Biologische Studien mit Botrytis cinerea.

Von **M. Büsgen.**

Seit der für die Kenntnis der Lebensweise halbparasitischer Pilze grundlegenden Arbeit de Bary's (Über einige Sklerotinien usw., Botan. Zeitung 1886) ist Botrytis cinerea vielfach Gegenstand biologischer Untersuchungen gewesen; man findet sie in Lafar's Handbuch der technischen Mykologie, in Lindau's Bearbeitung der pflanzlichen Parasiten in der 3. Auflage von Sorauer's Handbuch der Pflanzenkrankheiten (1908) und in einer Arbeit von H. Otto über die Auflösung von Zellulosen und Zellwänden durch Pilze (Beitr. zur allgem. Botanik, herausg. von Haberlandt 1916, Bd. I, 2) angegeben und verwertet. Noch immer aber ist das Bild, das man sich von der Wirkungsweise des Pilzes entwerfen kann, nicht in allen Zügen klar. Zunächst wäre die Speziesfrage aufzuhellen, dann das Verhalten des Pilzes gegen eine größere Anzahl von Pflanzen im Zusammenhang mit deren Beschaffenheit näher zu prüfen; endlich müßten seine Enzyme einer umfassenden Untersuchung unterworfen werden. Ich selbst beabsichtigte hier nur einen kleinen vorläufigen Beitrag zur Lösung dieser Fragen zu geben, deren völlige Klärung die Arbeit längerer Zeit erfordert. Von der Frage ausgehend, warum so viele Pflanzen, die in der Natur unter Bedingungen wachsen, welche der Pilzentwicklung äußerst günstig sind, von einem so wenig wählerischen allverbreiteten Pilz, wie es die Botrytis ist, gleichwohl verschont werden, führte ich mit Hilfe einer feuchten Kammer von etwa 0,5 cbm Inhalt eine größere Zahl von Infektionen aus, um dann die auftretenden Krankheitserscheinungen näher zu studieren. Hand in Hand damit ging Kultur des Pilzes auf allerlei Nährlösungen. Ausgangsmaterial für Infektionen und Kulturen wurde im Spätsommer 1917 einem Blütenblatt von Pelargonium zonale entnommen. Es lieferte anfangs weiß, dann grau gefärbte flockige Myzelhäute mit gabelig und razemös verzweigten Hyphen, die in guten Nährlösungen (6 % Traubenzucker) lang und gradwüchsig, in ärmeren ($^1/_2$ % Traubenzucker) kurzzweigig und vielfach geschlängelt waren. Die Hyphen drangen nur wenig in die Unterlage ein, sind also sehr luftbedürftig. Sie wuchsen am raschesten bei etwa 20 bis 25 Grad und sterben nach früheren

Beobachtern bei 55 Grad in einigen Minuten ab (Lafar, l. c. 5, 66). Einen bekannten Kollegversuch liefert eine mit Lakmus tiefblau gefärbte Kultur auf Agar mit Traubenzucker und Fleischextrakt oder etwas Pepton. Sie färbt sich rot soweit die wachsenden Hyphen reichen infolge der lang bekannten Oxalsäurebildung durch den Pilz. Auf genannten Lösungen wie auf Kirschblattextrakt, mit oder ohne Zusatz von Agar, bildeten die Myzelien Konidienträger, die mehrere Scheinquirle von kurzen dicken Konidien tragenden Ästen und eine endständige konidientragende Rispe entwickelten. Die Gestalt der Konidien liegt zwischen der eines Eies und eines Ellipsoids, bald mehr dem ersteren, bald mehr dem letzteren gleichend. Der größte Durchmesser senkrecht zur Längsachse betrug in der Regel 5—5,5 μ; doch kommen auch größere und kleinere Konidien vor, ohne daß in dieser Beziehung ein durchgängiger Unterschied zwischen üppigen und schwachen Myzelien bestünde. Im Hängetropfen neben einem Blatt von Mnium hornum in reinem Wasser erhielt ich die von Beauverie[1]) beschriebenen kleinen kugligen Sekundärsporen oder Sporidien. Sie entstanden apikal und seitlich an kurzen etwas ausgebauchten Myzelästchen, die manchmal neben einer normalen Hyphe aus der Spore heraus wuchsen oder seitlich an einer gewöhnlichen Hyphe entsprangen. Da diese Hyphen ihr Plasma gänzlich verbraucht hatten, hat man die Sporidien als Aushilfsbildungen anzusehen, die ein Auswandern des Pilzes aus ungünstiger Umgebung möglich machen. Bei Kultur in Petrischalen erhält man auf guten Nährlösungen (5% und mehr Traubenzucker mit Pepton und einem Nährsalzgemisch) leicht Sklerotien von sehr verschiedener Gestalt. Auf austrocknendem Agar flach scheibenförmig wie auf Blättern (Prunus Laurocerasus) sind sie auf frischem Agar und auf Lösungen ohne Agar etwa halbkugelig oder unregelmäßig höckrig. Halbkugeln erreichen etwa 1—2 mm Durchmesser, die höckrigen Körper können 1 cm. breit werden. Auf kleinen, aus einer oder wenigen Konidien hervorgegangenen Myzelien können stecknadelkopfgroße rundliche Sklerotien auftreten. Sie sind nicht zu verwechseln mit den von mir früher[2]) beschriebenen schwarzen Haftbüscheln (Appressorien), die am Rand der Petrischalen oft in Menge sich ausbilden und die Größe kleiner Sklerotien erreichen können. Beachtenswert ist, daß ich die beste Sklerotienbildung in einer 15 cm breiten Petrischale erhielt. In kleineren Schalen

1) Études sur le polymorphisme des Champignons. Ann. université de Lyon. Nouv., sér. 1, Fasc. 3. Paris 1900.

