

# O processo de infecção da *Bremia Lactucae* (Über den Infektionsvorgang bei *Bremia Lactucae*)

por *Karl Arens*

(Departamento de Botânica da Universidade de São Paulo)

com 9 figuras no texto

## INTRODUÇÃO

*Bremia Lactucae* appareceu, em 1936, como parasita da *Lactuca sativa*, no Jardim do Departamento de Botânica da Faculdade de Philo-  
sophia, Sciencias e Letras da Universidade de São Paulo.

O estudo desse organismo impõe-se por razões praticas e, como  
veremos, offerece pontos de vista de grande alcance theorico.

Infelizmente, não se pode combater esse fungo, como os demais  
Oomycetos, com caldo bordalez, porque desse modo envenenariamos  
as folhas de alface destinadas á alimentação do homem. Seria, pois,  
indispensavel que se pudesse empregar para o combate desse fungo  
um outro antidoto inoffensivo. Para encontrar tal antidoto é necessario,  
primeiramente, que se conheça exactamente a biologia do parasita;  
que se estude, principalmente, o processo de infecção, isto é, as mo-  
dalidades e as causas da penetração dos tubos germinativos nas fo-  
lhas da planta hospedeira. Mesmo do ponto de vista puramente scien-  
tifico, é interessante estudar mais de perto as condições de infecção  
dos fungos parasitas: esclarecer, por exemplo, o problema da immu-  
nidade ou da diferenciação physiologica do parasita e do hospedeiro.

Como em todos os parasitas Oomycetos dos generos *Plasmopara*,  
*Peronospora*, *Phytophthora* e outros, é imprescindivel a existencia  
de agua para a infecção, porquanto os conidios desses cogumelos só  
germinam na agua. Na natureza é, pois, necessario que haja, sobre as  
folhas, gottas de chuva ou de orvalho. Em muitos Oomycetos o pro-  
cesso de germinação pode se dar de duas maneiras:

1.º) Os conidios formam um tubo germinativo, o que se dá com  
todas as especies do genero *Peronospora*;

2.º) os conidios formam, no seu interior, varios zoosporos que  
saem para a agua e ali têm movimentos livres. Esses zoosporos per-  
dem, finalmente, a motilidade, formando, por sua vez, um tubo ger-  
minativo. A segunda modalidade segue, via de regra, o genero *Plas-  
mopara*.

*Bremia* é interessante justamente porque possui os dois typos de  
germinação, cujas particularidades physiologicas podem, assim, ser fa-  
cilmente comparadas. Se a infecção se dá ou não, se o tubo germinativo  
penetra ou não, depende, como supomos, de estimulos ou irritações

especies, que a superficie da planta hospedeira exerce, quer sobre o tubo germinativo, quer sobre o zoosporo. Infelizmente, pouco sabemos sobre as irritações que fazem com que o tubo germinativo penetre no tecido do hospedeiro e escolha, mesmo, regiões específicas para infecção. Conhecemos fungos que só penetram na epiderme da planta por aberturas naturais ou artificiais, outros atravessam o tecido intacto. Entre estes ultimos, que produzem a infecção atravez da epiderme, alguns penetram em qualquer ponto e outros entram quasi que exclusivamente só pelos anticlinios e não pelos periclinios das cellulas epidermicas. Pelos estomatos penetram, por exemplo, os zoosporos de *Cystopus* (*de Bary*, 1863) e *Plasmopara viticola* (*Arens*, 1929), assim como os tubos germinativos dos *Uredosporos* das *Uredineas* (*de Bary*, 1863; *Ruttle e Fraser*, 1927 e outros). Os seguintes fungos preferem penetrar pelos anticlinios: *Phytophthora omnivora* (*Hartig*, 1879), *Tubercinia trientalis* (*Woronin*, 1882), *Alternaria*, *Helminthosporium*, *Macrosporium* (*Young*, 1926), *Fusicladium* (*Aderhold*, 1900), *Protomyces macrosporus*, *Botrytis parasitica* (*Klebahn*, 1904). Atravez de feridas, causadas frequentemente por picadas de insectos, penetram *Phytophthora infestans* e *Rhizopus nigricans* (*Harter e Weimer*, 1923). Mas, muitos cogumelos que podem provocar infecção atravez de feridas, tambem penetram em qualquer outro ponto da epiderme ou pelos estomatos e, aliás, não são parasitas strictos.

