Abstandes zwischen Infektion und Transpirationsuntersuchung verändert. Zum gleichen Zeitpunkt infizierte Pflanzen wurden 6, 8, 10 bzw. 12 Wochen nach der Infektion den Transpirationsuntersuchungen zugeführt.

Das Ergebnis der Untersuchungen ließ erkennen, daß die Transpirationsintensität virusinfizierter Pflanzen mit zunehmender Zeitdauer zwischen Infektion und Transpirationsuntersuchungen wohl gewissen Schwankungen unterworfen ist, daß jedoch virusinfizierte Pflanzen im Vergleich zu den gesunden Kontrollen auch längere Zeit nach der Infektion die Tendenz zur Erhöhung der Transpirationsintensität aufweisen, falls nicht Abwerfen der Blätter oder mangelnde Turgeszenz zu einer sekun-

Tabelle 2

Der Einfluß von Virusbefall auf die Transpirationsintensität von *Nicotiana tabacum* cv. White Burley

A. Allgemeine Versuchangaben

Versuchspflanze: *Nicotiana tabacum* L. cv. White Burley
 Bodenbeschaffenheit: humoser Gartenboden
 Wasserkapazität: 35,88%
 Herkunft des Bodens: Garten des Instituts für Phytopathologie, Leipzig
 Sättigung der Wasserkapazität: 60%
 Aussaat in Anzuchtkästen: 18. 3. 1955
 Aufgang: 28. 3. 1955
 pikiert: 4. 4. 1955
 Bepflanzen der Vegetationsschalen: 5. 5. 1955
 Infektion: 20. 5. 1955
 Tag der Auswertung: 17. 6. 1955
 Beurteilung der Pflanzen am Tage der Auswertung:
 Anzahl der Blätter: 5-6
 nicht infizierte Kontrolle: keine Symptome
 Wuchshöhe: 9-10 cm

Infektion Kartoffel-X-Virus: ringförmige Nekrosen auf den Blättern
 Wuchshöhe: 7-8 cm
 Infektion Kartoffel-Y-Virus: schwache Aufhellung der Blattadern
 Wuchshöhe: 9 cm
 Mischinfektion Kartoffel-X- und Kartoffel-Y-Virus: starke, meist ringförmige Nekrosen
 Wuchshöhe: 4-5 cm
 Temperatur am Tage der Auswertung im Versuchsraum im Durchschnitt: 19,9 °C
 Relative Luftfeuchtigkeit am Tage der Auswertung im Versuchsraum im Durchschnitt: 76%
 Anwelkdauer: 45 Minuten

B. Ergebnisse der Transpirationsbestimmung und der Oberflächenmessung

Anzahl der Pflanzen	Anzahl der Parallelunters.	Infektion	Pflanzengewicht in g	Welkeverlust in g	Welkeverlust je 100 g Pflanzenmasse in g + σ_M +)	Differenz zur Kontrolle + $\sigma_{Diff.}$ +)	Relativzahl (Kontr. = 100)	Transp. Oberfl. je 100 g transp. Pflanzenmasse	Wasserabgabe bez. auf 1000 cm ² transp. Oberfl. in g
18	3	nicht infiz. Kontrolle	62,84	1,66	2,64 + 0,24		100	7 791,52	0,35
18	3	Kart.-X-Virus	52,65	1,57	2,98 + 0,43	+ 0,34 + 0,49	113	7 851,36	0,38
10	2	Kart.-Y-Virus	41,53	1,11	2,67 + 0,27	+ 0,03 + 0,36	101	7 481,22	0,36
24	4	Mischinfekt. Kartoffel-X- u. -Y-Virus	66,74	2,33	3,49 + 0,05	+ 0,85 + 0,25	132	7 706,76	0,45

+) σ_M und $\sigma_{Diff.}$ nach WEBER 1948

Tabelle 3

Der Einfluß von Virusbefall auf die Transpirationsintensität von *Datura stramonium* L. var. *inermis* (Jacq.) Timm.

A. Allgemeine Versuchangaben

Versuchspflanze: *Datura stramonium* L. var. *inermis* (Jacq.) Timm.
 Bodenbeschaffenheit: humoser Gartenboden
 Wasserkapazität: 35,88%
 Herkunft des Bodens: Garten des Instituts für Phytopathologie, Leipzig
 Sättigung der Wasserkapazität: 60%
 Aussaat in Anzuchtkästen: 18. 3. 1955
 Aufgang: 26. bis 30. 3. 1955
 pikiert: nicht
 Auspendeln in Vegetationsschalen: 30. 4. 1955
 Infektion: 26. 5. 1955
 Tag der Auswertung: 16. 6. 1955

Beurteilung der Pflanzen am Tage der Auswertung:
 Anzahl der Blätter: 5-7
 nicht infizierte Kontrolle: keine Symptome
 Wuchshöhe: 14 cm
 Blütenknospen angesetzt
 Infektion Kartoffel-X-Virus: Mosaikscheckung, Blattnekrosen
 1-2 ältere Blätter abgeworfen
 Ausbildung der Blütenknospen verzögert
 Wuchshöhe: 7-8 cm
 Temperatur am Tage der Auswertung im Versuchsraum im Durchschnitt: 19,92 °C
 Relative Luftfeuchtigkeit am Tage der Auswertung im Versuchsraum im Durchschnitt: 81%
 Anwelkdauer: 45 Minuten

B. Ergebnisse der Transpirationsbestimmung und der Oberflächenmessung

Anzahl der Pflanzen	Anzahl der Parallelunters.	Infektion	Pflanzengewicht in g	Welkeverlust in g	Welkeverlust je 100 g Pflanzenmasse in g + σ_M +)	Differenz zur Kontrolle + $\sigma_{Diff.}$ +)	Relativzahl (Kontr. = 100)	Transp. Oberfl. je 100 g transp. Pflanzenmasse	Wasserabgabe bez. auf 1000 cm ² transp. Oberfl. in g
18	3	nicht infiz. Kontrolle	56,14	2,70	4,809 + 0,10		100	4 989,56	0,96
18	3	Kart.-X-Virus	19,61	1,02	5,201 + 0,15	+ 0,392 + 0,184	108	4 959,71	1,05

+) σ_M und $\sigma_{Diff.}$ nach WEBER 1948

Tabelle 4

Der Einfluß von Virusbefall auf die Transpirationsintensität von *Hyoscyamus niger*

A. Allgemeine Versuchsangaben

Versuchspflanze: *Hyoscyamus niger* L.
 Bodenbeschaffenheit: humoser Gartenboden
 Wasserkapazität: 35,88%
 Herkunft des Bodens: Garten des Instituts für Phytopathologie, Leipzig
 Sättigung der Wasserkapazität: 60%
 Aussaat in Anzuchtkästen: 18. 3. 1955
 Kälteschock: 25. bis 26. 3. 1955
 Aufgang: 26. bis 30. 3. 1955
 pikiert: 2. bis 4. 4. 1955
 Auspflanzen in Vegetationsschalen: 11. 5. 1955
 Infektion: 18. 5. 1955
 Tag der Auswertung: 8. 6. 1955
 Beurteilung der Pflanzen am Tage der Auswertung:
 Anzahl der Blätter: 8-10
 nicht infizierte Kontrolle: keine Symptome
 Wuchshöhe: 16-21 cm

Infektion Kartoffel-X-Virus: ringförmige Nekrosen auf den Blättern
 Wuchshöhe: 16,5-18 cm
 untere Blätter vergilbend

Infektion Kartoffel-Y-Virus: sehr schwache Adernaufhellung
 Wuchshöhe: 17-25 cm

Mischinfektion Kartoffel-X- und Kartoffel-Y-Virus: starke, z. T. ringförmige Nekrosen, untere Blätter z. T. abgestorben
 Wuchshöhe: 13-17 cm

Temperatur am Tage der Auswertung im Versuchsraum im Durchschnitt: 21,95 °C

Relative Luftfeuchtigkeit am Tage der Auswertung im Versuchsraum im Durchschnitt: 80,05%

Anwelkdauer: 40 Minuten

B. Ergebnisse der Transpirationsbestimmung

Anzahl der Pflanzen	Anzahl der Parallelliter.	Infektion	Pflanzengewicht in g	Wasserverlust in g	Wasserverlust je 100 g Pflanzenmasse in g σ_M	Differenz zur Kontrolle $\sigma_{Diff.}$	Relativzahl (Kont. = 100)
18	3	nicht inf. Kontrolle	62,54	2,55	4,077 + 0,22		100
18	3	Kart.-Y-Virus	64,97	2,53	3,894 + 0,14	- 0,183 + 0,259	96
18	3	Kart.-X-Virus	56,36	2,23	3,957 + 0,085	- 0,12 + 0,232	97
18	3	Mischinfekt. Kartoffel-X- u. -Y-Virus	41,54	1,89	4,549 + 0,35	+ 0,472 + 0,414	112

+) σ_M and $\sigma_{Diff.}$ nach WEBER 1948

dären Veränderung der ursprünglichen Transpirationsverhältnisse führen.

