Zeitschrift: Botanica Helvetica

Herausgeber: Schweizerische Botanische Gesellschaft

Band: 96 (1986)

Heft: 1

Artikel: Histologie des Blattes und des Blattbefalls durch Phytophthora palmivora bei Piper nigrum (Schwarzer Pfeffer)

Autor: Feuerstein, P. / Hohl, H.R.

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-67195

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 22.08.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

Botanica Helvetica 96/1, 1986

0253-1453/86/010095-14 $ 1.50+0.20/0
© 1986 Birkhäuser Verlag, Basel

Histologie des Blattes und des Blattbefalls durch *Phytophthora palmivora* bei *Piper nigrum* (Schwarzer Pfeffer)

P. Feuerstein und H. R. Hohl

Institut für Pflanzenbiologie der Universität, Zollikerstr. 107, CH-8008 Zürich, Schweiz/Switzerland

Manuskript angenommen am 24. März 1986

Abstract

Feuerstein P. and Hohl H. R. 1986. Histology of leaf and of leaf infection of *Piper nigrum* (black pepper) by *Phytophthora palmivora.* Bot. Helv. 96: 95–108.

Germinated cysts of *Phytophthora palmivora* invade the leaf of susceptible black pepper following formation of an oblong appressorium by (a) penetrating the cuticle and growing subcuticularly before entering a host cell, (b) penetrating anticlinal epidermal walls and attacking hypodermal or mesophyll cells, (c) directly invading epidermal cells through the cuticle. Alternatively, the pathogen grows into the furrow between trichomes and epidermal surface and then penetrates an epidermal cell without prior formation of a morphologically distinct appressorium. In the epidermal cells the fungal hypha often enlarges and almost fills the entire cell. Further spread of the pathogen occurs primarily through the intercellular spaces. Haustoria form which are surrounded by an extrahaustorial matrix and not infrequently by wall appositions in form of collars or papillae. In the mesophyll the wall appositions are built from heterogeneous, vesiculate material unlike the more compact and electron transparent forms encountered in the epidermal or hypodermal cells. In advanced stages of infection hyphae (transcellular hyphae) frequently traverse host cells and branch freely.

Einführung

Zu den wirtschaftlich bedeutsamen Pilzerkrankungen des Schwarzen Pfeffers (*Piper nigrum* L.) gehört der Befall durch den Oomyceten *Phytophthora palmivora* (Butl.) Butler, dem Erreger der Fuß- oder Wurzelfäule (Muller 1936, Holliday and Mowat 1963, Nambiar and Sarma 1977). Zusätzlich zum Wurzelbefall oder auch unabhängig davon tritt eine Infektion der Blätter auf (Holliday and Mowat 1963, Turner 1969). Letztere beginnt in der Regel an der Blattspitze, wo sich das Regenwasser sammelt. Nach etwa 24 h bilden sich Läsionen, die je nach Umweltbedingungen verschieden ausgestaltet sind und sich unterschiedlich entwickeln. Unter feuchten Bedingungen und erhöhten Temperaturen entstehen braune Läsionen mit gefransten Rändern, welche sich rasch ausbreiten. Dabei fallen die infizierten Blätter frühzeitig von der Pflanze ab, noch be-

vor die gesamte Blattfläche nekrotisiert hat (Holliday and Mowat 1963, Turner 1969). Herrschen trockenere Verhältnisse vor, so vergrößert sich die Läsion nicht weiter und wird durch eine dunkle Grenzzone vom gesunden Gewebe abgegrenzt (Holliday and Mowat 1963). Bei mehrmaligem Wechsel von Trocken- und Feuchtperioden entstehen konzentrisch zonierte Läsionen (Turner 1969). Die Sporulation findet bevorzugt auf der Blattunterseite statt (Tarjot 1974, Turner 1969).

Abgesehen von Turners (1969) lichtmikroskopischer Beschreibung der Sporulation liegen kaum Angaben zur Zytologie der Blattstruktur und zum Infektionsgeschehen vor. Mit der vorliegenden Arbeit soll diese Lücke geschlossen und gleichzeitig auch ein Einblick in die feinstrukturellen Abläufe des Infektionsvorganges gewonnen werden. Ein weiteres Ziel besteht in der Abklärung der Frage, wieweit sich das Infektionsgeschehen beim Schwarzen Pfeffer mit dem der Krautfäule der Kartoffel (z. B. Hohl und Suter 1976, Coffey and Wilson 1983) und anderen Phytophthoraerkrankungen (z. B. Jones et al. 1975, Stössel et al. 1980a, Mourichon et Sallé 1981) vergleichen lassen.

Material und Methoden

Organismen und Inokulation

Die Wirtspflanze, *Piper nigrum* L., wurde uns vom Botanischen Garten Zürich zur Verfügung gestellt. Die Anzucht erfolgte mit Stecklingen im Gewächshaus bei einer durchschnittlichen Temperatur von 27 °C und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 90%.

Phytophthora palmivora (Butl.) Butl. diente als Parasit. Verwendet wurden die Isolate P113 (morphologische Form MF1, von Papaya isoliert) und P272 (morphologische Form MF4, von Kakao). Eigentlicher Erreger beim Schwarzen Pfeffer ist die MF4, wobei z. Z. noch unklar ist, ob diese Form *P. palmivora* oder *P. capsici* zuzuordnen ist (vgl. Tsao and Tummakate 1977, Alizadeh and Tsao 1985). Der Pilz wurde auf Bohnenmehlagar (30 g Bohenmehl und 20 g Agar pro Liter Wasser) im Dunkeln bei 25 °C gezogen.

5 Tage alte Kulturen wurden für 2 Tage ans Licht gestellt, um die Sporangienbildung zu induzieren. Danach wurden die Kulturen mit sterilem Wasser überschichtet und zur Zoosporeninduktion während 30 min im Kühlschrank belassen. Durch Gazefiltration wurde die Zoosporensuspension gewonnen.

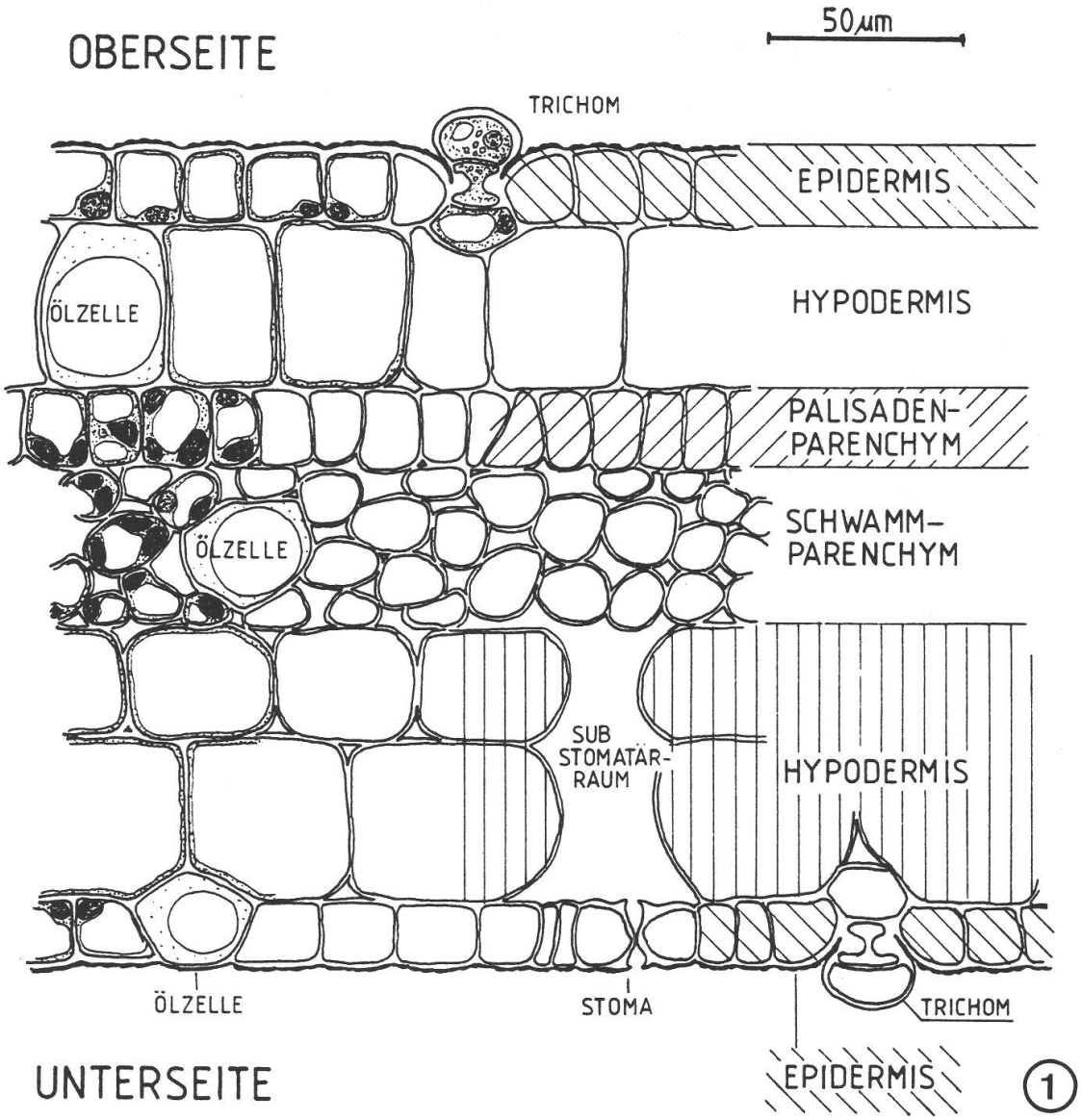
Frisch abgeschnittene Blätter verschiedenen Alters wurden während einer Minute in Natriumhypochlorit (4%) oberflächensterilisiert, danach viermal während einer Minute in dest. Wasser gewaschen und in sterile, mit feuchtem Filterpapier ausgelegte Petrischalen überführt.

