Aus dem Institut für Phytopathologie und Angewandte Zoologie
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Entwicklung der ff. sp. *avenae*, *tritici* **und** *hordei* **von** *Blumeria graminis* **DC. in kompatiblen und inkompatiblen Systemen mit** *Avena sativa* **L.,** *Hordeum vulgare* **L. und** *Triticum aestivum* **L.**

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades (Dr. agr.)
am Fachbereich Agrarwissenschaften,
Ökotrophologie und Umweltmanagement
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Eingereicht von
Georg H. Willems
aus Nieder-Klingen / Hessen

Gießen 2003

Institut für Phytopathologie und Angewandte Zoologie
der Justus-Liebig-Universität Giessen

Entwicklung der ff. sp. *avenae, tritici* und *hordei* von *Blumeria graminis* DC. in kompatiblen und inkompatiblen Systemen mit *Avena sativa* L., *Hordeum vulgare* L. und *Triticum aestivum* L.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
am Fachbereich Agrarwissenschaften, Ökotrophologie und Umweltmanagement
der Justus-Liebig-Universität Giessen

vorgelegt von

Dipl. Biol. Georg H. Willems
aus Nieder-Klingen / Hessen

Giessen 2003

Dissertation am Fachbereich
Agrarwissenschaften, Ökotrophologie und
Umweltmanagement
der Justus-Liebig-Universität Giessen

Dekan:	Professor Dr. W. Köhler

Prüfungskommission:

Vorsitzender:	Professor Dr. Dr. h. c. W. Opitz von Boberfeld
1. Gutachter:	Professor Dr. Dr. h. c. E. Schlösser
2. Gutachter:	Professor Dr. Dr. h. c. W. Friedt
Prüfer:	Professor Dr. S. Schnell
Prüfer:	Professor Dr. B. Honermeier

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

1 EINLEITUNG ... 1

2 MATERIAL UND METHODEN ... 4

2.1 Material ... 4
2.1.1 Pilze ... 4
2.1.2 Pflanzen ... 4
2.1.3 Benzimidazol-Agar ... 4
2.1.4 Avenalumine und Scopoletin ... 4
2.1.5 PAL-Inhibitoren ... 5
2.1.6 Erhaltung der Pilze ... 5
2.1.7 Anzucht der Pflanzen ... 5
2.1.8 Glutaraldehyd-Cacodylat-Puffer (GA/Cac) ... 5
2.2 Methoden ... 6
2.2.1 Inokulationsmethoden ... 6
2.2.2 Probennahme ... 9
2.2.3 Fixierung ... 9
2.2.4 Mikroskopie ... 9
2.2.4.1 Lichtmikroskopie und Mikrofotografie ... 9
2.2.4.2 Rasterelektronenmikroskopie (REM) ... 10
2.2.5 Avenaluminbestimmung ... 10
2.2.6 Scopoletinbestimmung ... 11
2.2.7 Behandlung mit Avenaluminen, PAL-Inhibitoren und Scopoletin ... 11
2.2.8 Statistische Auswertung ... 11

3 ERGEBNISSE ... 12

3.1 Entwicklung einer neuen Färbemethode ... 12
3.2 Charakterisierung der Pilzentwicklung in kompatiblen und inkompatiblen Wirt-Pathogen-Systemen (WPS) ... 15
3.2.1 Konidienkeimung ... 16
3.2.2 Primäre Keimhyphen (primary germ tubes = PGT`s) ... 17
3.2.2.1 Papillentypen ... 18
3.2.2.2 Papillengrößen ... 19
3.2.3 Sekundäre Keimhyphen (secondary germ tubes = SGT`s) ... 20
3.2.3.1 Länge und Durchmesser ... 20

3.2.3.2 Zelligkeit und Verzweigungsgrad ... 22
3.2.3.3 Hyphenspitzen und Penetration ... 25
3.2.3.4 Papillenbildung ... 26
3.2.3.5 Papillentypen ... 27
3.2.3.6 Nukleus ... 35
3.2.3.7 Epidermiszellen ... 37
3.2.3.8 Haustorien ... 38
3.2.3.9 Konidiophoren ... 48
3.3 Autofluoreszenz (AF) ... 52
3.3.1 Papillen primärer Keimhyphen (PGT`s) ... 52
3.3.2 Papillen sekundärer Keimhyphen (SGT`s) ... 60
3.4 Resistenzinduktion durch Vorinokulation mit inkompatiblen ff. sp. von *B. graminis* ... 66
3.4.1 Mehltaubefall nach Vorinokulation ... 66
3.4.2 Weitere Parameter ... 68
3.4.3 Resistenzinduktion nach Entfernung des Vorinokulums ... 73
3.4.4 Resistenzinduktion mit abgeschnittenen Blättern auf Benzimidazolagar ... 74
3.4.5 Avenalumin I-Gehalt ... 76
3.4.6 Korrelation Avenalumin I-Gehalt – Pustelzahl ... 81
3.5 Auswirkungen von Avanaluminen auf die Entwicklung der *B. graminis* ff. sp. *avenae, hordei* und *tritici* und Auswirkungen von Scopoletin auf die Entwicklung der *B. graminis* f. sp. *avenae* ... 83
3.6 Auswirkungen der PAL-Inhibitoren AOA, Cumarsäure, Glyphosate und Zimtsäure auf die Entwicklung der *B. graminis* f. sp. *avenae* ... 109

4 DISKUSSION ... 125

5 ZUSAMMENFASSUNG ... 142

6 LITERATUR ... 144

1 EINLEITUNG

Echte Mehltaupilze kommen an vielen Wild- und Kulturpflanzen vor (BLUMER 1933 & 1967), so auch an Getreide (HOFFMANN & SCHMUTTERER 1999). Der „Getreidemehltau“ *Blumeria graminis* tritt in jedem Jahr weit verbreitet an Winterweizen und Wintergerste auf, an Hafer und Roggen ist er wesentlich seltener zu finden. Die Ertragsminderungen können beträchtlich sein (OERKE et al. 1989 & 1994). Von besonderem Interesse ist die hohe biologische Spezialisierung von *B. graminis*. So können die „*formae speciales*“ (ff. sp.) *tritici, hordei, secalis* und *avenae* jeweils nur Weizen, Gerste, Roggen oder Hafer erfolgreich befallen. Von jeder f. sp. gibt es außerdem noch eine beträchtliche Anzahl von Pathotypen, deren Vorkommen an bestimmte Genotypen ihrer Wirtspflanze gebunden ist. Ob es zu einer Mehltauentwicklung kommt, wird durch eine genau definierbare Gen-für-Gen-Beziehung zwischen Wirtspflanze und Pathogen bestimmt (SCHLÖSSER 1997). Ist keine entsprechende Beziehung vorhanden, dann findet keine Mehltauentwicklung statt, es besteht eine vertikale Resistenz. Daneben gibt es noch die polygen bedingte horizontale Resistenz, deren komplexe genetische Grundlagen jedoch nur schwer analysierbar sind.

Was ist die Grundlage der ff. sp.? Warum kann sich *B. graminis* f. sp. *tritici* an Weizen, aber nicht an Hafer entwickeln? Um diese Frage angehen zu können, wurde in der vorliegenden Arbeit das Phänomen der induzierbaren Resistenz genutzt. Es besteht ganz allgemein darin, dass eine Vorinokulation mit einem inkompatiblen pilzlichen Erreger die Anfälligkeit einer Pflanze für einen kompatiblen pilzlichen Erreger in Resistenz umwandelt. Dieses seit langer Zeit bekannte Phänomen wurde in zahlreichen Untersuchungen behandelt (SCHÖNBECK et al. 1980, 1982 & 1993; HAMMERSCHMIDT & KUC 1995). So kann z. B. eine Vorinokulation von Wintergerste mit den ff. sp. *tritici*, *secalis* oder *avenae* eine Resistenz gegen eine nachfolgende Inokulation mit der f. sp. *hordei* von *B. graminis* induzieren. Zu diesen Wechselwirkungen wurden umfangreiche Freilandversuche mit Wintergerste durchgeführt (SMEDEGAARD-PETERSEN et al. 1988, 1989 & 1992; THORDAL-CHRISTENSEN 1987; THORDAL-CHRISTENSEN et al. 1987, THORDAL-CHRISTENSEN & SMEDEGAARD-PETERSEN 1988a, b). Im Vordergrund dieser Untersuchungen standen die Pilzentwicklung und die Ertragsbildung.

Die Entwicklung von Echten Mehltaupilzen an anfälligen Pflanzen erfolgt in folgenden, klar unterscheidbaren Phasen (SCHLÖSSER 1997):

- Primäre Keimhyphen (PGT´s, *primary germ tubes*) auf der Blattoberfläche.
- Sekundäre Keimhyphen (SGT´s, *secondary germ tubes*) auf der Blattoberfläche.
- Penetration der SGT´s durch die Epidermiszellwand.
- Bildung von Haustorien zwischen Zellmembran und Zellwand von Epidermiszellen.
- Entwicklung von Konidiophoren und Konidien auf der Blattoberfläche.

Der erfolgreiche Abschluss jeder einzelnen Phase ermöglicht erst den Beginn der darauf folgenden Phase. Mit der Reifung und Freisetzung reifer Konidien schließt sich dieser Zyklus der asexuellen Fortpflanzung.

In welcher dieser Phasen sind bei inkompatiblen Wirt-Pathogen-Systemen (WPS) morphologisch geprägte Abwehrreaktionen zu erkennen? Wann erfolgt eine Differenzierung zwischen kompatibel und inkompatibel? Für eine entsprechende histologische Untersuchung wurde folgendes Pilz- und Pflanzenmaterial verwendet. Die drei ff. sp. *tritici*, *hordei* und *avenae* wurden als Pathotypengemische aus dem Freiland isoliert und auf den entsprechenden Wirtspflanzen gehalten. Als Wirtspflanzen wurden Weizen cv. Kanzler, Gerste cv. Aura und Hafer cv. Erbgraf und cv. Barra verwendet. Mit diesem Material wurden alle möglichen kompatiblen und inkompatiblen WPS kombiniert. Zunächst wurden die Kombinationen ohne Vorinokulation untersucht, z. B. Hafer inokuliert mit f. sp. *avenae* im Vergleich zu Inokulationen mit f. sp. *tritici* oder *hordei*. Danach erfolgten die Untersuchungen mit Vorinokulationen einer inkompatiblen f. sp., z. B. Hafer mit f. sp. *tritici* oder *hordei* und einer Nachinokulation mit der f. sp. *avenae*. Der Vergleich unbehandelter und vorbehandelter Pflanzen sollte Aufschluß über ein verändertes Resistenzverhalten gegenübe r der kompatiblen f. sp. geben.

Die beiden umfangreichen Ansätze wurden lichtmikroskopisch analysiert. Dazu wurden täglich bis 7 dpi Blattproben genommen. Grundlage war die asexuelle Fortpflanzung des Pilzes im kompatiblen WPS im Vergleich zu den inkompatiblen WPS. Als Kriterien für eine Abwehrreaktion wurden deutlich erkennbare Veränderungen der Infektionsstrukturen des Mehltauerregers angesehen. Neben der Frage in welcher Phase der Wirtsbesiedlung eine morphologisch erkennbare Resistenzreaktion auftritt, interessierte außerdem, ob bei allen Getreidearten diese Resistenzausprägung in der gleichen Phase erfolgt. Die in der vorliegeneden Arbeit durchgeführten vergleichenden Untersuchungen sollten hierüber Auskunft geben.

Neben den lichtmikroskopisch erkennbaren morphologischen Grundlagen der Resistenzausprägung sollten auch chemische Resistenzfaktoren berücksichtigt werden. In dieser Hinsicht ist der Hafer besonders interessant, denn in dieser Getreideart sind eine Reihe verschiedener, antimykotisch wirkender Verbindungen vorhanden, die in früheren Untersuchungen in Giessen intensiv bearbeitet worden sind.

Einmal sind dies präformierte Abwehrstoffe. Dazu gehören die zu den Saponinen zählenden, fluoreszierenden Avenacine, deren Vorkommen auf Haferwurzeln beschränkt ist (LÜNING & SCHLÖSSER 1976; BETZ & SCHLÖSSER 1982; BETZ 1984). Ebenfalls zu den Saponinen gehören die Avenacoside, die nur in Haferblättern vorkommen (LÜNING 1975; LÜNING & SCHLÖSSER 1976; SIEBER 1983). Sie liegen in unverletzten Zellen als biologisch inaktive Glucoside vor und werden erst bei Zellverletzung durch mechanische Einwirkung oder Angriff eines phytopathogenen Pilzes durch eine spezifische ß-Glucosidase des Hafers aktiviert (LÜNING & SCHLÖSSER 1975). Bei diesem Vorgang entstehen die biologisch hochaktiven 26-Desgluco-Avenacoside, die auch eine ausgeprägte antimykotische Wirksamkeit besitzen.

B. graminis befällt keine Getreidewurzeln und verletzt, zumindest in der frühen Phase der Wirtsbesiedlung, keine Zellen von Getreideblättern, so daß keine Aktivierung der Avenacoside erfolgen kann. Aus diesen Gründen wur-

den die beiden präformierten Saponine, trotz ihrer deutlichen antimykotischen Aktivität, in der vorliegenden Arbeit nicht berücksichtigt.

Bei der Abwehr pilzlicher Pathogene spielen Phytoalexine oftmals eine wichtige Rolle (BAILEY & MANSFIELD 1982). Diese uneinheitlichen, niedermolekularen und antimykotisch wirksamen Substanzen sind in intakten pflanzlichen Geweben nicht oder nur in Spuren nachweisbar. Werden pflanzliche Zellen durch einen phytopathogenen Krankheitserreger „irritiert", dann erfolgt eine durch Elicitoren des angreifenden Erregers ausgelöste *de novo*-Synthese von Phytoalexinen. Der Angreifer löst also die gegen ihn gerichtete Abwehrreaktion selbst aus. Dieser Vorgang ist Teil einer Kaskade multipler Abwehrvorgänge (SCHLÖSSER 1997) und ist auf inkompatible WPS beschränkt. In kompatiblen WPS haben angreifende Pathogene die Fähigkeit mit Hilfe von Supressoren eine Synthese von Phytoalexinen erfolgreich zu unterdrücken. MAYAMA et al. (1981a, b) beschrieben erstmals die Phytoalexine Avenalumin I, II und III, die in Haferblättern nach Inokulation mit *Puccinia coronata* f. sp. *avenae,* dem Erreger des Haferkronenrostes, entstehen. *Drechslera* spp., *B. graminis* ff. sp. und *Fusarium* spp. sind ebenfalls in der Lage, Avenalumine in Haferblättern zu induzieren (JERSCH 1986; STEINHAUER 1992; STEINHAUER & SCHLÖSSER 1991 & 1992; ÇETINKAYA 1995). Die Avenalumine werden nicht nur in den Blättern, sondern in noch stärkerem Maße in den Wurzeln gebildet (STEINHAUER 1992; ÇETINKAYA 1995). Vor diesem Hintergrund stellt sich die Frage, ob und in welchem Maße Avenalumine in WPS von Hafer mit inkompatiblen ff. sp. von *B. graminis* eine Rolle spielen. Eine entsprechende Untersuchung sollte die histologischen Befunde ergänzen.

2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 Material

2.1.1 Pilze

Für Inokulationsversuche mit *Avena sativa* L., *Hordeum vulgare* L. und *Triticum aestivum* L. wurden die nachfolgend aufgeführten, aus Freilandpopulationen gewonnenen ff. sp. von *Blumeria graminis* verwendet.

- *B. graminis* DC. f. sp. *avenae* Ém. Marchal.
- *B. graminis* DC. f. sp. *hordei* Ém. Marchal.
- *B. graminis* DC. f. sp. *tritici* Ém. Marchal.

2.1.2 Pflanzen

Als Versuchspflanzen wurden ausgewählt:

- *A. sativa* cv. Barra
- *A. sativa* cv. Erbgraf
- *H. vulgare* cv. Aura
- *T. aestivum* cv. Kanzler

2.1.3 Benzimidazol-Agar

8	g	Agar Agar in
1.000	ml	Aqua demin. lösen. Nach dem Autoklavieren Zugabe von
150	mg	Benzimidazol zum handwarmen Agar (T: ‹ 30 °C).

2.1.4 Avenalumine und Scopoletin

Nach der Vorschrift von MAYAMA et al. (1981b) synthetisiertes Avenalumin I und Avenalumin II wurden freundlicherweise von der *Schering AG* Berlin zur Verfügung gestellt.
Für die Versuche mit Scopoletin wurde handelsübliches Material der Firma *Serva* verwendet.

2.1.5 PAL-Inhibitoren

Zur Hemmung der Phenyl-Ammonium-Lyase (PAL) wurden folgende handelsübliche Inhibitoren eingesetzt.

- **AOA** = **A**mino**o**xy **a**cetic acid = Carboxymethoxylamin, Hemihydrochlorid (*Serva*)
- **C** = **C**umarsäure = 4 Hydroxyzimtsäure (*Merck*)
- **G** = **G**lyphosate = Wirksubstanz des Herbizids „*Round Up*" (*Monsanto Company*, St. Louis)
- **Z** = **Z**imtsäure (*Merck*)

2.1.6 Erhaltung der Pilze

Die obligat biotrophen Pilze wurden im Gewächshaus an ihren betreffenden Wirtspflanzen in voneinander getrennten Kabinen gehalten. Die Aussaat der Getreidepflanzen erfolgte im wöchentlichen Abstand in *Fruhstorfererde Typ T* in Plastikschalen (50 x 33 x 5 cm), um einen kontinuierlichen Nachschub frischen Pflanzenmaterials aufrecht zu erhalten. Im Winter wurde nach Einsetzen der Dunkelheit eine Zusatzbeleuchtung von 6 h/d mit Lampen vom Typ *Philips 50 N-T 400 W* und *HPI-T 400 W* (8.000 Lux) erforderlich.

2.1.7 Anzucht der Pflanzen

Es wurden je 6 Haferkörner von *A. sativa* L. cv. Erbgraf in quadratische Pflanztöpfe (Seitenlänge: 7 cm) ausgesät. Die Körner wurden an einer Seite des Topfes mit Pflanzerde *Floragard Typ „TKS"* (vorgedüngt) angeordnet. Das Wachstum erfolgte für 12-14 Tage im Gewächshaus. Die Anzucht von Gersten- und von Weizenpflanzen erfolgte analog der der Haferpflanzen.

2.1.8 Glutaraldehyd-Cacodylat-Puffer (GA/Cac)

Es wurden 25 ml handelsüblicher Glutaraldehyd (25%ig) mit 131,25 ml Aqua bidest. verdünnt. Die hieraus resultierenden 156,25 ml 4%iger Lösung wurden mit 0,2 m Cacodylat-Puffer-Lösung im Verhältnis 1:1 gemischt. Es entstand so eine 2%ige Glutaraldehyd/0,1 M Cacodyl-Puffer-Fixierungslösung. Ansatz der 0,2 M Cacodylat-Puffer-Lösung (pH 7,2): 42,8 g Dimethylarsinsäure-Natriumsalz (Natrium-Cacodylat = $C_2H_6AsNaO_2$ x 3 H_2O) wurden in 500 ml Aqua bidest. gelöst, mit 1 n HCL auf pH 7,2 eingestellt und mit Aqua bidest. auf 1.000 ml aufgefüllt.
Als Waschlösung diente 0,1 M Cacodylat-Puffer, die aus einer Mischung von 0,2 M Cacodylat-Puffer (pH 7,2) mit Aqua bidest. im Verhältnis 1:1 bestand.

2.2 Methoden

2.2.1 Inokulationsmethoden

Zur Untersuchung der Interaktionen zwischen *A. sativa*-, *H. vulgare*- und *T. aestivum*- und ff. sp. von *Blumeria graminis* wurden folgende Formen der Inokulation gewählt:

Ganze Pflanzen:
Etwa 24 h vor Versuchsbeginn wurden die mehltaubefallenen Pflanzen (Inokulumquellen) kräftig geschüttelt, um alte Konidien zu entfernen und durch Neubildung möglichst frische und keimfähige Konidien zu erhalten. Das Inokulum wurde mit einem weichen Pinsel vorsichtig von den Blättern abgestreift, in Petrischalen aufgefangen und gewogen. Die Vorbereitung der Pflanzen wurde gemäß der von WILLEMS & SCHLÖSSER (1995) beschriebenen Methode durchgeführt (Abb. 2). Die Inokulation erfolgte nach er Methode von KILIAN (1990) im Impfturm (Abb. 3). Mit einer *Fuchs-Rosenthal-Zählkammer* wurde die Konidiendichte ermittelt. In den Versuchsreihen betrugen die Konidieneinwaagen der Vorinokuli jeweils 80 mg, die der Inokuli jeweils 20 mg. Aus der 20 mg–Einwaage resultierte eine Konidiendichte von durchschnittlich 463,8 und für die 80 mg-Einwaage eine durchschnittliche Konidiendichte von 1.715,9 Konidien/cm^2 Blattfläche (s. Abb. 4). Nach der Inokulation wurden die Pflanzen in angefeuchteten Cellophantüten für 24 h bei 20 °C in einen Klimaschrank eingebracht, um optimale Bedingungen für die Keimung der Konidien zu gewährleisten und um standardisierte, vergleichbare Bedingungen zu schaffen. Danach wurden die Cellophantüten für die weitere Dauer des Versuchs entfernt. Licht-/Dunkelrhythmus: 12 h :12 h, bei 20.000 Lux.

Blattsegmente:
In zwei Versuchsreihen (Bezeichnung: Egv-17 und Egv-18) wurden je 8 ca. 6 cm lange Blattsegmente von Primärblättern der angezogenen Pflanzen in Kunststoff-Petrischalen mit der Blattunterseite auf einen gerade erstarrenden Benzimidazol-Agar aufgelegt. Die Inokulation mit Konidien erfolgte ebenfalls im Impfturm, die Inkubation im Klimaschrank bei 20 °C mit einem Licht/Dunkelrhythmus von 12 h :12 h bei 20.000 Lux.

Vorinokulation:
Hafer-, Weizen- und Gerstenpflanzen wurden jeweils 1 Tag vor der Inokulation mit der entsprechenden kompatiblen f. sp. von *B. graminis* mit inkompatiblen ff. sp. vorinokuliert. Die Konidieneinwaage betrug für das Vorinokulum jeweils 80 mg, für das Inokulum, d. h. für die betreffende kompatible f. sp. jeweils 20 mg. Die frisch inokulierten Pflanzen wurden zur optimalen Konidienkeimung in angefeuchteten Cellophanbeuteln für 24 h eingetütet und insgesamt 8 Tage im Klimaschrank bei 20 °C und 10.000 Lux inkubiert. Bei kompatiblen Interaktionen wurden die Pusteln jeweils 7 Tage nach Inokulation gezählt.

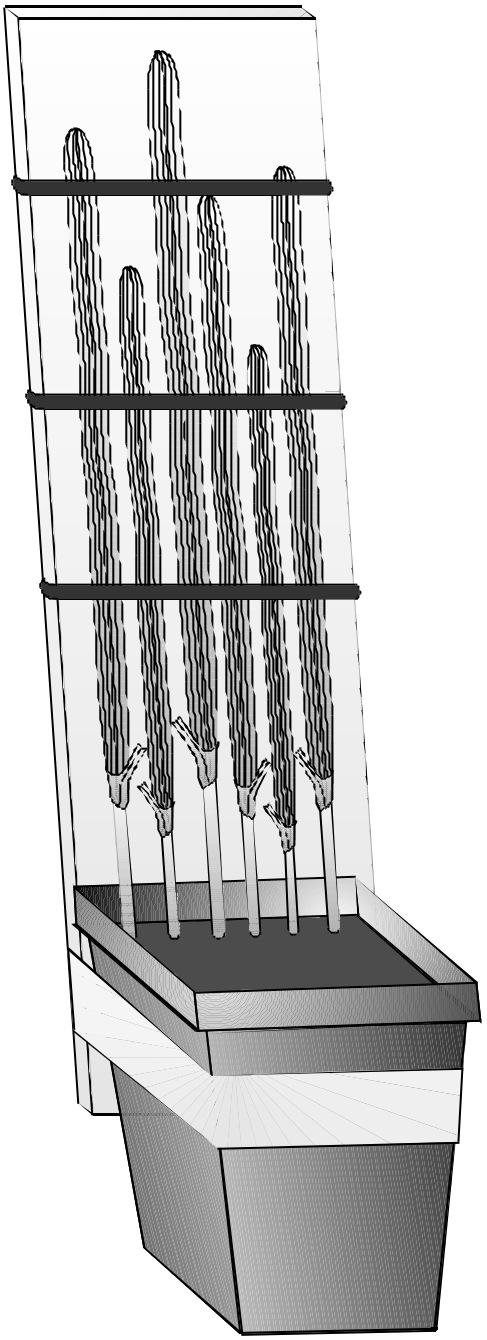


Abb. 2 Für Inokulationsversuche präparierte Pflanzen (nach WILLEMS & SCHLÖSSER 1995)

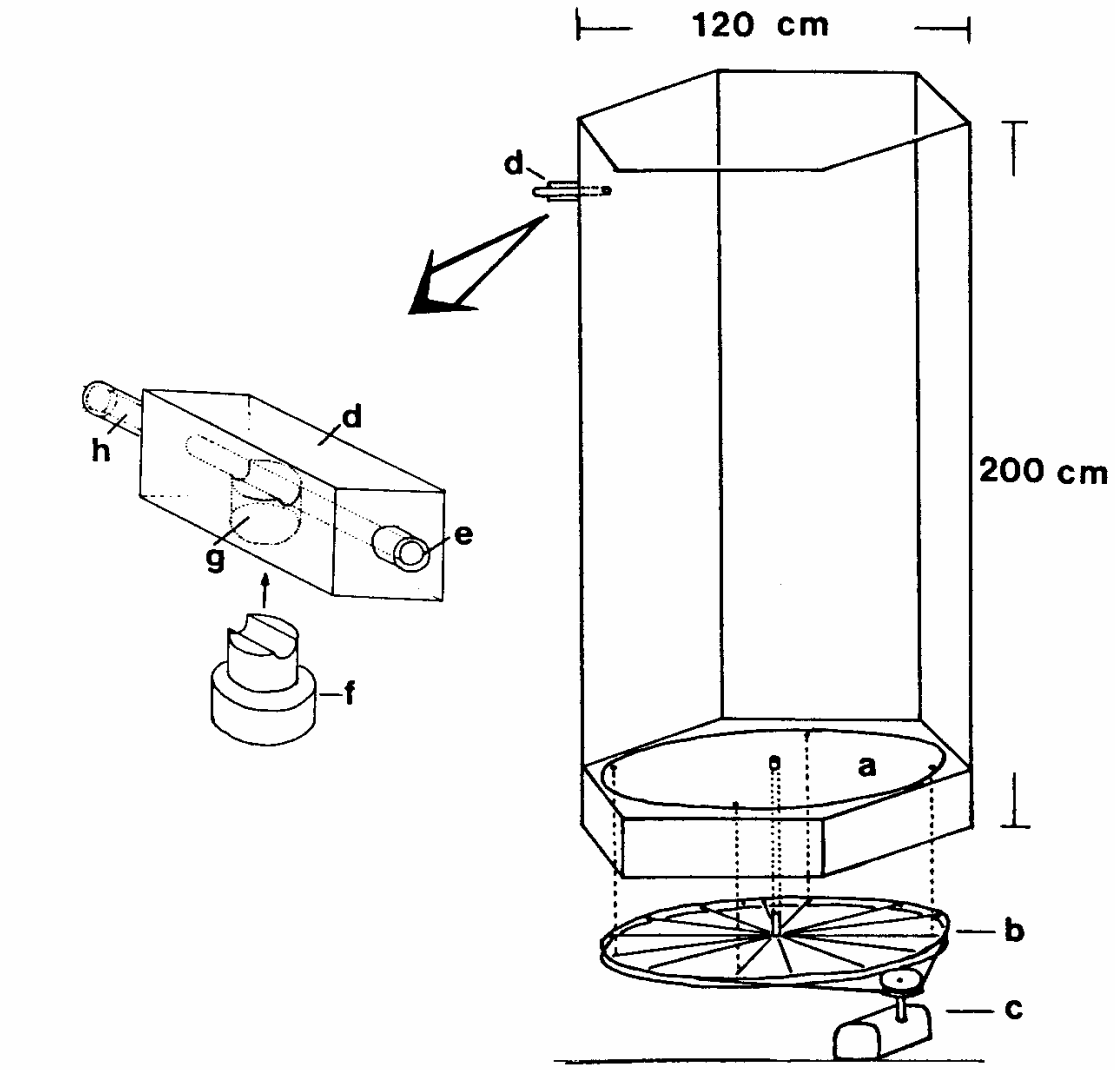


Abb. 3 Bau- und Funktionsprinzip des großen Impfturms. Grundgerüst aus Eisenrohren, Wände aus verzinktem Blech. **a =** Drehteller, dieser ist auf einer Fahrradfelge (= **b**) befestigt. Felge und Drehteller werden von einem Scheibenwischermotor (= **c**), mit 12V über einen Keilriemen angetrieben. Das „Blasrohr" (= **d**) ist mit dem Röhrchen (= **e**) in der Wand des Impfturmes befestigt. Die Sporen werden auf dem Stopfen (= **f**) eingewogen, der dann in die Öffnung (= **g**) fest eingepresst wird. Durch das Röhrchen (= **h**) werden mit Druckluft (5 bar) die Sporen in den Impfturm hineingeblasen (aus KILIAN 1990).

2.2.2 Gelatineabzüge

Das Vorinokulum wurde 24 hpi nach Inokulation durch Gelatineabzüge entfernt. Hierzu wurde eine 25%ige handwarme Gelatinelösung *(Serva)* kurz vor dem Erstarren mit einem Pinsel auf die Blattoberfläche aufgebracht. Unmittelbar nach dem Erstarren der Lösung wurden die Abzüge gemacht und

die Blattoberflächen stichprobenartig auf anhaftende Konidien untersucht. Die Versuche erfolgten an intakten Pflanzen.

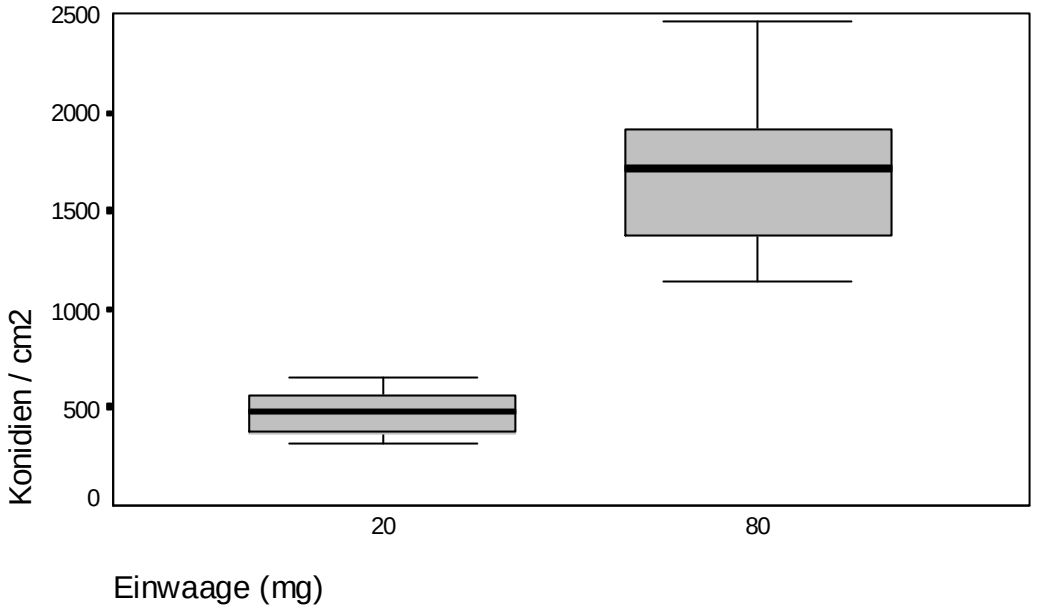


Abb. 4 Konidiendichte in Abhängigkeit von der Einwaage

2.2.3 Probennahme

Die erste Probennahme, sowohl bei ganzen Pflanzen als auch bei Segmenten, wurde 24 hpi vorgenommen. Weitere Entnahmen erfolgten 72, 96, 120, 144, 168 und 192 hpi. Im Falle kompatibler Wirt-Pathogen-Beziehungen waren beim letzten Entnahmetermin bereits makroskopisch sichtbare Mehltau-Pusteln zu erkennen.

2.2.4 Fixierung

Infizierte Blattstücke wurden nach jeder Probennahme jeweils in ein mit 5 ml GA/Cac-Puffer und in ein mit 5 ml Ethanol-Eisessig (AE) 2:1, d. h. 2 Teile Ethanol absolut (wasserfrei) und 1 Teil Aqua demin., beschicktes 5 ml Schnappdeckelglas überführt. Die in GA/Cac-Puffer fixierten Proben wurden im Kühlschrank bei 5 °C aufbewahrt und sind bis zu 5 Jahren haltbar. Die in AE fixierten Proben wurden bei Raumtemperatur für 1-5 Tage im Fixans belassen und anschließend für die Anfertigung von Totalpräparaten verwendet.

2.2.5 Mikroskopie

2.2.5.1 Lichtmikroskopie und Mikrofotografie

Für lichtmikroskopische Zwecke standen ein Mikroskop *Olympus BH-2* mit Fluoreszenzeinrichtung in Verbindung mit einer Kleinbildkamera *Olympus*

OM-2, sowie ein Mikroskop *Leitz Orthoplan* mit Intereferenzkontrasteinrichtung nach Nomarsky und Kameraaufsatz zur Verfügung. Makroskopische Aufnahmen wurden mit einer Stereo-Lupe von *Leitz* mit Kameraaufsatz erstellt.
Es wurden die Filme *Kodak EPY 64 T* für Farbdiapositive, *Ilford FP4 plus 125* für Schwarzweißaufnahmen und *Kodak T MAX 400* für Fluoreszenzaufnahmen verwendet. Die Schwarzweißfilme *Ilford FP4 plus 125* wurden in *Ilford ID-11-*, die Schwarzweißfilme *Kodak T MAX 400* in *Kodak T MAX-Entwickler* entwickelt.

2.2.5.2 Rasterelektronenmikroskopie (REM)

GA/Cac-fixiertes Material wurde 6 x je 10 min mit 0,1 M Cacodylat-Puffer-Lösung und anschließend mit Aqua bidest. 6 x je 10 min ausgewaschen. Danach wurden die Proben zur Entwässerung in 99%igen Ethylenglycolmonoethylether (2-Ethoxyethanol, Ethylglycol) für 12 h überführt, das Medium gegen frisches ausgetauscht und die Proben hierin für weitere 12 h belassen. Anschließend wurden die Proben für 24 h in 100%iges Aceton (wasserfrei) gegeben, wobei das Aceton nach 12 h einmal gewechselt wurde. Danach wurden die Proben in Aceton in einer Kritisch-Punkt-Trockenapperatur über flüssigem CO_2 getrocknet. Die getrockneten Proben wurden mit C-Pads auf Präparatehalter aufgeklebt und in einem Sputter Coater von *Balzer's Union* mit Gold (80-100 nm) bestäubt. Zur Untersuchung und Dokumentation stand ein Rasterelektronenmikroskop *Hitachi S-530-* der Arbeitsgruppe von Herrn Prof. Dr. G. Kost am Botanischen Institut des Fachbereichs Biologie der Philipps-Universität Marburg zur Verfügung. Als Filmmaterial wurde *Agfapan APX 100* verwendet und mit *Agfa Studional liquid* entwickelt.

2.2.6 Avenaluminbestimmung

Der Avenaluminnachweis erfolgte nach der Methode von STEINHAUER & SCHLÖSSER (1992). Die Proben hierfür wurden am 2., 4., 6. und 8. dpi genommen und in Schnappdeckelgläsern tiefgefroren. Sie wurden anschließend mit einem Mörser in flüssigem Stickstoff pulverisiert und danach lyophilisiert. Je ca. 50 mg der gefriergetrockneten Proben wurden in Zentrifugengläser eingewogen, je 2 ml 70 % MeOH zugesetzt und mehrmals gründlich mit einem Reagenzglasmixer gemischt. Anschließend wurden die Proben in einem Ultraschallbad mit einer Wassertemperatur von 45 °C und einer HF-Frequenz von 35.000 Hz für 30 min behandelt und anschließend 15 min bei 5.200 rcf abzentrifugiert. Jeweils 1 ml des klaren Überstandes wurden in Probengläser des Autosamplers gegeben und bis zur HPLC-Analyse im Kühlschrank bei 4 °C aufbewahrt. Die HPLC-Anlage bestand aus einem Gradientenformer 250 B, einer Hochdruckpumpe 300 CS, UV-Detektoren SP4 und SP6, einem Autosampler *Spark Marathon*, dem *Peak-Auswertungsprogramm 5.21* der *Firma Gyn*kotek, sowie dem *Chromatointegrator D 2.000* der *Firma Merck* zur Bestimmung der Peakflächen. Die Proben wurden mittels einer *RP18 Säule* (*Merck Lichrospher 100*, 5 µm, 250 x 4 mm mit einer 4 x 4 mm Vorsäulenkartusche)

bei einer Flußrate von 1 ml/min und einer Temperatur von 40 °C aufgetrennt. Die Elution wurde mit folgenden Gradienten von Acetonitril in 0,1 % Phosphorsäure durchgeführt: 24 % für 10 min, in 2 min auf 40 %, 8 min bei 40 %, in 1 min auf 24 % und 5 min bei 24 %. Der Säulenbetriebsdruck betrug ca. 100 bar und die Avenalumine wurden bei einer Wellenlänge von 340 nm detektiert. Die Retentionszeiten betrugen für Avenalumin I ca. 11 min, für Avenalumin II ca. 13 min.
Für eine Quantifizierung wurde eine Eichkurve aus den Peakflächen unterschiedlicher Avenaluminlösungen mit bekannten Konzentrationen ermittelt. Gegen diese wurden die mit dem *Chromatointegrator D 2.000* der *Firma Merck* ermittelten Peakflächen der Proben verrechnet. Die Peaks wurden mit dem Auswertungsprogramm *Gynkosoft 5.21* in Relation zu den Werten der Eichlösungen berechnet.

2.2.7 Scopoletinbestimmung

Der qualitative Nachweis von Scopoletin erfolgte für mehltauinfizierte Haferblätter unter Verwendung der bei BETZ (1984) angegebenen Methode zur Bestimmung des Scopoletins in Haferwurzeln.
Der quantitative Nachweis von Scopoletin erfolgte mittels HPLC-Analyse analog der Methode von VAN PELT et al. (1989).

2.2.8 Behandlung mit Avenaluminen, PAL-Inhibitoren und Scopoletin

Avenalumin I, Avenalumin II, Scopoletin, AOA, Cumarsäure, Glyphosate und Zimtsäure wurden jeweils in sterilisiertes Leitungswasser überführt (Endkonzentration 200 µg/ml).
Für die Dimethylformamid (DMF)-Varianten der Avenalumin I und II-Lösungen wurde Avenalumin zunächst in DMF gelöst und anschließend in sterilisiertes Leitungswasser überführt (max. 0,1 % DMF, Endkonzentration der Avenalumine 200 µg/ml).
Die Lösungen wurden 10 min mit einem Magnetrührer gerührt und anschließend für 30 min bei Raumtemperatur in einem Ultraschallbad mit einer HF-Frequenz von 35.000 Hz behandelt. Anschließend wurden die Lösungen filtriert, um sicherzustellen, dass keine festen Partikel beim Besprühen der Blätter mit einer Airbrush bei einem Druck von 3 bar zu Schädigungen an den Pflanzen führten. Die besprühten Pflanzen wurden 24 h im Klimaschrank bei 20 °C getrocknet, bevor sie für Inokulationsversuche verwendet wurden.

2.2.9 Statistische Auswertung

Einfaktorielle Mittelwertvergleiche wurden mit dem Tukey-Test ($p = 0,05$), Korrelationen mit *„Harvard Graphics 1.0“* und weitere statistische Verrechnungen mit *„SPSS 6.0.1”* durchgeführt.

3 ERGEBNISSE

3.1 Entwicklung einer neuen Färbemethode

Sie wurde nach einer Reihe von Versuchen mit konventionellen Färbemethoden, die für die Fragestellung nur unzureichende Ergebnisse lieferten, entwickelt.

Probennahme und Fixierung:

Blumeria graminis ff. sp.
Nach ca. 24 hpi erfolgte die erste Probennahme. Hierzu wurden die infizierten Blattbereiche großzügig ausgeschnitten und in mit Fixierungsmitteln beschickten Schnappdeckelgläser (5 ml, 40 x 19 mm) eingebracht. Danach wurde von jeder Probe je ein Teil in Glutaraldehyd-Cacodylat-Puffer-Lösung und ein anderer Teil in ein Ethanol-Eisessig-Gemisch gegeben. Weitere Entnahmetermine lagen nach ca. 48, 72, 96, 120, 144, 168 und 192 hpi. Im Falle kompatibler Wirt-Pathogen-Systeme waren während der beiden letzten Entnahmetermine Mehltau-Pusteln makroskopisch erkennbar.

Herstellung der Lösungen:

Die Herstellung der Fixierungslösungen AE und GA/Cac sowie der Waschlösung wurde bereits unter *„Material und Methoden“* vorgestellt (s. Abschnitte 2.1.8 und 2.23).

Färbelösungen

Acid-Fuchsin-Lacto-Lösung
40 ml Aqua demin.
80 ml Glyzerin
40 ml Milchsäure
1,2 g Acid-Fuchsin

Für 2 h mit dem Magnetrührer bei mittlerer Geschwindigkeit rühren und Lösung anschließend abfiltrieren. Lösung ist längere Zeit bei Raumtemperatur haltbar.

Lacto-Baumwollblau-Lösung
40 ml Aqua demin.
80 ml Glyzerin
40 ml Milchsäure
1 g Baumwollblau

Nach 2-stündigem Rühren oder Schütteln Lösung für einen Tag stehen lassen, dann filtrieren. Lösung ist längere Zeit bei Raumtemperatur haltbar.

Einbettungsmedium und Aufhellungslösung

Lacto-Lösung
40 ml Aqua demin.
80 ml Glyzerin
40 ml Milchsäure

Mischen und gut verrühren. Lösung ist längere Zeit bei Raumtemperatur haltbar.

Vorbehandlung der Proben

Infizierte Blattstücke werden für mindestens 24 h in AE fixiert und anschließend für 3-7 Tage bis zur vollständigen Aufhellung in Lacto-Lösung überführt. Die so behandelten Blätter erscheinen glasartig klar.

Färbung

Einbringen der Blattstücke in Acid-Fuchsin-Lacto-Lösung für ca. 1 h (mikroskopische Kontrolle der Färbung!).
Vorsichtiges Abtupfen der überschüssigen Farblösung mit Filterpapier.
Einbringen in frische Lacto-Lösung für ca. 5 min.
Acid-Fuchsin-gefärbte Blattstücke in Lacto-Baumwollblau-Lösung für ca. 1 h legen (mikroskopische Kontrolle der Färbung!).
Vorsichtiges Abtupfen der überschüssigen Farbstofflösung mit Filterpapier.
Spülen mit Lacto-Lösung für ca. 5 min.

Herstellung von Dauerpräparaten

Aufbringen der gefärbten Blattstücke (Oberseite nach oben) in einen Tropfen Lacto-Lösung auf einem Objektträger.
Abdecken mit Deckglas.
Umranden des Deckglases mit Glyceel.
Ergebnis: Haltbare Dauerpräparate. Konidien, Oberflächenmyzel und Appressorien leuchtend blau gefärbt. Haustorien und Wirtsgewebe rötlich gefärbt. Wirtsgewebe meist schwächer angefärbt.

Behandlung GA/Cac-fixierten Materials

Auch mit GA/Cac fixiertes Material läßt sich mit dieser Methode nach entsprechender Vorbehandlung färben.
Hierzu GA/Cac-fixiertes Material 3 x 10 min mit 0,1 M Cacodylat-Puffer (Waschlösung) und anschließend 3 x 10 min in Aqua bidest. spülen.
Überführen in AE und wie zuvor beschrieben weiterbehandeln.

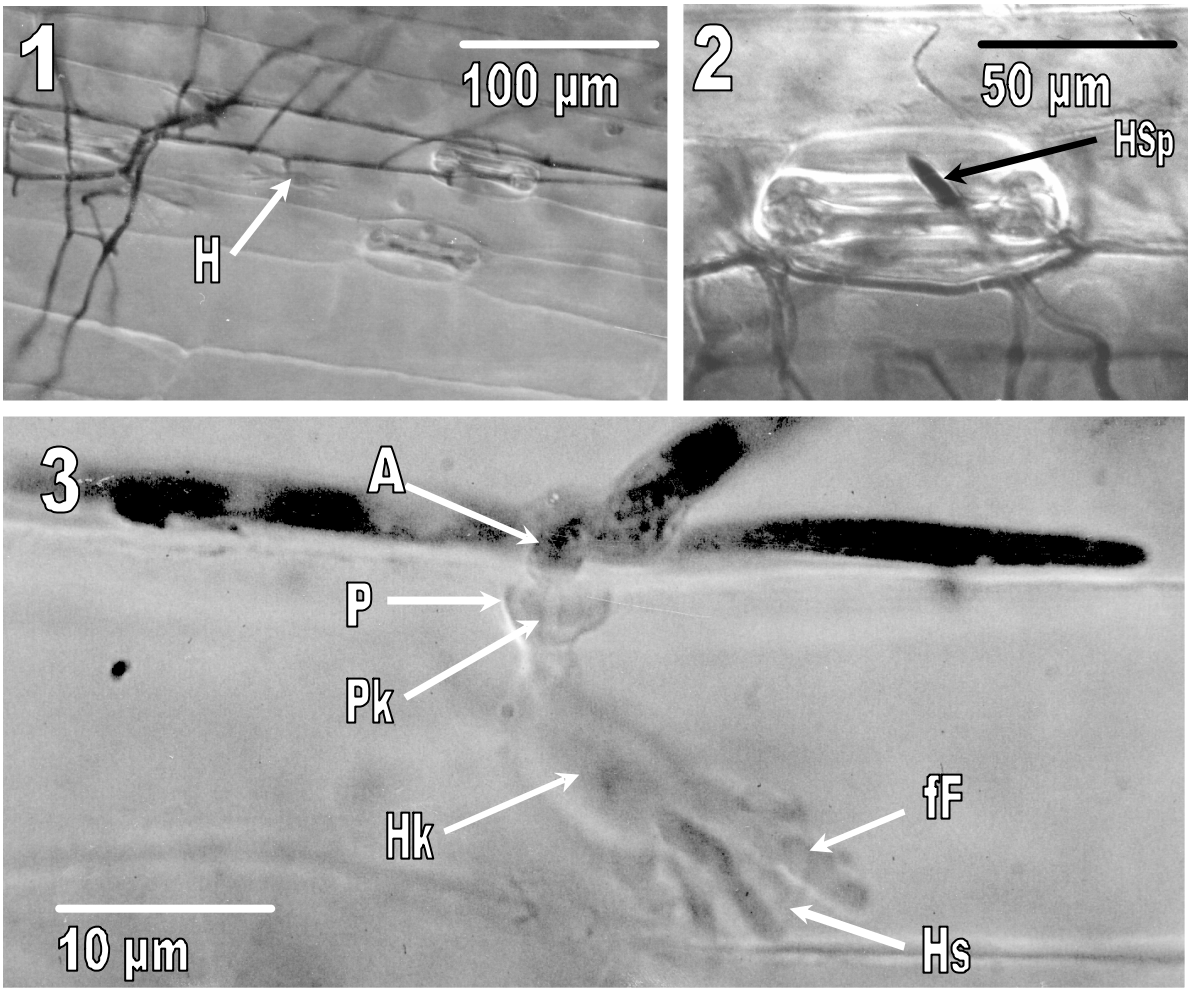


Abb. 5 Färbemethode (sw)

Bild 1 und 3: *B. graminis* f. sp. *avenae* an *A. sativa* cv. Erbgraf
Bild 2: *Drechslera sp.* 104 an *A. sativa* cv. Erbgraf, 28 h pi.

Das Oberflächenmyzel erscheint dunkel gefärbt, das subcuticuläre Myzel mit seinen Strukturen ist heller gefärbt. **A** = Apressorium, **fF** = fingerförmige Fortsätze, **H** = Haustorium, **Hk** = Haustorienkörper, **Hs** = Haustorienscheide, **HSp** = Hyphenspitze, **P** = Papille, **Pk** = Penetrationskeil.

Die Methode eignete sich nicht nur für die zuvor erwähnten Interaktionen. Gute Ergebnisse ließen sich ebenfalls für *Drechslera* spp. an Haferblättern und für *Fusarium* spp. an Haferwurzeln erzielen. Bei letztgenannten war die Färbung von verschiedenen Parametern wie z. B. Alter, Durchmesser und Befallsstärke der Wurzel abhängig und damit etwas schwerer handzuhaben, da hier nicht immer eine gleichförmige Durchfärbung gewährleistet war.
Abbildung 5 zeigt, wenn auch nur in Schwarz-Weiß-Darstellung, Beispiele der Färbung des Myzels von *B. graminis* f. sp. *avenae* und von *Drechslera sp.* jeweils an *A. sativa* cv. Erbgraf. Man beachte die dunkler gefärbte, aus der Spaltöffnung der Blattepidermis herausragende Hyphenspitze der *Drechslera sp.*. Das übrige Myzel ist heller gefärbt.

3.2 Charakterisierung der Pilzentwicklung in kompatiblen und inkompatiblen Wirt-Pathogen-Systemen (WPS)

Für die vielfältigen Getreide-Mehltau-Kombinationen wurden aus Gründen der Übersichtlichkeit Kürzel verwendet, die nachfolgend erläutert werden.

Der erste Buchstabe bezeichnet immer die verwendete Pflanzensorte:

E = *A. sativa* cv. Erbgraf
B = *A. sativa* cv. Barra
A = *H. vulgare* cv. Aura
K = *T. aestivum* cv. Kanzler

Der zweite Buchstabe bezeichnet die *B. graminis* f. sp. der Kontrolle oder des Vorinokulums:

A = *B. graminis* f. sp. ***a**venae*
H = *B. graminis* f. sp. ***h**ordei*
T = *B. graminis* f. sp. ***t**ritici*

Der dritte Buchstabe bezeichnet die *B. graminis* f. sp. des Nachinokulums:

A = *B. graminis* f. sp. ***a**venae*
H = *B. gramini* f. sp. ***h**ordei*
T = *B. graminis* f. sp. ***t**ritici*

So bedeutet z. B. die Abkürzung **ETA**: Hafer cv. Erbgraf vorinokuliert mit *B. graminis* f. sp. ***t**ritici* und nachinokuliert mit *B. graminis* f. sp. ***a**venae*.

Alle inkompatiblen Beziehungen sind in Text, Tabellen und Abbildungen fett dargestellt.

Die analysierten WPS sind in Tab. 1 dargestellt.

Tab. 1 Untersuchte *Wirt-Pathogen-Systeme*

EA	BA	**KA**	**AA**
EH	**BH**	**KH**	AH
ET	**BT**	KT	**AT**

3.2.1 Konidienkeimung

Die höchste Keimung mit 100 % konnte bei EA beobachtet werden (Abb. 6). Die niedrigste Keimung lag mit 69 % bei **KH**. Keimung in Höhe von jeweils 97 % wiesen BA und **BT** auf. Es folgten AH, **BH** und **ET** mit jeweils 96 %. **EH** zeigte eine Konidienkeimung von 95 %. Mit jeweils 90 % waren KT und **AT** vertreten. **AA** und **KA** hatten lediglich jeweils 88 %.

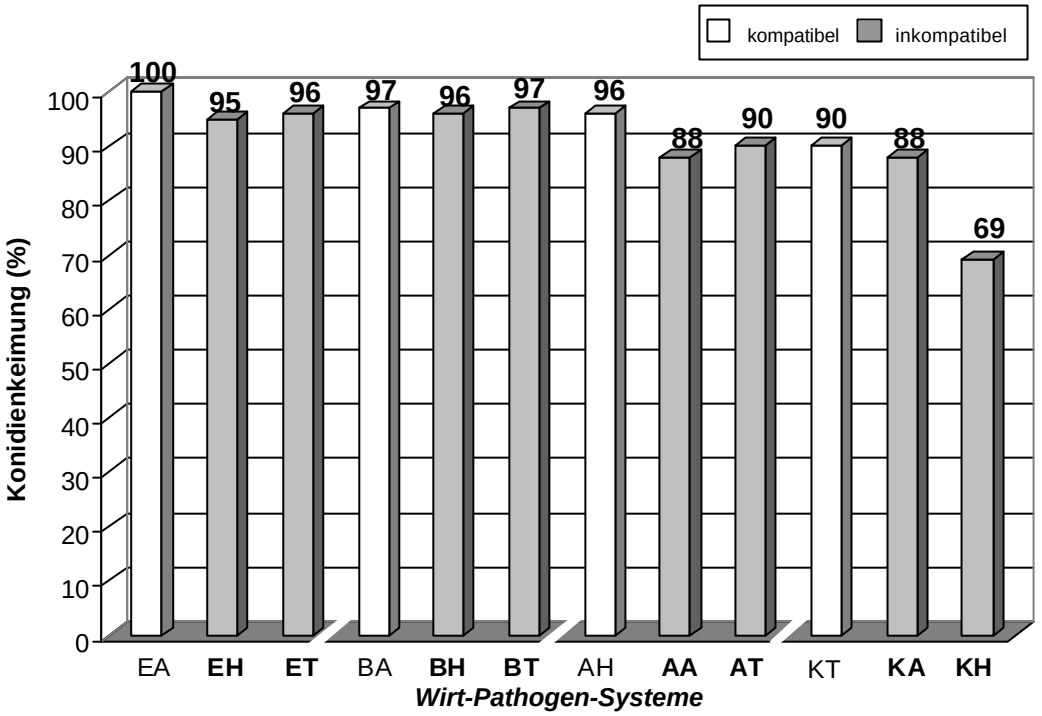


Abb. 6 Keimung der Konidien der ff. sp. von *B. graminis* in kompatiblen und inkompatiblen *Wirt-Pathogen-Systemen* (% von jeweils 250 Konidien)

Ein signifikanter Unterschied bezüglich der Konidienkeimung in kompatiblen und inkompatiblen WPS war nicht feststellbar.

3.2.2 Primäre Keimhyphen (primary germ tubes = PGT´s)

Bei allen untersuchten WPS konnten für die PGT´s keine augenfälligen Variationen hinsichtlich Länge und Durchmesser beobachtet werden, die eine weitere Klassifizierung notwendig erscheinen ließen. Die Charakterisierung der mit den PGT´s verbundenen Phänomena erstreckt sich daher auf die beobachteten Papillentypen und -größen, sowie den damit verbundenen Autofluoreszenzerscheinungen. Letztgenannte werden im Abschnitt *3.3 Autofluoreszenz* gesondert dargestellt.

3.2.2.1 Papillentypen

Nachfolgend dargestellte Papillentypen (Abb. 7) wurden für die Untersuchungen der PGT`s herangezogen. Tuberbildungen kamen hier im Gegensatz zu den SGT`s nicht vor.

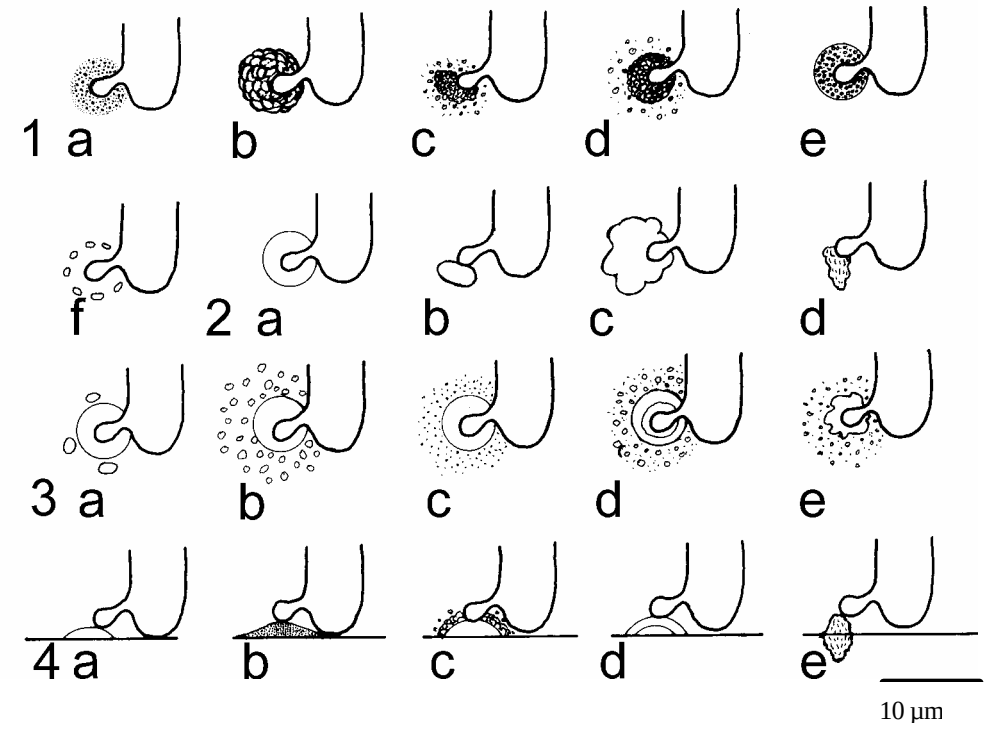


Abb. 7 Papillentypen der PGT`s von *B. graminis*
1 vesikuläre-granuläre Papillen
2 homogene Papillen
3 Mischtypen
4 Wandauflagerungen

Zu 1:
a granulärer Typus
b vesikulärer Typus, aus großen Vesikeln zusammengesetzt
c amorpher vesikulärer Typus, von zahlreichen Vesikeln umgeben
d globoser vesikulärer Typus, von zahlreichen Vesikeln umgeben
e globoser, massiver Typus, mit vesikulärem Inhalt
f) circulärer Typus, Vesikel kreisförmig um Penetrationsstelle angeordnet

Zu 2:
a homogener globoser Typus
b homogener ellipsoider Typus
c homogener amorpher Typus, ± globos
d homogener amorpher Typus, länglich

Zu 3:
- a globoser Typus, von wenigen, großen Vesikeln umgeben
- b globoser Typus, von zahlreichen Vesikeln umgeben
- c globoser Typus, von granuliertem Bereich umgeben
- d globoser geschichteter Typus, von Vesikeln umgeben
- e amorpher Typus, von Vesikeln umgeben

Zu 4:
- a Wandauflagerung homogen, klar, einseitig
- b Wandauflagerung homogen, gefärbt, einseitig
- c Wandauflagerung homogen, mit vesikulärem Randbereich, einseitig
- d Wandauflagerung geschichtet, einseitig
- e Wandauflagerung amorph, beidseitig

In kompatiblen WPS wurden zu 30-36 % keine Papillen gebildet (Tab. 2). Hier lagen die Werte nahe beieinander, während die Bandbreite bei inkompatiblen WPS von 8–48 % reichte. Die höchsten Anteile vesikulär-granulärer Papillen (Gruppe 1) lagen mit 41–48 % in inkompatiblen WPS, mit Ausnahme des kompatiblen WPS KT bei 42 %. Bei **KH** konnten keine vesikulär-granulären Papillen nachgewiesen werden. Mit 55 % lag der Hauptanteil der Papillen von EA beim homogenen Typus (Gruppe 2). Homogene Papillen wurden sowohl bei KT, als auch bei **AT** nicht gefunden. Ansonsten bewegten sich die Anteile der Papillen vom homogenen Typus zwischen 7–22 %. Mischtypen (Gruppe 3) wurden bei EA nicht beobachtet. Für alle anderen WPS wurden diese mit Werten zwischen 11–45 % registriert. Wandauflagerungen (Gruppe 4) waren in allen WPS anzutreffen. Die höchsten Anteile erzielten hier **EH** mit 10 %, **KH** mit 9 % und **ET** mit 8 %. Bei allen anderen WPS lagen die Werte im Bereich von 2–6 %.

Tab. 2 Papillentypen gegen primäre Keimhyphen (PGT`s) (% von jeweils 250 gekeimten Konidien)

Typ	EA	**EH**	**ET**	BA	**BH**	**BT**	KT	**KA**	**KH**	AH	**AA**	**AT**
0	36	8	8	20	22	19	30	44	32	32	48	11
1	7	41	48	45	48	46	42	18	0	26	14	46
2	55	15	11	22	13	7	0	14	14	10	18	0
3	0	26	25	11	15	26	25	19	45	30	17	38
4	2	10	8	2	2	2	3	5	9	2	3	6

Typ 0 = keine Papillen erkennbar

Ein augenfälliger Unterschied in der Ausprägung der Papillentypen der PGT`s bezüglich kompatibler und inkompatibler WPS war nicht feststellbar.

3.2.3 Sekundäre Keimhyphen (secondary germ tubes = SGT´s)

Die weitere Entwicklung des Pilzes geht von der SGT aus. Ihre Betrachtung und Charakterisierung, die neben der Länge und dem Durchmesser den Verzweigungsgrad und die Zelligkeit umfasst, war daher erforderlich. Die im Zusammenhang mit den SGT´s stehenden Autofluoreszenzerscheinungen werden, wie auch die der PGT´s, im Abschnitt *3.3 Autofluoreszenz* gesondert behandelt.

3.2.3.1 Länge und Durchmesser

Im Gegensatz zu den PGT´s konnten bei den SGT`s Variationen in Bezug auf Länge und Durchmesser (Abb. 9-12) beobachtet werden, die eine differenzierte Klassifizierung zuließen.

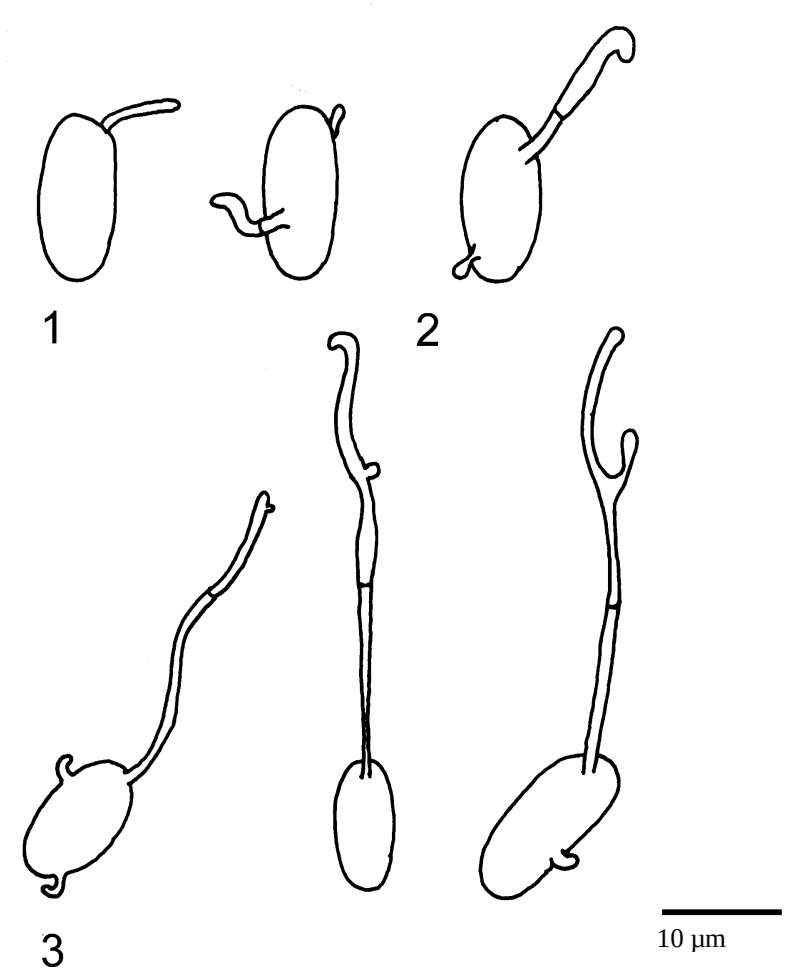
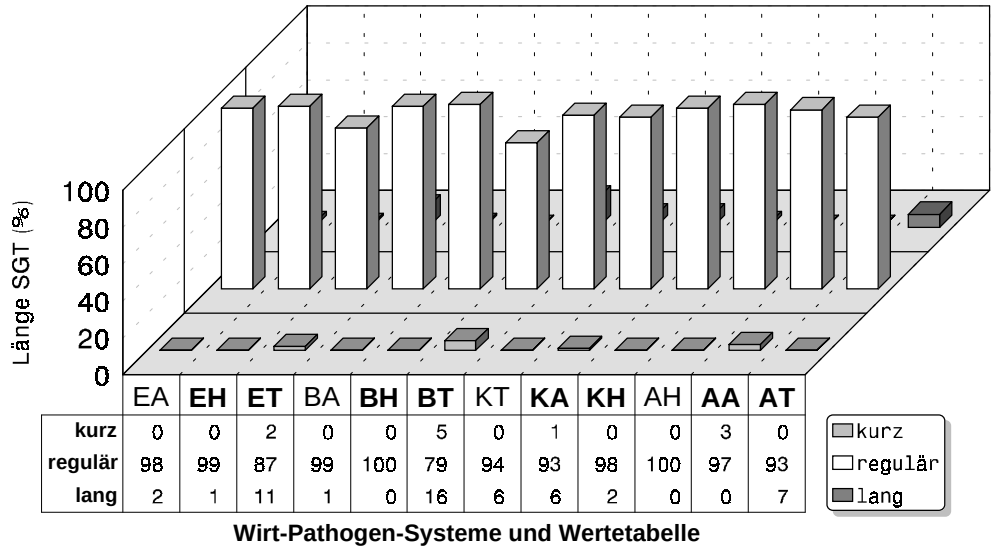


Abb. 9 Länge der SGT`s von *B. graminis*:
1 kurz, kürzer als Konidie
2 regulär, länger als Konidie, bis 1,5-mal so lang
3 lang, mehr als 1,5-mal so lang als Konidie

Kurze SGT´s konnten nur für **ET** mit einem Anteil von 2 %, für **BT** mit einem Anteil von 5 %, sowie für **AA** mit 3 % und für **KA** mit 1 % nachgewiesen werden (Abb. 10). Es traten keine kurzen SGT`s bei EA, AH, KT, BA, **EH**, **BH**, **KH** und **AT** auf.



	EA	**EH**	**ET**	BA	**BH**	**BT**	KT	**KA**	**KH**	AH	**AA**	**AT**
kurz	0	0	2	0	0	5	0	1	0	0	3	0
regulär	98	99	87	99	100	79	94	93	98	100	97	93
lang	2	1	11	1	0	16	6	6	2	0	0	7

Wirt-Pathogen-Systeme und Wertetabelle

Abb. 10 Länge der SGT`s (% von jeweils 250 gekeimten Konidien)

Am weitesten verbreitet war der reguläre Typus, der ausnahmslos bei allen WPS mit hohen Werten vertreten war. Die höchsten Anteile fanden sich hier bei AH und **BH** mit jeweils 100 %. Es folgten mit Werten von je 99 % BA und **EH**. Mit Werten von jeweils 98 % schlossen sich EA und **KH** an, dicht gefolgt von **AA** mit einem Wert von 97 %. Mit 94 % für KT und jeweils 93 % für **KA** und für **AT** setzte sich diese Reihe fort und endete mit 87 % bei **ET** bzw. mit 79 % bei **BT**.
Der größte Anteil langer SGT`s lag mit einem Wert von 16 % bei **BT**. Mit einem Wert von 11 % folgte **ET**. Bei 7 % für **AT** und bei jeweils 6 % für KT bzw. für **KA** lagen die nächst niedrigeren Werte. Lange SGT`s traten mit Werten von je 2 % auch bei EA und bei KH auf. Mit Werten von je 1 % waren sie bei BA bzw. bei **EH** vertreten. AH, **AA** und **BH** wiesen keine langen SGT´s auf.
Signifikante Unterschiede zwischen kompatiblen und inkompatiblen WPS ließen sich aus den gefundenen Ergebnissen nicht ableiten.

Durchmesser der SGT`s wurden gemäß Abb. 11 klassifiziert. Dünne SGT`s waren mit einem Wert von jeweils 1 % bei **AA**, **KA** und **KH** zu finden (Abb. 12). Den höchsten Wert erreichte hier KT mit 2 %. Alle anderen WPS hatten keine dünne SGT`s.
Der reguläre Typus trat bei allen WPS auf. Die höchsten Werte mit jeweils 100 % lagen bei EA, **EH** und **ET**, sowie bei BA und **BH**. Darauf folgten mit Werten von jeweils 99 % **AA** und **AT**. Mit je 98 % schlossen sich **KH** und **BT** an. Einen Anteil von 97 % zeigten die SGT`s von **KA**. Mit 95 % bei KT und mit 94 % bei AH endete diese Reihe.

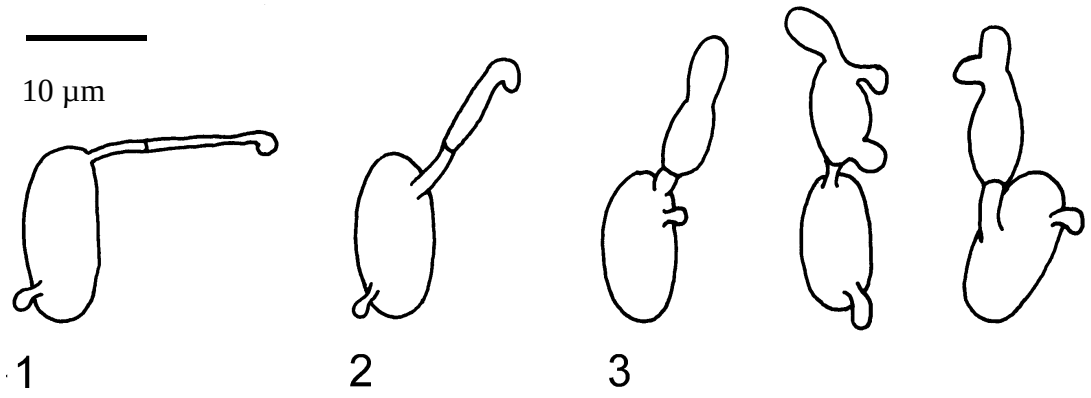


Abb. 11 Durchmesser der SGT`s von *B. graminis:*
1 dünn, Durchmesser entspricht etwa dem der PGT
2 regulär, Durchmesser deutlich größer als der der PGT, jedoch deutlich kleiner als die Hälfte des Durchmessers der Konidie
3 dick, Durchmesser gleich oder größer als die Hälfte des Durchmessers der Konidie

Dicke SGT`s waren lediglich bei der Hälfte der untersuchten Kombinationen anzutreffen. Hier lag der höchste Wert mit 6 % bei AH, gefolgt von 3 % bei KT. Jeweils 2 % zeigten **KA** und **BT**. Den Abschluß mit jeweils 1 % bildeten KH und AT. Alle anderen WPS wiesen keine dicken SGT`s auf.