2) Über einige Eigenschaften der Keimlinge parasitischer Pilze. Bot. Zeitung 1893, Bd. LI.

herrscht Konidienbildung vor oder diese tritt ausschließlich auf. In Erlenmeyerkölbchen erhielt ich fast nur Konidien. Dies rührt daher, daß Konidienbildung und Sklerotien sich bis zu einem gewissen Grade ausschließen. In Erlenmeyerkolben aber sind die Bedingungen für die Konidienbildung günstiger als in den flachen Petrischalen, weil dort ein größerer Unterschied im Feuchtigkeitsgehalt zwischen Unterlage und Luft sich ausbilden kann als in den flachen Schalen mit ihrer niedrigen Luftschicht. Bei zur Sklerotienentwicklung nicht ausreichender Ernährung, z. B. in schwachen Traubenzuckerlösungen mit wenig Fleischextrakt, erhält man in kleineren Schalen ein unfruchtbares, allmählich vergrauendes Myzel, auf dem zerstreute graue Polster von etwa 2 mm Durchmesser auftreten, die weder zu Sklerotien werden, noch Konidienträger entwickeln. Ihre Lufthyphen sind an den Spitzen reich verzweigt und zeigen dort Übergangsbildungen zwischen normalen Konidien und solchen, die vor ihrer Fertigstellung wieder in Fäden übergegangen sind, also gewissermaßen schon vor ihrer Vollendung gekeimt hatten. Beauverie hat neben normalen Konidienträgern auch diese Bildungen beobachtet und zwar auf den verschiedensten Unterlagen bei einer konstanten Temperatur von 30 Grad. Wahrscheinlich war überall die Nährstoffmenge, insbesondere der Stickstoffgehalt der Unterlage zu klein zur Sklerotienbildung und die Luftfeuchtigkeit zu groß zur Bildung von Konidien.

Auf feuchte Erde gelegt, überzogen sich die Sklerotien bald mit einem dichten Wald positiv heliotropischer Konidienträger. Andere Fruchtformen traten auch nach monatelangem Liegen nicht auf. Da indessen Beauverie aus Botrytis-Sklerotien Fruchtträger erhielt, wenn sie mehrere Millimeter tief in den Boden eingesenkt waren, hoffe ich auch noch Askusfrüchte zu erhalten. Die Askosporen Beauverie's maßen 9—10 μ : 5—6 μ; der Stiel der Becher war 2—10 mm lang.

Seit de Bary's Untersuchungen an Sclerotinia Libertiana weiß man, daß die Infektion von Pflanzenteilen durch Sporen in Tropfen reinen Wassers nicht sicher gelingt. Manche Pilze erwerben erst durch anfängliche saprophytische Ernährung parasitische Angriffskraft. Für Botrytis cinerea wird angegeben, daß besonders große Sporen direkt angriffsfähige Keimschläuche erzeugten nnd Kißling[1]) und Nordhausen[2]) sahen, daß unter bestimmten Bedingungen Infektion mit Sporen gelang, dann nämlich, wenn sehr dünnwandige Gewebe wie

1) Zur Biologie der Botrytis cinerea. Inaug.-Diss. Bern, Dresden 1889.
2) Beiträge zur Biologie parasitärer Pilze. Jahrb. f. wiss. Bot. 1899, Bd. XXXIII.

Blumenblattzellen vorlagen oder die Keimung in nur sehr geringen Wassermengen vor sich ging, welche das von der keimenden Spore ausgeschiedene Gift nicht zu sehr verdünnten. Um alle Unsicherheiten zu vermeiden, benutzte ich bei meinen Versuchen kleine, von Myzel durchwucherte Stückchen eines Traubenzucker-Fleischextraktlösung enthaltenden Agars. Je drei bis vier Agarstückchen wurden beiderseits des Mittelnerven auf die Ober- oder Unterseite der Versuchsblätter gebracht, auf der einen Blatthälfte auf kurze Schnittwunden, auf der anderen auf die unverletzte Oberhaut. An den Wundstellen gelang die Infektion ausnahmslos bei Pflanzen der verschiedensten Familien.

Die Krankheitserscheinung an infizierten Blättern ist das Auftreten eines Flecks, der sich von der Infektionsstelle aus mitunter kreisförmig erweitert, öfter aber entlang den stärkeren Blattnerven rascher sich ausdehnt als in dem zwischenliegenden Parenchym. Bei Rumex obtusifolius schritt die Infektion manchmal nur den Nerven entlang vorwärts, indem beiderseits derselben Bräunung des Blattgewebes auf kurze Entfernung von dem Nerven eintrat. Nicht selten zeigte sich der Fleck von einer unregelmäßig eckigen Figur begrenzt, weil auch die schwächeren Blattnerven das Fortschreiten der Pilzwirkung quer über sie hinweg hemmen. Weder die Hyphen noch die giftigen Ausscheidungen des Pilzes passieren leicht die Polster von Hartgewebe, welche beiderseits des Nervengefäßbündels den Raum zwischen diesem und der Blattoberhaut erfüllen und, wie Zeiylstra[1]) gezeigt hat, auch dem Gasaustausch im Blattinnern Schwierigkeiten machen. Die Farbe der Krankheitsflecke ist je nach der Beschaffenheit der Blätter verschieden. Gewöhnlich ist der mittlere Teil bleigrau, weil dort die Cuticula oder der ganze äußere Teil der Oberhaut sich abgehoben hat und Luft eingedrungen ist. Der Rand ist oft dunkelgrün und durchscheinend infolge des Eintretens von Zellsaft aus den vergifteten Zellen in die Zwischenzellräume. Sind in dem Safte Stoffe vorhanden, die durch Oxydation sich braun oder schwarz färben, so nehmen die infiltrierten Partien diese Farbe an, die z. B. bei Sambucus nigra sich weit über das kranke Blatt erstrecken kann. Bei Prunus Laurocerasus und Prunus avium wiesen die kranken Blattstellen zierliche, aus weißen Pünktchen zusammengesetzte Linien auf, welche, die Infektionsstelle im allgemeinen kreisförmig umziehend, im einzelnen kurzbogig den kleineren Nerven folgten und entlang den stärkeren über die Kreislinie hinausgingen. Die weißen Pünktchen bestanden aus sphaerokristallinischen

1) Acad. proefschrift. Groningen 1909.

