

Lassacher, Veronika<sup>1)</sup>; Richter, Susanne<sup>2)</sup> & Bedlan, G.<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> Universität für Bodenkultur, Institut für Obst- und Gartenbau, Wien

<sup>2)</sup> Bundesamt und Forschungszentrum für Landwirtschaft, Institut für Pflanzenschutzmittelprüfung,  
Wien

<sup>3)</sup> Bundesamt und Forschungszentrum für Landwirtschaft, Institut für Phytomedizin, Wien

## Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen zum Wirt-Pathogen-System

### *Daucus carota* / *Thielaviopsis basicola*

#### Scanning electron microscopical investigations on the Host-Pathogen-Complex

#### *Daucus carota* / *Thielaviopsis basicola*

### Einleitung

*Thielaviopsis basicola* (BERKELY & BROOME 1850) FERRARIS 1910 (synonymorph: *Chalara elegans* NAG RAJ & KENDRICK 1975) ist ein weltweit verbreitetes Bodenpathogen, das an Haupt- und Seitenwurzeln sehr vieler Pflanzen schwarze Wurzelfäule („black root rot“) verursacht. Zu ihrem Wirtspflanzenkreis (YARWOOD & LEVKINA 1976) zählen sowohl Kulturpflanzen (z.B. *Fabaceae*, *Solanaceae*, *Apiaceae*, *Chenopodiaceae*, *Malvaceae*) als auch Wildpflanzen (z.B. *Hydrophyllaceae*). Krankheitssymptome (grauschwarze bis schwarze Läsionen im Wurzelbereich), verursacht durch *Thielaviopsis basicola*, erscheinen an *Daucus carota* (Karotte) nicht am Feld, sondern erst im Lager nach dem maschinellen Waschvorgang und der Abpackung in Polyethylensäcken (eigene Beobachtungen, PUNJA & GAYE 1993). Die Vermutung liegt nahe, daß die Infektion durch den Pilz über Verletzungen der äußersten Wurzelschicht, die im Zuge des Waschens und Sortieren entstehen, erfolgt. Untersuchungen über die Infektion, Kolonisation und Entwicklung (TSAO & TSAO 1970, MAUK & HINE 1988, PUNJA 1993, PUNJA ET AL. 1992, BEDLAN 1995) lieferten zwar wertvolle Hinweise auf die Biologie des Pilzes; der Infektionshergang und der Entwicklungskreislauf konnte jedoch weder bei Karotte noch bei einer anderen Kulturpflanze vollständig geklärt werden.

### Material und Methode

Zur Analyse des Wirt-Pathogen Komplexes *Daucus carota*/*Thielaviopsis basicola* wurden Karotten (Sorte „Neal“) aus dem Freiland (Vorkultur: Rasen, NÖ) entnommen. Nach vorsichtigem Waschen aller Karotten (n= 28) mit Phosphatpuffer (pH 7.2) wurden die Wurzeln der Länge nach geteilt, mit der Schnittfläche nach unten in eine feuchte Kammer gelegt und anschließend mit 1ml Inokulum (aus NÖ isolierte Kulturen auf PDA-Agar), in einer Konzentration von 10<sup>6</sup> Endokonidien pro ml, besprüht. Bei 50% der Karotten wurde, um den Einfluß von Läsionen der Wurzeloberfläche auf den Penetrationsprozeß des Pilzes zu untersuchen, das Phelloderm und das darunterliegende Phellogen vor der Inkubation mit Hilfe einer Rasierklinge verletzt. Die Inkubationsdauer in der feuchten Kammer (20°C, Tageslicht) betrug zwischen 8h und 108h. Während dieses Zeitraumes wurde in regelmäßigen Intervallen (8h, 12h, 24h, 36h, 72h, 96h, 108h) Karotten für die rasterelek-

tronenmikroskopischen Untersuchungen entnommen. Die Präparate, 0,5cm<sup>2</sup> große Wurzeloberflächenstückchen (pro Karotte 5 Stk), wurden in Karnovsky (pH 7.2, 0,1M Cacodylatpuffer) präfixiert. Nach darauffolgender OTO-Behandlung und Dehydratation in einer aufsteigenden Ethanolserie wurden die Proben in CO<sub>2</sub> CP-getrocknet und anschließend, nach dem Aufbringen auf Aluminiumtischchen mit Gold besputtert. Die Auswertung der Präparate erfolgte einem REM (PHILIPS XL-20) nach stereologischen Methoden (WEIBEL 1979).