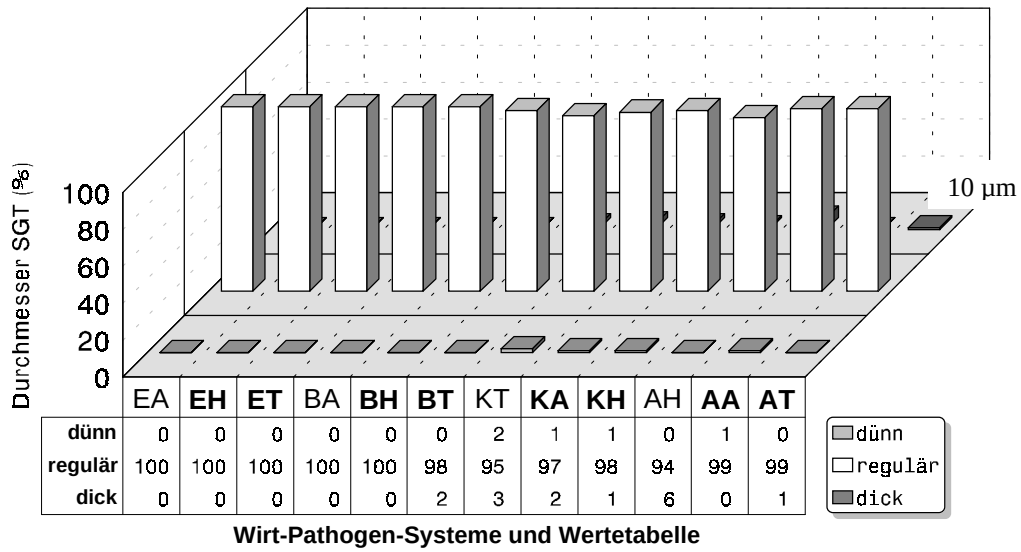


Abb. 12 Durchmesser der SGT`s (% von jeweils 250 gekeimten Konidien)

Auch beim Durchmesser der SGT`s zeichneten sich keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich kompatibler und inkompatibler WPS ab.

3.2.3.2 Zelligkeit und Verzweigungsgrad

Beispiele zur Zelligkeit der SGT´s sind aus Abb. 13 ersichtlich.
Den höchsten Anteil einzelliger SGT`s wies **BT** mit einem Wert von 6 % auf,

gefolgt von **KA** mit 4 % (Abb. 14). Mit Werten von jeweils 2 % waren **AA** und **ET** vertreten. Bei allen anderen WPS wurden keine einzelligen SGT`s beobachtet.

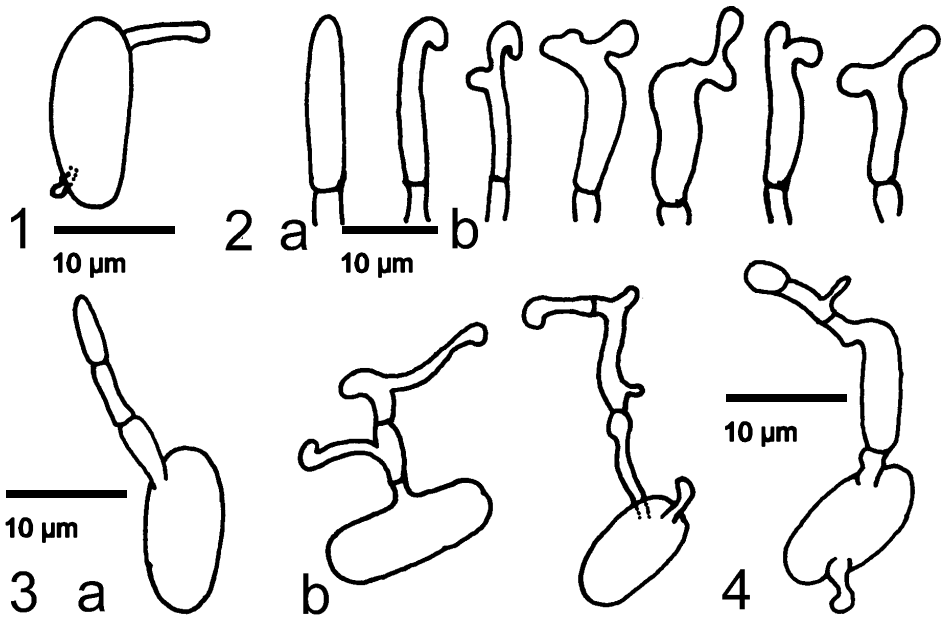


Abb. 13 Zelligkeit der SGT`s von *B. graminis:*

1		einzellig,	unverzweigt
2	a	zweizellig,	unverzweigt
	b	zweizellig,	verzweigt
3	a	dreizellig,	unverzweigt
	b	dreizellig,	verzweigt
4		vierzellig,	verzweigt

Mit Werten von jeweils 100 % waren zweizellige SGT`s bei EA, KT, BA, **EH**, **BH**, **KH** AH und **AT** zugegen. Mit je 98 % folgten **AA** und **ET**. Die niedrigsten Werte in dieser Gruppierung lagen mit 96 % bei **KA** und mit 94 % bei **BT**.

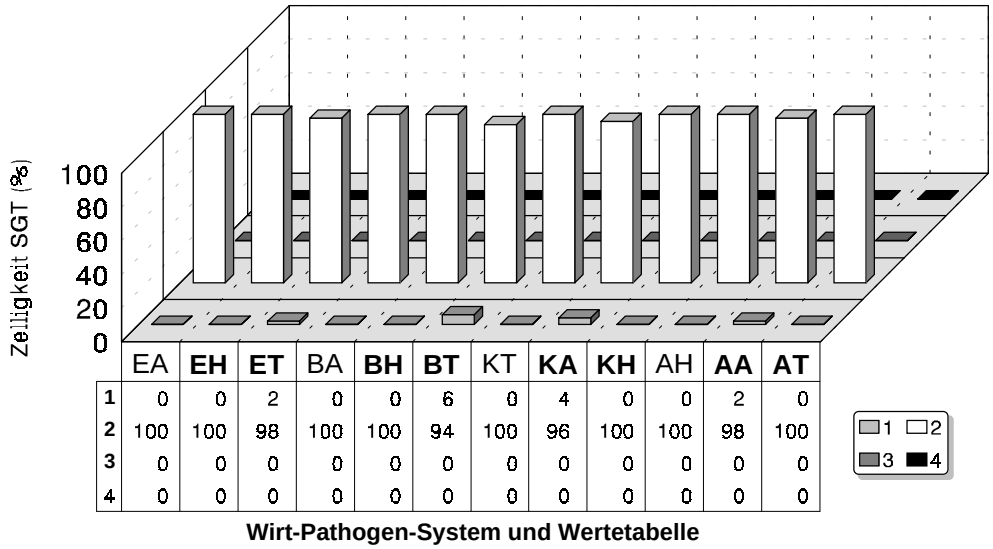


Abb. 14 Zelligkeit der SGT`s (% von jeweils 250 gekeimten Konidien)

Es konnten weder drei- noch vierzellige SGT`s in diesen untersuchten WPS beobachtet werden.
Der Vergleich der Zelligkeit der SGT`s der verschiedenen WPS erbrachte keine signifikanten Unterschiede.

Verzweigung der SGT`s

Beispiele für die Verzweigung der SGT`s sind in Abb. 15 zu sehen. Die höchsten Anteile unverzweigter SGT`s (Gruppe 0) entfielen auf **AA** mit 95 %, auf EA mit 90 %, auf **KA** mit 86 % und auf BA mit 84 % (Abb. 16). Es folgten **ET** mit 59 %, **BT** mit 56 %, **AT** mit 54 % und KT mit 52 %. EH erreichte einen Wert von 32 %, sowohl AH als auch **BH** jeweils einen Wert von 28 %. Der niedrigste Wert in dieser Reihe lag mit 19 % bei **KH**.
Die höchsten Werte für einfach verzweigte SGT`s lagen mit 55 % bei **BH** und mit 54 % bei **EH**. Werte von jeweils 45 % wiesen KT, **KH** und **AT** auf. Es folgten **BT** mit einem Wert von 32 %, **ET** mit 30 % und AH mit 26 %. Einfach verzweigte SGT´s waren mit einem Wert von 15 % bei BA, mit 14 % bei **KA**, mit 10 % bei **ET** und mit dem kleinsten Wert dieser Reihe, 5 %, bei **AA** vertreten.

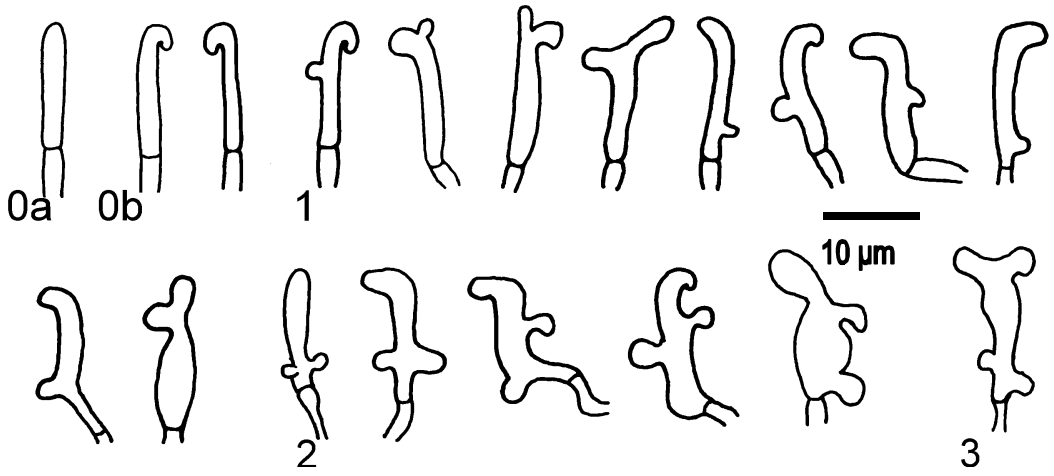


Abb. 15 Verzweigung der SGT`s von *B. graminis:*
- 0 a unverzweigt, gerade
- b unverzweigt, Hyphenspitze einwendig eingekrümmt
- 1 einfach verzweigt
- 2 zweifach verzweigt
- 3 dreifach verzweigt

Zweifach verzweigte SGT`s erreichten bei AH den höchsten Wert mit 44 %, bei **KH** 31 %, bei **BH** 17 % und bei **EH** 13 %. Einen Wert von 12 % erreichte **BT**, **ET** 10 %, KT 3 %, BA und **AT** jeweils 1 %. Die SGT`s von EA, **AA** und **KA** waren nicht zweifach verzweigt.
Der höchste Anteil dreifach verzweigter SGT`s lag mit einem Wert von 5 % bei **KH**. AH erreichte einen Wert von 2 %, **EH** und **ET** jeweils 1 %. Die SGT`s aller anderen WPS wiesen keine dreifache Verzweigung auf.

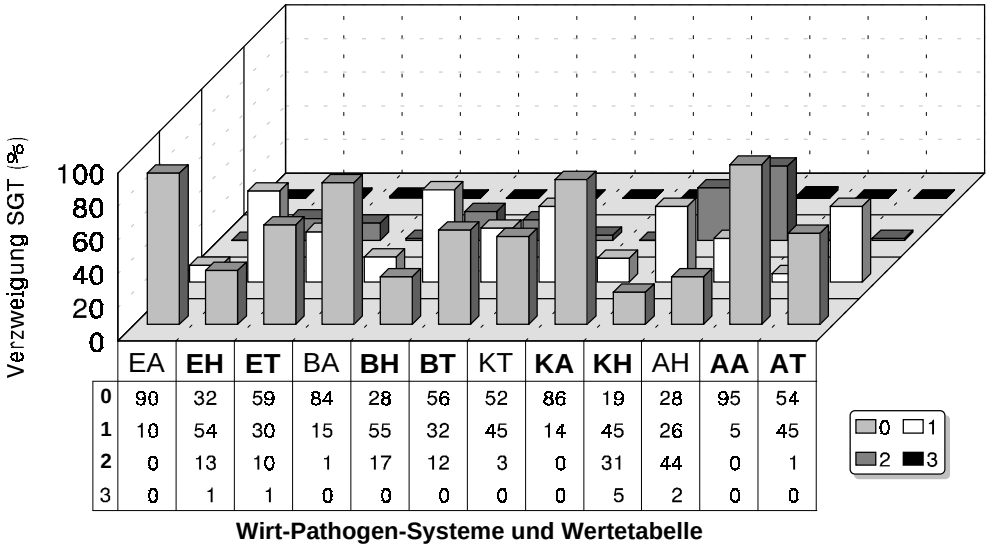


Abb. 16 Verzweigung der SGT`s (% von jeweils 250 gekeimten Konidien)

Im Vergleich zwischen kompatiblen und inkompatiblen WPS waren keine signifikanten Unterschiede in der Verzweigung der SGT`s feststellbar.

3.2.3.3 Hyphenspitzen und Penetration

Vor der Penetration der Wirtszelle krümmte sich die Spitze der SGT in den meisten Fällen ein. Der prozentuale Anteil solcher Spitzen ist in Abb. 17 dargestellt.

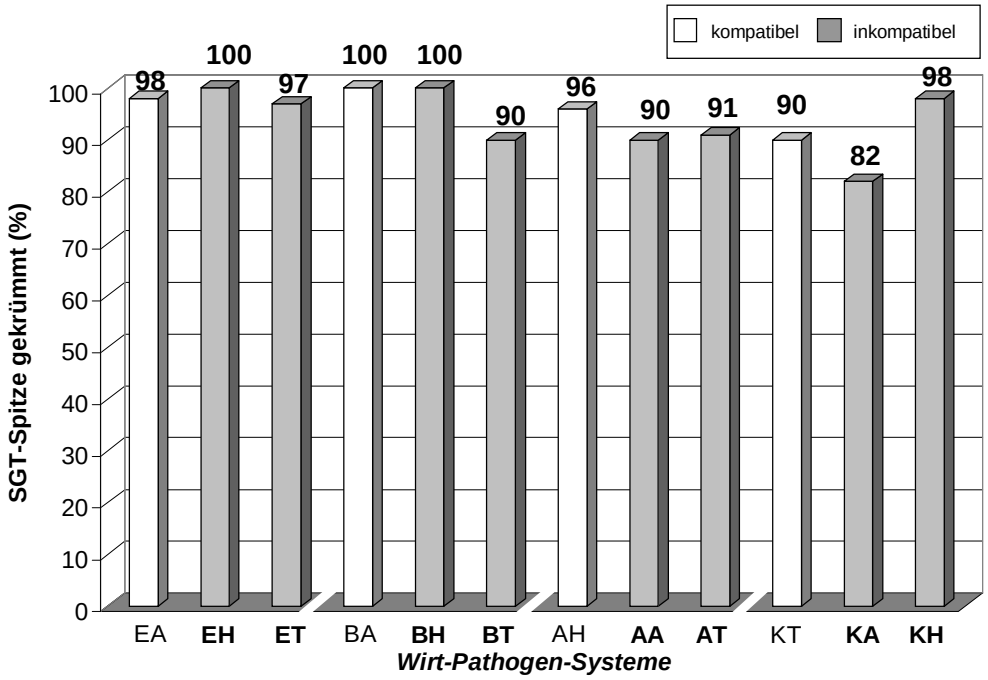


Abb. 17 Eingekrümmte Hyphenspitzen der SGT (% von jeweils 250 gekeimten Konidien)

Werte von 100 % wurden sowohl bei BA, **EH** und **BH** registriert. Mit Werten von je 98 % folgten EA und **KH**, gefolgt von **ET** mit einem Wert von 97 %.

AH erreichte 96 %, **AT** 91 % und **AA** 90 %. Ebenfalls 90 % wiesen KT und **BT** auf. Der niedrigste Wert lag mit 82 % bei **KA**.

Nach der Keimung der pilzlichen Konidien war die Penetration der Pflanzenzellen der nächste bedeutende Schritt in der Entwicklung des Echten Getreidemehltaus. Bei BA penetrierten 99 % der gekeimten Konidien die Epidermiszellen (Abb. 18). Zu 98 % vermochten die Konidien eine Penetration bei **EH** durchzuführen. Eine Penetration von jeweils 97 % wurde beobachtet bei EA und **ET**, sowie bei AH. **KH** zeigte einen Wert von 91 %. Mit einer Rate von 88 % penetrierten Konidien bei **AT** und mit jeweils 86 % bei **AA** bzw. bei **KA** die Epidermiszellen. Es folgten **BH** mit 85 % und **BT** mit 82 %. Die geringste Penetration ergab sich für KT mit 78 %.

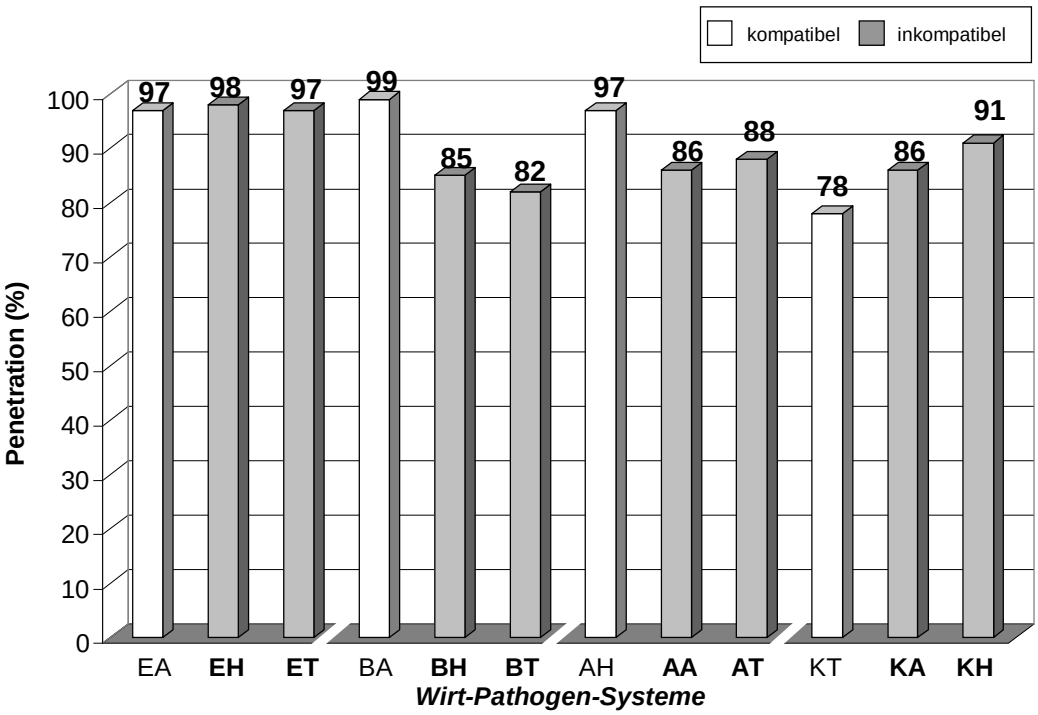


Abb. 18 Penetration von Epidermiszellen (% von jeweils 250 gekeimten Konidien)

Hinsichtlich Hyphenspitzen der SGT`s und Penetrationen der Epidermiszellen waren keine augenfälligen Unterschiede zwischen kompatiblen und inkompatiblen WPS erkennbar.

3.2.3.4 Papillenbildung

Weiterer wichtiger Bestandteil zur Beurteilung des WPS Getreide-Echter Getreidemehltau war die visuell erkennbare Ausbildung von Papillen seitens der Pflanze nach Angriff des pilzlichen Erregers. Abb. 19 zeigt die prozentualen Anteile der Papillenbildung für die einzelnen WPS unter Bezug auf die gekeimten Konidien. Mit jeweils 99 % lagen die Werte für BA und **AT** am höchsten, dicht gefolgt von **EH** und von **KH** mit 98 % bzw. 97 %. Daran schlossen sich EA mit 94 % und **ET** mit 93 % Papillenbildung an. Bei **AA** und

KA lagen die Werte bei 86 % bzw. 83 %. Ebenfalls bei 83 % lag der Wert für AH. Für **BT** lag der Wert bei 82 %. Die niedrigsten Werte lagen mit 76 % und 73 % bei KT und bei **BH**.

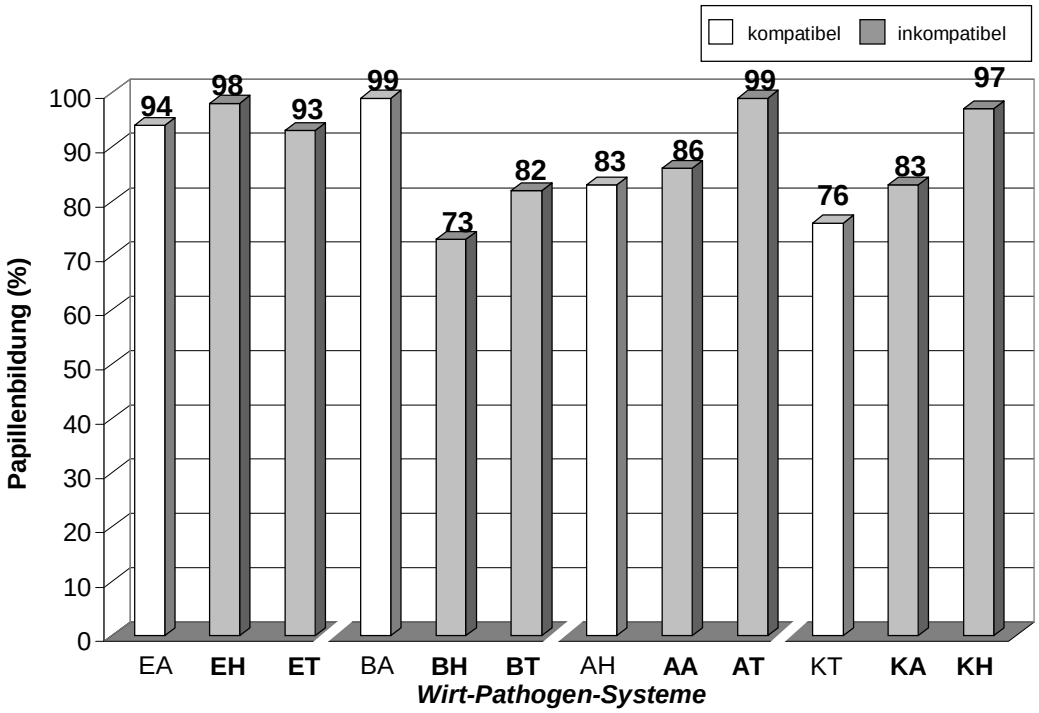


Abb. 19 Papillenbildung (% von jeweils 250 gekeimten Konidien)

Auch in der Papillenbildung ließen sich keine entscheidenden Unterschiede zwischen kompatiblen und inkompatiblen WPS feststellen.

3.2.3.5 Papillentypen

Es wurde zwischen folgenden 5 Gruppen unterschieden:

1 vesikuläre-granuläre Papillen
2 homogene Papillen
3 Mischtypen
4 Wandauflagerungen:
  a Wandauflagerung einseitig
  b Wandauflagerung beidseitig
5 Tuber

Die jeweiligen Gruppierungen werden in ihren Variationsbreiten in den Abbildungen 20 – 25 zusammengefasst dargestellt und kurz erläutert.

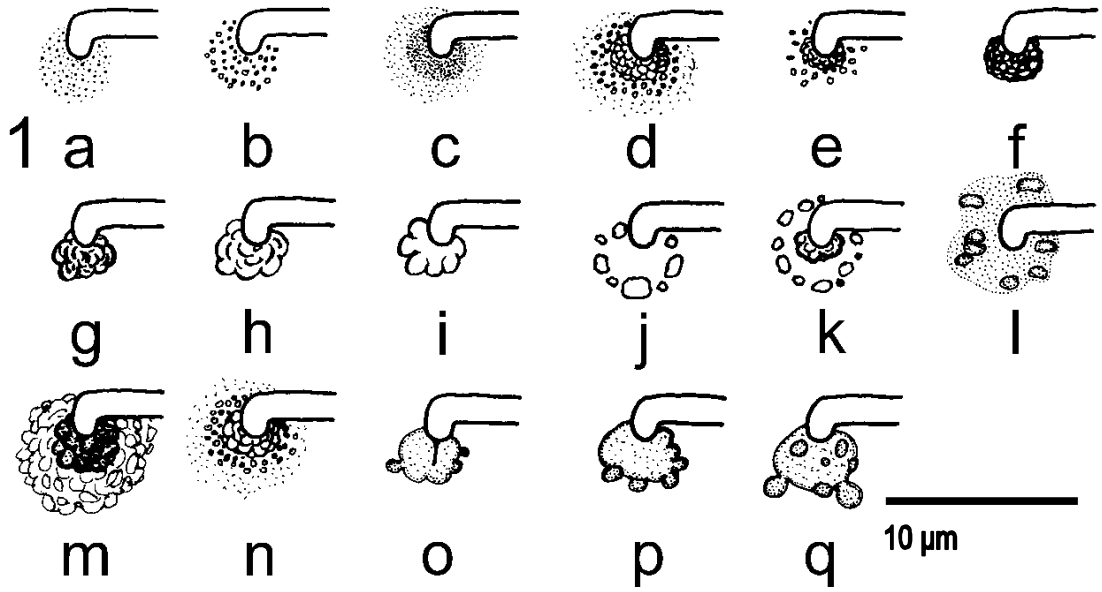


Abb. 20 Papillentypen der SGT`s von *B. graminis* -
1: vesikuläre-granuläre Papillen

Zu 1:
- a granulärer Typus
- b vesikulärer Typus, aus kleinen Vesikeln zusammengesetzt
- c granulärer zweischichtiger Typus, dichte zentrale Zone von aufgelockertem Bereich sphärisch umgeben
- d globoser vesikulärer Typus, von granulärem-vesikulärem Bereich umgeben
- e globoser vesikulärer Typus, von wenigen Vesikeln umgeben
- f globoser vesikulärer Typus, massiv, einzelne Vesikel erkennbar
- g-i vesikuläre Typen, mit zunehmenden Verschmelzungsgrad der einzelnen Vesikel
- j vesikulärer Typus, einzelne ± große Vesikel radiär um Penetrationsstelle angeordnet
- k wie vor, jedoch mit zentraler amorpher Papille
- l vesikulärer Typus, einzelne große Vesikel ± radiär innerhalb eines granulären Bereichs um Penetrationsstelle angeordnet
- m vesikulärer Typus, zweischichtig, massiv, zentraler Bereich pigmentiert
- n entspricht etwa 1d), Papille jedoch aus einigen wenigen größeren Vesikeln zusammengesetzt
- o-q massive vesikuläre Typen mit peripher assoziierten Vesikeln

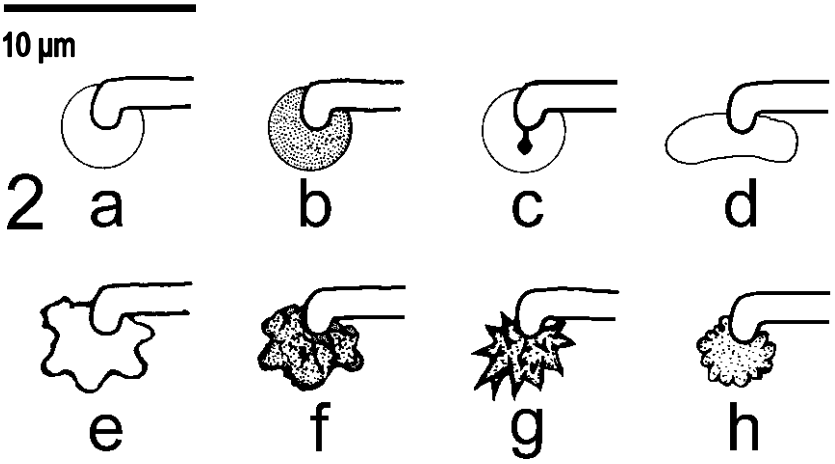


Abb. 21 Papillentypen der SGT`s von *B. graminis* - 2: homogene Papillen

Zu 2:
- a homogener globoser Typus
- b globoser granulierter Typus
- c homogener globoser Typus mit eingeschlossenem Penetrationskeil
- d homogener ellipsoider Typus
- e homogener amorpher Typus, opak
- f homogener amorpher Typus, pigmentiert
- g homogener amorpher Typus, mit sternförmigen Ausläufern
- h homogener amorpher Typus, marginal gelappt

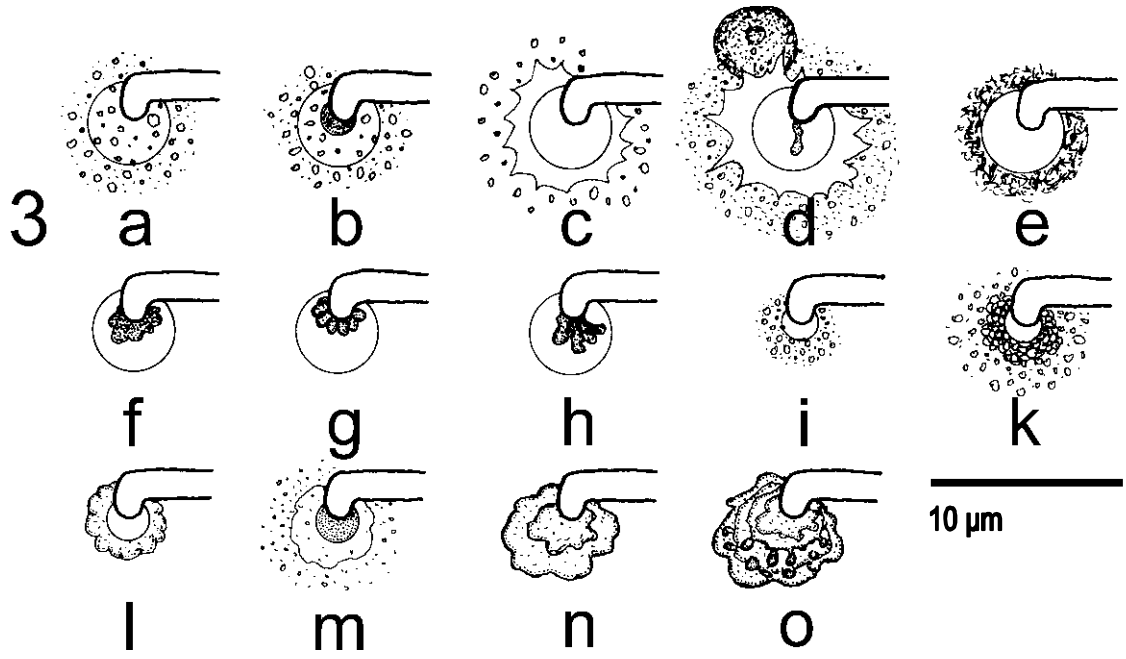


Abb. 22 Papillentypen der SGT`s von *B. graminis* – 3: Mischtypen

Zu 3:
- a globoser Typus, von granulärem-vesikulärem Bereich umgeben
- b globoser geschichteter Typus, von granulärem-vesikulärem Bereich umgeben, zentraler Bereich pigmentiert
- c globoser Typus, von Papille mit sternförmigen Ausläufern umschlossen, von vesikulärer Zone umgeben
- d wie vor, mit eingeschlossener Haustorieninitiale, von vesikulärem-granulärem Bereich umgeben
- e globoser Typus, von fibrillärem Bereich umgeben
- f pigmentierte amorphe Papille, von globoser Papille umgeben
- g pigmentierte, fächerförmig angeordnete Vesikel, in globoser opaker Papille eingeschlossen
- h pigmentierte längliche Strukturen, in globoser opaker Papille eingeschlossen
- i kleine globose Papille mit assoziierten Vesikeln, von granulärem-vesikulärem Bereich umgeben
- j globose Papille, von vesikulärer Papille umschlossen, von granulärem-vesikulärem Bereich umgeben
- k globose Papille, von marginal gelappter Papille umgeben
- l globose pigmentierte Papille, von opaker amorpher Papille umschlossen, von granulärem-vesikulärem Bereich umgeben
- m zweischichtiger amorpher Typus
- n mehrschichtiger amorpher Typus mit vesikulären Strukturen

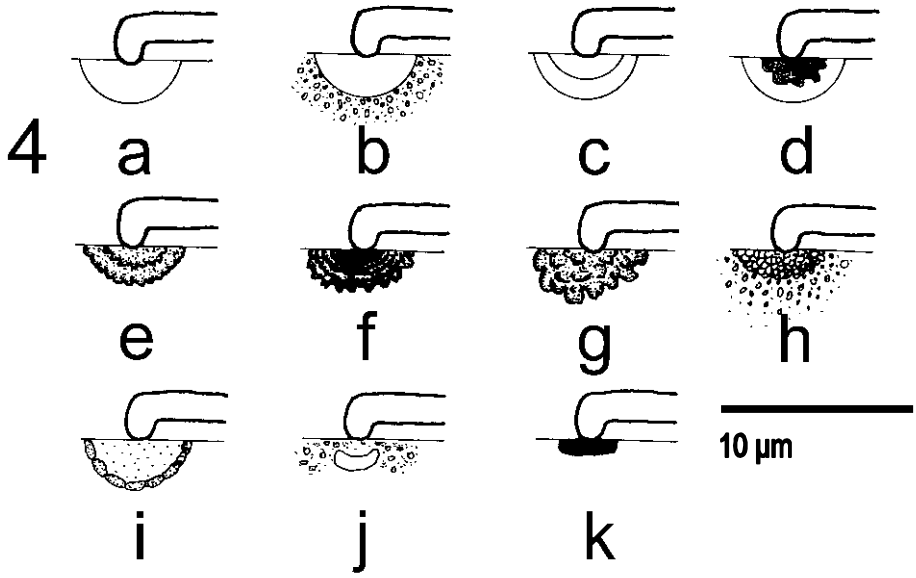


Abb. 23 Papillentypen der SGT`s von *B. graminis* -
4 a-k: Wandauflagerungen einseitig

Zu 4 a-k:
- a Wandauflagerung homogen, semiglobos, opak, einseitig
- b Wandauflagerung homogen, semiglobos, opak, einseitig, von granulärem-vesikulärem Bereich umgeben
- c Wandauflagerung semiglobos, opak, einseitig, zweischichtig
- d Wandauflagerung semiglobos, opak, einseitig, zweischichtig, innerer Bereich gelappt, pigmentiert
- e Wandauflagerung semiglobos, einseitig, zweischichtig, jeweiliger Randbereich gelappt
- f Wandauflagerung semiglobos, einseitig, mehrschichtig, äußerster Randbereich mit assoziierten Vesikeln
- g Wandauflagerung vesikulär, semiglobos, einseitig, aus großen z. T. miteinander verschmolzenen Vesikeln zusammengesetzt
- h Wandauflagerung vesikulär, semiglobos, einseitig, von granulärem-vesikulärem Bereich umgeben
- i Wandauflagerung semiglobos, einseitig, zweischichtig, radial angeordnete zusammengeschlossene Vesikel um granulierten Bereich angeordnet
- j Wandauflagerung reniform, einseitig, von granulärem-vesikulärem Bereich umgeben
- k Wandauflagerung quaderförmig, einseitig, dunkel pigmentiert

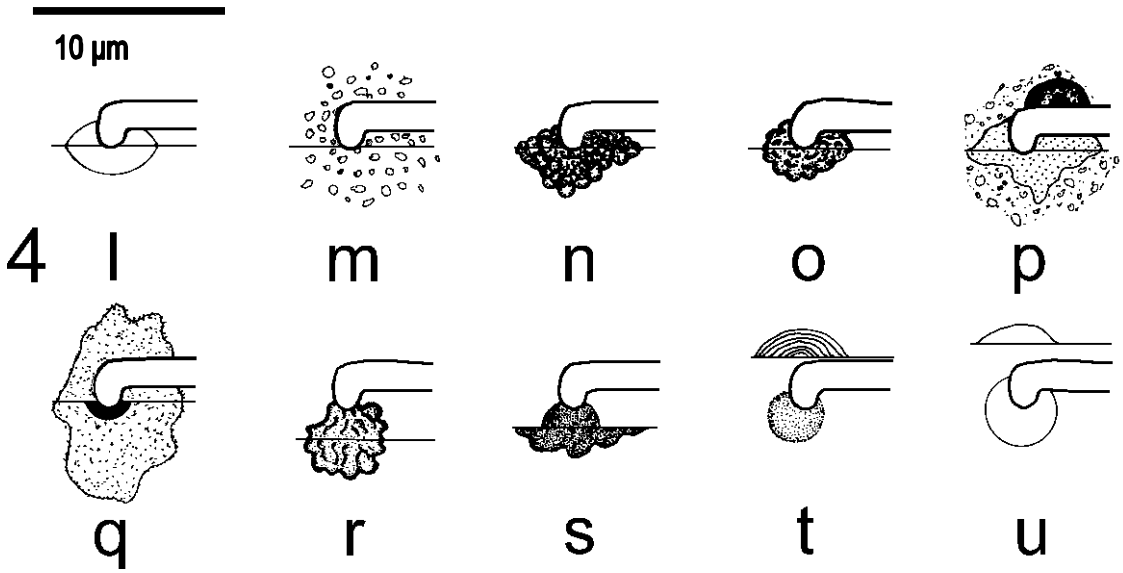


Abb. 24 Papillentypen der SGT`s von *B. graminis* -
4 l-u: Wandauflagerungen beidseitig

Zu 4 l-u:
- l Wandauflagerung homogen, semiglobos, opak, beidseitig
- m Wandauflagerung vesikulär, beidseitig, aus großen, locker angeordneten Vesikeln zusammengesetzt
- n Wandauflagerung vesikulär, beidseitig, aus großen Einzelvesikeln zusammengesetzt
- p Wandauflagerung granuliert, amorph, beidseitig, von granulärem-vesikulärem Bereich umgeben
- q semiglobose, dunkel pigmentierte Papille, von beidseitigem großen granulierten, amorphen, abgegrenzten Bereich umgeben
- r Wandauflagerung amorph, beidseitig, massiv, mit tw. erkennbarem vesikulärem Charakter
- s semiglobose dunkel pigmentierte Papille in der Nähe der Keimhyphenspitze, auf dem gegenüberliegenden Wandabschnitt dunkel pigmentierte amorphe Wandauflagerung
- t globose granulierte Papille mit assoziierter mehrschichtiger Wandauflagerung
- u globose homogene, opake Papille mit assoziierter homogener semigloboser Wandauflagerung

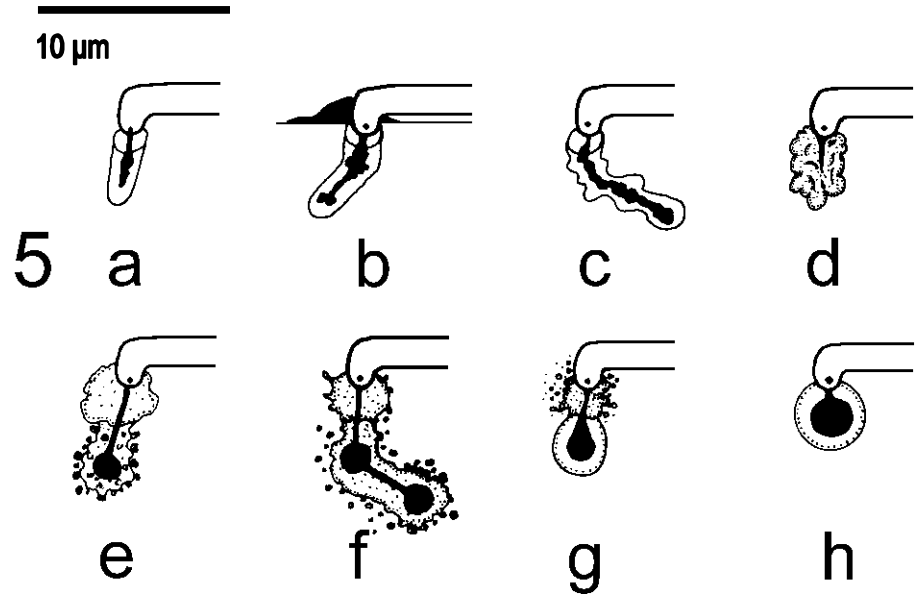


Abb. 25 Papillentypen der SGT`s von *B. graminis* - 5: Tuber

Zu 5:
- a Tuber zylinderförmig, homogen, gerade
- b Tuber zylinderförmig, homogen, abgewinkelt
- c Tuber länglich, amorph
- d Tuber länglich, amorph, mit großen vesikulären Strukturen
- e Tuber mit assoziierten Vesikeln und amorpher Papille
- f Tuber abgewinkelt mit assoziierten Vesikeln und amorpher Papille
- g Tuber ± globos, mit amorpher Papille, letztere mit assoziierten Vesikeln
- h Tuber globos

Papillentypen und -größen der SGT`s für alle Penetrationspunkte

In Tab. 4 sind alle beobachteten Papillentypen der SGT`s für sämtliche Penetrationspunkte zusammengefasst. In Tab. 5 finden sich die diesbezüglichen Papillengrößen. Die Klassifikation der Typen erfolgt analog der bereits für die Papillen der PGT`s vorgestellten Varianten. Penetrationspunkte ohne erkennbare Papillenbildung konnten nur für **KA** mit 3 % festgestellt werden. Der höchste Anteil vesikulär-granulärer Papillen (Gruppe 1) wurde mit 74 % für **BH** nachgewiesen. Der niedrigste Wert betrug hier 14 % bei EA. Mit Anteilen von 11 - 66 % waren Papillen des homogenen Typus (Gruppe 2) vertreten. Mischtypen (Gruppe 3) wiesen die höchsten Anteile mit Werten von je 21 % bei EA und AH, mit 20 % bei **ET** und mit 18 % bei **AT** auf. In den übrigen WPS lagen die diesbezüglichen Werte zwischen 3 und 11 %. Die höchsten Werte für Wandauflagerungen (Gruppe 4) lagen mit je 16 % bei EA und **KH**. In allen anderen WPS lagen die Werte zwischen 3 und 13 % darunter. Sowohl für die kompatiblen AH und KT, als auch für die inkompatiblen **EH**, **BH** und **KH** konnten keine Tuber (Gruppe 5) nachgewiesen werden. Mit Werten von je 8 % erreichten diese ihr Maximum bei BA und **KA**.

Tab. 4 Papillentypen gegen sekundäre Keimhyphen (SGT`s) für alle Penetrationspunkte (% von jeweils 250 gekeimten Konidien)

Typ	EA	**EH**	**ET**	BA	**BH**	**BT**	KT	**KA**	**KH**	AH	**AA**	**AT**
0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0
1	14	40	44	24	74	60	63	17	63	40	28	51
2	45	38	30	54	15	23	16	66	11	32	52	24
3	21	11	20	4	8	11	8	3	10	21	9	18
4	16	11	5	10	3	5	13	3	16	7	9	3
5	4	0	1	8	0	1	0	8	0	0	2	4

Typ 0 = keine Papillen erkennbar

Mittelgroße Papillen stellten für jedes einzelne WPS die Hauptanteile (Tab. 5).
Den höchsten Anteil mittelgroßer Papillen zeigte EA mit 93%, den niedrigsten mit 53 % BA. BA hatte zugleich mit 41 % den höchsten Anteil kleiner Papillen. Mit 5 % war der Anteil kleiner Papillen bei EA am geringsten. Für KT und **KH** konnten keine großen Papillen nachgewiesen werden. Bei **EH** lag der höchste Anteil großer Papillen, mit einem Wert von 10 %.

Tab. 5 Größe der Papillen gegen sekundäre Keimhyphen (SGT`s) für alle Penetrationspunkte (% von jeweils 250 gekeimten Konidien)

Typ	EA	**EH**	**ET**	BA	**BH**	**BT**	KT	**KA**	**KH**	AH	**AA**	**AT**
1-klein	5	22	23	41	30	18	16	27	19	23	19	23
2-mittel	93	68	69	53	69	80	84	67	81	74	79	75
3-groß	2	10	8	6	1	2	0	6	0	3	2	2

Auch hinsichtlich der Typen und Größen der Papillen gegen sekundäre Keimhyphen waren keine gravierende Unterschiede zwischen kompatiblen und inkompatiblen WPS zu erkennen.

Prozentuale Verteilung der Papillen der SGT`s auf die einzelnen Penetrationspunkte

Die prozentuale Verteilung der durch die SGT´s der *B. graminis* ff. sp. Induzierten Papillen war bei den einzelnen Penetrationspunkten deutlich verschieden (Tab. 6).

Der Hauptanteil der Papillen entfiel bei allen WPS auf den Penetrationspunkt 0 (P 0). Hier erzielte das kompatible BA System mit 99 % ein Maximum. Der kleinste Anteil entfiel mit 46 % auf das kompatible System AH. WPS mit *B. graminis* f. sp. *avenae* wiesen Werte von 90–99 % für den Penetrationspunkt 0 (P 0) auf. Kombinationen mit *B. graminis* f. sp. *tritici* zeigten Werte zwischen 74-76 %, solche mit der f. sp. *hordei* Werte von 46-57 %.

Tab.6 Verteilung der Papillen der SGT´s auf die einzelnen Penetrationspunkte (% von jeweils 250 gekeimten Konidien)

Typ	EA	**EH**	**ET**	BA	**BH**	**BT**	KT	**KA**	**KH**	AH	**AA**	**AT**
P 0	90	57	76	99	52	74	75	97	48	46	96	75
P 1	10	35	20	1	40	23	23	3	34	33	4	25
P 2	-	8	4	0	8	3	2	-	16	20	-	0
P 3	-	0	0	-	-	-	-	-	2	1	-	-

Für den Penetrationspunkt 1 (P 1) lagen die niedrigsten Werte in Kombinationen mit *B. graminis* f. sp. *avenae.* BA war mit 1 %, **KA** mit 3 %, **AA** mit 4 % und EA mit 10 % vertreten. Kombinationen mit der f. sp. *tritici* erreichten Werte von 20–25 % und solche mit der f. sp. *hordei* die höchsten Werte für P 1 bei 33–40 %.
Nicht zweifach verzweigt waren die SGT`s der WPS EA, **AA** und **KA**. Demzufolge sind hier keine Eintragungen zu finden (P 2).
Zweifach verzweigte SGT`s traten bei BA und **AT** ohne erkennbare Papillenbildung am Penetrationspunkt 2 (P 2) auf.
Den höchsten Anteil Papillen am Penetrationspunkt 2 erzielten die Systeme AH mit 20 % und **KH** mit 16 %. Die Werte von **EH** und **BH** folgten mit je 8 %. **ET** mit 4 %, **BT** mit 3 % und KT mit 2 % bildeten den Abschluß dieser Reihe.
Lediglich in den WPS AH, **EH**, **KH** und **ET** konnten dreifach verzweigte SGT`s beobachtet werden. Am Penetrationspunkt 3 (P 3) wurde keine Papillenbildung für die Systeme **EH** und **ET** registriert. Der Anteil für AH erzielte hier 1 % und für **KH** 2 %.
Die Unterschiede zwischen allen Penetrationspunkten standen nicht in Beziehung zum Grad der Kompatibilität.

3.2.3.6 Nukleus

Als weiteres Merkmal zur Beurteilung einer Wirt-Pathogen-Beziehung im System Getreide-Echter Getreidemehltau kann die Lokalisation des Zellkerns herangezogen werden. In attackierten Epidermiszellen wandert er häufig in die Nähe der Penetrationsstelle. Dieses Verhalten konnte bei allen WPS beobachtet werden (Abb. 26). Dabei gab es deutliche Unterschiede in

der Translokation, die aber nicht mit dem Grad der Kompatibilität gekoppelt waren.

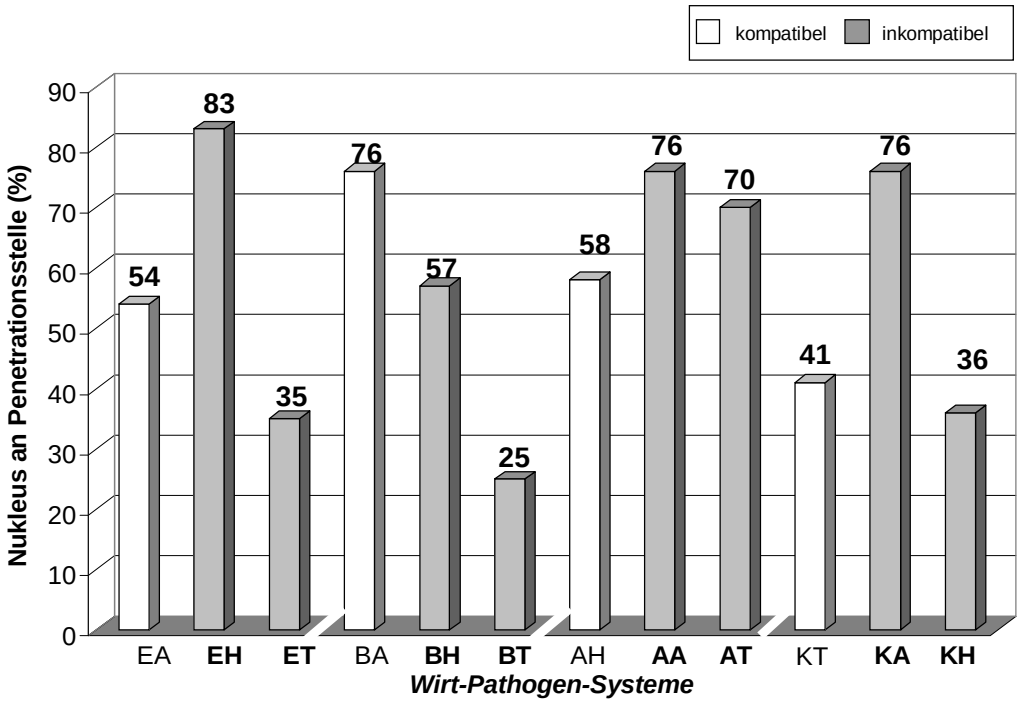


Abb. 26 Nukleus in der Nähe der Penetrationsstelle (% von jeweils 250 penetrierten Zellen)

Ein Kriterium zur Beurteilung der Wirt-Pathogen-Beziehung war neben der Lokalisation des Zellkernes nach Penetration einer Epidermiszelle durch

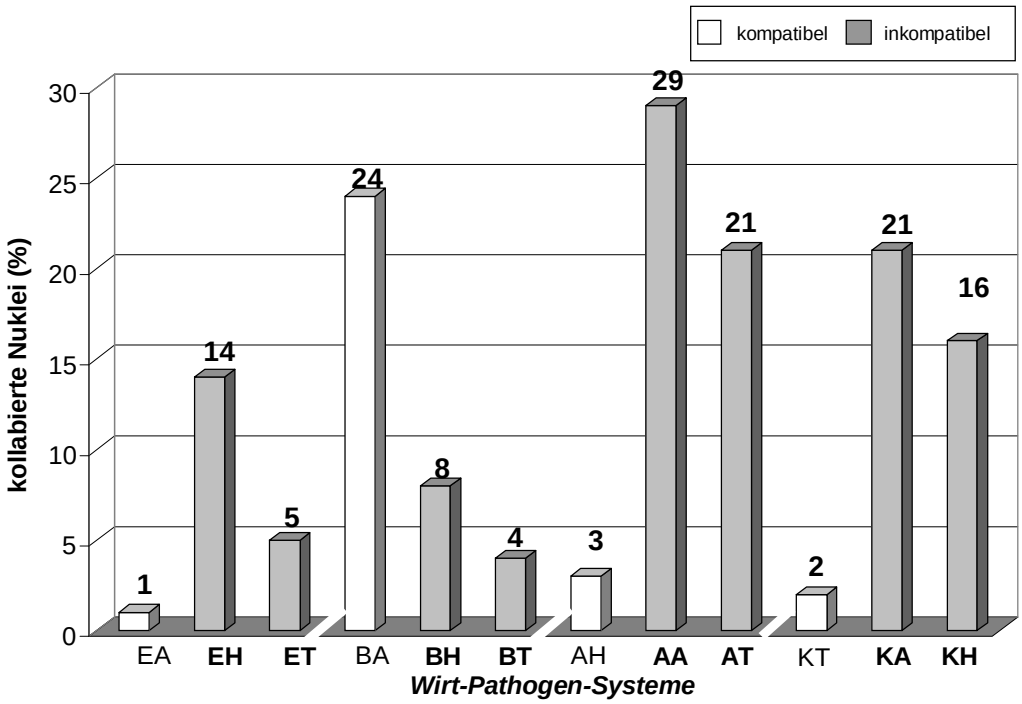


Abb. 27 Kollabierte Nuklei (% von jeweils 250 penetrierten Zellen)

einen Echten Getreidemehltau-Erreger, dessen lichtmikroskopisch zu beurteilender Zustand. Es wurden nur eindeutig erkennbar kollabierte Zellkerne als solche klassifiziert (Abb. 27).
Bei Betrachtung der verschiedenen WPS ist zu erkennen, dass bei inkompatiblen Systemen von Weizen und Gerste der Anteil kollabierter Nuklei deutlich größer ist als bei kompatiblen Systemen.

3.2.3.7 Epidermiszellen

Neben dem lichtmikroskopisch auswertbaren Zustand der Nuklei spielte der allgemeine Zustand der durch den pilzlichen Erreger penetrierten Epidermiszellen eine entscheidende Rolle für die Gesamtbeurteilung der WPS Getreide-Echter Mehltau. In einigen Fällen kollabierten Epidermiszellen nach einem pilzlichen Angriff. Dabei waren beträchtliche Unterschiede zwischen den verschiedenen WPS zu erkennen (Abb. 28).
Der höchste Anteil an kollabierten Zellen war mit Werten zwischen 10-20 % bei den inkompatiblen WPS von Weizen und Gerste zu verzeichnen. Dieses Phänomen ist aber nicht generell mit der Kompatibilität korreliert, denn bei **BH** und **ET** war der Prozentsatz zerstörter Zellen ebenso niedrig wie beim kompatiblen System EA. Dies weist darauf hin, dass die Reaktion auf den Angriff des Pilzes von der Art der Wirtspflanze abhängt und daher durchaus verschieden sein kann.

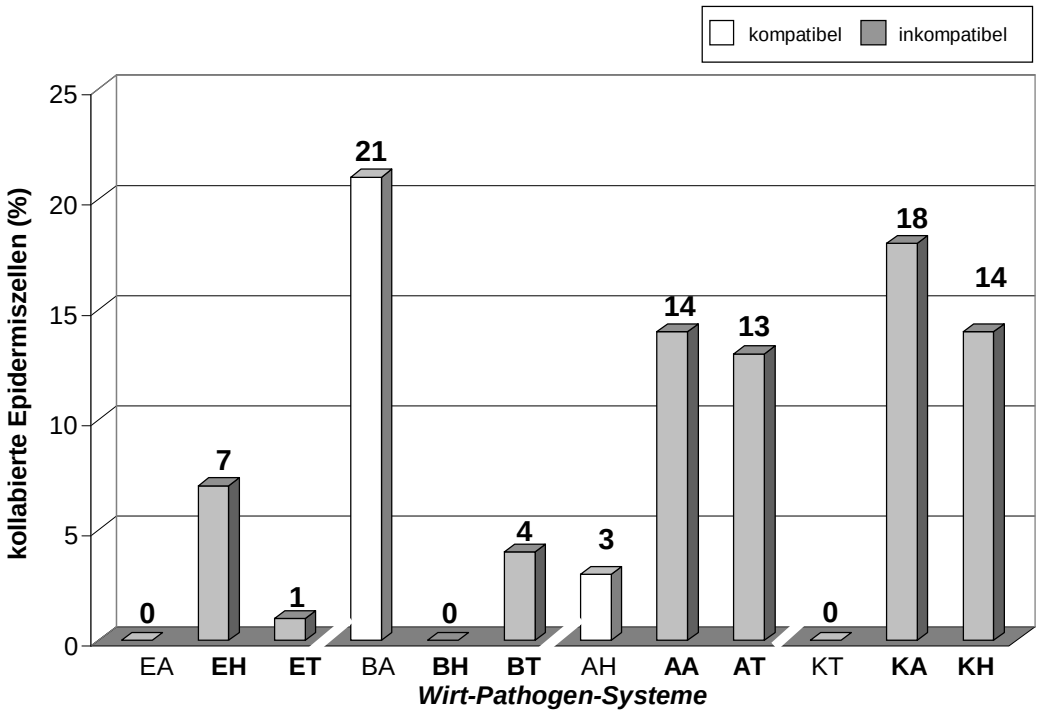


Abb. 28 Kollabierte Epidermiszellen (% von jeweils 250 penetrierten Zellen)

3.2.3.8 Haustorien

Für die Beurteilung kompatibler und inkompatibler WPS mit Echten Mehltaupilzen ist die Anzahl gebildeter Haustorien pro SGT ein wichtiger Parameter. Im vorliegenden Fall war die Rate der Haustorienbildung bei kompatiblen WPS mit 69-100 % erwartungsgemäß sehr hoch (Abb. 29). Bei inkompatiblen WPS war bei **KA** und **AA** mit 57 und 41 % ebenfalls ein hohes Potential zur Haustorienbildung vorhanden. Bis auf **AT** lag der Prozentsatz gebildeter Haustorien bei den übrigen WPS unter 10 %. Diese deutlichen Unterschiede waren aber nicht an die Art der Kompatibilität gebunden, sondern sind eher ein Ausdruck unterschiedlicher Interaktionen in den einzelnen WPS.

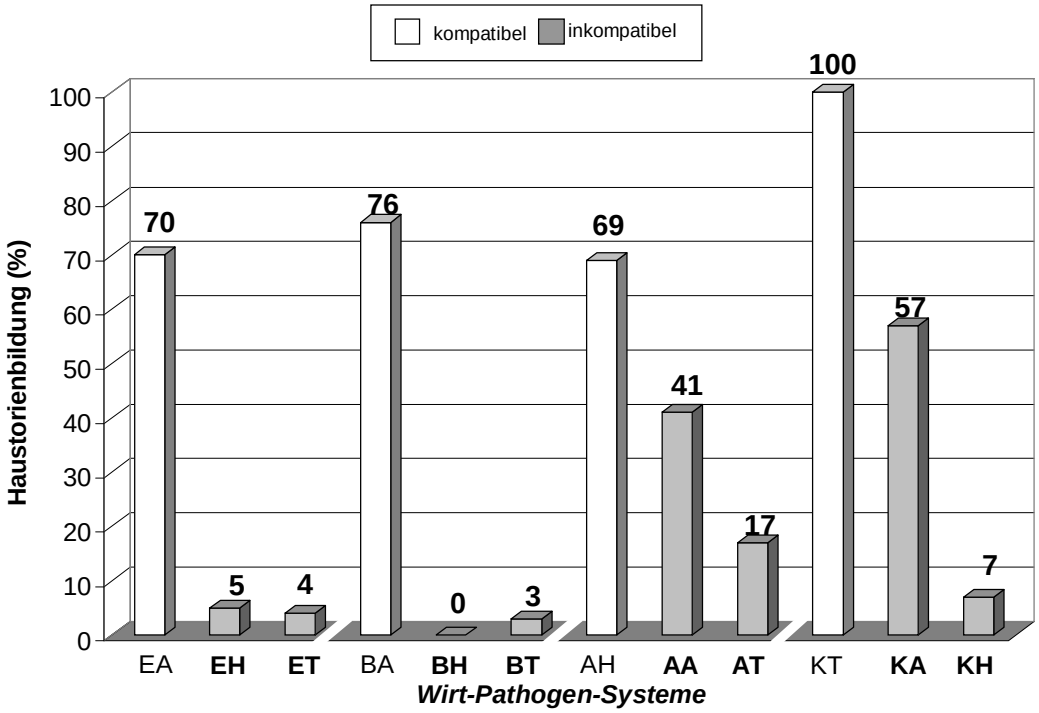


Abb. 29 Gebildete Haustorien (% von jeweils 150 mit SGT`s gekeimten Konidien)

Bei lichtmikroskopischer Betrachtung waren deutliche Unterschiede im Zustand der Haustorien zu erkennen. Neben „normal“ erscheinenden Haustorien, die als *intakt* bezeichnet wurden, gab es solche mit verschiedenartigen Deformationen, wie z. B. Hypertrophien, Auflösungserscheidnungen, die als *nicht intakt* angesehen wurden. Bei kompatiblen WPS war der Anteil intakter Haustorien mit 89-98 % erwartungsgemäß sehr hoch (Abb. 30). Bei den inkompatiblen WPS war er in allen Kombinationen signifikant geringer und betrug bei **EH**, **ET** und **BT** 0 %. Demnach ist die

Inkompatibilität mit einer teilweise drastischen Verringerung intakter Haustorien korreliert.

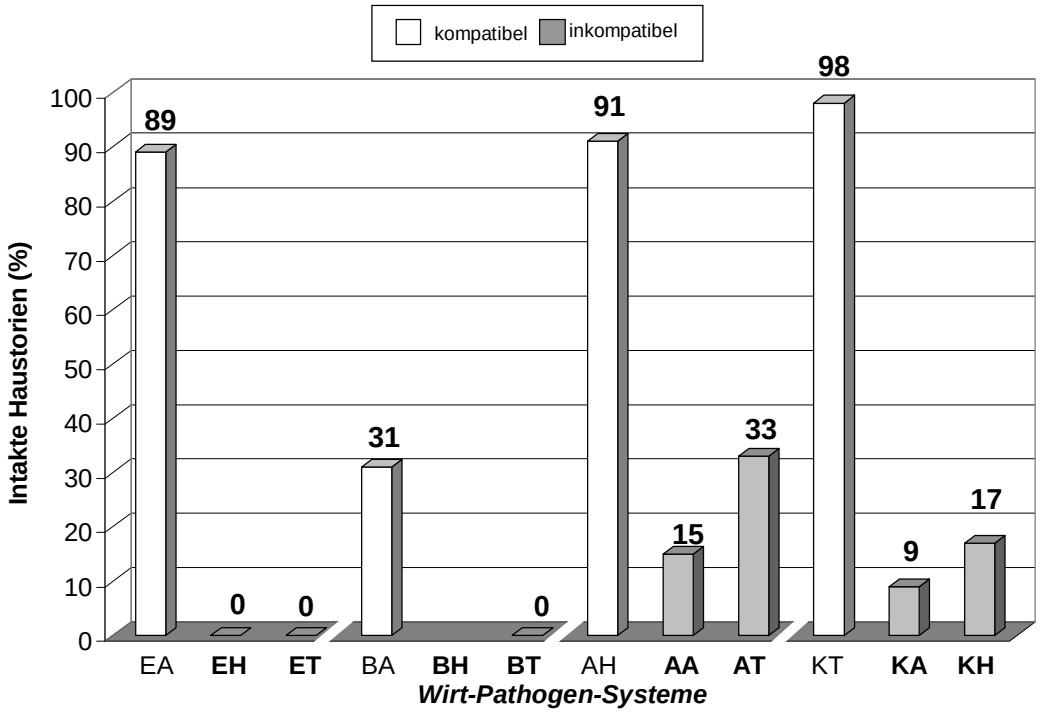


Abb. 30 Intakte Haustorien (% von jeweils 150 Haustorien)

Im folgenden Abschnitt werden die Werte für die Entwicklungsstadien von Haustorien getrennt für kompatible und inkompatible WPS im Verlauf des Untersuchungszeitraumes 1-6 dpi dargestellt. Als Grundlage diente folgende Klassifizierung in fünf Stadien (Abb. 31):

Stadium 1 bezeichnet die Ausbildung der Haustorieninitialen. Die Stufen a - c dienen einer weiteren graduellen Differenzierung.

Stadium 2 hier ist bereits der Haustorienkörper zu erkennen, der Beginn der Entwicklung der fingerförmigen Fortsätze kündigt sich durch kleine laterale Auswüchse an.

Stadium 3 die Entwicklung der fingerförmigen Fortsätze an einer Seite des Haustorienkörpers ist weiter fortgeschritten.

Stadium 4 die fingerförmigen Fortsätze befinden sich beiderseits des vergrößerten Haustorienkörpers und weisen Verzweigungen auf.

Stadium 5 vollständig entwickeltes, reifes Haustorium.

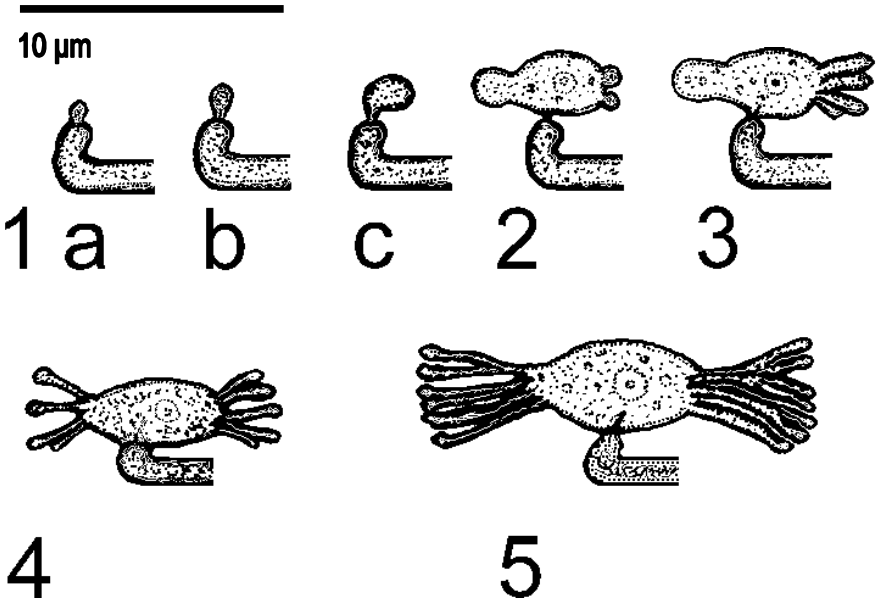
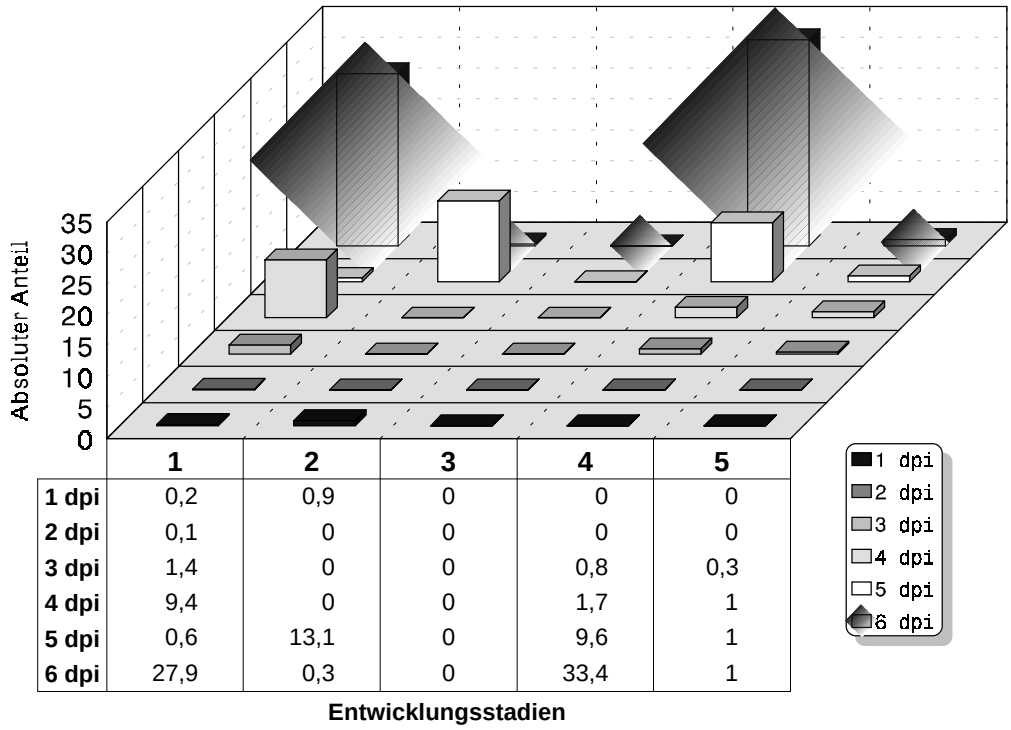


Abb. 31 Entwicklungsstadien der Haustorien von *B. graminis* (Erläuterungen s. Text)

Entwicklungsstadien in kompatiblen WPS

Untersucht wurden jeweils 25 Präparate pro dpi und WPS. Als absoluter Anteil wird der Anteil der Haustorien pro Myzel bezeichnet. Die Verteilung der Entwicklungsstadien 1-5 bei EA 1-6 dpi ist wie folgt (Abb. 32). Bereits 1 dpi traten Haustorien der Kategorien 1 und 2 auf.

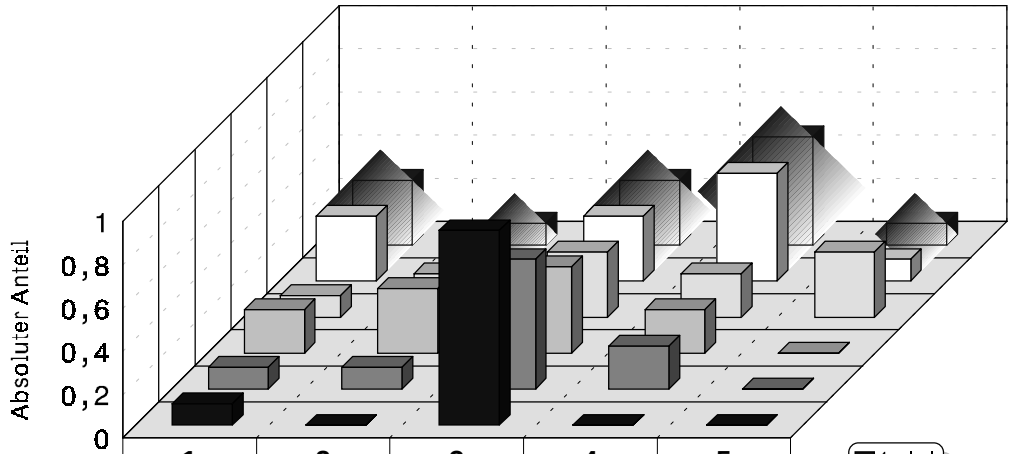


	1	2	3	4	5
1 dpi	0,2	0,9	0	0	0
2 dpi	0,1	0	0	0	0
3 dpi	1,4	0	0	0,8	0,3
4 dpi	9,4	0	0	1,7	1
5 dpi	0,6	13,1	0	9,6	1
6 dpi	27,9	0,3	0	33,4	1

Abb. 32 Entwicklungsstadien 1-5 der Haustorien von *B. graminis* f. sp. *avenae* an Hafer cv. Erbgraf (EA)

Es konnten 3 dpi erstmals Haustorien der Kategorien 4 und 5 beobachtet werden.Der Anteil der Haustorien-Stadien der Kategorie 4 stieg im Zeitraum von 3-6 dpi kontinuierlich an und erreichte einen Höhepunkt mit 33,4 Haustorien pro untersuchtem Myzel. Einen Höhepunkt erzielte ebenfalls 6 dpi die Kategorie 1 mit einem Wert von 27,9 Haustorien pro Myzel. In jedem gebildeten Myzel konnte 6 dpi durchschnittlich ein Haustorium der Kategorie 5 registriert werden. Die Entwicklungsstadien der Kategorie 2 erreichten 5 dpi mit einem Wert von 13,2 ihr Maximum. Kategorie 3 konnte in diesem WPS nicht beobachtet werden.

Bei BA waren alle Stadien vertreten (Abb. 33). Bereits 1 dpi waren die Kategorien 1 und 3 ausgebildet. Am dritten und vierten Tag nach der Inokulation konnten die Kategorien 1-4 nachgewiesen werden. Ab 5 dpi kam das Entwicklungsstadium 5 hinzu. Alle ermittelten Werte bewegten sich unterhalb von 1,0.