In weiteren Untersuchungen wurde der Frage nachgegangen, ob die bei virusbefallenen Pflanzen nachgewiesene Erhöhung der Transpirationswerte auf einer Vergrößerung der relativen Oberfläche, also auf erhöhter Oberflächengestaltung, oder auf einer Erhöhung der Wasserabgabe je Flächeneinheit beruht, da ja bekanntlich entsprechend der Beziehung

$$\text{Transpiration} = \frac{\text{Transpiration}}{\text{Oberfläche}} \times \text{Oberfläche}$$

Frischgewicht beide Faktoren das Untersuchungsergebnis bestimmen können, wenn der bei den Transpirationsuntersuchungen ermittelte Wasserverlust auf das Frischgewicht bezogen wird, wie dies bei der Anwelkmethode der Fall ist.

In vorangegangenen Untersuchungen (SCHUSTER und GEISSLER 1954), bei denen den im Wege der Anwelkmethode ermittelten relativen Transpirationswerten die entsprechenden Werte der relativen Oberfläche, d. h. der Oberfläche von 100 g transpirierender Pflanzenmasse, gegenübergestellt worden waren, war die Erhöhung der Transpirationswerte von Pflanzen, die unter verschiedenen ungünstigen Kulturbedingungen aufgewachsen waren, in allen Untersuchungen von einer Erhöhung der auf das Frischgewicht bezogenen Oberfläche der Pflanzen begleitet gewesen. Es lag daher nahe, Veränderungen des Verhältnisses der transpirierenden Oberfläche zum Gewicht der Pflanze als wesentliche Ursache für die im Wege der Anwelkmethode ermittelten, in Abhängigkeit von

den Kulturbedingungen erhöhten Transpirationswerte in Betracht zu ziehen. Im Hinblick auf diese Ergebnisse interessierte nunmehr die Frage, ob auch die bei virusbefallenen Pflanzen auftretende Erhöhung der Transpirationswerte auf einer derartigen Vergrößerung der relativen Oberfläche, also auf erhöhter Oberflächenentfaltung, beruht.

Daher wurde bei verschiedenen Versuchsreihen im Anschluß an die Transpirationsuntersuchungen nach den bei SCHUSTER und GEISSLER (1954) beschriebenen Verfahren die transpirierende Oberfläche bestimmt. Das Ergebnis dieser Untersuchungen ist ebenfalls in Tab. 1 bis 3, Teil B, dargestellt. Aus den entsprechenden Zahlenwerten ist ersichtlich, daß die auf 100 g Pflanzenmasse bezogene transpirierende Oberfläche virusbefallener Pflanzen etwa derjenigen der gesunden Kontrollen entspricht. Dagegen erwies sich die Wasserabgabe, bezogen auf die Flächeneinheit (1000 cm² transpirierende Oberfläche), als wesentlich erhöht, ein Umstand, der von SCHUSTER und GEISSLER (1954) unter Verweis auf die Ergebnisse von Transpirationsuntersuchungen an rostbefallenen Getreidepflanzen (JOHNSTON und MILLER, 1940) im Hinblick auf die unterschiedlichen Auswirkungen von Pflanzenkrankheiten bereits erwogen worden war.

Den angeführten Ergebnissen zufolge bewirkt Virusbefall bei den Gattungen *Nicotiana*, *Datura* und *Hyoscyamus* offensichtlich eine Verminderung des Transpirationswiderstandes des morphologisch-physiologischen Systems der Pflanze. Es ist denkbar, daß diese zustande kommt, indem die Eingriffe des

Virus in die Stoffwechselforgänge des Wirtes u. a. zu einem Überwiegen der photoaktiven Öffnungsreaktion der Spaltöffnungen über hydroaktive und -passive Schließbewegungen führen. Daß der Schließmechanismus der Spaltöffnungen durch Virusbefall weitgehend außer Betrieb gesetzt wird, ist beispielsweise von der Blattrollkrankheit der Kartoffel bekannt (MERKENSCHLAGER, 1929/30). Daneben könnte aber auch eine Verringerung der wasserhaltenden Kräfte der Pflanzenzellen zu einer Verminderung des Transpirationswiderstandes beitragen. Schließlich kommt als weiterer, zur Verringerung des Transpirationswiderstandes führender Faktor eine mehr oder weniger weitgehende Aufhebung der kutikularen Transpirationssperre in Betracht, mit der vor allem im Bereich der Blattflecken zu rechnen ist.

Inbesondere im Hinblick auf diese Aufhebung der kutikularen Transpirationssperre, die im wesentlichen durch Reißbildungen in der Kutikula und anderweitige Störungen im Aufbau bzw. in der Ausbildung von Kutikula und Epidermis im Bereich der verfärbten und nekrotisierenden Gewebepartien bedingt sein dürfte, erscheint es verständlich, daß Virusbefall vor allem dann zu einer Erhöhung der Transpiration führt, wenn deutliche Symptome auftreten, während bei schwacher Symptomausbildung, wie sie in den angeführten Untersuchungen bisweilen bei Infektion mit dem Kartoffel-Y-Virus zu verzeichnen war, nur eine unwesentliche Erhöhung der Transpirationswerte in Erscheinung tritt.

Es kann infolgedessen auch nicht überraschen, daß in zwei Versuchen, in denen bei *Nicotiana tabacum* die Befallsymptome kurz nach ihrem ersten Auftreten infolge einsetzender warmer Witterung wieder maskiert worden waren, nur eine unwesentliche, statistisch nicht gesicherte Erhöhung der Transpirationswerte festgestellt werden konnte. Auch der Verlauf einiger bei SCHUSTER und GEISLER (1954) erwähnter Tastversuche mit verschiedenen Pflanzenarten, bei denen zwischen gesunden und virusinfizierten Pflanzen keine eindeutigen, statistisch gesicherten Transpirationsunterschiede aufgetreten waren, wird u. a. auf Grund der angeführten Überlegungen verständlich, zumal das Virus-Wirts-Verhältnis in Abhängigkeit von der Wirtspflanze beträchtlichen Veränderungen unterworfen ist, die starke Bedenken gegen eine Verallgemeinerung an einzelnen Pflanzenarten gewonnener Ergebnisse aufkommen lassen.

Im Hinblick auf die angeführten Befunde und Erwägungen erscheint die Aussicht, die Anwelkmethode zur sicheren Frühdiagnose von Virusbefall bzw. zum Nachweis maskierten Virusbefalls heranziehen zu können, verhältnismäßig gering, insofern nicht methodische Verbesserungen des Untersuchungsverfahrens, wie sie aufbauend auf den Ergebnissen von Untersuchungen zur Klärung der Frage nach den Ursachen des vielfach als ARLAND-Relation bezeichneten Zusammenhangs zwischen Transpirationsverhalten und Kulturbedingungen (SCHUSTER und GEISLER 1954) zu erhoffen sind, durch Steigerung der Genauigkeit der Ergebnisse auch feinere Unterschiede zu erfassen gestatten.