Quaes as causas que determinam a penetração de um parasita pelos estomatos, de outro pelos anticlinios e de outro ainda por pontos indifferentes da epiderme? Sabemos, pelas observações de *Miyoschi* (1894), que os tubos germinativos de cogumelos parasitas reagem chimotropicamente e o Autor mostrou (1929) que os zoosporos de *Plasmopara viticola* respondem a irritações chimotacticas. Muitos phenomenos da infecção, por exemplo, a formação de appressorios são attribuidos á irritações pelo contacto. Mas, não se pode provar que tambem este caso não seja baseado em irritações chimicas. Provavelmente, os processos primarios da infecção de fungos parasitas são dependentes de reacções chimicas especificas que provocam, nos tubos germinativos sem movimentos livres, reacções chimotropicas que apparecem nos zoosporos de movimentos livres, sob a forma de chimotaxis.

## A maneira da infecção de *Bremia*

### a) O COMPORTAMENTO DOS TUBOS GERMINATIVOS

Quanto á especificidade das irritações será necessario saber se *Bremia* pode infectar somente *Lactuca sativa*, ou outras especies do mesmo genero ou outros generos. Sabemos, desde *de Bary* (1863) que, por exemplo, os tubos germinativos dos *Uredosporos* das *Uredineas* podem penetrar nos estomatos de qualquer planta, ao passo que o desenvolvimento ulterior se dá somente em hospedeiros especificos. Da mesma maneira, mostrou o Autor que os zoosporos de *Plasmopara*

viticola podem penetrar em quasi todas as plantas, nas mais diversas familias (1929), ao passo que o parasita só pode desenvolver-se em *Vitis vinifera*. *Schweizer* (1919) verificou, por meio de infecções artificiaes, que a especie *Bremia Lactucæ* se subdivide numa serie de sub-especies. Assim, a *Bremia* que cresce sobre *Lactuca* não pode infectar as variedades de *Cirsium* da mesma familia e vice-versa, a *Bremia* que vive sobre *Cirsium* não pode infectar *Lactuca*. Mas, talvez fosse possivel que, apesar da alta especialização do parasita, as primeiras fases da infecção pudessem dar-se mesmo em plantas immunes, como acontece com *Plasmopara* e com os *Uredosporos*.

Para examinar a questão, fizemos algumas experiencias de infecção em diversas plantas nas quaes *Bremia* normalmente não cresce. Os resultados estão expostos na Tab. 1. A infecção foi feita com uma emulsão de conidios em agua bidistillada.

Tabella 1

	Resultado da infecção
<i>Lactuca sativa</i> . . . . .	+
<i>Senecio cruentus</i> . . . . .	+
<i>Dahlia variabilis</i> . . . . .	—
<i>Helianthus cucumifolius</i> . . . . .	—
<i>Calendula vulgaris</i> . . . . .	—
<i>Begonia spec.</i> . . . . .	—
<i>Tropaeolum majus</i> . . . . .	—
<i>Zantedeschia aethiopica</i> . . . . .	—
<i>Pteris aquilina</i> . . . . .	—

Como nos mostra a Tab. 1, os tubos germinativos só penetram nas folhas de *Lactuca sativa* e *Senecio cruentus*. Mas, como pudemos observar, os conidios e os tubos germinativos germinaram sobre as folhas das outras plantas, sem, entretanto, terem penetrado. Em outras experiencias de infecção verificamos que a sub-especie de *Bremia* que parasita em *Lactuca*, não é capaz de continuar a crescer nas folhas de *Senecio*, embóra a principio o tubo germinativo possa penetrar exactamente como na *Lactuca*. Trata-se, pois, de uma «sub-infecção», isto é, o fungo não pode crescer no tecido de *Senecio*. *Senecio* é immune, mas sua epiderme tem uma particularidade que permite ao fungo chegar á primeira phase da infecção, isto é, á penetração. As outras plantas têm uma immuidade ainda maior, pois sua epiderme não possibilita a penetração. Talvez produza até um chemotropismo negativo. Só nas folhas da *Lactuca sativa* pode a *Bremia* desenvolver-se normalmente, de maneira que as hyphas ás vezes atravessam a folha toda.

Ao examinar esse mycelio intercellular, notamos a seguinte peculiaridade: as hyphas principaes, apresentam a tendencia de ramificar-se dichotomicamente como conidiophoros que crescem fóra da

folha. A fig. 1 mostra uma hypha principal que percorre o interior da folha e apresenta dichotomia. O mycelio foi corado com cotton-blue, fervendo-o em acido acetico concentrado. Obtem-se, desse modo, hyphas azues brilhantes, no tecido da folha tornado perfeitamente transparente.

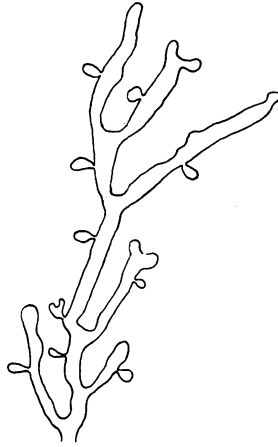


Fig. 1

Fig. 1 — Hypha principal, intercellular, com haustorios. A tendencia de ramificação é nitidamente dichotomica, como nos conidiophoros.