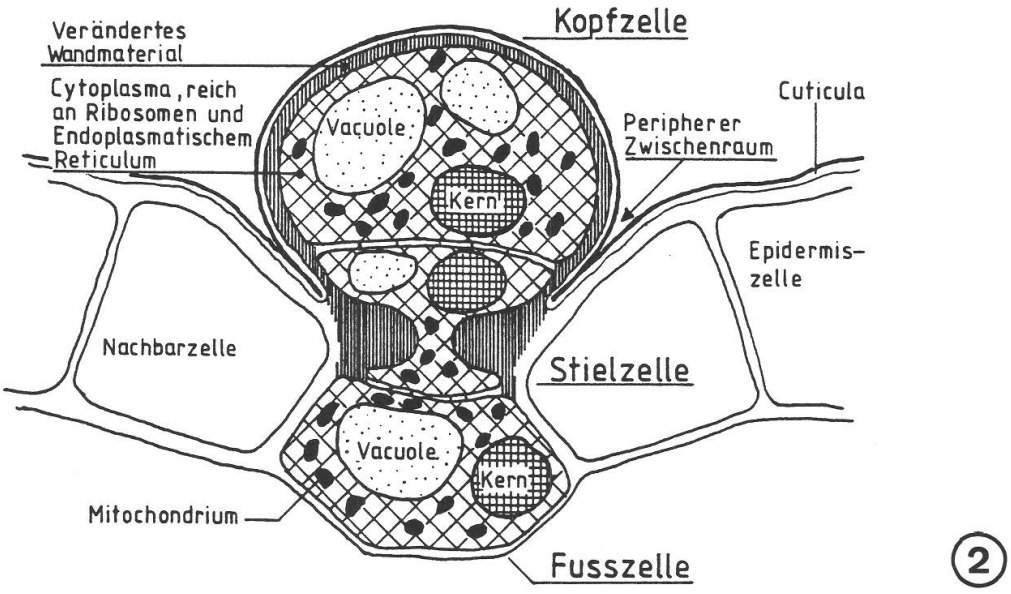
Zur Inokulation diente eine Zoosporensuspension von 5×10^4 Zoosporen/ml; die Tropfengröße wurde so bemessen, daß sich eine durchschnittliche Inokulumsdichte von rund 50 Zoosporen pro mm^2 Blattfläche ergab.

Die inokulierten Blätter wurden bei 25 °C im Dunkeln inkubiert. Zur Untersuchung der Sporulation wurde das Material nach 24 h ans Licht gebracht und weitere 24 h bei Zimmertemperatur inkubiert.

Abb. 1. Schema des Blattquerschnitts von *Piper nigrum*. Beide Epidermen besitzen Trichome, während Stomata auf die Blattunterseite beschränkt sind. Der oberen und unteren Epidermis folgt je eine ein- bis zweischichtige, großzellige Hypodermis, die mächtige substomatäre Räume begrenzt. Im Zentrum liegt das kleinzellige, aus Palisaden- und Schwammparenchym aufgebaute Mesophyll. Ölzellen finden sich im Mesophyll und der Hypodermis.

Abb. 2. Aufbau eines Trichoms. Nur der Kopfteil des in die Epidermis eingesenkten Trichoms ragt über die Blattoberfläche hervor. Die plasmareichen Kopf-, Stiel- und Fußzellen sind durch dünne Querwände gegeneinander abgetrennt, die jedoch von zahlreichen Poren (Plasmodesmen) durchzogen sind. Auffallend ist die wulstförmige Wandverdickung der Stielzelle.


50µm
OBERSEITE
TRICHOM
EPIDERMIS
ÖLZELLE
HYPODERMIS
PALISADEN-
PARENCHYM
SCHWAMM-
PARENCHYM
ÖLZELLE
SUB
STOMATÄR-
RAUM
HYPODERMIS
ÖLZELLE
STOMA
TRICHOM
UNTERSEITE
EPIDERMIS
1


Kopfzelle
Verändertes
Wandmaterial
Cytoplasma, reich
an Ribosomen und
Endoplasmatischem
Reticulum
Vacuole
Kern
Cuticula
Peripherer
Zwischenraum
Epidermis-
zelle
Nachbarzelle
Stielzelle
Vacuole
Kern
Mitochondrium
Fusszelle
2

Präparationsmethoden

Die „staining and clearing"-Technik wurde nach Shipton and Brown (1962) in leicht veränderter Fassung angewandt: Quadratische Gewebestücke von ca. 3 mm Kantenlänge wurden während 72 h in einer Färbelösung folgender Zusammensetzung inkubiert: 10 g Phenol, 10 ml Glyzerin, 10 ml Milchsäure, 10 ml dest. Wasser, Anilinblau 0,2% (w : v). Anschließend wurde das Material in Chloralhydrat (Trichloracetaldehyd, 2,5 g/ml dest. Wasser) während 7 Tagen entfärbt und in 80% Glyzerin eingebettet. Zur lichtmikroskopischen Untersuchung wurden die Objekte auf Objektträgern in Glyzerin eingebettet.

Mit Rasierklingen hergestellte Handschnitte wurden ca. 1 h in AFE (90 ml Äthanol 70%, 5 ml Eisessig, 5 ml 40prozentiger Formaldehyd) fixiert und sofort untersucht.

Für die Herstellung von Semi- und Ultradünnschnitten wurden kleine Gewebestücke von etwa 1 mm Kantenlänge in folgender Lösung fixiert: Glutaraldehyd (Endkonzentration 1,25% v : v) und Acrolein (Endkonzentration 1,5% v : v) in 0,1 M Cacodylatpuffer von pH 6,4. Zuerst wurden die Gewebestücke unter Vakuum infiltriert und anschließend bei 4 °C während 2,5 h fixiert. Nach 3 × 10 minütigem Waschen in Cacodylatpuffer wurden die vorfixierten Präparate in Osmiumtetroxid (2% w : v) überführt und während 12 h im Kühlschrank nachfixiert. Nach erneutem Waschen von 3 × 10 Minuten wurden die Gewebestücke in einer aufsteigenden Acetonreihe entwässert und stufenweise mit Epoxiharz infiltriert (Spurr 1969). Die Einbettung erfolgte in Epoxiharz in Silikongummiformen, polymerisiert wurde bei 70 °C während ca. 24 h.