Aggregaten, die, in Essigsäure unlöslich, mit konzentrierter Schwefelsäure nach anfänglicher Lösung feine Nadeln lieferten. Sie waren demnach Kalziumoxalat, das in dem Maße wie das Myzelium zentrifugal sich ausbreitet, zonenweise zur Abscheidung gelangt ist. Die Erscheinung wird sich daraus erklären, daß jedesmal um einen vorhandenen Kristallkeim, wenn die Konzentration ein gewisse Höhe erreicht hat, Ausscheidung des Salzes stattfindet. Man wird an die Schichtungen und Zonenbildungen, auf welche Küster[1]) aufmerksam gemacht hat, erinnert. Sie lassen sich in kolloidalen Substanzen auch bei vollkommener Gleichmäßigkeit der äußeren Bedingungen hervorrufen und hängen nur von den Eigenschaften der gegeneinander sich umsetzenden Stoffe ab. Die Schnelligkeit, mit der die Krankheitsflecke sich ausdehnen, ist nach den Umständen und nach der Versuchspflanze verschieden. Einige Beispiele ihres Wachsens bei warmer Sommertemperatur gibt die Tabelle. Sie enthält das Durchschnittswachstum der Flecke während der ersten 2—5 Tage nach der Infektion in Millimetern.

Ranunculus repens	6,6	Stachys silvatica	6,6
Lonicera orientalis	5,6	Lonicera coerulea	5,0
Syringa vulgaris	5,0	Urtica dioica	5,0
Asclepias syriaca	4,7	Prunus avium	4,5
Prunus Padus	4,37	Robinia Pseudacacia	4,2
Symphoricarpus racemosa	4,16		
Ulmus montana	3,75	Sambucus nigra	3,6
Glechoma hederacea	3,0	Evonymus europ.	3,0
Rhamnus Frangula	2,75	Forsythia intermedia	2,75
Vitis vinifera	2,5	Aloe sp.	2,5
Populus alba	2,4	Tilia parvifolia	2,25
Cornus sanguinea	2,0	Iris sp.	2,0
Sedum maximum	2,0	Liquidambar styraciflua	1,9
Ilex Aquifolium	1,5	Ligustrum vulgare	1,4

Mit der fortschreitenden Größe nahm die Geschwindigkeit des Wachsens der Flecke zu, weil mit der Größe des Myzels auch die Giftwirkung sich steigert. So wuchs bei Prunus Padus der Fleck in den ersten Tagen durchschnittlich 4,37 mm, an den beiden folgenden je 11 mm, bei Ulmus montana an den ersten 4 Tagen je 3,75, an den beiden folgenden ebenfalls je 11 mm; bei Symphoricarpus an den ersten 3 Tagen je 4,6 mm, an den beiden folgenden je 8,5 mm; bei Cornus sanguinea an den ersten 3 Tagen je 2 mm, an den 2 folgenden je 3 mm. Bei längerer Beobachtung traten im Verhalten der Pflanzen wesentliche

1) Über Zonenbildung in kolloidalen Medien. Jena 1913, G. Fischer.

Unterschiede hervor. Bei Liquidambar und Forsythia stand das Wachstum der Flecke nach dem 7. Tage still, während es in anderen Fällen bis zu gänzlicher Zerstörung des Blattes fortschritt. Fortschreitende Zerstörung zeigten z. B.:

Iris sp., Polygonatum giganteum, Tradescantia sp., Salix daphnoides, Urtica dioica, Rumex acetosa, Ranunculus repens, Phaseolus multiflorus, Pelargonium zonale, Ruta graveolens, Staphylea pinnata, Begonia sp., Fuchsia sp., Glechoma, Stachys, Lonicera nigra, Lonicera alpigena, Symphoricarpus racemosa, Sambucus nigra, Taraxacum officinale. Begrenzte oder sehr langsam fortschreitende Infektion ergab sich bei:

Polypodium vulgare, Dracaena sp., Hydrocharis, Leucojum, Limnocharis, Nuphar luteum, Castanea vesca, Fagus, Quercus-Arten, Corylus avellana, Ficus elastica, Mahonia Aquifolium Platanus occidentalis, Prunus Laurocerasus, Caragana arborescens, Empetrum nigrum, Aesculus Hippocastanum, Vitis vinifera, Tilia parvifolia, Hippophaes rhamnoides, Andromeda polifolia, Ledum palustre.

Völlige Heilung trat in der feuchten Kammer nur bei Prunus Laurocerasus ein und auch da nicht immer. Im Heilungsfalle erreichten die Krankheitsflecke etwa die Größe eines Pfennigs; dann trockneten sie ein und das abgestorbene Gewebe fiel aus dem Blatte heraus, durch Korkbildung von dem gesunden Parenchym getrennt. Es entstanden runde Löcher wie bei der Schußlöcherkrankheit der Pfirsichblätter. In anderen Fällen war Heilung durch Herausnehmen der Blätter aus der feuchten Kammer zu erzielen. Lufttrockenheit hemmt das Wachstum des Pilzes und gibt der kranken Pflanze Gelegenheit, ihn unter Bildung von Wundkork abzustoßen.