Zusammenfassung

Das Transpirationsverhalten virusinfizierter Pflanzen der Gattungen *Nicotiana*, *Datura* und *Hyoscyamus* wurde im Wege der Anwelkmethode unter-

sucht. Hierbei erwies sich die Transpiration infizierter Pflanzen im Vergleich zu derjenigen gesunder Kontrollen im allgemeinen als beträchtlich erhöht, und zwar um so mehr, je stärker die Pflanzen durch den Virusbefall geschädigt waren. Die größte Steigerung der Wasserabgabe zeigten Pflanzen mit Mischinfektionen. Diese sich in bestimmten Fällen auf mehr als das Doppelte der Transpiration gesunder Kontrollpflanzen belaufende Erhöhung der Transpiration dürfte wesentlich zur raschen Eintrocknung der Blätter bzw. der gesamten Sprosse stark virusgeschädigter Pflanzen beitragen. Ergänzende Oberflächenmessungen ließen erkennen, daß die Erhöhung der Transpirationswerte auf eine Steigerung der Wasserabgabe je Einheit der transpirierenden Oberfläche zurückzuführen ist. Somit hat Virusbefall offensichtlich eine Verminderung des Transpirationswiderstandes des morphologisch-physiologischen Systems der Pflanze zur Folge. Da bei schwacher Symptomausbildung und bei Maskierung der Virusinfektion die Transpirationswerte nur unbeträchtlich und nicht gesichert erhöht waren, erscheint aber dennoch die Aussicht, die Anwelkmethode zur Frühdiagnose von Virusbefall und zum Nachweis maskierten Virusbefalles heranziehen zu können, verhältnismäßig gering, wenn nicht durch weitere methodische Verbesserungen auch die Erfassung feinerer Transpirationsunterschiede möglich wird.

Summary

The transpiration behaviour of virus infected plants of the genera *Nicotiana*, *Datura* and *Hyoscyamus* were analysed by means of the "withering method". With this it was shown that transpiration of infected plants in general was considerably higher than those of controls of healthy plants, and all the more, the worse they were stricken with virus. The greatest increase in the loss of water was shown by plants with mixed infections. This transpiration, which in certain cases was more than double that of healthy controlled plants, could considerably contribute to the speedy drying up of the leaves or of the whole sprouts of seriously virus infected plants. Supplementary measuring of the surface showed that the increased transpiration value is due to an increase of the loss of water per unit of the transpiring surface. Thus the virus infection has obviously impaired the resistance to transpiration of the morphologic-physiologic system of the plant. Because with weak development of symptoms and masking of the virus infection, transpiration values were only inconsiderably and not with certainty increased, there seems to be very little prospect of being able to make use of the "withering method" for early diagnoses of virus infection and for proving masked virus infection, if the comprehension of finer transpiration differences is not possible by means of further methodical improvements.

Краткое содержание

Транспирация пораженных вирусом растений: *Nicotiana*, *Datura*, *Hyoscyamus*, исследовалась посредством метода увядания. При этом оказалось, что отдача воды у зараженных растений, была в сравнении с здоровыми контрольными растениями, значительно большей, и тем большей, чем сильнее растение было поражено вирусом. Наибольшее увеличение транспирации было отмечено у растений со смешанной инфекцией. Это повышение, которое в некоторых случаях было более чем вдвое выше транспирации у

контрольных растений, повиднмому в значительной степени способствовало быстрому высыханию листьев или всего побега у растений, сильно поврежденных вирусом. Добавочные измерения площади поверхности позволили сделать заключение, что повышение величины транспирации зависит от увеличения выделения воды на единицу поверхности транспирирующего растения. Таким образом поражение вирусом очевидно вызывает уменьшение сопротивления к транспирации морфологическо-физиологической системы растения. Так как однако, при слабом образовании симптомов и при скрытом поражении вирусом, степень транспирации повышается только незначительно и недостаточно ясно, то имеется мало данных для того, чтобы использовать метод увядания для раннего диагноза вирусного поражения и для доказательства его наличия в скрытой форме, если только дальнейшее усовершенствование метода не обеспечит возможности констатировать незначительные различия величины транспирации.

Literaturverzeichnis

- ARLAND, A.: Das Problem des Wasserhaushaltes bei landwirtschaftlichen Kulturpflanzen in kritisch-experimenteller Betrachtung. *Wiss. Arch. f. Landw. (Abt. A Pflanzenbau)* 1929 a, 1, 1—160
- ARLAND, A.: Das Wasserhaushaltproblem bei landwirtschaftlichen Kulturpflanzen in kritisch-experimenteller Betrachtung. *Wiss. Arch. f. Landw. (Abt. A Pflanzenbau)* 1929 b, 2, 423—433
- ARLAND, A.: Saat- und Pflanzgutbeurteilung, Saat- und Pflegemaßnahmen im Blickfelde der Anwelkmethode. *Dtsch. Landw.* 1950, 1, 66—69
- ARLAND, A.: Die Anwendung von Mineraldünger im Blickfelde der „Anwelkmethode“. *Dtsch. Landw.* 1952 a, 3, 409—412
- ARLAND, A.: Die Transpirationsintensität der Pflanzen als Grundlage bei der Ermittlung optimaler acker- und pflanzenbaulicher Kulturmaßnahmen. *Abhandl. d. Sächs. Akad. d. Wiss. zu Leipzig. Mathem.-Naturwissensch. Klasse* 1952 b, 44, 1—80
- ARLAND, A.: Ein Beitrag zur Anwelkmethode. *Sitzungsber. der Dt. Akad. d. Landwirtschaftswiss.* 1956, Bd. 5, H. 6
- *JOHNSTON, C. O. and E. C. MILLER: *Journ. agr. Res.* 1940, 61, 427 zit. in Huber, B. *Wasserumsatz und Stoffbewegungen. Fortschr. d. Bot.* 1944, 11, 146—166
- MAHLKE, J.: Wasserhaushalt und Transpirationsintensität im Rahmen der Anwelkmethode. In: *Die Anwelkmethode im Dienste des Landbaues. Bericht von der wissenschaftlichen Tagung des Institutes für Acker- und Pflanzenbau der Karl-Marx-Universität vom 10. bis 12. Dezember 1953 in Leipzig.* 1955, 32—57, Berlin, VEB Dtsch. Verlag der Wissenschaften
- MERKENSCHLAGER, F.: Zur Biologie der Kartoffel. II. *Mittlg. Zur Pathologie der Blattrollkrankheit. Arb. Biol. Reichsanst. f. Land- u. Forstw.* 1929/30, 17, 345—369
- MÜHLE, E.: Pflanzenkrankheiten und Transpiration. In: *Die Anwelkmethode im Dienste des Landbaues. Bericht von der wissenschaftlichen Tagung des Institutes für Acker- und Pflanzenbau der Karl-Marx-Universität vom 10. bis 12. Dezember 1953 in Leipzig.* 1955, 102—104, Berlin, VEB Dtsch. Verlag der Wissenschaften
- SCHUSTER, G. und G. GEISSLER: Untersuchungen über die Möglichkeiten zum frühzeitigen Nachweis von Pflanzenkrankheiten mit Hilfe der Anwelkmethode. 1. *Mittlg.: Ein Beitrag zur Klärung der Frage nach den Ursachen der sog. ARLAND-relation. Nachr.bl. Dtsch. Pfl.schutzd. (Berlin), NF,* 1954, 8, 108—116
- WEBER, E.: *Grundriß der biologischen Statistik.* 1948, Jena

*) Arbeit war nur im Referat zugänglich.

Über eine durch ektoparasitische Gallmilben verursachte Gelbfleckigkeit (Sternfleckenkrankheit) bei Prunus-Arten

Von Gisela BAUMANN

Aus der Biologischen Zentralanstalt der Deutschen Akademie der Landwirtschaftswissenschaften zu Berlin
Institut für Phytopathologie, Aschersleben

Eine an verschiedenen Arten der Gattung *Prunus* in Baumschulen häufig auftretende Gelbfleckigkeit wird wegen der Ähnlichkeit ihres Symptombildes in Literatur und Praxis immer wieder irrtümlicherweise als Viruskrankheit angesehen.

Im folgenden sollen daher Krankheitsbild und Ursache beschrieben und die Unterscheidungsmöglichkeiten von virusbedingten Symptomen an Baumschulgehölzen dargestellt werden.

Literaturübersicht

BLATTNÝ (1931) berichtet über das Auftreten eines nach seiner Auffassung infektiösen, von Blatt- und Sproßverdrehungen begleiteten Mosaiks an einigen Pflaumensorten in Baumschulen. Nach seiner Beschreibung läßt sich diese Erscheinung ohne Schwierigkeit mit dem hier zu besprechenden

Schadbild identifizieren. Auch einige der von CHRISTOFF (1938) beobachteten Mosaikerscheinungen dürften der hier zu behandelnden Schädigung zuzuschreiben sein (CHRISTOFF 1938 und mündliche Mitteilung). In eingehenden Untersuchungen kommt WENZL (1938, 1941, 1951) zu dem Schluß, daß es sich bei der „Kräusel-(Sternflecken)krankheit“ der Aprikose nicht um eine Virose, sondern um eine physiologisch bedingte Krankheit handeln müsse. HILDEBRAND (1945) beschreibt das gleiche Schadbild unter der Bezeichnung „chlorotic spot“ oder „asteroid spot“ und grenzt es gegen das viröse „necrotic asteroid spot“ des Pfirsichs (COCHRAN und SMITH 1938) ab. HILDEBRAND vermutet, daß die Gelbfleckigkeit genetisch bedingt sei, schließt aber auch die Möglichkeit einer Schädigung durch Insektentoxine nicht aus.

