

Einfluß von Weizenwurzelexsudaten auf die Konidiosporenkeimung von Getreidefußkrankheitserregern

Von Helmut Ehle, Biologische Bundesanstalt, Laboratorium für botanische Mittelprüfung, Braunschweig*

[Nachrichtenbl. Deutsch. Pflanzenschutzd. (Braunschweig) 21, 1969, 137–139]

Einleitung

In seiner ersten Entwicklungsphase – von der Keimung bis zum 3-Blatt-Stadium (D) – ist der Weizen besonders anfällig vor allem für den Befall durch *Fusarium*-Arten. Im Gegensatz zu *Ophiobolus graminis* Sacc. und *Cercospora herpotrichoides* Fron. (Erreger der Halmbrechkrankheit) können unter geeigneten Infektionsbedingungen *Fusarium culmorum* (W. G. Sm.) Sacc. und *F. nivale* (Fr.) Ces. (*Griphosphaeria nivalis* [Schaff.] Müll. et v. Arx) und in geringerem Maße auch *F. graminearum* Schwabe (*Gibberella zeae* [Schwein.] Petch) und *F. avenaceum* (Fr.) Sacc. Weizenpflanzen sowohl vor als auch unmittelbar nach dem Auflaufen stärker schädigen oder sogar abtöten.

Die entsprechenden Nachweise wurden für *F. culmorum* von Colhoun und Park (1964) sowie von Malalasekera und Colhoun (1968), für *F. nivale* von Millar und Colhoun (1969 a, b), für *F. graminearum* von Colhoun und Park (1964) und für *F. avenaceum* von Colhoun und Park (1964) sowie Colhoun et al. (1968) erbracht.

Die durch diese *Fusarium*-Arten verursachten Anfangssymptome äußern sich an den Keimwurzeln und der Halmbasis durch Läsionen, die sich je nach Befallsstärke auf den infizierten Pflanzenteilen ausbreiten. Die ersten Anzeichen der Halmbrechkrankheit, die hauptsächlich als sog. „Medaillonflecke“, nekrotische Flecke, am Stengelgrund auftreten, sehen ähnlich aus. Die für Weizen pathogenen *Fusarium*-Arten sind boden- und samenbürtig, wobei die Konidiosporen eine wichtige Rolle als Infektionsquelle spielen. Besonders groß ist demzufolge die Gefährdung der jungen Pflanzen, wenn ungebeiztes infiziertes Saatgut in einen stärker verseuchten Boden gebracht wird, weil dann ein unmittelbarer Kontakt zwischen Wirt und Parasit möglich ist. Diese räumliche Koinzidenz bedeutet eine wesentliche Voraussetzung für eine Infektion der sich entwickelnden Wirtspflanze. Das gleiche trifft auch für den bodenbürtigen Pilz *C. herpotrichoides* bei einer Anreicherung des Erregers im Boden zu.

Zwangsläufig wird hierbei das Problem Rhizosphärenbereich und dessen Wirkung auf die Bodenmikroorganismen berührt, welches Gams (1967) für Weizen ausführlich in einer Literaturübersicht beschrieben hat. Aus einer Zusammenstellung von Roviра (1965) geht hervor, daß Wurzelexsudate (Wurzelausscheidungen) verschiedener Kulturpflanzen (keine Getreidearten) auf die Sporenkeimung von *Fusarium* spp. überwiegend fördernd wirken. Über den stimulierenden Einfluß von Weizenwurzelexsudaten auf die Keimung von *F. cul-*

morum-Konidiosporen ist kürzlich von Onuorah (1968) berichtet worden. Interessant ist auch die Feststellung von Čatská und Macura (1964), daß Sporen von *Fusarium*-Isolaten, die von der Weizenwurzeloberfläche stammten, in der Nähe von Weizenkeimwurzeln besser als im Boden ohne Pflanzenbewuchs keimten.

Aus dem Ursachenkomplex der Fußkrankheiten ist in diesem Zusammenhang die Frage nach der Bedeutung der Wurzelausscheidungen junger Weizenpflanzen für die Keimung der Konidiosporen der eingangs genannten Pilze noch ungeklärt; sie wird Gegenstand vorliegender Untersuchungen sein.