Da alle obigen Angaben sich zunächst auf Infektion an Wundstellen beziehen, müssen die Verschiedenheiten der Krankheitserscheinungen auf „inneren" Eigenschaften der Versuchspflanzen beruhen. Als solche kommen in Betracht der Wassergehalt, die sonstige chemische Beschaffenheit und die Durchlüftung der Blätter. Im kranken Blatt beschränkt bereits die Infiltration der Zwischenzellräume den Luftzutritt. Ist nun noch eine dicke mit Wachs bedeckte Epidermis mit wenig Spaltöffnungen vorhanden, so verlangsamt sich das Wachstum der außerordentlich luftbedürftigen Botrytis und sie greift selbst in so saftreichen Pflanzen wie Sedum maximum und anderen Sukkulenten nur langsam um sich. Dünne, saftreiche Blätter mit zahlreichen Spaltöffnungen werden rasch durchwuchert (Stachys, Urtica); derbe saftarme (Quercus, Fagus usw.) langsam. Daß bestimmte chemische Stoffe in der in den Blättern vorkommenden Konzentration das Wachstum der Botrytis hemmen könnten, geht aus

meinen Versuchen nicht hervor. Wo dies anscheinend der Fall war, zeigte der Kulturversuch, daß die betreffenden Körper von dem Pilze gut vertragen werden. Zusätze von mehreren Prozent Amygdalin und von Tannin zu guten Nährlösungen hinderten das Wachtum der Botrytis nicht. Tanninlösung färbte sich unter dem Einfluß des Pilzes dunkel. Indessen liegen in der Literatur Angaben über Hemmung von Botrytis durch Pflanzenstoffe vor. So findet Zschokke[1]), daß die Botrytis der Obstfäule Früchte mit hohem Säuregehalt, wie Johannisbeeren und saure Äpfel, meidet, dagegen auf süßen Äpfeln häufig auftritt. Auch die Infektion gerbstoffreicher Birnen mißlang, während reife Birnen, deren Gerbstoffgehalt gering ist, befallen wurden; Behrens[2]) gibt an, daß Tannin wachstumshemmend auf Botrytis wirkte, aber in Konzentrationen, wie sie in Früchten nicht vorkommen. Weinsäure erwies sich als kein guter Nährstoff, wurde aber energisch zersetzt. Auf Nährlösung mit 2% Weinsäure oder Äpfelsäure wuchs der Pilz gut nach Ralph Smith[3]). Ich erhielt auf Traubenzucker-Peptonlösung mit 1%iger Weinsäure nur spärliches Myzelwachstum mit geringer Konidienbildung. Den anfänglichen Säuregehalt einer Lösung gleich 100 gesetzt, sank er in Kulturen (zit. Lafar, Bd. I, pag. 317) von Botrytis bei Weinsäure auf 14, bei Äpfelsäure auf 67, bei Zitronsäure auf 95. Es machte Behrens (a. a. o.) den Eindruck, als ob die Weinsäure das Gedeihen des Pilzes beeinträchtige und deshalb am meisten verbrannt werde. Smith fand Oxalsäure (2%) und Ameisensäure (2%) pilzschädlich. Sie verhinderten das Pilzwachstum in Mineralpeptonlösung, wo 2% Tannin und 1% Asparagin gutes Wachstum zuließen, ersteres unter Dunkelfärbung der Masse. Mit 2%igem Amygdalin fand in Smith's Versuchen langsames Wachstum unter Entwicklung von Geruch nach bitteren Mandeln statt, den ich nicht in den mit Amygdalin versetzten Kulturen, wohl aber bei Wachstum des Myzels auf zerschnittenen Blattstücken von Prunus Laurocerasus beobachtete. Es wird demnach das Glykosid gespalten, vielleicht aber nur, wenn der Pilz nicht genügend andere Kohlenstoffquellen hat. Aus Nikotin[4]) vermag Botrytis ihren Stickstoffbedarf zu decken. Mit 1% Salicin erfolgte in Smith's Nährlösung anfangs langsames, dann aber kräftiges Pilzwachstum. Mit 1%igem Brucin und Strychnin war es sehr schwach; mit 2% Chinin oder Thein gleich Null. Auch für spezialisierte

1) Ursachen der verschiedenen Haltbarkeit unserer Kernobstfrüchte. Landw. Jahrb. der Schweiz 1897, Bd. XI.

2) Obstfäule. Zentralbl. f. Bakteriol. u. Parasitenk. 1898, Bd. IV, 2.

3) The parasitisme of Botrytis cinerea. Bot. Gaz. 1902, Vol. XXXIII, pag. 421.

4) Behrens, Zeitschr. f. Infektionskrankh. 1893, Bd. III, pag. 82.

echte Parasiten wird ein Zusammenhang der Anfälligkeit ihrer Wirtspflanzen mit dem Vorhandensein löslicher Zellinhaltsstoffe angegeben. Näheres darüber findet sich in Kirchners[1]) Mitteilungen über die Empfänglichkeit unserer Getreidearten für Brand und Rostkrankheiten. „Als Schutzstoffe gegen Pilze", heißt es dort, „scheinen besonderes Säuren, ferner Antitoxine und Enzyme in Betracht zu kommen." Besondere hierauf gerichtete biologisch-chemische Untersuchungen wären sehr erwünscht. Übrigens wird das Myzelwachstum in den Blättern, auch ohne daß direkt pilzschädliche Stoffe vorhanden sind, sich verlangsamen oder aufhören, wenn kein passendes Nährmaterial sich bietet. Das ist in saftarmen Blättern gewiß oft der Fall. Thöni und Thaysen[2]) haben auch auf diesen Punkt hingewiesen. Sie konnten das pflanzliche Eiweiß des Getreidemehls in ganze Reihen von gut differenzierten Eiweißkörpern zerlegen, die vielleicht weniger Immunitätswirkungen ausüben als jeweils für die Entwicklung eines bestimmten Rost- oder Brandpilzes nötig sind. Ihr Fehlen würde dann das Aufkommen des betreffenden Pilzes verhindern.