VAN KATWIJK (1953) glaubt eine bakterielle Erkrankung vorliegen zu haben, während KRISTENSEN (1956) eine Schädigung durch Gallmilben in Erwägung zieht. MALLACH (1956) beschreibt die Sternfleckenkrankheit bei Aprikose, Pfirsich und Zwetsche als Viruserkrankung, ohne jedoch einen experimentellen Beweis hierfür zu erbringen. WILSON und COCHRAN (1952) konnten nachweisen, daß eine auf Pfirsich auftretende Gelbfleckigkeit durch die Eriophyide *Vasates cornutus* Banks. hervorgerufen wird.

Während der Abfassung des Manuskriptes erschien eine Publikation von SCHUCH (1957) über Viruskrankheiten und ähnliche Erscheinungen bei Obstgewächsen, in der der Verfasser über das regelmäßige Auffinden ectoparasitischer Gallmilben auf Blättern gelbgefleckter Pflaumenunterlagen und -veredlungen berichtet und annimmt, daß das Schadbild diesem Milbenbefall zuzuschreiben sei.

Das Krankheitsbild

Etwa vier Wochen nach Beginn des Austriebes zeigen sich an Aprikose und anderen *Prunus*-Arten zuerst auf den älteren Blättern punkt- oder sternförmige, meist etwas erhabene kräftig gelbe Flecke, die regellos über die Blattspreite verteilt sind. Häufig laufen mehrere Punkte zu sternförmigen größeren Flecken zusammen (Abb. 1 u. 2). Das Schadbild erfaßt nacheinander die während der nächsten zwei Monate gebildeten Blätter, um gegen Ende des Sommers abzuklingen. Die bei Abschluß der Vegetationsperiode jüngsten Blätter sind gewöhnlich befallsfrei. Auf den jüngsten sich gerade entfaltenden Blättchen zeigen sich im durchfallenden Licht Saugstellen zunächst als kleine weißliche Punkte, die später größer und gelblich werden. Besonders bei Aprikosen kommt es zu Kräuselungen und Deformationen der Blätter, bei Pflaumen zu Stauchungen der Triebspitze (Abb. 3). Im Laufe des Sommers erscheinen, wieder bei den ältesten befallenen Blättern beginnend, Nekrosen in der Mitte der gelben Punkte. Sie können größere Teile des Gewebes erfassen und brechen später aus. Auf der Rinde der diesjährigen Triebe finden sich zahlreiche chlorotische Flecke, die sich von dem übrigen, meist Anthozyan führenden Gewebe deutlich abheben. Inmitten der Flecke können bräunliche Läsionen entstehen, an diesen Stellen platzt die Rinde gelegentlich auf.

Das hier beschriebene Schadbild an Blättern und

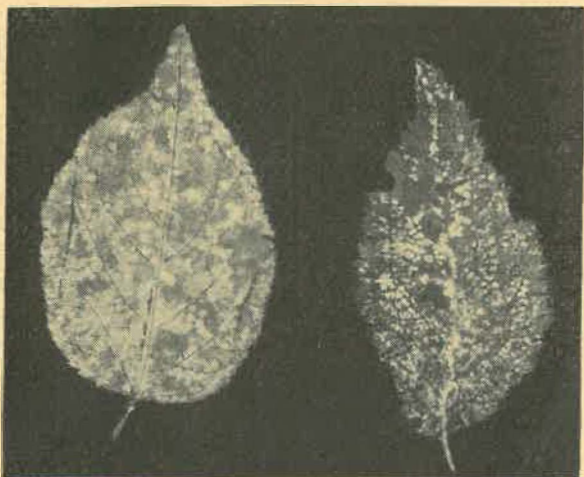


Abb. 1 Links: Gelbgeflecktes Blatt von Aprikosensämling
Rechts: Gelbgeflecktes Blatt von Myrobalanensämling

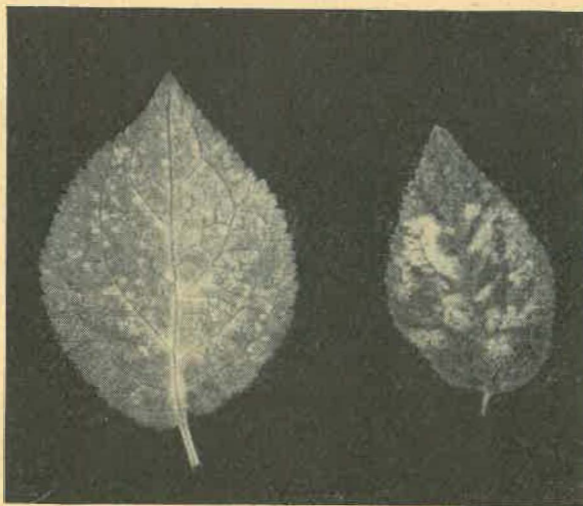


Abb. 2 Gelbgefleckte Blätter von Grüne Reineclaude, Sämling



Abb. 3 Triebspitze eines Aprikosensämlings mit stark gekräuselten Blättern

Trieben tritt in den meisten Baumschulen Mitteldeutschlands in großer Häufigkeit auf. Wir fanden junge Veredlungen aller Sorten von Pflaume und Aprikose, sowie folgende Unterlagen befallen: Aprikosen- und Myrobalanensämlinge. *Myrobalana alba*, „Blaue Hauszwetsche“, „Ackermannpflaume“, „Brünkerpflaume“ und „Große Grüne Reineclaude“. Besonders „Brünkerpflaume“ zeigte starke Schädigungen und Beeinflussung der Wuchsleistung. Das Schadbild konnte auch auf 1- bis 3jährigen, noch in der Baumschule stehenden Pflaumenveredlungen, z. B. an „Stanley“-Pflaume, festgestellt werden, gelegentlich auch an jungen Aprikosenbüschen. An älteren Standbäumen der genannten *Prunus*-Arten haben wir bisher keinen Befall gefunden.

Bei Pfirsich treten ebenfalls kompakte gelbe Flecke auf, die sich auf den Blättern jedoch nicht in so großer Anzahl finden wie bei Pflaume, Aprikose und Myrobalane (Abb. 4). Die Blätter sind stets gekräuselt, häufig asymmetrisch geformt und verdreht. An den Triebspitzen kann es vor allem bei empfindlichen Sorten wie „Anneliese Rudolf“ zu starken

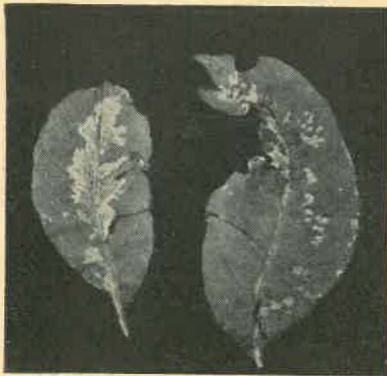


Abb. 4
Gelbgefleckte
Blätter
von Pfirsich-
sämling

Kräuselerscheinungen, Verdrehungen und zu Wachstumsstockungen kommen (Abb. 5). Auf der Rinde der diesjährigen Triebe zeigen sich rotbraune Läsionen, die sich meist in unmittelbarer Nähe der Augen befinden (Abb. 6). Auf vorjährigen, verholzten Trieben sind diese Läsionen noch als hellbraune Flecke sichtbar.