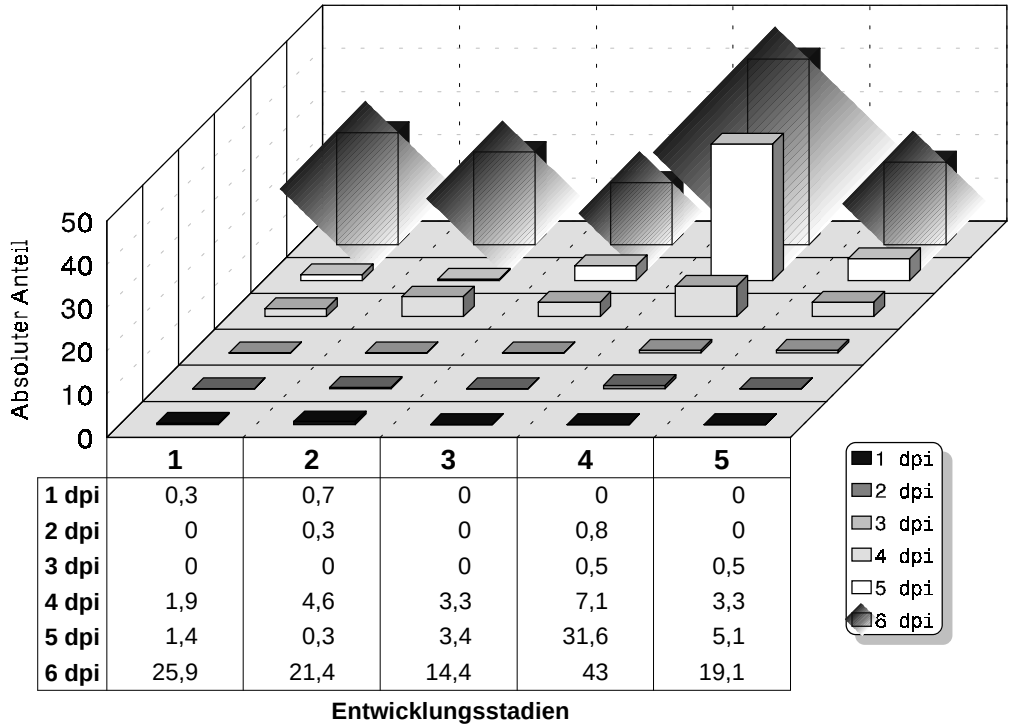


	1	2	3	4	5
1 dpi	0,1	0	0,9	0	0
2 dpi	0,1	0,1	0,6	0,2	0
3 dpi	0,2	0,3	0,4	0,2	0
4 dpi	0,1	0,2	0,3	0,2	0,3
5 dpi	0,3	0	0,3	0,5	0,1
6 dpi	0,3	0,1	0,3	0,5	0,1

Entwicklungsstadien

Abb. 33 Entwicklungsstadien 1-5 der Haustorien von *B. graminis* f. sp. *avenae* an Hafer cv. Barra (BA)

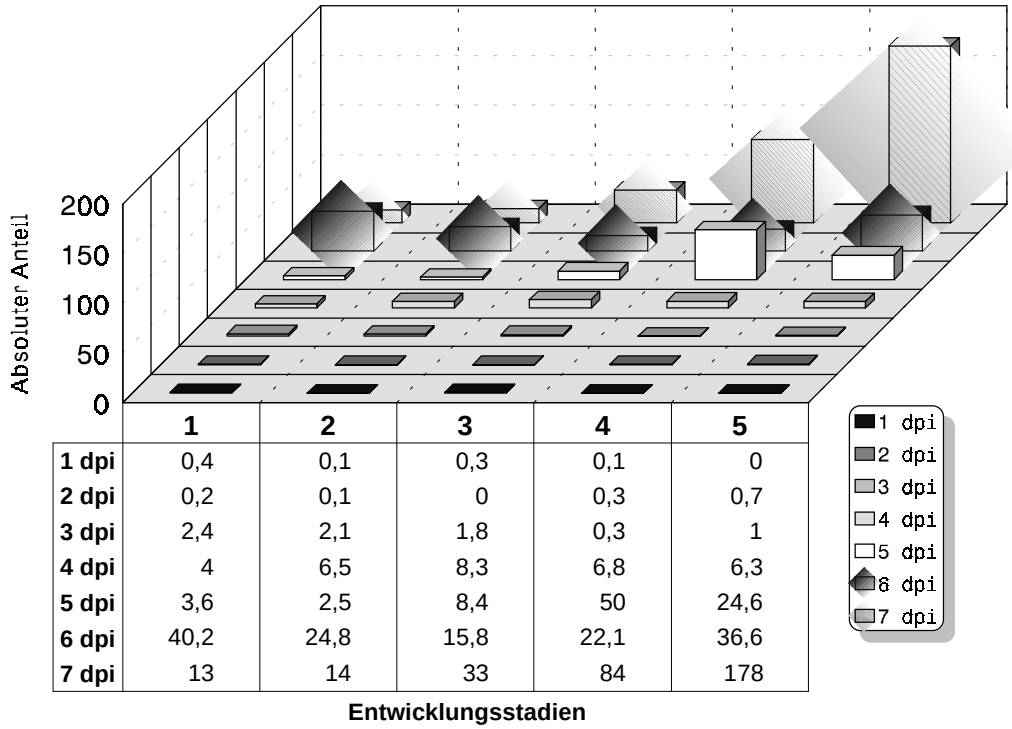
Haustorien der Kategorien 1 und 2 konnten bei KT bereits 1 dpi beobachtet werden (Abb. 34). Haustorien der Kategorie 4 wurden erstmalig 2 dpi, Haustorien der Kategorie 5 erstmals 3 dpi nachgewiesen. Mit Werten zwischen 14,4 und 43,0 erreichten die Entwicklungsstadien 1-5 ihre jeweiligen Maxima 6 dpi.



	1	2	3	4	5
1 dpi	0,3	0,7	0	0	0
2 dpi	0	0,3	0	0,8	0
3 dpi	0	0	0	0,5	0,5
4 dpi	1,9	4,6	3,3	7,1	3,3
5 dpi	1,4	0,3	3,4	31,6	5,1
6 dpi	25,9	21,4	14,4	43	19,1

Abb. 34 Entwicklungsstadien 1-5 der Haustorien von *B. graminis* f. sp. *tritici* an Weizen cv. Kanzler (KT)

Bereits 1 dpi waren bei AH die Kategorien 1-4 vertreten (Abb. 35). Kategorie 5 kam ab 2 dpi hinzu. Ihre Maxima erreichten 6 dpi Kategorie 1 mit einem Wert von 40,2 und Kategorie 2 mit 24,8.



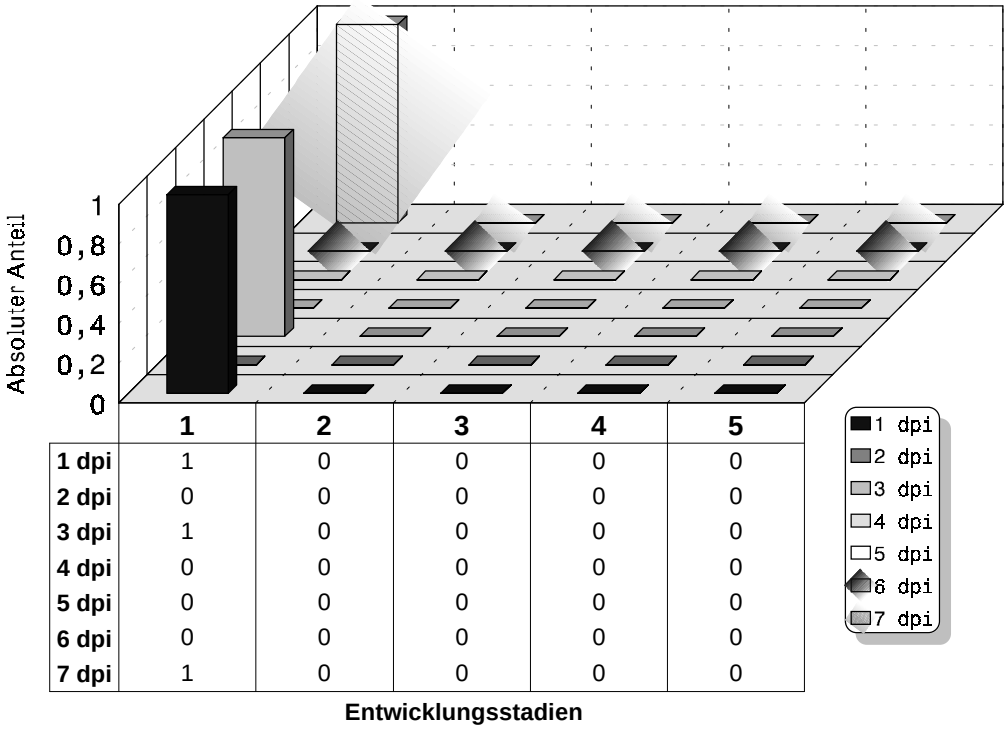
	1	2	3	4	5
1 dpi	0,4	0,1	0,3	0,1	0
2 dpi	0,2	0,1	0	0,3	0,7
3 dpi	2,4	2,1	1,8	0,3	1
4 dpi	4	6,5	8,3	6,8	6,3
5 dpi	3,6	2,5	8,4	50	24,6
6 dpi	40,2	24,8	15,8	22,1	36,6
7 dpi	13	14	33	84	178

Abb. 35 Entwicklungsstadien 1-5 der Haustorien von *B. graminis* f. sp. *hordei* an Gerste cv. Aura (AH)

Der Maximalwert der Kategorie 3 wurde 7 dpi mit einem Wert von 33 registriert. Ebenfalls 7 dpi erzielten die Kategorien 4 und 5 ihre Maxima mit Werten von 84 bzw. 178.

Entwicklungsstadien in inkompatiblen WPS

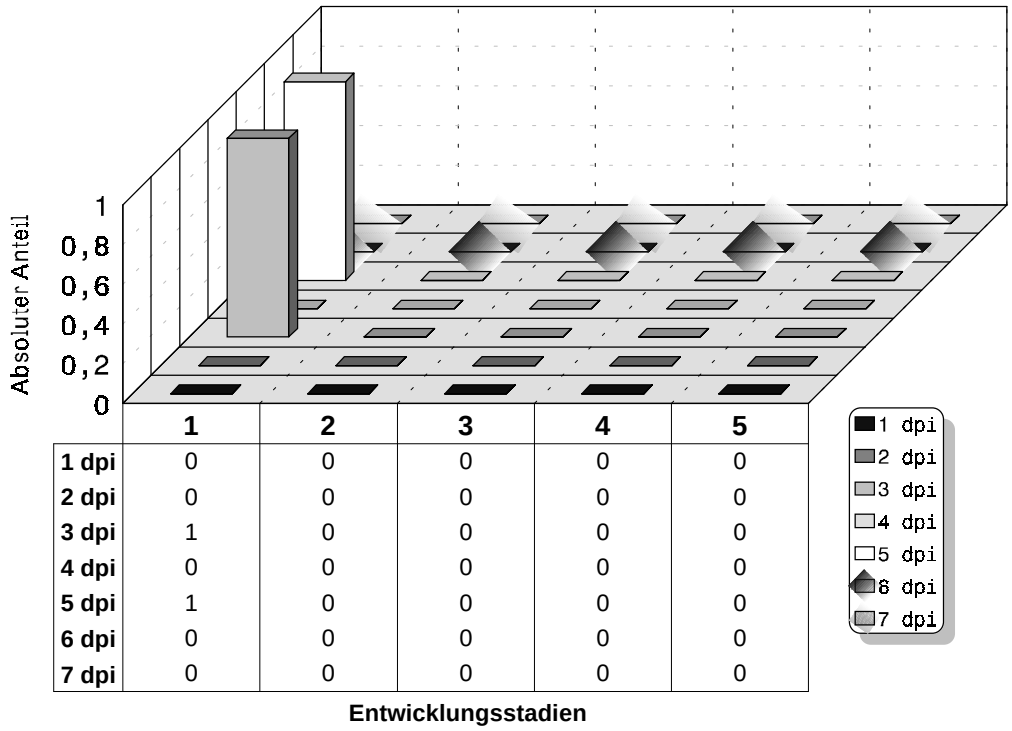
Bei **EH** traten lediglich Haustorien vom Typus 1 auf (Abb. 36). Alle anderen Kategorien waren für dieses inkompatible WPS nicht nachweisbar.



	1	2	3	4	5
1 dpi	1	0	0	0	0
2 dpi	0	0	0	0	0
3 dpi	1	0	0	0	0
4 dpi	0	0	0	0	0
5 dpi	0	0	0	0	0
6 dpi	0	0	0	0	0
7 dpi	1	0	0	0	0

Abb. 36 Entwicklungsstadien 1-5 der Haustorien von *B. graminis* f. sp. *hordei* an Hafer cv. Erbgraf (**EH**)

Auch bei **ET** waren nur Entwicklungsstadien vom Typ 1 mit einem Wert von jeweils 1,0 zu finden (Abb. 37). Eine Weiterentwicklung der Haustorien über diese Kategorie hinaus wurde nicht beobachtet.

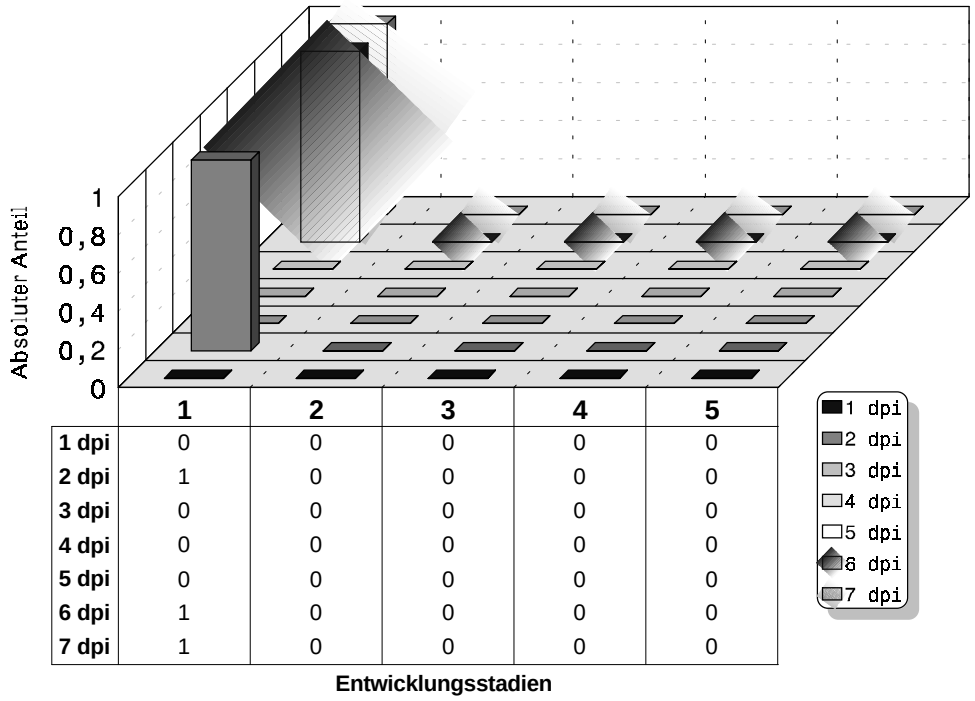


	1	2	3	4	5
1 dpi	0	0	0	0	0
2 dpi	0	0	0	0	0
3 dpi	1	0	0	0	0
4 dpi	0	0	0	0	0
5 dpi	1	0	0	0	0
6 dpi	0	0	0	0	0
7 dpi	0	0	0	0	0

Entwicklungsstadien

Abb. 37 Entwicklungsstadien 1-5 der Haustorien von *B. graminis* f. sp. *tritici* an Hafer cv. Erbgraf (**ET**)

Für das inkompatible WPS **BH** konnten keinerlei Entwicklungsstadien beobachtet werden. Daher entfallen an dieser Stelle die graphischen Darstellungen.

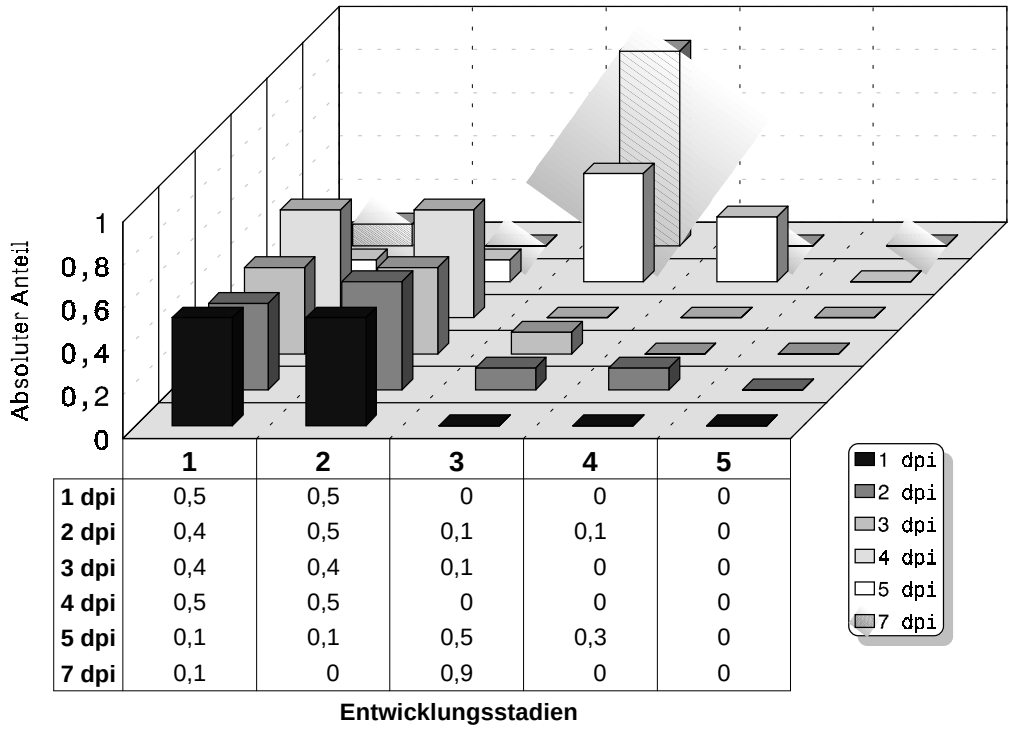


	1	2	3	4	5
1 dpi	0	0	0	0	0
2 dpi	1	0	0	0	0
3 dpi	0	0	0	0	0
4 dpi	0	0	0	0	0
5 dpi	0	0	0	0	0
6 dpi	1	0	0	0	0
7 dpi	1	0	0	0	0

Entwicklungsstadien

Abb. 38 Entwicklungsstadien 1-5 der Haustorien von *B. graminis* f. sp. *tritici* an Hafer cv. Barra (**BT**)

Bei **BT** traten nur Haustorien der Kategorie 1 auf (Abb. 38). Alle anderen Stadien waren hier nicht nachweisbar.



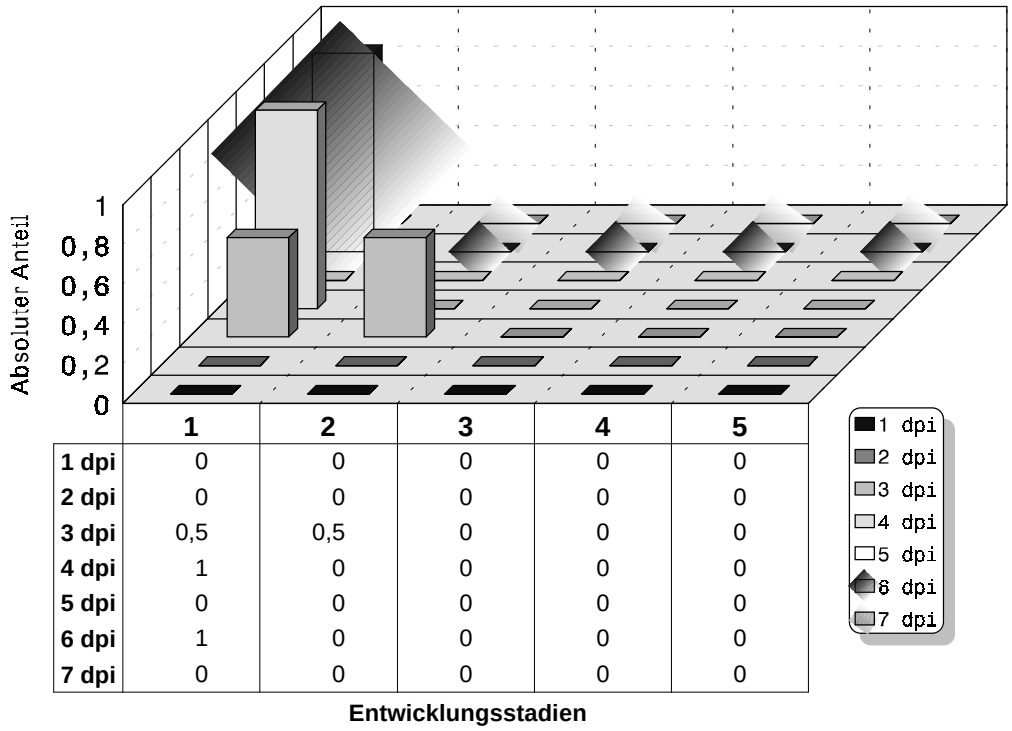
	1	2	3	4	5
1 dpi	0,5	0,5	0	0	0
2 dpi	0,4	0,5	0,1	0,1	0
3 dpi	0,4	0,4	0,1	0	0
4 dpi	0,5	0,5	0	0	0
5 dpi	0,1	0,1	0,5	0,3	0
7 dpi	0,1	0	0,9	0	0

Entwicklungsstadien

Abb. 39 Entwicklungsstadien 1-5 der Haustorien von *B. graminis* f. sp. *avenae* an Weizen cv. Kanzler (**KA**)

Die Stadien 1 und 2 traten bei **KA** bereits 1 dpi auf (Abb. 39). Am zweiten Tag nach der Inokulation kamen die Stadien 3 und 4 hinzu. Während des gesamten Beobachtungszeitraumes konnte für diese inkompatible Interaktion kein Haustorium der Kategorie 5 nachgewiesen werden. Alle ermittelten-Werte bewegten sich unterhalb von 1,0.

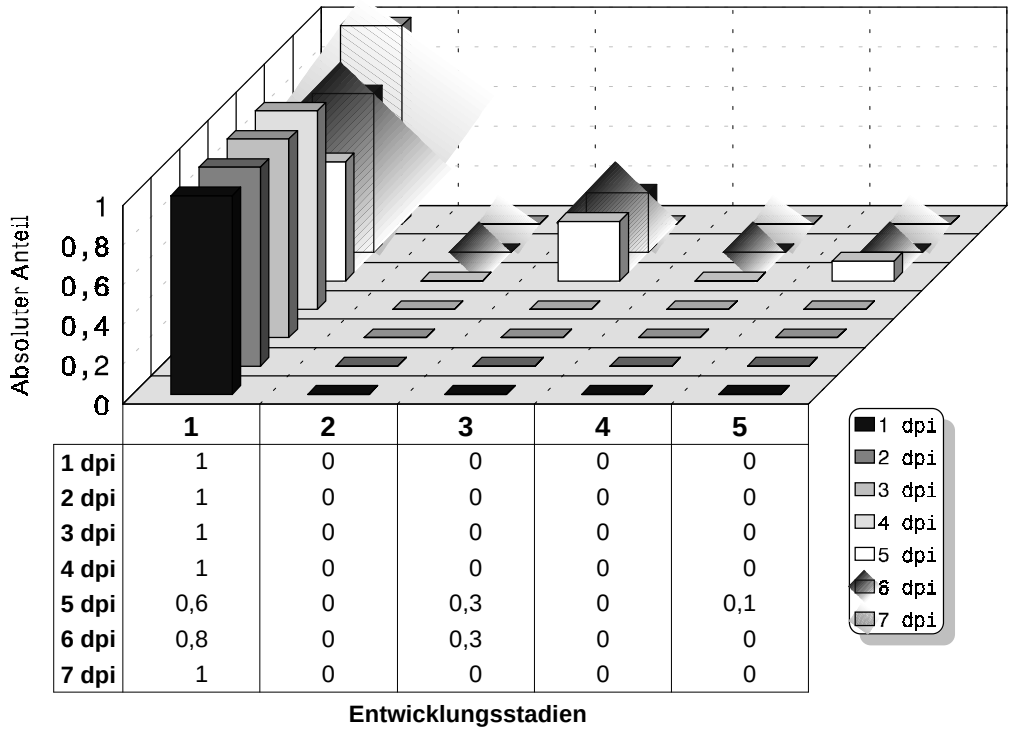
Es traten bei **KH** lediglich Haustorien der Kategorie 1 und 3 dpi auch solche der Kategorie 2 auf (Abb. 40). Andere Entwicklungsstadien wurden hier nicht gefunden. Die Werte lagen nicht über 1,0.



	1	2	3	4	5
1 dpi	0	0	0	0	0
2 dpi	0	0	0	0	0
3 dpi	0,5	0,5	0	0	0
4 dpi	1	0	0	0	0
5 dpi	0	0	0	0	0
6 dpi	1	0	0	0	0
7 dpi	0	0	0	0	0

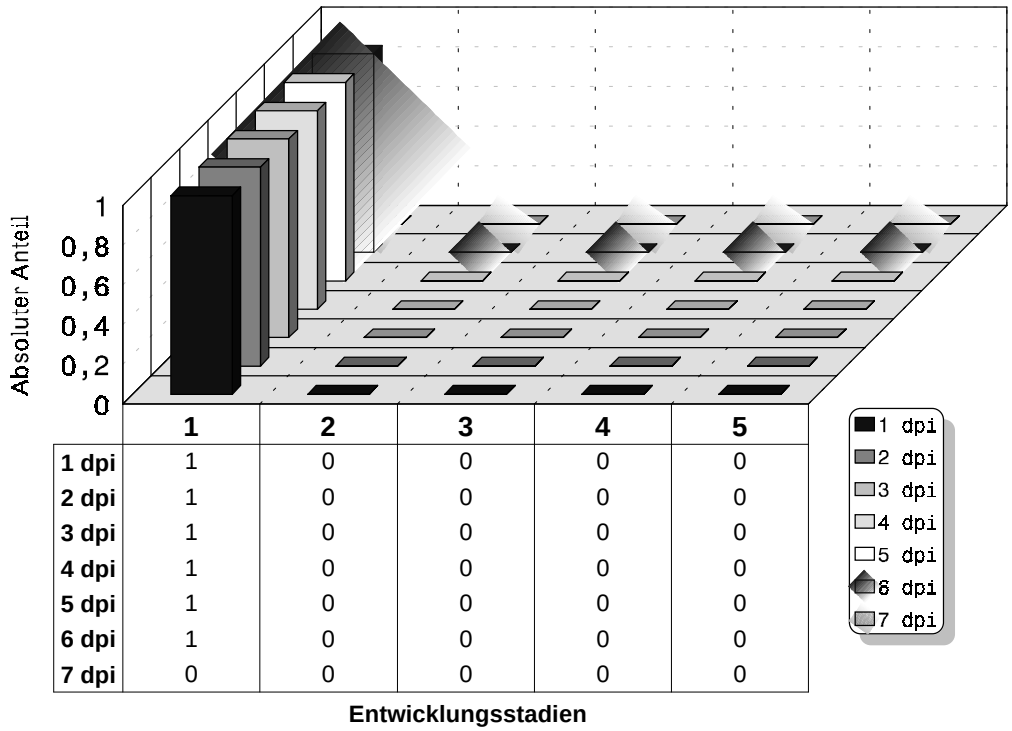
Abb. 40 Entwicklungsstadien 1-5 der Haustorien von *B. graminis* f. sp. *hordei* an Weizen cv. Kanzler (**KH**)

Neben dem Stadium 1, das durchgängig für alle Tage registriert wurde, trat bei **AA** 5 dpi erstmals das Stadium 3 auf (Abb. 41). Ebenso konnte 5 dpi das Entwicklungsstadium 5 beobachtet werden.



	1	2	3	4	5
1 dpi	1	0	0	0	0
2 dpi	1	0	0	0	0
3 dpi	1	0	0	0	0
4 dpi	1	0	0	0	0
5 dpi	0,6	0	0,3	0	0,1
6 dpi	0,8	0	0,3	0	0
7 dpi	1	0	0	0	0

Abb. 41 Entwicklungsstadien 1-5 der Haustorien von *B. graminis* f. sp. *avenae* an Gerste cv. Aura (**AA**)



	1	2	3	4	5
1 dpi	1	0	0	0	0
2 dpi	1	0	0	0	0
3 dpi	1	0	0	0	0
4 dpi	1	0	0	0	0
5 dpi	1	0	0	0	0
6 dpi	1	0	0	0	0
7 dpi	0	0	0	0	0

Abb. 42 Entwicklungsstadien 1-5 der Haustorien von *B. graminis* f. sp. *tritici* an Gerste cv. Aura (**AT**)

Bei **AT** wurden nur Haustorien der Kategorie 1 gebildet (Abb. 42). Alle and eren Stadien traten nicht auf.

3.2.3.9 Konidiophoren

Im Falle kompatibler WPS wurde nach erfolgreicher Etablierung intakter Haustorien in Epidermiszellen der pflanzlichen Wirte auf der Blattoberfläche eine Entwicklung pilzlicher Myzelien bis hin zu Konidiophoren mit reifen Konidien beobachtet. Im Falle inkompatibler WPS endete die Besiedlung durch den Echten Mehltau meist nach Ausbildung von Haustorien, sofern der Pilz hierzu befähigt war. Konidiophoren-Entwicklungsstadien wurden daher in diesen Systemen nicht beobachtet.
Die ermittelten absoluten Werte in den Diagrammen zu den Haustorien- und Konidiophoren-Entwicklungsstadien geben den tatsächlichen Anteil des jeweiligen Entwicklungsstadiums, bezogen auf das von jeweils einer einzigen Konidie ausgehenden Myzels, wider. Es wurden jeweils 200 Oberflächenmyzelien pro WPS untersucht und ausgewertet.

Konidiophoren-Entwicklungsstadien

Es wurde zwischen neun Stadien der Konidiophorengenese unterschieden (Abb. 43):

Stadium 1 kennzeichnet die beginnende Konidiophorenentwicklung. Das charakteristische Merkmal ist die globose, eng der Hyphe anliegende Form mit dem durch Lacto-Baumwollblau stark färbbaren plasmatischen Inhalt.

Stadium 2 hier erfolgt bereits eine Differenzierung in einen basalen, zylinderförmigen und in einen apikalen, globosen Abschnitt.

Stadium 3 die Polarisation ist weiter fortgeschritten. Eine trennende Zellwand wird eingezogen und im apikalen Bereich erscheint ein kleiner Auswuchs. Aus der globosen apikalen Zelle entwickelt sich die flaschenförmige basale Fußzelle der Konidiophore.

Stadium 4 ist eine Sonderform, die nur gelegentlich auftritt. Sie ist gekennzeichnet durch eine Einschnürung im mittleren Bereich der Basalzelle.

Stadium 5 der untere Bereich der Basalzelle ist verdickt, der apikale Bereich erscheint elongiert.

Stadium 6 der apikale Bereich ist durch eine Zellwand von der Basalzelle abgegrenzt.

Stadium 7 bezeichnet ein frühes Stadium der Konidiogenese. Eine weitere Zellwand ist eingezogen, die apikale Zelle ist weiter ausgewachsen und der Umfang hat sich vergrößert.

Stadium 8 hier sind bereits einzelne, noch nicht ausgereifte Konidien zu erkennen.

Stadium 9 charakterisiert Konidiophoren mit vollständig ausgereiften Konidien.

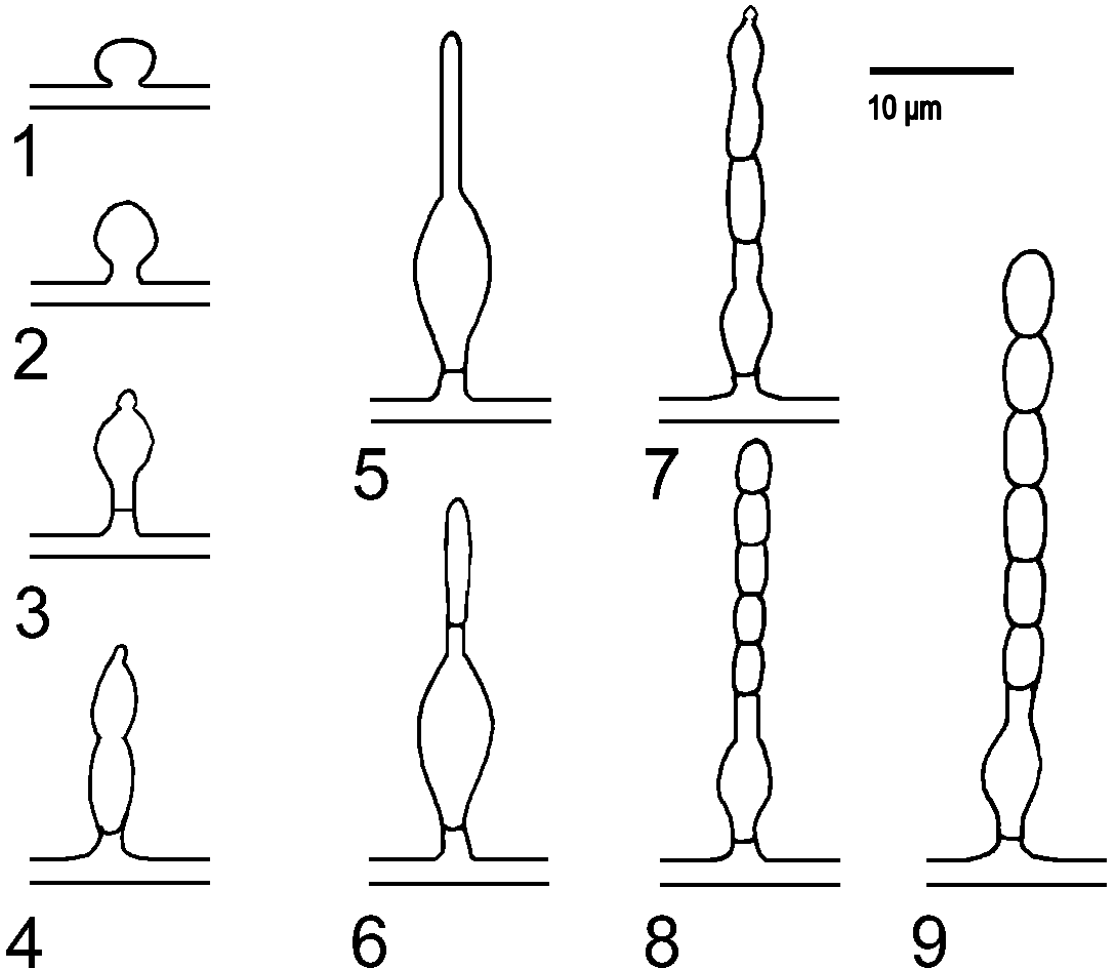
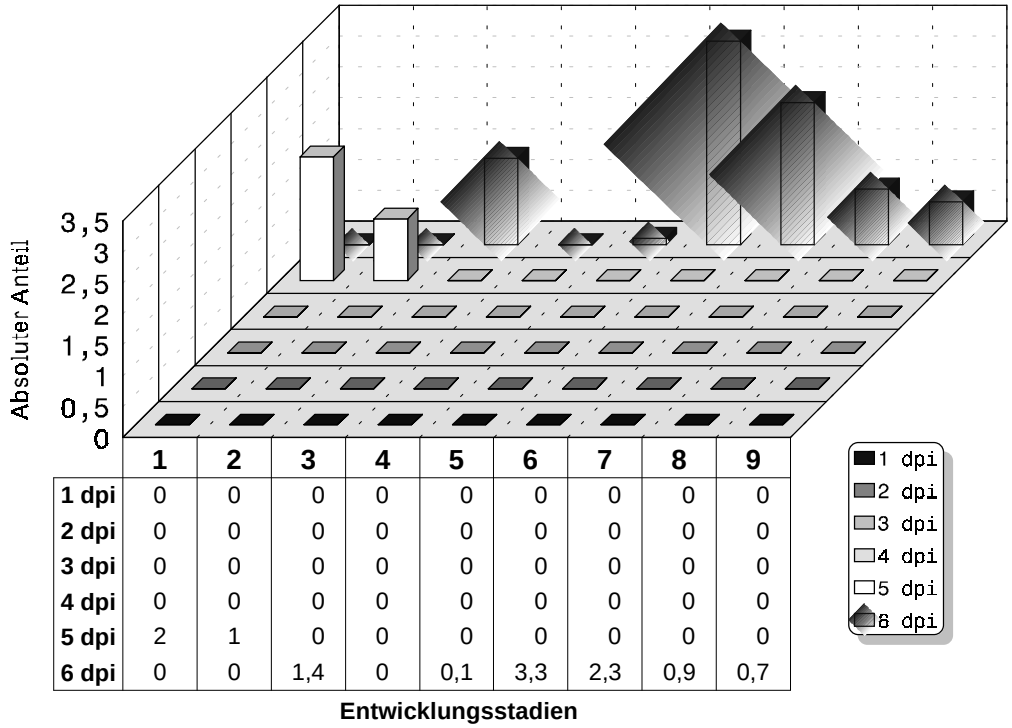


Abb. 43 Entwicklungsstadien der Konidiophoren von *B. graminis*

Bei EA traten 5 dpi Stadium 1 mit einem Wert von 2,0 und Stadium 2 mit einem Wert von 1,0 in Erscheinung (Abb. 44). Die Stadien 3 und 5-9 konnten 6 dpi registriert werden. Stadium 6 erreichte hier den höchsten Wert mit 3,3, gefolgt von Stadium 7 mit einem Wert von 2,3. Stadium 3 war mit einem Wert von 1,4 vertreten. Die Stadien 8 und 9 erzielten Werte von 0,9 bzw. 0,7. Der niedrigste Wert lag mit 0,1 bei Stadium 5.

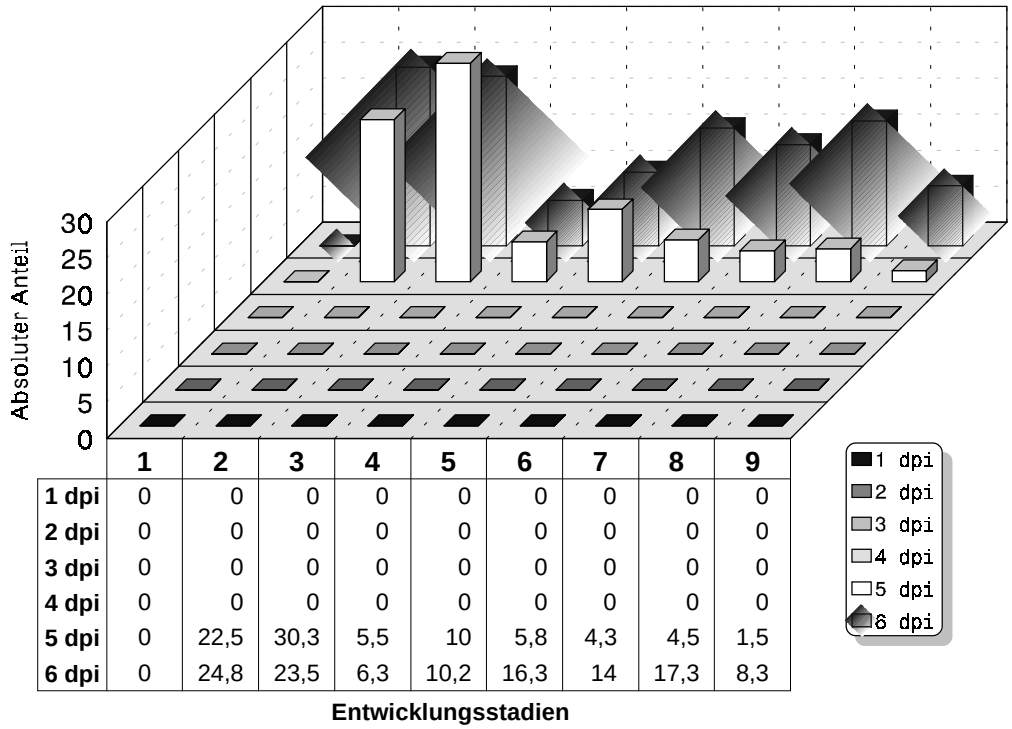
Bei BA konnten aufgrund von Resistenzerscheinungen keine Entwicklungsstadien der Konidiophoren nachgewiesen bzw. ausgewertet werden.



	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1 dpi	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2 dpi	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3 dpi	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4 dpi	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5 dpi	2	1	0	0	0	0	0	0	0
6 dpi	0	0	1,4	0	0,1	3,3	2,3	0,9	0,7

Abb. 44 Entwicklungsstadien 1-9 der Konidiophoren von *B. graminis* f. sp. *avenae* an Hafer cv. Erbgraf (EA)

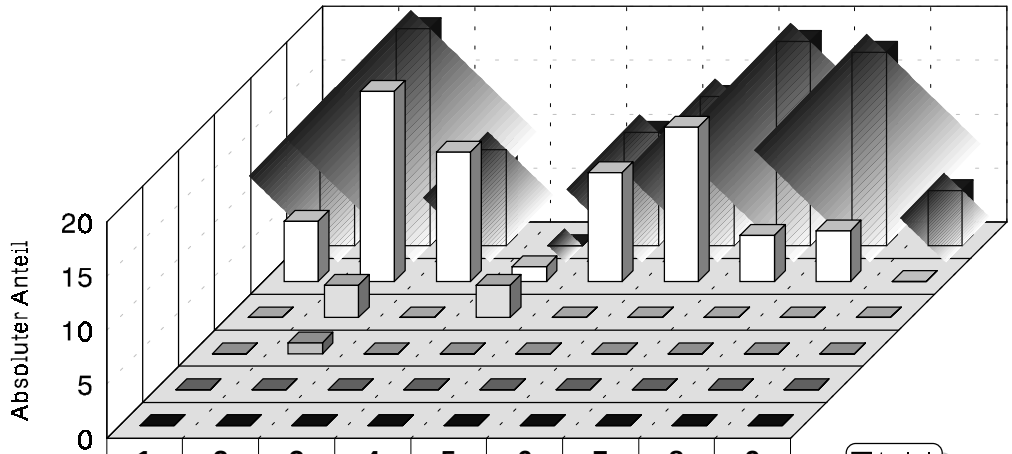
Jeweils 5 und 6 dpi ließen sich bei AH alle Stadien, mit Ausnahme von 1, nachweisen (Abb. 45).



	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1 dpi	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2 dpi	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3 dpi	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4 dpi	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5 dpi	0	22,5	30,3	5,5	10	5,8	4,3	4,5	1,5
6 dpi	0	24,8	23,5	6,3	10,2	16,3	14	17,3	8,3

Abb. 45 Entwicklungsstadien 1-9 der Konidiophoren von *B. graminis* f. sp. *hordei* an Gerste cv. Aura (AH)

Konidiophoren mit noch nicht vollständig ausgereiften Konidien hatten 5 dpi bei den Stadien 7 und 8 mit 4,3 und 4,5 die geringsten Werte. Diese stiegen jedoch 6 dpi auf 14 und 17,3 an. Die höchsten Werte waren 5-6 dpi bei den Stadien 2 und 3 mit 22,5-30,3 zu beobachten. Der Anteil reifer Konidiophoren (Stadium 9) stieg von 1,5 (5 dpi) auf 8,3 (6 dpi) an (Abb. 45).



	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1 dpi	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2 dpi	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3 dpi	0	1	0	0	0	0	0	0	0
4 dpi	0	3	0	3	0	0	0	0	0
5 dpi	5,6	17,6	12	1,4	10,1	14,3	4,3	4,7	0
6 dpi	13	20,1	8,9	0	10,5	13,8	18,9	17,9	5,1

Entwicklungsstadien

Abb. 46 Entwicklungsstadien 1-9 der Konidiophoren von *B. graminis* f. sp. *tritici* an Weizen cv. Kanzler (KT)

Reife Konidiophoren traten bei KT erstmals 6 dpi in Erscheinung (Abb. 46). Bereits 3 dpi war Stadium 2 und 4 dpi Stadium 4 nachweisbar. Die Hauptanteile entfielen 6 dpi auf die Stadien 2, 7 und 8 mit Werten von 17,9-20,1.

3.3 Autofluoreszenz (AF)

Zunächst werden die mit primären Keimhyphen (PGT`s) verbundenen Autofluoreszenzen behandelt, bevor die mit sekundären Keimhyphen (SGT`s) assoziierten Erscheinungen dargestellt werden. Zur Beurteilung der Autofluoreszenzerscheinungen wurden Farbe, Intensität, Ausprägung, Halos und assoziierte Autofluoreszenzerscheinungen als relevante Kriterien herangezogen. Aus Gründen der Übersichtlichkeit wurde hierbei nicht zwischen den verschiedenen Typen von Papillen unterschieden. Diese Vereinfachung erschien akzeptabel, da induzierte AF in pflanzlichen Geweben eine allge-

meine Reaktion auf externe Irritationen oder Reize verschiedenartiger Natur zu sein scheint.

3.3.1 Papillen primärer Keimhyphen (PGT`s)

Intensität der Autofluoreszenzerscheinungen

Es wurde zwischen vier Stufen unterschieden:

0 keine Autofluoreszenz
1 schwache Autofluoreszenz
2 mittlere Autofluoreszenz
3 starke Autofluoreszenz

Schwache AF war als unscheinbares Leuchten gerade noch erkennbar. Als mittlere AF wurde solche bezeichnet, die deutlich erkennbar war, aber nicht die Intensität starker AF erreichte. Starke AF zeichnete sich durch kräftige Leuchterscheinungen von hoher Intensität aus und hob sich dadurch von mittlerer AF deutlich ab.

Tab. 7 Intensität der AF der Papillen der PGT`s (% von jeweils 250 Papillen)

WPS	EA	**EH**	**ET**	BA	**BH**	**BT**	KT	**KA**	**KH**	AH	**AA**	**AT**
AF-Grad												
0	34	7	2	27	0	1	2	2	1	0	0	13
1	3	37	14	49	40	21	52	67	80	70	48	40
2	63	25	34	16	40	27	38	13	18	17	37	38
3	0	31	50	8	20	51	8	18	1	13	15	9

Bei Hafer war in den WPS EA und BA mit 34 bzw. 27 % ein hoher Anteil an Papillen ohne AF vorhanden (Tab. 7). Die entsprechenden inkompatiblen WPS **EH**, **ET**, **BH** und **BT** hatten dagegen nur 0-7 % an Papillen ohne AF. Bei den übrigen WPS an Gerste (A) und Weizen (K) waren solche Unterschiede nicht vorhanden, die Verteilung der AF-Intensität war unabhängig von
der Art der Kompatibilität.

Farbe der Autofluoreszenz

Unterschieden wurde zwischen grüngelblicher, orangerötlicher und rötlicher Farbe der AF (Tab. 8).
Die AF-Farbe an Papillen primärer Keimhyphen von AH zeigte zu 90 % einen grüngelblichen, zu 3 % einen orangerötlichen und zu 7 % einen rötlichen Anteil.
In dem ebenfalls kompatiblen WPS KT fanden sich neben einem Anteil grüngelblich fluoreszierender Papillen in Höhe von 98 % noch 2 % rötlich fluoreszierende Papillen.
Neben einem Anteil von 96 % grüngelblich fluoreszierender Papillen bei **AA** zeigten 4 % rötliche AF.

Tab. 8 Farbe der Papillen der PGT`s (% von jeweils 250 Papillen)

WPS	EA	**EH**	**ET**	BA	**BH**	**BT**	KT	**KA**	**KH**	AH	**AA**	**AT**
AF-Farbe												
gg	100	100	100	100	100	100	98	98	100	90	96	80
orö	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	13
rö	0	0	0	0	0	0	2	2	0	7	4	7

KA zeigte neben 98 % grüngelblich 2 % rötlich fluoreszierende Papillen.
Bei **AT** traten neben 80 % grüngelblich, 13 % orangerötlich und 7 % rötlich fluoreszierende Papillen auf.
Die AF-Farbe war für alle Papillen der restlichen WPS EA, BA, **EH**, **BH**, **KH**, **ET** und **BT** zu 100 % grüngelblich.
Es gab demnach keinen Unterschied in der Farbe der AF für die Art der Kompatibilität.

Ausprägung der Autofluoreszenzerscheinungen

Es wurde grundsätzlich zwischen zwei verschiedenen Arten der Ausprägung der AF-Erscheinungen unterschieden (Abb. 47). Im Gegensatz zur *scharf abgegrenzten Ausprägung* ließ eine *diffuse Ausprägung* eine exakte, scharf umrissene Lokalisation der AF nicht zu.

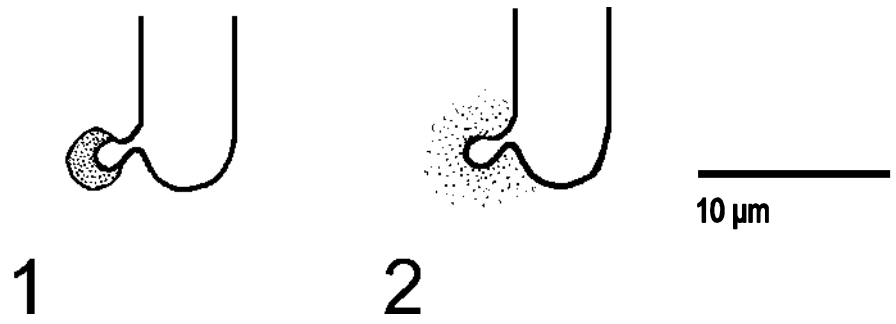
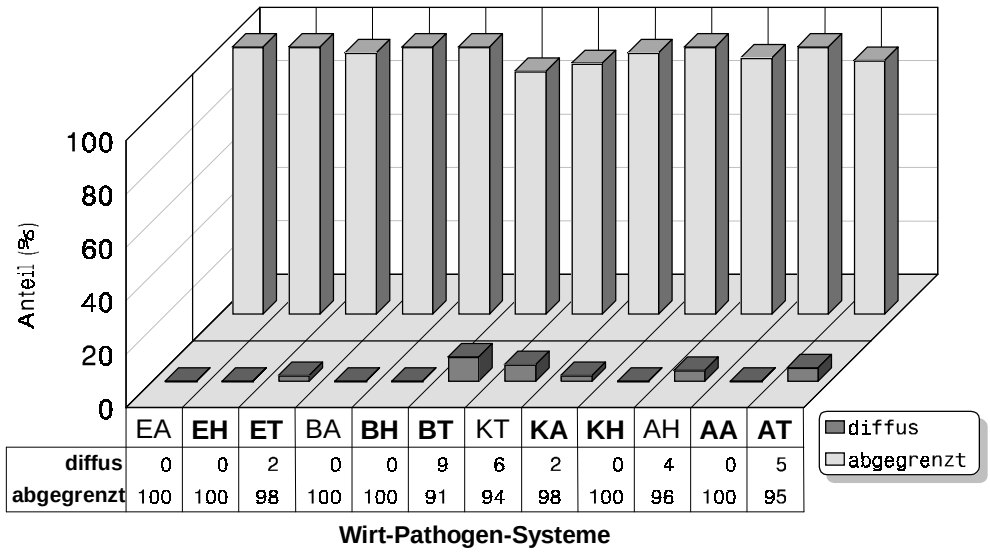


Abb. 47 Ausprägung der Autofluoreszenzerscheinungen (fluoreszierende Bereiche punktiert dargestellt)
1: scharf abgegrenzt
2: diffus, nicht scharf abgegrenzt

Bei allen WPS war die AF der Papillen, unabhängig von der Art der Kompatibilität, zu mehr als 90 % scharf abgegrenzt (Abb. 48).



	EA	**EH**	**ET**	BA	**BH**	**BT**	KT	**KA**	**KH**	AH	**AA**	**AT**
diffus	0	0	2	0	0	9	6	2	0	4	0	5
abgegrenzt	100	100	98	100	100	91	94	98	100	96	100	95

Abb. 48 Ausprägung der AF-Erscheinungen der Papillen der PGT`s (% von jeweils 250 Papillen)

Ausprägung der Halos

Bei den Halos wurde unterschieden zwischen *ringförmig* und *sphärisch fluoreszierenden Halos* (Abb. 49).

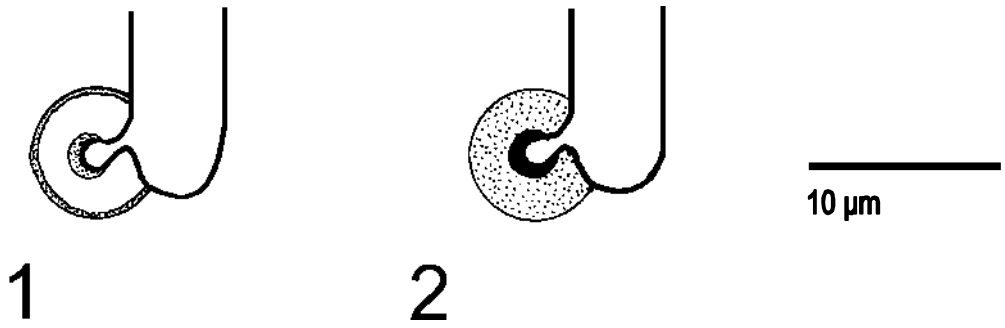


Abb. 49 Halos (fluoreszierende Bereiche punktiert dargestellt)
0: kein Halo
1: ringförmiger Halo
2: sphärischer Halo

Unter Abbildung 50 ist die Ausprägung der Halos der Papillen der PGT´s dargestellt. Die „0“ steht für den Anteil von Papillen ohne Halo. Der prozentuale Anteil ringförmiger Halos (rf) lag bei allen WPS zwischen 0-3 %. Deutlich darüber lagen die prozentualen Anteile sphärischer Halos (sph) mit Werten von 21- 80 %. Eine Ausnahme war EA, hier wurden weder ringförmige noch sphärische Halos beobachtet.

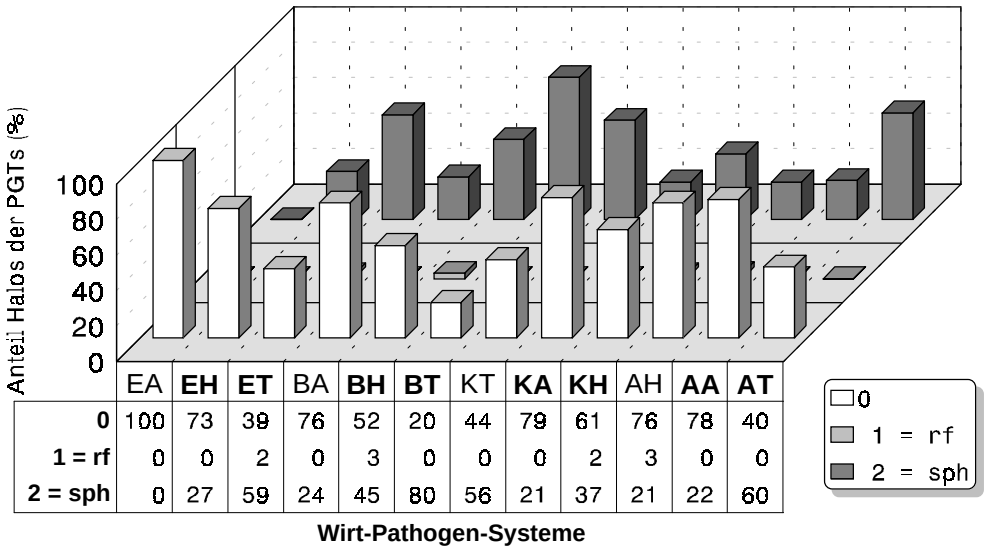
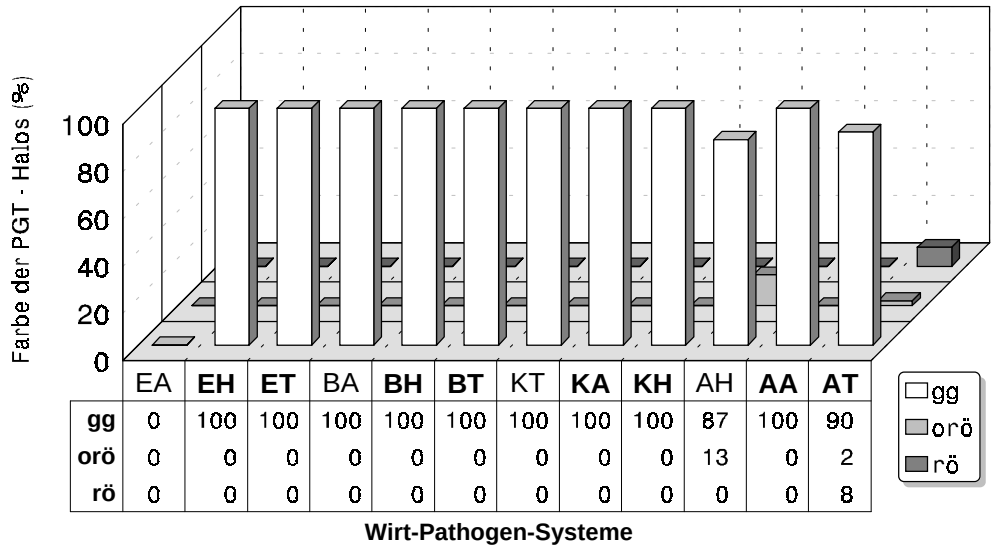


Abb. 50 Ausprägung der Halos der Papillen der PGT´s (% von jeweils 250 Papillen)

Auffällig ist, dass bei allen WPS mit *B. graminis* f. sp. *tritici* (**ET**, **BT**, KT und **AT**) der Anteil sphärischer Halos besonders hoch ist.

Farbe der Halos

Die Farbe der Halos der Papillen PGT`s (Abb. 51) war bei fast allen untersuchten WPS ausschließlich im grüngelblichen Bereich. Eine Ausnahme bildete EA, wo keine Halos auftraten und demzufolge auch keine Angaben zur Farbe möglich waren.



	EA	**EH**	**ET**	BA	**BH**	**BT**	KT	**KA**	**KH**	AH	**AA**	**AT**
gg	0	100	100	100	100	100	100	100	100	87	100	90
orö	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13	0	2
rö	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8

Abb. 51 Farbe der Halos der Papillen der PGT´s (% von jeweils 100 Halos)

Weitere Ausnahmen waren bei AH und **AT** zu finden. Neben 87 % grüngelblich fluoreszierender Halos waren bei AH 13 % orangerötlich fluoreszierende Halos. Grüngelblich fluoreszierende Halos stellten mit 90 % den Hauptanteil bei **AT**. Hier betrug der Anteil orangerötlich fluoreszierender Halos 2 %, der rötlich fluoreszierender Halos 8 %. Die Reaktion wurde durch die Art der Kompatibilität nicht beeinflußt.

Partielle assoziierte Autofluoreszenzerscheinungen

Partielle assoziierte Autofluoreszenzerscheinungen sind definiert als fluoreszierende Abschnitte der Epidermiszellwand in der Nähe von eindringenden Pilzhyphen.
Es wurden folgende Unterscheidungen getroffen (Abb. 52):

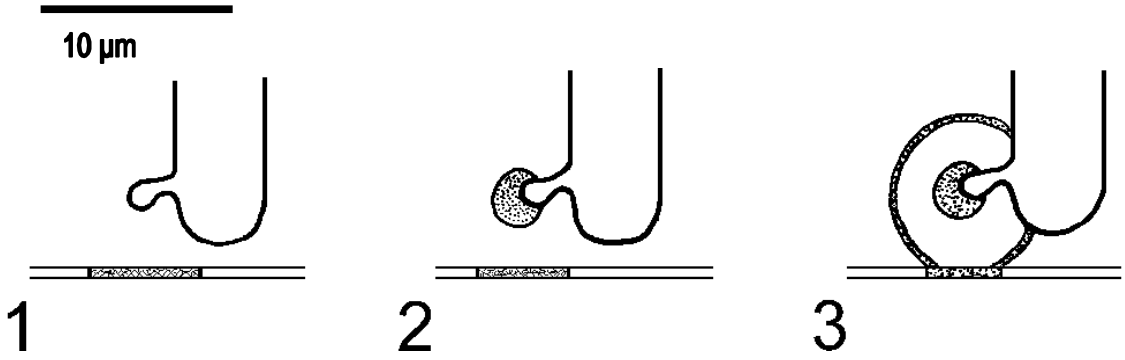
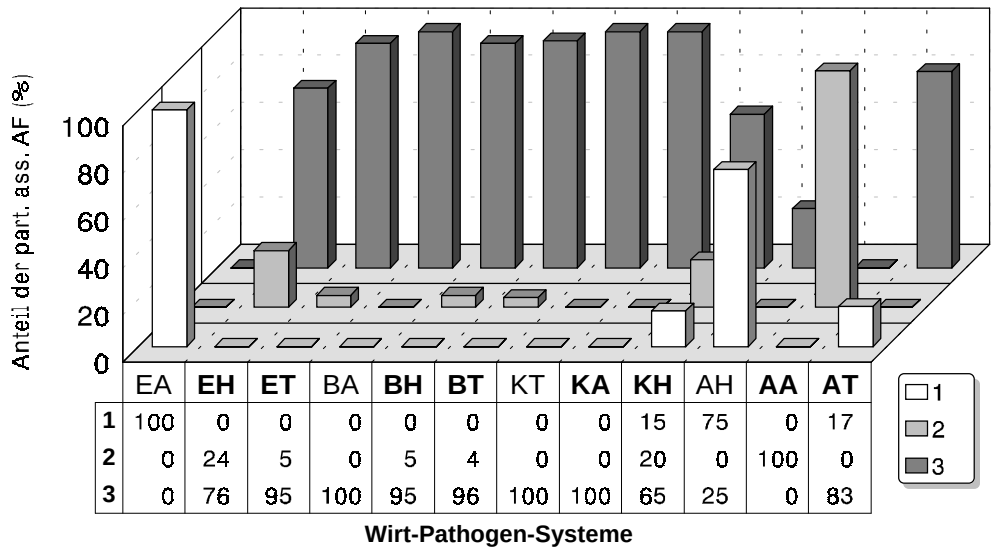


Abb. 52 Partielle assoziierte AF (fluoreszierende Bereiche punktiert dargestellt)
1: assoziierter fluoreszierender Wandbereich, Papille und Halo fehlen
2: assoziierter fluoreszierender Wandbereich, Papille vorhanden, Halo fehlt
3: assoziierter fluoreszierender Wandbereich, Papille mit Halo, fluoreszierender Wandbereich mit Randbereichsauschnitt des Halos übereinstimmend

Mit den AF-Erscheinungen der Papillen der PGT`s war oftmals partielle assoziierte AF zu beobachten (Abb. 53). Dabei gab es deutliche Unterschiede zwischen den WPS.



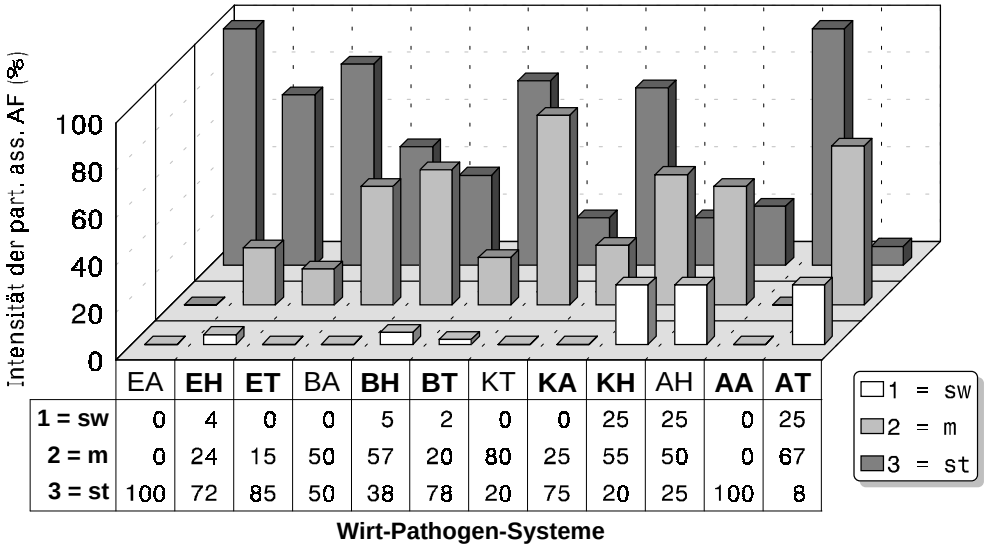
	EA	**EH**	**ET**	BA	**BH**	**BT**	KT	**KA**	**KH**	AH	**AA**	**AT**
1	100	0	0	0	0	0	0	0	15	75	0	17
2	0	24	5	0	5	4	0	0	20	0	100	0
3	0	76	95	100	95	96	100	100	65	25	0	83

Abb. 53 Partielle assoziierte AF der Papillen der PGT´s (% von jeweils 150 Stellen mit partiell assoziierter AF)

Bei den kompatiblen EA und AH überwog ganz eindeutig Typ 1. Beim inkompatiblen **AA** war nur Typ 2 vorhanden, während beim kompatiblen KT und bei den übrigen inkompatiblen WPS Typ 3 dominierte. Ein Zusammenhang zwischen der Art der Kompatibilität und dem o. g. Phänomen war nicht zu erkennen.

Intensität der partiellen assoziierten Autofluoreszenzerscheinungen

Die Intensität dieser partiellen assoziierten AF der PGT`s wurde analog *AF-Intensität* klassifiziert.



	EA	**EH**	**ET**	BA	**BH**	**BT**	KT	**KA**	**KH**	AH	**AA**	**AT**
1 = sw	0	4	0	0	5	2	0	0	25	25	0	25
2 = m	0	24	15	50	57	20	80	25	55	50	0	67
3 = st	100	72	85	50	38	78	20	75	20	25	100	8

Abb. 54 Intensität der partiellen assoziierten AF der Papillen der PGT´s (% von jeweils 150 Stellen mit partiell assoziierter AF)

Sie wurden nach ihrer jeweiligen Intensität in drei Gruppierungen eingeordnet. Gruppe 1 beinhaltet schwache (sw), Gruppe 2 mittlere (m) und Gruppe 3 starke (st) Autofluoreszenz. Eine starke assoziierte AF war in vielen WPS ausgeprägt, eine mittelere assoziierte AF war ebenfalls in vielen WPS in etwas schwächerer Ausprägung vorhanden (Abb. 54). Die zum Teil beträchtlichen Unterschiede waren aber nicht mit der Art der Kompatibilität korreliert.

Farbe der partiellen assoziierten Autofluoreszenzerscheinungen

Mit Ausnahme der Kombinationen **AT** und **KA** waren die partiell assoziierten AF der Papillen der PGT´s bei den untersuchten WPS zu 100 % grüngelblich (Abb. 55). Bei **AT** betrug der Anteil grüngelblich fluoreszierender partiell assoziierter AF 46 %, der rötlich fluoreszierender 54 %. In der Kombination **KA** lag der Anteil grüngelblicher partiell assoziierter AF bei 75 %, der rötlich fluoreszierender bei 25 %.

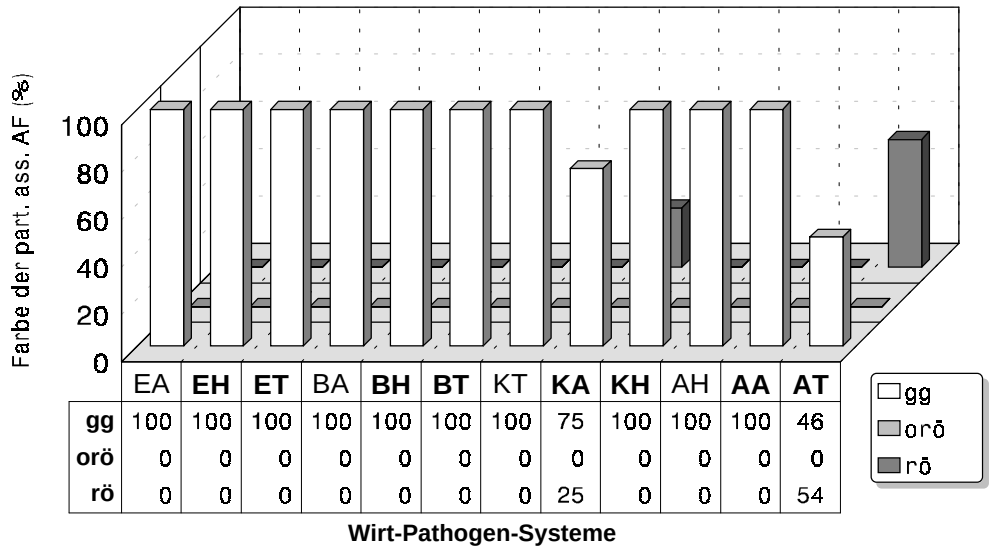


Abb. 55 Farbe der partiellen assoziierten AF der Papillen der PGT´s (% von jeweils 150 Stellen mit partiell assoziierter AF)

Auch in der Farbe der partiellen assoziierten AF waren keine Unterschiede in der Art der Kompatibilität der WPS zu erkennen.

3.3.2 Papillen sekundärer Keimhyphen (SGT`s)

Die untersuchten Parameter entsprechen den unter *3.3.1* vorgestellten Kriterien der PGT`s.

Intensität der Autofluoreszenzerscheinungen aller Penetrationspunkte

Die größten Anteile an Papillen ohne AF waren bei **AA** und **AT** mit 15 bzw. 12 % zu finden (Tab. 9). Die höchsten Werte für schwache AF entfielen auf KT, AH und **AT** mit 40-63 %. Mit Werten von 52 bzw. 50 % waren die höchsten Anteile mittlerer AF bei EA und **BH** vertreten. Mehr als die Hälfte aller Papillen von **EH**, **ET**, BA und **KA** fluoreszierten stark.

Tab. 9 Intensität der AF der Papillen der SGT`s (% von jeweils 250 Papillen)

WPS	EA	**EH**	**ET**	BA	**BH**	**BT**	KT	**KA**	**KH**	AH	**AA**	**AT**
AF-Grad												
0	4	1	1	0	1	4	0	4	2	6	15	12
1	6	12	9	14	27	21	56	14	63	32	21	40
2	52	31	26	25	50	35	37	31	31	34	33	39
3	38	56	64	61	22	40	7	51	4	28	31	9

Demnach gab es keinen Unterschiede in der Intensität der AF für die Art der Kompatibilität.

Farbe der Autofluoreszenzerscheinungen

In den Interaktionen EA, BA, **EH**, **ET** und **BT** fluoreszierten alle Papillen grüngelblich (Tab. 10).

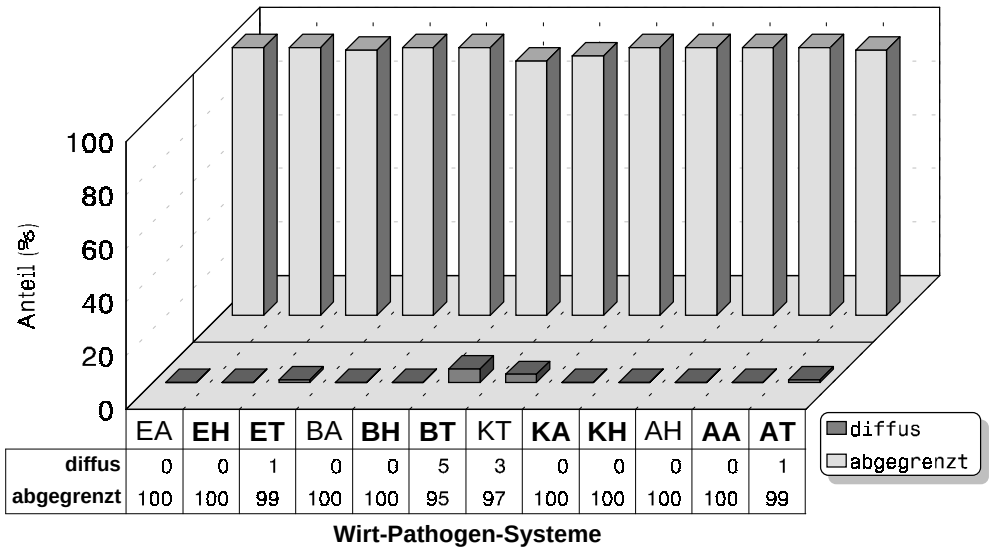
Tab. 10 Farbe der AF der Papillen der SGT`s (% von jeweils 250 Papillen)

WPS	EA	**EH**	**ET**	BA	**BH**	**BT**	KT	**KA**	**KH**	AH	**AA**	**AT**
AF-Farbe												
gg	100	100	100	100	99	100	98	99	99	91	80	50
orö	0	0	0	0	1	0	0	1	0	4	3	10
rö	0	0	0	0	0	0	2	0	1	5	17	40

Bei AH fluoreszierten 91 % der Papillen mit grüngelblicher, 4 % mit orangerötlicher und 5 % mit rötlicher Farbe. Neben 98 % Papillen mit grüngelblicher AF bei KT traten 2 % der Papillen mit einer rötlichen AF in Erscheinung. **AA** zeigte neben einem Anteil von 80 % grüngelblich, 3 % orangerötlich und 17 % rötlich fluoreszierende Papillen. Mit einem Anteil von jeweils 99 % fluores zierten die Papillen der SGT`s von **KA** und **BH** grüngelblich und mit einem Anteil von jeweils 1 % orangerötlich. Der Hauptanteil lag bei **KH** mit 99 % bei grüngelblich fluoreszierenden Papillen. Auf rötlich fluoreszierende Papillen entfiel ein Anteil von 1 %. Die Hälfte der Papillen fluoreszierten bei **AT** mit grüngelblicher, 10 % mit orangerötlicher und 40 % mit rötlicher Farbe.
Zwischen Farbe der AF und der Art der Kompatibilität war kein Zusammenhang ersichtlich.