Material und Methoden

Die Oberflächensterilisation von Körnern der englischen Sommerweizensorte 'Jufy I' erfolgte in 0,2%igem HgCl₂ (20 Minuten), anschließend wurden sie gründlich mit sterilem destilliertem Wasser gewaschen und drei Stunden vorgequollen, um eine schnellere Keimung zu ermöglichen. Danach wurde das Saatgut 48 Stunden auf Kartoffel-Rohrzucker-Nährboden in Petrischalen ausgelegt, um es vorzukeimen und auf Verunreinigungen zu überprüfen. Die Körner hatten zu diesem Zeitpunkt 2–3 Keimwurzeln ausgebildet. Jeweils 10 Körner wurden dann in mit Glasdeckeln abschließbare Abdampfschalen (Höhe: 6,5 cm, Durchmesser: 11,5 cm) übertragen. Die Keimlinge befanden sich auf einem dem Innendurchmesser der Schale entsprechenden runden Plastikgewebe, das auf vier schmalen Glaszylindern ruhte. Die im Autoklaven sterilisierten Schalen enthielten 100 ml destilliertes Wasser. Ein direkter Kontakt des Wassers mit den Körnern und den Blättern war nicht möglich, deren Ausscheidungen konnten nicht in das Wasser gelangen, weil die Zylinder 1,5 cm über die Wasseroberfläche hinausragten. Die Schalen wurden bei Zimmertemperatur und künstlicher Zusatzbeleuchtung im Laboratorium aufgestellt und nach 14 Tagen die Exsudate gewonnen. Die Pflanzen befanden sich dann im frühen 3-Blatt-Stadium (D) und hatten durchschnittlich 6 Wurzeln ausgebildet. Verwendung fanden nur saubere, nicht verunreinigte Exsudate, die im Vakuum auf ein Zwanzigstel des ursprünglichen Volumens eingeengt und anschließend steril filtriert wurden.

Bei den Pilzkulturen handelte es sich ausschließlich um Weizenisolate, die entweder von der Halmbasis (*C. herpotrichoides*, *F. culmorum* und *F. nivale*) oder dem Saatgut (*F. avenaceum* und *F. graminearum*) stammten. Die Anzucht der Konidiosporen der *Fusarium*-Arten erfolgte in Petrischalen auf Kartoffel-Rohrzucker-Agar. Nach einer Inkubationszeit von 14 Tagen sporulierten die Pilze reichlich. Die Sporen wurden mit sterilem destilliertem Wasser von der Nährbodenoberfläche abgeschwemmt. Es wurde stets darauf geachtet, daß die Plattenkulturen nicht älter als 3 Wochen waren, um eine Ungleichmäßigkeit der Keimung zu vermeiden. *C. herpotrichoides*-Konidiosporen wurden nach der von Glynn (1953) beschriebenen Methode gewonnen. Myzelbewachsene ausgestanzte Kartoffel-Rohrzucker-

* Die Untersuchungen wurden 1967 im Department of Cryptogamic Botany an der englischen Universität Manchester begonnen und 1969 im Laboratorium für botanische Mittelprüfung der Biologischen Bundesanstalt Braunschweig abgeschlossen. Herrn Professor J. Colhoun, dem Direktor des Department of Cryptogamic Botany, sei an dieser Stelle für die Überlassung des Arbeitsplatzes gedankt. Der Deutschen Forschungsgemeinschaft gilt mein Dank für die finanzielle Förderung der Arbeit während des Englandsaufenthaltes.