Semidünn- und Ultradünnschnitte wurden an einem Reichert OmU3 Mikrotom hergestellt. Die ersteren wurden für 1 min in einem Tropfen Toluidinblau nach Trump et al. (1961) gefärbt. Letztere wurden mit Uranylacetat (1% w : v) und Bleicitrat nachkontrastiert.

Für die rasterelektronenmikroskopische Präparation wurden quadratische Gewebestücke von etwa 4 mm Kantenlänge nach der oben beschriebenen Glutaraldehyd/Osmiumtetroxid-Methode fixiert. Die Entwässerung erfolgte in einer aufsteigenden Acetonreihe. Blattquerschnitte wurden auf der 70%-Stufe hergestellt. Nach der Entwässerung erfolgte die Kritisch-Punkt-Trocknung, anschließend die Besputterung mit Gold-Palladium in einer Anlage der Firma Balzers.

Zur Beobachtung der Präparate wurden folgende Mikroskope benutzt: Lupengerät „Tessovar" und „Photomikroskop II" der Firma Zeiss, BRD, Transmissionselektronenmikroskop (TEM) „HU-11E" der Firma Hitachi, Japan, sowie Rasterelektronenmikroskop (REM) „Stereoscan S4" der Firma Cambridge, England.

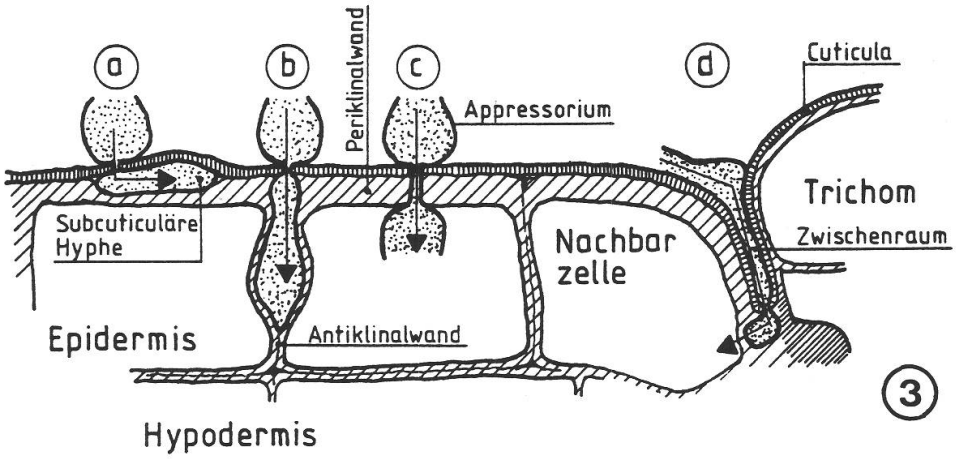
Resultate

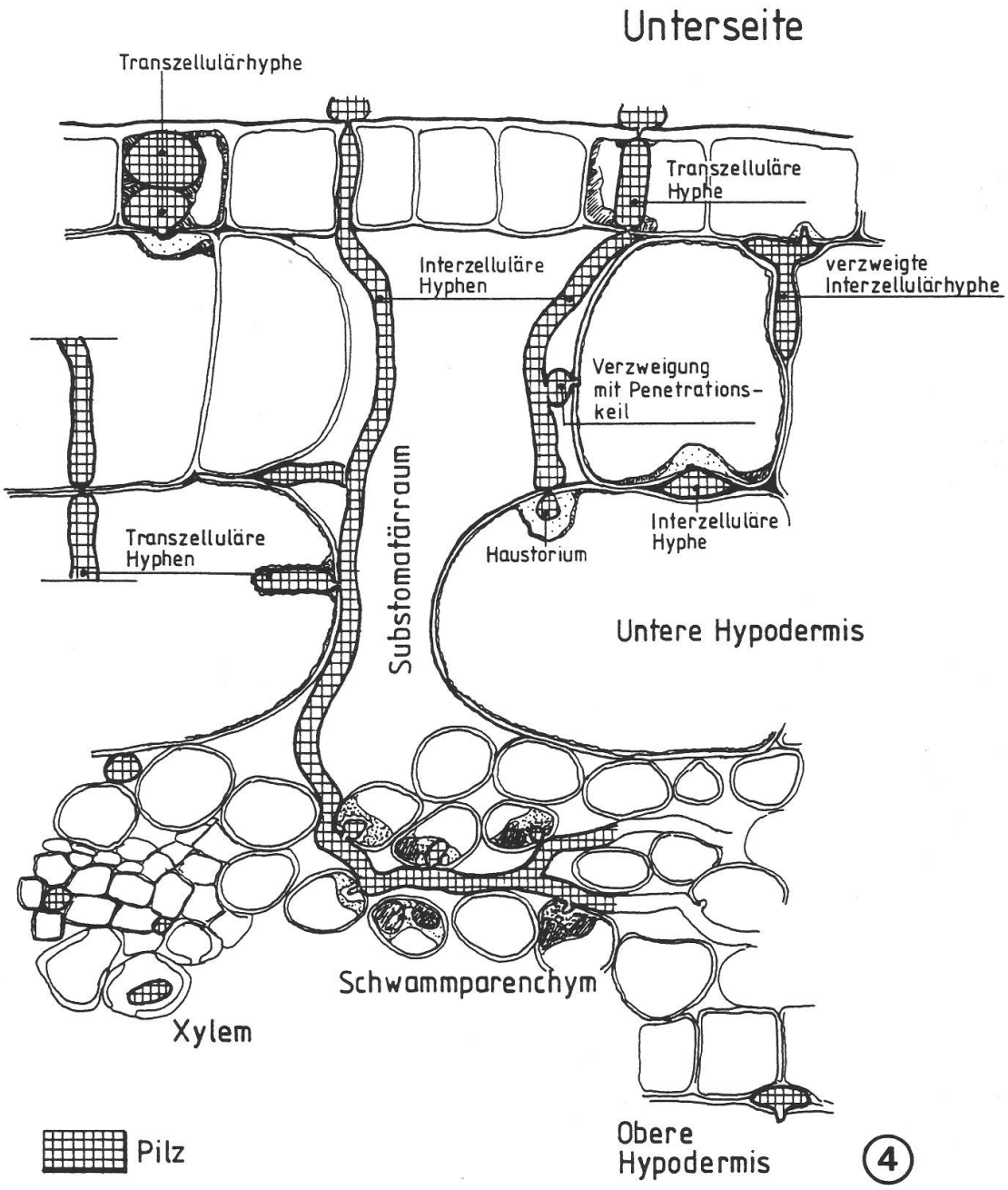
Blatthistologie

Eine Zusammenfassung der Blattstrukturen ist in Abb. 1 wiedergegeben. Bemerkenswert am Aufbau des bifazialen Blattes sind die dreizelligen, in die Epidermis eingesenkten (Abb. 9) Trichome der Blattober- und -unterseite, die großzellige Hypodermis mit Ölzellen, sowie das schwach ausgebildete Schwamm- und Palisadenparenchym. Der detaillierte Aufbau eines Trichoms ist in den Abb. 2, 5 und 6 dargestellt. Die Basis der Stielzelle zeigt eine charakteristische, ringförmige Wandverdickung. Die Cuticula der Epidermiszelle, der Ringwulst und die Seitenwand der Stielzelle erscheinen im

Abb. 3. Arten der Penetration des Erregers. Nach dem Durchstoßen der Cuticula wächst die Infektionshyphe (a) subcuticulär, (b) durch eine Antiklinalwand, oder (c) direkt in eine Epidermiszelle. Beim häufig beobachteten Eindringen über die Trichomspalte (d) bildet sich kein morphologisch erkennbares Appressorium aus. Durchwachsen einer Spaltöffnung wurde nicht beobachtet.