Die anatomische Untersuchung der Krankheitsflecke lehrt, daß Chlorophyllkörner und Zellkern vielfach erhalten bleiben und daß auch die Zellwand durchaus nicht immer gelöst wird. Zerzupft man Stückchen aus den Flecken getrockneter Blätter in Wasser, so trennen sich die Parenchymzellen leicht voneinander und man findet die geschrumpften Inhaltsmassen entweder frei oder von ihrer Zellwand umgeben im Präparat umherliegen. Nach mehrstündiger Behandlung mit Bleichwasser (Eau de Javelle) zeigt eine gute Chlorzinkjodlösung im ersteren Falle nur ein äußerst zartes, sich eben noch violett färbendes Häutchen um den aufgequollenen Plasmakörper herum oder es fehlt auch dieses, während im anderen Falle die Violettfärbung der starren Membran gut hervortritt, namentlich in dem etwas stärkeren subcuticularen Teil der Epidermiszellmembranen. Die Cuticula bleibt stets unversehrt und läßt sich oft leicht von dem die Zellulosefärbung zeigenden Teil der Epidermisaußenwand loslösen. Sie ist von diesem letzteren durch eine mit Chlorzinkjod sich nicht färbende Wandschicht getrennt, die sich zwischen den Zellen in die Mittellamelle fortsetzt. Diese letztere wird nach dem übereinstimmenden Urteil aller Beobachter stets von Botrytis gelöst, was eben zur Trennung der Zellen führt. Folgende Tabelle

---

1) Fühling's landwirtschaftl. Zeitung, herausgeg. von Edler, 95. Stuttgart 1916.

2) Thöni und Thaysen, Zeitschr. für Immunitätsforschung und experim. Therapie 1914, Bd. XXIII, I. Teil.

gibt Aufschluß über das Verhalten des Pilzes in einigen Fällen. Unter dem Einfluß des Pilzes wird die Zellulose der Parenchymzellen

gelöst bei:	teilweise gelöst bei:	nicht gelöst bei:
Ulmus montana	Asarum europaeum	Rumex acetosa
Urtica dioica	Saponaria officinalis	Mahonia aquifolium
Rumex obtusifolius	Prunus Padus	Platanus occidentalis
Ranunculus repens	Sorbus torminalis	Prunus Laurocerasus
Syringa vulgaris	Sorbus Aria	Robinia Pseudacacia
Asclepias syriaca	Rhamnus Frangula	Liquidambar styraciflua
Glechoma hederacea	Ligustrum vulgare	Vitis vinifera
Stachys silvatica	Forsythia intermedia	Tilia parvifolia
Sambucus nigra	Viburnum dentatum	Diervilla floribunda
Populus alba	„ Lantana	Viburnum opulus.

Botrytis cinerea hat nach dieser Tabelle die Fähigkeit, die Zellulose des Blattparenchyms von Pflanzen der verschiedensten Familien zu lösen. Bei einer nicht geringen Anzahl von Arten aber, die zum Teil denselben Familien und Gattungen angehören, waren die Zellwände widerstandsfähig. Eine erwünschte Ergänzung zu meinen Ergebnissen bieten einige neuerdings erschienene Angaben von H. Otto[1]). Otto behandelte Blattquerschnitte einer Clivia, von Impatiens glanduligera und von Sambucus nigra zuerst mit 2%iger Natronlauge und Bleichwasser und setzte sie dann einer Botrytiskultur zu. Nach 2—3 Monaten waren bei Impatiens sämtliche Membranen gelöst und nur die Cuticula übrig geblieben, bei Clivia waren neben den unverletzten Cuticularschichten noch Spuren von Zellulose übrig und auch bei Sambucus gelang es dem Pilz nicht, sämtliche Membranen zum Verschwinden zu bringen. Versuche von Schellenberg[2]), in denen Schnitte verschiedener Pflanzen mit Botrytiskulturen zusammengebracht wurden, ergaben ihm keine Anhaltspunkte dafür, daß Botrytis echte Zellulose aufzulösen vermag. Er führt alle Lösungserscheinungen auf die Lösung von Hemizellulosen zurück, wie sie in der Mittellamelle und anderen Membranschichten enthalten sind. Er arbeitete mit zwei Botrytisformen, die er als Botrytis cinerea = Sclerotinia Fuckeliana de By und als Botrytis vulgaris Fr. unterscheidet. Leider gibt er keine Beschreibung seiner Formen. Die letztgenannte aber, die er von einem Geraniumstengel überimpfte, dürfte mit unserer Botrytis cinerea identisch sein. Der Pilz verursachte keine Lösungs-

1) Untersuchungen über die Auflösung von Zellulosen und Zellwänden durch Pilze. Beitr. zur allgem. Botan., herausg. von Haberlandt, I, 2. Berlin 1916, Bornträger.

2) Untersuchungen über das Verhalten einiger Pilze gegen Hemizellulosen. Flora 1908, Bd. XCVIII, H. 3.