Agarscheiben (Durchmesser: 1 cm) wurden in Uhrgläser gebracht, die sich in Petrischalen befanden. Die Schalen wurden halb geöffnet in einem Kühlraum (+ 10 °C) oder im Freien bei niedrigen Außentemperaturen aufgestellt und die Scheiben regelmäßig feucht gehalten. Nach ungefähr 8 Tagen konnten die ersten Sporen abgewaschen werden. Die Untersuchungen wurden bei einer niedrigen (100 000 Sporen/ml) und einer dichten Sporensuspension (400 000 Sporen/ml) durchgeführt. Um Sporendichten von 100 000 bzw. 400 000 Sporen/ml herzustellen, wurden Suspensionen von 125 000 bzw. 500 000 Sporen/ml angesetzt, welchen 0,25 ml Exsudatlösung bzw. destilliertes steriles Wasser (= Kontrolle) zugegeben wurde. Die Suspensionen wurden mit Hilfe einer Pipette auf Objektträger gebracht, die sich in sterilen Petrischalen auf Glasträgern befanden. Auf jeden Objektträger wurden 3 mittelgroße Tropfen im Abstand von etwa 1 cm pipettiert. Den Petrischalen wurden anschließend einige Milliliter steriles Wasser beigegeben, um eine hohe Luftfeuchtigkeit zu gewährleisten. Je Variante wurden 4 Petrischalen angesetzt. Die Schalen wurden im Brutschrank 24 Stunden bei 22 °C inkubiert. Die Objektträger wurden dann vorsichtig aus den Petrischalen entnommen und unter dem Mikroskop die gekeimten Sporen gezählt sowie die Keimschlauchlänge gemessen. Als gekeimt wurden alle diejenigen Sporen angesehen, die einen Keimschlauch gleich welcher Länge aufwiesen. Falls eine Spore mehr als einen Keimschlauch ausgebildet hatte, wurde immer der längste gemessen. Je Variante wurden 400 Sporen auf ihre Keimfähigkeit geprüft, 50 Keimschläuche gemessen und deren Mittelwerte errechnet und in der Tab. 1 angegeben. Außerdem wurde die Keimschlauchzahl in Prozent von 100 gekeimten Sporen ermittelt.

Ergebnisse

Die in der Tab. 1 zusammengestellten Ergebnisse veranschaulichen den Einfluß der Exsudate auf die

Konidiosporenenkeimung sowie die Keimschlauchlänge und -zahl bei den verschiedenen Sporenarten.

Bei der niedrigen Dichte der Suspensionen (100 000 Sporen/ml) ist ohnehin – abgesehen von *F. avenaceum* – ein sehr hoher Prozentsatz von *F. culmorum*-, *F. graminearum*-, *F. nivale*- und *C. herpotrichoides*-Sporen gekeimt, so daß die Keimung durch die Exsudatzugabe nicht mehr wesentlich gefördert werden kann. Die stimulierende Wirkung der Wurzelausscheidungen auf die Sporenenkeimung ist dafür bei *F. avenaceum* um so deutlicher ausgeprägt.

Hinsichtlich der überwiegend beträchtlichen Zunahme der Keimschlauchlänge reagieren die Sporenarten in der abnehmenden Reihenfolge *F. graminearum*, *F. nivale*, *C. herpotrichoides*, *F. avenaceum* und *F. culmorum*. Diese mehrfach septierten Sporenarten zeigen von *F. nivale*, *C. herpotrichoides*, *F. culmorum*, *F. graminearum* bis *F. avenaceum* eine ansteigende Tendenz bezüglich der Zunahme der Keimschlauchzahl als Folge der Exsudatwirkung.

Bei der höheren Dichte der Suspensionen (400 000 Sporen/ml) ist bei allen Fußkrankheitserregersporen das Phänomen der Selbsthemmung zu beobachten. Selbstinhibition ist für die hier untersuchten *Fusarium*- und *C. herpotrichoides*-Sporen gleichbedeutend mit abnehmender Keimung, kürzeren Keimschläuchen sowie geringerer Keimschlauchzahl. Im Vergleich zur niedrigen Sporendichte wird dann der aktivierende Effekt der Exsudate auf die Keimung um so deutlicher, der vor allem bei *F. nivale*, *F. avenaceum* und *F. graminearum* und in geringerem Maße auch bei *F. culmorum* sowie *C. herpotrichoides* feststellbar ist. Das gleiche gilt auch für die fördernde Wirkung auf die Keimschlauchlänge, die bedeutsam ist, obwohl die Keimhyphen relativ kürzer sind. Die Zunahme der Keimschlauchlänge erreicht etwa bei *F. graminearum* und *F. culmorum* den fünffachen, bei *F. nivale* den vierfachen und bei *F. avenaceum* den doppelten Wert der Kontrolle

Tabelle 1. Einfluß der Exsudatwirkung auf Keimung, Keimschlauchlänge und -zahl der Konidiosporenarten bei niedrigen sowie dichten Sporensuspensionen