Abb. 4. Ausbreitung des Parasiten im anfälligen Blattgewebe. Der Verlauf der Hyphen ist schematisch auf Grund der mikroskopischen Untersuchung dargestellt.


a
b
c
d
Periklinalwand
Appressorium
Cuticula
Trichom
Zwischenraum
Subcuticuläre Hyphe
Nachbar zelle
Epidermis
Antiklinalwand
Hypodermis
3


Unterseite
Transzellulärhyphe
Transzelluläre Hyphe
Interzelluläre Hyphen
verzweigte Interzellulärhyphe
Verzweigung mit Penetrations-keil
Substomatärraum
Transzelluläre Hyphen
Haustorium
Interzelluläre Hyphe
Untere Hypodermis
Schwammparenchym
Xylem
Pilz
Obere Hypodermis
4

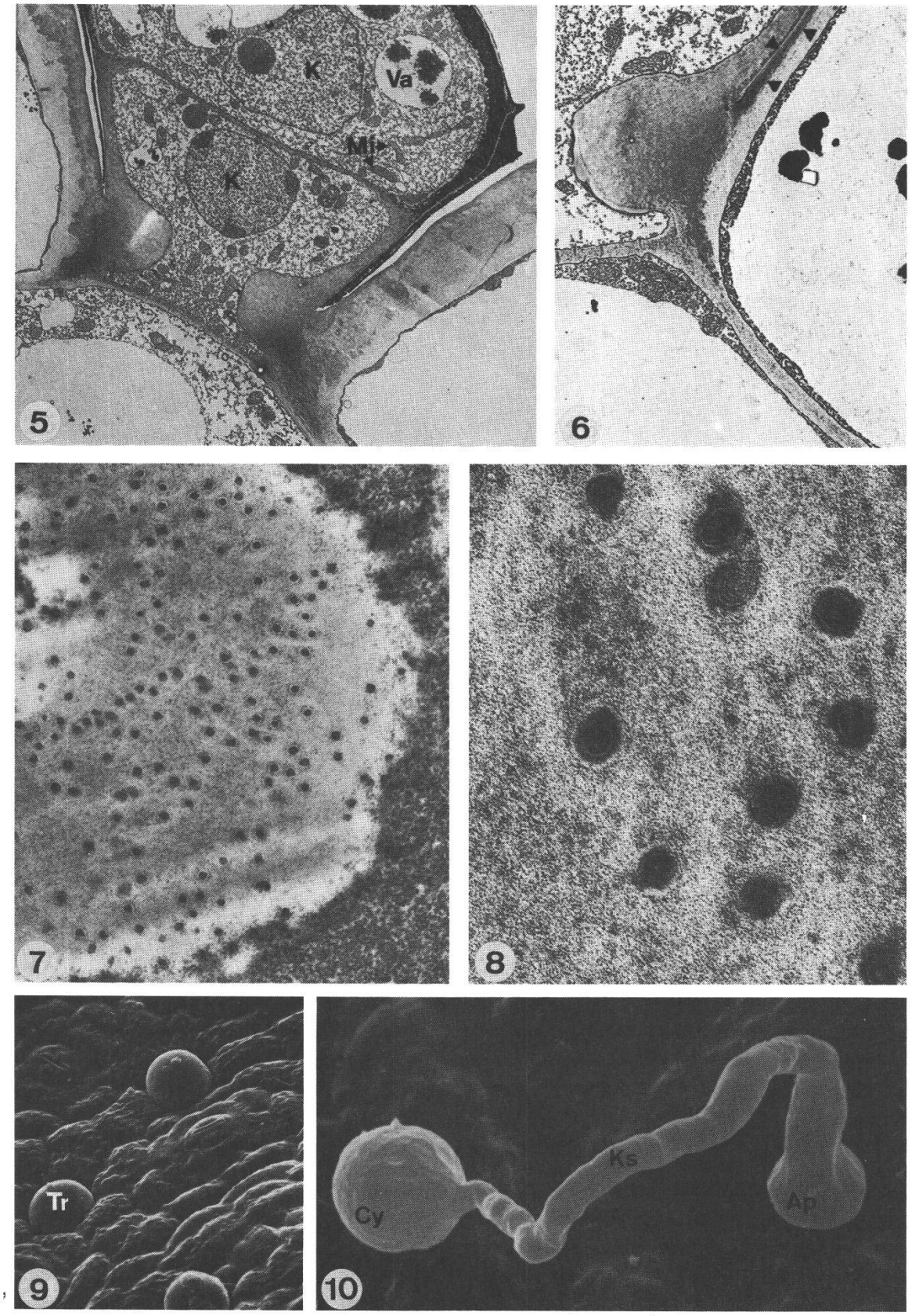


Abb. 5. Längsschnitt durch ein Trichom, das in Kopf-, Stiel- und Fußzelle gegliedert ist. Bemerkenswert ist das sehr reichlich vorhandene Cytoplasma und die ringförmige Wandverdickung an der Basis der Stielzelle, beim Übergang von Trichom- zu Epidermiswand. Cutinschicht, Ringverdickung und Seitenwand der Stielzelle erscheinen gleichartig; die Wand der Kopfzelle dagegen ist stark osmiophil. K Kern, Mi Mitochondrium, Va Vakuole. TEM-Aufnahme, ×2300.

TEM sehr ähnlich, was sich auch in der Fluoreszenz nach Anilinblaufärbung äußert. Die Außenwand der Kopfzelle ist dagegen stark osmiophil und fluoresziert nicht. Die Querwände sind von zahlreichen, über die gesamte Fläche verteilten Plasmodesmen durchsetzt (Abb. 7 und 8).

Makroskopische Symptomausbildung

Bei jungen Blättern zeigen sich nach 24 h unterschiedlich große, braune Flecken, die von wäßrigen Höfen umgeben sind. Nach 48 h verschmelzen die Flecken zu großen Läsionen, und Oberflächenhyphen sind zu erkennen. Nach 72 h ist die gesamte Blattfläche nekrotisch, und das Auftreten von Sporangien zeigt an, daß der asexuelle Zyklus auf dem Blatt bereits abgeschlossen ist.

Bei ausgereiften Blättern bilden sich nach 48 h die ersten braunen Flecken, bei denen ein wäßriger Hof jedoch fehlt. Nach 72 h sind einige Flecken miteinander verschmolzen und bilden größere, braune Läsionen, die sich nach 96 h nur gering verändert und sich selbst nach 120 h kaum weiter ausgebreitet haben.

Bei höheren Inokulumskonzentrationen bilden sich inhomogen braungefärbte Läsionen mit einer scharfen Begrenzung, eine wäßrige Grenzzone fehlt. Alte Blätter sind weitgehend resistent.

Histologie der Blattinfektion

Die auf der Blattoberfläche gekeimten Cysten bilden 5–800 µm lange, meist unverzweigte Keimschläuche. Verzweigungen treten gelegentlich im oberen Teil des peripheren Zwischenraums um die Trichome auf. An der Spitze des Keimschlauches bildet sich ein länglich blasenförmiges Appressorium (Abb. 3, 10, 11, 12). An seinem unteren Teil haftet oft bandförmig granuläres Material (Abb. 12), welches auch auf der Epidermis um die Penetrationsstelle auftritt. Dabei handelt es sich wohl um vom Pilz ausgeschiedenes Haftmaterial. Zwischen Appressorium und Cuticulaoberfläche findet sich zudem eine unterschiedlich dicke, faserige „Adhäsions"-Matrix.