erscheinungen an Baumwollfasern, Leinenfasern und dem Endosperm von Ruscus aculeatus, löste aber die Hemizellulose der Speicherinternodien von Molinia coerulea und der Samen von Lupinus hirsutus und albus und das Amyloid der Samen von Impatiens balsamina und Cyclamen europaeum. Im Gegensatz zu diesen Angaben fand Smith, daß ein Myzelauszug die Zellulose von Filtrierpapier[1]) vollständig löste. Auch Otto's Versuche mit Myzelauszug ergaben zum mindesten kräftige Anätzung von Leinen- und ebenso von Baumwollfasern; doch ließ sich der Auszug des in Wasser zerquetschten Myzels durch Fließpapier filtrieren. Otto versuchte auch, das zelluloselösende Enzym durch Niederschlagen mit Alkohol aus alten Nährlösungen zu gewinnen und gibt an, daß der ungereinigte Niederschlag in durch Toluol sterilisierter wässeriger Lösung ebenfalls starke Korrosion von Leinenfasern hervorrief. Leider ist aus Otto's Mitteilungen nicht zu ersehen, ob diese letztere Beobachtung auch für Botrytis gilt oder nur für einige andere mit ihr zusammen aus Humus isolierte Fadenpilze. In einer von mir mit Minerallösung und Filtrierpapier angesetzten Kultur hat sich bis jetzt, d. h. nach etwa 6 Wochen Botrytis nur sehr wenig ausgebreitet, aber ein äußerst reichlich konidientragendes Polster gebildet. Jedenfalls steht nun fest, daß Botrytis zwar Zellulose lösen kann, aber nicht jede Zellulose und vielleicht auch nur unter besonderen Verhältnissen. Zu der letzteren Meinung neigt Behrens, der vermutet, daß der Pilz selbstregulatorisch das lösende Enzym bildet, wenn kein Zucker zu Gebote steht. Otto bestätigt diese Vermutung wenigstens zum Teil. Nach seinen Erfahrungen erleidet die Enzymausscheidung keine Beeinflussung, wenn günstige Kohlenstoffquellen in niederer Konzentration in der Nährlösung vorhanden sind. Sind diese Stoffe dagegen in großer Menge zugegen, so unterbleibt die Sekretion: es wird die gelöste Kohlenstoffquelle allein ausgenutzt und die ungelöste Zellulose bleibt ungemindert erhalten. Die oben von mir angegebenen Verschiedenheiten der Botrytis den Zellulosen der Blattparenchyme gegenüber mag auf Beidem, auf Ernährungsverschiedenheiten und auf Verschiedenheiten der Zellulosen, beruhen. Durch Versuche mit ausgelaugten Blattskeletten nach Otto's Methode ließe sich wohl der Anteil des einen und des anderen Faktors bestimmen.

Wo die Zellulose nicht gelöst wird, müssen, soweit die festen Bestandteile des Protoplasma erhalten bleiben, die in Wasser löslichen

1) Auf Stärke wuchs Smith's Botrytis nicht; doch gibt er an, daß sie, soweit sich das mit der Jodreaktion erkennen läßt, eine verdünnte Lösung löslicher Stärke verzuckert habe.

Inhaltsstoffe der Zelle die Hauptnahrung des Pilzes bilden. Diese Stoffe macht er sich durch das von ihm erzeugte Gift zugänglich. Es tötet die den Hyphen benachbarten Zellen ab und ermöglicht dadurch das Austreten der durch lebendes Plasma nicht diffundierenden Bestandteile aus dem Zellkörper heraus. Das Gift macht die Botrytis somit unabhängig von der Durchlässigkeit des Protoplasmas, die sonst in den Beziehungen zwischen Parasit und Wirt jedenfalls eine Rolle spielt. Sie ist eine der Ursachen, wenn verschiedene Gesundheitszustände der Zellen, oder, wie man sich gewöhnlich ausdrückt, ihre Lebensenergie, über den Erfolg oder Nichterfolg eines Pilzangriffs entscheidet. Pilzen gegenüber, die ohne die Zellen zu töten, von ihren löslichen Inhaltsstoffen leben, muß alles, was die Durchlässigkeit des Plasmas steigert, die Widerstandsfähigkeit verringern. Wenn man für Lebensenergie Durchlässigkeit des Plasmas setzen könnte, wäre jener etwas nebelhafte Begriff in die Sphäre der Untersuchbarkeit gerückt, zumal die Methode für entsprechende Studien[1]) und unsere Kenntnisse über die Veränderlichkeit der Durchlässigkeit in den letzten Jahren durch Lepeschkin, Tröndle und Fitting wesentlich gefördert worden sind. Soweit Lebensenergie allerdings Wachstumsgeschwindigkeit und normale anatomische Ausgestaltung bedeutet, gibt es noch andere Gründe für die Tatsache, daß kränkelnde oder schwächliche Pflanzen den Angriffen von Schädlingen besonders ausgesetzt sind. Langsames Wachsen läßt die Pflanzen länger in jugendlichem Zustand mit größerem Saftgehalt und unvollständiger Ausbildung der Epidermisaußenwände und des saftarmen Hartgewebes verharren, schwacher Harzdruck bei den Koniferen stört Angreifer weniger, als kräftiges Hervorquellen des Schutzstoffes, der Insekten und Pilze durch Einschließen beseitigen kann.

Ein Myzelauszug wird nicht durch Kochen unwirksam gemacht. Das Gift, mit dessen Hilfe Botrytis cinerea die Zellen tötet, scheint demnach nicht zu den Enzymen zu gehören. Smith erblickt es in der Oxalsäure, von der er im Extrakt reichlich mit Zucker ernährter Myzelien über 2 % fand. Für den Extrakt der verwandten Sclerotinia Libertiana hat de Bary 0,319 % angegeben. Die Veränderungen, welche der Pilzextrakt in den Geweben hervorruft, sind Verlust des Turgors und Absterben der Zellen, mitunter unter Plasmolyse, sowie Trennung der Zellen voneinander. In Oxalsäurelösungen aber treten,

1) Tröndle, Bericht der Deutsch. botan. Gesellsch. 1909, Bd. XXVII und Jahrb. f. wissenschaftl. Botanik 1910, Bd. XLVIII; Lepeschkin, Beihefte zum botan. Zentralbl. 1909, Bd. XXIV; Fitting, Jahrb. f. wissenschaftl. Botanik 1915, Bd. LIV.