Ausprägung der Autofluoreszenzerscheinungen

In den WPS EA, **EH**, BA, **BH**, **KA**, **KH**, AH und **AA** wurde ausschließlich scharf abgegrenzte AF beobachtet (Abb. 56). Bei **ET**, **BT**, KT und **AT** lagen die diesbezüglichen Werte zwischen 95-99 %.



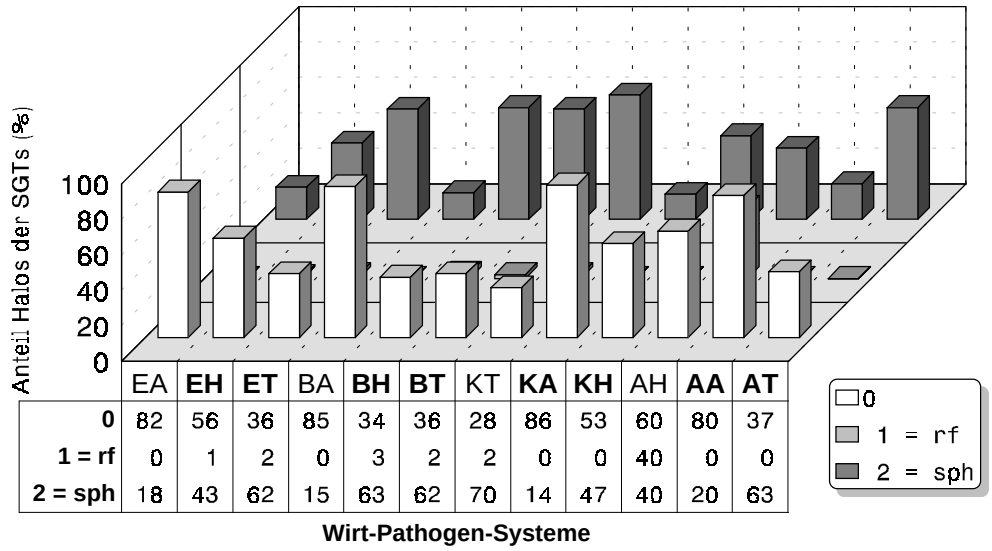
	EA	**EH**	**ET**	BA	**BH**	**BT**	KT	**KA**	**KH**	AH	**AA**	**AT**
diffus	0	0	1	0	0	5	3	0	0	0	0	1
abgegrenzt	100	100	99	100	100	95	97	100	100	100	100	99

Abb. 56 Ausprägung der Autofluoreszenzerscheinungen der Papillen der SGT´s (% von jeweils 250 Papillen)

Bei allen WPS war die AF der SGT-Papillen, unabhängig von der Art der Kompatibilität, zu mindestens 95 % scharf abgegrenzt.

Ausprägung der Halos

Der Anteil der Papillen ohne erkennbare Halos (0) lag zwischen 28 % bei KT und 86 % bei **KA** (Abb. 57). Bei EA, BA, **KA**, **KH**, **AA** und **AT** wurden keine ringförmigen Halos (rf) gefunden. Diese waren bei AH mit 40 % vertreten. Sphärische Halos (sph) erreichten Anteile von 14 % bei **KA** bis zu 70 % bei KT.



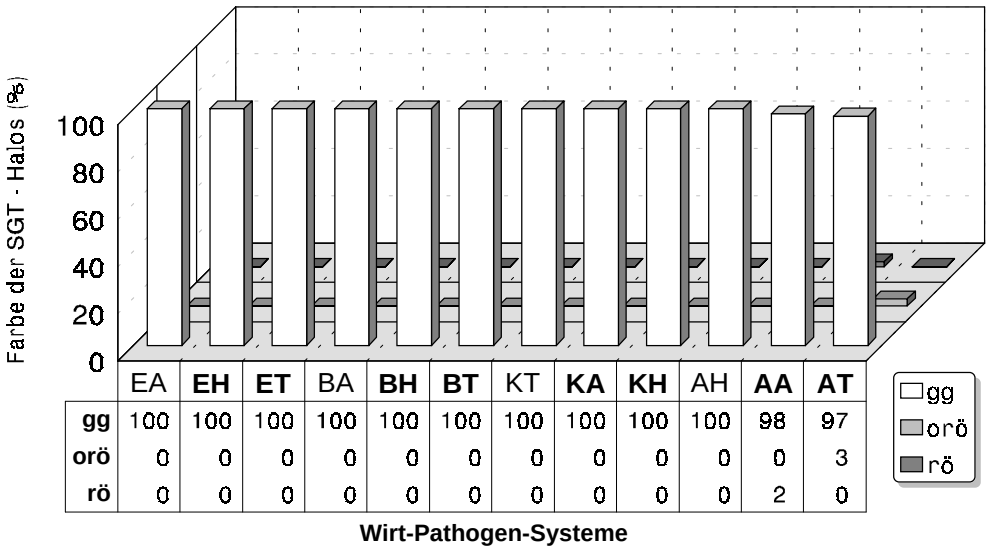
	EA	**EH**	**ET**	BA	**BH**	**BT**	KT	**KA**	**KH**	AH	**AA**	**AT**
0	82	56	36	85	34	36	28	86	53	60	80	37
1 = rf	0	1	2	0	3	2	2	0	0	40	0	0
2 = sph	18	43	62	15	63	62	70	14	47	40	20	63

Abb. 57 Ausprägung der Halos der Papillen der SGT´s (% von jeweils 250 Papillen)

Ein Zusammenhang zwischen Art der Kompatibilität und Ausprägung der Halos konnte nicht festgestellt werden.

Farbe der Halos

Bis auf zwei Ausnahmen erschienen die Halos der untersuchten WPS jeweils
zu 100 % mit grüngelblicher AF (Abb. 58). Zwar stellten in den Kombinationen **AA** und **AT** die grüngelblich fluoreszierenden Halos mit 98 und 97 % den Hauptanteil, jedoch fluoreszierten 2 % bei **AA** rötlich und 3 % bei **AT** orangerötlich.



	EA	**EH**	**ET**	BA	**BH**	**BT**	KT	**KA**	**KH**	AH	**AA**	**AT**
gg	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	98	97
orö	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3
rö	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0

Abb. 58 Farbe der Halos der Papillen der SGT´s (% von jeweils 100 Halos)

Es ist auffällig, dass nur in inkompatiblen Systemen von Gerste cv. Aura mit Echtem Mehltau rötliche bzw. orangerötliche Halos auftraten.

Partielle assoziierte Autofluoreszenzerscheinungen

Mit Ausnahme von EA und BA lagen die Hauptanteile der partiellen assoziierten AF für die einzelnen WPS jeweils in Gruppe 3, bei 64-100 %. (Abb. 59). Die Maxima beider Ausnahmen befanden sich in Gruppe 2.

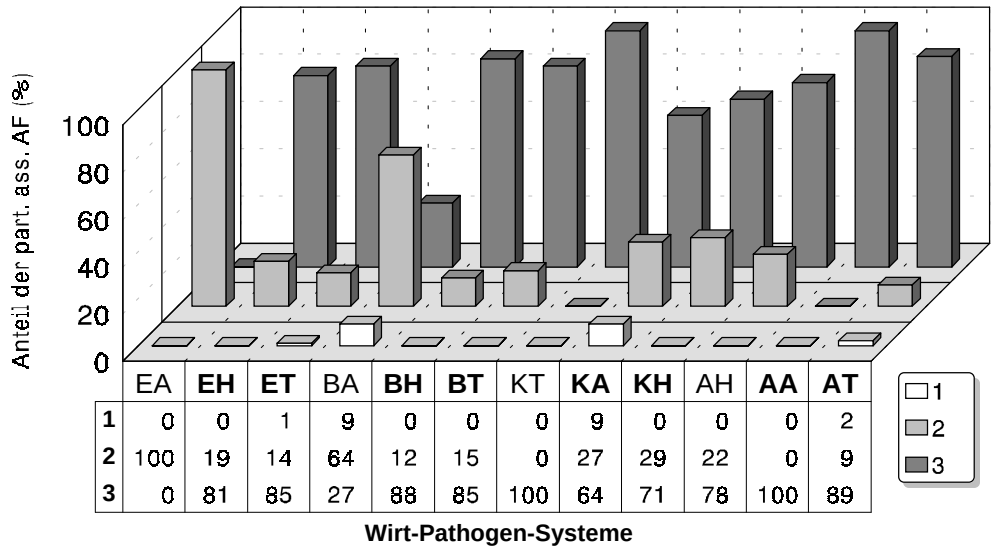


Abb. 59 Partielle assoziierte AF der Papillen der SGT´s (% von jeweils 150 Stellen mit partiell assoziierter AF)

Art der Kompatibilität und Anteil der partiellen assoziierten AF zeigten keinen erkennbaren Zusammenhang.

Intensität der partiellen assoziierten Autofluoreszenzerscheinungen

Die höchsten Anteile schwacher assoziierter AF verbuchten KT mit 24 % und **AT** mit 27 % (Abb. 60).

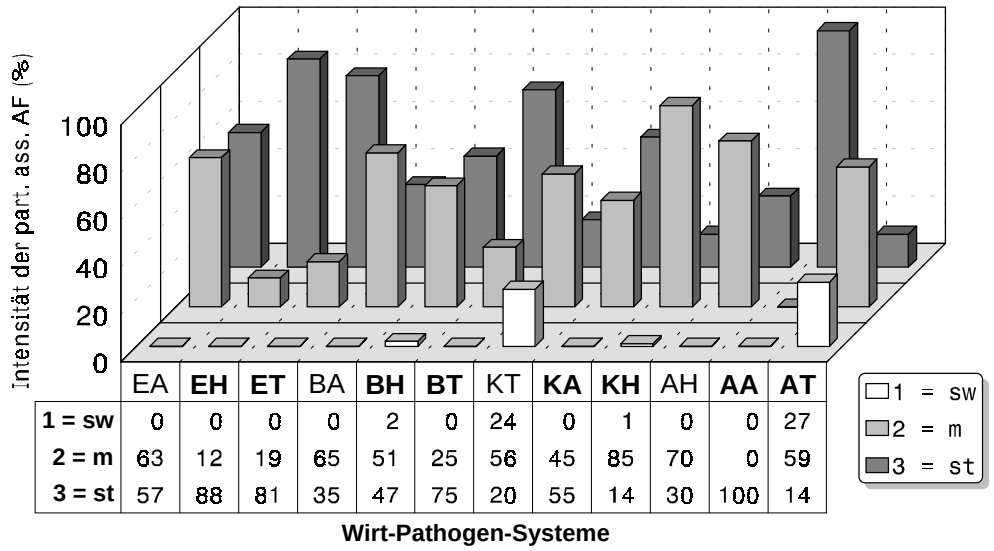
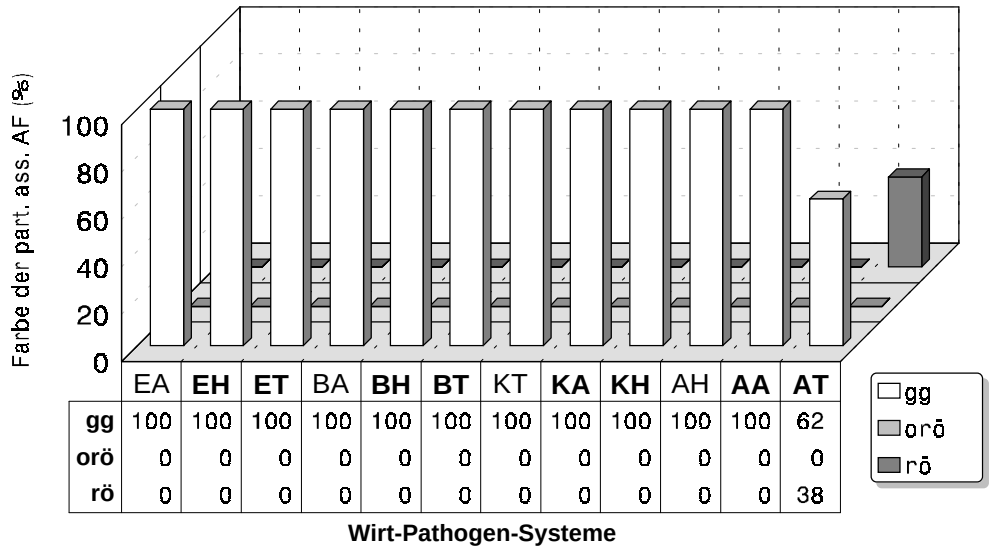


Abb. 60 Intensität der partiellen assoziierten AF der Papillen der SGT´s (% von jeweils 150 Stellen mit partiell assoziierter AF)

Des weiteren trat nur noch bei **BH** und **KH** eine schwache Ausprägung in Erscheinung. In allen WPS dominierte mittlere und starke assoziierte AF. AA zeigte ausschließlich starke Intensitäten.
Zwischen Intensität der AF und Art der Kompatibilität war kein Zusammenhang zu erkennen.

Farbe der partiellen assoziierten Autofluoreszenzerscheinungen

Mit Ausnahme von **AT** war die Farbe der partiellen assoziierten AF in allen untersuchten WPS immer zu 100 % grüngelblich (Abb. 61). Bei **AT** zeigte ein Anteil von 38 % rötliche AF.



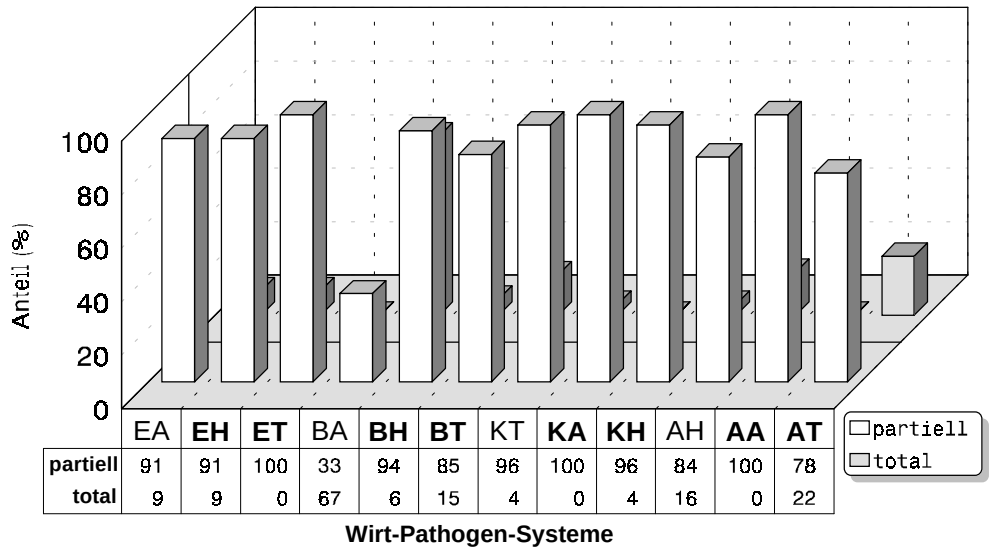
	EA	**EH**	**ET**	BA	**BH**	**BT**	KT	**KA**	**KH**	AH	**AA**	**AT**
gg	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	62
orö	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
rö	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	38

Abb. 61 Farbe der partiellen assoziierten AF der Papillen der SGT´s (% von jeweils 150 Stellen mit partiell assoziierter AF)

Auch hinsichtlich der Farbe der partiellen assoziierten AF der SGT-Papillen waren keine Unterschiede in der Art der Kompatibilität der WPS zu sehen.

Grad der assoziierten Wandfluoreszenzerscheinungen

Partielle assoziierte Wandfluoreszenzen konnten für alle Interaktionen nachgewiesen werden (Abb. 62).



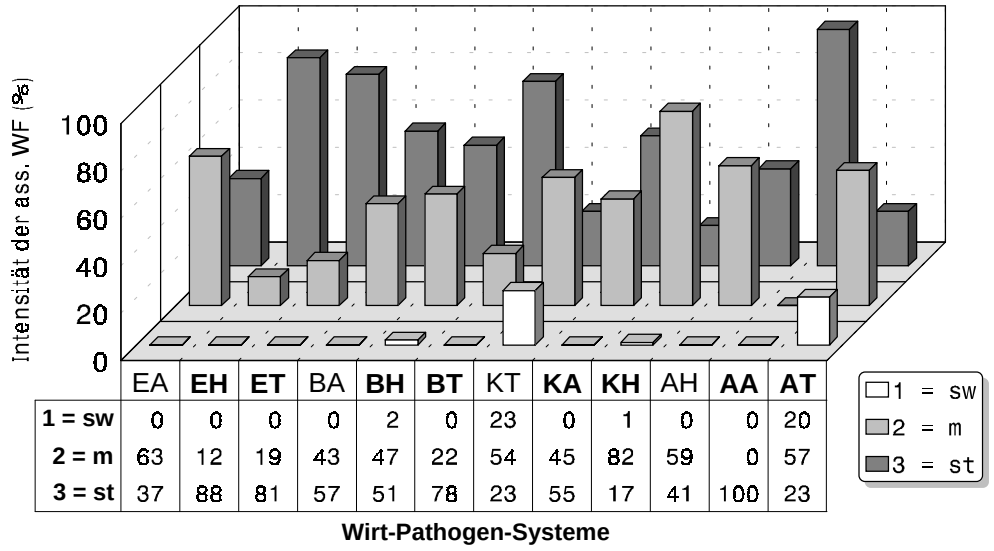
	EA	**EH**	**ET**	BA	**BH**	**BT**	KT	**KA**	**KH**	AH	**AA**	**AT**
partiell	91	91	100	33	94	85	96	100	96	84	100	78
total	9	9	0	67	6	15	4	0	4	16	0	22

Abb. 62 Grad der mit den Papillen der SGT´s assoziierten Wandfluoreszenz (% von jeweils 100 Stellen mit assoziierter WF)

Bei **ET**, **AA** und **KA** wurden keine totalen Wandfluoreszenzen beobachtet.

Intensität der assoziierten Wandfluoreszenzerscheinungen

Aus Abb. 63 kann die Intensität der mit den Papillen der SGT´s assoziierten Wandfluoreszenzerscheinungen entnommen werden.



	EA	**EH**	**ET**	BA	**BH**	**BT**	KT	**KA**	**KH**	AH	**AA**	**AT**
1 = sw	0	0	0	0	2	0	23	0	1	0	0	20
2 = m	63	12	19	43	47	22	54	45	82	59	0	57
3 = st	37	88	81	57	51	78	23	55	17	41	100	23

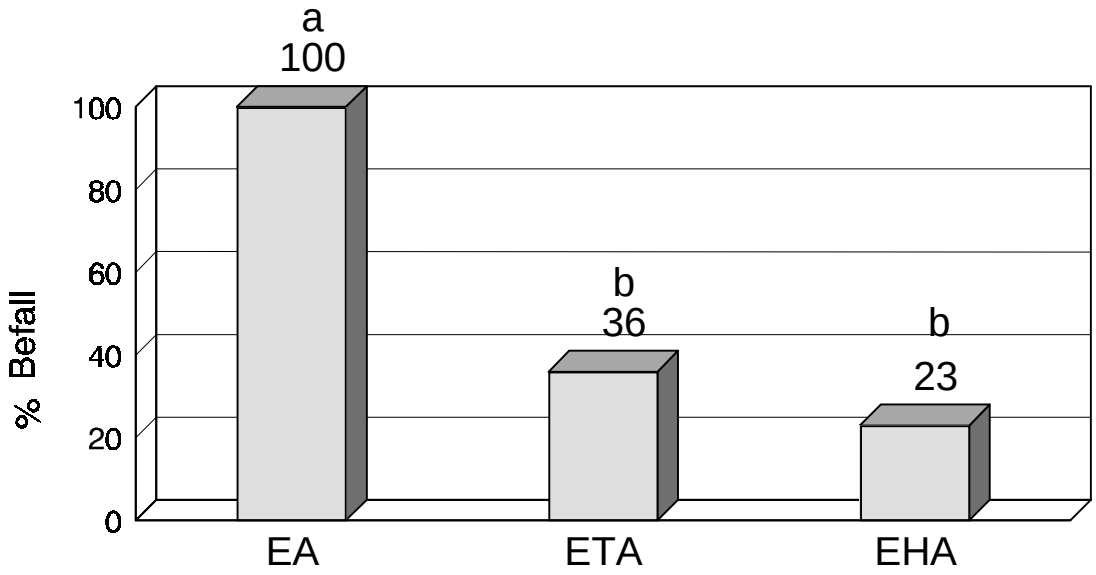
Abb. 63 Intensität der mit den Papillen der SGT´s assoziierten Wandfluoreszenz (% von jeweils 100 Stellen mit assoziierter WF)

Die Hauptanteile lagen, unabhängig von der Art der Kompatibilität, für alle untersuchten Interaktionen im Bereich mittlerer bzw. starker Intensität.

3.4 Resistenzinduktion durch Vorinokulation mit apathogenen ff. sp. von *B. graminis*

Mehltaubefall nach Vorinokulation

In allen Vorinokulationsversuchen wurde jeweils 24 h nach einer Vorinokulation mit einer inkompatiblen f. sp. von *B. graminis* mit der betreffenden kompatiblen f. sp. nachinokuliert. Ausgewertet wurden die Pusteln/cm^2 befallener Blattflächen 8 dpi. Bei einer Vorinokulation vom Hafer cv. Erbgraf mit der f. sp. *tritici* konnte eine Befallsverminderung von 64 % gegenüber der unbehandelten Kontrolle erzielt werden (Abb. 64). Vorinokulation mit der f. sp. *hordei* ergab eine Reduktion von 77 %.



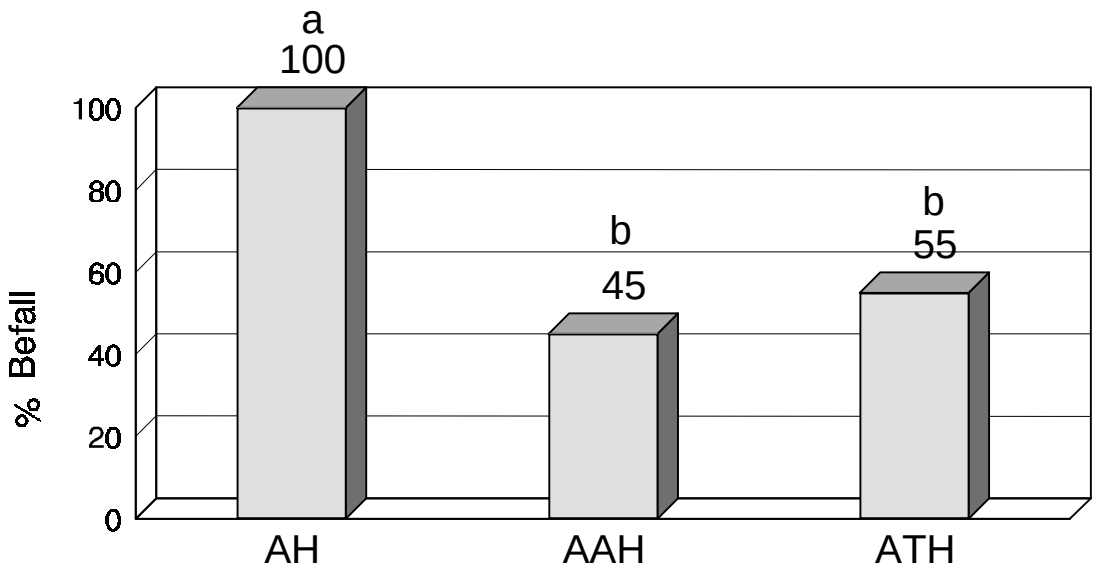
gleiche Buchstaben bedeuten keine signifikanten Unterschiede im Tukey-Test (p = 0,05)

Abb. 64 Mehltaubefall vom *A. sativa* cv. Erbgraf durch Inokulation mit *B. graminis* f. sp. *avenae* nach Vorinokulation mit den inkompatiblen ff. sp. *hordei* bzw. *tritici* (EHA und ETA), im Vergleich zur Kontrolle (EA) 8 dpi

Bei Gerste cv. Aura konnte durch eine Vorinokulation mit der f. sp. *avenae* eine Befallsverminderung von 55 % gegenüber der unbehandelten Kontrolle erzielt werden (Abb. 65). Vorinokulation mit der f. sp. *tritici* reduzierte den Befall um 45 %.

Bei Weizen cv. Kanzler wurde durch Vorinokulation mit der f. sp. *avenae* eine Befallsverminderung um 84 % erreicht (Abb. 66). Der Befall verminderte sich nach Vorinokulation mit der f. sp. *hordei* um 87 % gegenüber der nicht vorinokulierten Kontrolle.

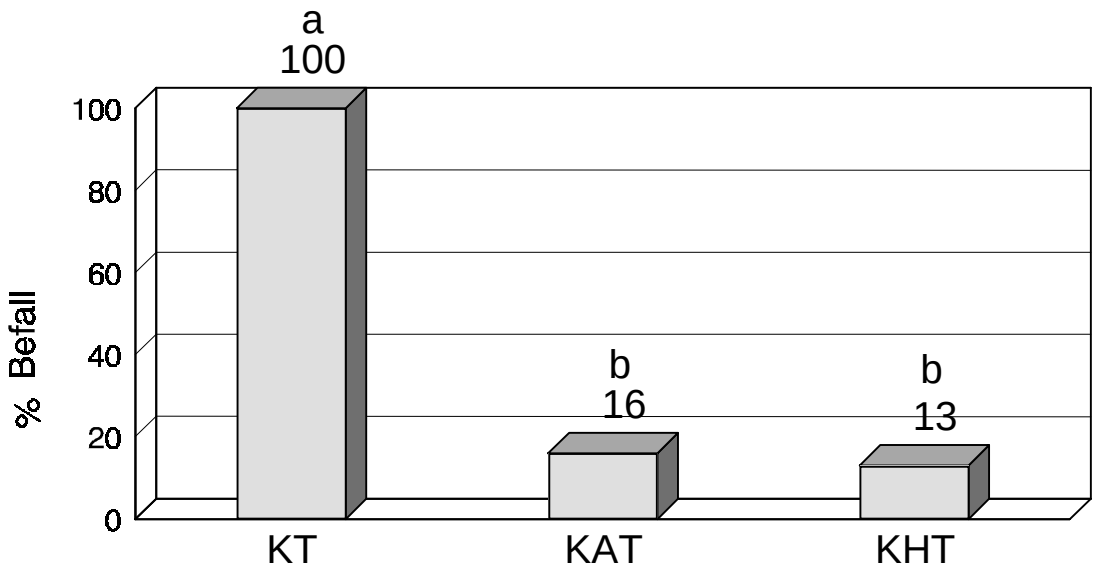
Die Konidiendichten der Vorinokuli betrugen bei den Versuchen mit cv. Erbgraf sowohl für die f. sp. *tritici* als auch für die f. sp. *hordei* jeweils 272 Konidien/cm^2. Inokuliert wurde die f. sp. *avenae* mit einer Konidiendichte von 45 Konidien/cm^2. Bei Versuchen mit cv. Aura betrugen die Konidiendichten der Vorinokuli von f. sp. *avenae* 165 Konidien/cm^2 und für die f. sp. *tritici* 53 Konidien/cm^2. Des Konidiendichte des Inokulums der f. sp. *hordei* betrug 62



gleiche Buchstaben bedeuten keine signifikanten Unterschiede im Tukey-Test (p = 0,05)

Abb. 65 Mehltaubefall vom *H. vulgare* cv. Aura durch Inokulation mit *B. graminis* f. sp. *hordei* nach Vorinokulation mit den inkompatiblen ff. sp. *avenae* bzw. *tritici* (AAH und ATH), im Vergleich zur Kontrolle (AH) 8 dpi

Konidien/cm^2. Beim Weizen cv. Kanzler wurde die f. sp. *avenae* mit einer Konidiendichte von 165 Konidien/cm^2 und die f. sp. *hordei* mit 23 Konidien/cm^2 vorinokuliert. Die Inokulationsdichte betrug 45 Konidien/cm^2 für die f. sp. *tritici.*



gleiche Buchstaben bedeuten keine signifikanten Unterschiede im Tukey-Test (p = 0,05)

Abb. 66 Mehltaubefall vom *T. aestivum* cv. Kanzler durch Inokulation mit *B. graminis* f. sp. *tritici* nach Vorinokulation mit den inkompatiblen ff. sp. *avenae* bzw. *hordei* (KAT und KHT), im Vergleich zur Kontrolle (KT) 8 dpi

Auch für Hafer cv. Barra konnten ähnliche Resultate durch Vorinokulation mit apathogenen ff. sp. von *B. graminis* erzielt werden (s. Abb. 78) im Abschnitt *3.4.5 Versuche zur Resistenzinduktion mit abgeschnittenen Blättern auf Benzimidazolagar*.

Weitere Parameter

Nachfolgend werden weitere Aspekte des Systems cv. Erbgraf vorgestellt. Parameter wie Papillentypen und –größen, AF, Haustorienbildung und andere konnten in dieser Versuchsreihe noch keine Berücksichtigung finden, da die genauen Auswertungskriterien hierfür erst im Verlaufe anschließender Versuchsreihen ausgearbeitet werden konnten. Die höchste Konidienkeimung des Systems wurde mit jeweils 100 % in den beiden Vorinokulationsvarianten EHA und ETA registriert (Abb. 67). Jeweils 99 % wiesen die Kontrollvariante EA und die Variante **EH** auf. Mit 96 % wurde der niedrigste Wert in der Variante **EH** gefunden.

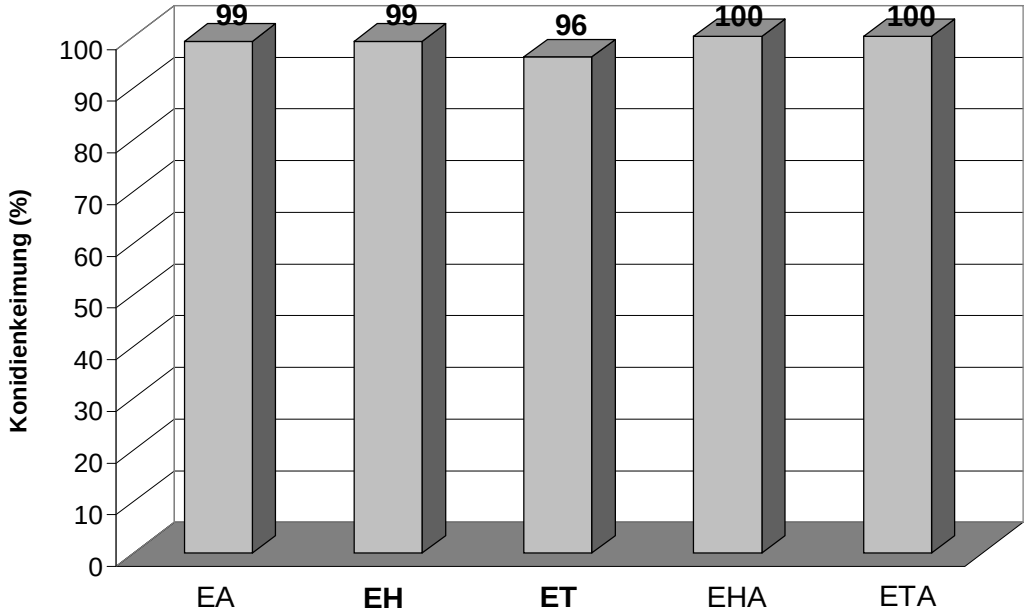


Abb. 67 Keimung der Konidien – System cv. Erbgraf (% von jeweils 150 Konidien)

Der prozentuale Anteil gekrümmter Hyphenspitzen war mit 94 % bzw. 93 % am höchsten in den Interaktionen **ET** und EA. Er erreichte 90 % bei ETA und 89 % bei **EH**. Die Vorinokulationsvariante EHA erzielte den niedrigsten Wert mit 87 % (Abb. 68).
Da die gefundenen geringen Unterschiede bei der Konidienkeimung und Krümmung der Hyphenspitzen nicht signifikant waren, gab es daher keinen Unterschied zwischen kompatiblen, inkompatiblen und den Vorinokulations-varianten.

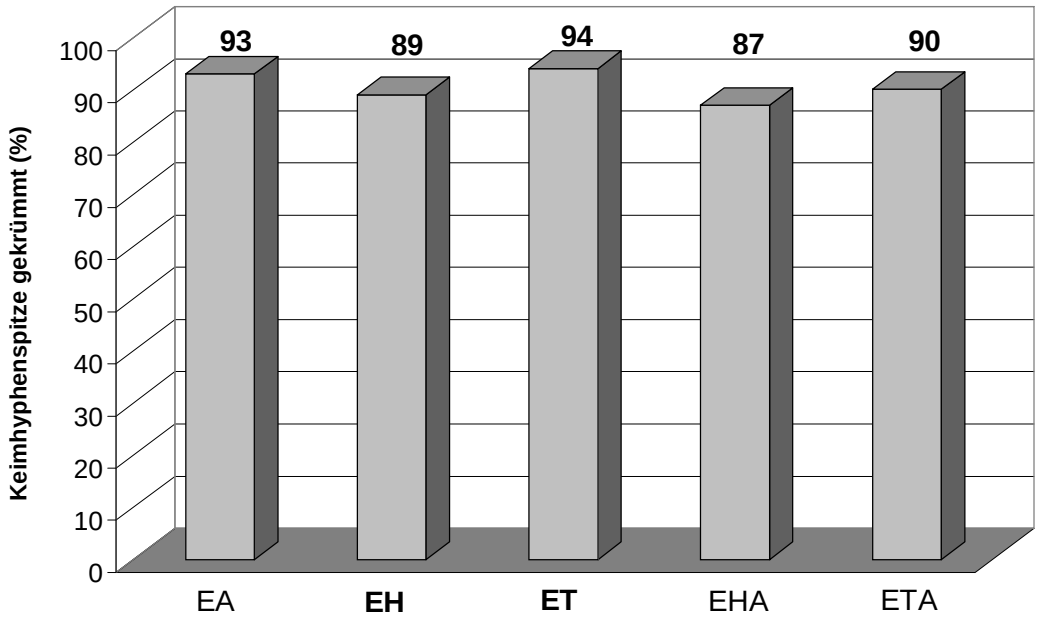


Abb. 68 Prozentualer Anteil gekrümmter Hyphenspitzen – System cv. Erbgraf (% von jeweils 150 mit SGT`s gekeimter Konidien)

Die Variante ETA wies mit 87 % die höchste Penetration innerhalb der Versuchsreihe auf. Es folgten die Interaktionen EA mit 79 %, **ET** mit 77 %, EHA mit 75 % und **EH** mit 73 % (Abb. 69).

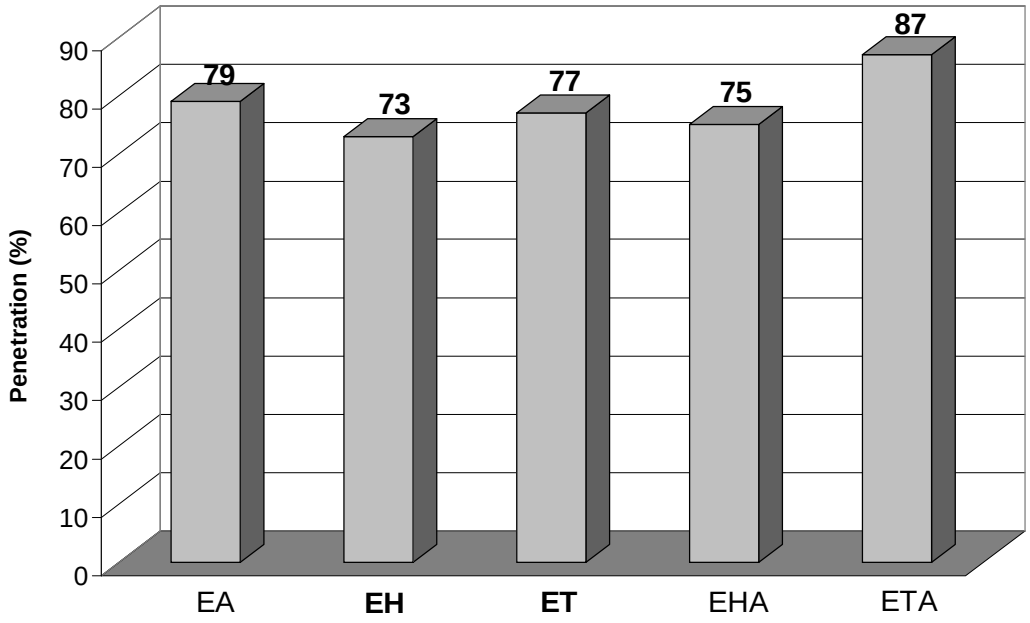


Abb. 69 Penetration – System cv. Erbgraf (% von jeweils 150 mit SGT`s gekeimter Konidien)

Der höchste Wert für die Haustorienbildung lag mit 35 % im WPS EA, gefolgt von ETA mit 33 %. Die Kombinationen EHA und **ET** konnten Werte von 29 % bzw. 27 % verbuchen. Der niedrigste Wert lag mit 6 % bei **EH** (Abb. 70).

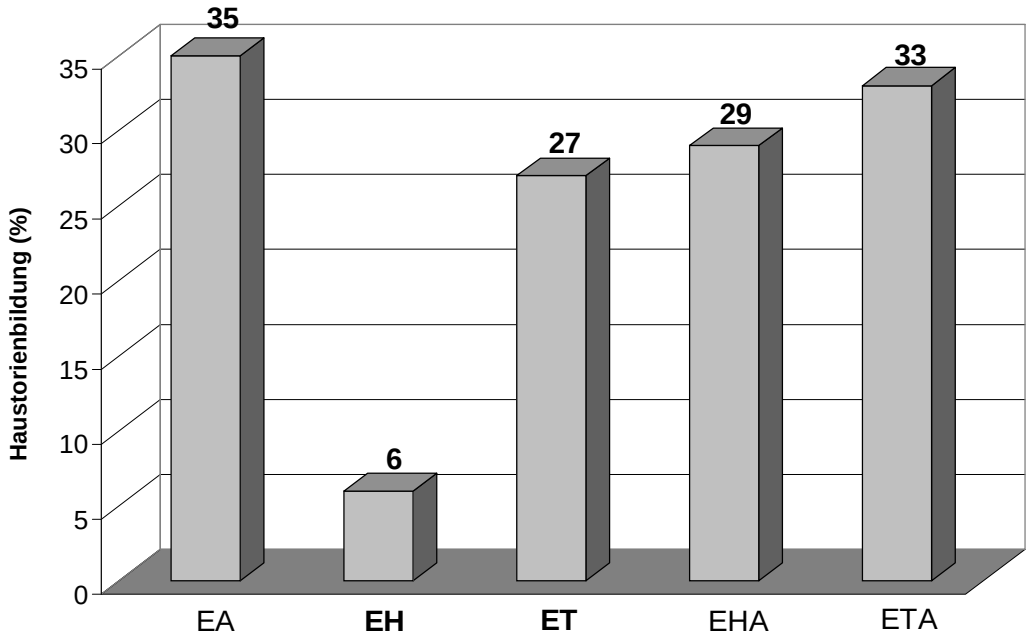


Abb. 70 Gebildete Haustorien – System cv. Erbgraf (% von jeweils 150 mit SGT`s gekeimter Konidien)

Penetration und Haustorienbildung zeigten in den untersuchten Varianten keine signifikanten Unterschiede, mit Ausnahme von **EH**. Hier war die Haustorienbildung deutlich schwächer ausgeprägt.

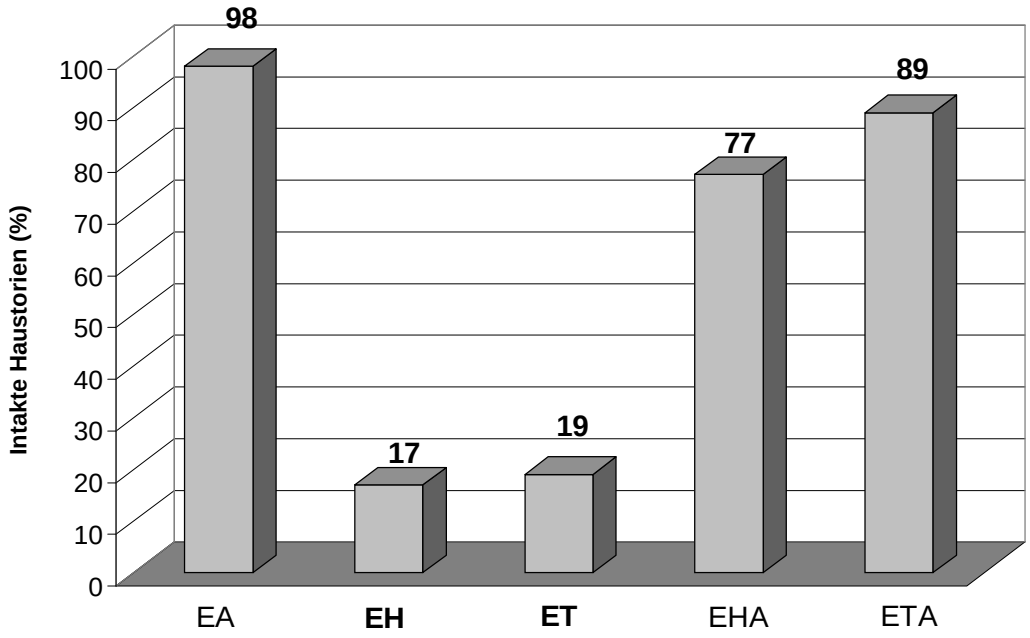


Abb. 71 Intakte Haustorien – System cv. Erbgraf (% von jeweils 150 Haustorien)

Den höchsten Anteil intakter Haustorien wies das System EA mit einem Wert von 98 % auf. Es folgten ETA mit 89 % und EHA mit 77 %. Die niedrigsten Werte traten bei **ET** mit 19 % und bei **EH** mit 17 % auf (Abb. 71).

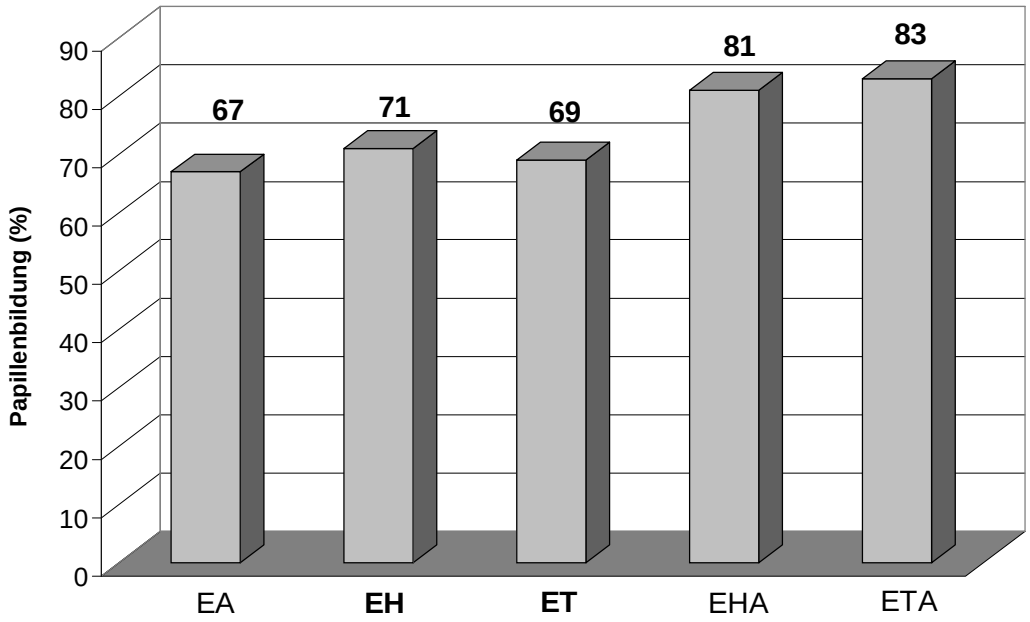


Abb. 72 Papillenbildung – System cv. Erbgraf (% von jeweils 150 penetrierter Zellen)

Die Werte für die Papillenbildung lagen mit 83 % bei ETA und mit 81 % bei EHA am höchsten. Deutlich niedriger fielen die Werte für **EH** mit 71 %, für **ET** mit 69 % und für EA mit 67 % aus (Abb. 72).

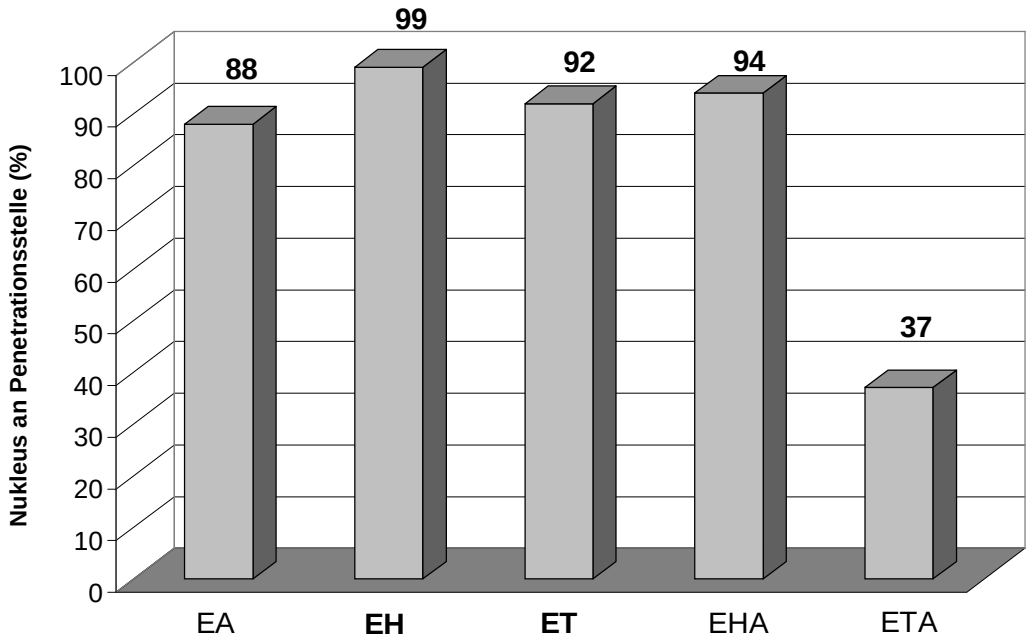


Abb. 73 Nukleus in der Nähe der Penetrationsstelle – System cv. Erbgraf (% von jeweils 150 penetrierter Zellen)

Der Nukleus wanderte in 99 % der Fälle innerhalb der Interaktion **EH** in die Nähe der Penetrationsstelle. Bei EHA waren das 94 %, bei **ET** 92 % und bei EA 88 % der Nuklei. Der niedrigste Wert wurde mit 37 % für ETA registriert (Abb.73).

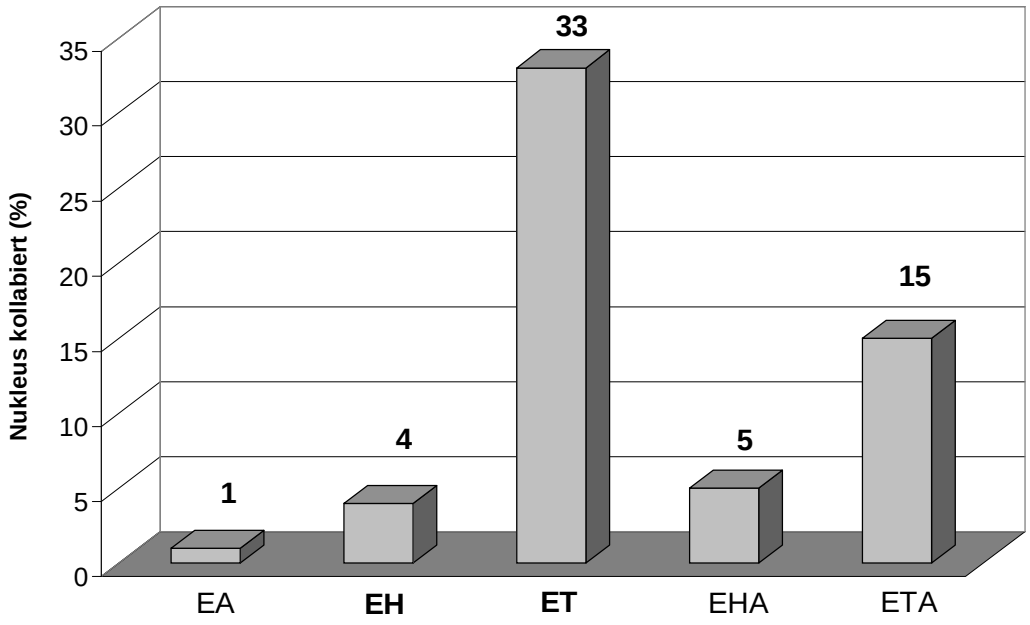


Abb. 74 Nukleus kollabiert – System cv. Erbgraf (% von jeweils 150 penetrierter Zellen)

Mit einem Wert von 33 % wies das WPS **ET** den höchsten Anteil kollabierter Nuklei auf. Es folgten ETA mit 15 %, EHA mit 5 % und **EH** mit 4 %. Der niedrigste Wert lag mit 1 % im kompatiblen WPS EA (Abb. 74).

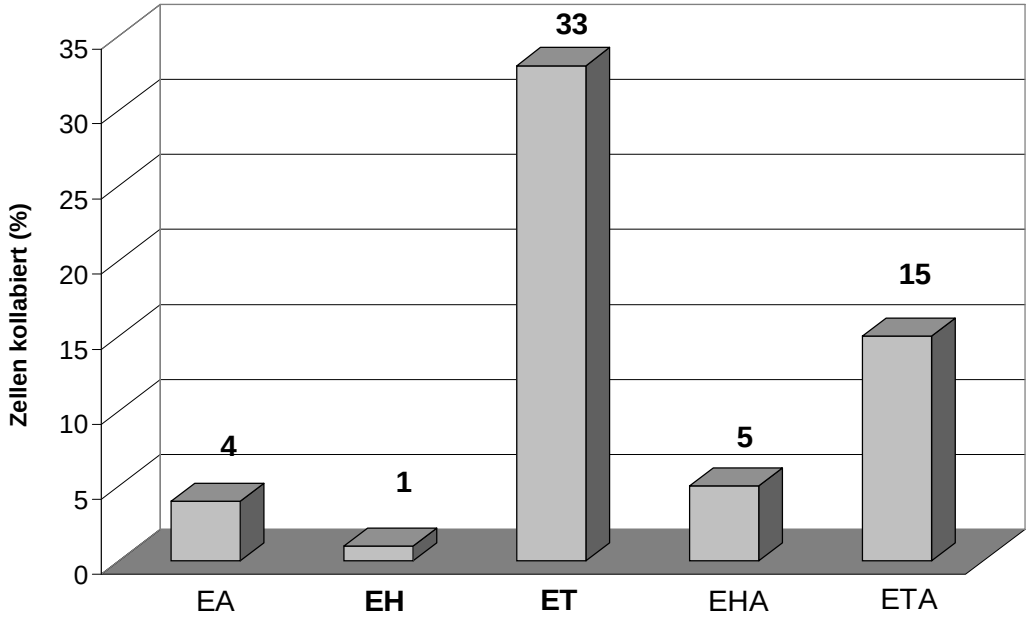


Abb. 75 Kollabierte Epidermiszellen – System cv. Erbgraf (% von jeweils 150 penetrierten Zellen)

Der größte Anteil kollabierter Zellen wurde bei **ET** mit 33 % registriert. Die Vorinokulationsvarianten ETA und EHA wiesen Werte von 15 bzw. 5 % auf. Bei EA kollabierten 4 % und bei **EH** 1 % der penetrierten Zellen (Abb. 75).

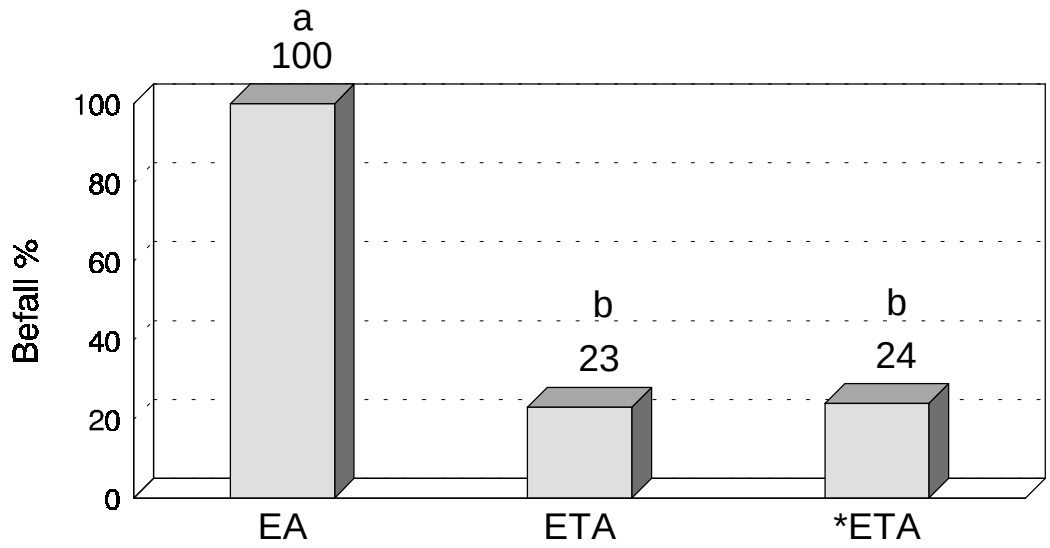
Resistenzinduktion nach Entfernung des Vorinokulums

Lackabzüge

Die Konidien des Vorinokulums sollten vor Inokulationen mit den betreffenden kompatiblen ff. sp. durch einen Lackabzug entfernt werden. Hierdurch sollten Wechselwirkungen zwischen den Konidien des Vorinokulums mit den Konidien des Inokulums umgangen werden. Wegen toxischer Wirkungen der Lacke auf die pflanzlichen Gewebe waren sämtliche diesbezügliche Versuche nicht auswertbar. Experimentiert wurde sowohl mit lösungsmittelhaltigen als auch mit lösungsmittelfreien Lacken. Nach Behandlung der Blätter zeigte sich in jedem Fall als Ergebnis ein Absterben des Gewebes.

Gelatineabzüge

Um Wechselwirkungen der Konidien des Vorinokulums mit den Konidien des Inokulums auszuschließen, wurde in einer Versuchsreihe vor Inokulation mit der betreffenden kompatiblen f. sp. das Vorinokulum durch Gelatineabzüge entfernt. Die Untersuchungen wurden an intakten Pflanzen durchgeführt. Vorversuche mit Tesafilm- bzw. mit Agar-Agar-Abzügen lieferten keine zufriedenstellende Resultate.



gleiche Buchstaben bedeuten keine signifikanten Unterschiede im Tukey-Test (p = 0,05)

Abb. 76 Mehltaubefall vom *A. sativa* cv. Erbgraf durch Inokulation mit *B. graminis* f. sp. *avenae* nach Vorinokulation mit der inkompatiblen f. sp. *tritici,* mit (*ETA) und ohne (ETA) Gelatineabzüge des Vorinokulums, im Vergleich zur Kontrolle (EA) 8 dpi

Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede in der Befallsreduktion nach Entfernen des Vorinokulums durch Gelatineabzüge im Vergleich zur Vorinokulationsvariante ohne Entfernung des Vorinokulums (Abb. 76). Die Konidiendichte des Vorinokulums der *B. graminis* f. sp. *tritici* betrug 2.112 Konidien/cm^2. Inokuliert wurde die f. sp. *avenae* mit einer Konidiendichte von 832 Konidien/cm^2. Die Effizienz der Gelatineabzüge wurde lichtmikrosko pisch überprüft. Hierzu wurden sowohl die Haferblätter als auch die Gelatineabzüge auf anhaftende Konidien hin untersucht. Auf den Haferblättern ließen sich nach den Gelatineabzügen keine Konidien mehr nachweisen.

Resistenzinduktion mit abgeschnittenen Blättern auf Benzimidazolagar

Versuchsziel war es, durch Vorinokulation mit inkompatiblen *B. graminis* ff. sp. eine Resistenz des cv. Erbgraf und des cv. Barra gegen die f. sp. *avenae*, des cv. Aura gegen die f. sp. *hordei* und des cv. Kanzler gegen die f. sp. *tritici* an abgetrennten Blattstücken zu induzieren. Die Untersuchungen wurden an auf Benzimidazolagar ausgelegten 6 cm langen Blattstücken durchgeführt. Der Befall (%) wurde durch Auszählen der Mehltaupusteln und die Befallsreduktion (%) im Vergleich mit den Kontrollvarianten 7 dpi mit der jeweiligen kompatiblen f. sp. ermittelt.

Avenaluminkonzentrationen wurden bei allen Hafer-Mehltau-Varianten im 48-stündigem Rhythmus mittels HPLC bestimmt.

Die Konidiendichte betrug für die Vorinokulationen vom cv. Erbgraf, cv. Barra und cv. Kanzler mit der *B. graminis* f. sp. *hordei* 432 Konidien/cm^2.

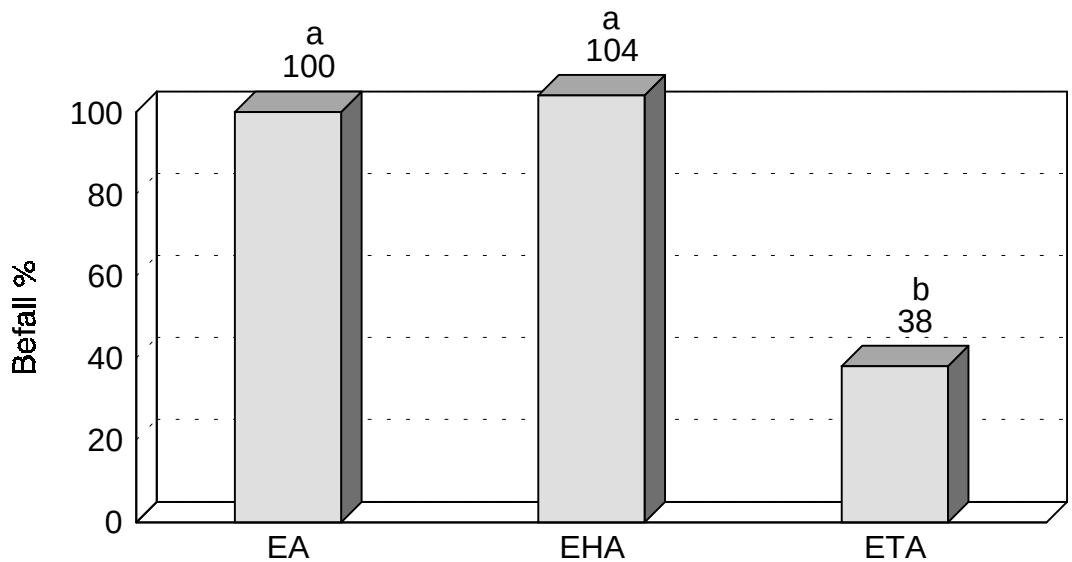
Für die Vorinokulationen mit der f. sp. *tritici* betrug die Konidiendichte 1.280 Konidien/cm^2.

Für die Vorinokulation vom cv. Aura und cv. Kanzler mit der f. sp. *avenae* betrug die Konidiendichte 846 Konidien/cm^2.

Die Konidiendichte betrug für die Inokulation mit der f. sp. *avenae* für alle Vorinokulationsvarianten vom cv. Erbgraf und cv. Barra (**EH**, **ET**, **BH** und **BT**) sowie den betreffenden Kontrollvarianten (E und B) 640 Konidien/cm^2.

Für die Inokulation mit der f. sp. *hordei* für alle Vorinokulationsvarianten vom cv. Aura (**AA** und **AT**) sowie der betreffenden Kontrollvariante (AH) betrug die Konidiendichte 624 Konidien/cm^2.

Die Konidiendichte betrug für die Inokulation mit der f. sp. *tritici* für alle Vorinokulationsvarianten vom cv. Kanzler (**KA** und **KH**) sowie der betreffenden Kontrollvariante (KT) 768 Konidien/cm^2.

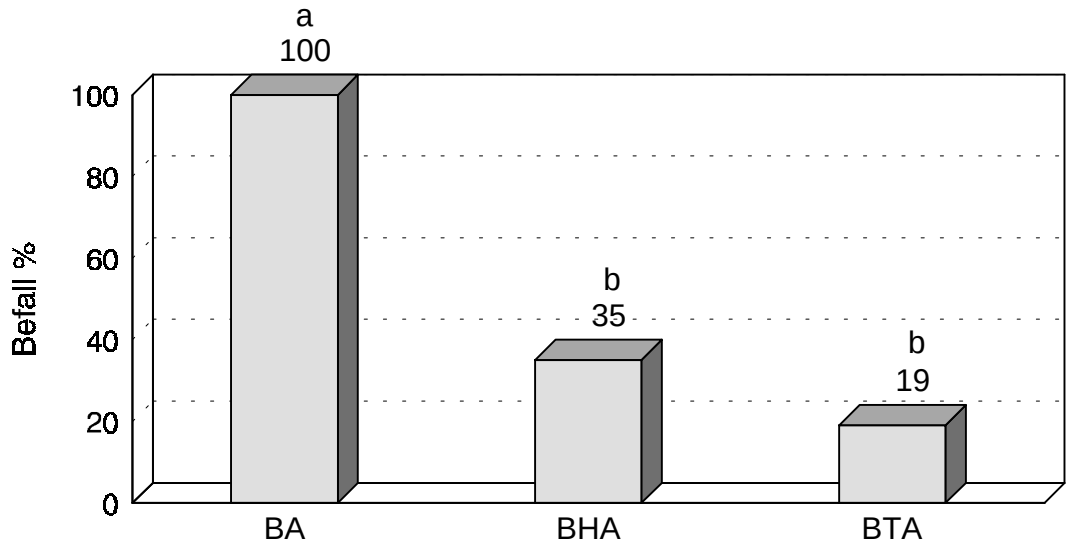


gleiche Buchstaben bedeuten keine signifikanten Unterschiede im Tukey-Test (p = 0,05)

Abb. 77 Mehltaubefall vom *A. sativa* cv. Erbgraf durch Inokulation mit *B. graminis* f. sp. *avenae* nach Vorinokulation mit den inkompatiblen ff. sp. *hordei* bzw. *tritici* (EHA und ETA), im Vergleich zur Kontrolle (EA) 8 dpi

Der Befall der Kontrollen wurde jeweils auf 100 % festgesetzt und diente als Vergleichsgrundlage zum Befall der Vorinokulationsvarianten.

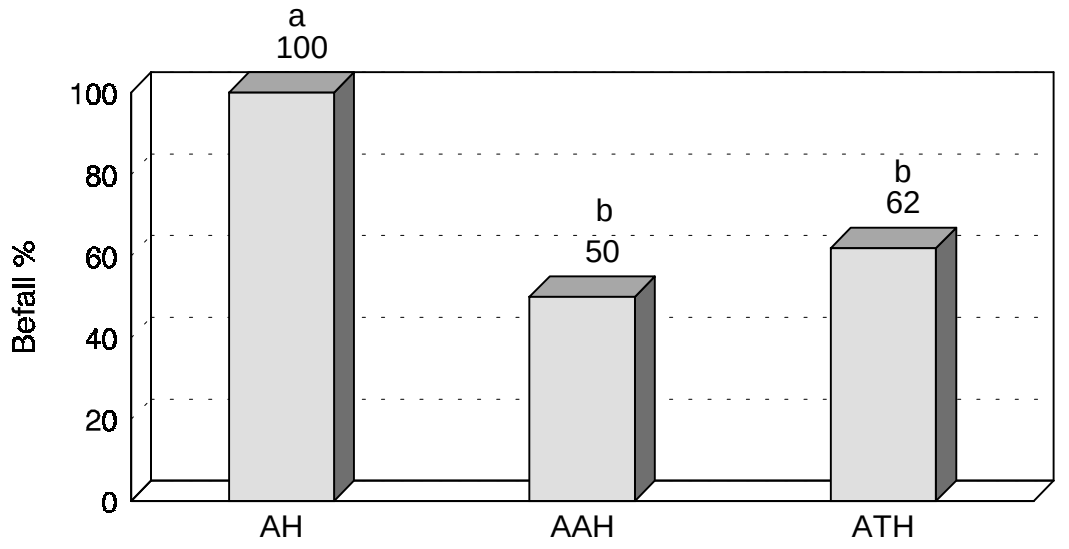
Bei Vorinokulationsversuchen vom cv. Erbgraf mit entsprechenden ff. sp. von *B. graminis* erzielte die Variante EHA einen Befall von 104 % und die Variante ETA einen Befall von 38 % im Vergleich zur Kontrolle EA (Abb. 77).



gleiche Buchstaben bedeuten keine signifikanten Unterschiede im Tukey-Test (p = 0,05)

Abb. 78 Mehltaubefall vom *A. sativa* cv. Barra durch Inokulation mit *B. graminis* f. sp. *avenae* nach Vorinokulation mit den inkompatiblen ff. sp. *hordei* bzw. *tritici* (BHA und BTA), im Vergleich zur Kontrolle (BA) 8 dpi

Im Falle der Vorinokulationsversuche vom cv. Barra mit den entsprechenden ff. sp. von *B. graminis* hatte die Variante BHA einen Befall von 35 % und die Variante BTA einen Befall von 19 % im Vergleich zur Kontrolle BA (Abb. 78).



gleiche Buchstaben bedeuten keine signifikanten Unterschiede im Tukey-Test (p = 0,05)

Abb. 79 Mehltaubefall vom *H. vulgare* cv. Aura durch Inokulation mit *B. graminis* f. sp. *hordei* nach Vorinokulation mit den inkompatiblen ff. sp. *avenae* bzw. *tritici* (AAH und ATH), im Vergleich zur Kontrolle (AH) 8 dpi

Die Variante AAH zeigte einen Mehltaubefall von 50 %, die Variante ATH einen Befall von 62 % im Vergleich zur Kontrolle AH bei Vorinokulationsversuchen vom cv. Aura mit entsprechenden ff. sp. von *B. graminis* (Abb. 79).

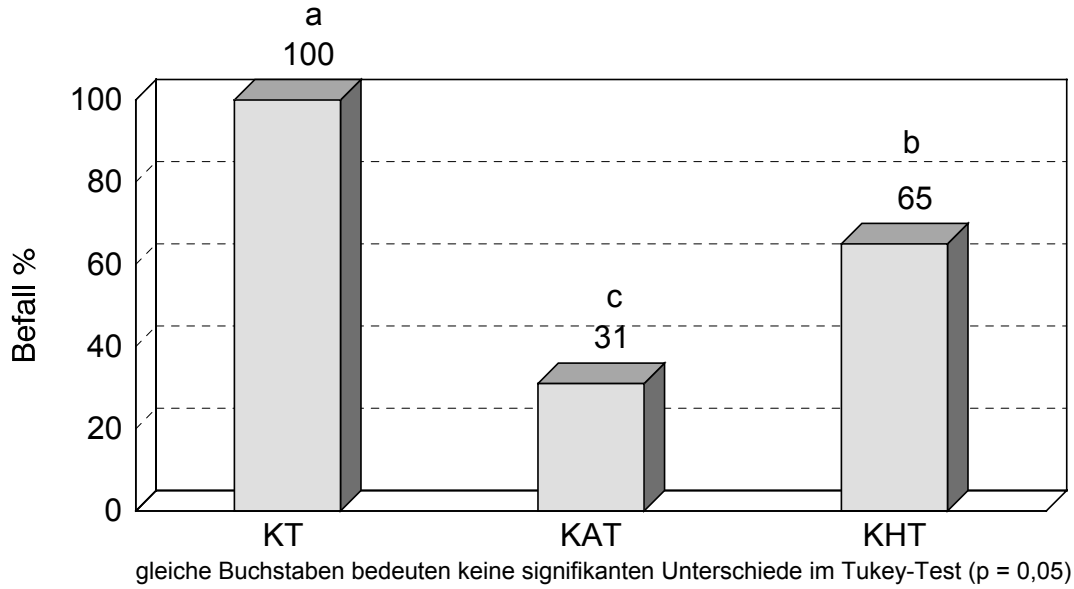


Abb. 80 Mehltaubefall vom *T. aestivum* cv. Kanzler durch Inokulation mit *B. graminis* f. sp. *tritici* nach Vorinokulation mit den inkompatiblen ff. sp. *avenae* bzw. *hordei* (KAT und KHT), im Vergleich zur Kontrolle (KT) 8 dpi

Der Mehltaubefall vom cv. Kanzler durch Inokulation mit *B. graminis* f. sp. *tritici* nach Vorinokulation mit den inkompatiblen ff. sp. *avenae* bzw. *hordei* erreichte in der Variante KAT einen Wert von 31 % und in der Variante KHT einen Wert von 65 % im Vergleich zur Kontrolle KT (Abb. 80).
In allen Varianten, mit Ausnahme von EHA (Abb. 77), verringerte die Vorinokulation mit der inkompatiblen f. sp. signifikant den Befall durch die nachinokulierte kompatible f. sp.. Dieser Befund demonstriert, dass diese Art von Versuchen auch an abgetrennten Getreideblättern auf Benzimidazolagar durchgeführt werden können.