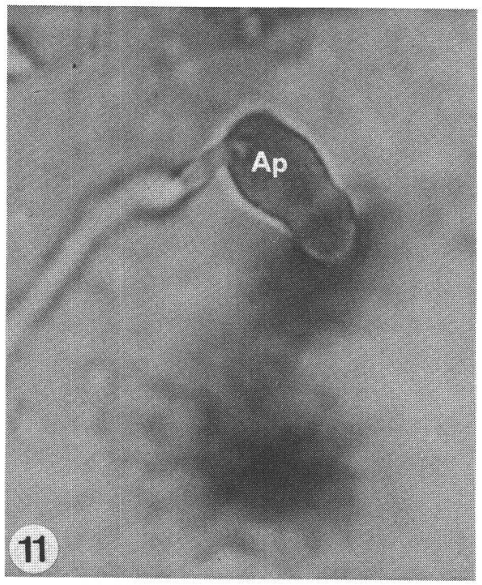
Die Penetration erfolgt in der Regel durch die Cuticula. Es bildet sich eine subcuticuläre Hyphe aus, oder der Pilz dringt rasch durch die Periklinal- oder auch die Antiklinalwand in die Epidermiszellen ein (Abb. 3). Dazu bildet das Appressorium einen dünnen Infektionskeil, der die Cuticula mittels einer feinen, zylinderförmigen Pore durchdringt. Die Cuticula wird während des Penetrationsvorganges mechanisch auseinandergedrückt. Bildet sich nach dem Durchdringen eine subcuticuläre Hyphe (Abb. 3a) oder eine Infektionshyphe, die durch die Antiklinalwand dringt (Abb. 3b), so nimmt der Durchmesser der Hyphe stark zu. Wird hingegen die Periklinalwand pe-

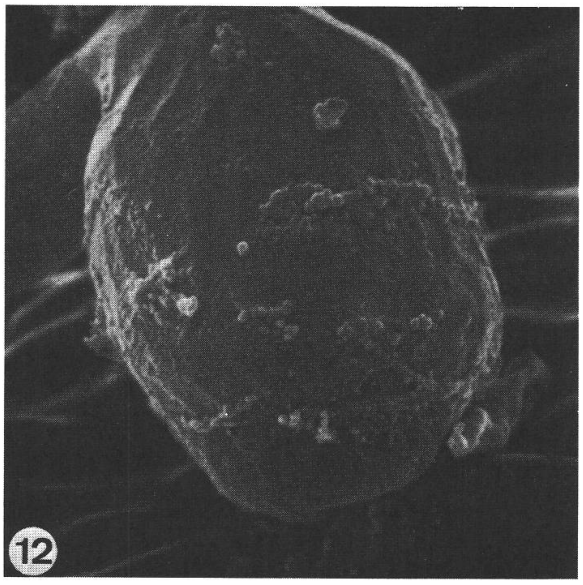
Abb. 6. Vergrößerte Darstellung des Wandrings der Stielzelle. Die unterschiedlich elektronendichten Wandschichten sowie der Verlauf der Cuticula (Pfeilspitzen) sind gut erkennbar. TEM-Aufnahme, ×4600.

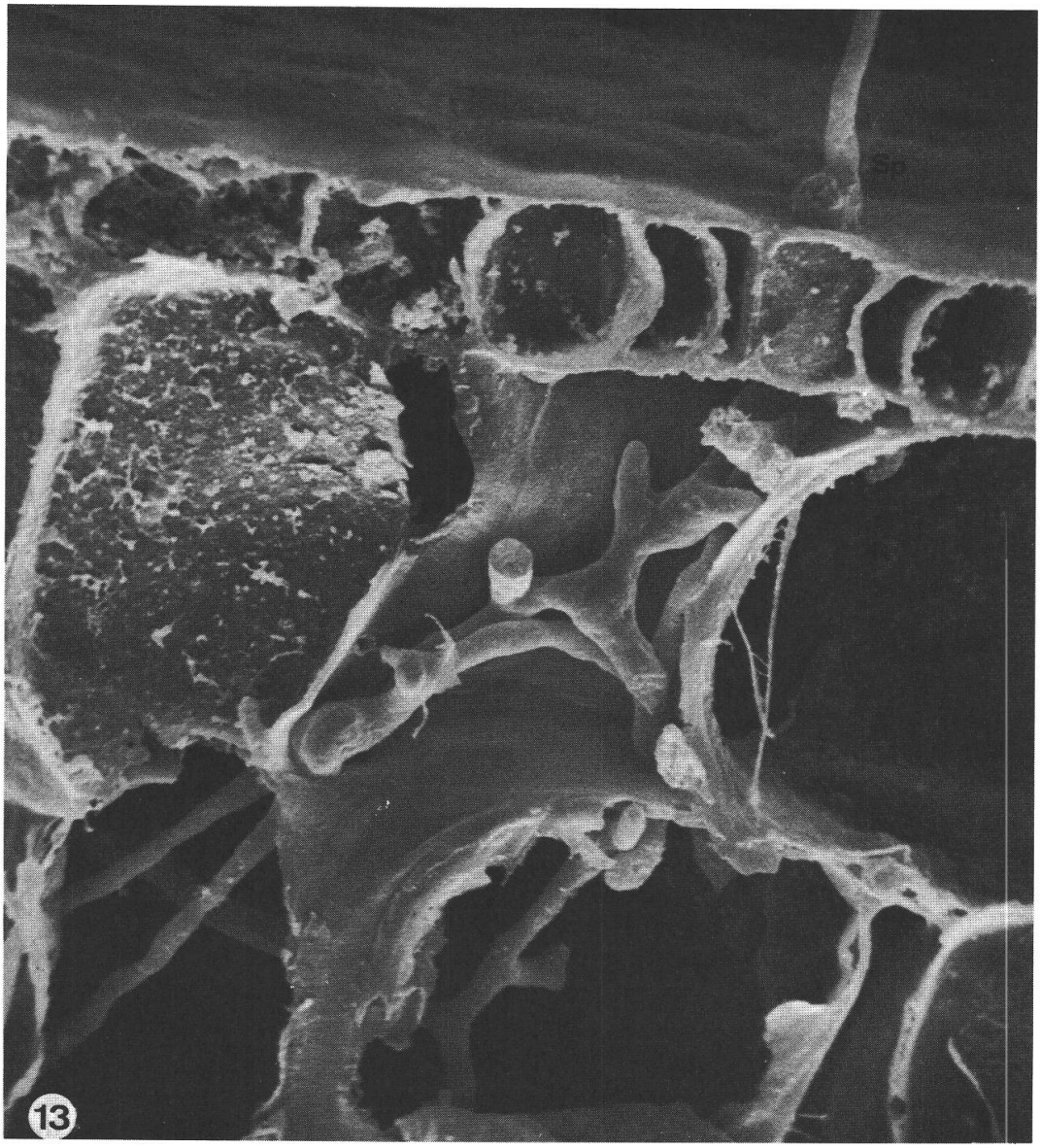
Abb. 7 und 8. Aufsicht der Querwand zwischen Stiel- und Kopfzelle. Zahlreiche Perforationen (Plasmodesmen) sind zu erkennen. TEM-Aufnahmen, Abb. 7 ×24 000, Abb. 8 ×90 000.

Abb. 9. Nur die Kopfzellen der Trichome (Tr) ragen über die Epidermis hinaus. REM-Aufnahme U. Jauch, ×410.

Abb. 10. Cyste (Cy) mit Keimschlauch (Ks) und Appressorium (Ap). Der Keimschlauch verdickt sich beim Übergang zum Appressorium. REM-Aufnahme U. Jauch, ×2200.


Ap
11


12


Sp
13

netriert, bleibt die Infektionshyphe etwa gleich dünn wie beim Durchtritt durch die Cuticula. Die Infektionshyphe ist von Cytoplasma angefüllt, während die Appressorien sich weitgehend entleert haben.

Dringt der Keimschlauch in den peripheren Zwischenraum der Trichome, werden keine Appressorien gebildet (Abb. 3c). Dagegen können am oberen Teil die eindringenden Hyphen anschwellen. Die Cuticula wird in der Achsel des Zwischenraumes mit einem Penetrationskeil durchdrungen, danach nimmt der Hyphendurchmesser stark zu. Die Infektionshyphe penetriert anschließend die Nachbarzelle oder dringt in den Interzellularraum ein. Im ersten Fall wird die Wand der Wirtszelle am Penetrationsort dünner und ändert ihre Textur. Zudem umgibt fibrilläres, elektronendichtes Material die eindringende Hyphe. Kopf- und Stielzellen der Trichome werden nicht befallen.