Eigene Untersuchungen

Auf der Unterseite der jüngsten Blätter diesjähriger Triebe von gelbfleckigen Pflaumen, Myrobalanen oder Aprikosen unserer Baumschule fanden wir ab Anfang/Mitte Juni stets eine größere oder kleinere Anzahl ektoparasitischer spindelförmiger, bräunlich-weißer Weichhautmilben von etwa 0,1 mm Länge (Abb. 7). Auf älteren Blättern mit deutlich erkennbaren gelben Flecken waren in der Regel keine Tiere mehr zu finden, da sie sehr schnell auf die jüngsten Blätter abwandern. Am dichtesten besiedelt sind die sich gerade entfaltenden Blätter der Triebspitze. Bei Aprikose und Myrobalane war der Besatz nicht so hoch wie bei „Große Grüne Reineclaude“ und



Abb. 5 Triebspitze eines Pfirsichsämlings mit starken Kräuselerscheinungen und Verdrehungen

*) Für die Bestimmung der Eriophyide sei Herrn Reg.-Rat Dr. K. SCHUCH-Heidelberg herzlich gedankt.

„Brünkerpflaume“, wo wir 50 und mehr Individuen verschiedener Entwicklungsstadien je Blättchen fanden. Die Milbe wurde als *Vasates fockeui* (Nal. et Trt.) bestimmt.)*

An getopften, nicht befallenen 2jährigen Sämlingen von „Große Grüne Reineclaude“ konnten wir durch Saugenlassen von je 15 Milben an den zwei jüngsten Blättchen der Triebspitze im geschlossenen Raum das Befallsbild reproduzieren. Zwei bis drei Tage nach dem Besetzen der Blätter waren die Saugstellen im durchfallenden Licht als weiße, punktförmige Flecke sichtbar, nach 15 Tagen wiesen die besetzten Blätter deutlich sichtbare weiß-gelbe Flecke auf.

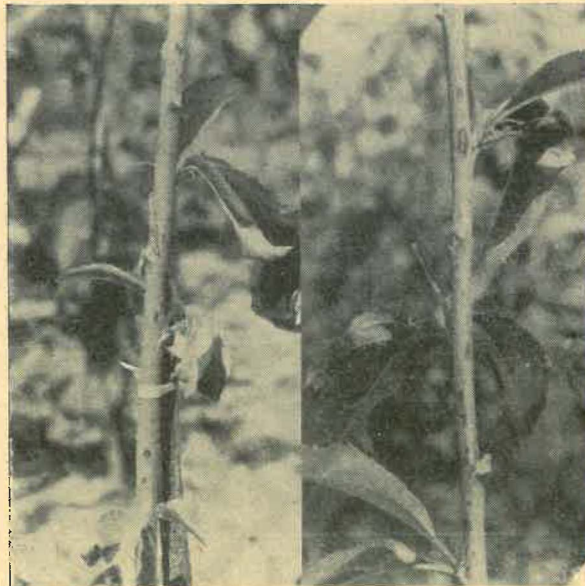


Abb. 6 Rotbraune Läsionen auf der Rinde von 1jährigen Pfirsichveredlungen

Da Eriophyiden als Überträger von Obstbaumvirose bekannt sind (FLOCK und WALLACE 1955, WILSON, JONES und COCHRAN 1955), mußte geprüft werden, ob die Gelbfleckigkeit ein durch die Milbe übertragbares Virussymptom darstellt.

4 stark gelbfleckige 3jährige Aprikosensämlinge und 4 ebenso stark befallene 3jährige Myrobalanensämlinge aus dem Freiland wurden im Januar 1957 getopft, ins Gewächshaus gestellt und kurz nach dem Austrieb 2mal im Abstand von 10 Tagen mit je 20 ml 0,1prozentigem Metasystox gegossen. Im Gewächshaus wurde außerdem in anderem Zusammenhang 1mal wöchentlich, später 2mal wöchentlich mit Hexamitteln geräuchert. Die befallenen Nachbarpflanzen in der Baumschule blieben unbehandelt. Während sich an diesen Pflanzen bald nach dem Austrieb, etwa Ende Mai, das Schadbild feststellen ließ, blieben die ins Gewächshaus eingestellten Pflanzen, von denen je zwei kräftig zurückgeschnitten worden waren (WENZL 1941, 1951), völlig befallsfrei. In anderem Zusammenhang war schon früher festgestellt worden, daß eine Behandlung von Obstgehölzen mit Systeminsektiziden im Gewächshaus keinen Einfluß auf die Symptomausprägung von Viruskrankheiten hat. Auf einer gleichzeitig ins Gewächshaus eingestellten ebenso alten und gleichartig behandelten, aber mit Pflaumenbandmosaik-Virus infizierten Myrobalane entwickelten sich die Virussymptome normal.

Vor und nach der Insektizid-Behandlung der gelbfleckigen Bäume wurden Übertragungsversuche durch Rindenpflanzungen auf Myrobalanen- und Pfirsichsämmlinge im Gewächshaus vorgenommen. Der Pfirsich hatte sich in früheren Versuchen als schnell und empfindlich reagierender Indikator für verschiedene Steinobstvirosen sehr bewährt (BAUMANN und KLINKOWSKI 1955). Aus einer der behandelten Aprikosen konnte hierbei durch Übertragung auf Pfirsich ein latentes ring spot-Virus isoliert werden, das jedoch keinen Zusammenhang mit der Gelbfleckigkeit aufweist und auf Aprikose keine Symptome hervorruft. Bei allen anderen geprüften Bäumen blieben die Übertragungsversuche erfolglos.

Im Freiland durchgeführte Spritzungen mit Metasystox bzw. Cebetox bestätigten die festgestellte Wirksamkeit der Systeminsektizide gegen die Schädigung. In der eigenen Baumschule wurden durch eine Mitte Juni durchgeführte Spritzung mit Cebetox 0,3prozentig eine Symptomfreiheit der sich nach der Spritzung entwickelnden Blätter für etwa 3–4 Wochen erzielt. Dann setzte allmählich wieder eine Besiedlung durch die Milben ein. Auf den nicht gespritzten Reihen trat keine Unterbrechung in der Ausbreitung des Krankheitsbildes ein. In der Baumschule des Versuchsfeldes Prussendorf des Institutes für Obst- und Gemüsebau der Martin-Luther-Universität Halle wies ein Quartier 1jähriger Pfirsichveredlungen der Sorte „Anneliese Rudolf“ im Herbst 1956 schwere Schädigungen durch fast 100prozentigen Milbenbefall auf. Die Bäumchen zeigten starke Wachstumsstockungen, Kräuselungen und Verdrehungen der Triebspitzen sowie die bereits beschriebenen Symptome auf Blättern und auf der Rinde. Daneben stehende, gleichaltrige Veredlungen der Sorte „Amsden“ waren ebenfalls befallen, aber nicht so stark geschädigt wie „Anneliese Rudolf“. Nach dem Austrieb 1957 wurde das Quartier 2mal mit Metasystox 0,1prozentig gespritzt, im Juni waren Gelbfleckigkeit und Rindennekrosen nur auf den ältesten Blättern und an den untersten Teilen der diesjährigen Triebe zu finden, die Triebspitzen waren befallsfrei. Wachstumsstockungen und Kräuselercheinungen fehlten.

Diskussion

Die mitgeteilten Befunde lassen den Schluß zu, daß hier die beschriebene Gelbfleckigkeit bei *Prunus*-Arten durch die Saugtätigkeit der Eriophyiden hervorgerufen wird. Die allmähliche Entwicklung der anfangs kleinen, weißlichen Saugstellen zu kompakten gelben Flecken im Verlaufe von 8–10 Tagen, sowie die häufig starken Kräuselercheinungen auch bei verhältnismäßig geringem Milbenbesatz machen die Wirksamkeit eines Schadstoffes im Milbenseichel wahrscheinlich, eine Vermutung, die bereits von HILDEBRAND (1945) geäußert wurde.

Gegen die Virusnatur dieser Erscheinung spricht ferner die starke Befallshäufigkeit, die Regelmäßigkeit des Befalls innerhalb der Baumschulquartiere und das Auftreten der Symptome auf den jüngsten Blättern bis in den Spätsommer. Das Pflaumenbandmosaik, die in mitteldeutschen Baumschulen z. Z. einzige Viruskrankheit der Pflaume mit deutlichen Blattsymptomen, ist mit seinen bandartigen Zick-Zack-Zeichnungen von den kompakten, punktförmigen Flecken der Milbenschädigung bei einiger Übung gut zu unterscheiden. Auch treten die Virus-Symptome stets nur auf den älteren Blättern auf, da das



Abb. 7
Vasates fockeui
auf der Unterseite
eines Blattes von
Myrobalane.
Vergrößerung
etwa 60fach.