Avenalumin I–Gehalt

Mittels HPLC-Analysen wurde der Avenalumin I–Gehalt am zweiten, vierten, sechsten und achten Tag nach der Inokulation in den abgetrennten Blättern bestimmt. Neben dem Avenalumin I–Gehalt in den Vorinokulationsvarianten wurde ebenso der Gehalt in den Kontrollvarianten (kompatible und inkompatible Variante) und in den gänzlich unbehandelten Pflanzen bestimmt. Avenalumine ließen sich erwartungsgemäß mittels HPLC-Analytik nur in Haferblättern nachweisen, nicht aber in Gersten- bzw. Weizenblättern. Der Zeitraum zwischen Ausbringen des Vorinokulums und nachfolgenden Inokulationen bewegte sich zwischen 24-26 h.
Für cv. Erbgraf ergab sich folgendes Bild. Der Avenalumingehalt war bei den unbehandelten Pflanzen (E) während des Untersuchungszeitraums im Bereich zwischen 0,32 bis 4,66 µg/g TG erwartungsgemäß am niedrigsten. In der kompatiblen Kontrollvariante EA stieg der Avenalumingehalt (in µg/g TG) von 1,22 am zweiten, über 8,77 am vierten und 21,14 am sechsten bis hin zu

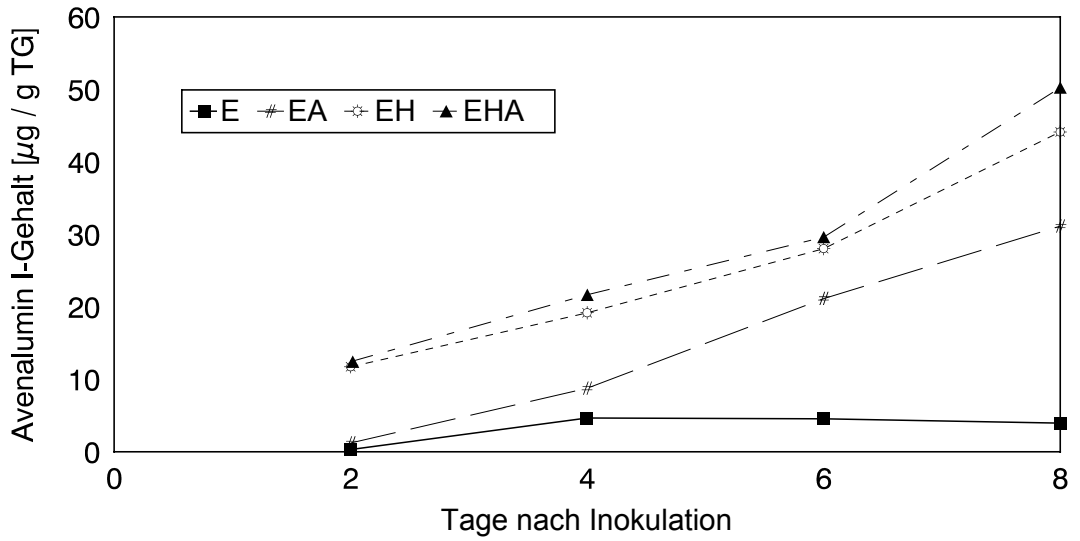


Abb. 81 Verlauf der Avenalumin I-Synthese beim Hafer cv. Erbgraf nach Inokulation mit der *B. graminis* f. sp. *avenae* ohne (EA) und mit Vorinokulation mit der f. sp. *hordei* (EHA) im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle (E) und zur nur mit der f. sp. *hordei* inokulierten Variante (**EH**)

31,14 am achten Tag an. Etwas höher lagen die Werte in der inkompatiblen Kontrollvariante **EH** mit 11,73 am zweiten, 19,18 am vierten, 28,03 am sechsten und 44,13 am achten Tag. Die höchsten Avenalumingehalte wurden jedoch in der Vorinokulationsvariante EHA mit 12,43 für den zweiten, 21,66 für den vierten, 29,62 für den sechsten und 50,25 für den achten Tag ermittelt (Abb. 81).

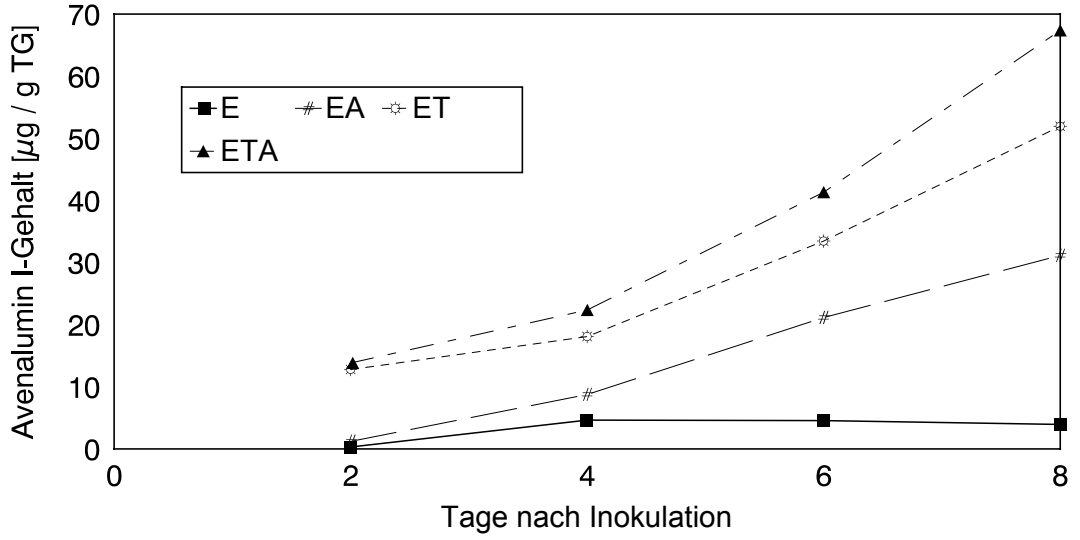


Abb. 82 Verlauf der Avenalumin I-Synthese beim Hafer cv. Erbgraf nach Inokulation mit der *B. graminis* f. sp. *avenae* ohne (EA) und mit Vorinokulation mit der f. sp. *tritici* (ETA) im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle (E) und zur nur mit der f. sp. *tritici* inokulierten Variante (**ET**)

Der Avenalumin I–Gehalt (µg/g TG) stieg in der inkompatiblen Kontrollvariante **ET** von 12,79 am zweiten, über 18,10 am vierten und 33,46 am sechsten, auf 51,95 am achten Tag an. Auch hier waren die Werte der Vorinokulationsvariante (ETA) mit 13,85 am zweiten, 22,37 am vierten, 41,33 am sechsten und 67,38 am achten Tag im Vergleich zu den anderen untersuchten Varianten am höchsten (Abb. 82).
Die Auswertung der Versuche mit cv. Barra zeigte, dass der Avenalumingehalt der unbehandelten Pflanzen (B) während des Untersuchungszeitraums im Bereich zwischen 2,54 und 5,92 µg/g TG schwankte und auch hier erwartungsgemäß am niedrigsten lag. In der kompatiblen Kontrollvariante BA stieg der Avenalumingehalt (in µg/g TG) von 5,85 am zweiten, über 16,23 am vierten und 31,67 am sechsten bis hin zu 45,81 am achten Tag an. Höher lagen die Werte in der inkompatiblen Kontrollvariante **BH** mit 14,87 am zweiten, 23,76 am vierten, geringfügig höher mit 33,46 am sechsten und 47,45 am achten Tag. Die höchsten Avenalumingehalte wurden hier in der Vorinokulationsvariante BHA, mit Ausnahme des zweiten Tages bei einem Wert von 13,23, mit 35,50 für den vierten, 51,47 für den sechsten und 63,72 für den achten Tag ermittelt (Abb. 83).

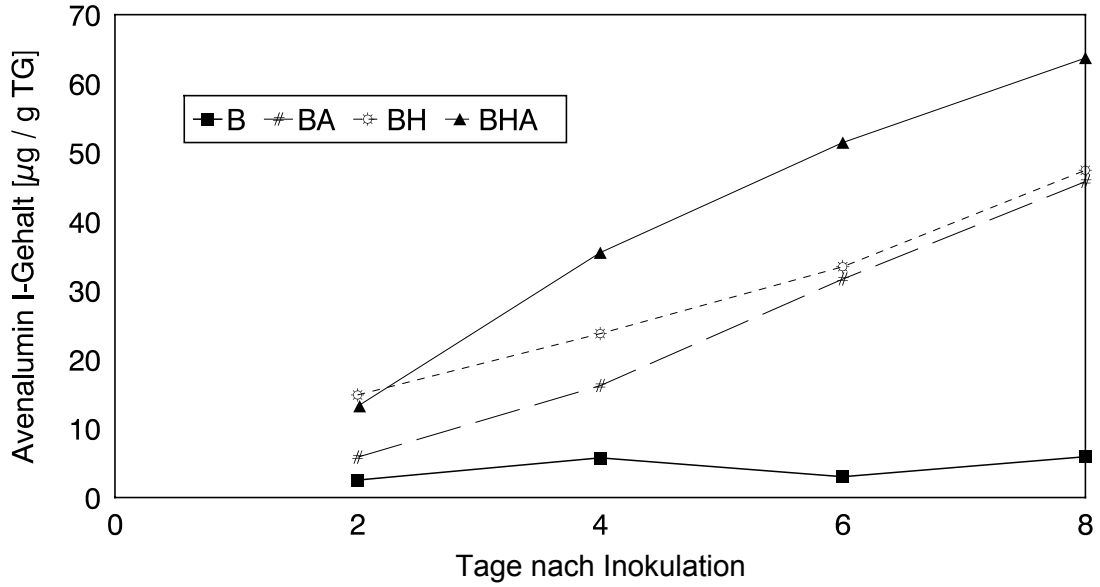


Abb. 83 Verlauf der Avenalumin I-Synthese beim Hafer cv. Barra nach Inokulation mit der *B. graminis* f. sp. *avenae* ohne (BA) und mit Vorinokulation mit der f. sp. *hordei* (BHA) im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle (B) und zur nur mit der f. sp. *hordei* inokulierten Variante (**BH**)

Der Avenalumin I–Gehalt (µg/g TG) stieg in der inkompatiblen Kontrollvariante **BT** von 17,86 am zweiten, über 30,74 am vierten und 43,78 am sechsten, auf 74,26 am achten Tag an. Auch hier waren die Werte der Vorinokulationsvariante (BTA), mit Ausnahme des Wertes für den zweiten Tag mit 16,48, mit 44,35 am vierten, 67,00 am sechsten und 115,83 am achten Tag im Vergleich zu den anderen untersuchten Varianten am höchsten (Abb. 84).

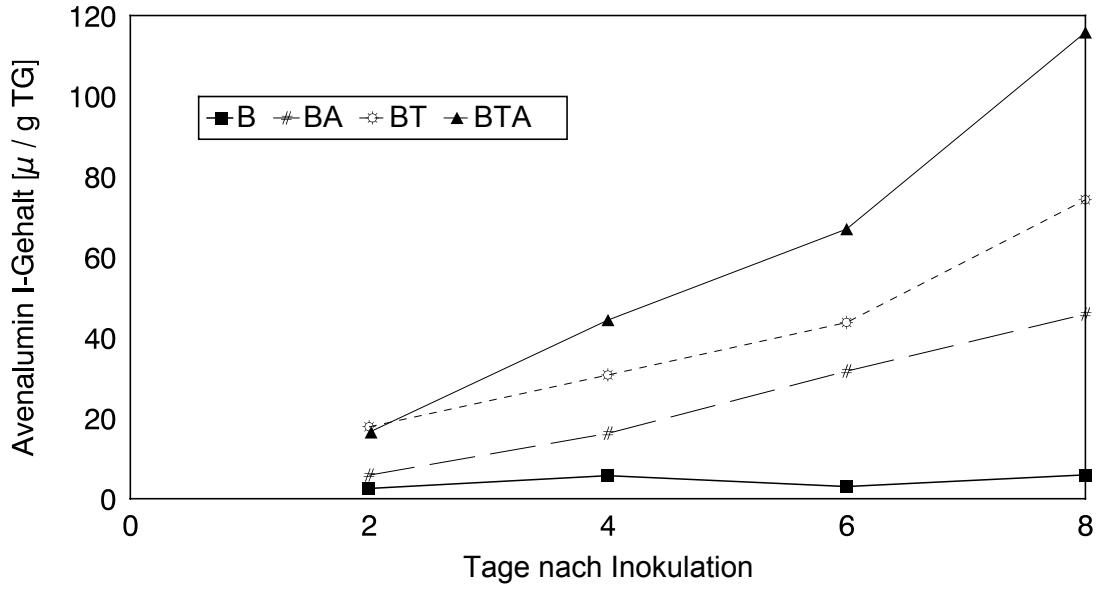


Abb. 84 Verlauf der Avenalumin I-Synthese beim Hafer cv. Barra nach Inokulation mit der *B. graminis* f. sp. *avenae* ohne (BA) und mit Vorinokulation mit der f. sp. *tritici* (BTA) im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle (B) und zur nur mit der f. sp. *tritici* inokulierten Variante (**BT**)

Eine weitere Versuchsreihe ergab für die Varianten mit cv. Erbgraf folgende Ergebnisse. Der Avenalumingehalt bewegte sich in den unbehandelten Pflanzen (E) während des Untersuchungsintervalls im Bereich von 2,38 bis 7,70 µg/g TG. In der kompatiblen Kontrollvariante EA stieg er von 0,95 am zweiten, über 9,46 am vierten und 15,37 am sechsten bis hin zu 41,03 am

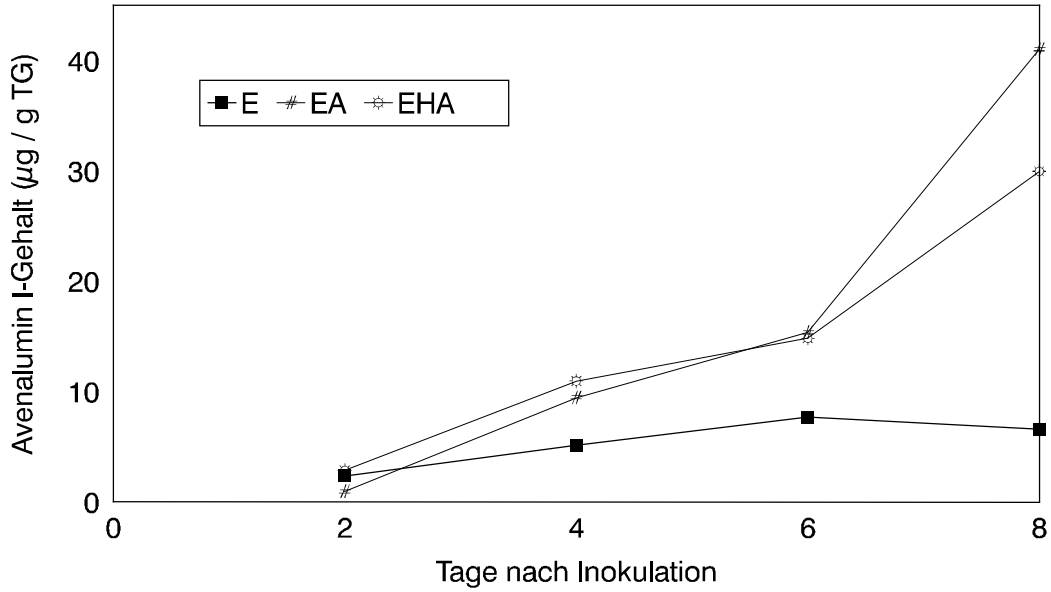


Abb. 85 Verlauf der Avenalumin I-Synthese beim Hafer cv. Erbgraf nach Inokulation mit der *B. graminis* f. sp. *avenae* ohne (EA) und mit Vorinokulation mit der f. sp. *hordei* (EHA) im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle (E)

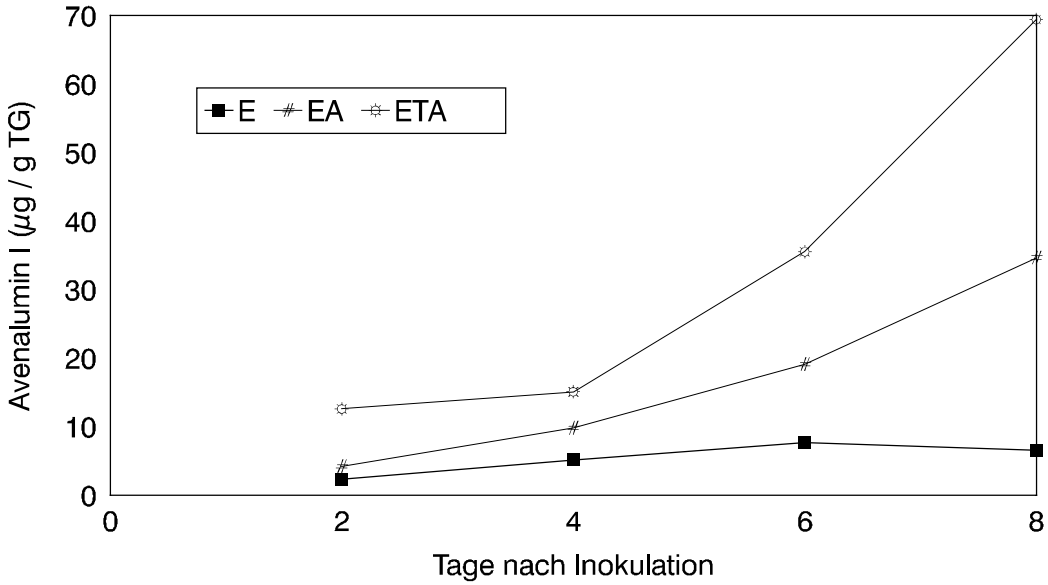


Abb. 86 Verlauf der Avenalum I-Synthese beim Hafer cv. Erbgraf nach Inokulation mit der *B. graminis* f. sp. *avenae* ohne (EA) und mit Vorinokulation mit der f. sp. *tritici* (ETA) im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle (E)

achten Tag an. Werte für die inkompatible Kontrollvariante **EH** wurden nicht ermittelt. Die Avenalumingehalte wurden in der Vorinokulationsvariante EHA mit 2,86 für den zweiten, 10,96 für den vierten, 14,84 für den sechsten und 29,97 für den achten Tag bestimmt (Abb. 85).Im Falle der Vorinokulationsversuche vom cv. Erbgraf mit *B. graminis* f. sp. *tritici* lagen die Werte nach der Inokulation für Avenalumin I in der Kontrollvariante EA nach zwei Tagen bei 4,22, nach vier Tagen bei 9,81, nach sechs Tagen bei 19,11 und nach

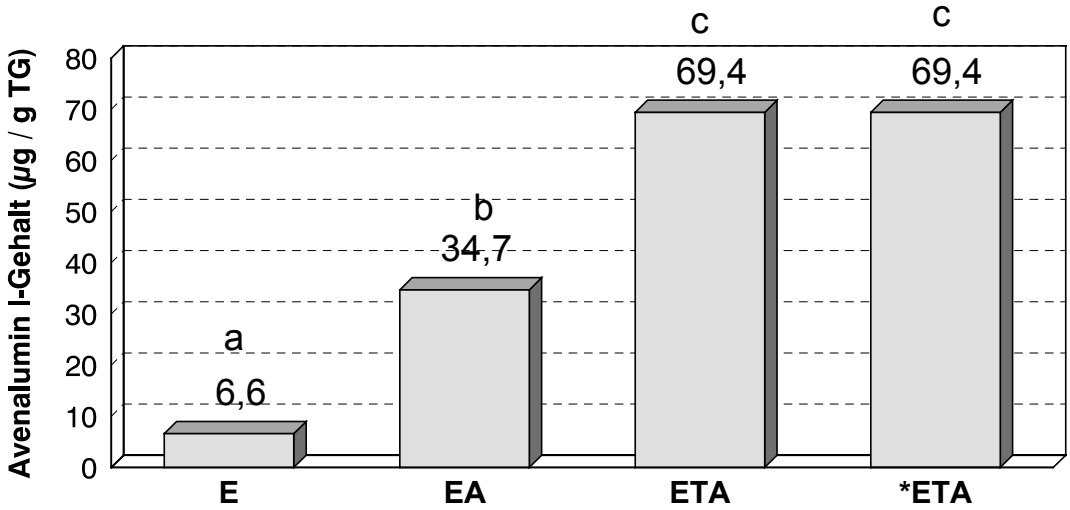


Abb. 87 Avenalumin I-Gehalt vom *A. sativa* cv. Erbgraf nach Vorinokulation mit der inkompatiblen *B. graminis* f. sp. *tritici* und anschließender Inokulation mit der f. sp. *avenae,* mit (*ETA) und ohne (ETA) Gelatineabzüge des Vorinokulums, im Vergleich zur inokulierten Kontrolle (EA) und unbehandelten Blättern (E) 8 dpi

acht Tagen bei 34,66 µg/g TG. Die Variante ETA wies zwei Tage nach Inokulation mit der kompatiblen f. sp. *avenae* einen Avenalumingehalt von 12,59, nach vier Tagen 15,09, nach sechs Tagen 35,52 und nach acht Tagen 69,40 µg/g TG auf (Abb. 86).
Auch für die unter Abschnitt *3.4.4 Versuche zur Resistenzinduktion nach Gelatineabzügen des Vorinokulums* durchgeführten Experimente wurde der Avenalumin I-Gehalt bestimmt. Er betrug 8 dpi für die unbehandelte Kontrolle E 6,6 µg/g TG, für EA 34,7 µg/g TG und für die beiden Varianten ETA und *ETA jeweils 69,4 µg/g TG (Abb. 87).

Korrelation Avenalumin I-Gehalt – Pustelzahl

Für den mit der *B. graminis* f. sp. *hordei* vorinokulierten und 24 h später mit f. sp. *avenae* nachinokulierten cv. Erbgraf wurde mit r = -0,98 eine negative Korrelation zwischen Pustelzahl/cm^2 und Avenalumin I-Gehalt ermittelt, d. h. mit steigendem Avenalumingehalt nahm die Pustelzahl ab (Abb. 88).

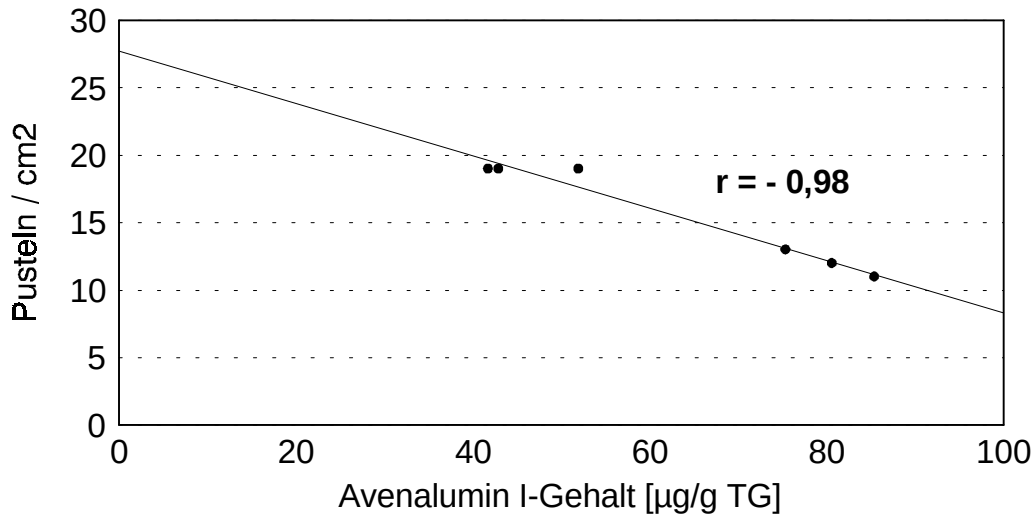


Abb. 88 Korrelation zwischen Avenalumingehalt und Pusteln/cm² beim Hafer cv. Erbgraf nach Vorinokulation mit *B. graminis* f. sp. *hordei* und Nachinokulation mit f. sp. *avenae*

Wie bereits publiziert (WILLEMS et al. 1994), wurde ebenfalls eine negative Korrelation mit r = - 0,86 für den cv. Erbgraf, der mit der *B. graminis* f. sp. *tritici* vorinokuliert und 24 h später mit der f. sp. *avenae* nachinokuliert wurde, gefunden (Abb.89).

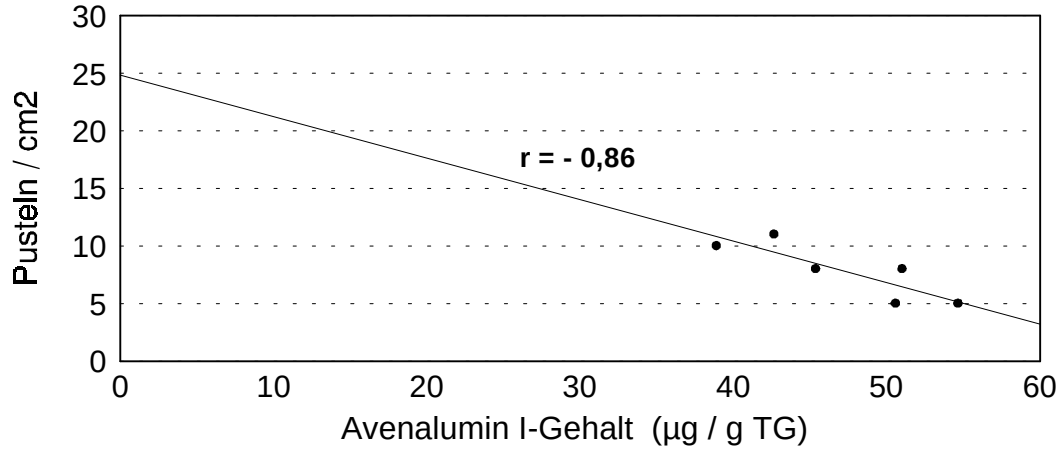


Abb. 89 Korrelation zwischen Avenalumingehalt und Pusteln/cm^2 beim Hafer cv. Erbgraf nach Vorinokulation mit *B. graminis* f. sp. *tritici* und Nachinokulation mit f. sp. *avenae* - aus: WILLEMS et al. 1994, verändert

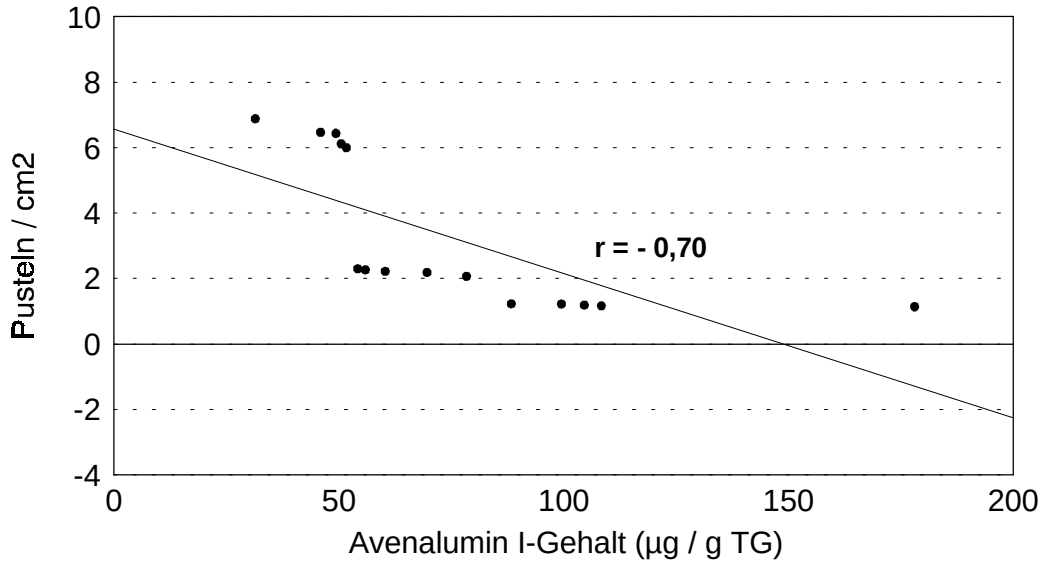


Abb. 90 Korrelation zwischen Avenalumingehalt und Pusteln/cm^2 beim Hafer cv. Barra nach Vorinokulation mit *B. graminis* f. sp. *hordei* oder mit f. sp. *tritici* und Nachinokulation mit f. sp. *avenae*

Auch in einer weiteren Versuchsreihe (Abb. 90, 91) waren Pustelzahl/cm^2 und Avenalumin I–Gehalt negativ korreliert. Für cv. Barra war bei allen Vorinokulationsvarianten und den mit f. sp. *avenae* nachinokulierten Pflanzen Pustelzahl und Avenalumingehalt mit r = - 0,70 korreliert.
Der Korrelationskoeffizient lag in den Versuchen mit cv. Erbgraf bei r = - 0,71.

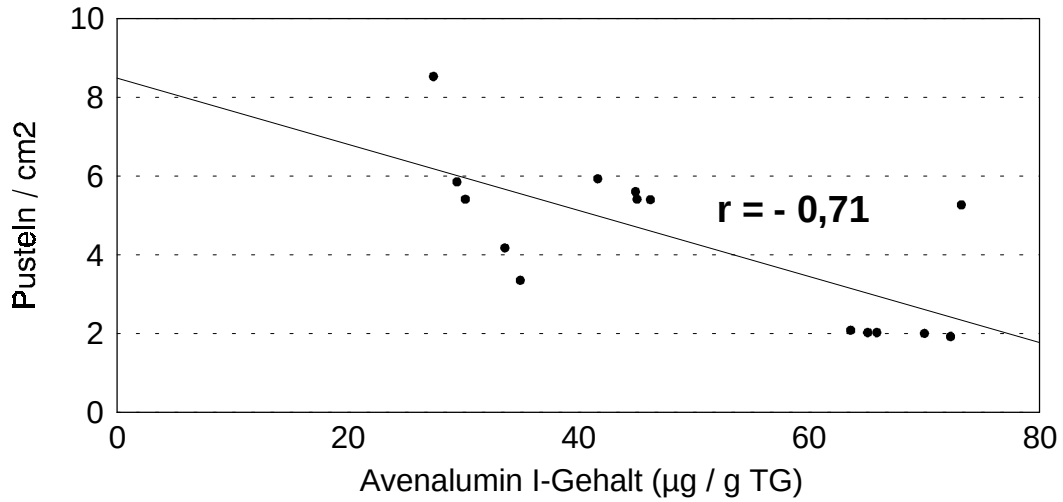


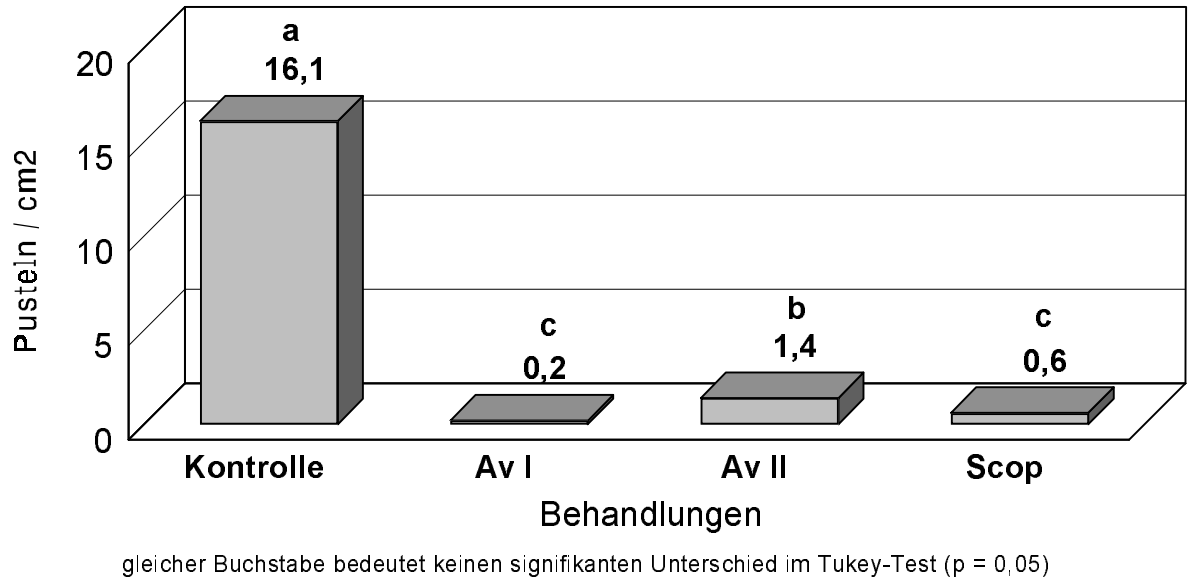
Abb. 91 Korrelation zwischen Avenalumingehalt und Pusteln/cm^2 beim Hafer cv. Erbgraf nach Vorinokulation mit *B. graminis* f. sp. *hordei* oder mit f. sp. *tritici* und Nachinokulation mit f. sp. *avenae*

Sowohl bei cv. Barra als auch bei cv. Erbgraf zeigten HPLC-Analysen und Auswertungen des Befalls der Blattfläche eine hohe negative Korrelation zwischen Avenalumingehalt und Pustelzahl.

3.5 Auswirkungen von Avenaluminen auf die Entwicklung der *B. graminis* ff. sp. *avenae, hordei* und *tritici* und Auswirkungen von Scopoletin auf die Entwicklung der *B. graminis* f. sp. *avenae*

Mit Sprühapplikationen wäßriger Lösungen (Endkonzentration: 200 µg/ml) von Avenalumin I (Av I), Avenalumin II (Av II) und Scopoletin (Scop) behandelte intakte Haferblätter des cv. Erbgraf zeigten 7 dpi nach Inokulation mit *B. graminis* f. sp. *avenae* im Vergleich zur Kontrolle die in Abb. 92 dargestellten Befunde.
Alle drei Behandlungsvarianten wiesen eine signifikante Befallsreduktion gegenüber der Kontrolle mit 16,1 Pusteln/cm^2 auf.Die Zahl der Pusteln/cm^2 war bei der Av I- und der Scop-Variante mit 0,2 bzw. 0,6 nicht signifikant im Tukey-Test (p = 0,05) verschieden. Der Wert für die Av II-Variante lag mit 1,4 Pusteln/cm^2 etwas höher als bei beiden letztgenannten. Bei einer auf 100 % festgelegten Infektionsrate für die Kontrolle ergaben sich Befallsreduktionen in Höhe von 98,1 % für die Av I-, 91,5 % für die Av II- und 96,2 % für die Scop-Variante.

3



gleicher Buchstabe bedeutet keinen signifikanten Unterschied im Tukey-Test (p = 0,05)

Abb. 92 Anzahl der Pusteln/cm² Blattfläche cv. Erbgraf der mit Av I- und Av II-Lösungen behandelten Varianten im Vergleich zur Kontrolle 7 dpi

Die Konidienkeimung lag bei 93 % für die Kontrolle, bei 13 % für die Av I-Variante, bei 29 % für die Av II-Variante und bei 32 % für die Scop-Variante (Abb. 93).

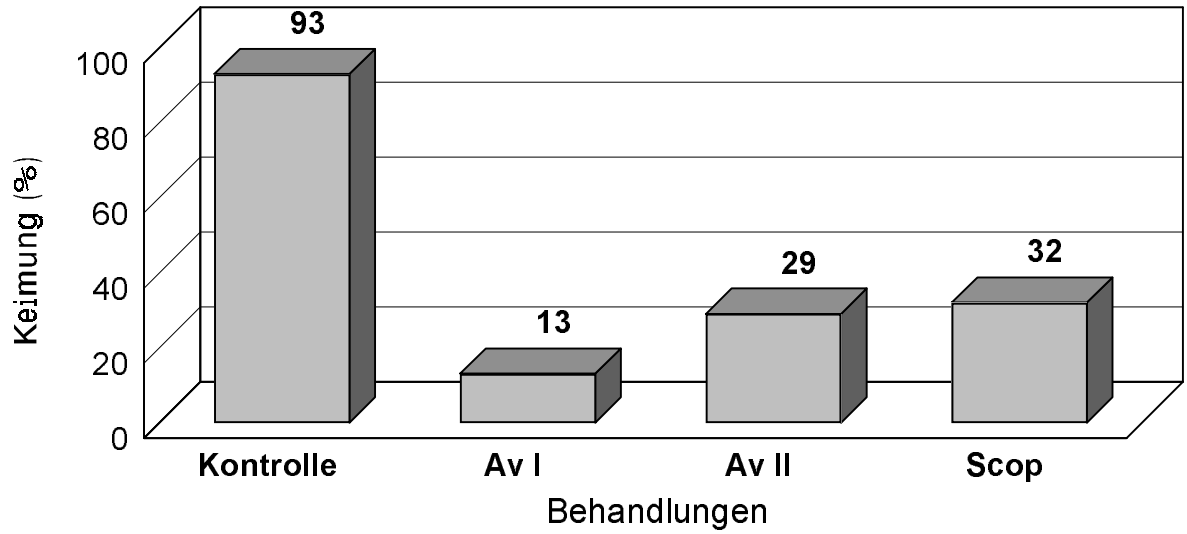


Abb. 93 Keimung der Konidien bei mit Av I- und II- und Scop-Lösungen behandelten Varianten im Vergleich zur Kontrolle (% von jeweils 250 Konidien)

Primäre Keimhyphen (PGT`s)

Der geringste Anteil lag mit 6 % (Tab. 11) bei der Kontrolle in Gruppe 4 (Wandauflagerungen). Die Av I-Variante zeigte keine Papillen in den Gruppen 2 (homogene Papillen), 3 und 4. Für die Av II-Variante lagen die niedrigsten Anteile mit je 7 % in Gruppe 2 und Gruppe 4. Die Scop-Variante wies keine Papillen der Gruppen 2 und 4 auf. In allen Varianten stellten die Papillen der Gruppe 1 die höchsten Anteile. Nur bei der Scop-Variante wiesen Gruppe 1 und 3 mit jeweils 43 % identische Werte auf.

Tab. 11 Papillentypen der PGT`s (% von jeweils 150 gekeimten Konidien)

Variante / Papillentypen	Kontrolle	Av I	Av II	Scop
0	22	60	13	14
1	50	40	60	43
2	9	0	7	0
3	13	0	13	43
4	6	0	7	0
WPS	**kompatibel**			

Große Papillen wurden nicht registriert (Tab. 12). Mittelgroße Papillen stellten in allen Varianten den Hauptanteil mit Werten von 67 % (Scop) bis 100 % (Av I). Kleine Papillen wurden in der Av I-Variante nicht angetroffen. Insgesamt war kein signifikanter Einfluß der Behandlungen auf die Ausbildung der PGT`s zu erkennen.

Tab. 12 Papillengrößen der PGT`s (% von jeweils 150 Papillen)

Variante / Papillengröße	Kontrolle	Av I	Av II	Scop
1	17	0	15	33
2	83	100	85	67
3	0	0	0	0
WPS	**kompatibel**			

Sekundäre Keimhyphen (SGT`s)

Kurze Keimhyphen hatten 3 % der Kontrolle und 6 % der Av I-Variante (Abb. 94). Reguläre Keimhyphen erzielten bei allen Varianten den jeweils höchsten Anteil. Bei der Av I-Variante traten keine langen Keimhyphen auf.

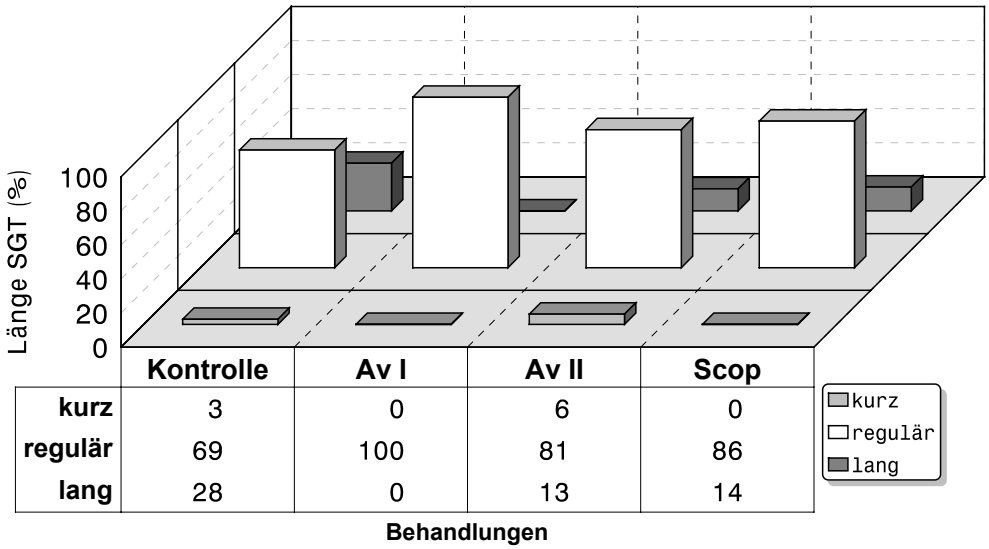


Abb. 94 Länge der SGT`s (% von jeweils 150 gekeimten Konidien)

Der Durchmesser der SGT`s entsprach bei allen Varianten zu 100 % dem regulären Typ (Abb. 95).

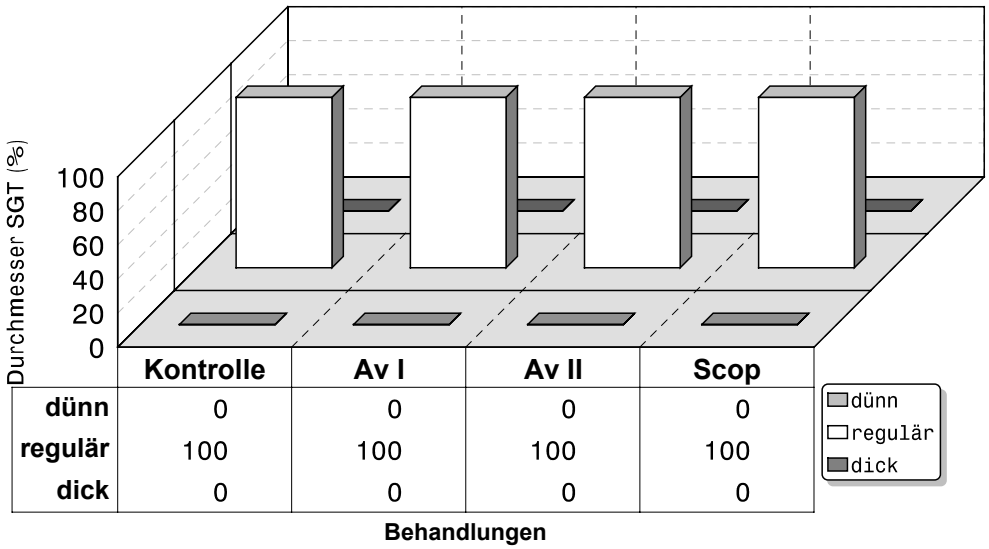
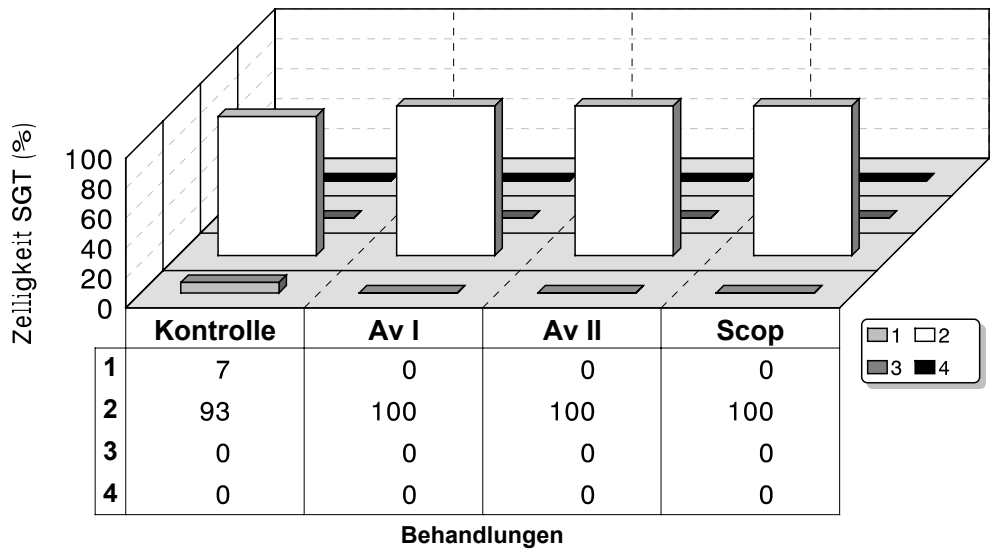


Abb. 95 Durchmesser der SGT`s (% von jeweils 150 gekeimten Konidien)

Die SGT`s der behandelten Varianten waren alle zweizellig (Abb. 96). Die Kontrolle zeigte 7 % einzellige und 93 % zweizellige Keimhyphen.

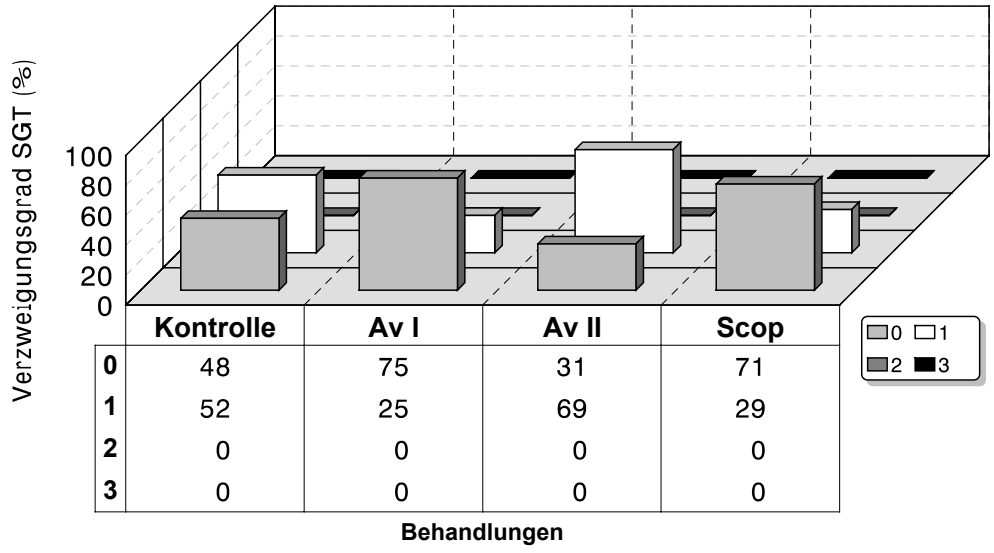


	Kontrolle	Av I	Av II	Scop
1	7	0	0	0
2	93	100	100	100
3	0	0	0	0
4	0	0	0	0

Behandlungen

Abb. 96 Zelligkeit der SGT`s (% von jeweils 150 gekeimten Konidien)

Unverzweigte Keimhyphen traten mit 48 % bei der Kontrolle, mit 75 % bei Av I, mit 31 % bei Av II und mit 71 % bei Scop auf (Abb. 97). Die entsprechenden Differenzwerte lagen bei einfach verzweigten Keimhyphen, da zwei- und dreifach verzweigte SGT´s nicht vorkamen.



	Kontrolle	Av I	Av II	Scop
0	48	75	31	71
1	52	25	69	29
2	0	0	0	0
3	0	0	0	0

Behandlungen

Abb. 97 Verzweigungsgrad der SGT`s (% von jeweils 150 gekeimten Konidien)

Bei 81 % der Kontrolle, 67 % der Av I-, 50 % der Av II- und 83 % der Scop-Variante waren die Keimhyphenspitzen eingekrümmt (Abb. 98).

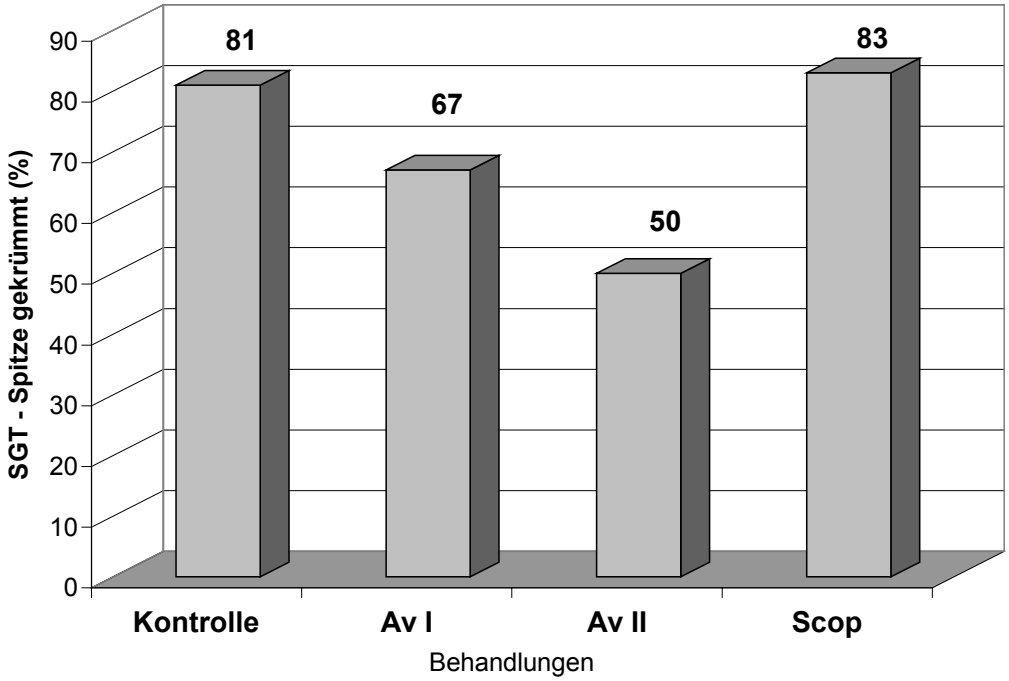


Abb. 98 Hyphenspitze der SGT`s gekrümmt (% von jeweils 150 gekeimten Konidien)

Für die Kontrolle ergab sich eine Penetration von 48 %, für die Av I-Variante von 14 %, für die Av II-Variante von 13 % und für die Scop-Variante von 56 % (Abb. 99). Hier war demnach ein deutlicher Einfluß der Avenalumine auf die Penetration der SGT`s vorhanden, während Scop keine Wirkung zeigte.

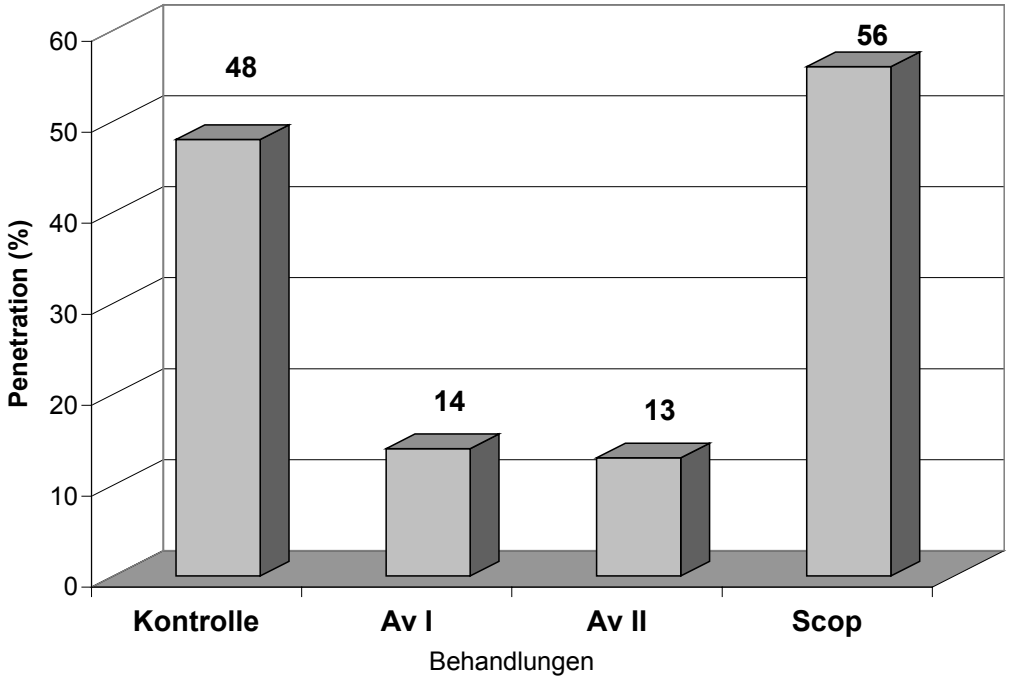


Abb. 99 Penetration von Epidermiszellen (% von jeweils 150 gekeimten Konidien)

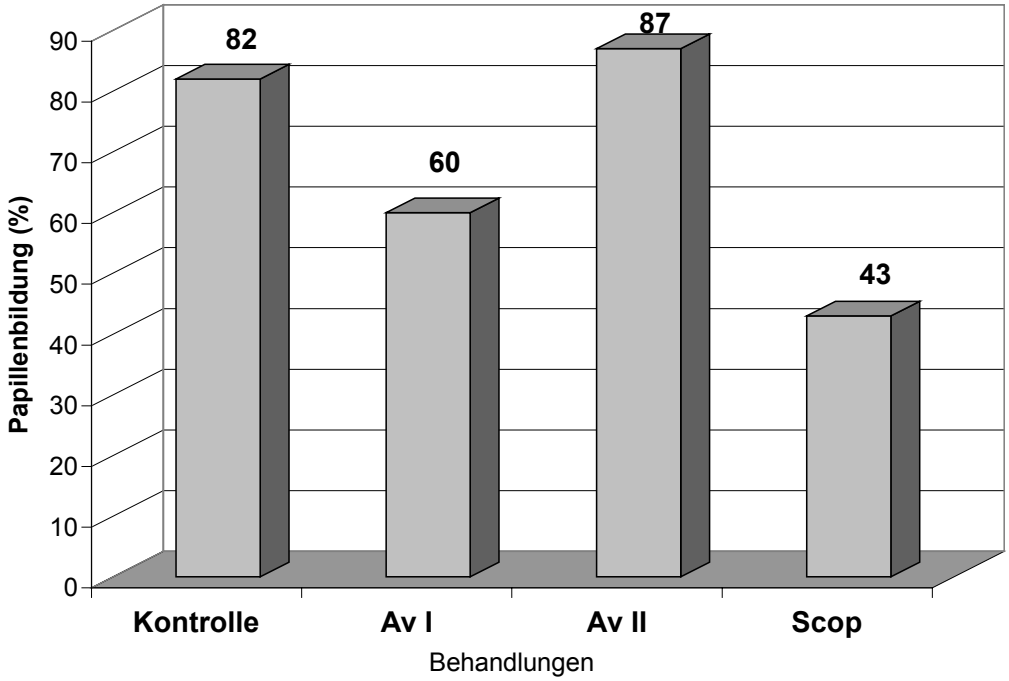


Abb. 100 Papillenbildung (% von jeweils 150 gekeimten Konidien)

Die höchsten Werte der Papillenbildung wurden mit 87 % bei der Av II-Variante und mit 82 % bei der Kontrolle erzielt (Abb. 100). Für die Av I-Variante lag der Wert bei 60 %, für die Scop-Variante bei 43 %.

Tab. 13 Papillentypen gegen sekundäre Keimhyphen (SGT`s) für alle Penetrationspunkte (% von jeweils 150 gekeimten Konidien)

Variante	**Kontrolle**	**Av I**	**Av II**	**Scop**
Papillentypen Σ				
0	0	0	6	0
1	52	25	50	75
2	22	25	22	0
3	18	25	6	0
4	8	25	16	25
5	0	0	0	0
WPS	**kompatibel**			

Die Papillentypen der SGT`s sind für alle Penetrationspunkte in Tab. 13 aufgeführt. Keine Papillenbildung zeigte lediglich die Av II-Variante mit 6 %. In

keiner Variante konnten Tuber (Gruppe 5) festgestellt werden. Die jeweils höchsten Anteile erzielten vesikulär-granuläre Papillen (Gruppe 1) mit 52 % bei der Kontrolle, 50 % bei Av II und 75 % bei Scop. In der Av I-Variante verteilten sich die Papillenanteile zu gleichen Teilen mit je 25 % auf die Gruppen 1 bis 4. Die Gruppen 2 und 3 fehlten der Scop-Variante.
Der Anteil kleiner Papillen betrug bei der Kontrolle 37 %, bei der Av II-Variante 24 % und bei den restlichen Varianten traten keine auf (Tab. 14). Große Papillen hatte lediglich die Kontrolle mit 2 %. Mittelgroße Papillen stellten in allen Varianten mit 61-100 % den Hauptanteil.

Tab. 14 Größe der Papillen gegen sekundäre Keimhyphen (SGT`s) für alle Penetrationspunkte (% von jeweils 150 gekeimten Konidien)

Variante	**Kontrolle**	**Av I**	**Av II**	**Scop**
Papillengröße Σ				
1	37	0	24	0
2	61	100	76	100
3	2	0	0	0
WPS	**kompatibel**			

Die Verteilung der Papillen der SGT´s auf die einzelnen Penetrationspunkte ist in Tab. 15 dargestellt. Am Penetrationspunkt P0 waren 70 % der Papillen der SGT`s der Kontrolle, 75 % der Av I-, 78 % der Av II- und 75 % der Scop-Variante zu finden.

Tab.15 Verteilung der Papillen der SGT´s auf die einzelnen Penetrationspunkte (% von jeweils 150 gekeimten Konidien)

Variante	**Kontrolle**	**Av I**	**Av II**	**Scop**
Penetrationspunkt				
P 0	70	75	78	75
P 1	30	25	22	25
P 2	-	-	-	-
P 3	-	-	-	-
WPS	**kompatibel**			

Die jeweiligen Differenzwerte fanden sich für alle Varianten am Penetrationspunkt P1, da die Penetrationspunkte P2 und P3 nicht ausgebildet wurden (Tab. 15).

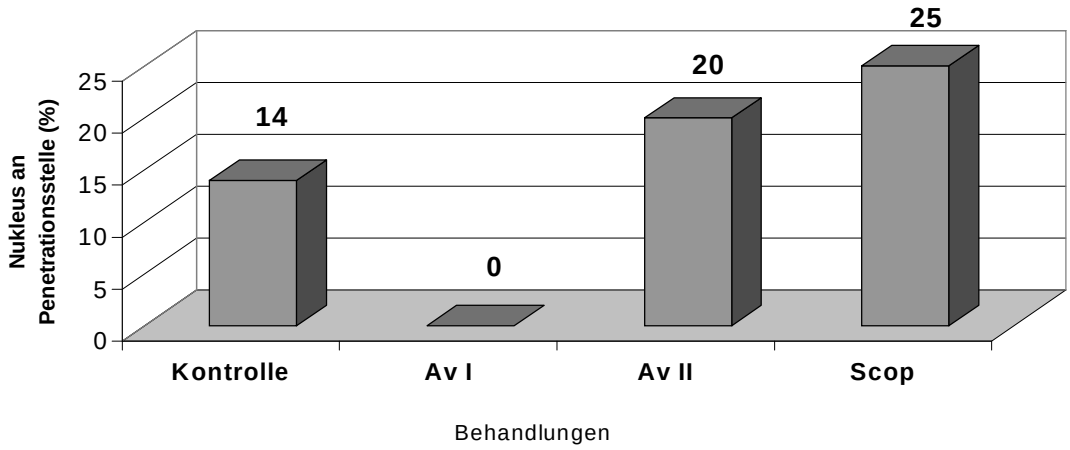


Abb. 101 Nukleus in der Nähe der Penetrationsstelle (% von jeweils 150 penetrierten Zellen)

Der Zellkern wanderte bei der Kontrolle zu 14 %, bei der Av II- zu 20 % und bei der Scop-Variante zu 25 % an den Penetrationsort (Abb. 101). Die Av I-Variante zeigte keine Wanderung des Kerns.

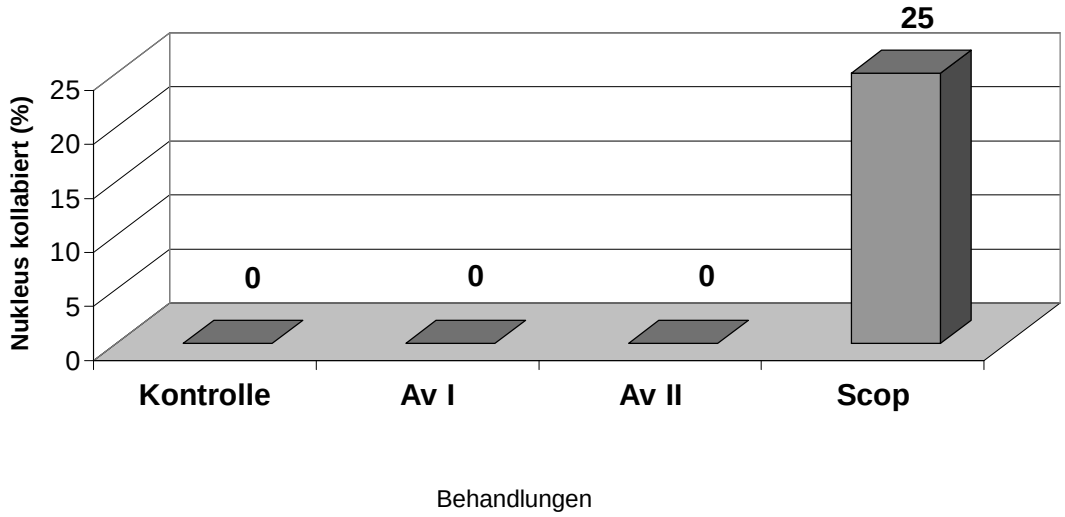


Abb. 102 Kollabierte Nuklei (% von jeweils 150 penetrierten Zellen)

Es kollabierten 25 % der Zellkerne der Scop-Variante (Abb. 102).
Bei keiner Variante traten zelluläre Auflösungserscheinungen auf. Eine graphische Darstellung entfällt deshalb.

Haustorien

Die Kontrolle wies eine Haustorienbildung von 48 %, die Scop-Variante 18 % und die Av II-Variante 4 % auf (Abb. 103). Bei der Av I-Variante wurden keine Haustorien festgestellt, daher fehlen hier entsprechende Abbildungen.

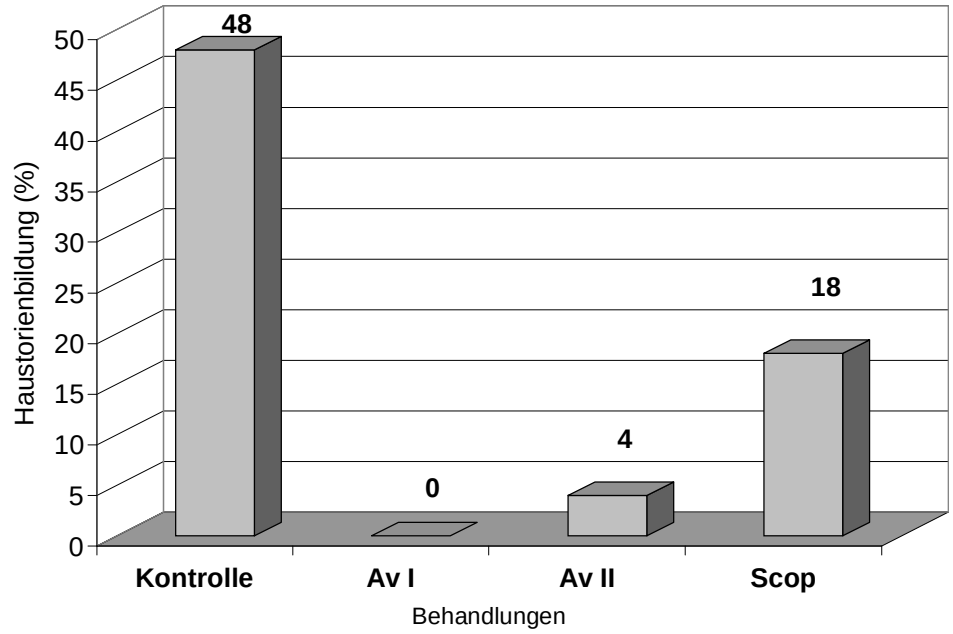


Abb. 103 Gebildete Haustorien (% von jeweils 150 mit SGT`s gekeimten Konidien)

Sowohl die Haustorien der Kontrolle als auch die der Av II-Variante erschienen vollständig intakt (Abb. 104). Die Scop-Variante hatte 80 % intakte Haustorien.

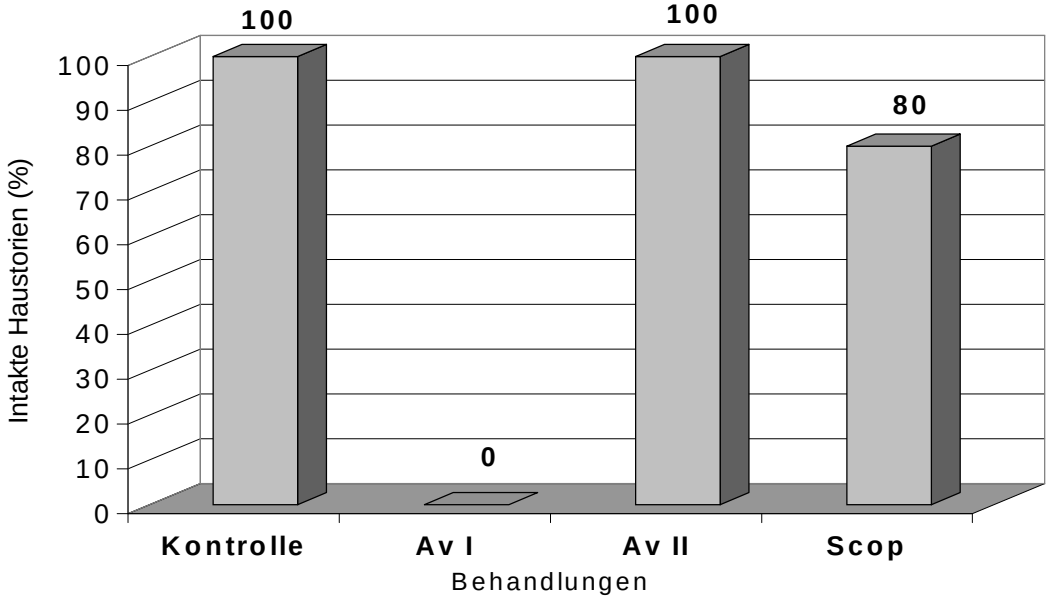
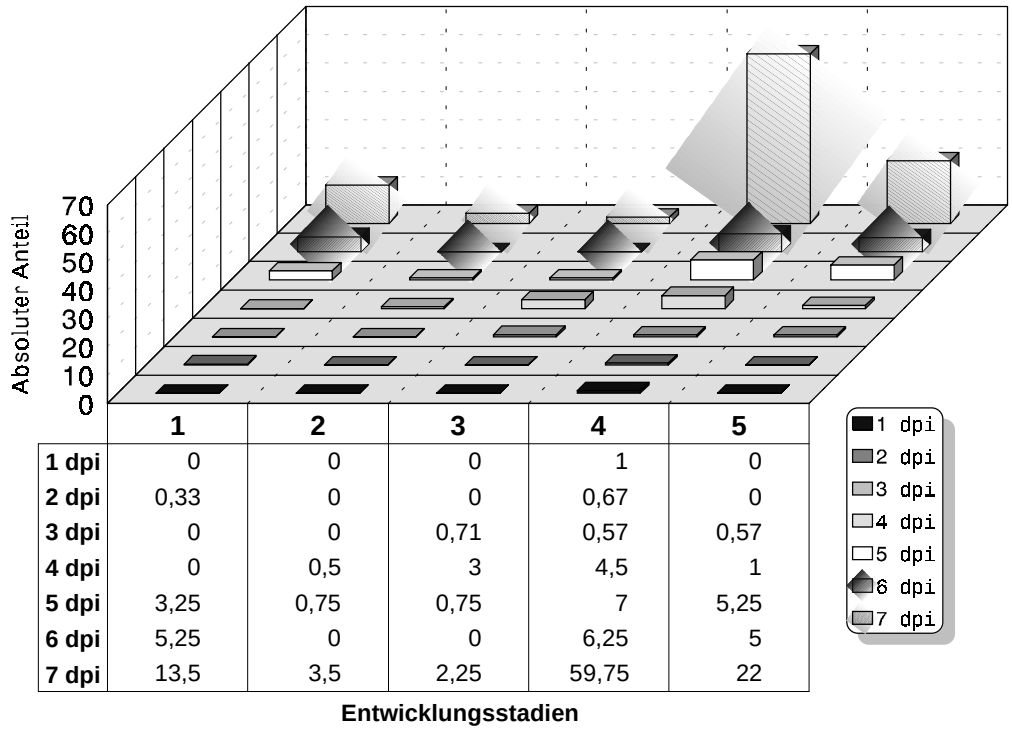


Abb. 104 Intakte Haustorien (% von jeweils 150 Haustorien)

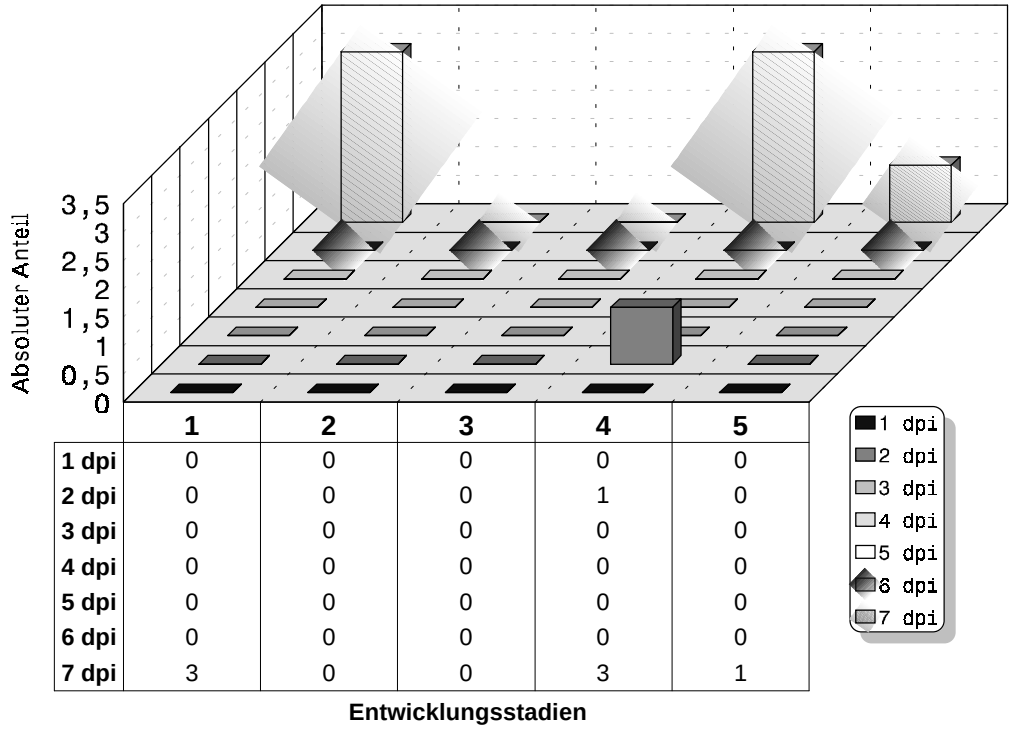


	1	2	3	4	5
1 dpi	0	0	0	1	0
2 dpi	0,33	0	0	0,67	0
3 dpi	0	0	0,71	0,57	0,57
4 dpi	0	0,5	3	4,5	1
5 dpi	3,25	0,75	0,75	7	5,25
6 dpi	5,25	0	0	6,25	5
7 dpi	13,5	3,5	2,25	59,75	22

Entwicklungsstadien

Abb. 105 Entwicklungsstadien 1-5 der Haustorien von *B. graminis* f. sp. *avenae* an Hafer cv. Erbgraf (EA) - unbehandelte Kontrolle

Bereits 1 dpi ließ sich Stadium 4 nachweisen (Abb. 105). Es waren alle Stadien vertreten.

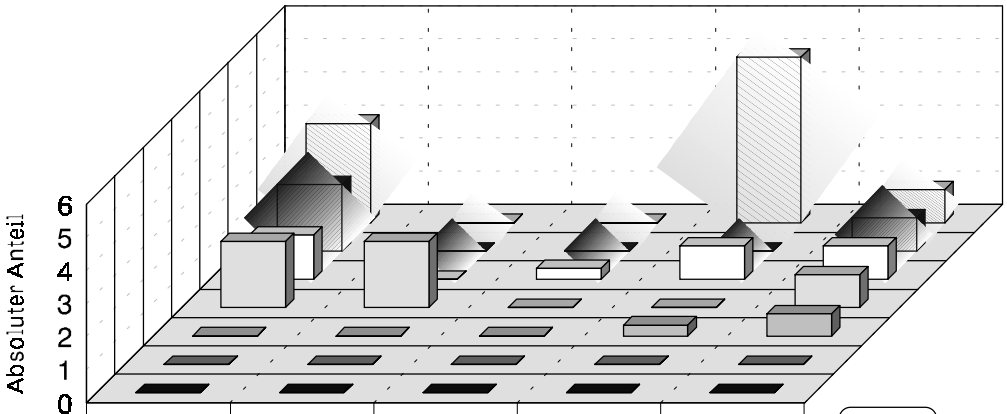


	1	2	3	4	5
1 dpi	0	0	0	0	0
2 dpi	0	0	0	1	0
3 dpi	0	0	0	0	0
4 dpi	0	0	0	0	0
5 dpi	0	0	0	0	0
6 dpi	0	0	0	0	0
7 dpi	3	0	0	3	1

Entwicklungsstadien

Abb. 106 Entwicklungsstadien 1-5 der Haustorien von *B. graminis* f. sp. *avenae* an Hafer cv. Erbgraf (EA) - Avenalumin II-Variante

Die höchsten Werte wurden erwartungsgemäß 7 dpi erzielt. Hier erreichten Stadium 4 den höchsten Wert mit 59,75, Stadium 5 mit 22 und Stadium 1 mit 13,5 (Abb. 105). Bei der Av I-Variante wurden keine Haustorienstadien gefunden. Die Av II-Variante zeigte die Stadien 1, 4 und 5 (Abb. 106). Die Werte lagen 7 dpi für die Haustorien-Entwicklungsstadien 1 und 4 bei jeweils 3 und für Stadium 5 bei 1.