Konidio- sporenart	Sporen- dichte × 1000 je ml	Keimung in %	Keimschlauch- länge in µ	Gekeimte Sporen in % mit				
				1	2	3	4	
<i>F. avenaceum</i>	100	mit Exs.	93	298,8	9	69	17	5
		ohne Exs.	62	161,1	68	30	2	–
	400	mit Exs.	89	212,7	25	71	4	–
		ohne Exs.	27	103,5	76	24	–	–
<i>F. culmorum</i>	100	mit Exs.	99	716,4	24	76	–	–
		ohne Exs.	97	406,5	78	22	–	–
	400	mit Exs.	97	592,2	67	33	–	–
		ohne Exs.	63	116,4	87	13	–	–
<i>F. graminearum</i>	100	mit Exs.	98	856,5	17	75	8	–
		ohne Exs.	97	192,0	72	28	–	–
	400	mit Exs.	86	347,4	54	41	5	–
		ohne Exs.	47	67,8	74	26	–	–
<i>F. nivale</i>	100	mit Exs.	98	232,8	14	79	7	–
		ohne Exs.	94	84,6	28	66	6	–
	400	mit Exs.	96	133,2	24	73	3	–
		ohne Exs.	24	35,5	69	31	–	–
<i>C. herpotrichoides</i>	100	mit Exs.	98	136,8	2	42	34	22
		ohne Exs.	96	60,8	19	51	18	12
	400	mit Exs.	97	73,3	3	85	12	–
		ohne Exs.	86	42,4	32	62	6	–

(= ohne Exsudate). Lediglich *C. herpotrichoides* reagiert schwächer. Bezüglich der Ausbildung der Keimschlauchzahl je Spore wirkt sich der Exsudateinfluß bei den Pilzarten ebenfalls anregend aus, und zwar am stärksten bei *F. avenaceum* sowie *F. nivale*, gefolgt von *F. culmorum*, *F. graminearum* und *C. herpotrichoides*.

Diskussion

Die vorliegenden Ergebnisse sind ein Beweis für die stimulierende Wirkung der Exsudate auf die Konidiosporenkeimung der untersuchten Fußkrankheitserreger. Sie zeigen auch, daß mit dem fördernden Einfluß auf die Keimung eine Zunahme der Keimschlauchlänge und Keimhyphenzahl verbunden ist. Hinsichtlich der Exsudatwirkung ergeben sich Unterschiede, erstens bei den einzelnen Sporenarten und zweitens innerhalb einer Art in Abhängigkeit von der Dichte der Suspensionen. Am ausgeprägtesten sprechen *F. graminearum* und *F. avenaceum* sowohl bei der niedrigen als auch bei der hohen Dichte auf die Wurzelausscheidungen an, in abnehmender Reihenfolge von *F. nivale*, *F. culmorum* und *C. herpotrichoides* eng gefolgt. Diese Anordnung gilt zwar allgemein, bei einer Aufschlüsselung nach Keimung, Keimschlauchlänge und -zahl ergeben sich für diese drei Kriterien allerdings geringfügige Abweichungen. Die Versuchsergebnisse beweisen, daß die Selbstinhibition bei einer hohen Sporendichte durch die Exsudatzugabe bei allen Konidiosporenarten weitestgehend aufgehoben werden kann. Insofern stimmen die für *F. culmorum*-Sporen erhaltenen Ergebnisse mit denen von Onuorah (1968) überein.

Nur mit Vorbehalten ist es möglich, Rückschlüsse von den *in vitro* durchgeführten Versuchen auf die Beeinflussung der Wurzelausscheidung und die Sporenkeimung im natürlichen Boden zu ziehen. Dort sind die Verhältnisse infolge der zahlreichen auf die Wirtspflanzen und Parasiten einwirkenden Faktoren ungleich komplizierter. Zweifellos findet auch im Freiland eine Wurzelausscheidung der Pflanzen, wohl aber in geringerem Maße als unter sterilen Bedingungen, statt. Im Boden werden von der Exsudatwirkung ausschließlich solche Sporen betroffen, die sich im unmittelbaren Rhizosphärenbereich der Wurzeln befinden. In besonderem Maße sind Keimpflanzenwurzeln, bei denen die schützende Mikrobenhülle noch fehlt oder ungenügend ausgebildet ist, gefährdet. Die durch die Exsudate bedingte geförderte Keimung und vermehrte Zahl der Keimschläuche dürften den Sporen bessere Infektionschancen des Wirtsgewebes geben. Vor allem ein unter den eingangs erläuterten Voraussetzungen auftretender früher *F. culmorum*- oder *F. nivale*-Befall kann dann zu schweren Schädigungen oder sogar zum Absterben der jungen Weizenpflanzen führen. Aber auch *F. graminearum*- und *F. avenaceum*- sowie *C. herpotrichoides*-Infektionen können sich nachteilig auf das Pflanzenwachstum auswirken. Demnach scheint in diesem Entwicklungsstadium des Weizens die Exsudatwirkung ein mitbestimmender Faktor aus dem Ursachenkomplex für das Auftreten der durch diese Pilze hervorgerufenen Fußkrankheiterscheinungen zu sein.