### Resultate und Diskussion

*Entwicklung:* *Thielaviopsis basicola* bildet einzellige, schmale zylindrische Endokoniden (= Phialosporen, Mikrokonidien) unterschiedlicher Länge in Endokonidiophoren (= Phialiden) und einzellige, rundlichere Chlamydosporen (= Aleuriosporen) in Ketten von 2-8 Sporen aus. Die Endokonidien werden nacheinander an der Spitze des bis zu 150 µm langen, nach oben sich verjüngenden Konidiophores einzeln oder in Ketten freigesetzt. Die Zellwand der Chlamydosporen ist verdickt und mehrwandig. Sie werden passiv frei durch Zersetzen der Sporenkette Die Keimung der Chlamydosporen kann nach dem Aufbrechen der Sporenkettenhülle sowohl im Sporenverband als auch getrennt davon erfolgen. Der Keimschlauch tritt stets, wie bereits von TSAO & TSAO (1969) beschrieben, am Operculum aus. Der Keimschlauch der dünnwandigen Endokoniden hingegen bildet sich an keiner spezifischen Stelle. Die vom Keimschlauch gebildeten Infektionshyphen besitzen entgegen den Untersuchungen von PUNJA ET AL. (1992) in der Regel keine Hyphopodien. Dennoch konnten mehrmals appressoriumartige Verdickungen festgestellt werden.

*Infektionsversuch:* Die ersten keimenden Endokoniden konnten bereits 8h nach dem Aufbringen auf die Wirtspflanzen gefunden werden. Dieses Ergebnis stimmt mit den Befunden von MAUK & HINE (1988) bei Baumwolle (*Gossypium sp.*) überein. Unbehandelte Karottenwurzeln wiesen wie die Verletzten eine große Anzahl an gekeimten und in die Korkschicht penetrierten Endokoniden auf. Bei ersteren stieg die Keimungs- und Penetrationsrate bis 72h nach der Inokulation an und nahm sodann kontinuierlich ab. Die Penetration der Infektionshyphen ins Wirtsgewebe erfolgte an offenen Stellen wo antiklinale Zellwände der Phellogen der Phellogen der Phellogen der Phellogen aneinanderstoßen. Bei den künstlich verwundeten Karotten hingegen kam es bereits nach einem kurzen Anstieg (36h) zu einem Abfall; ab 72h fanden sich nur mehr wenige keimende und penetrierende Endokonidien. Im letzteren Fall wird das Eindringen der Infektionshyphen in die lebenden Wirtszellen des Phellogens durch die Verwundung erleichtert. Keimende und penetrierende Endokonidien finden sich daher selten zu einem späteren Zeitpunkt auf der Wurzeloberfläche, wohl aber Hyphen. Das Hyphenwachstum bei verwundeten Karotten war ausgeprägter. Bei beiden Versuchsansätzen nahm das Mycelwachstum mit der Zeit zu, ein Anstieg erfolgte nach 24h. Das Auftreten von Phialiden konnte bei unbehandelten Karotten nach 96h, bei behandelten bereits nach 72h beobachtet werden. Die Anzahl der Phialiden nach 108h Inkubationsdauer unterschied sich in beiden Versuchsvarianten signifikant (verletzt:unverletzt = 85:1). Erste neu gebildete Endokonidien treten in großer Zahl in verletzten Karotten bereits nach 72h auf; in unverletzten Karotten sind hingegen weit weniger -

erst nach 96h - zu finden. Analog zu den Phialiden nimmt ihre Zahl mit zunehmender Inkubationszeit bei beiden Varianten zu. Obwohl die Karotten von Feldern mit unspezifischer Vorkultur (Rasen) stammten, waren einzelne Chlamydosporen auf allen Präparaten vorhanden. Chlamydosporenketten waren auf unverletzten Proben vereinzelt nach 108h anzutreffen; bei verletzten Wurzeln konnten erste Chlamydosporenketten nach 72h, in großer Anzahl bereits nach 96h beobachtet werden. In dem von uns beobachteten Inkubationszeitraum keimten weder alte noch neu gebildete Chlamydosporen.

#### Zusammenfassung:

- Die ersten keimenden Endokoniden konnten bereits 8h nach dem Aufbringen auf die Wirtspflanzen gefunden werden.
- Die Penetration der Infektionshyphen ins Wirtsgewebe unverletzter Karotten erfolgte an offenen Stellen wo antiklinale Zellwände der Phellodermischiecht aneinanderstoßen.
- Das Eindringen der Infektionshyphen in die lebenden Wirtszellen des Phellogens wird bei verletzten Karotten durch die Verwundung erleichtert.
- Infektionshyphen von *Thielaviopsis basicola* an Karotten besitzen in der Regel keine Hypnopodien.
- Das Hyphenwachstum bei verwundeten Karotten war ausgeprägter.
- Phialiden und Chlamydosporenketten bilden sich, bedingt durch den Entwicklungsvorsprung, an verletzten Karotten früher.

#### Literatur:

- Bedlan, G. 1995. Pflanzenschutzberichte 55(2):129-136.
- Mauk, P.A., Hine, R.B. 1967. Phytopathology 78:1662-1667.
- Tsao, P.W., Tsao, P.H. 1970. Phytopathology 60:613-616.
- Punja, Z.K. 1993. Can. J. Bot. 71:447-456.
- Punja, Z.K., Chittaranjan, S., Gaye, M.M. 1992. Can J, Plant Pathol. 14:299-309.
- Punja, Z.K., Gaye, M.M. 1993. Plant Dis. 77:989-995.
- Weibel E.R. 1979. Stereological methods. Vol. 1, Academic Press, London, San Diego
- Yarwood, C.E., Levkina, L.M. 1976. Plant Dis. Repr. 60:347-349.