Interzellullar verlaufende Haupthyphle mit Haustorien. Die Verzweigungstendenz ist ausgesprochen dichotom, wie bei den Konidientragern.

*Sorauer* (1921) cita no seu trabalho que a infecção de *Bremia Lactuca* se produz exclusivamente atravez dos estomatos. Em nossas observações obtivemos resultados diferentes. Nas condições de temperatura que usamos, a germinação por meio de zoosporos parece rara. Só a pudemos observar uma vez. Portanto, os resultados que se seguem referem-se á germinação por meio do tubo germinativo, isto é, á germinação directa dos conidios. As observações feitas revelaram que a penetração dos tubos germinativos se faz quasi exclusivamente atravez das paredes dos anticlinios das cellulas epidermicas.

Tabella 2

	<i>Lactuca sativa</i>	<i>Senecio cruentus</i>
Anticlinios . . . .	94,1 % (48)	97,2 % (36)
Periclinios . . . .	5,8 % (3)	2,7 % (1)
Estomatos . . . .	0,0 % (0)	0,0 % (0)

Na tabella 2 damos os resultados percentuaes das infecções observadas e que se deram em uma das tres regiões citadas. Os numeros em parenthesis indicam o n.º de casos observados de cada vez. Portanto, em nossas observações a infecção não se dá pelos estomatos, como o indica *Sorauer*, mas, sim, pelos anticlinios. Nas figuras pode-se

ver melhor o comportamento do fungo. Na fig. 2 vemos o phenomeno da infecção num corte de Lactuca. O conidio que está sobre a epiderme germinou formando um tubo germinativo. A hypha germinativa se

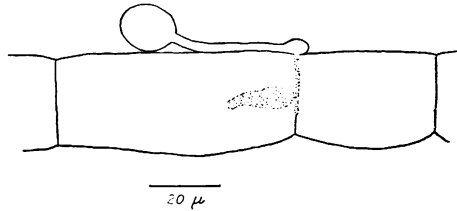


Fig. 2

Fig. 2 — Conidio que germinou sobre a epiderme de uma folha de alface. O tubo germinativo formou, sobre a parede anticlinal, um appressorio que penetrou no anticlinio, emittindo um haustorio para a cellula epidermica. A escala que se encontra sob a figura é valida para todas as figuras seguintes.

Ausgekeimte Konidie auf der Epidermis eines Salatblattes. Der Keimschlauch hat ueber der antiklinen Wand ein Appressorium gebildet und ist in sie eingedrungen unter Entsendung eines ersten Haustoriums in die Epidermiszelle. Der unter der Figur befindliche Masstab gilt auch fuer alle folgenden Abbildungen.

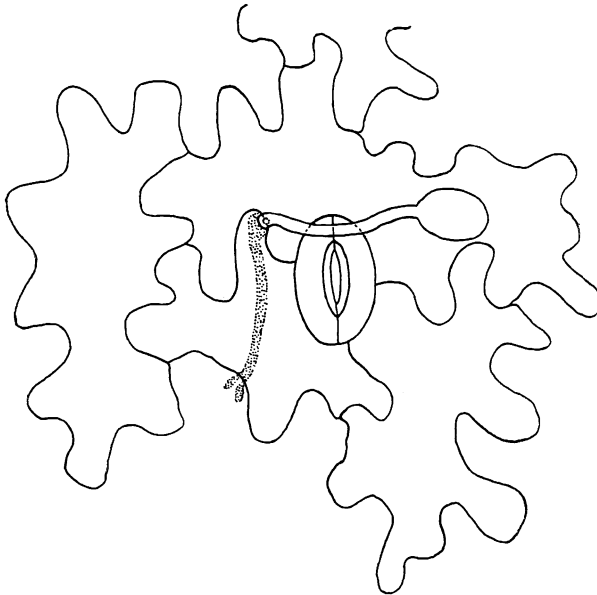


Fig. 3

Fig. 3 — O tubo germinativo do conidio que cresceu sobre a epiderme de uma folha de alface passou junto de um estomato aberto, onde não penetrou, para entrar mais adiante num anticlinio.