	1	2	3	4	5
1 dpi	0	0	0	0	0
2 dpi	0	0	0	0	0
3 dpi	0	0	0	0,33	0,67
4 dpi	2	2	0	0	1
5 dpi	1,33	0	0,33	1	1
6 dpi	2	0	0	0	1
7 dpi	3	0	0	5	1

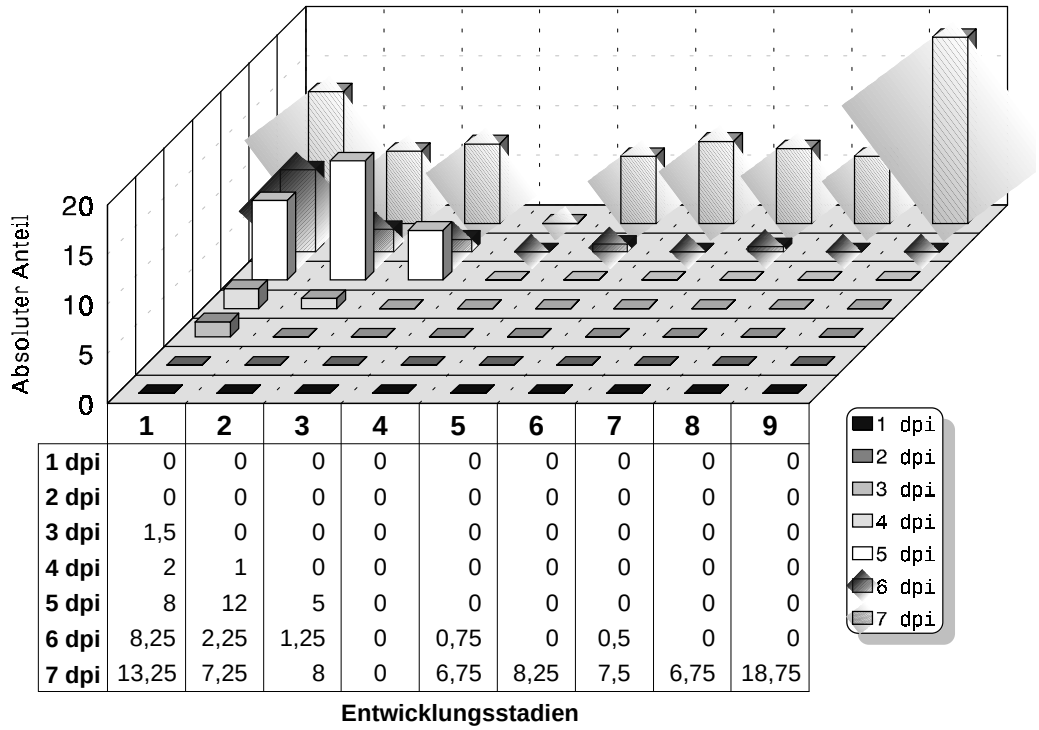
Entwicklungsstadien

Abb. 107 Entwicklungsstadien 1-5 der Haustorien von *B. graminis* f. sp. *avenae* an Hafer cv. Erbgraf (EA) - Scopoletin-Variante

Bei der Scop-Variante traten Stadien 4 und 5 bereits am dritten Tag nach der Inokulation auf (Abb. 107). Alle Stadien waren vertreten. Die höchsten Werte wurden 7 dpi mit 5 für Stadium 4 und mit 3 für Stadium 1 ermittelt.
Sowohl Avenalumine als auch Scopoletin hemmten die Haustorienbildung entscheidend. Der stärkste Effekt war unter Einfluß von Av I erkennbar, wogegen Scop die Ausbildung der Haustorien im Vergleich zu Av II etwas geringer hemmte.

Konidiophoren

Die Verteilung der Konidiophoren-Entwicklungsstadien 1-9 der unbehandelten Kontrollvariante EA 1-7 dpi ist in Abb. 108 dargestellt. Alle Stadien, mit Ausnahme von 4, waren vertreten. Die höchsten Werte wurden 7 dpi erzielt und erreichten ihr Maximum bei Stadium 9 mit 18,75.
Konidiophoren-Entwicklungsstadien wurden bei den mit Avenaluminen und Scopoletin behandelten Varianten nur vereinzelt gefunden. Aufgrund der geringen Anzahl erschien eine Auswertung nicht sinnvoll.



	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1 dpi	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2 dpi	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3 dpi	1,5	0	0	0	0	0	0	0	0
4 dpi	2	1	0	0	0	0	0	0	0
5 dpi	8	12	5	0	0	0	0	0	0
6 dpi	8,25	2,25	1,25	0	0,75	0	0,5	0	0
7 dpi	13,25	7,25	8	0	6,75	8,25	7,5	6,75	18,75

Entwicklungsstadien

Abb. 108 Entwicklungsstadien 1-9 der Konidiophoren von *B. graminis* f. sp. *avenae* an Hafer cv. Erbgraf (EA) - unbehandelte Kontrolle

Autofluoreszenz

Keine AF zeigten 7 % der Papillen der PGT`s der Av II-Variante (Tab. 16). Schwache AF trat zu 50 % bei der Scop-, zu 43 % bei der Av II- und zu 33 % bei der Kontrolle auf. Mittlere AF wurde zu 50 % bei der Av I-Variante, zu 38 % bei der Kontrolle, zu 17 % bei der Scop- und zu 7 % bei der Av II-Variante verzeichnet. Starke AF trat zu 50 % bei der Av I-, zu 43 % bei der Av II-, zu 33 % bei der Scop-Variante und zu 29 % bei der Kontrolle auf.

Tab. 16 Intensität der Autofluoreszenz der Papillen der PGT`s (% von jeweils 150 Papillen)

Variante	**Kontrolle**	**Av I**	**Av II**	**Scop**
AF - Intensität				
0 – keine	0	0	7	0
1 – schwach	33	0	43	50
2 – mittel	38	50	7	17
3 – stark	29	50	43	33
WPS	**kompatibel**			

Tab. 17 Farbe der Autofluoreszenz der Papillen der PGT`s (% von jeweils 150 Papillen)

Variante	**Kontrolle**	**Av I**	**Av II**	**Scop**
AF - Farbe				
gg	100	100	100	100
orö	0	0	0	0
rö	0	0	0	0
WPS	**kompatibel**			

Sämtliche AF der Papillen der PGT`s war von grüngelblicher Farbe (Tab. 17) und erschien abgegrenzt (Abb. 109).

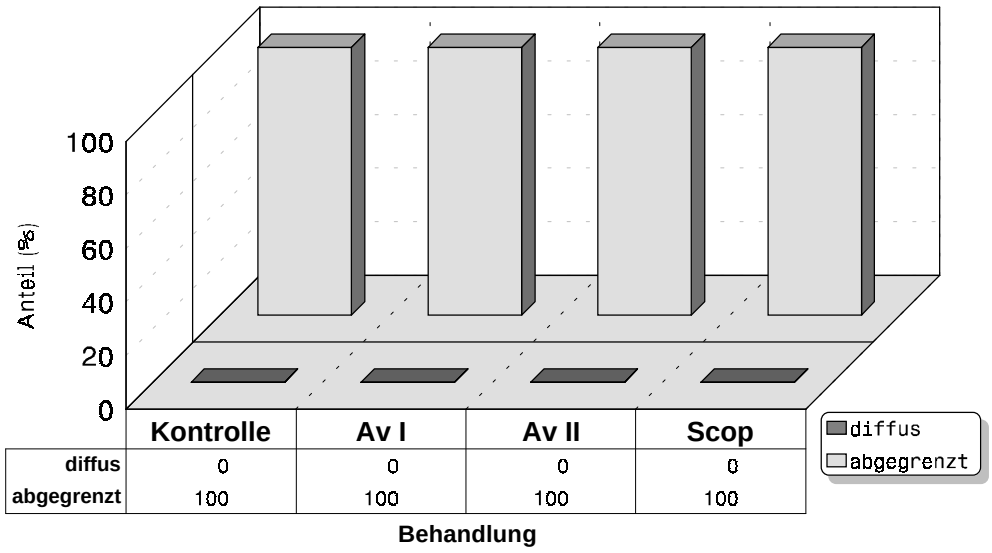


Abb. 109 Ausprägung der AF-Erscheinungen der Papillen der PGT`s (% von jeweils 150 Papillen)

Keine Halos wiesen 16 % der Papillen der PGT`s der Kontrolle, 50 % der Av II- und 33 % der Scop- Variante auf (Abb. 110). Ringförmige Halos wurden bei 4 % der Papillen der Kontrolle beobachtet. Sphärische Halos traten bei 80 % der Papillen der Kontrolle, bei allen Papillen der Av I-, bei 50 % der Av II- und bei 67 % der Scop-Variante auf. Alle Halos fluoreszierten mit grüngelblicher Farbe (Abb. 111).

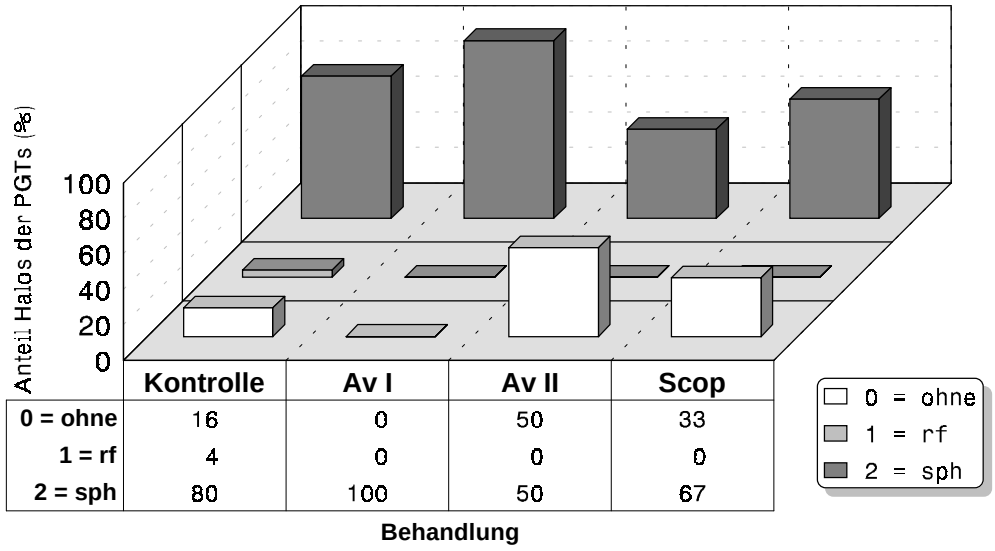


Abb. 110 Ausprägung der Halos der Papillen der PGT´s (% von jeweils 150 Papillen)

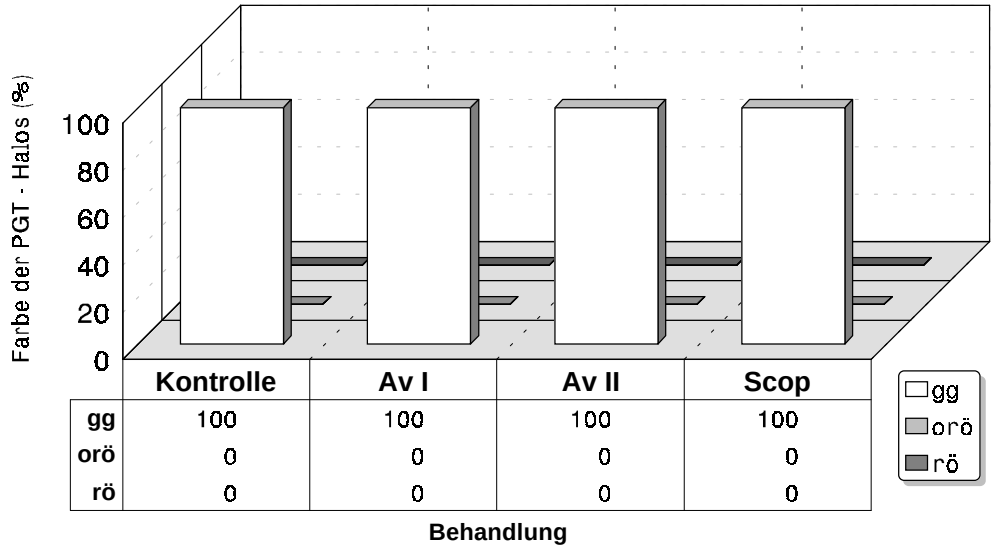


Abb. 111 Farbe der Halos der Papillen der PGT´s (% von jeweils 100 Halos)

Unter Abb. 112 sind die partiellen assoziierten AF-Erscheinungen der Papillen der PGT´s zu finden. Gruppe 1 (fluoreszierender Wandbereich, Papille fehlend) trat bei 9 % der Kontrolle und bei 25 % der Av II-Variante auf. Für Gruppe 2 (fluoreszierender Wandbereich, Papille vorhanden) konnten keine Anteile ermittelt werden und Gruppe 3 (fluoreszierender Wandbereich, Papille mit Halo) war mit Werten von 91 % bei der Kontrolle, von je 100 % bei der Av I- und der Scop-, sowie von 75 % bei der Av II-Variante vertreten.

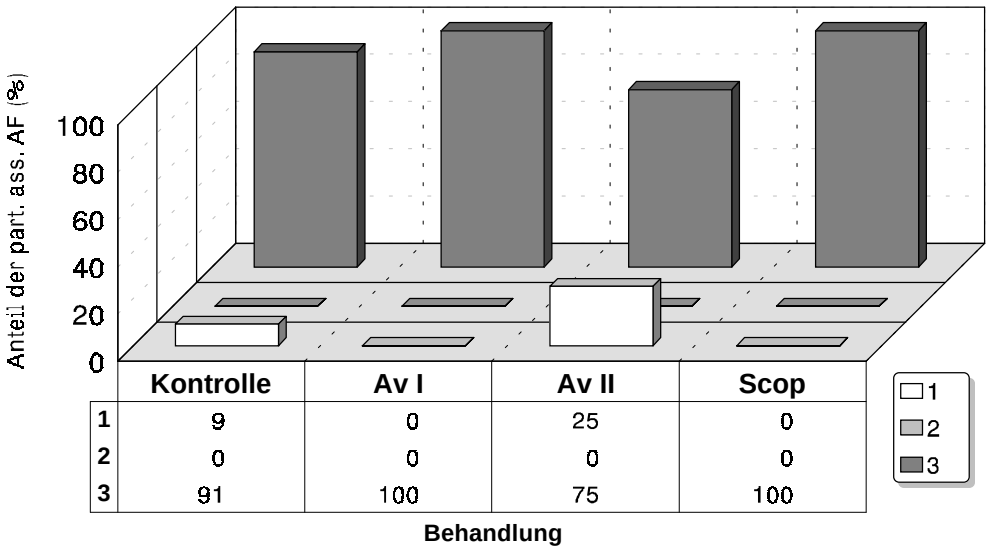


Abb. 112 Partielle assoziierte AF der Papillen der PGT´s (% von jeweils 150 Stellen mit partiell assoziierter AF)

Eine mittlere Intensität zeigten 64 % der PGT-Papillen der Kontrolle, 50 % der Av I- und 25 % der Av II-Variante (Abb. 113). Starke Intensitäten wurden bei der Kontrolle mit 36 %, bei der Av I- mit 50 %, bei der Av II- mit 75 % und bei der Scop-Variante mit 100 % beobachtet.

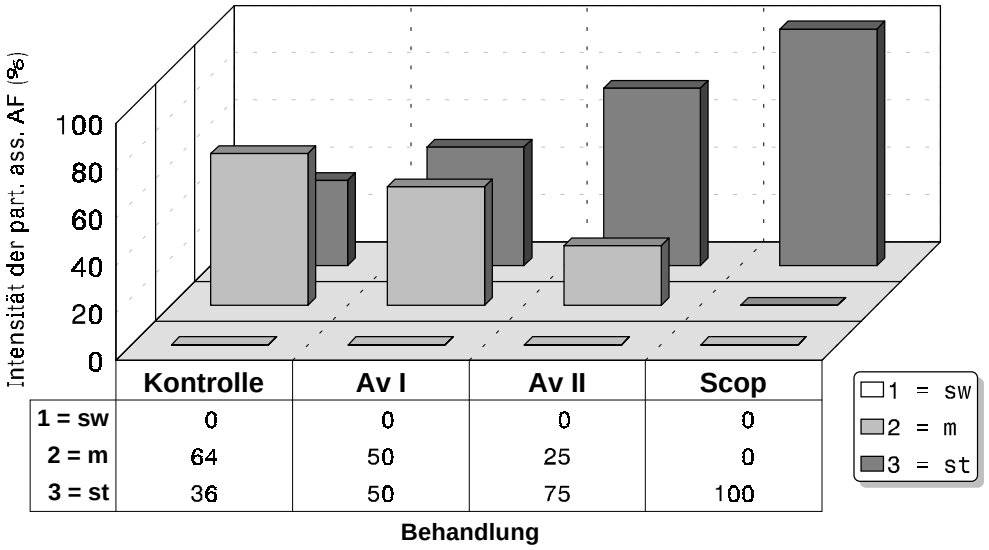


Abb. 113 Intensität der partiellen assoziierten AF der Papillen der PGT´s (% von jeweils 150 Stellen mit partiell assoziierter AF)

Alle partiellen assoziierten AF-Erscheinungen der Papillen der PGT´s fluoreszierten grüngelblich (Abb. 114).

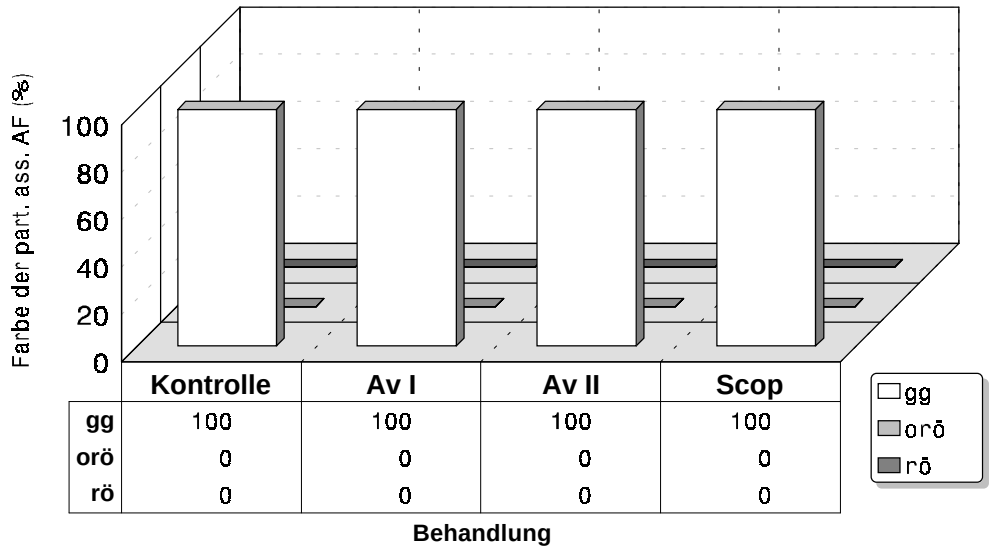


Abb. 114 Farbe der partiellen assoziierten AF der Papillen der PGT´s (% von jeweils 150 Stellen mit partiell assoziierter AF)

Keine AF zeigten 25 % der Papillen der Scop-Variante (Tab.18). Schwache AF war bei 24 % der Papillen der Kontrolle, bei 17 % der Av II- und bei 50 % der Scop-Variante zu erkennen.Mittlere AF trat bei 27 % der Papillen der Kontrolle, bei 75 % der Av I- und bei 44 % der Av II-Variante auf. Die Papillen der Kontrolle zeigten starke AF zu 49 %, die der Av I- und der Scop-Varianten zu je 25 % und die der Av II-Variante zu 39 %.

Tab. 18 Intensität der AF der Papillen der SGT`s für alle Penetrationspunkte (% von jeweils 150 Papillen)

Variante	**Kontrolle**	**Av I**	**Av II**	**Scop**
AF – Intensität Σ				
0 – keine	0	0	0	25
1 – schwach	24	0	17	50
2 – mittel	27	75	44	0
3 – stark	49	25	39	25
WPS	**kompatibel**			

Tab. 19 Farbe der AF der Papillen der SGT`s für alle Penetrationspunkte (% von jeweils 150 Papillen)

Variante	**Kontrolle**	**Av I**	**Av II**	**Scop**
AF – Farbe Σ				
gg	100	100	100	100
orö	0	0	0	0
rö	0	0	0	0
WPS	**kompatibel**			

Alle Papillen der SGT`s fluoreszierten mit grüngelblicher Farbe (Tab. 19) und erschienen abgegrenzt (Abb. 115).

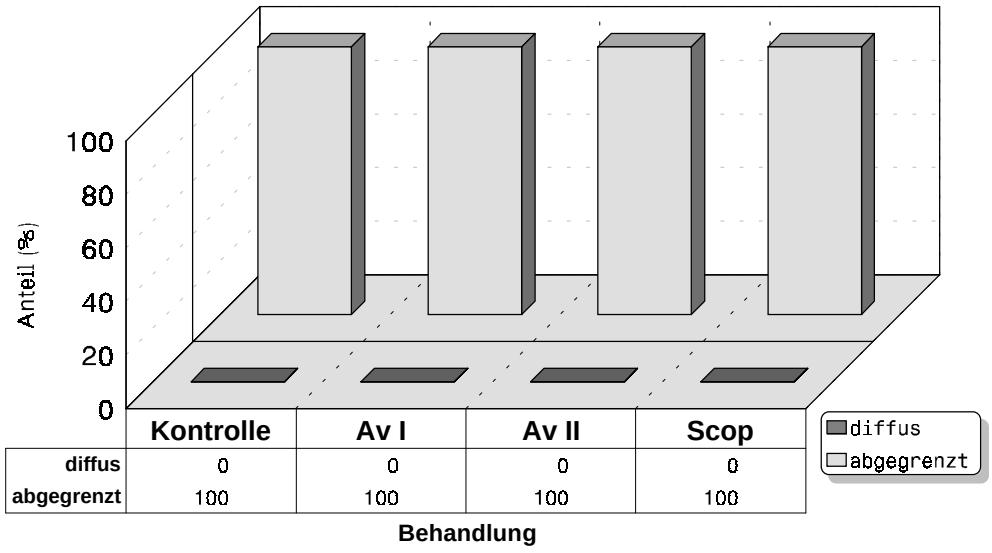


Abb. 115 Ausprägung der Autofluoreszenzerscheinungen der Papillen der SGT´s für alle Penetrationspunkte (% von jeweils 150 Papillen)

Keine Halos hatten 10 % der Papillen der SGT´s der Kontrolle, 28 % der Av II- und 75 % der Scop-Variante (Abb. 116).
Sphärische Halos traten bei 90 % der Papillen der Kontrolle, bei 100 % der Av I-, bei 72 % der Av II- und bei 25 % der Scop-Variante auf.

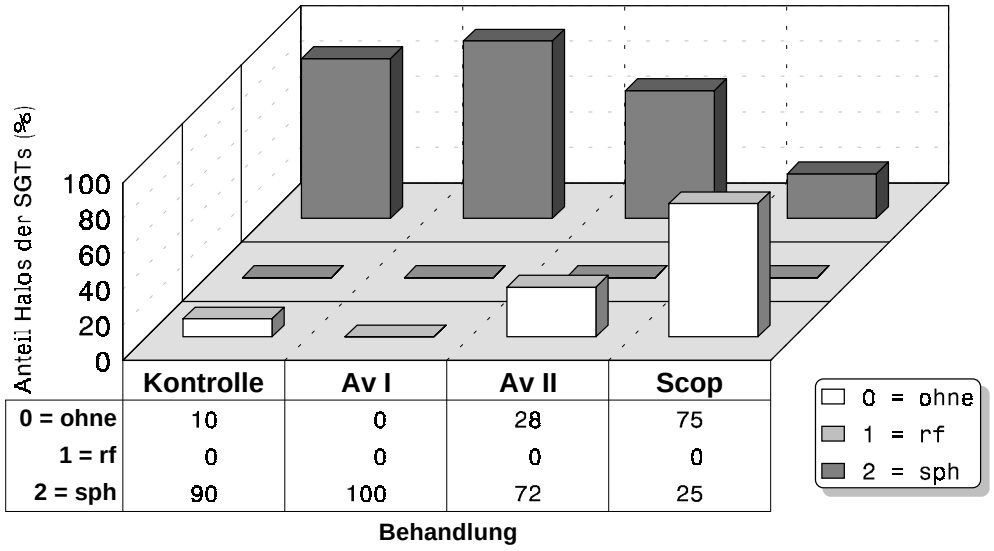


Abb. 116 Ausprägung der Halos der Papillen der SGT´s für alle Penetrationspunkte (% von jeweils 150 Papillen)

Alle Halos der Papillen der SGT´s fluoreszierten mit einer gelbgrünlichen Farbe (Abb. 117).

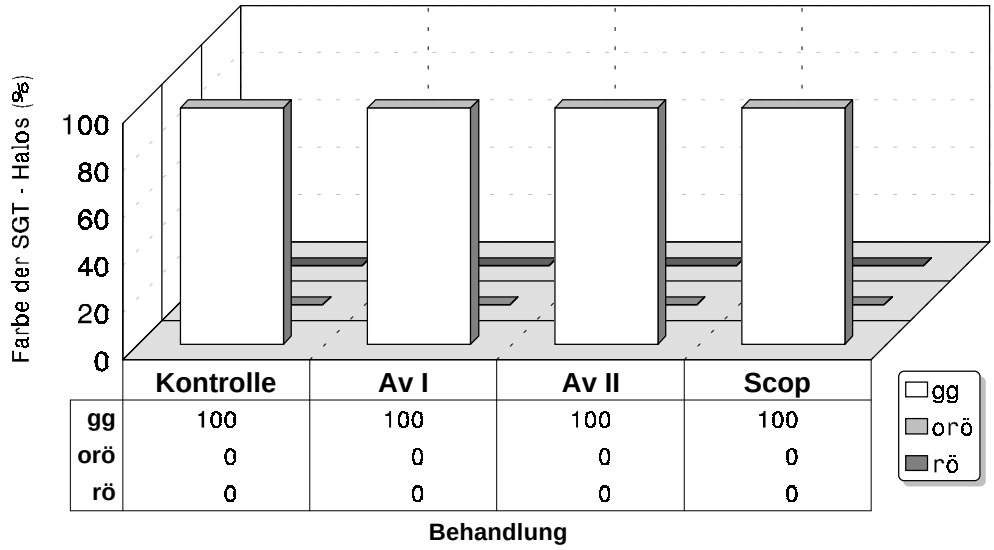


Abb. 117 Farbe der Halos der Papillen der SGT´s für alle Penetrationspunkte (% von jeweils 100 Halos)

Partielle assoziierte Autofluoreszenzerscheinungen der Papillen der SGT´s setzten sich bei der Kontrolle zu 4 % aus Gruppe 1 und zu 96 % aus Gruppe 3 zusammen (Abb. 118). Bei allen behandelten Varianten gehörten diese alle zur Gruppe 3.

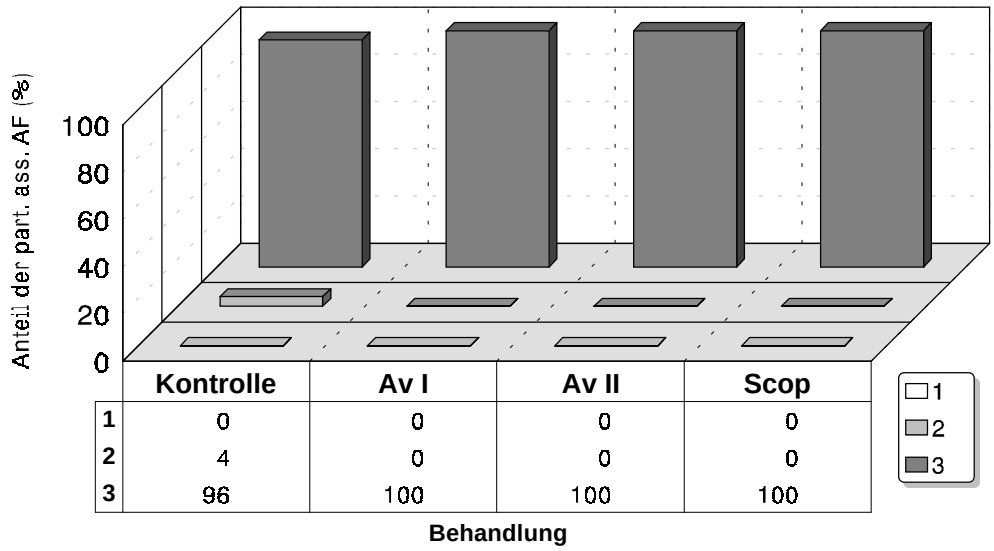


Abb. 118 Partielle assoziierte Autofluoreszenzerscheinungen der Papillen der SGT´s (für alle Penetrationspunkte)

Es zeigten 4 % der partiellen assoziierten Autofluoreszenzerscheinungen der Papillen der SGT´s der Kontrolle eine schwache Intensität (Abb. 119).
Mittlere Intensitäten zeigten 33 % der Papillen der Kontrolle, 75 % der Av I- und 56 % der Av II-Variante.
Die starken Intensitäten waren bei der Kontrolle mit 63 %, bei der Av I-Variante mit 25 %, bei der Av II-Variante mit 44 % und bei der Scop-Variante mit 100 % vertreten.

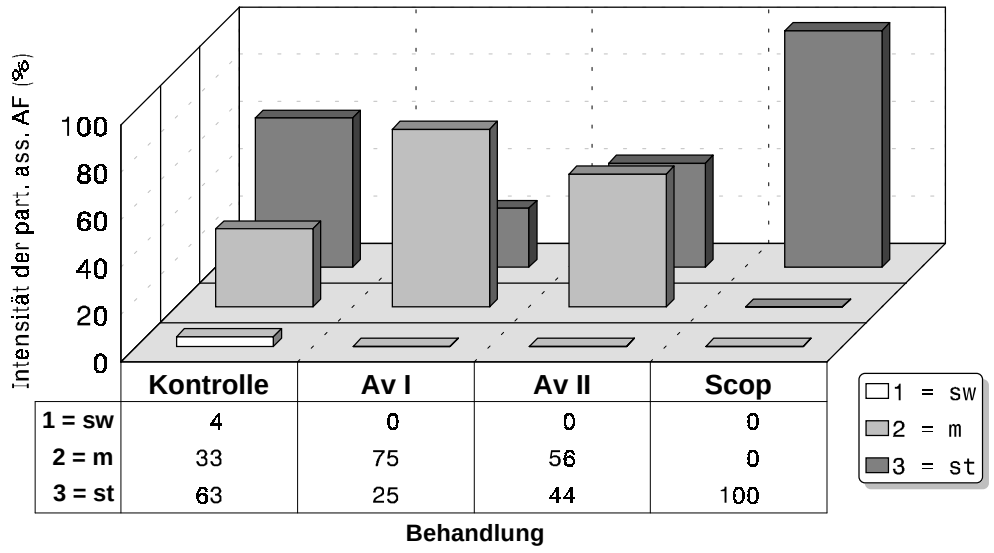


Abb. 119 Intensität der partiellen assoziierten Autofluoreszenzerscheinungen der Papillen der SGT´s für alle Penetrationspunkte (% von jeweils 150 Stellen mit partiell assoziierter AF)

Die Farbe der partiellen assoziierten Autofluoreszenzerscheinungen der Papillen der SGT´s war bei allen Varianten grüngelblich (Abb. 120).

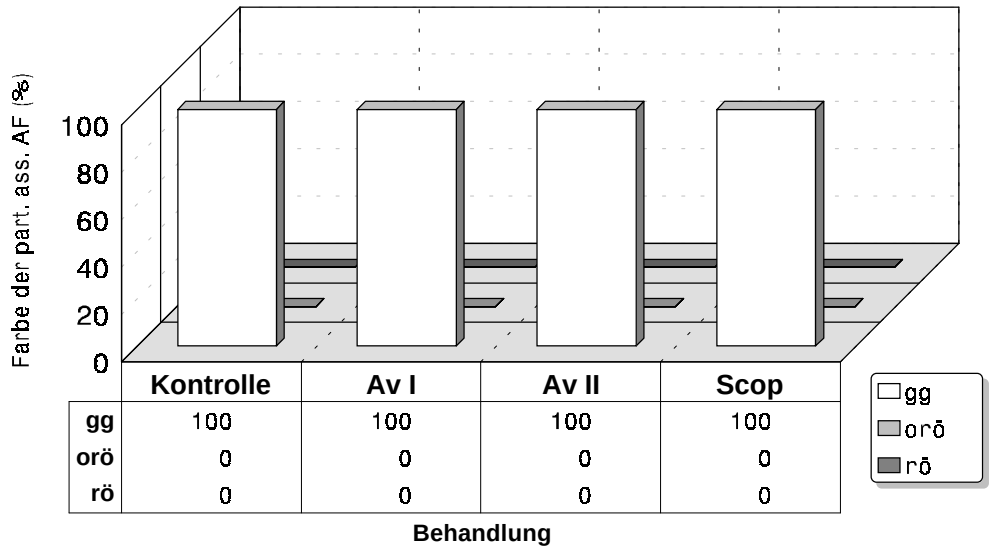


Abb.120 Farbe der partiellen assoziierten Autofluoreszenzerscheinungen der Papillen der SGT´s für alle Penetrationspunkte (% von jeweils 150 Stellen mit partiell assoziierter AF)

Die assoziierten Wandfluoreszenzerscheinungen waren bei der Av II-Variante zu 92 % partiell und zu 8 % total ausgeprägt (Abb. 121). Bei allen anderen Varianten traten diese zu je 100 % partiell auf.

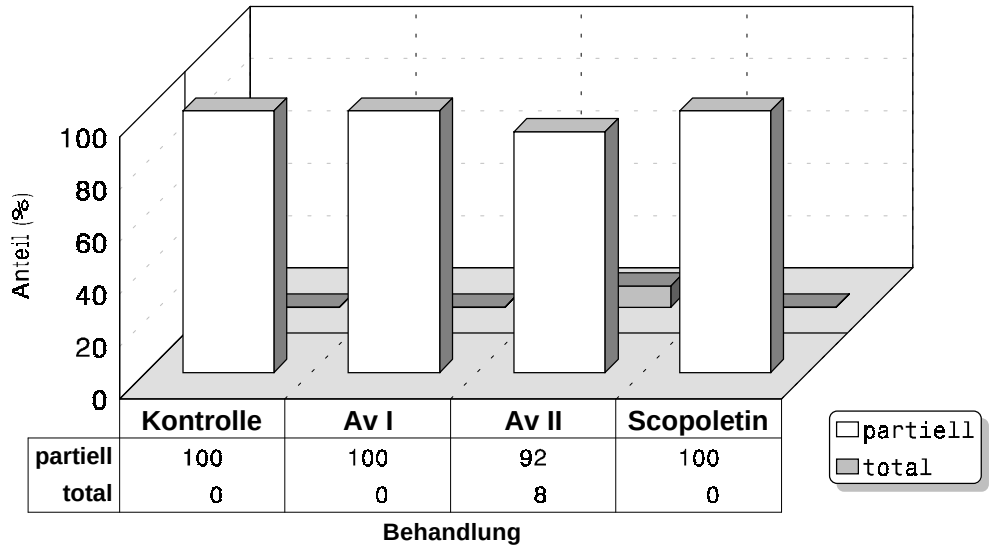
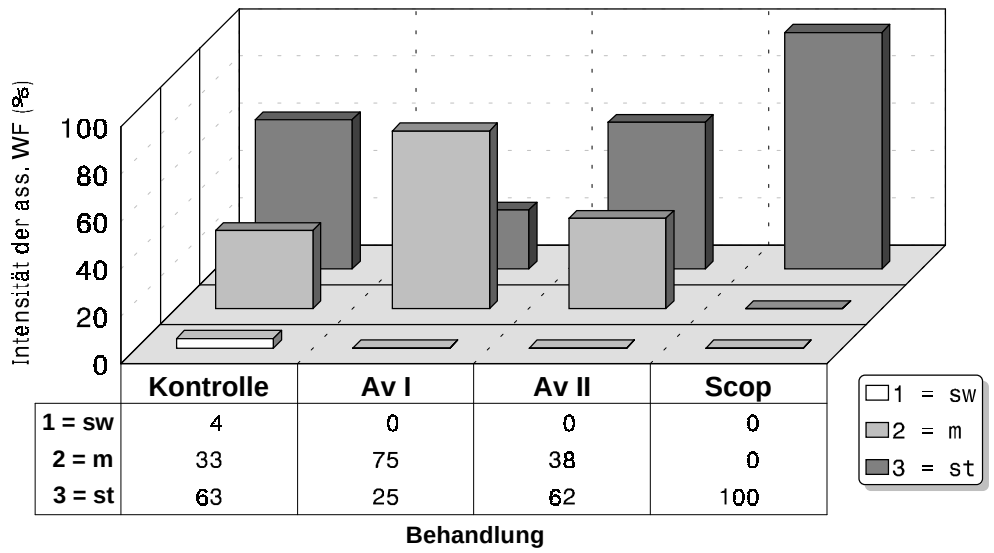


Abb. 121 Grad der mit den Papillen der SGT´s assoziierten Wandfluoreszenzerscheinungen für alle Penetrationspunkte (% von jeweils 100 Stellen mit assoziierter WF)

Die Intensität der mit den Papillen der SGT´s assoziierten Wandfluoreszenzerscheinungen war zu 4 % bei der Kontrolle schwach, zu 33 % mittel und zu 63 % stark (Abb. 122).
Die Av I-Variante zeigte zu 75 % mittlere und zu 25 % starke Intensität.
Bei der Av II-Variante waren 38 % der Autofluoreszenzen von mittlerer und 62 % von starker Intensität.
Die Scop-Variante zeigte ausschließlich starke Intensitäten.



	Kontrolle	Av I	Av II	Scop
1 = sw	4	0	0	0
2 = m	33	75	38	0
3 = st	63	25	62	100

Abb. 122 Intensität der mit den Papillen der SGT´s assoziierten Wandfluoreszenzerscheinungen für alle Penetrationspunkte (% von jeweils 100 Stellen mit assoziierter WF)

Konidien-Schädigungen durch Avenalumine und durch Scopoletin

Schädigungen der Konidien durch Sprühapplikationen von Avenalumin- bzw. Scopoletin-Lösungen wurden wie folgt klassifiziert (Abb. 123):

0: bezeichnet intakte Konidien ohne sichtbare Veränderungen
1: hierunter fallen alle Konidien, deren plasmatischer Inhalt Veränderungen aufweist, z. B. granuliertes Plasma
2: die Konidien sind geplatzt, der plasmatische Inhalt ist ganz oder teilweise ausgetreten.
3: ist gekennzeichnet durch strukturelle Veränderungen in der Zellwand der Konidien. Die Zellwand weist Auswüchse auf und ist z. T. abgelöst.

Von jeweils 120 untersuchten Konidien ergab sich nach Applikation wässriger Lösungen von Avenalumin I, von Avenalumin II und von Scopoletin folgender Befund (Abb. 124). Die Av I-Varianten zeigten keine intakten Konidien, 42 % wiesen Veränderungen im Plasma auf, bei 24 % der Konidien löste sich die Zellwand ab, 34 % waren geplatzt. Intakt waren 2,5 % der Konidien der Av II-Varianten, 60 % zeigten Veränderungen des plasmatischen Inhalts, 12,5 % wiesen Wandablösungen auf, 25 % waren geplatzt. Von den Konidien der Scop- Varianten waren 2,5 % intakt, 50 % der Konidien wiesen Veränderungen im Plasma auf, 12,5 % zeigten Wandablösungen und 35 % waren geplatzt.

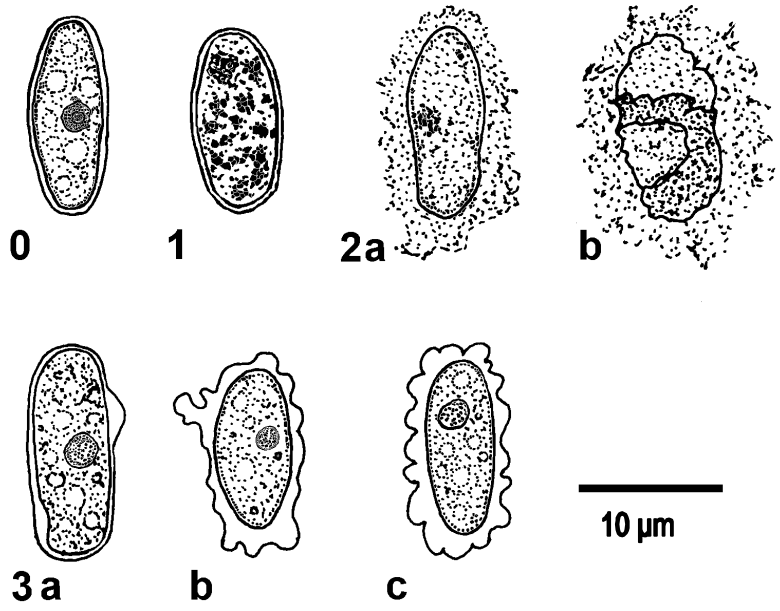


Abb. 123 Konidien-Schädigungen durch Avenalumine bzw. durch Scopoletin

Rasterelektronenmikroskopische (REM) Untersuchungen zeigten Schädigungen im Bereich der Zellwand der Konidien sowie in den apikalen Bereichen der sekundären Keimhyphen. Die Zellwände wiesen in diesen Bereichen starke Auflösungserscheinungen mit granulären Strukturen auf. In einigen beobachteten Fällen trat unter dem Einfluß von Scopoletin der cytoplasmatische Inhalt der Konidien aus.

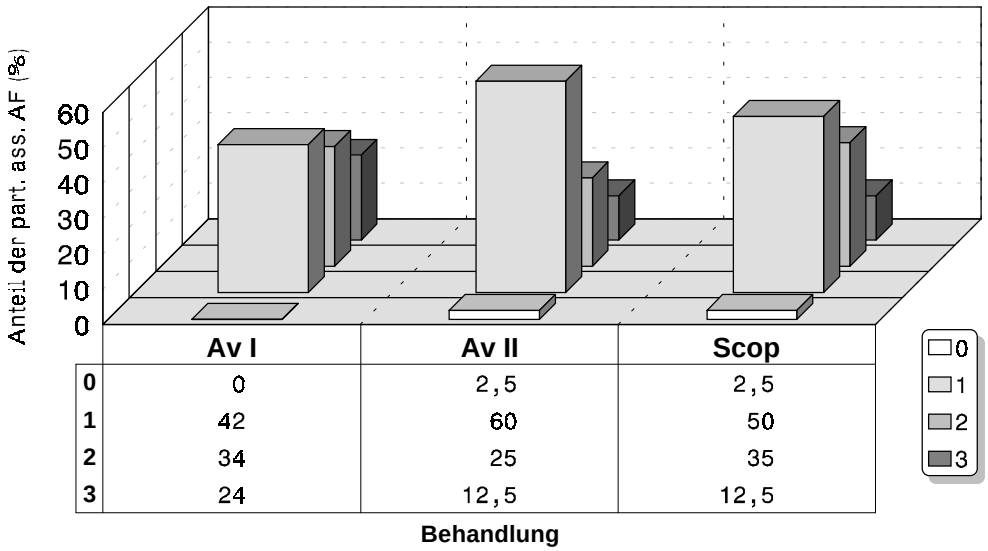


Abb. 124 Schädigungen der Konidien von *E. graminis* f. sp. *avenae* nach Applikation wässriger Lösungen von Avenalumin I und II und Scopoletin (Erläuterung der Legende: s. Text über Abb. 123)

Avenalumingehalt der mit Avenaluminlösungen besprühten Haferblätter

Die HPLC-Messungen ergaben für die mit wässrigen Lösungen von Av I bzw. Av II besprühten Haferblätter über den Zeitraum bis 10 Tage nach Applikation die in Abb. 125 und 126 dargestellten Werte.

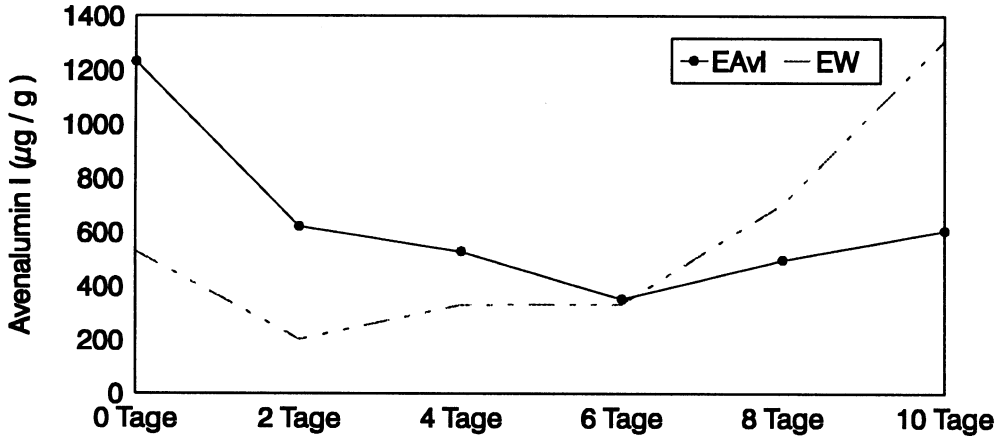


Abb. 125 Avenalumin I - Gehalt besprühter Haferblätter (EAvI) im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle (EW)

Der Wert für Av I sank von über 1.200 (µg/g) unmittelbar nach dem Besprühen bereits am zweiten Tag bis auf die Hälfte ab.

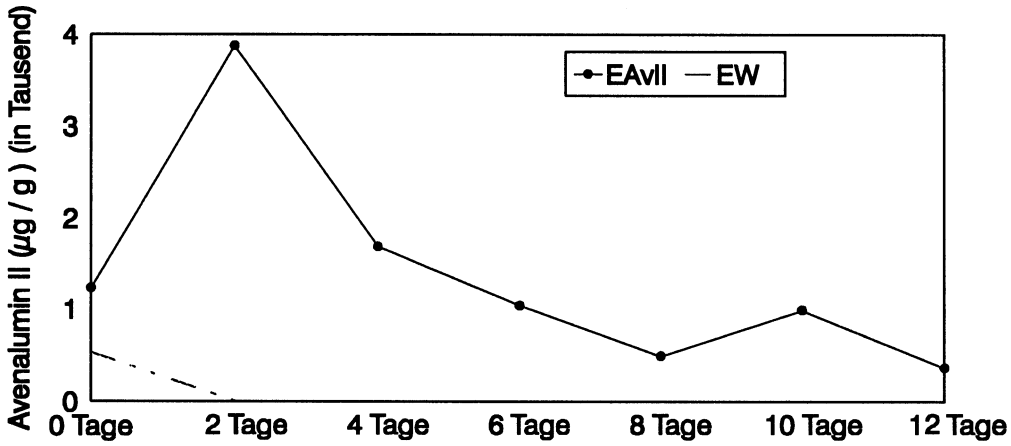
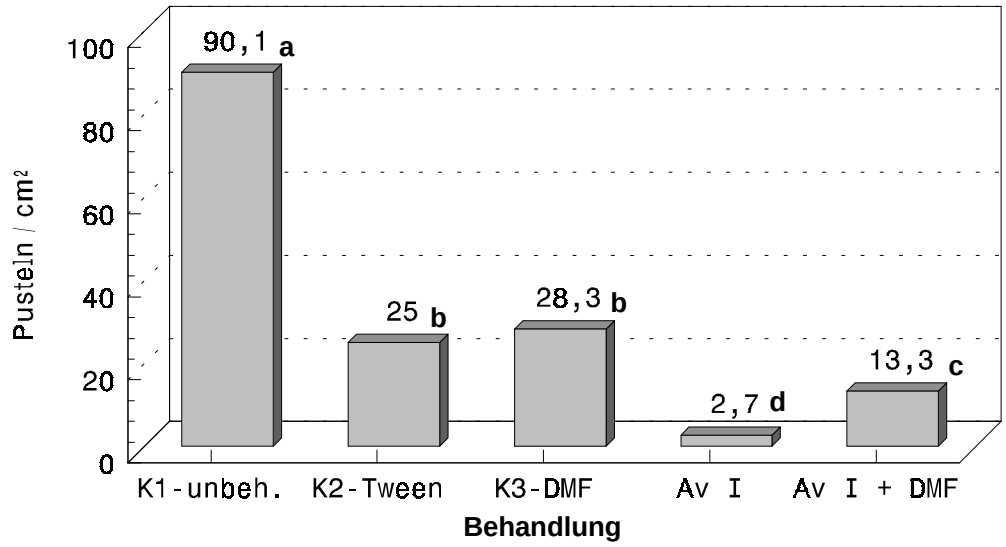


Abb. 126 Avenalumin II - Gehalt besprühter Haferblätter (EAvII) im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle (EW)

Dimethylformamid (DMF)-Varianten

Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe mit den Dimethylformamid-Varianten sind in Abb. 127 dargestellt. K1, die unbehandelte Kontrolle, zeigte mit 90,1 Pusteln/cm² den höchsten Anteil. Der Wert für die mit Tween 20 behandelten Kontrolle K2 lagen bei 25 und der mit Tween 20 und DMF behandelten Kontrolle K3 bei 28,3. Diese Werte unterschieden sich nicht

signifikant im Tukey-Test (p = 0,05). Die mit einer wäßrigen Lösung von Tween und Av I besprühte Variante Av I erzielte einen Pustelanteil von 2,7 Pusteln/cm². Mit 13,3 Pusteln/cm² lag der Wert für die mit Tween, DMF und Av I besprühten Variante deutlich über dem vorhergehenden.



gleiche Buchstaben bedeuten keine signifikanten Unterschiede im Tukey-Test (p = 0,05)

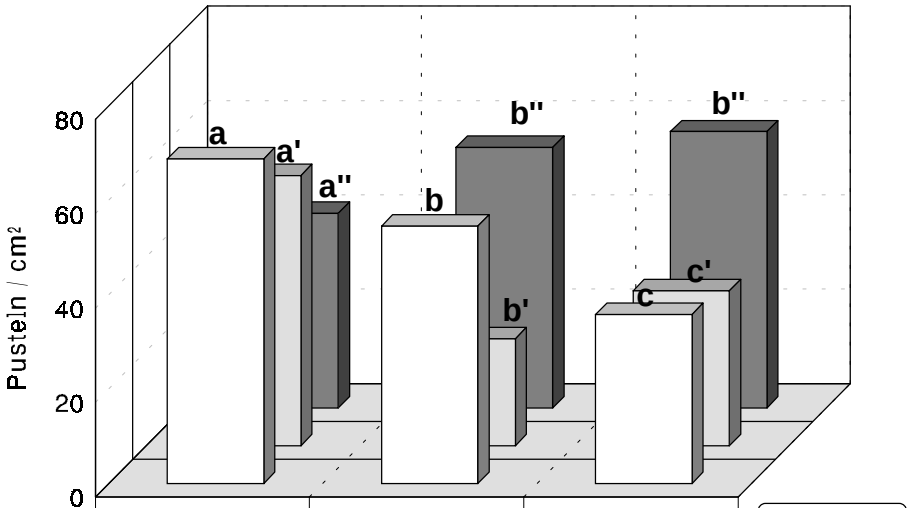
Abb. 127 Befall von *A. sativa* cv. Erbgraf durch *B. graminis* f. sp. *avenae* nach Behandlung mit Avenalumin I-Lösungen im Vergleich zu den Kontrollen 7 dpi.

Scopoletin-Nachweis

Um eine eventuelle Beteiligung von Scop im Resistenzgeschehen nachzuweisen, sollte eine diesbezügliche Analyse erfolgen. Vorinokulation mit inkompatiblen *B. graminis* ff. sp. sollte eine Resistenz gegen f. sp. *avenae* an Hafer cv. Barra und Erbgraf induzieren. Die Untersuchungen wurden an intakten Pflanzen durchgeführt. Der Scop-Gehalt der Kontrollen und der infizierten Blätter sollte 4 dpi mittels Dünnschichtchromatographie und HPLC-Analysen nachgewiesen werden. Untersucht wurden die Varianten: E, EA, **EH**, **ET**, EHA, ETA, B, BA, **BH**, **BT**, BHA, und BTA. Dünnschichtchromatographisch war kein sichtbarer Nachweis von Scop möglich. Auch HPLC-Analysen ergaben keine signifikanten Unterschiede im Scop-Gehalt. Die ermittelten Peaks lagen an der Nachweisgrenze und waren nicht auswertbar.

Auswirkung von Avenalumin I auf die B. graminis *ff. sp.* hordei *und* tritici *an ihren betreffenden Wirtspflanzen*

Die Wirkung von Av I wurde auf die Entwicklung der *B. graminis* f. sp. *avenae* am cv. Erbgraf, der f. sp. *hordei* am cv. Aura und der f. sp. *tritici* am cv. Kanzler untersucht. Die Pustelzahlen/cm² wurden 7 dpi mit den entsprechenden unbehandelten Kontrollen *K1* und *K2* verglichen (Abb. 128). Die Kontrolle *K1* war völlig unbehandelt, die Kontrolle *K2* wurde mit einer wäßrigen Lösung von Tween 20 besprüht.



	K 1	K 2	Av I
cv. Erbgraf	68,8	54,6	35,8
cv. Kanzler	57,3	22,7	32,9
cv. Aura	41,3	55,3	58,6

Behandlung

gleiche Buchstaben bedeuten keine signifikanten Unterschiede im Tukey-Test (p = 0,05)

Abb. 128 Auswirkung von Avenalumin I auf die Entwicklung der *B. graminis* f. sp*. avenae, hordei* und *tritici* auf ihren betreffenden Wirtspflanzen

Nach Inokulation mit der f. sp. *avenae* bei einer Konidiendichte von 1.128 Konidien/cm² zeigte die Kontrolle *K1* 7 dpi 68,8 Pusteln/cm². *K2* hatte 54,6 Pusteln/cm². Die mit einer Lösung von Tween 20 und Av I besprühte Variante erzielte 35,8 Pusteln/cm². Im System Gerste/Gerstenmehltau unterschieden sich Kontrolle *K2* und Av-Variante nicht signifikant voneinander. Mit 32,9 Pusteln/cm² verbuchte Weizen für die Av-Variante einen im Vergleich zur Kontrolle *K2* mit 22,7 Pusteln/cm² signifikant höheren Wert.

3.6 Auswirkungen der PAL-Inhibitoren AOA, Cumarsäure, Glyphosate und Zimtsäure auf die Entwicklung der *B. graminis* f. sp. *avenae*

Ein weiterer Nachweis zur Funktion der Avenalumine sollte durch Hemmung der Phenyl-Ammonium-Lyase (PAL), einem Schlüsselenzym der Avenaluminsynthese, erfolgen. Folgende Inhibitoren der PAL wurden in Sprühlösungen von 200 µg/ml eingesetzt:

- **AOA** = **A**mino**o**xy **a**cetic acid,
- **C** = **C**umarsäure,
- **G** = **G**lyphosate und
- **Z** = **Z**imtsäure

Alle Versuche wurden an jungen Haferpflanzen cv. Erbgraf durchgeführt (s. 2.2.7).
Eine Erhöhung des Befalls nach Hemmung der PAL wurde postuliert. Durch Vorinokulation mit einer inkompatiblen f. sp. von *B. graminis* sollte, wie be-

reits in vorhergehenden Versuchsreihen nachgewiesen, eine Erhöhung der Avenaluminsynthese induziert werden. Im Falle einer Hemmung der PAL ist eine Blockierung der Avenaluminsynthese zu erwarten, so dass es zu keinem Anstieg des Avenalumingehaltes in den Haferblättern kommt.

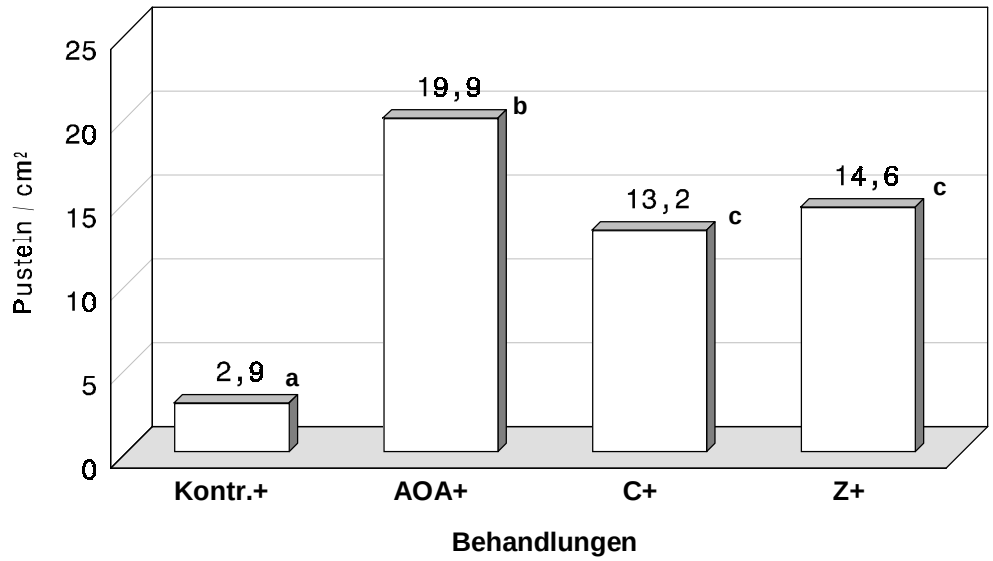
Zur Kennzeichnung der Versuchsvarianten wurden folgende Abkürzungen verwendet:

-	= unbehandelt
X	= inokuliert bzw. vorinokuliert mit *B. graminis* f. sp. *tritici*
+	= inokuliert mit *B. graminis* f. sp. *avenae*

Die meisten der mit Glyphosate behandelten Pflanzen starben vor Ablauf der 7 Tage bis zur Pustelbildung ab. Vorversuche wiesen bereits auf die starke Phytotoxizität von Glyphosate hin.

Pustelzahl 7 dpi

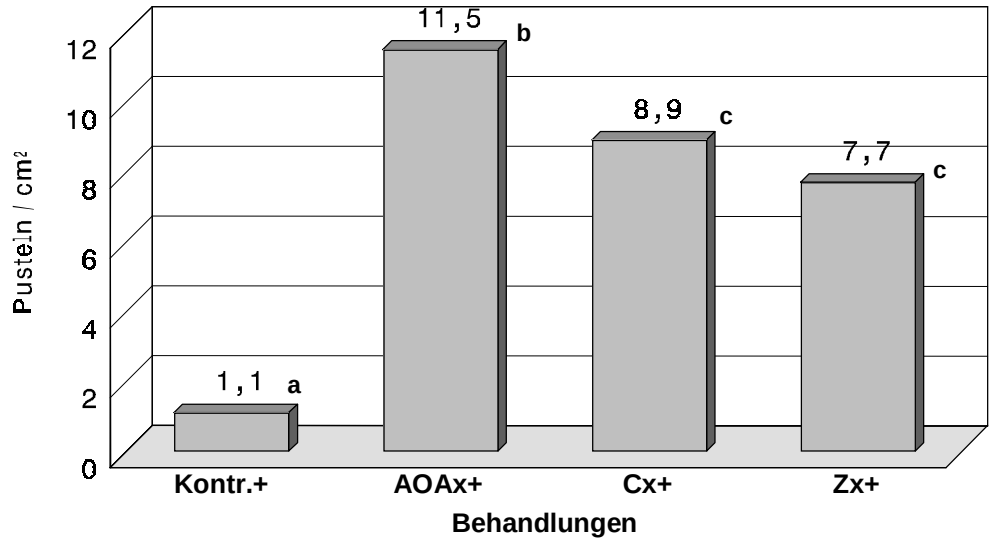
Im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle zeigten die mit PAL-Inhibitoren behandelten Pflanzen cv. Erbgraf 7 dpi eine signifikant höhere Pustelzahl nach Inokulation mit *B. graminis* f. sp. *avenae* (Abb. 129).



gleiche Buchstaben bedeuten keine signifikanten Unterschiede im Tukey-Test (p = 0,05)

Abb. 129 Anzahl der Pusteln/cm^2 der mit den PAL-Inhibitoren AOA, C und Z behandelten Pflanzen cv. Erbgraf im Vergleich zur Kontrolle 7 dpi.

Auch nach Vorinokulation mit *B. graminis* f. sp. *tritici* und nachfolgender Inokulation mit der f. sp. *avenae* waren bei allen Behandlungen mit PAL-Inhibitoren signifikant höhere Pustelzahlen vorhanden (Abb. 130).



gleiche Buchstaben bedeuten keine signifikanten Unterschiede im Tukey-Test (p = 0,05)

Abb. 130 Anzahl der Pusteln/cm^2 der mit den PAL-Inhibitoren AOA, C und Z behandelten Pflanzen cv. Erbgraf im Vergleich zur Kontrolle 7 dpi - nach Vorinokulation mit der inkompatiblen *B. graminis* f. sp. *tritici* (WILLEMS & SCHLÖSSER 1995, verändert)

Konidienkeimung

Die Keimung der Konidien erfolgte in allen Varianten mit einem hohen Prozentsatz (Abb. 131). Eine Auswirkung der PAL-Inhibitoren wurde in keinem Fall beobachtet.

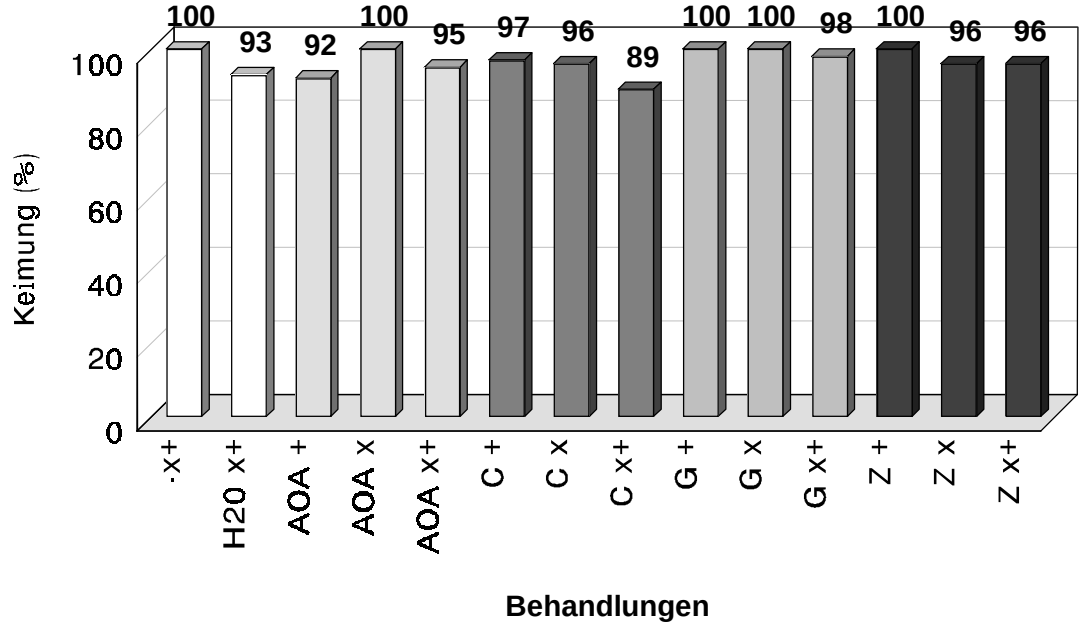


Abb. 131 Konidienkeimung von *B. graminis* f. sp. *avenae* an cv. Erbgraf unter dem Einfluß verschiedener PAL-Inhibitoren (% von jeweils 250 Konidien)

Primäre Keimhyphen (PGT`s)

Bei den Papillentypen der PGT`s zeigten, mit Ausnahme von C+ und Gx+, alle Varianten die höchsten Anteile in Gruppe 1 (Tab. 20). Die niedrigsten Anteile wurden in Gruppe 4 gefunden, mit Ausnahme von G+ und Zx+.

Tab. 20 Papillentypen gegen PGT`s an Blättern von cv. Erbgraf unter dem Einfluß verschiedener PAL-Inhibitoren (% von jeweils 150 Konidien)

Behandlung / Typ	-x+	H2O x+	AOA+	AOAx	AOA x+	C+	Cx	Cx+	G+	Gx	Gx+	Z+	Zx	Zx+
0	5	15	23	0	16	23	7	23	0	17	38	8	15	12
1	38	48	47	56	44	31	42	35	60	41	27	50	55	38
2	14	15	15	18	4	8	12	12	0	14	8	0	15	8
3	33	18	15	28	36	38	35	30	27	24	23	42	15	27
4	10	4	0	8	0	0	4	0	13	4	4	0	0	15

Mittelgroße Papillen stellten in allen Varianten den Hauptanteil (Tab. 21). Ausnahmen bildeten Gx+, wo sich die Anteile kleiner und mittelgroßer Papillen die Waage hielten, und C+, wo kleine Papillen dominierten. Große Papillen stellten bei fast allen Varianten den geringsten Anteil. Ausnahmen waren die Kontrolle H2Ox+, wo der geringste Anteil bei den kleinen Papillen lag, und Cx+, wo sich die Anteile großer und kleiner Papillen entsprachen.

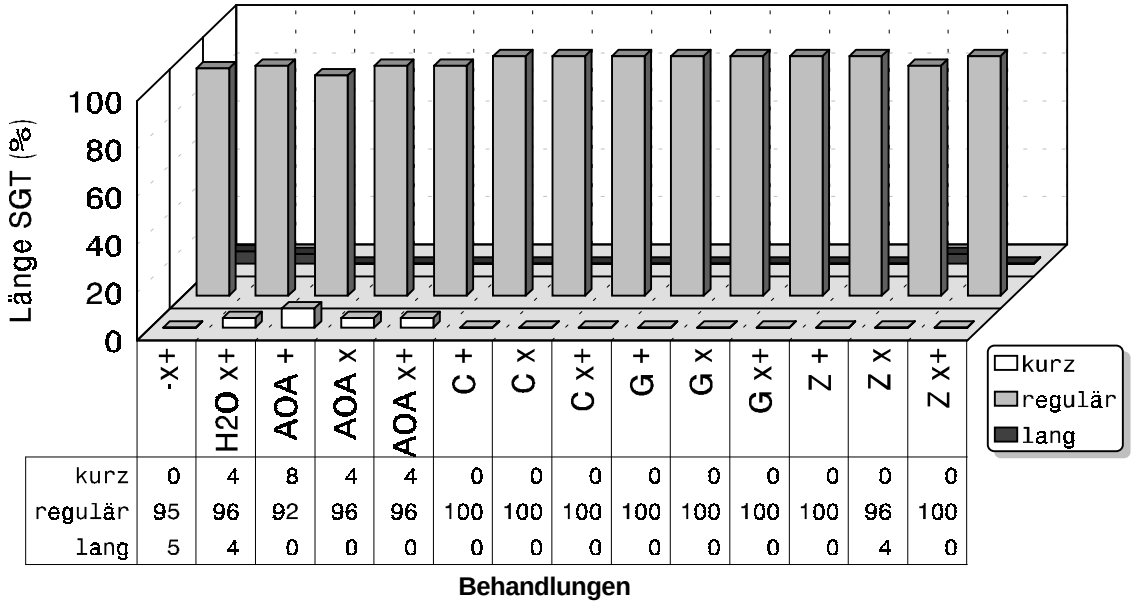
Tab. 21 Papillengrößen gegen PGT`s an Blättern von cv. Erbgraf unter dem Einfluß verschiedener PAL-Inhibitoren (% von jeweils 150 Konidien)

Behandlung / Größe	-x+	H2O x+	AOA +	AOA x	AOA x+	C+	Cx	Cx+	G+	G x	G x+	Z+	Zx	Zx+
1	24	22	67	48	29	50	26	25	27	25	50	9	17	26
2	66	52	22	52	62	40	70	50	73	67	50	91	70	65
3	10	26	11	0	9	10	4	25	0	8	0	0	13	9

Ein sichtbarer Unterschied in den Papillentypen und –größen gegen PGT`s war bezüglich der mit PAL-Inhibitoren behandelten Varianten und beider Kontrollen nicht feststellbar.

Sekundäre Keimhyphen (SGT`s)

In allen Varianten dominierten die regulären Längen der SGT`s. Die Anteile lagen hier zwischen 92-100 % (Abb. 132). Kurze Keimhyphen wurden nur bei der Kontrolle H2Ox+ und bei den AOA-Varianten verzeichnet. Lange Keimhyphen traten sowohl bei beiden Kontrollen als auch bei Zx auf.



	-x+	H2O x+	AOA +	AOA x	AOA x+	C +	C x	C x+	G +	G x	G x+	Z +	Z x	Z x+
kurz	0	4	8	4	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
regulär	95	96	92	96	96	100	100	100	100	100	100	100	96	100
lang	5	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0

Behandlungen

Abb. 132 Länge der SGT`s von *B. graminis* f. sp. *avenae* an Blättern von cv. Erbgraf unter dem Einfluß verschiedener PAL-Inhibitoren (% von jeweils 150 gekeimten Konidien)

Bei allen Varianten dominierte beim Durchmesser der SGT`s der reguläre Typus. Hier ließen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den unbehandelten Kontrollen und den mit PAL-Inhibitoren behandelten Pflanzen feststellen. Auch hinsichtlich Zelligkeit, Verzweigung und Einkrümmung der SGT-Hyphenspitze zeigten sich keine deutlichen, durch PAL-Inhibitoren bedingte Unterschiede.

Der Anteil der Penetrationen der Blattepidermiszellen lag für alle Varianten im Bereich von 74-95 % und zeigte keine augenfälligen Unterschiede (Abb. 133).

Die Papillenbildung war bei allen Varianten auf einem hohen Niveau zwischen 70-100 % der SGT`s der gekeimten Konidien (Abb. 134) zu finden. Signifikante Unterschiede zwischen den Kontrollen und den mit PAL-Inhibitoren behandelten Pflanzen waren nicht vorhanden.