abgesehen von dem Absterben und der dadurch bedingten Erweichung der Gewebe, ganz andere Erscheinungen ein. Vor allem fand ich in Oxalsäurelösungen von 0,3—5% und mehr als sehr bezeichnend das Auftreten brauner, rundlicher oder eckiger Körperchen an der Oberfläche der Chlorophyllkörner (Pringsheims Hypochlorin) unter gelblicher Verfärbung des Chlorophylls selbst, was beides im Pilzextrakt nicht eintrat. Die braunen Körperchen waren in 1% Oxalsäurelösung klein und traten erst mit der Verfärbung auf, aber eben diese letztere blieb in dem Pilzextrakt wie in den Blattflecken aus. Smith selbst gibt an, daß die Säure das Gewebe von Lattichblättern bleiche, während es im Pilzextrakt sich dunkler färbte. Ferner gibt er geringe Quellung der Zellwände in der Säure, aber nicht im Pilzextrakt an. Mir fiel noch besonders auf, daß Oxalsäure auch in bis zu 0,3% verdünnter Lösung Mniumblätter noch tötete und unter Auftreten der braunen Körnchen bleichte, während oft genug die Chlorophyllkörner derselben weder von wachsenden Pilzfäden noch von Pilzextrakt wesentlich geschädigt wurden. Daß der Pilz gerade Oxalsäure als Angriffsmittel erzeugen soll, ist auch deshalb unwahrscheinlich, weil sie für ihn selbst giftig ist und sicher, wie bei höheren Pflanzen selbstregulatorisch entsteht. Auffallend ist, daß, wie ich bestätigen kann, nach dem Kochen ein Myzelauszug seine giftigen Eigenschaften behält und Zellen, z. B. von Begonia und Vallisneria, abtötet.

Einen Sonderfall der Botrytiswirkung stellt das Verhalten der Moose dar. Man wundert sich, warum diese Pflanzen in der Natur nicht verschimmeln, obwohl sie in feuchter, wenig bewegter Luft leben, also unter Umständen, in denen jeder irgendwie zum Verschimmeln geneigte Stoff sicher verschimmeln müßte. Nordhausen[1]) fand, daß eine Botrytis an mäßig feucht gehaltenen Moosrasen (Mnium-Arten) in die Blattzellen eindrang und daß nach 24 Stunden meistens einzelne Zellen getötet und mit braunem Plasma erfüllt waren. Nach weiteren 24 Stunden sei der braune Zellinhalt fast ganz verschwunden und der Zellraum mit einem wirren Knäuel dicker Hyphen angefüllt gewesen und bei anhaltender Feuchtigkeit habe der Pilz nicht nur ganze Blätter und Pflänzchen, sondern auch ganze Moosrasen vernichtet. In meinen Versuchen widerstanden lebende Rasen dem Pilzangriff. Atrichum undulatum im Mörser zerrieben und mit Sporen infiziert ergab starke Myzelentwicklung. Auch durch Chloroformdämpfe getötete Rasen von Mnium hornum und Dicranum scoparium und auf kurze Zeit in heißes

1) Jahrb. f. wissenschaftl. Botanik 1899, Bd. XXXIII.

Wasser getauchte Polytrichum, Dicranum und Mnium-Polster überzogen sich nach Infektion mit Botrytismyzel innerhalb weniger Tage reichlich mit dem Schimmel. An Blättchen von Mnium hornum, die neben dem Hängetropfen in der feuchten Pappkammer lagen, sah ich Keimschläuche sich mit dem Ende anpressen und an der entsprechenden Membranstelle Bräunung eintreten, welche, wenn die Stelle an der Grenze zwischen zwei Zellen lag, die Mittellamelle freiließ. Inmitten der braunen Stelle bildete sich ein Tüpfel; ich sah indessen den Pilz nicht eindringen, sondern das Appressorium trieb außerhalb des Blattes einen auf dessen Oberfläche hinkriechenden Fortsatz, ganz wie wenn der Pilz auf einer Glasplatte gekeimt hätte. Andererseits drangen in die Blattzellen einer auf ein starkes Myzel gelegten Mniumpflanze die Hyphen, so wie es Nordhausen gesehen hat, ein und erfüllten einen großen Teil ihres Innenraums. Aber auch dann blieben die Chlorophyllkörner lange erhalten, um endlich sich spangrün zu verfärben und die Gestalt zu verlieren. Stellenweise hatte sich dabei die Braunfärbung der Membranen ausgebreitet; doch schimmerten die Chlorophyllkörner noch grün durch. Jedenfalls aber geschieht dies Eindringen nur unter besonderen Bedingungen. Nordhausen gibt an, daß es schon durch etwas starke Wasserbedeckung des Mosblattes verhindert wird. Auch größere Appressorien sah ich an Mniumblättern absterben, ohne, daß sie irgend eine merkbare Veränderung in den Blattzellen hervorgerufen hätten. Daß Mniumblätter dem Myzelextrakt widerstehen, wurde oben schon gesagt. Mnium hornum also ist, wenn auch nicht absolut, so doch in hohem Grade gegen meine Botrytis immun. Weil das Pilzgift die Zellen nicht leicht zu töten vermag, bleiben die löslichen Inhaltsstoffe dem Parasiten für gewöhnlich unzugänglich und auch die Zellmembranen können diesen nicht ernähren, weil er kein sie in größerem Umfang lösendes Enzym besitzt.

Bisher war nur von den Umständen die Rede, welche das Gedeihen der Botrytis im Innern eines schon befallenen Blattes beeinflussen. In der Natur erlangen diese „inneren“ Gründe erst Bedeutung, wenn der Pilz überhaupt eingedrungen ist. Das Eindringen aber hängt von Umständen allgemeiner Art ab und von der Beschaffenheit der Oberhaut der Pflanzen. Diese letztere bewirkt, daß ein Pilz wie Botrytis cinerea, der der inneren Beschaffenheit der Wirtspflanzen gegenüber fast omnivor ist, bis zu einem gewissen Grade Spezialist wird, wenn er sich selbst den Eintritt verschaffen soll. Unter den allgemeinen Umständen sind vor allem Luftfeuchtigkeit und Tau zu nennen, und Schädigungen allgemeinerer Art, wie Absterben von Pflanzenteilen durch