Zusammenfassung

In vitro wurde der Einfluß von im Vakuum eingeengten Weizenwurzelexsudaten auf die Konidiosporenkeimung von vier *Fusarium* spp. und *Cercospora herpotrichoides* untersucht.

Bei einer niedrigen Dichte der Sporensuspension (100 000 Sporen/ml) bewirkte die Zugabe der Exsudate eine wesentliche Förderung der Keimschlauchlänge und -zahl bei *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. nivale* und *C. herpotrichoides*.

Bei einer dichten Sporensuspension (400 000 Sporen/ml) wurden ähnliche Ergebnisse erzielt, allerdings war vergleichsweise die Zunahme der Keimhyphenlänge und -zahl geringer. Beträchtlich stimulierend wirkte sich jedoch der Einfluß der Exsudate auf die Sporenkeimung aus, so daß die Selbstinhibition weitgehend aufgehoben wurde.

Die Bedeutung der Versuchsergebnisse für die Pathogenese im Keimpflanzenstadium des Weizens wurde diskutiert.

Summary

The influence of concentrated wheat root exudates on the germination of the conidia of four *Fusarium* spp. and *Cercospora herpotrichoides* has been investigated *in vitro*.

The addition of the exudates to a low suspension of the spores (100,000 spores/ml) induced a considerable increase in the length and number of germ tubes of *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. nivale*, and *C. herpotrichoides*.

Similar results were obtained with a dense suspension (400,000 spores/ml), however, the stimulation of the length and number of germ tubes was comparatively smaller. But the influence of the exudates on the increase of the germination was very important which resulted in almost total exclusion of selfinhibition.

The significance of these results with regard to the pathogenesis during the first stages of tillering of the wheat is discussed.

Literatur

- Čatská, V., Macura, J.: (The importance of root excretions for the wheat roots colonization with fungi). Rostl. Výroba 9. (36). 1963, 692-696. [Tschech. m. engl. Summ.] - Ref. in Rev. appl. Mycol. 43. 1964, 292.
- Colhoun, J., and Park, D.: *Fusarium* diseases of cereals. I. Infection of wheat plants, with particular reference to the effects of soil moisture and temperature on seedling infection. Trans. Brit. Mycol. Soc. 47. 1964, 559-572.
- Colhoun, J., Taylor, G. S., and Tomlinson, R.: *Fusarium* diseases of cereals. II. Infection of seedlings by *F. culmorum* and *F. avenaceum* in relation to environmental factors. Trans. Brit. Mycol. Soc. 51. 1968, 397-404.
- Gams, W.: Mikroorganismen in der Wurzelregion von Weizen. Sammelreferat. Mitt. Biol. Bundesanst. Berlin-Dahlem 123. 1967. 77 S.
- Glynnne, M. D.: Production of spores by *Cercospora herpotrichoides*. Trans. Brit. Mycol. Soc. 36. 1953, 46-51.
- Malalasekera, R. A. P., and Colhoun, J.: *Fusarium* diseases of cereals. III. Water relations and infection of wheat seedlings by *Fusarium culmorum*. Trans. Brit. Mycol. Soc. 51. 1968, 711-720.
- Millar, C. S., and Colhoun, J.: *Fusarium* diseases of cereals. IV. Observations on *Fusarium nivale* on wheat. Trans. Brit. Mycol. Soc. 52. 1969 a, 57-66.
- Millar, C. S., and Colhoun, J.: *Fusarium* diseases of cereals. VI. Epidemiology of *Fusarium nivale* on wheat. Trans. Brit. Mycol. Soc. 52. 1969 b, 195-204.
- Onuorah, P. E.: The influence of sucrose and wheat root exudates on the germination and growth of conidia of *Fusarium culmorum* (W. G. S. M.) Sacc. Plant and Soil 29. 1968, 27-32.
- Rovira, A. D.: Plant root exudates and their influence upon soil microorganisms. In: Ecology of soil-borne plant pathogens. Berkeley, Los Angeles, Calif. 1965, p. 170-186.

Eingegangen am 12. Juni 1969.