In den Tab. 22 u. 23 sind die Ergebnisse für die Papillentypen und -größen aller Penetrationspunkte zusammengefasst. Penetrationspunkte ohne erkennbare Papillenbildung wurden lediglich bei AOAx+ mit 8 %, Gx mit 4 %, Gx+ mit 5 % und bei Zx mit 4 % registriert. Der niedrigste Anteil vesikulärgranulärer Papillen (Typ 1) wurde mit 8 % bei G+, der höchste mit 63 % bei Zx festgestellt. Die Anteile homogener Papillen (Typ 2) bewegten sich zwischen 11 % bei Zx und 45 % bei Gx+. AOA+ hatte keine Mischtypen (Typ 3). Die Werte dieser Gruppe bewegten sich bei den restlichen Varianten

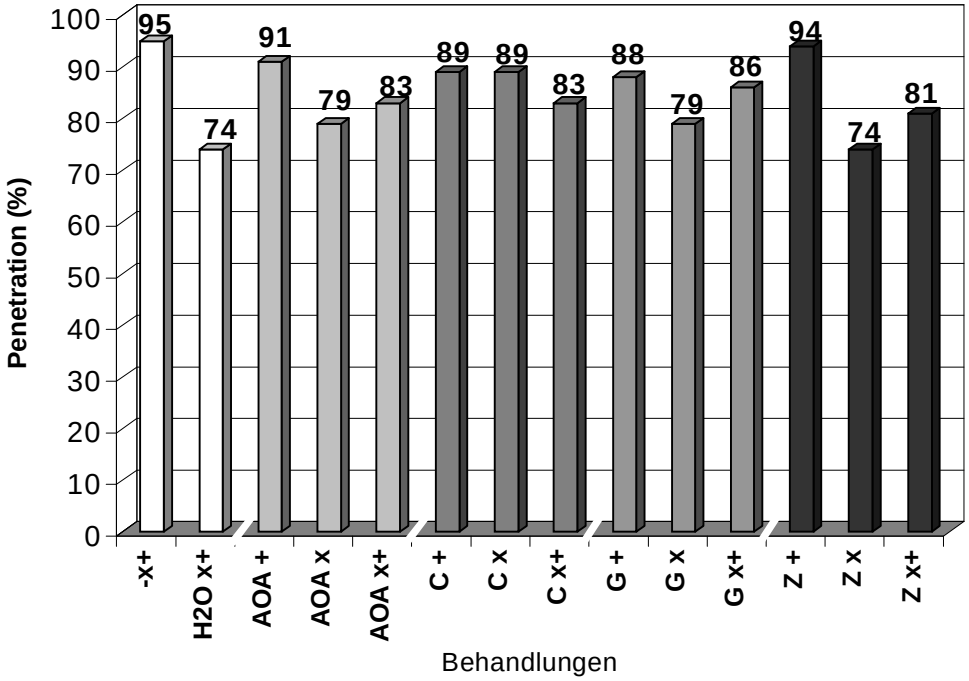


Abb. 133 Penetration von Epidermiszellen durch *B. graminis* f. sp. *avenae* an Blättern von cv. Erbgraf unter dem Einfluß verschiedener PAL-Inhibitoren (% von jeweils 150 gekeimten Konidien)

zwischen 9-36 %. Bei Gx waren keine Wandauflagerungen (Typ 4) zu finden. Den höchsten Anteil erzielte hier Z+ mit 25 %. –x+, AOAx, Cx+, Gx+, Zx und Zx+ hatten keine Tuber (Typ 5). Mit 39 % hatte G+ hier den höchsten Anteil.

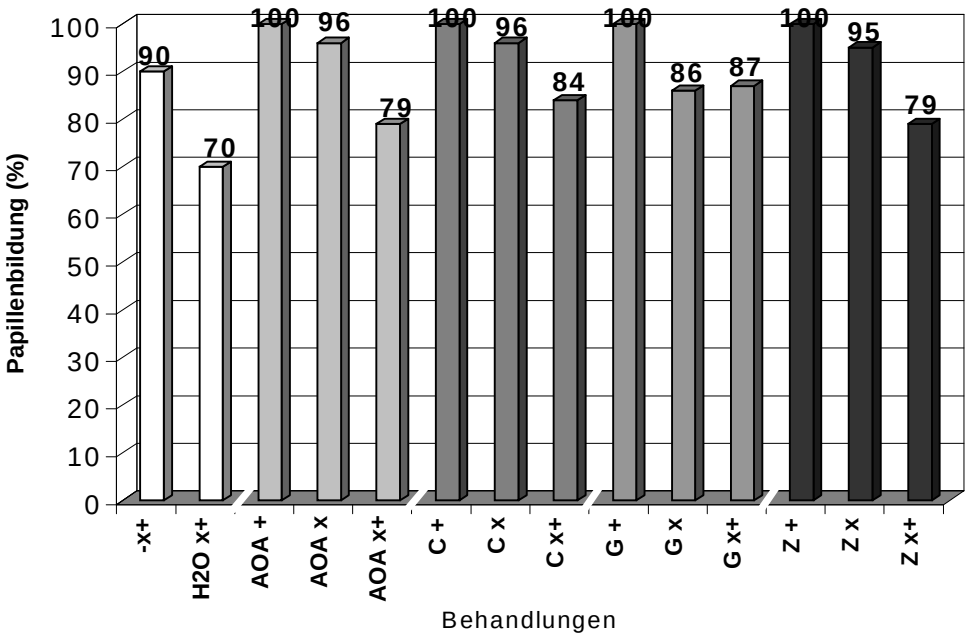


Abb. 134 Papillenbildung an Blättern von cv. Erbgraf unter dem Einfluß verschiedener PAL-Inhibitoren (% von jeweils 150 gekeimten Konidien)

Tab. 22 Papillentypen gegen sekundäre Keimhyphen (SGT`s) für alle Penetrationspunkte an Blättern von cv. Erbgraf unter dem Einfluß verschiedener PAL-Inhibitoren (% von jeweils 150 gekeimten Konidien)

Behandlung / Typ	-x+	H2O x+	AOA+	AOAx	AOA x+	C+	Cx	Cx+	G+	Gx	Gx+	Z+	Zx	Zx+
0	0	0	0	0	8	0	0	0	0	4	5	0	4	0
1	26	23	18	48	36	27	43	40	8	39	27	25	63	32
2	42	23	37	17	12	37	22	30	15	39	45	17	11	27
3	21	27	0	24	28	18	17	20	23	9	18	17	11	36
4	11	23	18	11	8	9	9	10	15	0	5	25	11	5
5	0	4	27	0	8	9	9	0	39	9	0	17	0	0

Typ 0 = keine Papillen erkennbar

Mittelgroße Papillen stellten für alle Varianten die Hauptanteile. Der geringste Anteil kleiner Papillen lag mit 4 % bei H2Ox+, die höchsten Anteile hatten mit je 38 % AOAx und Gx+. Bei Gx+ traten keine großen Papillen auf. Die höchsten Anteile entfielen in dieser Kategorie mit 26 % auf H2Ox+, mit 25 % auf AOA+ und mit 23 % auf G+.

Tab. 23 Größen der Papillen gegen sekundäre Keimhyphen (SGT`s) für alle Penetrationspunkte an Blättern von cv. Erbgraf unter dem Einfluß verschiedener PAL-Inhibitoren (% von jeweils 150 gekeimten Konidien)

Behandlung / Größe	-x+	H2O x+	AOA +	AOA x	AOA x+	C+	Cx	Cx+	G+	G x	G x+	Z+	Zx	Zx+
1	21	4	17	38	17	27	22	30	15	30	38	8	19	18
2	63	70	58	52	74	55	68	60	62	61	62	75	74	73
3	16	26	25	10	9	18	10	10	23	9	0	17	7	9

Typ 0 = keine Papillen erkennbar

Tab. 24 Verteilung der Papillen gegen sekundäre Keimhyphen (SGT`s) auf die einzelnen Penetrationspunkte an Blättern von cv. Erbgraf unter dem Einfluß verschiedener PAL-Inhibitoren (% von jeweils 150 gekeimten Konidien)

Behandlung / Typ	-x+	H2O x+	AOA+	AOAx	AOA x+	C+	Cx	Cx+	G+	Gx	Gx+	Z+	Zx	Zx+
P0	100	86	91	72	80	100	74	90	100	96	86	83	67	86
P1	0	14	9	24	20	-	22	10	-	4	14	17	33	14
P2	0	-	0	4	-	-	4	-	-	-	0	-	0	-
P3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Auch in Bezug auf Typen und Größen der Papillen gegen SGT`s konnten keine bedeutenden Unterschiede zwischen Kontrollen und Behandlungen registriert werden.

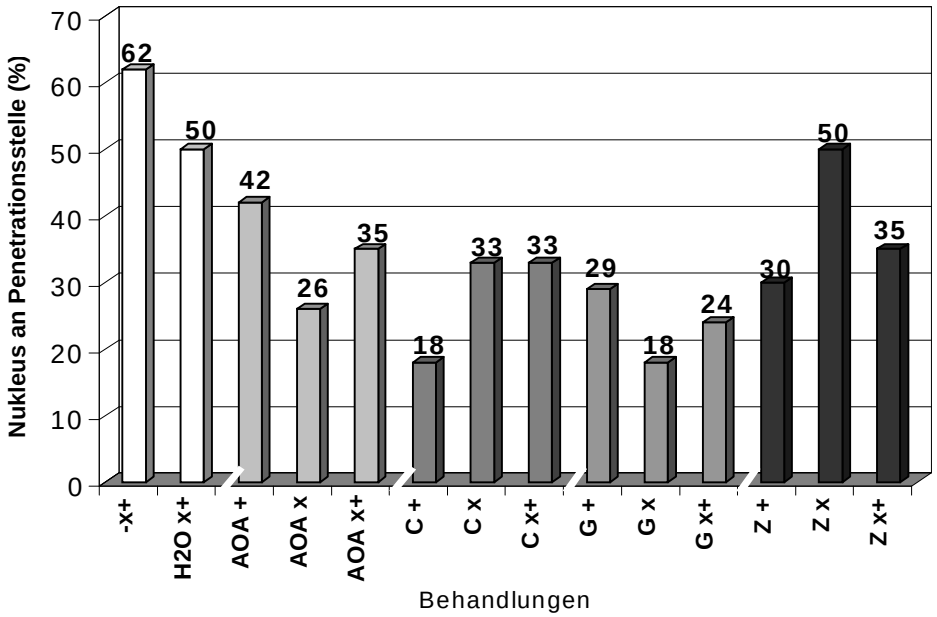


Abb. 135 Nukleus in der Nähe der Penetrationsstelle an Blättern von cv. Erbgraf unter dem Einfluß verschiedener PAL-Inhibitoren (% von jeweils 150 penetrierten Zellen)

Es gab deutliche Unterschiede in der prozentualen Verteilung der gegen die SGT`s gebildeten Papillen bei den einzelnen Penetrationspunkten. Am

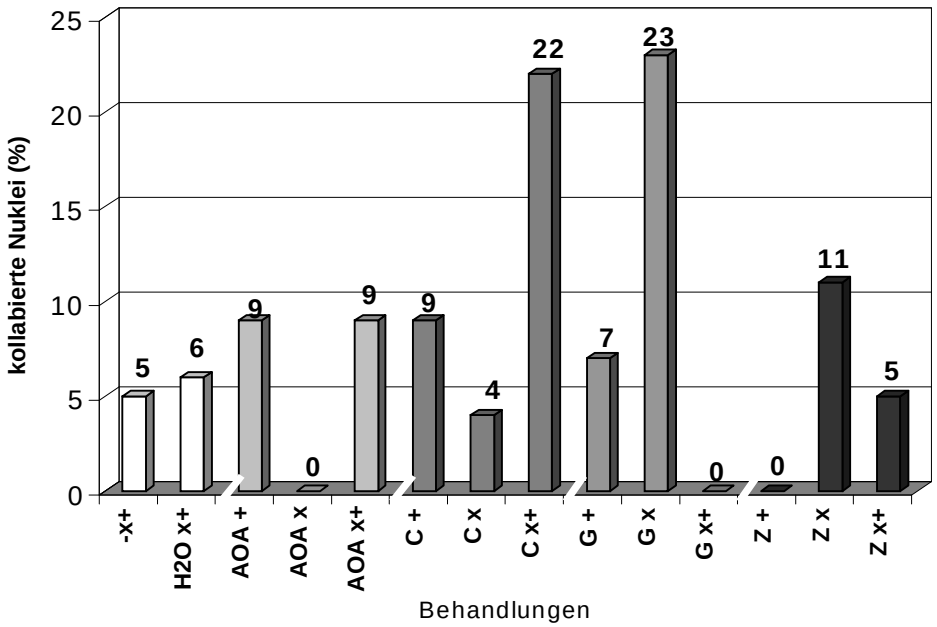


Abb. 136 Kollabierte Nuklei an Blättern von cv. Erbgraf unter dem Einfluß verschiedener PAL-Inhibitoren (% von jeweils 150 penetrierten Zellen)

Penetrationspunkt P0 wurden die meisten Papillen gebildet (Tab. 24). Hier lagen die Werte zwischen 67 und 100 %. Bei allen Varianten mit einer Inokulation durch *B. graminis* f. sp. *tritic*i war an den Pflanzen cv. Erbgraf der Papillentyp P1 in deutlich höherem Anteil vorhanden.

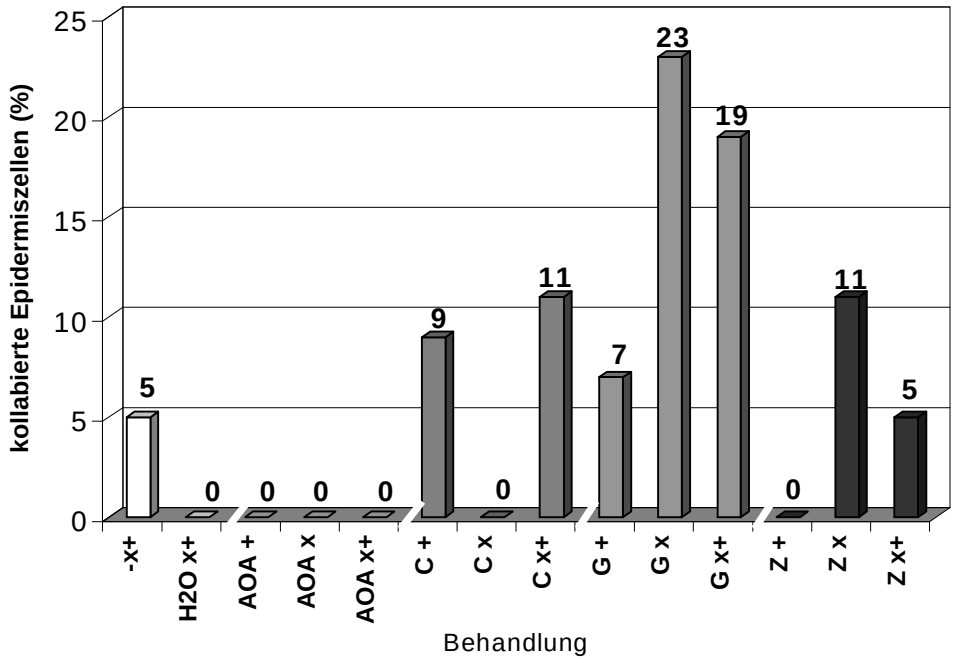


Abb. 137 Kollabierte Epidermiszellen an Blättern von cv. Erbgraf unter dem Einfluß verschiedener PAL-Inhibitoren (% von jeweils 150 penetrierten Zellen)

Die Wanderung des Zellkerns zur Penetrationsstelle war bei der Kontrolle (-x+) mit 62 % am höchsten (Abb. 135). Bei allen anderen Varianten war diese Wanderung zum Teil beträchtlich geringer. Dieses zu den Abwehrreaktionen zählende Verhalten wurde demnach durch die PAL-Inhibitoren mehr oder weniger unterdrückt.
Die höchsten Anteile kollabierter Nuklei wurden mit 23 % bei Gx und mit 22 % bei Cx+ (Abb. 136) verzeichnet. Bei AOAx, Cx, Gx+ und Z+ wurden keine kollabierten Zellkerne gefunden.
Mit 23 % bzw. 19 % wurden die höchsten Anteile kollabierter Zellen bei Gx und Gx+ festgestellt (Abb. 137). Keine kollabierten Zellen hatten alle AOA-Varianten, sowie Cx, Z+ und die Kontrolle H20x+.
Bei der Haustorienbildung (Abb. 138) und der Anzahl intakter Haustorien (Abb. 139) ist zum ersten Mal ein klarer Zusammenhang zu der durch die PAL-Inhibitoren bewirkten Befallserhöhung (Abb. 129, 130) zu erkennen. Im Vergleich zu den Varianten ohne Vorinokulation mit *B. graminis* f. sp. *tritici* (+) ist die Entwicklung der Haustorien der f. sp. *avenae* nach Vorinokulation mit der f. sp. *tritici* (x) drastisch unterdrückt. Durch eine Hemmung der PAL wird die durch die f. sp. *tritici* hervorgerufene Unterdrückung der Haustorienbildung weitgehend aufgehoben. Dabei sind alle vier Faktoren in vergleichbarem Maße wirksam.

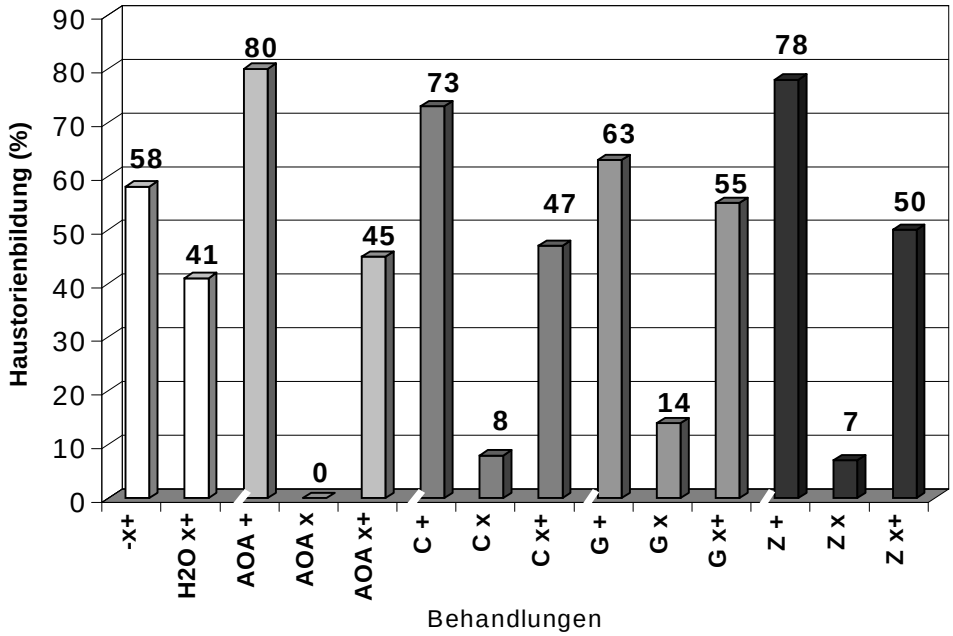


Abb. 138 Gebildete Haustorien von *B. graminis* f. sp. *avenae* an Blättern von cv. Erbgraf unter dem Einfluß verschiedener PAL-Inhibitoren (% von jeweils 150 mit SGT`s gekeimten Konidien)

Ausser den Haustorien wurden auch die Entwicklungsstadien der Haustorien und Konidiophoren in täglichen Intervallen für den gesamten Zyklus von 7 Tagen lichtmikroskopisch untersucht. Da die umfangreichen Daten die Ergebnisse der Endbonitur widerspiegeln, z. B. geringe Zahl von Haustorien gleich geringe Zahl von Konidiophoren, wurde hier auf eine gesonderte Darstellung verzichtet.

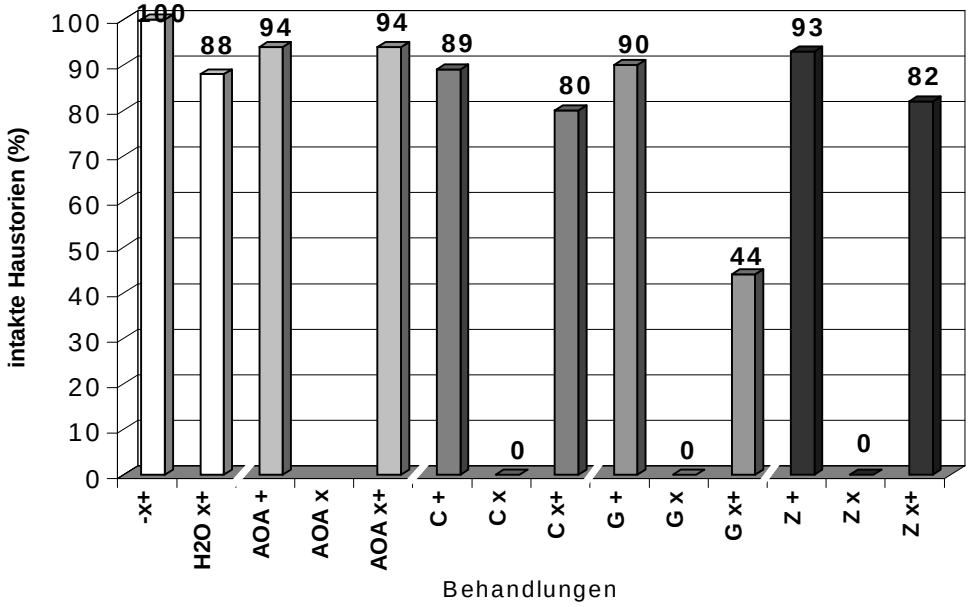


Abb. 139 Intakte Haustorien von *B. graminis* f. sp. *avenae* an Blättern von cv. Erbgraf unter dem Einfluß verschiedener PAL-Inhibitoren (% von jeweils 150 Haustorien)

Konidiophoren

Nachfolgend werden die Ergebnisse zu den Konidiophoren präsentiert. Auch hier gibt der *absolute Anteil,* ähnlich wie bei den Haustorien-Entwicklungsstadien, den Anteil der einzelnen Stadie pro Myzel wider. Es wurden zwischen 100-150 Myzelien pro Variante ausgewertet. Bei den B ehandlungsvarianten AOAx, Cx, Gx und Zx wurden erwartungsgemäß keine Konidiophoren beobachtet.
Bei der Kontrolle –x+ erschienen die ersten Konidiophoren-Entwicklungsstadien 5 dpi. Alle Stadien wurden angetroffen, wobei die höchsten Anteile hier bei Stadium 8 mit 11,3 und 9 mit 15,8 zu finden waren. Aus den im vorhergehenden Abschnitt dargelegten Gründen wurde an dieser Stelle auf weitere Abbildungen verzichtet.

Autofluoreszenz

Primäre Keimhyphen (PGT`s)

Papillen ohne AF konnten nur bei AOAx+ mit einem geringen Anteil von 4 % beobachtet werden. Starke Intensitäten stellten den Hauptanteil bei beiden Kontrollen, sowie bei AOAx, Cx und G+ (Tab. 25). Bei allen anderen Varianten entfielen die größten Anteile jeweils auf schwache AF. Ausnahmen bildeten hier Zx+, wo der größte Anteil im mittleren Bereich lag und AOA+, wo sich die Anteile schwacher und mittlerer Intensitäten entsprachen. Sämtliche AF-Erscheinungen der Papillen gegen PGT`s erschienen als deutlich abgegrenzt und nicht als diffus.
Alle mit den Papillen gegen PGT`s verbundenen AF-Erscheinungen hatten grüngelbliche Farbe.

Tab. 25 Intensität der AF der Papillen gegen PGT`s (% von jeweils 250 Papillen)

Behandlung / AF	-x+	H2O x+	AOA+	AOAx	AOA x+	C+	Cx	Cx+	G+	Gx	Gx+	Z+	Zx	Zx+
0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	14	13	36	33	41	50	17	38	27	64	69	46	40	14
2	29	35	36	17	23	20	31	33	33	12	19	27	30	50
3	57	52	28	50	32	30	52	29	40	24	12	27	30	36

Halos traten nicht bei allen Papillen auf (Abb. 140). Ringförmige Halos wurden lediglich bei Cx+ und bei Zx mit Anteilen von je 4 % festgestellt. Die höchsten Anteile sphärischer Halos entfielen mit 83 % auf die Kontrolle –x+ und mit 82 % auf die Variante AOA+. Die Variante Gx+ wies mit 81 % den höchsten Anteil von Papillen ohne Halos auf.

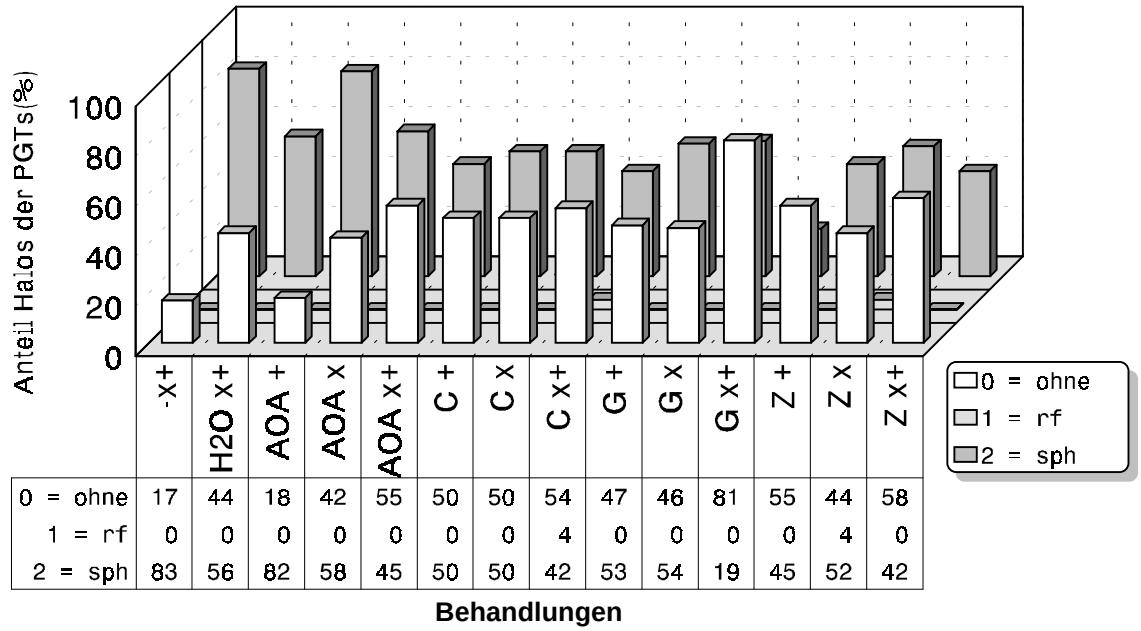
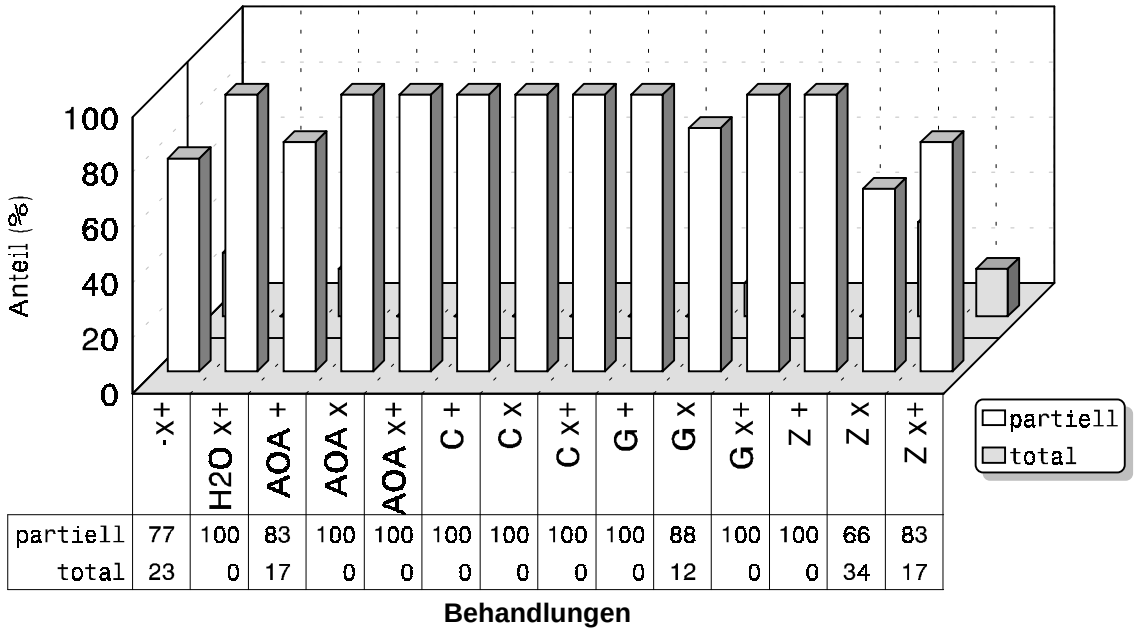


Abb. 140 Ausprägung der Halos der Papillen gegen PGT`s (% von jeweils 250 Papillen)

Sämtliche Halos aller Behandlungen fluoreszierten mit grüngelblicher Farbe.

den Rändern der Halos überein. Die bei der Varianten Z+ beobachtete partielle assoziierte AF war zu 100 % schwach ausgeprägt. Bei allen anderen lag der jeweilige Hauptanteil bei mehr oder weniger starken Intensitäten. Sämtliche partielle assoziierte AF der Papillen gegen PGT`s fluoreszierten mit grüngelblicher Farbe.

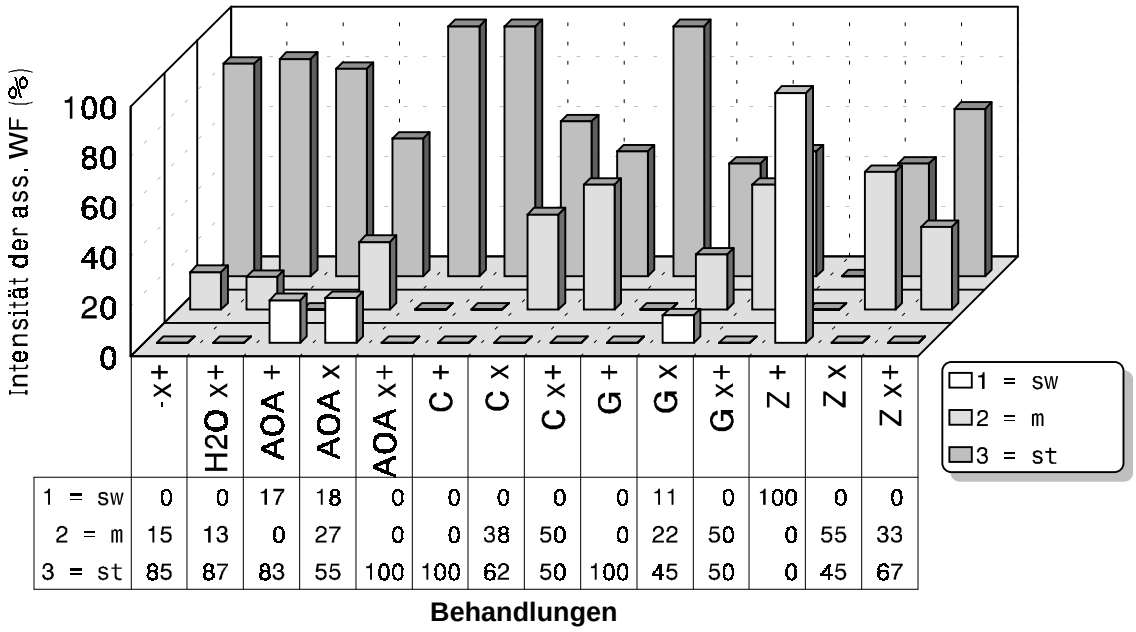


	-x+	H2O x+	AOA +	AOA x	AOA x+	C +	C x	C x+	G +	G x	G x+	Z +	Z x	Z x+
partiell	77	100	83	100	100	100	100	100	100	88	100	100	66	83
total	23	0	17	0	0	0	0	0	0	12	0	0	34	17

Behandlungen

Abb. 141 Grad der mit den Papillen gegen PGT`s assoziierten AF (% von jeweils 150 Stellen mit assoziierter AF)

Totale Wandfluoreszenzen traten lediglich bei –x+, AOA+, Gx, Zx und Zx+ auf (Abb. 141). Sie erzielten Anteile von 12-34 %. Bei allen übrigen Varianten trat partielle Wandfluoreszenz auf.



	-x+	H2O x+	AOA +	AOA x	AOA x+	C +	C x	C x+	G +	G x	G x+	Z +	Z x	Z x+
1 = sw	0	0	17	18	0	0	0	0	0	11	0	100	0	0
2 = m	15	13	0	27	0	0	38	50	0	22	50	0	55	33
3 = st	85	87	83	55	100	100	62	50	100	45	50	0	45	67

Behandlungen

Abb. 142 Intensität der mit den Papillen gegen PGT`s assoziierten AF (% von jeweils 150 Stellen mit assoziierter AF)

Mit Ausnahme von Cx+ und Gx+, wo sich die Anteile für mittlere und starke Intensitäten mit je 50 % die Waage hielten, sowie von Zx, bei der das Maximum bei mittleren Intensitäten lag, zeigten alle Varianten ihren jeweiligen Hauptanteil in der Gruppe 3 bei starker AF (Abb. 142). Ausschließlich schwache Wandfluoreszenz war nur bei Z+ zu sehen. Bei AOA+, AOAx und Gx traten ebenfalls schwache Wandfluoreszenzen mit Anteilen von 11-18 % auf. Es wurden keine mittleren Intensitäten bei AOA+, AOAx+, C+, G+ und Z+ registriert.

Zusammenfassend ergibt sich, dass die AF hinsichtlich Intensität, Farbe und Ausprägung der Papillen gegen PGT`s von keinem der PAL-Inhibitoren entscheidend beeinflusst worden sind. Wo Abweichungen zu erkennen sind, scheinen sie eher im Bereich natürlicher Schwankungen zu liegen. Gleiches gilt auch für alle Parameter der partiell assoziierten AF.

Sekundäre Keimhyphen (SGT`s)

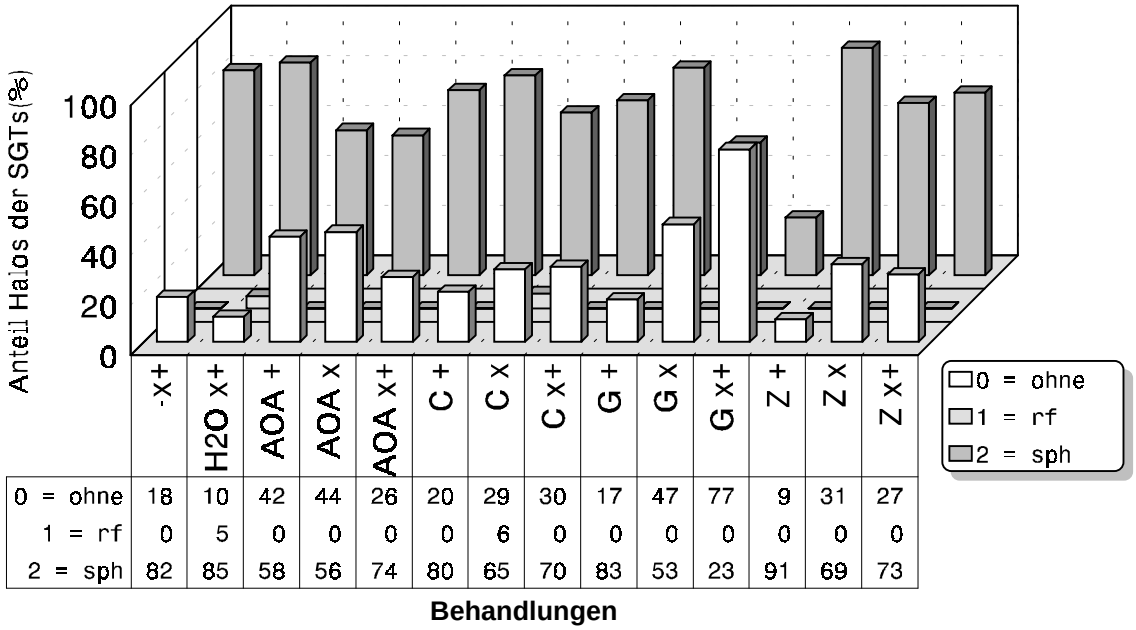
Im folgenden Abschnitt werden die Ergebnisse für die mit den SGT`s verbundenen AF-Erscheinungen präsentiert. Papillen ohne AF wurden bei der Kontrolle –x+ und bei C+, Cx, Gx+ und Zx mit Anteilen zwischen 3-9 % registiert (Tab. 26). Mit Ausnahme von Gx und Gx+ lagen die Hauptanteile bei
allen Varianten bei starken Intensitäten. Bei den genannten Ausnahmen lagen die Maxima bei Papillen mit schwacher AF.

Tab. 26 Intensität der AF der Papillen gegen SGT`s für alle Penetrationspunkte (% von jeweils 250 Papillen)

Behandlung / AF	-x+	H2O x+	AOA+	AOAx	AOA x+	C+	Cx	Cx+	G+	Gx	Gx+	Z+	Zx	Zx+
0	5	0	0	0	0	9	6	0	0	0	5	0	3	0
1	0	0	0	16	8	0	3	20	0	54	41	0	18	13
2	5	14	0	23	42	27	26	15	0	29	27	8	29	35
3	90	86	100	61	50	64	65	65	100	17	27	92	50	52

Papillen, Halos und assoziierte partielle AF-Erscheinungen fluoreszierten ausnahmslos mit grüngelblicher Farbe. Die meisten Papillen ohne Halos waren bei Gx+ mit 77%igem Anteil anzutreffen (Abb. 143). Relativ hohe Anteile an Papillen ohne Halos fanden sich mit 42 % bei AOA+, mit 44 % bei AOAx und mit 47 % bei Gx. Die niedrigsten Anteile hatten hier die Kontrolle

H2Ox+ mit 10 % und Z+ mit 9 %. Ringförmige Halos traten nur bei H2Ox mit einem 5%igen Anteil und bei Cx mit einem 6%igen Anteil auf.

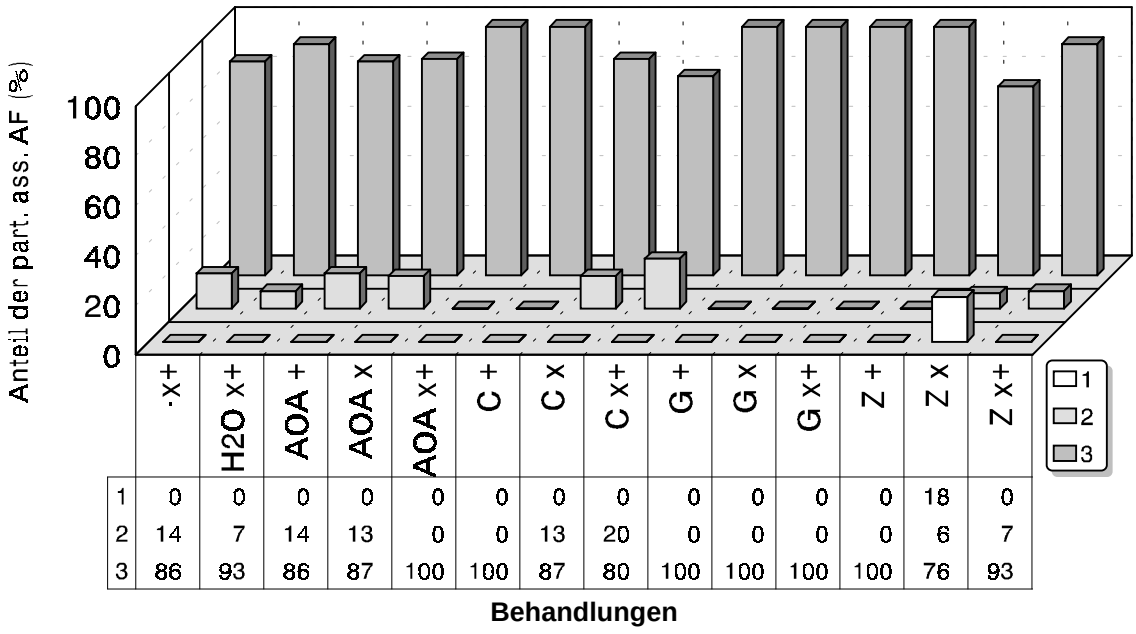


	-x+	H2O x+	AOA +	AOA x	AOA x+	C +	C x	C x+	G +	G x	G x+	Z +	Z x	Z x+
0 = ohne	18	10	42	44	26	20	29	30	17	47	77	9	31	27
1 = rf	0	5	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0
2 = sph	82	85	58	56	74	80	65	70	83	53	23	91	69	73

Behandlungen

Abb. 143 Ausprägung der Halos der Papillen gegen SGT`s für alle Penetrationspunkte (% von jeweils 250 Papillen)

Alle Varianten, mit Ausnahme von Gx+, hatten die größten Anteile in der Gruppe der sphärischen Halos mit Werten von 53–91 %.
Bei allen Varianten stellte bei der partiellen assoziierten Autofluoreszenz des Typs Nr. 3 den Hauptanteil (Abb. 144).



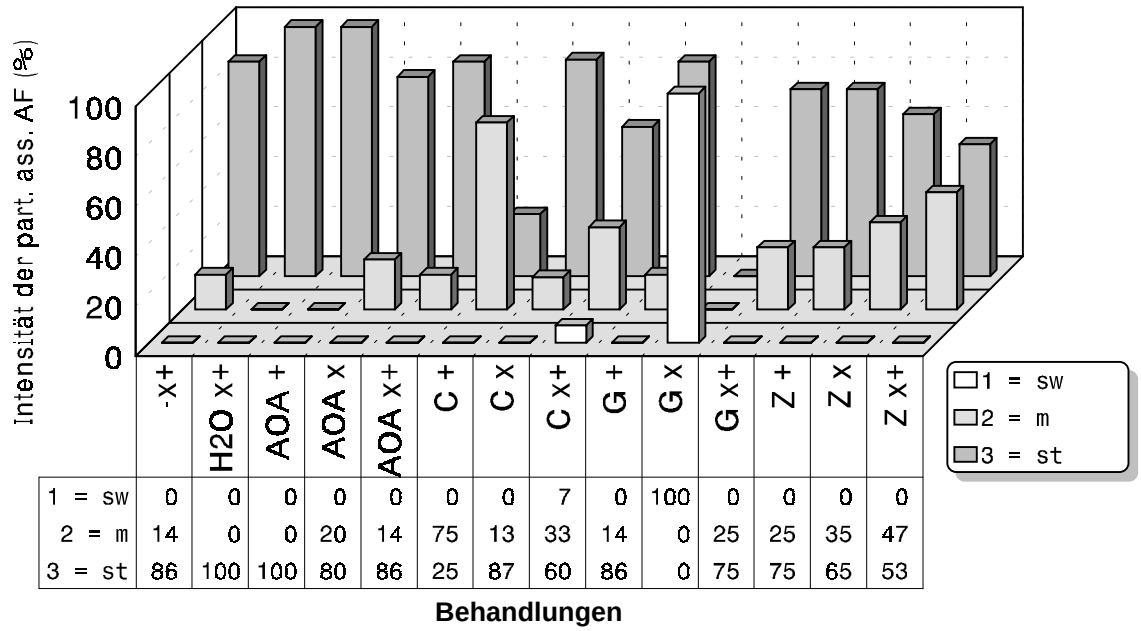
	-x+	H2O x+	AOA +	AOA x	AOA x+	C +	C x	C x+	G +	G x	G x+	Z +	Z x	Z x+
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	18	0
2	14	7	14	13	0	0	13	20	0	0	0	0	6	7
3	86	93	86	87	100	100	87	80	100	100	100	100	76	93

Behandlungen

Abb. 144 Partielle assoziierte AF der Papillen gegen SGT`s für alle Penetrationspunkte (% von jeweils 150 Stellen mit partiell assoziierter AF)

Alle der mit den Papillen von Gx verbundenen partiellen AF hatten eine schwache Intensität (Abb. 145). Bei Cx+ traten mit 7 % ebenfalls schwache

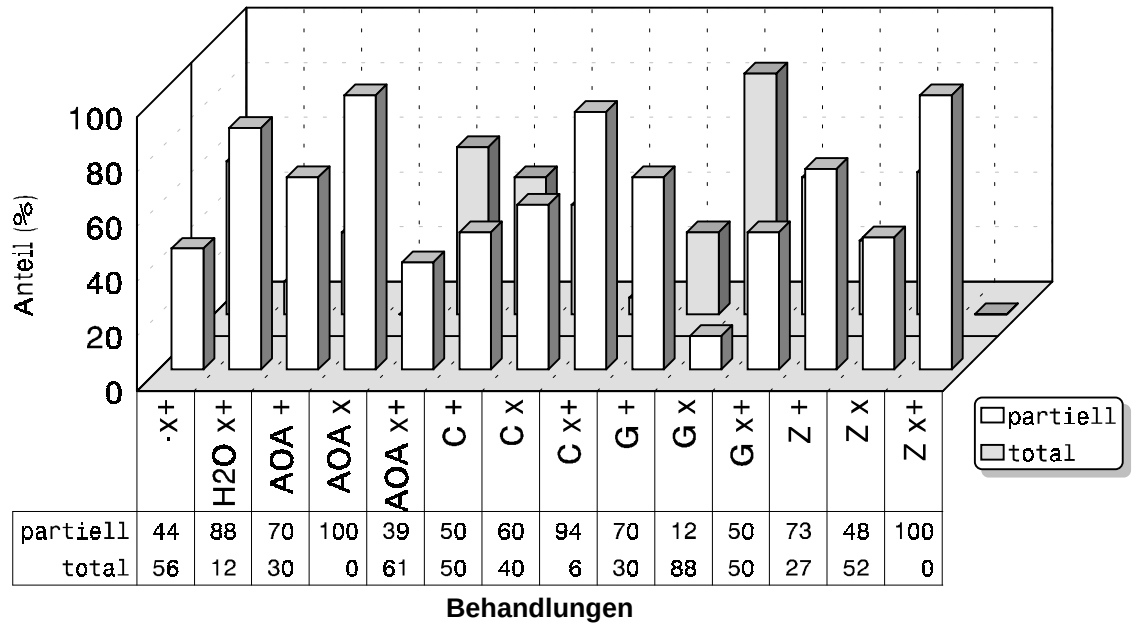
Intensitäten auf. Ausschließlich starke Intensitäten zeigten beide Kontrollen. Den höchsten Anteil mittlerer Intensitäten erzielte C+ mit 75 %.



	-x+	H2O x+	AOA +	AOA x	AOA x+	C +	C x	C x+	G +	G x	G x+	Z +	Z x	Z x+
1 = sw	0	0	0	0	0	0	0	7	0	100	0	0	0	0
2 = m	14	0	0	20	14	75	13	33	14	0	25	25	35	47
3 = st	86	100	100	80	86	25	87	60	86	0	75	75	65	53

Abb. 145 Intensität der partiellen assoziierten AF der Papillen gegen SGT`s für alle Penetrationspunkte (% von jeweils 150 Stellen mit partiell assoziierter AF)

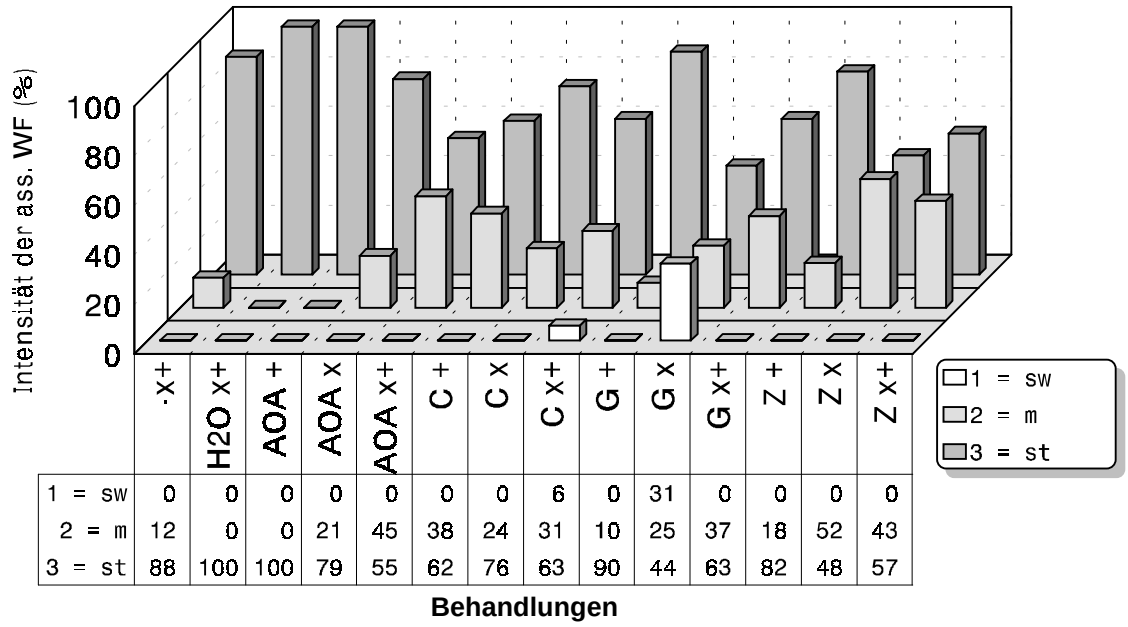
Alle partiell assoziierten AF-Erscheinungen fluoreszierten mit grüngelblicher Farbe.



	-x+	H2O x+	AOA +	AOA x	AOA x+	C +	C x	C x+	G +	G x	G x+	Z +	Z x	Z x+
partiell	44	88	70	100	39	50	60	94	70	12	50	73	48	100
total	56	12	30	0	61	50	40	6	30	88	50	27	52	0

Abb. 146 Grad der mit den Papillen gegen SGT`s assoziierten Wandfluoreszenz für alle Penetrationspunkte (% von jeweils 100 Stellen mit assoziierter WF)

Bei AOAx und Zx+ traten ausschließlich partielle Wandfluoreszenzen auf (Abb. 146). Der höchste Anteil totaler Wandfluoreszenzen, d. h. solche, bei denen die gesamte Wand der penetrierten Zelle fluoreszierte, wurde mit 88 % bei Gx gefunden.



	-x+	H2O x+	AOA +	AOA x	AOA x+	C +	C x	C x+	G +	G x	G x+	Z +	Z x	Z x+
1 = sw	0	0	0	0	0	0	0	6	0	31	0	0	0	0
2 = m	12	0	0	21	45	38	24	31	10	25	37	18	52	43
3 = st	88	100	100	79	55	62	76	63	90	44	63	82	48	57

Abb. 147 Intensität der mit den Papillen gegen SGT`s assoziierten Wandfluoreszenzerscheinungen für alle Penetrationspunkte (% von jeweils 100 Stellen mit assoziierter WF)

Schwache Wandfluoreszenzen traten nur bei Cx+ und Gx auf. Bei H2Ox und AOA+ waren ausschließlich starke Intensitäten zu beobachten (Abb. 147). Mit Ausnahme von Zx lag bei allen anderen Varianten der Hauptanteil bei starken Wandfluoreszenzen.

Zusammenfassend läßt sich feststellen, dass die Ausprägung der verschiedenen Formen der AF bei den SGT`s kaum richtungsweisend beeinflusst wurde. Nur bei der Intensität der mit den Papillen der SGT`s assoziierten Wandfluoreszenz war die Tendenz zu beobachten, dass alle PAL-Inhibitoren die Intensität im Vergleich zu den entsprechenden Kontrollen verringerten (Abb. 147).

4 DISKUSSION

Pilzliche Strukturen in pflanzlichen Geweben können oft durch Anfärbung besser differenziert und dargestellt werden. Die klassische Methode ist die Anfärbung mit Lactophenol-Baumwollblau (GERLACH 1984). In der vorliegenden Arbeit mußten inokulierte Segmente von Getreideblättern fixiert und als Totalpräparate konserviert werden, da eine sofortige Untersuchung des umfangreichen Probenmaterials aus zeitlichen Gründen nicht möglich war. Die zu verwendende Färbemethode mußte an diese Art der Probenvorbereitung angepaßt sein. Dabei war es wünschenswert, Myzel auf Pflanzenoberflächen im Vergleich zu subkutikulärem bzw. intra- und interzellulärem Myzel verschiedenartig anzufärben, um eine exakte Lokalisierung pilzlicher Strukturen in befallenem Pflanzenmaterial zu erleichtern. Ebenso war eine schonende Behandlung der Proben ohne störende Artefakte gefordert. Eine Reihe verschiedener etablierter Färbemethoden wurden auf diese Vorgaben hin getestet. Keine erwies sich als geeignet. Selbst die nach JOHANSEN (1940) und MYERS & FRY (1978), bei CLARK 1981 zitierte Methode mit Acid Fuchsin-Lactophenol-Fast Green war unspezifisch in der Färbung und damit nicht als Standardmethode verwendbar. Auch die Methode von WOLF & FRIC (1981) erwies sich als nicht geignet. Es wurde daher eine eigene Färbemethode mit Acid Fuchsin und Lacto-Baumwollblau entwickelt. Mit ihr erschien das Oberflächenmyzel in tiefem Blauton, während das subkutikuläre Myzel rot gefärbt war. Die Färbung zeigte keinen Einfluß auf die mit dem Eindringen von *B. graminis* in Epidermiszellen von Getreideblättern an den Penetrationsstellen auftretenden Autofluoreszenzerscheinungen, die somit auswertbar blieben. Ein weiterer Vorteil der neuen Methode ist der Verzicht auf den sonst üblichen Einsatz des toxikologisch bedenklichen Phenols, und zwar ohne erkennbare Qualitätsverluste. Mit ihr lassen sich alle pilzlichen Strukturen von *B. graminis* auf und in Getreideblättern in Totalpräparaten gut differenziert und quantitativ auswerten. Die umfangreichen lichtmikroskopischen Analysen wurden anhand derart gefärbter Präparate durchgeführt.

Die neue Färbemethode ist nicht nur für *B. graminis*, sondern auch für eine Reihe anderer Pilze, wie z. B. verschiedene *Drechslera* spp. an Getreideblättern geeignet. Auch hier erscheinen Oberflächenmyzel blau und inter- bzw. intrazelluläre Hyphen rot gefärbt. *Fusarium* spp. in Haferwurzeln ließen sich ebenfalls gut färben und darstellen. Allerdings war hier eine Modifikation der Methode erforderlich, denn die Ergebnisse variierten je nach Durchmesser, Alter und Befallsstärke der Wurzeln. Bei jedem neu zu untersuchenden WPS müßten zunächst Vorversuche durchgeführt werden, um eine optimale Anfärbung der pilzlichen Strukturen zu erreichen.

Auch bei weiteren WPS konnte die neue Färbemethode erfolgreich eingesetzt werden. So z. B. beim Studium von Pilzinfektionen in Moosen (Prof. Dr. G. Kost, Philipps-Universität Marburg, Fachbereich Biologie, persönliche Mitteilung) und wird mittlerweile sowohl hier als Standardmethode als auch in der Erforschung der Mykorrhiza am Max-Planck-Institut für terrestrische Mkrobiologie in Marburg, unter Leitung von Prof. Dr. R. Thauer, in der Ar-

beitsgruppe von Dr. habil. P. Franken eingesetzt. Frau Dipl.-Biol. B. Bütehorn untersuchte z. B. mit dieser Methode im Rahmen ihrer Dissertation den VA-Mykorrhiza-Pilz *Piriformospora indica* an *Zea mais* (VERMA et al. 1998) mit guten Färberesultaten. In der Arbeitsgruppe von Herrn Prof. Dr. G. Kost wurden bislang bei allen getesteten Basidiomyceten gute Erfolge erzielt. U. a. wurden Pilze der Gattungen *Rickinella, Leptoglossum* und *Lyophyllum* untersucht.

Zu den in der vorliegenden Arbeit untersuchten histologischen Parametern gehörten Verzweigungsgrad, Länge, Durchmesser und Zelligkeit der SGT´s, sowie Papillentypen und -größen gegen PGT´s und SGT´s von *B. graminis*. Autofluoreszenzerscheinungen der Wirtspflanzen wurden hinsichtlich Farbe, Intensität und Bildung von Halos untersucht. Ebenso wurden die Entwicklungsstadien von Haustorien- und Konidiophoren des Erregers ausgewertet und verglichen. Eine grundlegende Frage war, in welcher Entwicklungsphase des Pilzes eine morphologisch erkennbare Resistenzreaktion bei Winterweizen, Wintergerste und Hafer eintrat. Die Ergebnisse der ausgewerteten histologischen Parameter werden nachfolgend ausführlich erörtert. Hierbei werden insbesondere die kompatiblen und die inkompatiblen Interaktionen verglichen. Zunächst werden die Ergebnisse von Versuchsreihen ohne wechselseitige Resistenzinduktion durch Vorinokulierung mit inkompatiblen ff. sp. behandelt.

Für die Konidienkeimung pilzlicher Krankheitserreger auf Pflanzenoberflächen ist ganz allgemein nicht nur die Anwesenheit der Erreger, sondern auch eine bestimmte Anzahl von Konidien (numerische Infektionsschwelle) an einem Infektionsort erforderlich (SCHWANTES 1996). Bei Echten Mehltaupilzen ist diese Schwelle sehr niedrig, denn es genügt eine einzige Konidie, um auf einer Blattoberfläche eine erfolgreiche Primärinfektion auszulösen.

Die Konidienkeimung ist von verschiedenen Faktoren abhängig. Hierbei spielen Temperatur und Luftfeuchte eine wichtige Rolle. Die Konidie darf, obwohl stark wasserhaltig, nicht austrocknen (CARVER & BUSHNELL 1983). Auch ein Zuviel an Feuchte, z. B. in Form eines Wasserfilms auf Blättern, kann sich nachteilig auf die Konidienkeimung auswirken, was in Vorversuchen bestätigt werden konnte. Auch ein zu dichtes Inokulum kann sich auf eine erfolgreiche Keimung infolge gegenseitiger Hemmung negativ auswirken. Für die durchgeführten Versuchsreihen wurden standardisierte Bedingungen geschaffen, die eine optimale Konidienkeimung gewährleisteten. Dazu gehörten neben den bereits erwähnten Faktoren Temperatur und Luftfeuchte, die kontinuierliche Gewinnung gleichartiger, d. h. gleichalter, keimfähiger Konidien zu Inokulationszwecken aus einem Depot. Auch führten zahlreiche Vorversuche mit unterschiedlichen Konidieneinwaagen, d. h. mit unterschiedlichen Inokulumsdichten, zur Auswahl eines geeigneten Bereichs. Hierbei wurde als Zielvorgabe zugrunde gelegt, durchschnittlich ungefähr eine Konidie pro Epidermiszelle zu erhalten. Die unter *2.2.1* erwähnte Einwaage von 20 mg erfüllte diese Bedingungen. So lassen sich die erzielten hohen Keimungsraten von bis zu 100% (Abb. 6) erklären. Konidien der f. sp. *avenae* keimten problemlos auf Blättern von Winterweizen und Wintergerste. Gleiches galt auch für die anderen ff. sp.. Welche Faktoren letztendlich die Konidienkeimung auslösen, bleibt dahingestellt. Es wird angenommen, dass bereits die Trennung von der Konidienkette ausreicht, um bei einer reifen Konidie die Keimung auszulösen. Tatsache ist, dass Konidien des

Echten Mehltaus auf den unterschiedlichsten Substraten, wie z. B. Agar Agar, zur Keimung gebracht werden können. In der vorliegenden Untersuchung variierte die Konidienkeimung aller WPS zwischen 88 und 100 % (Abb. 6). Nur bei cv. Kanzler f. sp. *hordei* war sie mit 69 % nicht-signifikant niedriger.

Differenzierungen der pilzlichen Oberfläche während des Infektionsprozesses konnten durch Enzyme und Kohlehydrat-spezifische Lektine deutlich sichtbar gemacht werden (KAPOORIA & MENDGEN 1985, MENDGEN et al. 1985). Wenigstens einige der Oberflächenveränderungen werden durch Kontakt ausgelöst (MENDGEN et al. 1988). Reaktionen von *B. graminis* auf Kontakt mit künstlichen- und Wirts-Oberflächen wurden von CARVER & INGERSON (1987) beschrieben, auf Cellulosemembranen von DE WAARD (1971).

Primäre Keimhyphen (PGT´s) treten bei allen Mehltaukonidien auf. Sie sind kleiner als die SGT´s und bilden niemals Haustorieninitialen bzw. Haustorien aus. Die Papillenbildung im Bereich der PGT´s legt eine Penetration nahe, die aber in fast allen Fällen erfolgreich abgewehrt wird oder aber aufgrund des Unvermögens der PGT´s zur Ausbildung geeigneter Infektionsstrukturen, eine weitere Entwicklung von vornherein ausgeschlossen ist. KUNOH et al. (1978) konnten eine Penetration durch PGT´s nachweisen. Welche Funktion ist nun den PGT´s zuzuschreiben, wenn deren Aufgabe nicht darin liegt, Haustorien als Basis für eine weitere Ernährung des Erregers auszubilden? Nach KUNOH (1982) ermöglichen die für *B. graminis* charakteristischen PGT´s eine Verankerung der Konidien auf der Epidermis. Diese erfolgt noch vor der Ausbildung von Appressorien durch die SGT´s, vor dem enzymatischen Abbau der Wachsschicht und der Cuticula (KUNOH et al. 1977) und der nachfolgender Penetration der Epidermis (KUNOH et al. 1977, KUNOH 1982).

Bereits 4-6 hpi wird durch die PGT`s eine Aggregation des Cytoplasmas und eine Papillenbildung induziert, d. h. ca. 6 h vor den durch die SGT`s hervorgerufenen Reaktionen (KUNOH et al. 1977 & 1978, KUNOH 1982). Dieser Zeitpunkt korreliert mit einem 3-5 hpi in Gerstenblättern registrierten Anstieg der Synthese von Zimtsäure (KUNOH 1982, KUNOH et al. 1985, SHIRAISHI et al. 1989) und dem Ansteigen der Aktivitäten von PAL (GREEN et al. 1975, SHIRAISHI et al. 1989), TAL (GREEN et al. 1975) und Peroxidase. CARVER & BUSHNELL (1983) wiesen eine besondere Funktion der PGT´s bezüglich der Wasseraufnahme vor einer Infektion nach. Epidermiszellen, die Interaktionen mit PGT´s aufwiesen, wurden mit einem signifikant geringeren Anteil penetriert (WOOLACOTT & ARCHER 1984). Unterschiede zwischen kompatiblen und inkompatiblen Interaktionen konnten in der vorliegenden Arbeit für PGT´s nicht gefunden werden. Papillentypen- und größen der PGT´s unterschieden sich nicht signifikant voneinander. Folglich haben die untersuchten Aspekte der PGT´s in der Beurteilung kompatibler und inkompatibler Systeme keine ausschlaggebende Bedeutung. Ihnen kommt jedoch bei der Induktion der Abwehrprozesse in der primären Infektionsphase eine entscheidende Rolle zu. So z. B. für eine verstärkte Synthese von Phenylpropanoiden und deren Einbau in die Zellwand, die für eine Hemmung der Penetration verantwortlich zu sein scheinen. In der vorliegenden Arbeit traten bei keiner untersuchten Interaktion im Bereich der PGT´s Tuber (Gruppe 5) auf, die aber bei den SGT´s in allen Varianten, mit Ausnahme von KT und bei

sämtlichen mit der f. sp. *hordei* inokulierten Kombinationen, auftraten (Tab. 2 und 4, Abb. 25). Der Grund hierfür dürfte darin liegen, dass zur Ausbildung von Tubern der Pilz in Epidermiszellen eingedrungen und dort ein kleines Stück weiter in die Länge gewachsen ist, bevor er schließlich erfolgreich eingekapselt wurde. Dieses Phänomen wurde vereinzelt bei SGT´s beobachtet (Abb. 25 und Tab. 4). Elektronenmikroskopische Untersuchungen im Bereich der Kontaktstelle der PGT´s mit der pflanzlichen Zellwand könnten weitere Hinweise auf die Funktion der PGT´s geben. In der Praxis ein sehr schwieriges Unterfangen, da aufgrund der Präparationsmethoden und der Kleinheit der zu untersuchenden Objekte es nur sehr schwer möglich ist, diese Stellen gezielt zu mikroskopieren. Es wäre jedoch zur Beurteilung der Interaktionen sehr wichtig zu wissen, wie der Kontakt zwischen PGT´s und Epidermis erfolgt und wie weit der Pilz in die pflanzliche Zellwand vordringt bzw. diese durchdringt. Die Frage, wie eine Papillenbildung im Bereich der PGT´s erfolgt, könnte somit ebenfalls aufgeklärt werden. PGT´s stellen noch vor den SGT´s den ersten Kontakt des Pilzes zur Pflanzenzelle her.

Aus den Blättern stammende Signale sollen, so HEITEFUSS (2001), etwa innerhalb von ca. 4 h zur Ausdifferenzierung von sekundären d. h. appressorialen Keimhyphen (SGT´s) führen. Die Hyphenspitzen krümmen sich dann unter Ausbildung eines Appressoriums innerhalb von 8-12 h ein. Im Gegensatz hierzu sei bemerkt, dass diese Phänomena auch ohne Blattkontakt auf Agar-Medien bei keimenden Mehltaukonidien beobachtet werden konnten.

Während der frühen Konidienenentwicklung und –differenzierung spielen cAMP-Signalisierung und die Proteinkinase A (PKA) eine komplexe Rolle bei *B. graminis* (HALL et al. 1999, HALL & GURR 2000). Nach der vollständigen Keimung der Konidien mit primären und sekundären Keimhyphen konnte zwischen drei verschiedenen Kategorien der Länge (Abb. 9), drei des Durchmessers (Abb. 11), vier der Zelligkeit (Abb. 13), sowie vier der Verzweigung (Abb. 15) der SGT`s unterschieden werden. Im Vergleich zwischen kompatiblen und inkompatiblen WPS waren jedoch keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der vorgenannten Parameter feststellbar. Das Keimverhalten der SGT´s wurde durch den Kompatibilitätsgrad der Interaktionen nicht beeinflusst. Unterschiede zwischen den einzelnen ff. sp. von *B. graminis* waren nicht erkennbar. Von pilzlicher Seite aus gesehen scheint kein Erkennungsvorgang stattzufinden, d. h. ein Rezeptor zur differenzierten Erkennung von Wirt bzw. Nichtwirt oder diversen anderen Substraten scheint nicht zu existieren. Die SGT´s heften sich mit Hilfe von Appressorien an die Epidermis an und dringen unterhalb dieser Anheftungsstellen mit fei-nen Penetrationshyphen durch die wenig Widerstand bietende Wachsschicht, dann durch Cuticula und Epidermiszellwand in die Wirtszellen ein. Cutinasen und Cellulasen sind neben den vom Appressorium und der Infektionshyphe entwickelten mechanischen Kräften maßgeblich an der Überwindung der Cuticula-Barriere beteiligt, die hauptsächlich aus Cutin, d. h. aus polymerisierten Hydroxyfettsäuren, besteht (FRANCIS et al. 1996, MENDGEN et al. 1996, PRYCE-JONES et al. 1999). Vor der Penetration krümmten sich die Spitzen der SGT´s in den meisten Fällen ein (Abb. 17). Offensichtlich geht diese Einkrümmung mit der Bildung der Apressorien einher und bietet dem Pilz eine Art Widerlager für den mechanischen Eindringvorgang. Dieser verläuft wahrscheinlich in zwei Stadien (EDWARDS & ALLEN 1970, STANBRIDGE et al. 1971, ELLINGBOE 1972). Nach der enzymatischen Aufwei-

chung der äußeren Wand erfolgt das mechanische Eindringen durch die innere Wand. Es ist möglich, dass die genetisch bedingte Resistenz bestimmter Getreidearten gegen Infektionen durch Repression der die Wirtszellwand abbauenden Enzyme hervorgerufen wird (WEBSTER 1983). Die im Anschluß an die Hemmung des ersten Penetrationversuches gebildeten zusätzlichen appressorialen Ausstülpungen ermöglichen weitere Penetrationsversuche (AIST & ISRAEL 1977, KUNOH et al. 1977, CARVER 1986). In der vorliegenden Arbeit war in der Phase der Penetration des Erregers durch die Epidermiszellwand keine Differenzierung zwischen kompatibel und inkompatibel zu erkennen. Sie variierte bei allen WPS nicht-signifikant zwischen 78 und 98 % (Abb. 18).

Als „Papillen“ werden die infolge eines pilzlichen Angriffes gebildeten Ablagerungen an der inneren Zellwand bezeichnet(AIST 1976). Sie können sich zusammensetzen aus Callose, Cellulose, Lignin, Pektin, Proteinen, Silikaten, Suberin (AIST 1976, RIDE & PEARCE 1979) sowie aus phenolischen Verbindungen (MAYAMA & SHISHIYAMA 1978). Eingeleitet wird eine Papillenbildung durch plasmatische Aggregationen an den Penetrationsorten. Nach KUNOH et al. (1977) ist eine Perforation von Cuticula und Zellwand Voraussetzung für eine Induktion der Papillenbildung. Unter verhaltener N-Zufuhr kann diese auch durch die nach der Infektion akkumulierten, autofluoreszierenden phenolischen Verbindungen stark eingeschränkt sein (KUNOH 1982, KUNOH et al. 1985). Die Untersuchungen von SANDER (1983) bestätigten diesen Befund. Bei verhaltener Stickstoffversorgung traten bei Winterweizen häufiger Infektionsstellen ohne Papillenbildung auf, als bei höherer N-Versorgung. Bei diesen Infektionsstellen ohne Papillen war nur selten eine erfolgreiche Penetration zu beobachten. Die Hemmung des Erregers mußte demnach bereits vor der Papillenbildung auf einer bisher nicht bekannten Grundlage erfolgt sein.