Krankheitsbild auf den während der Sommermonate entwickelten Blätter maskiert ist. Verdächtige Symptome bei Aprikosen- und Myrobalanensämlingen sowie bei Pflaumen sä m l i n g s unterlagen schließen von vornherein den Verdacht auf Virusbefall aus, da das Pflaumenbandmosaik-Virus nicht samenübertragbar ist und die genannten *Prunus*-Arten unter unseren Verhältnissen höchstens ein samenübertragbares ring spot-Virus latent tragen können. Die Ringfleckenkrankheit des Pfirsichs aber dürfte bei uns – wenn überhaupt – nur sporadisch mit sichtbaren Symptomen vorkommen. Das amerikanische viröse „necrotic asteroid spot“ ist in europäischen Obstanlagen oder Baumschulen bisher noch nicht festgestellt worden.

Die Tatsache, daß die Gelbfleckigkeit von uns und anderen Autoren (BLATTNY 1931, CHRISTOFF 1938, WENZL 1941, MALLACH 1956, SCHUCH 1957) in erster Linie an Baumschulquartieren beobachtet wurde, bei Standbäumen jedoch höchstens einmal an Büschen auftritt, deutet darauf hin, daß die dichten, geschlossenen Baumschulreihen der Milbe besonders günstige mikroklimatische Bedingungen bieten. Auch die Feststellung von WENZL (1941, 1951), daß starker Rückschnitt einen verstärkten Befall auf den dann kräftig treibenden Sämlingen und jungen Veredlungen auslöste, weist in die gleiche Richtung.

Eine vorläufig nicht zu erklärende Diskrepanz zu unseren Beobachtungen stellt der Befund von WENZL (1941) über das späte Auftreten (Anfang August) der ersten Blattsymptome dar. Unter mittel-deutschen Verhältnissen fanden wir – wie erwähnt – die ersten Anzeichen des Befalls in den Jahren 1954–1957 nie später als Anfang Juni. Von diesem Zeitpunkt ab breitete sich das Schadbild dann schnell von unten nach oben fortschreitend über die jungen Triebe aus. Ab Anfang/Mitte August waren auf den jüngsten Blättern nur noch vereinzelte Saugstellen zu finden, am 20. August zählten wir auf den jüngsten Blättern von Pfirsich, Aprikose und Myrobalane nur noch 1–5 Individuen je Blatt, lediglich bei „Große Reinedaude“ war der Besatz etwas stärker. Nach amerikanischen Untersuchungen (KEIFER 1946) bilden die meisten der Obstbäume besiedelnden Eriophyiden mit beginnender Reife der Blätter Überwinterungsformen aus. Nach den bisherigen Kenntnissen sind diese erst in der nächsten Vegetationsperiode zur Reproduktion befähigt.

Für die Praxis empfiehlt sich bei starkem Befall empfindlicher Sorten eine mehrmalige Spritzung mit Systeminsektiziden, die kurz nach dem Austrieb beginnen und im Abstand von etwa 10 bis 14 Tagen wiederholt werden muß. Anhaltspunkte dafür, daß

Vasates fockeui und *V. cornutus* als Überträger von Viruskrankheiten anzusehen sind, bestehen bisher nicht.

Zusammenfassung

Die an verschiedenen *Prunus*-Arten in Baumschulen auftretende, von Wachstumsstockungen begleitete Gelbfleckigkeit („Sternfleckenkrankheit“) ist keine Viruskrankheit, sondern eine Schädigung durch ektoparasitische Eriophyiden. Das Schadbild konnte experimentell durch Saugenlassen von *Vasates fockeui* an Pflaumensämlingen im geschlossenen Raum reproduziert werden; Pfropfübertragungsversuche verliefen negativ. Für die Praxis wird bei starkem Befall empfindlicher Sorten wiederholtes Spritzen mit Systeminsektiziden empfohlen.

Summary

„Yellow-spot“ (asteroid spot) causing inhibition of growth and leafcurling in nursery plants of some *Prunus* species is no virus disease but an injury by ectoparasitic eriophyid mites. In sucking experiments with *Vasates fockeui* (Nal. et Trt.) the symptoms could be reproduced. The disease was not transmitted by chip-budding. If nursery plants of susceptible varieties are heavy infested repeated sprayings with systemic insecticides would be necessary.

Краткое содержание

Появляющееся в питомниках на различных видах *prunus* заболевание желтой пятнистости („звездочной пятнистости“, „Sternfleckenkrankheit“), сопряженное с приостановкой роста, не является вирусным заболеванием, а результатом повреждения эктопаразитическими *Eriophyidae*. Экспериментальная репродукция картины повреждения (Schadbild) была возможна в закрытом помещении с использованием *Vasates fockeui*, сосавших сеянцы сливы; опыты заражения прививкой (Pfropfübertragungsversuche) давали отрицательные результаты. На практике рекомендуется, при сильном поражении чувствительных сортов, повторное опрыскивание системными инсектицидами.

Literaturverzeichnis

BAUMANN, G. und M. KLINKOWSKI: Ein Beitrag zur Analyse der Obstvirosen des mitteldeutschen Raumes. *Phytopath. Ztschr.* 1955, 25, 55–71

BLATTNÝ, C.: Virove choroby. *Ochrana rostlin* 1931, 11, 138

CHRISTOFF, A.: Virus diseases of the genus *Prunus* in Bulgaria. *Phytopath. Ztschr.* 1938, 11, 360–422

CHRISTOFF, A.: Die Obstvirosen in Bulgarien. *Phytopath. Ztschr.* 1958, im Druck.

COCHRAN, L. C. und C. O. SMITH: Asteroid spot, a new virosis of the peach. *Phytopathology* 1938, 28, 278–281

FLOCK, R. A. und J. M. WALLACE: Transmission of fig mosaic by the Eriophyid mite *Aceria ficus*. *Phytopathology* 1955, 45, 52–54

HILDEBRAND, E.: Myrobalan mottle and asteroid spot. *Phytopathology* 1945, 35, 47–50

KEIFER, H. H.: A review of North American economic Eriophyid mites. *Journ. econom. entomol.* 1946, 39, 563–570

KATWIJK, W. van: Virusziekten in de vruchtboomwekerij. *Versl. Meded. Plantenziektenkundige Dienst* 1953, 119

KRISTENSEN, H. R.: Virussygdomme hos stenfrugttraer. *Tidsskr. planteavl* 1956 60, 69–166

MALLACH, N.: Viruskrankheiten und virusähnliche Erscheinungen des Kern- und Steinobstes. 1956, Obst- und Gartenbauverlag München

SCHUCH, K.: Viruskrankheiten und ähnliche Erscheinungen bei Obstgewächsen. *Mitt. BBA Berlin* 1957, H. 88

WENZL, H.: Fleckenbildungen, Nekrosen und Wachstumsstörungen an Aprikosenblättern. *Ztschr. Pfl.-krankh.* 1938, 48, 588–592

WENZL, H.: Untersuchungen über die Kräusel- (Sternflecken-)krankheit von *Prunus armeniaca* und anderen *Prunaceae*. *Phytopath. Ztschr.* 1941, 13, 588–623

WENZL, H.: Weitere Untersuchungen über die Sternfleckenkrankheit der Marille (*Prunus armeniaca*). *Pfl. schutzber.* 1951, 4, 180–186

WILSON, N. S. und L. C. COCHRAN: Yellow spot, an Eriophyid mite injury on peach. *Phytopathology*, 1952, 42, 443–447

WILSON, N. S., L. S. JONES und L. C. COCHRAN: An Eriophyid mite vector of the peach mosaic virus. *Plant dis. reptr.* 1955, 39, 889–992

Dritter Bericht 1957 über das Auftreten der wichtigsten Krankheiten und Schädlinge an Kulturpflanzen in den Bezirken der Deutschen Demokratischen Republik (1. 7. - 30. 9. 1957)

Bemerkungen: Wie bisher bedeuten: a (allgemein) = die Mehrzahl der Kreise, s (stellenweise) = mehrere Kreise, v (vereinzelt) = einzelne Kreise des Bezirkes haben Befall gemeldet (wobei die Zuordnung der Bezirke außerdem nach der Größe der Befallsfläche erfolgt); die Ziffern 3 = mittelstarkes, 4 = starkes, 5 = sehr starkes Auftreten (die Befallsstärke 2 = „schwaches Auftreten“ wird nur in den Karten berücksichtigt).

Aus den Bezirken Frankfurt/O., Cottbus, Magdeburg, Halle und dem Demokratischen Sektor Berlin gingen keine Meldungen ein.