Transzelluläre Hyphen (=Hyphen, welche in eine Zelle eindringen, sie durchqueren und wieder verlassen) treten in den Zellen der Epidermis, der Hypodermis und des Xylems auf (Fig. 4). In der Epidermis können sie verschieden ausgebildet sein. Neben geradlinig durch die Zellen verlaufenden Hyphen von normalem Durchmesser finden sich sehr weitlumige, welche das Zellinnere gewunden durchwachsen und es dabei fast vollständig ausfüllen. Verzweigte transzelluläre Hyphen sind in den Hypodermiszellen im sporulierenden Teil der Läsion häufig anzutreffen.

Die Interzellularhyphen wachsen in den Mittellamellen zwischen den Zellen der verschiedenen Gewebe sowie im Luftkammersystem des gesamten Blattes (Abb. 4, 13). Sie können verzweigt sein. Wo sie angrenzende Zellen befallen, bilden sie zuerst ein Kittmaterial aus, mit dem die Hyphe offenbar eng mit der Wirtszellwand verbunden wird. Ein Penetrationskeil bildet sich aus, welcher die Zellwand durchdringt. Anschließend formt sich ein Haustorium oder eine transzelluläre Hyphe, welch letztere die Zelle durchquert und wieder verläßt (Abb. 4). Um die eindringende Hyphe bildet sich regelmäßig eine elektronendichte extrahaustoriale Matrix (eMx, Abb. 15 & 17). Häufig bilden sich auch Wandappositionen, welche die Appressorien in Form eines Kragens oder einer Papille umschließen (Abb. 14, 15, 17).

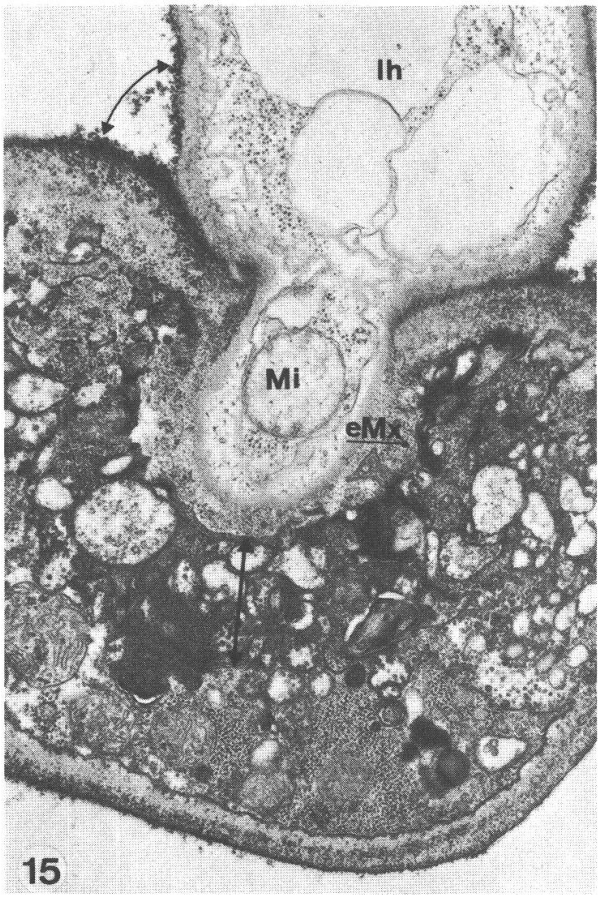
Die Haustorien sind neben der eMx oft auch von elektronentransparentem Material umgeben, das als Wandapposition bezeichnet wird (Bracker and Littlefield 1973). Dieses Material umschließt das Haustorium partiell in Form eines Kragens (Abb. 17) oder komplett als papillenförmige Kapsel (Abb. 15). Die Haustorien der Epi- und Hypodermiszellen besitzen eine dünne dMx und kompakte, relativ homogen erscheinende Wandappositionen, während bei den Mesophyllzellen (Abb. 14–17) die eMx stark ausgebildet und Kragen und Papillen heterogen, vesikulär und mit cytoplasmatischem Material durchsetzt erscheinen.

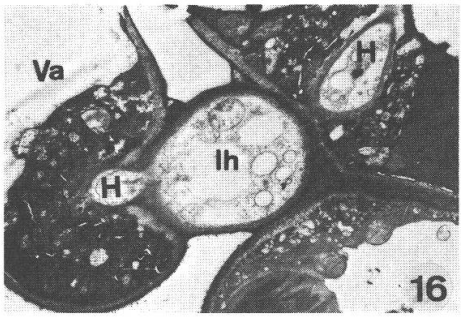
Sporangiophoren treten (a) in Büscheln aus den peripheren Zwischenräumen der Trichome, (b) aus blasenförmigen subcuticulären Hyphen durch die Cuticula, und (c)

Abb. 11. Lichtmikroskopische Aufnahme eines mit Anilinblau angefärbten Appressoriums. ×1500.

Abb. 12. Am unteren Teil des Appressoriums (Ap) haftet granuläres Material. Letzteres ist auch am Penetrationsort auf der Cuticula anzutreffen. Vermutlich hat sich das Appressorium während der Präparation etwas von der Wirtsunterlage abgehoben. REM-Aufnahme U. Jauch, ×13 600.

Abb. 13. Schnitt durch untere Epidermis und Hypodermis, 48 h nach Inokulation des Erregers. Durch den Substomatärraum (Bildmitte) und die Hypodermiszellen (unten) verlaufen verzweigte Hyphen von unterschiedlichem Durchmesser. Am oberen rechten Bildrand erhebt sich ein Sporenträger (Sp) über die Blattoberfläche. REM-Aufnahme U. Jauch, ×1400.





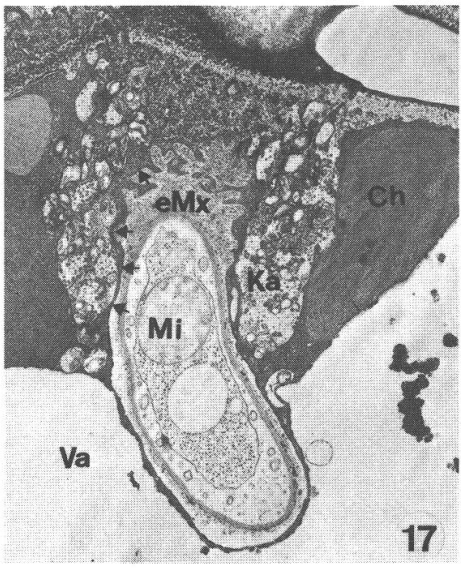


Abb. 14. Haustorium in einer Mesophyllzelle, dessen Hals von kallosehaltigem Wandappositionsmaterial (Ka) kragenförmig umschlossen ist. Zwischen diesem Kragen und der Haustorienwand liegt die extrahaustoriale Matrix (eMx). Er Endoplasmatisches Reticulum, Mi Mitochondrium, Pl Plasmalemma, Zw Zellwand der Wirtszelle, Hw Wand des Parasiten. TEM-Aufnahme, ×34 000.

selten auch durch Stomata aus. Bei (a) und (c) sind sie in der Regel keulenförmig verdickt, wie dies auch von Hohl and Suter (1976) für *P. infestans* auf Kartoffelblättern beschrieben wurde.

Diskussion

Die Keimschläuche sind meist wenige bis einige hundert µm lang, bevor sie die Cuticula druchstoßen. Sie sind selten verzweigt, was eine nährstoffarme Umgebung – die Blattoberfläche – anzeigt. Häufig dringen die Keimschläuche in den engen, eingesenkten Zwischenraum von Trichom und Epidermiszellen ein. Dies könnte auf Thigmo- oder Chemotaxis (Carlile 1983) beruhen; für letzteres spricht der Umstand, daß die Trichome glandulär sind (Mohandas and Shah 1982) und ausgeschiedene Substanzen sich in diesem Spalt anreichern könnten.