Frost oder auch durch Alter, das dem Pilz Gelegenheit gibt, in saprophytischer Lebensweise zu erstarken und parasitische Angriffskraft zu gewinnen. Das Hängenbleiben alter Kotyledonen, verlangsamtes Abstreifen der Samenschale bei Keimlingen, auf andere Pflanzenteile gefallene absterbende Blumenblätter können Anlaß zur Infektion geben. An Dahlien, Päonien usw. ist dies in jedem Sommer leicht zu beobachten. Nordhausen beschreibt eine Botrytisepidemie auf Allium ursinum, die dadurch hervorgerufen war, daß die Blattspitzen, wahrscheinlich infolge von Frost, abgestorben waren und dem Pilze zur Kräftigung gedient hatten. Ähnliches kommt bei Rhododendronblüten vor. Derselbe Verfasser hat die Wirkung von Tau näher behandelt. Zu große Taumengen können, wie Regen, eine Infektion verhindern, weil sie die nötigen Pilzsekrete verdünnen oder fortführen. Ferner muß der Tauniederschlag eine gewisse Zeitlang erhalten bleiben. Spezialisation kann Tau dadurch herbeiführen, daß er nicht gleichmäßig auf jeder Pflanzenoberfläche sich niederschlägt. So beobachtete Nordhausen (a. a. O. pag. 28), daß in der feuchten Kammer während einer kühlen Nacht der Tau Viciablätter benetzt hatte, die Blätter einer Tradescantia aber nicht. Infektion mit aufgestreuten Botrytiskonidien gelang deshalb nur bei der erstgenannten Pflanze. In meinen Versuchen erwiesen sich unter 171 Pflanzen nicht weniger als 84 bei der Infektion der unverletzten Blattoberseite mit infektionstüchtigem Material als immun. Einige dieser letzteren waren von der Blattunterseite her dem Pilz zugänglich, sei es, daß er durch Spaltöffnungen eindrang oder sei es, daß er die schwächere Epidermis dieser Seite zu durchbohren oder einzudrücken vermochte. Von der unverletzten Unterseite her waren infizierbar:

Blechnum Spicant, Polypodium vulgare, Pirus Malus, Prunus avium und Laurocerasus, Amelanchier vulgaris, Sorbus Aria und domestica, Pistia Stratiotes.

Unter den immunen Pflanzen zeichnen sich viele durch eine glatte glänzende, also mit Wachs überzogene Epidermis aus, so z. B. Wasserpflanzen[1]), wie die Monokotylen Hydrocleis nymphaeoides, Limnobium Spongia, Alisma Plantago, Pontederia crassipes, die Dikotylen Telanthera nymphaeoides, Nuphar luteum, Trapa natans, Ludwigia Müllersii; ferner Landpflanzen, wie Pirus comunis, Crataegus Oxyacantha, Empetrum nigrum, Hippophaes rhamnoides, Hedera Helix, Vaccinium Vitis idaea, Andromeda polifolia.

Die Immunität ist indes nicht an starke Wachsüberzüge gebunden.

---

1) Die Namen sind die Bezeichnungen des Göttinger botanischen Gartens.

Neben Salix purpurea waren Salix caprea und aurita, unverletzt, immun; ferner Artemisia vulgaris, Asarum europaeum, Pelargonium zonale (nicht immer), Rumex obtusifolius, Mentha arvensis, Corylus, Acer, Quercus-Arten.

Ob Spaltöffnungen dem Pilze Eingang gewähren, dürfte von deren Beschaffenheit, insbesondere von dem Zustande der Spalte abhängen. Einen durchgängigen Zusammenhang zwischen ihrem Fehlen auf der Blattoberseite und der Immunität habe ich nicht finden können. Die 34 Arten, welche, unter 61 gleichzeitig auf ihre Angreifbarkeit bei unverletzter und bei verletzter Oberhaut untersuchten Pflanzen, sich auch in unverletztem Zustand als anfällig erwiesen, zeigen in jener Beziehung ganz verschiedene Verhältnisse. Ihre Epidermen haben indessen durchweg dünne Außenwände und keine auffälligen Wachsüberzüge, so daß sie der Benetzung und dem Eindringen des Pilzes durch mechanische Gewalt wenig Widerstand entgegensetzten. Hierin gehören folgende Arten:

Weich	Ziemlich weich	Behaart	Hart
Juglans regia	Salix-Arten	Urtica dioica	Prunus avium
Robinia Pseudacacia	Amelanchier rotundifolia	Ulmus montana	„ cerasus
Fuchsia sp.	Parthenocissus quinquefolia	Ranunculus repens	„ domestica
Begonia sp. (mitunter immun)	Rhamnus Frangula	Pelargonium zonale	„ Padus
Sambucus nigra	Staphylea pinnata	Oenothera biennis	Sorbus aucuparia
Symphoricarpus racemosa	Asclepias syriaca	Glechoma hederacea	„ Aria
Lonicera-Arten			„ domestica
			Cornus sanguinea
			Vaccinium Myrtillus
			Aristolochia Sipho
			Viburnum Lantana
			Plantago major
			Cornus sanguinea

Die Infektionen wurden jedesmal an je drei verletzten und drei unverletzten Blattstellen vorgenommen. Trotzdem ist es nicht ausgeschlossen, daß an letzteren gelegentlich kleine, unbemerkt gebliebene Verletzungen dem Pilze Eingang gewährten. Namentlich mag das bei einem Teil der härteren Blätter der Fall gewesen sein.

Im diesjährigen Sommer hoffe ich, die hier gemachten Angaben mit Hilfe frischen Materials vervollständigen zu können. Besonders erwünscht aber wäre es, wenn unsere mikrochemischen Ergebnisse durch makrochemische Untersuchung von chemischer Seite geprüft und erweitert würden. Botrytis bietet dazu die beste Gelegenheit, da dieser Pilz überall zu erhalten und mit besonderer Leichtigkeit auch in größerem Maßstabe rein zu kultivieren ist.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Flora oder Allgemeine Botanische Zeitung

Jahr/Year: 1918

Band/Volume: 111-112

Autor(en)/Author(s): Büsgen Moritz

Artikel/Article: Biologische Studien mit Botrytis cinerea 606-620