Pflanzenkrankheiten: Weizensteinbrand (*Tilletia tritici*) 4v Halle; 3v – 4v Schwerin, Potsdam und Erfurt; 3v Neubrandenburg, Suhl und Gera.

Haferflugbrand (*Ustilago avenae*) 4v Schwerin; 3s Karl-Marx-Stadt; 3v Neubrandenburg, Potsdam, Cottbus, Magdeburg, Halle, Dresden und Suhl.

Gerstenflugbrand (*Ustilago nuda*) 3a – 5v Halle, Dresden, Leipzig und Erfurt; 3a – 4s Magdeburg; 3a – 4v Gera; 3s – 5v Neubrandenburg und Potsdam; 3s – 4v Schwerin, Rostock, Cottbus, Karl-Marx-Stadt und Suhl; 3v – 5v Frankfurt/O.

Weizenflugbrand (*Ustilago tritici*) 3s – 4v Halle; 3v – 4v Potsdam und Gera; 3v Schwerin, Rostock, Neubrandenburg, Cottbus, Magdeburg, Dresden und Karl-Marx-Stadt.

Maisbeulenbrand (*Ustilago zaeae*) 3a – 5v Potsdam und Gera; 3a – 4s Cottbus und Halle; 3s – 4s Berlin (dem. Sektor); 3a – 4v Dresden;

3s — 4v Leipzig; 3v — 5v Erfurt; 3v — 4v Schwerin; 3v Neubrandenburg und Suhl.

Schwarzbeinigkeit der Kartoffel (*Erwinia atroseptica*) 3s — 4v Potsdam, Cottbus, Halle, Dresden, Karl-Marx-Stadt, Erfurt und Gera; 3s Neubrandenburg, Leipzig und Suhl; 3v — 4v Schwerin und Rostock; 3v Frankfurt/O. und Magdeburg.

Krautfäule der Kartoffel (*Phytophthora infestans*), Befallszustand im August: 3a — 5s Potsdam; 3a — 5v Rostock, Frankfurt, Cottbus, Dresden, Karl-Marx-Stadt und Erfurt; 3a — 4s Schwerin und Berlin (dem. Sektor), Halle und Gera; 3a — 4v Leipzig und Suhl; 3a Neubrandenburg.

Blattfleckenkrankheit der Rüben (*Cercospora beticola*) 3v — 5v Leipzig; 3s — 4v Rostock; 3v — 4v Potsdam, Dresden und Suhl; 3s Schwerin; 3v Erfurt und Gera.

Vergilbungskrankheit der Rüben 3s — 4s Leipzig; 3a — 4v Halle und Erfurt; 3s — 4v Rostock, Dresden, Suhl und Gera; 3s Neubrandenburg, Potsdam, Erfurt und Karl-Marx-Stadt; 3v Magdeburg.

Kohlhernie (*Plasmodiophora brassicae*) an Kohl und Kohlrüben 3a — 4v Schwerin, Rostock und Dresden; 3s — 5v Berlin (dem. Sektor) und Magdeburg; 3s — 4v Cottbus, Leipzig und Karl-Marx-Stadt; 3v — 4v Neubrandenburg, Potsdam, Frankfurt/O. und Suhl; 3v Erfurt und Gera.

Kraut- und Fruchtfäule der Tomate (*Phytophthora infestans*) 3a — 5v Leipzig; 3s — 5s Dresden; 3s — 5v Rostock und Potsdam; 3s — 4v Schwerin, Neubrandenburg, Karl-Marx-Stadt und Erfurt; 3s Frankfurt/O. und Halle; 3v Magdeburg, Suhl und Gera.

Schorf an Kernobst (*Fusicladium sp.*) 3a — 4s Schwerin, Rostock, Cottbus und Suhl; 3a — 5v Karl-Marx-Stadt; 3a — 4v Neubrandenburg, Potsdam, Halle, Dresden, Leipzig und Erfurt; 3a Berlin (dem. Sektor) und Gera; 3s Frankfurt/O.

Monilia an Kern- und Steinobst (*Sclerotinia sp.*) 3a — 4v Schwerin, Rostock, Neubrandenburg, Potsdam, Cottbus, Dresden und Leipzig; 3s — 4v Frankfurt/O., Halle und Karl-Marx-Stadt; 3s Erfurt und Suhl.

Tierische Schädlinge: Ackerschnecke (*Deroceras agreste*) an Klee, Luzerne und Gemüse 3v — 4v Dresden, Leipzig, Erfurt, Suhl und Gera.

Getreidehähnchen (*Lema sp.*) 3v Halle, Dresden, Karl-Marx-Stadt und Gera.

Blasenfüße (*Thysanoptera*) an Getreide 3s — 4v Halle; 3v — 4v Cottbus.

Schwarze Rübenblattlaus (*Aphis fabae*) an Rüben 3s — 4v Magdeburg, Leipzig, Karl-Marx-Stadt und Erfurt.

Rübenfliege (*Pegomyia hyoscyami*) 2. Generation: 3s — 4v Dresden, Karl-Marx-Stadt, Gera; 3v Potsdam, Cottbus, Halle, Leipzig und Erfurt; 3. Generation: 3v Dresden, Karl-Marx-Stadt und Gera.

Rübenaskäfer (*Blitophaga sp.*) 3s — 4v Potsdam, Magdeburg und Halle; 3v Cottbus und Frankfurt/O.

Rübenschildkäfer (*Cassida sp.*) 3s — 4v Potsdam; 3v — 4v Schwerin, Cottbus, Frankfurt/O. und Magdeburg; 3v Neubrandenburg und Halle.

Rübenblattwanze (*Piesma quadratum*) 3v — 4v Magdeburg und Halle; 3v Cottbus und Dresden.

Leinblasenfuß (*Thrips linarius*) 3s — 4v Karl-Marx-Stadt.

Spinnmilben (*Tetranychus urticae*) an Gurken und Bohnen 3s — 4s Halle und Leipzig.

Erbsenwickler (*Laspeyresia nigricana*) 3s — 4v Halle; 3v Rostock, Neubrandenburg, Potsdam, Frankfurt/O., Magdeburg, Leipzig, Dresden und Karl-Marx-Stadt.

Kohl- und Gemüseeule (*Barathra brassicae* und *Polia oleracea*) 3v Potsdam, Leipzig und Dresden.

Kohlweißling (*Pieris brassicae*) 2. Raupengeneration: 3s — 4v Rostock, Potsdam und Frankfurt/O.; 3s Schwerin, Neubrandenburg, Cottbus, Magdeburg, Halle, Dresden und Erfurt; 3v Leipzig und Karl-Marx-Stadt.

Kohlfliege (*Phorbia brassicae*) 3s — 4v Potsdam, Cottbus, Halle und Leipzig; 3s Magdeburg; 3v Schwerin, Rostock, Neubrandenburg, Frankfurt/O., Dresden und Karl-Marx-Stadt.

Kohldrehherzmücke (*Contarinia nasturtii*) 3s Halle; 3v Schwerin, Rostock, Neubrandenburg, Potsdam, Magdeburg, Leipzig, Dresden, Karl-Marx-Stadt und Erfurt.

Mehlige Kohlblattlaus (*Brevicoryne brassicae*) 3s — 5v Potsdam und Dresden; 3s — 4v Magdeburg und Leipzig; 3v — 4v Cottbus, Karl-Marx-Stadt und Erfurt; 3v Schwerin, Rostock, Neubrandenburg, Frankfurt/O., Suhl und Gera.

Spinnmilben (*Tetranychidae*) an Obstgehölzen 3s — 5v Magdeburg und Halle; 3v — 4v Schwerin, Potsdam, Dresden, Leipzig, Suhl und Gera; 3v Rostock, Neubrandenburg und Karl-Marx-Stadt.

Apfelwickler (*Carpocapsa pomonella*) 3a — 5v Halle; 3s — 4s Potsdam, Cottbus und Dresden; 3s — 4v Schwerin, Rostock, Frankfurt/O., Magdeburg, Leipzig, Karl-Marx-Stadt und Gera; 3s Neubrandenburg, Erfurt und Suhl.

Pflaumensägewespen (*Hoplocampa sp.*) 3v — 4v Schwerin, Potsdam, Frankfurt/O., Halle, Leipzig, Karl-Marx-Stadt und Suhl.