Das Appressorium ist ähnlich dem bei *P. infestans* auf Kartoffeln (Pristou and Gallegly 1954, Ferris 1955, Coffey and Wilson 1983) und typisch auch für andere Phytophthoraarten (Blackwell 1953). Im engen Spalt um die Trichome, wo der Pilz häufig beobachtet wird, bilden sich keine morphologisch differenzierbaren Appressorien, wohl aber Kittmaterial. Das Fehlen von Appressorien wurde auch bei der Penetration von *P. cinnamomi* in Eukalyptuswurzeln beobachtet (Tippett et al. 1976). Die Ausbildung von Appressorien ist demnach vielleicht eher üblicher Ausdruck als unabdingbare Voraussetzung des Penetrationsvorganges: Eine zähe, glatte Oberfläche läßt sich nur nach Ausbildung einer genügenden Oberflächenhaftung durchdringen. Zusätzlich führt vielleicht der zur Penetration erforderliche hydrostatische Druck in der Hyphe zum Anschwellen der Keimschlauchspitze. Die Appressorienbildung geht mit der Synthese von Kittmaterial einher, durch welches Appressorium und Wirtsoberfläche miteinander verbunden werden. Das Kittmaterial ist z. T. fibrillär (s. auch Hohl and Stössel 1976, Hohl and Suter 1976), aber auch körniges Material wurde beobachtet, das bandförmig am Appressorium haftet. Diese Haftung scheint mit eine Voraussetzung erfolgreicher Penetration zu sein.

In der üblichen Weise dringt der Pilz anschließend mit Hilfe eines dünnen Infektionskeils durch die Cuticula. Die Beobachtung, daß die Cuticula auf der Blattoberseite dicker ist als auf der Blattunterseite vermag vielleicht zu erklären, wieso die Penetrationshäufigkeit auf der Blattunterseite höher ist (Turner 1969); dies besonders auch im Hinblick auf die Beobachtung, daß der Parasit nur sehr selten durch die Spaltöffnun-

Abb. 15. Haustorium in Schwammparenchymzelle. Das Cytoplasma des Haustoriums ist z. T. aufgelöst, das Haustorium selbst ist von einer extrahaustorialen Matrix (eMx) und einer sehr heterogenen Kappe von z. T. wandähnlichem Material (Doppelpfeil) umschlossen. Ih Interzellularhyphe, Mi Mitochondrium. TEM-Aufnahme, × 15 000.

Abb. 16. Interzellurlarhyphe (Ih) im Schwammparenchym. Bei zwei Zellen sind Haustorien (H) angeschnitten, welche von heterogenem, vesikulärem Material umschlossen sind. Va Vakuole der Wirtszelle. TEM-Aufnahme, × 2300.

Abb. 17. Haustorium im Schwammparenchym. Die unregelmäßige Oberfläche der extrahaustorialen Matrix (eMx) ist gut zu erkennen, wie auch der Kragen (Ka), welcher den Hals des Haustoriums umschließt. Die Pfeile deuten auf das Wirtscytoplasma, welches zwischen Kragen und eMx eingeschlossen wird. Ch Chloroplast, Mi Mitochondrium, Va Vakuole, TEM-Aufnahme, × 8 200.

gen eindringt, wie das bei *P. infestans* auf Kartoffelblättern gleichermaßen zutrifft (Pristou and Gallegly 1954, Wilson and Coffey 1980).

Subcuticuläre Hyphen bilden sich häufig im Blatt von *Piper nigrum,* wie dies auch bei Phytophthorainfektionen der Kartoffel (Shimony and Friend 1975, Hohl und Suter 1976, Coffey and Wilson 1983) und der Soja (Stössel et al. 1980b, Stössel et al. 1981) beobachtet wurde. Die Ausbreitung in den subcuticulären Pektin- und Zelluloseschichten dürfte durch die Bildung von Pektinasen und anderen polysaccharidspaltenden Enzymen ermöglicht werden. Derartige Enzyme sind z. B. bei *P. infestans* genauer untersucht worden (Knee and Friend 1970, Stössel and Hohl 1981, Bodenmann et al. 1985, Förster 1985). Verzweigungen der subcuticulären Hyphen wurden gelegentlich beobachtet. Sie stellen einen Ausgangspunkt des bei jungen Blättern zu beobachtenden Oberflächenmyzels dar.

Augenfällig sind die Verdickungen der Penetrationshyphen in den Epidermiszellen, ein Phänomen, das auch bei *Phytophthora*-Infektionen von Kartoffelblättern (Shimony and Friend 1975, Hohl and Suter 1976, Coffey and Wilson 1983) sowie bei der anderer *Solanum*arten (Ferris 1955) beschrieben wurde. Möglicherweise sind dabei wirts- oder parasiteigene Enzyme mitbeteiligt, denn Meyer et al. (1976) wiesen nach, daß Inkubation in β-1,3-Glukanasen, die sowohl von Pilz wie Wirt gebildet werden können, zu unregelmäßigen, ausgeprägten Aufblähungen der Keimschläuche führt.

Die Ausbreitung im Blatt erfolgt vorwiegend über die Interzellularen, in denen sich der Pilz häufig verzweigt (s. auch Wilson and Coffey 1980). Verzweigte Transzellularhyphen finden sich vor allem im Zentrum der Läsion, d. h. hinter der Wachstumsfront. Dies kann so interpretiert werden, daß der Pilz anfänglich biotroph, in einem späteren Stadium dagegen nekrotroph lebt und das Gewebe weitgehend unbehindert durchdringt, wie dies Mourichon et Sallé (1981) für *P. cactorum* im Apfelgewebe beschrieben haben. Häufig ist der Pilz auch im Xylem anzutreffen, ein für den Besiedlungsmodus des Parasiten möglicherweise wichtiger Punkt, denn nach Turner (1969) breitet sich der Erreger entlang den Leibündeln schneller aus.

Die Haustorienbildung, soweit hier untersucht, erfolgt sehr ähnlich der im besser untersuchten Kartoffelgewebe (Hohl and Suter 1976, Hohl and Stössel 1976, Coffey and Wilson 1983) und dürfte typisch für Blattinfektionen durch Phytophthoraarten sein: Entstehung einer extrahaustorialen Matrix, sowie Kragen- und Papillenbildung durch das sich ansammelnde Wandappositionsmaterial. Allerdings wurde bei dieser Untersuchung nicht abgeklärt, in welchem Maße Papillen als potentielle Abwehrreaktion der befallenen Wirtszelle interpretiert werden dürfen (Aist 1976, Hinch and Clarke 1982, Allen and Friend 1983, Cahill and Weste 1983, Hächler and Hohl 1984), zumal eine Untersuchung der inkompatiblen Situation, wie sie etwa bei älteren Blättern zu finden ist, nicht erfolgte. Bemerkenswert ist jedoch die unterschiedliche Erscheinungsform der Wandappositionen bei Mesophyllzellen gegenüber derjenigen der Epi- und Hypodermis. Diese Beobachtung steht in Einklang mit der bei der Krautfäule der Kartoffel erarbeiteten These von Doke et al. (1982), daß beim Wirt Reaktionsnorm und -ablauf gewebe- oder sogar einzelzellspezifisch ausgeprägt sein können.

Zusammenfassend ergibt sich für die Infektion des Pfefferblattes ein Bild, wie es sich recht typisch auch bei *Phytophthora*erkrankungen anderer Wirte darbietet. Die bei den besser untersuchten Systemen wie der Soja oder der Kartoffel gewonnenen Resultate dürften demnach mit der nötigen Vorsicht auch auf die Verhältnisse beim Schwarzen Pfeffer übertragen werden. Ob die Infektion der Wurzel, welche zur Fuß- und Wurzelfäule des Schwarzen Pfeffers führt (Muller 1936, Holliday and Mowat 1963, Nambiar and Sarma 1977), ähnlich abläuft, muß allerdings offen gelassen werden. Wurzel-

infektionen durch *Phytophthora*erreger verlaufen, wo genauer untersucht, vorwiegend interzellulär, zumal im Bereich der Wurzelrinde (Tippett et al. 1977, Hinch and Clarke 1982).