Für eine Rolle der Papillen als Resistenzfaktoren gegen Echte Mehltaupilze sprechen unzählige Beobachtungen, bei denen das Eindringen des Erregers ins pflanzliche Gewebe durch Papillen vollständig unterbunden wurde. Papillen könnten als mechanische Barrieren gegen den pilzlichen Angriff betrachtet werden. Daher kann eine Abwehr als erfolgreich und abgeschlossen angesehen werden, wenn der Erreger so eingeschlossen ist, dass ein weiteres Vordringen nicht mehr möglich ist und die Nährstoffzufuhr aus pflanzlichen Zellen zur Papille hin vollständig unterbunden ist. Für diese Interpretation sprechen die Befunde von SAHASHI & SHISHIYAMA (1985), die eine gesteigerte Papillenbildung als Hauptfaktor der induzierten Resistenz im System Gerste – *B. graminis* f. sp. *hordei* angesehen haben. Auch wurden für viele inkompatible WPS durch Papillenbildung erfolgreich abgewehrte Penetrationsversuche beschrieben, so z. B. bei TOSA & SHISHIYAMA (1984). Trotzdem ist die Rolle der Papillen als Resistenzfaktor umstritten (LIN & EDWARDS 1974, HYDE & COLHOUN 1975). Nach RIDE (1983) sind durchaus auch andere Resistenzmechanismen vor dem Beginn der Papillenbildung oder zeitgleich vorstellbar. Der Befund von SANDER (1993), der bei Stickstoffmangel eine erhöhte Anzahl endgültig unterbundener Penetrationsversuche des Mehltauerregers ohne Papillenbildung feststellte, unterstreicht diese Möglichkeit. Papillen sind ganz allgemein bei kompatiblen als auch bei inkompatiblen WPS zu finden, bei letzteren allerdings meist in größerer Anzahl. In ultrastrukturellen Untersuchungen konnten HEITEFUSS & EBRAHIM-

NESBAT (1986) vier verschiedene Typen von Papillen identifizieren. Sie waren jedoch nicht mit den Wirtsreaktionen korreliert; es gab keine Beziehung zwischen den Typen und erfolgreicher Penetration von *B. graminis*.
AIST (1976) versteht Papillenbildung als Sekundärantwort der Pflanze auf einen geschwächten Parasiten. Diese Ansicht impliziert, dass ein nicht geschwächter Parasit keine Papillenbildung induzieren würde, also ungehindert in die Pflanzenzelle eindringen könnte. Alle Reaktionen seitens der Pflanze auf das Pathogen bezüglich der Papillenbildung wären dann als Folgen eines Angriffs durch einen geschwächten Parasiten zu verstehen. Gegen AIST´S (1976) Hypothese spricht die Tatsache, dass es sich bei dem Penetrationsvorgang um einen ambivalenten Prozeß handelt, der sowohl von dem Abwehrpotential der Pflanzenzelle, als auch von dem Angriffspotential des Pilzes bestimmt wird, welche wiederum von mehreren Faktoren abhängen. Es ergibt sich hieraus ein weites Spektrum unterschiedlicher Ausprägungsmöglichkeiten, die von der Kombination des jeweiligen Status der Potentiale bestimmt werden. Gegen die vereinfachende Erklärung der Papillenbildung als Folge eines Angriffs eines geschwächten Pathogens spricht ebenso der Befund, dass Konidien in Epidermiszellen ein und desselben Blattes unterschiedliche Reaktionen in Bezug auf die Papillenbildung lieferten. So konnten z. B: bei Angriffen auf eine einzige Zelle durch zwei oder mehr Konidien Reaktionsspektren von keiner bis zur massiven Papillenbildung beobachtet werden. Das Postulat von AIST (1976) würde bedeuten, dass ein geschwächter Erreger die Regel ist und nicht die Ausnahme. Die ist aufgrund der veröffentlichten und der eigenen Befunde sehr unwahrscheinlich.
Für Resistenzreaktionen scheint neben der Geschwindigkeit der Ausbildung von Papillen deren chemische Zusammensetzung von entscheidender Bedeutung zu sein. So wurden beispielsweise höhere Papillenbildungsraten mit größeren Mengen an Callose in mehltauresistenten *mlo*-Mutanten gefunden (SKOU et al. 1984). Auch eine Komprimierung der Papillen in Form von Änderungen chemischer Bindungen wurde für diese Mutanten nachgewiesen (VON RÖPENACK et al. 1998). Ausserdem wird auch eine Änderung der Quervernetzung von Proteinen in den Papillen oder um diese herum, die Auflagerungen der Zellwand verstärkt und die Einkapselung des Pathogens unterstützt, diskutiert. H_2O_2 hat z. B. neben einer fungiziden Wirkung auch die Eigenschaft, Quervernetzungen von Proteinen innerhalb der Papillen herbeizuführen (THORDAL-CHRISTENSEN et al. 1997). Akkumulationen von H_2O_2 wurden in Gerstenpapillen und in Vesikeln um die Papillen herum bei *Mlg*- und *mlo*-Genotypen gefunden (HÜCKELHOVEN et al. 1999). Die Rolle der durch H_2O_2 modifizierten Proteine wird durch die Untersuchungen von BAKER et al. (2000) mit *Mlo*-anfälligen und *mlo*-resistenten Gerstensorten unter Wasserstreß oder Streßunterbrechung gestützt.
Wenn die SGT-Papillen als mechanische Barrieren allein einen pilzlichen Angriff abwehren könnten, dann dürfte man erwarten, dass in inkompatiblen Systemen eine verstärkte und schnellere Papillenbildung erfolgt, bzw. die Papillen größer ausgeprägt und somit effektiver sind.
Eine Papillenbildung konnte in der vorliegenden Arbeit sowohl durch PGT´s (Tab. 2) als auch durch SGT´s (Tab. 4) hervorgerufen werden. Lichtmikroskopisch ähnliche Papillen wurden für PGT´s in vier (Abb. 7) und für SGT´s in fünf Gruppen zusammengefaßt. Für SGT-Papillen wurde die fünfte Grup-

pe „Tuber“ erforderlich (s. 4.2.2). Die Größe der Papillen diente als weiteres Kriterium zu deren Charakterisierung. Da es sich bei der Papillenbildung um einen dynamischen Prozeß handelt, ist eine Zusammenfassung in diesen Gruppen ein Hilfsmittel, um eine „gestraffte“ Klassifizierung der „Momentaufnahmen“ zu treffen.

Wenn ein Mehltauerreger versucht in eine Epidermiszelle eines Getreideblatts einzudringen, dann wird pflanzliches Material in Form von Grana bzw. Vesikeln zum Penetrationsort transportiert, dort angelagert und zu einer Papille verdichtet. Bei der beobachteten mannigfaltigen Ausprägung granulärer und vesikulärer Papillen dürfte es sich um verschiedene Entwicklungsstadien handeln. Mit großer Wahrscheinlichkeit gibt es aber auch Unterschiede in der Art der Papillenbildung. Es ist z. B. denkbar, dass der Erreger während des Eindringens durch die Zellwand, noch vor der Bildung eines Haustoriums, seine für die Wirtszelle erkennbare biochemische „Gestalt“ ändert und damit jeweils verschiedenartige Abwehrreaktionen, in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Penetration, provoziert. Eine exaktere Zuordnung und Deutung der Papillen könnte nur durch Beobachtung des zeitlichen Verlaufs ihrer Entstehung im lebenden Organismus erfolgen. Unabhängig von diesen Anmerkungen bleibt Folgendes festzuhalten. Hinsichtlich Anzahl, Typen und Größe der Papillen sind zwar Unterschiede zwischen den einzelnen WPS zu erkennen (Tab. 2, 3, 4 und 5), sie sind aber nicht mit dem Grad der Kompatibilität korreliert. So variiert z. B. die Gesamtrate der Papillenbildung gegen SGT´s bei allen WPS nicht-signifikant zwischen 73 und 98 % (Abb. 19). Dies bedeutet, dass eine optisch erkennbare Differenzierung zwischen kompatibel und inkompatibel zu einem späteren Zeitpunkt der Wirtsbesiedlung stattfinden muß.

In WPS von Echten Mehltaupilzen wandert der Zellkern der Epidermiszellen in die Nähe des Penetrationsortes und lagert sich dort an. Dieses Verhalten konnte auch in der vorliegenden Untersuchung bestätigt werden. Die quantitative Auswertung ergab unterschiedliche Werte für den Prozentsatz wandernder Zellkerne (Abb. 26), eine allgemeine Beziehung zum Grad der Kompatibilität war allerdings nicht zu erkennen (Tab. 27). In inkompatiblen WPS war der Anteil deutlich kollabierter Zellkerne signifikant erhöht (Abb. 27). Dieses Phänomen gilt gleichermaßen für alle WPS und ist somit die erste Phase der Pathogenese, bei der eine morphologisch erkennbare Differenzierung des Krankheitsverlaufs zwischen kompatibel und inkompatibel sichtbar ist. Gleiches gilt für den Anteil kollabierter Epidermiszellen (Abb. 28). Deren Anteil schwankt um die 20 % (Tab. 27). Dabei ist aber zu berücksichtigen, dass es sich hierbei nur um die Zellen mit deutlich sichtbaren Schädigungen handelt. Ein weiterer, in seinem Umfang nicht bekannter, Teil der angegriffenen Epidermiszellen könnte, auch ohne erkennbare Schäden, in seinen Funktionen bereits weitgehend beeinträchtigt sein.

Ein weiterer allgemeiner, morphologisch erkennbarer Ausdruck der Resistenz betrifft die Bildung von Haustorien, die nur von SGT´s ausgehen, aber nicht von PGT´s. Sie werden in allen inkompatiblen WPS in signifikant geringerer Menge gebildet. Bemerkenswert ist allerdings der hohe Anteil von 41 bzw. 57 % von jeweils 150 mit SGT´s gekeimten Konidien in den inkompatiblen Systemen Gerste – *B. graminis* f. sp. *avenae* und Weizen – *B. graminis* f. sp. *avenae* (Abb. 29). Bei Betrachtung des Zustandes der Primär-Haustorien und einer Auswertung auf intakte Haustorien (Abb. 30) wird er-

kennbar, dass die meisten der in inkompatiblen WPS gebildeten Haustorien morphologisch erkennbare Schäden aufweisen und daher mit großer Wahrscheinlichkeit nicht voll funktionsfähig sind. Für die asexuelle Fortpflanzung mit der Produktion von Konidien werden im Vergleich zum vegetativen Wachstum hohe Mengen an Nährstoffen und Energie benötigt. Dafür ist ein funktionstüchtiges Primär-Haustorium allein nicht ausreichend, vielmehr muß ein Pilzindividuum zusätzlich noch mehrere Sekundär-Haustorien ausbilden und nutzen, um das Stadium der Konidienproduktion erfolgreich durchlaufen zu können. Wenn aber, wie in der vorliegenden Untersuchung, die gebildeten Primär-Haustorien nicht funktionstüchtig sind, dann entstehen keine Sekundär-Haustorien, die Phase der Konidienbildung entfällt.

Tab. 27 Pilzstrukturen und Wirtsreaktionen von Weizen cv. Kanzler, Gerste cv. Aura und Hafer cv. Erbgraf nach Inokulation mit den entsprechenden kompatiblen bzw. inkompatiblen ff. sp. von *B. graminis*

Entwicklungsphase/ Abwehrreaktion	**Weizen**	**Gerste**	**Hafer**
Wirt-Pathogen-System*	KT **– KA/KH**	AH **– AA/AT**	EA **– EH/ET**
Konidienkeimung auf der Blattoberfläche [a]	90 - 88/69	96 – 88/90	100 – 95/96
Penetration der Epidermis [b]	78 – 86/91	97 – 86/88	97 – 98/97
Papillenbildung [b]	76 – 83/97	83 – 86/99	94 – 98/93
Zellkernwanderung zum Penetrationsort [c]	41 – 76/36	58 – 76/70	54 – 83/35
Kollabierte Nuklei [c]	2 – **21**/**16**	3 – **29/21**	1 – **14/5**
Kollabierte Epidermiszellen [c]	0 –**18/14**	3 – **14/13**	0 – **7/1**
Gebildete Primärhaustorien [d]	100 – **57/7**	69 – **41/17**	70 – **5/4**
Intakte Primärhaustorien [e]	98 – **9/17**	91 – **15/33**	89 – **0/0**

* = kompatibel – **inkompatibel/inkompatibel**

a % von jeweils 250 Konidien
b % von jeweils 250 gekeimten Konidien
c % von jeweils 250 Penetrationsorten
d % von jeweils 150 mit SGT´s gekeimten Konidien
e % von jeweils 150 Haustorien

Die Fluoreszenzmikroskopie macht es sich zunutze, dass bestimmte Stoffe die Eigenschaft besitzen, UV- oder kuzwelliges sichtbares Licht zu absorbieren und einen Teil dieser Energie in Form einer längerwelligen Strahlung zu

emittieren. Man unterscheidet bei der Fluoreszenz mikroskopischer Objekte zwischen Primär- und Sekundärfluoreszenz, wobei bei letztgenannter eine Fluorochromierung des Objektes durch spezifische Fluoreszenzfarbstoffe (Fluorochrome) erforderlich ist. Beispiele für Primärfluoreszenz sind die Rotfluoreszenz von Chlorophyll und Porphyrinen und die gelblich-grüne Fluoreszenz von Riboflavin. Die Primärfluoreszenz wird, vor allem im anglo-amerikanischen Raum, auch als Autofluoreszenz (AF) bezeichnet, da hier im Gegensatz zur Sekundärfluoreszenz kein Fluorochrom benötigt wird.
AF ist bei fast allen WPS zu beobachten. Häufig sind die Penetrationsorte mit einem fluoreszierenden Ring umgeben, der als Halo bezeichnet wird. Auch bei Getreidekrankheiten sind Halo´s häufig zu beobachten. KIDGER & CARVER (1981) fanden bei Hafer, inokuliert mit *B. graminis* f. sp. *avenae,* autofluoreszierende Verbindungen bereits 6-8 h nach Inokulation im Bereich der PGT´s. Bei den SGT´s konnte vor Ablauf von 16 h keine Fluoreszenzerscheinungen beobachtet werden. Fluoreszenzmikroskopie offenbarte so Interaktionen bereits zu einem sehr frühen Stadium der Pathogenese. AIST & ISRAEL (1985) wiesen die Beteiligung von Phenolen an den AF-Erscheinungen der Papillen und der Zellwände nach. Phenole in den Wänden unterschieden sich von denen in Papillen. Primär handelt es sich bei den Phenolen der Papillen um Phenylpronanoide. KITA et al. (1981) zeigten, dass in Gerstenblättern Kompatibilät bzw. Inkompatibilität 15 hpi sichtbar wird. Letztere drückt sich aus durch Aggregation und Fluoreszenz des epidermalen Cytoplasmas. SANDER (1993) beobachtete in fluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen von Weizenblättern nach Inokulation mit *B. graminis* f. sp*. tritici* eine starke Akkumulation autofluoreszierender phenolischer Verbindungen im Bereich der Epidermiszellwand an der Infektionsstelle. Bei Weizenpflanzen mit geringer Nitratzufuhr waren diese lokalen Zellreaktionen deutlich stärker manifestiert als bei Pflanzen mit Stickstoffüberschuß. Die für die in der vorliegenden Arbeit verwendeten Pflanzen waren durch die gleichförmige Anzucht in Fruhstorfer Anzuchterde ausreichend und mit vergleichbaren Mengen an Stickstoff versorgt, so dass hier die von SANDER (1993) beobachteten Phänomene hier nicht zum Tragen kamen. MAYAMA & SHISHIYAMA (1976, 1978) zeigten, dass autofluoreszierende und im ultravioletten Bereich absorbierende Substanzen am Penetrationsort abgelagert werden. Sie vermuten, dass diese chemischen Substanzen einen pilzlichen Angriff verhindern können. Eine Korrelation zwischen fluoreszierenden Komponenten und Resistenzerscheinungen konnte von KOGA et al. (1979) im System Gerste-*B. graminis* f. sp. *hordei* nachgewiesen werden. Meist wird lediglich die Lokalisation der AF-Erscheinungen ausgewertet. In der vorliegenden, eingehenden Untersuchung wurde die AF hinsichtlich Intensität, Farbe, Ausprägung, Halos und assoziierten Erscheinungen, sowohl für PGT´s als auch für SGT´s differenziert. Es gab zwar Unterschiede in der Ausprägung der AF, jedoch waren diese unabhängig von der Art der Kompatibilität. Sie können daher nicht als allgemeines Merkmal der Resistenzausprägung im System Getreide-Echter Mehltau angesehen werden.
Beim Vergleich der quantitativen Auswertung morphologischer Charakteristika der Getreidearten Weizen cv. Kanzler, Gerste cv. Aura und Hafer cv. Erbgraf mit dem Mehltauerreger ist zu erkennen (Tab. 11), dass es in den ersten drei Phasen der Pathogenese, Konidienkeimung – Penetration – Papillenbildung, keine signifikanten Unterschiede zwischen Kompatibilität und

Inkompatibilität gibt. In der nächsten Phase, der Zellkernwanderung zum Pnetrationsort, ist bei inkompatiblen Systemen eine Tendenz zu höherer Verlagerung der Zellkerne zu erkennen. Ganz deutlich wird der Unterschied bei der Anzahl kollabierter Nuklei und Epidermiszellen, ein Phänomen, dass allgemein mit der Hypersensitivitätsreaktion (HR) in Verbindung gebracht wird (SCHLÖSSER 1997). Das vergleichbare Ausmaß der Destruktion unterstreicht eine einheitliche Reaktion bei allen drei Getreidearten. Dieser Unterschied setzt sich fort bei der Anzahl gebildeter und intakter Haustorien. Es gibt also mehrere ausgeprägte morphologische Charakteristika, die mit dem Grad der Resistenzausprägung korreliert sind. Eine erfolgreiche Abwehr des Mehltauerregers ist daher nicht das Resultat eines einzelnen Abwehrschrittes, sondern wird durch die Summe der einzelnen Reaktionen bestimmt. Dabei kommt der Unterdrückung der Haustorienbildung allerdings eine besondere Rolle zu, denn sie verhindert eine ausreichende Ernährung des obligat biotrophen Pilzes. Die Gleichartigkeit morphologisch erkennbarer Abwehrreaktionen könnte zu der Annahme verleiten, dass die Abwehr in den drei Getreidearten auf genetischer und biochemischer Ebene gleichermaßen abläuft. Dafür gibt es bisher keine Hinweise. Eine alternative Erklärung wäre eine besondere Empfindlichkeit der Haustorienbildung des Erregers, die von einer Anzahl verschiedenartiger Substanzen gleichermaßen unterdrückt werden kann. Für synthetische Fungizide ist diese Möglichkeit bekannt, denn es gibt mehrere chemisch verschiedenartige „Haustorienhemmer“, wie

Tab. 28 Entwicklungsphasen von *B. graminis* f. sp. *avenae* und Abwehrreaktionen an den Hafer cv. Erbgraf (anfällig) und Barra (widerstandsfähiger)

Entwicklungsphase/ Abwehrreaktion	**Hafer cv.**	
	Erbgraf	**Barra**
Konidienkeimung	100	97
Penetration	97	99
Papillenbildung	94	94
Zellkernwanderung	54	**76**
Zellkerne kollabiert	1	**24**
Epidermiszellen kollabiert	0	**21**
Gebildete Haustorien	70	76
Intakte Haustorien	89	**31**

fett = Werte deutlich verschieden

z. B. Ethirimol. Für Inhaltsstoffe von Getreidearten ist dieses Phänomen noch nicht hinreichend untersucht worden.
Als die Saatzuchtanstalt Weibullsholm (Landskrona, Schweden) kein Saatgut des mehltauresistenten cv. Ascot mehr liefern konnte, stellte sie Saatgut des cv. Barra zur Verfügung. Die Sorte erwies sich als deutlich widerstandsfähiger, im Vergleich zum anfälligen cv. Erbgraf, hatte aber nicht den Resistenzgrad des cv. Ascot. Eine histologische Analyse (Tab. 28) zeigte keine Unterschiede in der Pilzentwicklung auf den beiden Sorten bis zur Papillenbildung. Erst bei den Parametern Zellkernwanderung, Zellkerne und Epidermiszellen kollabiert, waren bei Barra deutlich höhere Werte zu erkennen. Demgegenüber war die Anzahl intakter Haustorien beträchtlich geringer. Diese Negativfaktoren spiegeln die höhere Widerstandsfähigkeit des cv. Barra gegenüber *B. graminis* f. sp. *avenae* ausdrucksvoll wider.
Die Untersuchungen an ganzen Pflanzen erwiesen sich als umständlich und schwer kontrollierbar. Es wurde daher geprüft, ob nicht abgetrennte Blätter oder Blattsegmente, auf Benzimidazolagar ausgelegt, für die vorgesehenen Untersuchungen verwendet werden könnten. Es zeigte sich (Tab. 29), dass der Befall auf abgetrennten Blättern etwas höher war als auf ganzen Pflanzen. Im übrigen waren die Werte vergleichbar. Der eine „Ausreisser“ f. sp. *hordei* auf Erbgraf, wurde in zahlreichen nachfolgenden Untersuchungen nicht bestätigt. Wegen der Einfachheit und der besseren Kontrollierbarkeit wurden alle nachfolgenden Untersuchungen an abgetrennten Blattsegmenten von 2 cm Länge durchgeführt.
Die bisherigen Betrachtungen beschäftigten sich mit der Entwicklung von *B. graminis* an Hafer, Gerste und Weizen in kompatiblen und inkompatiblen WPS ohne induzierte Resistenz. Diese kann durch lebende und tote Materialien induziert werden (HAMMERSCHMIDT & KUC 1995, SCHLÖSSER 1997) und wird auch in Pflanzen ohne Resistenzgene gegen einen betreffenden Erreger ausgeprägt. Sie kann lokal begrenzt oder in der ganzen Pflanze systemisch wirksam werden (CHESTER 1933). Sie ist zeitlich begrenzt wirksam und nicht vererbbar. Besondere Aufmerksamkeit verdient dabei die „systemisch aktivierte Resistenz“ (SAR) (ROSS 1961, HAMMERSCHMIDT & KUC 1995, SCHLÖSSER 1997). Eine vorher nicht vorhandene Resistenz kann nicht erworben werden. Sie ist also vorhanden und wird nur aktiviert.
Durch Resistenzinduktion kann ein Pathogen in verschiedenen Befallsstadien seiner Entwicklung behindert oder sogar gehemmt werden (EBRAHIM-NESBAT et al. 1983). Resistenzinduktion durch Vorinokulation mit inkompatiblen pilzlichen Erregern wurde bereits von zahlreichen Autoren beschrieben (s. SCHÖNBECK et al. 1993). Sie kann auch durch saprophytische Pilze hervorgerufen werden (GREGERSEN & SMEDEGAARD 1989). Zahlreiche Versuche wurden hierzu mit dem System Gerste–Echter Mehltau durchgeführt (SMEDEGAARD et al. 1988 & 1989, SMEDEGAARD-PETERSEN et al. 1992, THORDAL-CHRISTENSEN et al. 1987, THORDAL-CHRISTENSEN & SMEDEGAARD-PETERSEN 1988a & 1988b). Eine Resistenzinduktion konnte durch Vorinokulation sowohl kompatibler als auch inkompatibler Rassen von *B. graminis* hervorgerufen werden (CHO & SMEEDEGARD-PETERSEN 1986, FUJIWARA et al. 1989). Das Vorinokulum wurde hierbei vor der Inokulation mit der kompatiblen Rasse entfernt. Bereits kurze Verweilzeiten des Vorinokulums von weniger als 1 h bewirkten einen signifikanten Schutz. Resistenzinduktion durch Applikation eines Elicitors erzielte unter Feldbedingungen den selben Effekt

wie ein modernes systemisches Fungizid (BALDER et al. 1982). Auch konnte durch Vorinokulation mit einer avirulenten Rasse von *B. graminis* f. sp. *hordei* bei Gerste eine Resistenzinduktion unter Feldbedingungen erzielt werden (PELCZ 1989). SCHÖNBECK et al. (1982) führten zahlreiche erfolgversprechende Versuche zur Wirksamkeit induzierter Resistenz unter praktischen Anbaubedingungen mit Echtem Mehltau an Reben, Gurken und Weizen durch. Mit der Resistenzinduktion in Gerste und Hafer durch Vorinokulation mit Apathogenen als befallsmindernder Mechanismus beschäftigten sich VILICH-MELLER & WELTZIEN (1990). Sie konnten Befallsminderungen bis zu 42 % erzielen.
Die meisten dieser Phänomene beruhen wahrscheinlich auf SAR, auch wenn dies im Einzelnen nicht geprüft worden ist. Für Gerste beschrieben KOGEL et al. (1994) den Mechanismus der SAR als eine Phänokopie der genetisch determinierten rassenspezifischen Mlg-Resistenz gegen *B. graminis*.
In eigenen Untersuchungen konnte bei Hafer cv. Erbgraf durch Vorinokulation mit den inkompatiblen ff. sp. *hordei* und *tritici* eine Resistenz gegen die nachfolgend inokulierte kompatible f. sp. *avenae* erzielt werden. Auch bei Gerste cv. Aura und Weizen cv. Kanzler konnte durch Vorinokulation mit den inkompatiblen ff. sp. von *B. graminis* eine Resistenz gegen die betreffenden kompatiblen f. sp. induziert werden. Diese Befunde wurden in zahlreichen Versuchsreihen bestätigt (WILLEMS et al. 1994, ÇETINKAYA 1995). Sie stehen im Einklang mit bisher veröffentlichten Berichten verschiedener Autoren und können daher als gesichert betrachtet werden. Es blieben jedoch noch drei ungelöste Fragen, die in der vorliegenden Untersuchung bearbeitet wurden.

Tab. 29 Vergleich der Resistenzinduktion in abgetrennten Blättern und Blättern ganzer Pflanzen von Getreidearten durch inkompatible ff. sp. von *B. graminis*

Blätter/ Getreideart	**% Befall nach Vorinokulation mit den inkompatiblen ff. sp.**		
	avenae	***hordei***	***tritici***
Ganze Pflanzen			
Hafer cv. Erbgraf	-	23	36
Gerste cv. Aura	45	-	55
Weizen cv. Kanzler	16	16	-
Abgetrennte Blätter auf Benzimidazolagar			
Hafer cv. Erbgraf	-	104	38
Gerste cv. Aura	50	-	62
Weizen cv. Kanzler	31	65	-

Daten = % Befall bezogen auf die Pusteln kompatibler WPS

Erstens, in welchem Entwicklungsstadium von *B. graminis* sind morphologisch erkennbare Auswirkungen einer induzierten Resistenz auszumachen? Zweitens, gibt es Unterschiede hinsichtlich morphologisch erkennbarer Schädigungen der Pilzentwicklung beim Vergleich Inkompatibilität und induzierter Resistenz? Drittens, was ist die chemische Grundlage der induzierten Resistenz?
Die beiden ersten Fragen wurden vergleichend behandelt (Tab. 30), um Gemeinsamkeiten und Unterschiede der beiden Systeme herauszustellen.

Tab. 30 Entwicklungsphasen von *B. graminis* f. sp. *avenae* und Abwehrreaktionen an Hafer cv. Erbgraf bei Inkompatibilität und induzierter Resistenz nach Vorinokulation mit inkompatiblen ff. sp. *hordei* und *tritici*

Entwicklungsphase/ Abwehrreaktion	**kompatibel/ inkompatibel = *hordei, tritici***	**induzierte Resistenz *hordei, tritici***
Konidienkeimung [a]	99/99, 96	100, 100
Penetration [b]	79/73, 77	75, 87
Papillenbildung [c]	67/71, 69	81, 83
Zellkernwanderung [c]	88/99, 92	94, 37
Zellkerne kollabiert [c]	1/4, 33	5, 15
Epidermiszellen kollabiert [c]	4/1, 33	5, 15
Gebildete Primärhaustorien [b]	35/ 6, 27	29, 33
Intakte Primärhaustorien [d]	98/17, 19	77, 89

a % von jeweils 150 Konidien
b % von jeweils 150 mit SGT´s gekeimten Konidien
c % von jeweils 150 penetrierten Epidermiszellen
d % von jeweils 150 Primärhaustorien

Im Vergleich zur nicht induzierten Kontrolle war der Befall nach Resistenzinduktion mit den ff. sp. *hordei* und *tritici* um 77 bzw. 64 % geringer (Abb. 64).
Bei der entsprechenden histologischen Analyse waren in den Phasen Konidienkeimung bis Zellkernwanderung keine Unterschiede zwischen nicht induziert und induziert zu erkennen. Die Werte entsprachen ausserdem denen der Inkompatibilität. Hinsichtlich kollabierter Nuklei und Epidermiszellen waren ebenfalls keine Unterschiede zu erkennen. Dies gilt auch für gebildete Primärhaustorien. Erst bei der Anzahl intakter Primärhaustorien war eine klare Differenzierung zu erkennen. Im Vergleich zur Kontrolle mit 98 % intakter Haustorien waren es bei Inkompatibilität nur 17 bzw. 19 %. Dieser

gravierende Unterschied war nach Resistenzinduktion nicht gegeben, denn der Prozentsatz intakter Haustorien von f. sp. *avenae* betrug nach Vorinokulation mit den ff. sp. *hordei* und *tritici* noch 77 bzw. 89 %. Dies ist ein deutlicher Hinweis, dass die Grundlagen der beiden Resistenzsysteme verschieden sein könnten.

B. graminis kann in Haferblattgewebe eine *de novo* Synthese von Avenaluminen induzieren (ÇETINKAYA 1995, WILLEMS & SCHLÖSSER 1995), die als Phytoalexine eine antimykotische Wirkung haben (s. Einleitung). Es sollte daher geprüft werden, ob die Widerstandskraft von Hafer gegen *B. graminis* bei Inkompatibilität und/oder induzierter Resistenz auf einer erhöhten Synthese von Avenaluminen beruhen könnte und ob es Unterschiede zwischen den beiden Resistenzsystemen gibt. Dazu wurden jeweils am 2., 4., 6. und 8. Tag der Gehalt an Avenalumin I per HPLC bestimmt. Die Analysen (Abb. 81-86) ergaben, mit einer Ausnahme (Abb. 85), folgende klare Beziehungen. Schon im kompatiblen System cv. Erbgraf mit der f. sp. *avenae* erfolgte eine stetige Synthese von Avenalumin. Bei den inkompatiblen Kombinationen mit den ff. sp. *hordei* und *tritici* war diese Synthese noch ausgeprägter. Am stärksten war sie bei Vorinokulation mit den inkompatiblen ff. sp. und nachfolgender Inokulation mit der f. sp. *avenae*. Wurde das Vorinokulum 24 Stunden nach der Ausbringung mit Gelatineabzügen praktisch vollständig entfernt, dann erfolgte trotzdem eine ausgeprägte Bildung von Avenalumin I (Abb. 87). Dieses Ergebnis ist im Einklang mit dem Befund (Tab. 76), dass Gelatineabzüge 24 hpi die Resistenzinduktion und damit die verringerte Pustelzahl von f. sp. *avenae* nicht beeinflussen. Auch zeigen diese Befunde, dass in weniger als 24 Stunden der Induktionsprozess irreversibel angeschaltet worden war. Wurde der Avenalumingehalt in Beziehung zur Anzahl der Mehltaupustel gesetzt, so ergaben sich deutliche Korrelationen. Bei einer höheren Pustelzahl pro cm² auf Blättern des ursprünglich anfälligen cv. Erbgraf betrugen die Koeffizienten r= -0,98 bzw. r= -0,86 (Abb. 88, 89). Bei dem widerstandsfähigeren Hafer cv. Barra, mit deutlich geringerer Pustelzahl pro cm² Blattfläche, betrugen die Korrelationskoeffizienten nur r= -0,70 bzw. r= -0,71 (Abb. 90, 91). Diese Korrelationen wurden auch in anderen Untersuchungen der Giessener Arbeitsgruppe bestätigt (WILLEMS et al. 1994, ÇETINKAYA 1995).

Eine Resistenz von Pflanzen gegen mikrobielle Krankheitserreger beruht selten, wenn überhaupt, auf nur einer Abwehrreaktion oder nur einer chemischen Verbindung. Die Widerstandskraft ist fast immer das Integral mehrerer Faktoren in einer Kaskade multipler Abwehrvorgänge (SCHLÖSSER 1997). Dabei können allerdings einzelne Faktoren manchmal ein ganz besonderes Gewicht haben. Die Beziehung Stärke der Avenalumin-Synthese zu Pustelzahl-Resistenzgrad war zwar eindeutig, jedoch erschien es angebracht, diese Aussage durch weitere, andersartige Untersuchungen zu bestätigen.

Die oxidative Deaminierung von Phenylalanin zu Zimtsäure und von Tyrosin zu p-Cumarsäure wird durch spezifische Enzyme katalysiert: *Phenylalanin-Ammonium-Lyase* (PAL) und *Tyrosin-Ammonium-Lyase* (TAL). PAL fungiert als Schlüsselenzym an dieser Abzweigung, wo sich die Phenol-Synthesewege von denen der Aminosäuren bzw. der Proteine trennen. Die Aktivität als auch die Synthese von PAL unterliegen einer vielfältigen Kontrolle durch sehr unterschiedliche Faktoren: Licht, Temperatur, Ethylen, Kohlenhydrat-

stoffwechsel. Es ist das Schlüsselenzym für die Bildung der meisten und wichtigsten aromatischen sekundären Pflanzenstoffe.
Die von TAL geförderte Umsetzung scheint vorwiegend bei den *Gramineae* abzulaufen. Alternativ entsteht die p-Cumarsäure über die Hydroxylierung von Zimtsäure durch eine an das endoplasmatische Reticulum gebundene *Zimtsäure-4-Hydroxylase*, die oft auch mit PAL assoziiert ist (Mikrokompartimentierung!) (RICHTER 1981).
PAL katalysiert den ersten Schritt der Umwandlung von Phenylalanin zu den Anthocyanen und zum Lignin, unter Freisetzung von Ammoniak und Bildung von Trans-Zimtsäure. PAL zählt zu den lichtregulierten Enzymen; seine Synthese wird durch Dunkelrotlicht über das Phytochromsystem induziert. Es katalysiert in Hafer u. a. einen wichtigen Schritt in der Synthese der Avenalumine. Wenn den Avenaluminen eine entscheidende Rolle bei der Abwehr von *B. graminis* zukommt, dann müsste eine Hemmung der PAL ein deutlich verringertes Abwehrpotenzial zur Folge haben, was sich in einem verstärkten Befall der behandelten Blätter äussern sollte. Für diese Untersuchung wurden folgende PAL-Inhibitoren gewählt: Aminooxy acetic acid (AOA), Cumarsäure (C), Glyphosate (G) und Zimtsäure (Z). Ihre Anwendung erhöhte signifikant die Pustelzahl behandelter Pflanzen, sowohl ohne Resistenzinduktion (Abb. 129) als auch bei Resistenzinduktion (Abb. 130). Diese äusserst bemerkenswerten Ergebnisse lassen zwei Schlüsse zu. Erstens, die Widerstandskraft des anfälligen cv. Erbgraf gegen f. sp. *avenae* ist selbst ohne Resistenzinduktion noch so hoch, dass eine PAL-Hemmung den Befall noch enorm steigern konnte. Zweitens, bei Vorinokulation von cv. Erbgraf mit der f. sp. *tritici* konnte die zu erwartende Resistenzinduktion weitgehend aufgehoben werden, was sich in einer signifikant höheren Pustelzahl manifestierte. Hinsichtlich Konidienkeimung, Penetration und Papillenbildung war kein Einfluß der PAL-Inhibitoren zu erkennen. In der unbehandelten, mit den ff. sp. *tritici* vor- und *avenae* inokulierten Variante wanderten 62 % der Zellkerne zur Penetrationsstelle (Abb. 135). Mit den PAL-Inhibitoren ergab sich ein uneinheitliches Bild, die Werte lagen jedoch immer mehr oder weniger deutlich unter denen der Kontrolle. Ein klares Bild hinsichtlich der Inhibitorwirkung ergab sich bei der Auswertung der gebildeten Haustorien. Bei allen behandelten und nur mit der f. sp. *avenae* inokulierten Varianten war ihre Anzahl deutlich höher als bei der unbehandelten Kontrolle. Dies stimmt mit der Beobachtung überein, dass Avenalumine die Haustorienbildung hemmen (Abb. 103) und dass diese Wirkung durch Blockade der Avenalumin-Synthese wenigstens teilweise aufgehoben werden kann. In den Varianten mit Resistenzinduktion war keine erhöhte Anzahl von Haustorien nachzuweisen, die Werte befanden sich auf dem Niveau der unbehandelten Kontrolle. Da die Pustelzahl nach Inhibitorbehandlung ebenfalls signifikant erhöht war, ist dies ein Hinweis, dass bei der induzierten Resistenz neben den Avenaluminen noch andere Resistenzfaktoren wirksam sein könnten. Insgesamt stützen die Erbgebnisse über die Auswirkungen von PAL-Inhibitoren die Annahme, dass den Avenaluminen bei der Abwehr von *B. graminis* an Hafer eine wichtige Rolle zukommt. Die Befunde dürfen aber nicht überbewertet werden. Die Inhibitoren sind nicht so spezifisch, dass sie nur die Avenalumin-Synthese blockieren, sondern auch die Bildung vieler anderer phenolischer Verbindungen, wie z. B. Vorstufen des Lignins.

Ein weiterer Weg, die Bedeutung der Avenalumine bei der Abwehr von *B. graminis* zu prüfen, ist eine Sprühapplikation von Avenaluminlösungen auf Haferblätter kurz vor der Inokulation mit den Erregern. Hierzu wurden wässerige Lösungen mit 200 µg/ml von Avenalumin I (Av I) verwendet, dem wichtigsten und aggressivsten Vertreter dieser Phytoalexine (WILLEMS & SCHLÖSSER 1995). Diese Konzentration befindet sich noch im physiologischen Bereich. Avenalumin II wurde ebenfalls geprüft, es wird hier aber nicht berücksichtigt, da es im Hafergewebe in viel geringerer Konzentration vorkommt und zudem deutlich weniger aggressiv ist. Durch die Blattapplikation wurde die Anzahl der Mehltaupusteln pro cm² von 16,1 auf 0,2 reduziert (Abb. 92). Konidienkeimung (Abb. 93) und Penetration (Abb. 99) wurden weitgehend unterbunden. Dabei muss aber berücksichtigt werden, dass Avenalumine nicht auf der Blattoberfläche vorkommen, so dass diese Effekte nur ein Ausdruck für die Toxizität von Av I sein können. Die Papillenbildung war etwas niedriger (Abb. 100), die Wanderung der Zellkerne zum Penetrationsort vollkommen unterbunden (Abb. 101). Kollabierte Nuklei wurden nicht gefunden. Besonders stark ausgeprägt war die Verringerung der gebildeten Haustorien von 48 auf null (Abb. 103). Insgesamt bestätigen die Befunde die Annahme, dass Avenaluminen eine wichtige Rolle bei der Abwehr von *B. graminis* an Hafer zukommt. Interessanterweise wird auch die Entwicklung der f. sp. *avenae* stark gehemmt, obwohl dieser Pilz doch mit Hafer kompatibel ist. Diese Diskrepanz ist damit erklärbar, dass Av I vor der Inokulation appliziert worden war und somit auf den Pilz einwirken konnte. Ohne diese Anwendung wäre nur wenig Av I vorhanden gewesen, da der kompatible Erreger die *de novo* Synthese von Av I mittels Suppressoren weitgehend unterdrückte. Die gebildete Menge wäre zu niedrig, um die f. sp. *avenae* in ihrer Entwicklung entscheidend beeinflussen zu können.

Zu den induzierten biochemischen Antworten von Pflanzen auf pilzliche Angriffe gehört auch die Produktion und Akkumulation phenolischer Substanzen. Diese biogenen Inhibitoren sind oft mit Verletzungen und Wundheilungsprozessen bei Pflanzen assoziiert, haben jedoch auch eine fungitoxische Wirkung. Eine schnelle Akkumulation solcher Verbindungen, wie z. B. Kaffesäure, Umbelliferon, Scopoletin und Orchinol, um nur einige zu nennen, kann in resistenten Pflanzen nach einer Infektion auftreten. Die Konzentration eines einzelnen Phenols mag nicht ausreichend sein, um die Entwicklung des Pilzes zu hemmen, kann aber in Kombination mit anderen Verbindungen effektiv fungizid wirken (ISAAC 1992). So scheinen beispielsweise im System *Phytophtora infestans*-Kartoffel Scopolin und sein Aglykon Scopoletin eine Rolle bei der Lignifizierung und der Resistenz zu spielen (CLARKE 1973). Einzelheiten sind bislang ungeklärt. Es wird angenommen, daß durch Scopolin und Scopoletin zwei wichtige Enzyme der Ligninsynthese gehemmt werden, Glucose 6-Phosphat-Dehydrogenase und Peroxidase.

Die Untersuchungen unterschiedlich inokulierter Haferblätter mittels HPLC-Analyse zeigten keine signifikanten Unterschiede im Scopoletingehalt der Varianten. Die UV-Detektion lag nahe der Nachweisgrenze, war sehr unselektiv und anfällig gegen Störpeaks. Eine Fluoreszenz-Detektion wäre wahrscheinlich die geeignetere Methode, da sie zum einen spezifischer ist, zum anderen sich durch eine erheblich geringere Störanfälligkeit auszeichnet.

Sprühapplikationen von wäßrigen Lösungen von Scopoletin mit 200 µg/ml auf intakte Haferblätter vor einer Inokulation mit *B. graminis* f. sp. *avenae* bewirkten eine drastische Befallsreduktion im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle (Abb. 92). In ihrem Ausmass entsprach sie dem von Avenalumin I. Dieser Effekt beruhte einmal auf einer stark verringerten Keimrate, sowie verschiedenen negativen Einflüssen auf die Pilzentwicklung, besonders die Ausbildung von Haustorien. Insgesamt sind die Auswirkungen von Scopoletin gleichermassen schädigend wie Avenalumin I. Es müsste allerdings noch geprüft werden, ob Scopoletin in Blättern von Haferpflanzen, und möglicherweise auch anderen Getreidearten, eine bedeutende Rolle bei der Abwehr von *B. graminis* zukommt.

5 ZUSAMMENFASSUNG

Anhand der Hafer cv. Erbgraf und Barra sowie der Gersten cv. Aura und Weizen cv. Kanzler wurden alle möglichen Kombinationen mit den ff. sp. *avenae, hordei* und *tritici* von *Blumeria graminis* vergleichend untersucht. Neben der makroskopisch erkennbaren Pilzentwicklung auf künstlich inokulierten Blättern ganzer Pflanzen oder Blattsegmenten wurden umfangreiche histologische Analysen durchgeführt. Durch einen Vergleich kompatibler und inkompatibler Wirt-Pathogen-Kombinationen sollte ermittelt werden, in welcher Phase der Pilzentwicklung bzw. der Ausprägung von Abwehrreaktionen der Wirtspflanzen eine deutliche Differenzierung zwischen kompatibel und inkompatibel erkennbar ist. Nach quantitativen, vergleichenden mikroskopischen Analysen sind folgende Aussagen möglich:

- Unabhängig von Wirtspflanze und ff. sp. des Erregers waren die Befunde derart ähnlich, dass alle Wirt-Pathogen-Kombinationen gemeinsam wie ein System behandelt werden können.

- Hinsichtlich der Parameter Konidienkeimung auf Blattoberflächen, Sekundäre Keimhyphen und Appressorien, Penetration durch die Epidermis und Papillenbildung gab es bei keiner der Kombinationen signifikante Unterschiede in der Pilzentwicklung: Morphologische Veränderungen nur im Sinne einer Abwehrreaktion waren nicht zu erkennen.

- Bei der Wanderung der Zellkerne zum Penetrationsort waren die Befunde uneinheitlich. Die Anzahl kollabierter Zellkerne und Epidermiszellen waren in den inkompatiblen Kombinationen meist beträchtlich erhöht. Dagegen war die Anzahl gebildeter und intakter Haustorien signifikant verringert.

Diese Befunde entsprechen der deutlich geringeren, makroskopisch erkennbaren Pilzentwicklung auf den Getreideblättern.
Nach Vorinokulation mit den inkompatiblen ff. sp. wird in den Blättern aller drei Getreidearten innerhalb 24 Stunden eine signifikante Resistenz gegen die jeweilige kompatible f. sp. induziert. Eine zuvor anfällige Pflanze wird somit in eine resistente Pflanze umgewandelt.
Am cv. Erbgraf sollten detaillierte histologische und chemische Analysen Aufschluß geben, ob die Resistenzausprägung bei Inkompatibilität und induzierter Resistenz auf gleichen Grundlagen beruht.

- Von wenigen Ausnahmen abgesehen entsprechen die beobachteten Veränderungen nach Resistenzinduktion denen bei Inkompatibilität. Nur bei der Anzahl gebildeter und intakter Haustorien war ein deutlicher Unterschied zu erkennen. Bei Inkompatibilität war eine starke Schädigung dieser Phase der Pilzentwicklung zu verzeichnen, während die Verhältnisse bei der induzierten Resistenz denen der kompatiblen Kontrolle entsprachen. Dies deutet auf Unterschiede in den beiden Systemen der Resistenz hin.

- In Sequenzanalysen wurden 2, 4, 6 und 8 Tage nach Inokulation der Avenalumingehalt der Haferblätter mittels HPLC quantitativ bestimmt. Eine kontinuierliche *de novo* Synthese dieser antimykotischen Phytoalexine erfolgte selbst in dem kompatiblen System Erbgraf – f. sp. *avenae*. In den inkompatiblen Systemen war diese Synthese

noch deutlich ausgeprägter und nach induzierter Resistenz und nachfolgender Inokulation mit f. sp. *avenae* am stärksten.

- Korrelationsanalysen ergaben 7 dpi in allen Fällen klare negative Beziehungen zwischen Avenalumingehalt der Haferblätter und Anzahl der Pustel der inokulierten f. sp. *avenae*. Bei höherer Dichte des Inokulums betrugen sie r= -0,86-0,98, bei niedriger Dichte r= -0,70-0,71. Diese Beziehungen weisen auf eine Bedeutung der Avenalumine bei der Abwehr von *B. graminis* an Hafer hin.

Die Rolle der Avenalumine als antimykotische Resistenzfaktoren wurde durch weitere Untersuchungen komplementiert.

- Da Avenalumine mittels PAL synthetisiert werden, wurde versucht, durch Anwendung der PAL-Inhibitoren Aminooxyessigsäure, Cumarsäure, Glyphosate und Zimtsäure, die Entwicklung von *B. graminis* f. sp. *avenae* auf Haferblättern zu beeinflussen. Die signifikant höheren Zahlen der Mehltaupusteln/cm² sowohl im kompatiblen System als auch bei Resistenzinduktion beweisen eine starke Verringerung der Widerstandskraft und unterstreichen die Rolle der Avenalumine als Resistenzfaktoren.

- In einem weiteren Ansatz wurden vor der Inokulation der f. sp. *avenae* wässrige Lösungen von Avenalumin I und II mit jeweils 200 µg/ml auf Haferblätter aufgesprüht. Dies führte zu einer drastischen Verringerung der Pilzentwicklung und besonders der Haustorienbildung.

Die Avenalumine sind sicher nicht die alleinige Basis der Resistenz von Haferblattgeweben gegen *B. graminis*. Nach den vorliegenden Untersuchungen haben sie jedoch eine bedeutende Funktion bei der Abwehr des Erregers.
Neben den Avenaluminen wurde auch das ebenfalls induzierbare Scopoletin auf seine Wirkung gegen *B. graminis* geprüft. Es erwies sich als ebenso wirkungsvoll wie Avenalumine. Seine mögliche Rolle bei der Abwehr von *B. graminis* bleibt aber noch aufzuklären.
Im Laufe der Untersuchungen wurde eine neue Färbemethode entwickelt, die es ermöglicht, Oberflächen- und subcuticuläres Myzel in unterschiedlichen Färbungen differenziert darzustellen. Diese eignet sich nicht nur für die in dieser Arbeit dargestellten Interaktionen. Sie ist für eine Reihe anderer pilzlicher Kranheitserreger erfolgreich getestet worden und findet mittlerweile auch praktische Anwendung in anderen Forschungsbereichen.

6 LITERATUR

AIST, J. R. (1976): Papillae and related wound plugs of plant cells. Ann. Rev. Phytopathol. 14, 145-163.

AIST, J. R. & H. W. ISRAEL (1977): Papilla formation: timing and significance during penetration of barley coleoptiles by *Erysiphe graminis hordei*. Phytopathol. 67, 455-461.

AIST, J. R. & H. W. ISRAEL (1985): Autofluorescent and ultraviolet-absorbing components in all walls and papillae of barley coleoptiles and their relationship to disease resistance. Can. J. Bot. 64, 266-272.

BAKER, S. J.; A. C. NEWTON & S. J. GURR (2000): Cellular characteristics of temporary partial breakdown of mlo-resistance in barley to powdery mildew. Physiol. Mol. Plant Pathol. 56, 1 –11

BAILEY, J. A. & J. W. MANSFIELD (1982): Phytoalexins. Blackie, Glasgow, London.

BALDER, H.; H. W. DEHNE & F. SCHÖNBECK (1982): Untersuchungen zur Kontrolle des echten Mehltaus durch Resistenzinduktion unter praktischen Anbaubedingungen. Med. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent 34, 329-337.

BETZ, H. (1984): Untersuchungen über die Rolle des Avenacins bei Interaktionen zwischen *Avena sativa* und Varietäten von *Gaeumannomyces graminis* sowie Arten von *Fusarium.* Dissertation, Justus-Liebig-Universität, Giessen.

BETZ, H. & E. SCHLÖSSER (1982): Die Rolle von Saponinen im Resistenzmechanismus gegen Pilze. XI Avenacin – *Gaeumannomyces graminis*. Med. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent 47, 307-319.

BLUMER, S. (1933): Die *Erysiphaceen* Mitteleuropas. Beiträge zur Kryptogamenflora der Schweiz. Band 7, Heft 1. Zürich.

BLUMER, S. (1967): Echte Mehltaupilze (*Erysiphaceae*). Ein Bestimmungsbuch für die in Europa vorkommenden Arten. Fischer, Jena.

CARVER, T. L. W. & W. R. BUSHNELL (1983): The propable role of primary germ tubes in water uptake before infection by *Erysiphe graminis.* Physiol. Mol. Plant Pathol. 23, 229-240.

CARVER, T. L. W. (1986): Histology of infection by *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei* in spring barley lines with various levels of partial resistance. Pl. Pathol. 35, 232-240.

CARVER T. L. W. & S. M. INGERSON (1987): Responses of *Erysiphe graminis* germlings to contact with artificial and host surfaces. Physiol. Mol. Plant Pathol. 30, 359-372.

ÇETINKAYA, N. (1995): Rolle von Avenaluminen in Haferblättern bei der Abwehr von ff. sp. von *Erysiphe graminis*. Dissertation, Justus-Liebig-Universität, Giessen.

CHESTER, K. (1933): The problem of acquired physiological immunity in plants. Q. Rev. Biol. 8, 129-154.

CHO, B. H. & V. SMEEDEGARD-PETERSEN (1986): Induction of resistance to *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei* in near-isogeneic barley lines. Phytopathol. 76, 301-305.

CLARK, G. (ed.) (1981): Staining Procedures. Fourth Edition. Williams & Wilkins, Baltimore, London.

CLARKE, D. D. (1973): The accumulation of scopolin in potato tissue in response to infection. Physiol. Mol. Plant Pathol. 3, 347-358.

DE WAARD, M. A. (1971): Germination of powdery mildew conidia in vitro on cellulose membranes. Neth. J. Pl. Path. 77, 6-13.

EBRAHIM-NESBAT, F.; H. BALDER & F. SCHÖNBECK (1983): Elektronenmikroskopische Untersuchungen des Gerstenmehltaus (*Erysiphe graminis* DC f. sp. *hordei* Marchal) nach Resistenzinduktion mit mikrobiellen Stoffwechselprodukten. J. Phytopathol. 106, 76-89.

EDWARDS, H. H. & P. J. ALLEN (1970): A fine-structure study of the primary infection process during infection of barley by *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*. Phytopathol. 60, 1504-1509.

ELLINGBOE, A. H. (1972): Genetics and physiology of primary infection by *Erysiphe graminis*. Phytopathol. 62, 401-406.

FRANCIS, S. A.; F. M. DEWEY & S. J. GURR (1996): The role of cutinase in germling development and infection by *Erysiphe g*raminis f. *sp. hordei.* Physiol. Mol. Plant Pathol. 49, 201-211.

FUJIWARA, M.; T. SHIRAISHI; H. OKU; T. YAMADA & S. OUCHI (1989): Rapid induction of preliminary inoculation with *Erysiphe graminis*. Ann. Phytopath. Soc. Japan 55, 660-663.

GERLACH, D. (1984): Botanische Mikrotechnik. Eine Einführung. 3., unveränd. Aufl. Thieme, Stuttgart, New York.

GREEN, N. E.; L. A. HADWIGER & S. O. GRAHAM (1975): Phenylalanine ammonia-lyase, tyrosine ammonia-lyase and lignin in wheat inoculated with *Erysiphe graminis* f. sp. *tritici*. Phytopathol. 65, 1071-1074.

GREGERSEN, P. L. & V. SMEDEGAARD (1989): Induction of resistance in barley against *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei* after preinoculation with the saprophytic fungus, *Cladosporium macrocarpum*. J. Phytopathol. 124, 128-136.

HALL, A. A. & S. J. GURR (2000): Initiation of appressorial germ tube differentiation and appressorial hooking: distinct morphological events regulated by cAMP signalling in *Blumeria g*raminis f. *sp. hordei.* Physiol. Mol. Plant Pathol. 56, 39-46.

HALL, A. A.; L. BINDSLEV; J. ROUSTER; S. W. RASMUSSEN; R. P. OLIVER & S. J. GURR (1999): Involvement of cAMP and protein kinase A in conidial differentiation by *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*. Mol. Plant Microbe Interact. 12, 960-968.

HAMMERSCHMIDT, R. & J. KUC (eds.) (1995): Induced resistance to disease in plants. Kluwer, Dordrecht.

HEITEFUSS, R. (2001): Defence reactions of plants to fungal pathogens: principles and perspectives, using powdery mildew on cereals as an example. Naturwissenschaften 88, 273-283. Published online: 2 June 2001, Springer-Verlag.

HEITEFUSS, R. & F. EBRAHIM-NESBAT (1986): Ultrastructural and histochemical studies on mildew of barley (*Erysiphe graminis* DC f. sp. *hordei* Marchal): III. Ultrastructure of different types of papillae in susceptible and adult plant resistant leaves. J. Phytopathol. 116, 358-373.

HOFFMANN, G. M. & H. SCHMUTTERER (1999): Parasitäre Krankheiten und Schädlinge an landwirtschaftlichen Kulturpflanzen, 2. Aufl.. Blackwell, Berlin.

HÜCKELHOVEN, R.; J. FODOR; C. PREIS & K. H. KOGEL (1999): Hypersensitive cell death and papilla formation in barley attacked by the powdery mildew fungus are associated with hydrogen peroxide but not with salicylic acid accumulation. Plant Physiol. 199, 1251-1260.

HYDE, P. M. & J. COLHOUN (1975): Mechanisms of resistance of wheat to *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*. J. Phytopathol. 82, 185-206.

ISAAC, S. (1992): Fungal-plant interactions. Chapman & Hall, London, New York, Tokyo, Melbourne, Madras.

JERSCH, S. (1986): Bedeutung von Avenaluminen für die Resistenz von *Avena sativa* gegenüber *Drechslera spp.* und formae speciales von *Erysiphe graminis.* Dissertation, Justus-Liebig-Universität, Giessen.

JOHANSEN, D. A. (1940): Plant Microtechnique, Ed. 1, McGraw-Hill, New York.

KAPOORIA R. G. & K. MENDGEN (1985): Infection structures and their surface changes during differentiation in *Uromyces fabae*. J. Phytopathol. 113, 317-323.

KIDGER, A. L. & T. L. W. CARVER (1981): Autofluorescence in oats infected by powdery mildew. Trans. Brit. Mycol. Soc. 76, 405-409.

KILIAN, E. M. (1990): Der Einfluß von Fungiziden auf die Rassendynamik des Gerstenmehltaus *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei* Marchal.. Dissertation, Justus-Liebig-Universität, Giessen.

KITA, N.; H. TOYODA & J. SHISHIYAMA (1981): Chronological analysis of cytological responses in powdery-mildewed barley leaves. Can. J. Bot. 59, 1761-1768.

KOGA, H.; S. MAYAMA & J. SHISHIYAMA (1979): Microscopic specification of compatible and incompatible interactions in barley leaves inoculated with *Erysiphe graminis hordei*. Ann. Phytopath. Soc. Japan 44, 111-119.

KOGEL, K. H.; U. BECKHOVE; J. DRESCHERS; S. MÜNCH & Y. ROMME (1994): Acquired resistance in barley, Plant Physiol. 106, 1269-1277

KUNOH, H.; H. ISHIZAKI & K. NAKAYA (1977): Cytological studies of the early stages of powdery mildew development in barley and wheat leaves. II. Significance of the primary germ tube of *Erysiphe graminis* on barley leaves. Physiol. Mol. Plant Path. 10, 191-199.

KUNOH, H.; T. TSUZUKI & H. ISHIZAKI (1978): Cytological studies of the early stages of powdery mildew in barley and wheat. IV. Direct ingress from superficial primary germ tubes and appressoria of *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei* on barley leaves. Physiol. Mol. Plant Path. 13, 327-333.

KUNOH, H. (1982): Primary germ tubes of *Erysiphe graminis* conidia. In: ASADA, Y.; W. R. BUSHNELL; S. OUCHI & C. P. VANCE (eds.): Plant Infection, the Physiological and Biochemical Basis. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 45-59.

KUNOH, H.; A. HAYASHIMOTO; M. HARUI & H. ISHIZAKI (1985): Induced susceptibility and enhanced resistance at the cellular level in barley coleoptiles. I. The significance of timing of fungal invasion. Physiol. Mol. Plant Path. 27, 43-54.

LIN, M.-R. & H. H. EDWARDS (1974): Primary penetration process in powdery mildewed barley related to host cell age, cell type and occurence of basic staining material. New Phytol. 73, 131-137.

LÜNING, H.-U. (1975): Saponine in *Avena sativa*, ihre Bedeutung im Resistenzmechanismus gegenüber phytopathogenen Pilzen. Dissertation, Bonn.

LÜNING, H.-U. & E. SCHLÖSSER (1975): Role of saponins in antifungal resistance. V. Enzymatic activation of avenacosides. Z. PflKrankh. PflSchutz 82, 699-703.

LÜNING, H.-U. & E. SCHLÖSSER (1976): Saponine in *Avena sativa*. Angew. Bot. 50, 49-60.

MAYAMA, S. & J. SHISHIYAMA (1976): Histological observations of cellular response of barley leaves to powdery mildew infection by UV-fluorescence microscopy. Ann. Phytopath. Soc. Japan 42, 591-596.

MAYAMA, S. & J. SHISHIYAMA (1978): Localized accumulation of fluorescent and UV absorbing compounds at penetration sites in barley leaves infected with *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*. Physiol. Mol. Plant Path. 13, 347-354.

MAYAMA, A. S.; T. TANI; Y. MATSUURA; T. UENO & H. FUKAMI (1981a): The production of phytoalexins by oat in response to crown rust *Puccinia coronata* f. sp. *avenae*. Physiol. Mol. Plant Path. 19, 217-226.

MAYAMA, A. S.; T. TANI; T. UENO; K. HIRABAYASHI; T. NAKASHIMA; H. FUKAMI; Y. MIZUNO & H. IRIE (1981b): Isolation and structure elucidation of genuine oat phytoalexin, avenalumin I. Tetrahedron Lett. 20, 2103-2106.

MENDGEN, K.; M. LANGE & K. BRETSCHNEIDER (1985): Quantitative estimation of the surface carbohydrates on the infection structures of rust fungi with enzymes and lectins. Arch. Microbiol. 140, 307-311.

MENDGEN, K.; A. SCHNEIDER; M. STERK & W. FINK (1988): The differentiation of infection structures as a result of recognition events between some biotrophic parasites and their hosts. J. Phytopathol. 123, 259-272.

MENDGEN, K.; M. HAHN & H. DEISING (1996): Morphogenesis and mechanisms of penetration by plant pathogenic fungi. Ann. Rev. Phytopathol. 34, 367-386.

MYERS, D. F. & W. E. FRY (1978): The development of *Gloeocercospora sorghi* in sorghum. Phytopathol. 68, 1147-1155.

OERKE, E.-C.; U. STEINER & F. SCHÖNBECK (1989): Zur Wirksamkeit der induzierten Resistenz unter praktischen Anbaubedingungen. V: Mehltaubefall und Ertrag von Winter- und Sommergerste in Abhängigkeit von der Stickstoffdüngung. Z. PflKrankh. PflSchutz 96, 140-153.

OERKE, E.-C.; H. W. DEHNE; F. SCHÖNBECK & A. WEBER (1994): Crop production and crop protection: estimated losses in major food and cash crops. Elsevier, Amsterdam.

PELCZ, J. (1989): Resistenzinduktion bei Gerste durch eine avirulente Rasse von *Erysiphe graminis* DC. f. sp. *hordei* March. unter Feldbedingungen. Archiv für Phytopathologie und Pflanzenschutz 25, 131-136.

PRYCE-JONES, E.; T. CARVER & S. J. GURR (1999): The roles of cellulase enzymes and mechanical force in host penetration by *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei.* Physiol. Mol. Plant Pathol. 55, 175-182.

RICHTER, G. (1981): Stoffwechselphysiologie der Pflanzen, Physiologie und Biochemie des Primär- und Sekundärstoffwechsels, 4. Auflage. Thieme, Stuttgart, New York.

RIDE, J. P. (1983): Cell walls and other structural barriers in defence. In: J. A. CALLOW (ed.): Biochemical Plant Pathology, 215-236.

RIDE, J. P. & R. B. PEARCE (1979): Lignification and papilla formation at sites of attempted penetration of wheat leaves by non-pathogenic fungi. Physiol. Mol. Plant Pathol. 15, 79-92.

ROSS, A. (1961): Systemic acquired resistance induced by localized virus infections in plants. Virology 14, 304-358.

SAHASHI, N. & J. SHISHIYAMA (1986): Increased papilla formation, a major factor of induced resistance in the barley - *Erysiphe graminis* f.sp. *hordei* system. Can. J. Bot. 64, 2178-2181.

SANDER, A. (1983): Untersuchungen zur Anfälligkeit von Wintergersten gegenüber Mehltau (*Erysiphe graminis* DC f. sp. *hordei* Marchal) im Hinblick auf die Ermittlung von Befalls-Verlust-Relationen. Dissertation, Univ. Göttingen.

SANDER, J. F. (1993): Biochemisch-physiologische Ursachen der durch die Stickstoffernährung modifizierten Anfälligkeit des Weizens (*Triticum aestivum* L.) gegenüber dem Echten Mehltau (*Erysiphe graminis* DC f. sp. *tritici* Marchal). Dissertation, Univ. Göttingen.

SCHLÖSSER, E. (1997): Allgemeine Phytopathologie, 2. Auflage. Thieme, Stuttgart, New York.

SCHÖNBECK, F.; H.-W. DEHNE & W. BEICHT (1980): Untersuchungen zur Aktivierung unspezifischer Resistenzmechanismen in Pflanzen. Z. PflKrankh. PflSchutz 87, 654-660.

SCHÖNBECK, F.; H.-W. DEHNE & H. BALDER (1982): Zur Wirksamkeit induzierter Resistenz unter praktischen Anbaubedingungen. I. Echter Mehltau an Reben, Gurken und Weizen. Z. PflKrankh. PflSchutz 89, 177-184.

SCHÖNBECK, F.; U. STEINER & T. KRASKA (1993): Induzierte Resistenz: Kriterien, Mechanismen, Anwendung und Bewertung. Z. PflKrankh. PflSchutz 100, 541-557.

SCHWANTES, H. O. (1996): Biologie der Pilze. Ulmer, Stuttgart.

SHIRAISHI, T.; N. YAMAOKO & H. KUNOH (1989): Association between increased phenylalanine ammonia-lyase activity and cinnamic acid synthesis and the induction of temporary inaccessibility caused by *Erysiphe graminis* primary germ tube penetration of the barley leaf. Physiol. Mol. Plant Path. 34, 75-83.

SIEBER, U. (1983): Rolle der Blattsaponine von *Avena sativa* gegenüber verschiedenen *Drechslera* spp. und formae speciales von *Erysiphe graminis*. Dissertation, Justus-Liebig-Universität, Giessen.

SKOU, J. P.; J. H. JORGENSEN & U. LILHOLT (1984): Comparative studies on callose formation in mildew compatible and incompatible barley. J. Phytopathol. 109,147-168.

SMEDEGAARD-PETERSEN, V.; H. THORDAL-CHRISTENSEN & P. L. GREGERSEN (1988): Induceret resistens i byg (Induced resistance in barley [*Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*]). 5th Danish plant protection conference: Pests and diseases. Lyngby, 253-261.

SMEDEGAARD-PETERSEN, V.; H. THORDAL-CHRISTENSEN; P. L. GREGERSEN & H. J. KRISTENSEN (1989): Induced resistance against powdery mildew in barley. Nordic Plant Protection Conference 1989: Section of Botanic, Zoology, Nematology, Virology, Weed and Chemistry. Lyngby, 87-88.

SMEDEGAARD-PETERSEN, V.; D. B. COLLINGE; H. THORDAL-CHRISTENSEN; J. BRANDT; P. L. GREGERSEN; B. H. CHO; H. WALTHER-LARSEN; H. J. KRISTENSEN & K. VAD (1992): Induction and molecular analyses of resistance to barley powdery mildew. NATO-ASI-series-:-Series-A-:-Life-sciences (USA), 321-326.

STANBRIDGE, B.; J. L. GAY & R. K. S. WOOD (1971): Gross and fine structural changes in *Erysiphe graminis* and barley before and during infection. In: PREECE, T. F. & C. H. DICKINSON (eds.): Ecology of Leaf Surface Microorganisms. Academic Press, New York and London, 367-379.

STEINHAUER, B. (1992): Rolle der Avenalumine bei der Besiedlung von *Avena sativa* durch *Fusarium* spp. sowie Arten von *Drechslera*. Dissertation, Justus-Liebig-Universität, Giessen.

STEINHAUER, B. & E. SCHLÖSSER (1991): Avenalumins in the interaction between *Avena sativa* and *Fusarium* spp.. Med. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent 56, 375-383.

STEINHAUER, B. & E. SCHLÖSSER (1992): Investigations on the analysis of avenalumins in oat tissue. Med. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent 57, 439-447.

THORDAL-CHRISTENSEN, H. (1987): Induced resistance in barley to barley powdery mildew, *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*. These (Lic.Agr.), Kongelige Veterinaer- og Landbohoejskole (KVL), Copenhagen (Denmark). Dept. of Plant Pathology.

THORDAL-CHRISTENSEN, H.; P. L. GREGERSEN; J. B. ANDERSEN & V. SMEDEGAARD-PETERSEN (1987): Induction of defense reactions in plants. J. agric. Sci. Finland 59, 321-349.

THORDAL-CHRISTENSEN, H. & V. SMEDEGAARD-PETERSEN (1988a): Comparison of resistance-inducing abilities of virulent and avirulent races of *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei* and a race of *Erysiphe graminis* f. sp. *tritici* in barley. Pl. Path. 37, 20-27.

THORDAL-CHRISTENSEN, H. & V. SMEDEGAARD-PETERSEN (1988b): Correlation between induced resistance and host fluorescence in barley inoculated with *Erysiphe graminis*. J. Phytopathol. 123, 34-46.

THORDAL-CHRISTENSEN, H.; Z. ZHANG; Y. WEI & D. B. COLLINGE (1997): Subcellular localization of H_20_2 in plants: H_20_2 accumulation in papillae and hypersensitive response during the barley-powdery mildew interaction. Plant J. 11, 1187-1194.

TOSA, Y. & J. SHISHIYAMA (1984): Defense reactions of barley cultivars to an inappropriate forma specialis of the powdery mildew fungus of gramineous plants. Can. J. Bot. 62, 2114-2117.

VAN PELT, F. N. A. M.; W. C. MENNES; I. G. A. M. HASSING & B. J. BLAAUBOER (1989): Application of high-performance liquid chromatographic analysis of scoparone and its metabolites in the study of cytochrome P450 differentiation in vitro. J. Chromatogr. B 487, 489-495.

VERMA, S.; A. VARMA; K.-H. REXER; A. HASSEL; G. KOST; A. SARBHOY; P. BISEN; B. BÜTEHORN & P. FRANKEN (1998): *Piriformospora indica*, gen. nov. sp. nov., a new root-colonizing fungus. Mycologia 90, 898-905.

VILICH-MELLER, V. & H. C. WELTZIEN (1990): Resistenzinduktion in Gerste und Hafer durch Vorinokulation mit Apathogenen - ein befallsmindernder Mechanismus in gemischten Getreidebeständen? Z. PflKrankh. PflSchutz 97, 532-543.

VON RÖPENACK, E.; A. PARR & P. SCHULZE-LEFERT (1998): Structural analyses and dynamics of soluble and cell wall-bound phenolics in a broad spectrum resistance to the powdery mildew fungus in barley. J. Biol. Chem. 273, 9013-9022.

WEBSTER, J. (1983): Pilze. Eine Einführung. Springer, Berlin, Heidelberg, New York.

WILLEMS, G. H.; N. ÇETINKAYA & E. SCHLÖSSER (1994): Induced resistance in oats, barley and wheat through pre-inoculation with incompatible ff. sp. of *Erysiphe graminis* DC.. Med. Fac. Landbouww. Univ. Gent 59, 961-969.

WILLEMS, G. H. & E. SCHLÖSSER (1995): Effect of Avenalumin on development of *Erysiphe graminis* DC. f. sp. *avenae* on oat leaves. Med. Fac. Landbouww. Univ. Gent 60, 311-316.

WOLF, G. & F. FRIC (1981): A rapid staining method for *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei* in and on whole barley leaves with a protein-specific dye. Phytopathol. 71, 596-598.

WOOLACOTT, B. & S. A. ARCHER (1984): The influence of the primary germ tube on infection of barley by *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei.* Pl. Pathol. 33, 225-231.

Erklärung

Hiermit versichere ich, daß ich die vorliegende Arbeit selbständig verfaßt und keine anderen als die angegeben Hilfsmittel verwendet habe.
Zitate und Äußerungen, die anderen Werken wort- bzw. sinngemäß entnommen wurden, sind durch Quellenangaben kenntlich gemacht.
Verwendete Abbildungen Dritter sind durch Angabe der Quellen in ihrer Herkunft belegt.

Giessen, den 09. Juli 2004

Lebenslauf

Georg H. Willems

11.03.1960	geboren in Darmstadt als Sohn von Georg O. Willems und Katharina Willems, geb. Pfeiffer
1966 - 1970	Volksschule in Nieder-Klingen
1970 - 1977	Max-Planck- Gymnasium in Groß-Umstadt
1977 - 1979	Odenwald-Gymnasium in Michelstadt Abschluß: Allgemeine Hochschulreife
1979 - 1983	Studium der Biologie und Chemie für das Lehramt an Gymnasien der Phillips-Universität Marburg
1983 - 1989	Studium der Biologie an der Philipps-Universität Marburg Abschluß: Diplom
1989 - 1990	Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Fachbereich Biologie der Philipps-Universität Marburg bei Prof. Dr. A. Henssen
1990 - 1991	Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Phytopathologie und Angewandte Zoologie der Justus-Liebig-Universität Giessen bei Prof. Dr. Dr. h. c. E. Schlösser
1991 - 1992	Anstellung als Dipl. Biol. bei der JWS-Schwalmstadt, Abt. Naturlehrgebiet, Treysa
1992 - 1995	Wissenschaftlicher Mitarbeiter und Doktorrand am Institut für Phytopathologie und Angewandte Zoologie der Justus-Liebig-Universität Giessen bei Prof. Dr. Dr. h. c. E. Schlösser
1997	Umweltberater und Agenda-21-Beauftragter der Gemeinde Ebsdorfergrund
2000 - 2002	Leiter des Umweltamtes und des Naturschutz-Informations-Zentrums (NIZA) der Stadt Amöneburg
2002	Ausbildung zum Baubiologen und Baubiologischen Messtechniker am Institut für Baubiologie und Oekologie Neubeuern
2003	Selbständiger Baubiologe und Leiter des mykologischen Laboratoriums der enius AG

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt in erster Linie Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. E. Schlösser für die freundliche Aufnahme in seine Arbeitsgruppe, für die Bereitstellung von Thema und Arbeitsmöglichkeiten, für seine unerschütterliche Geduld, für sein Vertrauen und sein großes Verständnis und für die stetige Unterstützung während des Verlaufs der Arbeit.

Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. W. Friedt danke ich ganz besonders herzlich für die freundlich gewährte Übernahme des Koreferates.

Bei Frau Prof. S. Schnell und Herrn Prof. Dr. B. Honermeier bedanke ich mich ganz herzlich für ihre Bereitschaft, als Prüfer zu fungieren. Ebenso danke ich Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. W. Opitz von Boberfeld für die Übernahme des Vorsitzes der Prüfungskommission.

Herzlichen Dank auch an Herrn Prof. Dr. G. Kost, Philipps-Universität Marburg, FB Biologie, für die freundlicherweise gewährte Arbeitsmöglichkeit am Raster-elektronenmikroskop seiner Abteilung.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danke ich für die finanzielle Unterstützung der Arbeit, welche diese erst ermöglichte.

Und schließlich danke ich allen Mitarbeitern des „alten“ Institutes für Phytopathologie und Angewandte Zoologie in der Bismarckstrasse von ganzem Herzen für die freundschaftliche Unterstützung während des Laboralltags und für die daraus resultierende angenehme, produktive Atmosphäre während dieser Zeit. Großzügig gewährte Diskussions- und Hilfsbereitschaft, Freundschaft und Kollegialität prägten diese internationale Arbeitsgruppe von Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. E. Schlösser, was mir immer in bester Erinnerung bleiben wird. Ohne Namen zu nennen, danke ich jedem einzelnen, der hierzu beigetragen hat.

Allen anderen, nicht namentlich genannten, die zum Gelingen der Arbeit beigetragen haben, sage ich an dieser Stelle ein ganz herzliches Dankeschön.

Nicht zuletzt gilt mein besonderer Dank meiner Familie: Meinen Kindern und meiner Frau, die oft auf mich Rücksicht nehmen mussten, meinen Eltern, die meine Ausbildung ermöglichten.