Kirschfruchtfliege (*Rhagoletis cerasi*) 3v Potsdam, Magdeburg, Leipzig und Erfurt; 3s — 4v Halle.

Blutlaus (*Eriosoma lanigerum*) 3v — 4v Potsdam, Leipzig und Erfurt; 3v Schwerin, Cottbus, Magdeburg, Halle, Dresden, Karl-Marx-Stadt, Suhl und Gera.

Schildläuse (*Coccoidea*) an Obstgehölzen 3s — 4v Halle, Dresden, Karl-Marx-Stadt; 3v — 4v Potsdam, Cottbus, Leipzig, Erfurt, Suhl und Gera.

Sperlinge (*Passer domesticus* und *P. montanus*) vor allem an reifendem Getreide 3a — 4s Halle und Dresden; 3s — 4v Rostock, Cottbus und Karl-Marx-Stadt; 3v — 4v Magdeburg, Leipzig, Erfurt, Suhl und Gera; 3v Schwerin, Neubrandenburg und Frankfurt/O.

Krähen (*Corvus sp.*) besonders an Mais, im September auch an Wintersaaten 3v — 4v Rostock, Schwerin, Neubrandenburg, Halle, Dresden und Erfurt; 3v Karl-Marx-Stadt.

Schwarzwild (*Sus scrofa*) an verschiedenen Kulturen, besonders Kartoffeln und Getreide in allen Bezirken 3s — 5v.

Hamster (*Cricetus cricetus*) 3a — 5v Halle; 3s — 5v Magdeburg; 3v — 4v Erfurt.

Wühlmaus (*Arvicola terrestris*) an Gemüse und Obstbäumen in Gärten 3s — 5v Halle; 3s — 4v Dresden und Leipzig; 3v — 4v Schwerin, Potsdam, Cottbus, Frankfurt/O., Karl-Marx-Stadt, Erfurt, Suhl und Gera; 3v Magdeburg.

Feldmaus (*Microtus arvalis*) siehe Lagebericht des Wärndienstes für September 1957 (diese Zeitschrift, 11, Seite 209).

Forstgehölze

Folgende Schädigungen traten in den Kreisen der Deutschen Demokratischen Republik an Forstgehölzen stark auf:

Kiefernschütte (*Lophodermium pinastri*): Templin, Torgau, Nordhausen, Meiningen und Hildburghausen.

Kiefernrrindenblasenrost *Peridermium pini*): Waren.

Eichenmehltau (*Microsphaera quercina*): Güstrow, Parchim und Neuruppin.

Hallimasch (*Agaricus melleus*): Perleberg, Quedlinburg, Marienberg, Oelsnitz, Brand-Erbisdorf und Hildburghausen.

Rotfäule (*Trametes radiciperda*): Wernigerode, Quedlinburg, Pirna, Nordhausen, Worbis, Mühlhausen und Meiningen.

Pappelrindenbrand *Dothichiza populea*): Roßlau.

Buchenwollaus (*Cryptococcus fagi*): Waren.

Eschenwollschildlaus (*Fonscolombea fraxini*): Wittenberg.

Napfschildlaus (*Eulecanium corni*): Wittenberg.

Eichenwickler (*Tortrix viridana*): Waren, Cottbus, Potsdam, Artern, Sangerhausen, Pirna, Oschatz, Nordhausen, Weimar, Ilmenau, Suhl, Hildburghausen und Gera.

Frostspanner (*Operophtera brumata*): Sangerhausen.

Kiefernspanner (*Bupalus piniarius*): Gransee, Arnstadt, Ilmenau, Meiningen und Gera.

Nonne (*Lymantria monacha*): Lübz.

Gr. Brauner Rüsselkäfer (*Hylobius abietis*): Hagenow, Templin, Annaberg, Marienberg, Hildburghausen und Lobenstein.

Gr. Waldgärtner (*Blastophagus piniperda*): Ludwigslust, Tangerhütte, Nordhausen und Gera.

Kl. Waldgärtner (*Blastophagus minor*): Ludwigslust.

Kl. Pappelbock (*Saperda populnea*): Pritzwalk.

Sechszähn. Fichtenborkenkäfer (*Pityogenes chalcographus*): Nordhausen.

Achtzähn. Fichtenborkenkäfer (*Ips typographus*): Güstrow, Dippoldiswalde und Brand-Erbisdorf.

Engerlinge (*Melolontha*-Larven): Waren, Rügen, Weißwasser, Bernau, Eberswalde, Angermünde, Neuruppin, Gransee, Potsdam, Wolmirstedt und Artern.

Kl. Fichtenblattwespe (*Pristiphora abietina*): Plauen.

Fichten-Gespinstblattwespe (*Cephalcia abietis*): Brand-Erbisdorf.

Schwarzwild (*Sus scrofa*): Fürstenwalde, Mühlhausen, Arnstadt, Suhl, Saalfeld und Eilenburg

Rotwild (*Cervus elaphus*): Perleberg, Fürstenwalde, Weißwasser, Hettstedt, Dresden, Pirna, Torgau, Marienberg, Arnstadt, Nordhausen und Suhl.

Rehwild (*Capreolus capreolus*): Güstrow, Rathenow, Pirna, Marienberg und Nordhausen.

Hasen (*Lepus europaeus*): Mühlhausen.

Langschwänzige Mäuse: Waren, Güstrow, Malchin, Neuruppin und Senftenberg.

Kurzschwänzige Mäuse: Waren, Güstrow, Köthen, Hettstedt, Worbis und Schleich.

MASURAT, STEPHAN

Mitteilung für die Autoren der Zeitschrift!

Die Autoren von Originalaufsätzen werden freundlichst gebeten, ihren Manuskripten 2 deutsche Zusammenfassungen hinzuzufügen. Von diesen soll die erste alle bedeutsamen Angaben zur Versuchsdurchführung und zu den Ergebnissen der Arbeit ent-

halten. Die zweite Zusammenfassung in wesentlich kürzerer Form soll lediglich die Ergebnisse der Arbeit andeuten und ausschließlich als Vorlage für die fremdsprachliche Zusammenfassung dienen.

Die Redaktion

Berichtigung

Im Heft 10 dieser Zeitschrift muß es auf S. 197 unter Karte 15 und S. 198 unter Karte 17 in der letzten Zeichenklärung heißen: Auftreten nur im Jahre 1953 gemeldet.

Im Heft 11 dieser Zeitschrift muß es auf dem Bildblatt zu S. 214 in der Bildunterschrift zu Abb. 1, H: anstatt „Tabakmosaikmauche-Virus“, „Tabakmauche-Virus“ heißen.

Herausgeber: Deutsche Akademie der Landwirtschaftswissenschaften zu Berlin. — Verlag Deutscher Bauernverlag, Berlin N 4, Reinhardtstr. 14, Fernsprecher 42 56 61; Postscheckkonto: 439 20. — Schriftleitung: Prof. Dr. A. Hey, Kleinmachnow, Post Stahnsdorf bei Berlin, Stahnsdorfer Damm 81. — Erscheint monatlich einmal. — Bezugspreis: Einzelheft 2,— DM, Vierteljahresabonnement 6,— DM einschließlich Zustellgebühr. — In Postzeitungsliste eingetragen. — Bestellungen über die Postämter, den Buchhandel oder beim Verlag. Auslieferungs- und Bezugsbedingungen für das Bundesgebiet und für Westberlin: Bezugspreis für die Ausgabe A: Vierteljahresabonnement 6,— DM (einschl. Zeitungsgebühren, zuzüglich Zustellgebühren). Bestellungen nimmt jede Postanstalt entgegen. Buchhändler bestellen die Ausgabe B bei „Kawa“-Kommissionsbuchhandlung, Berlin-Charlottenburg 2. Anfragen an die Redaktion bitten wir direkt an den Verlag zu richten. — Anzeigenverwaltung: Deutscher Bauernverlag, Berlin N 4, Reinhardtstraße 14; Fernsprecher: 425661; Postscheckkonto: 44344. Zur Zeit ist Anzeigenpreisliste Nr. 3 gültig. Veröffentlicht unter der Lizenz-Nr. ZLN 5076. — Druck: Druckerei Osthaveland Velten 1-13-2. — Nachdruck, Vervielfältigungen, Verbreitungen und Übersetzungen in fremde Sprachen des Inhalts dieser Zeitschrift — auch auszugsweise mit Quellenangabe — bedürfen der schriftlichen Genehmigung des Verlages.