Literatur

Aist J. R. 1976. Papillae and related wound plugs of plant cells. Ann. Rev. Phytopathol. 14: 145–163.

Alizadeh A. and Tsao P. H. 1985. Effect of light on sporangium formation, morphology, ontogeny, and caducity of *Phytophthora capsici* and '*P. palmivora*' MF4 isolates from black pepper and other hosts. Tr. Br. Mycol. Soc. 85: 47–69.

Allen F. H. E. and Friend J. 1983. Resistance of potato tubers to infection by *Phytophthora infestans:* a structural study of haustorial encasement. Physiol. Plant Pathol. 22: 285–292.

Blackwell E. M. 1953. Haustoria of *Phytophthora infestans* and some other species. Tr. Br. Mycol. Soc. 36: 138–158.

Bodenmann J. Heiniger U. and Hohl H. R. 1985. Extracellular enzymes of *Phytophthora infestans:* endo-cellulase, β-glucosidases, and 1, 3-β-glucanases. Canad. J. Microbiol. 31: 75–82.

Bracker C. E. and Littlefield L. J. 1973. Structural concepts in host-pathogen interfaces, 159–318. In: Fungal pathogenicity and the plant's response, R. J. W. Byrde and C. V. Cutting, eds. Academic Press, New York, pp. 449.

Cahill, D. and Weste G. 1983. Formation of callose deposits as a response to infection with *Phytophthora cinnamomi.* Tr. Br. Mycol. Soc. 80: 23–29.

Carlile M. J. 1983. Motility, taxis and tropism in *Phytophthora.* In: *Phytophthora,* its biology, taxonomy, ecology and pathology, 95–107. D. C. Erwin, S. Bartnicki-Garcia, and P. H. Tsao, eds. Amer. Phytopathol. Soc., pp. 392.

Coffey M. D. and Wilson U. E. 1983. An ultrastructural study of the late-blight fungus *Phytophthora infestans* and its interaction with the foliage of two potato cultivars possessing different levels of general (field) resistance. Can. J. Bot. 61: 2669–2683.

Doke N., Tomiyama K. and Furuichi N. 1982. Elicitation and suppression of the hypersensitive response in host-parasite specificity, 79–96. In: Plant infection: The physiology and biochemical basis. Y. Asada, W. R. Bushnell, S. Ouchi, and C. P. Vance, eds. Japan Sci. Soc. Press, Tokyo/Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, pp. 362.

Ferris V. R. 1955. Histological study of pathogen-suscepts relationships between *Phytophthora infestans* and derivatives of *Solanum demissum.* Phytopathology 45: 546–552.

Förster H. 1985. Purification and characterization of extracellular pectinesterases from *Phytophthora infestans.* Plant Physiol. 77: 109–112.

Hächler H. and Hohl H. R. 1984. Temporal and spatial distribution of collar and papillae wall appositions in resistant and susceptible tuber tissue of *Solanum tuberosum* infected by *Phytophthora infestans.* Physiol. Plant Pathol. 24: 107–118.

Hinch J. M. and Clarke A. E. 1982. Callose formation in *Zea mays* as a response to infection with *Phytophthora cinnamomi.* Physiol. Plant Pathol. 21: 113–124.

Hohl H. R. and Suter E. 1976. Host-parasite interfaces in a resistant and a susceptible cultivar of *Solanum tuberosum* inoculated with *Phytophthora infestans:* leaf tissue. Can. J. Bot. 54: 1956–1970.

Hohl H. R. and Stössel P. 1976. Host-parasite interfaces in a resistant and a susceptible cultivar of *Solanum tuberosum* inoculated with *Phytophthora infestans:* tuber tissue. Can. J. Bot. 54: 900–912.

Holliday P. and Mowat W. P. 1963. Foot rot of *Piper nigrum* L. (*Phytophthora palmivora*). CMI Phytopathol. Papers 5: 1–62.

Jones D. R., Graham W. G. and Ward E. W. B. 1975. Ultrastructural changes in pepper cells in an incompatible interaction with *Phytophthora infestans.* Phytopathology 65: 1274–1285.

Knee M. and Friend J. 1970. Some properties of the galactanase secreted by *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. J. Gen. Microbiol. 60, 23–30.

Meyer R., Parish R. W. and Hohl H. R. 1976. Hyphal tip growth in *Phytophthora.* Gradient distribution and ultrahistochemistry of enzymes. Arch. Microbiol. 110: 215–224.

Mohandas K. K. and Shah, G. L. 1982. Structure and ontogeny of trichomes in some Piperaceae. Acta Bot. Indica 10: 92–95.

Mourichon X. and Salle G. 1981. Étude ultrastructurale des relations hôte-parasite au cours de l'infection des pommes par le *Phytophthora cactorum.* Can. J. Bot. 59: 251–263.

Muller H. R. A. 1936. The *Phytophthora* foot rot of Pepper (*Piper nigrum*) in the Dutch East Indies. Meded. Inst. Plziekt. Batavia 88, monograph 16, pp. 73.

Nambiar K. K. N. and Sarma Y. R. 1977. Wilt diseases caused by fungi and nematodes of Black Pepper (*Piper nigrum* India). J. Pl. Crops 5: 92–103.

Pristou R. and Gallegly M. E. 1954. Leaf penetration by *Phytophthora infestans.* Phytopathol. 44: 81–86.

Shimony C. and Friend J. 1975. Ultrastructure of the interaction between *Phytophthora infestans* and leaves of two cultivars of potato (*Solanum tuberosum* L.) Orion and Majestic. New Phytol. 74: 59–65.

Shipton W. A. and Brown J. F. 1962. A whole-leaf clearing and staining technique to demonstrate host-pathogen relationships of wheat stem rust. Phytopathology 52: 1313.

Stössel P. and Hohl H. R. 1981. Effect of phytoalexins on hyphal growth and β-glucanases of *Phytophthora infestans.* Mycopathologia 73: 153–159.

Stössel P., Lazarovits G. and Ward E. W. B. 1980a. Electron microscope study of race-specific and age-related resistant and susceptible reactions of soybeans to *Phytophthora megasperma* var. *sojae.* Phytopathol. 71: 617–623.

Stössel P., Lazarovits G. and Ward E. W. B. 1980b. Penetration and growth of compatible and incompatible races of *Phytophthora megasperma* var. *sojae* in soybean hypocotyl tissues differing in age. Canad. J. Bot. 58: 2594–2601.

Stössel P., Lazarovits G. and Ward E. W. B. 1981. Differences in the mode of penetration of soybean hypocotyls by two races of *Phytophthora megasperma* var. *sojae.* Canad. J. Bot. 59: 1117–1119.

Spurr A. R. 1969. A low-viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. J. Ultrastr. Res. 26: 31–43.

Tarjot M. 1974. Physiology of the fungus, 103–117. In: *Phytophthora* diseases of cocoa, P. H. Gregory, ed. Longman, London, pp. 348.

Tippett J. T., Holland A. A., Marks G. C. and O'Brien, T. P. 1976. Penetration of *Phytophthora cinnamomi* into disease tolerant and susceptible eucalypts. Arch. Microbiol. 108: 231–242.

Tippett J. T., O'Brien T. P. and Holland A. A. 1977. Ultrastructural changes in eucalypt roots caused by *Phytophthora cinnamomi.* Physiol. Plant Pathol. 11: 279–286.

Trump B. F., Smuckler E. A. and Benditt E. P. 1961. A method for staining epoxy sections for light microscopy. J. Ultrastr. Res. 5: 343–348.

Tsao P. H. and Tummakate A. 1977. The identity of a *Phytophthora* species from black pepper in Thailand. Mycologia 69: 631–637.

Turner P. D. 1969. Leaf lesions associated with foot rot of *Piper nigrum* L. and *Piper betle* L. caused by *Phytophthora palmivora.* Tr. Br. Mycol. Soc. 53: 407–415.

Wilson U. E. and Coffey M. D. 1980. Cytological evaluation of general resistance to *Phytophthora infestans* in potato foliage. Ann. Bot. 45: 81–90.