Der Keimschlauch der Konidie ist auf der Epidermis eines Salatblattes dicht an einer offenen Spaltoeffnung vorbeigewachsen, aber nicht in diese sondern in eine Antikline eingedrungen.

desenvolve sobre a parede exterior (periclinal) da cellula e ao chegar á parede anticlinal forma essa pequena intumescencia que se designa tambem por appressorio. Desse appressorio sae uma hypha fina que penetra na parede anticlinal, seguindo ali ao longo da lamella media. Desse fio de infecção saem lateralmente para as cellulas epidermicas varias hyphas ricas em plasma, que provavelmente representam os primeiros haustorios. Em todas as figuras representamos a parte das hyphas que fica sob a epiderme, por meio de traços pontuados. As figuras 3 e 4 mostram o processo de infecção em *Lactuca*, visto de cima. Na fig. 3 vemos que o tubo germinativo passa justamente sobre um estomato, sem penetrar nelle. Na fig. 4 ha um conidio bem

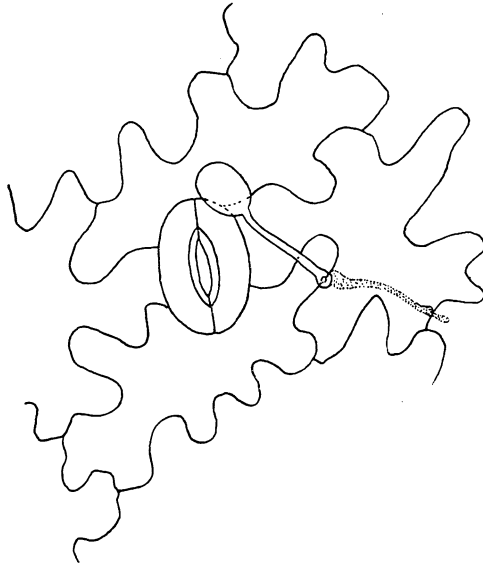


Fig. 4

Fig. 4 — Um conidio que se encontra bem junto de um estomato (alface) emittiu um tubo germinativo em direcção opposta. A infecção se deu através de um anticlinio.

Eine dicht bei einer Spaltoeffnung (Salat) liegende Konidie hat einen Keimschlauch von dieser fort getrieben. Die Infektion ist durch eine Antikline erfolgt.

junto de um estomato, mas o tubo germinativo se afasta do estomato para finalmente penetrar num anticlinio. As figuras 5 a 8 mostram a infecção em *Senecio cruentus*. Na fig. 5 vemos um conidio exactamente sobre um estomato: o tubo germinativo, entretanto, não penetra no estomato, mas, sim, na parede anticlinal da cellula de fechamento. Outro conidio proximo forma um tubo germinativo extremamente pequeno que penetra no anticlinio visinho. Na fig. 7 o tubo germinativo penetra no anticlinio que fica sob o conidio. Muito instructivo é o caso da fig. 6. Forma-se um tubo germinativo junto de um estomato, que passa junto a este e mais adiante passa ao lado

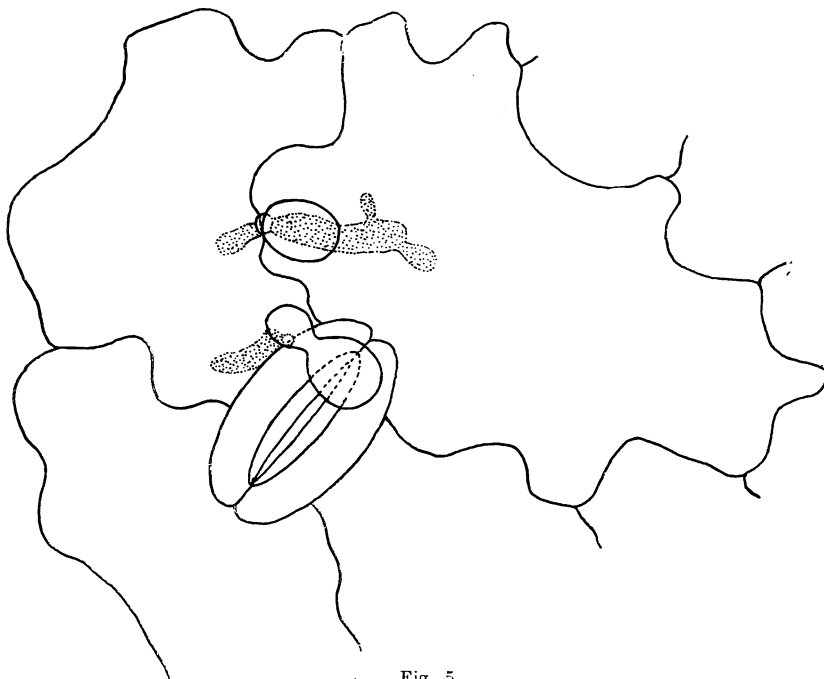


Fig. 5

Fig. 5 — Os tubos germinativos de dois conídios sobre a folha de *Senecio cruentus* entraram pelos anticlinios, embora um dos conídios esteja justamente sobre um estomato.

Die Keimschläucher zweier Konidien auf dem Blatt von *Senecio cruentus* haben ihren Weg durch die Antiklinen genommen, obwohl eine Konidie direkt ueber einer Spaltoeffnung liegt.

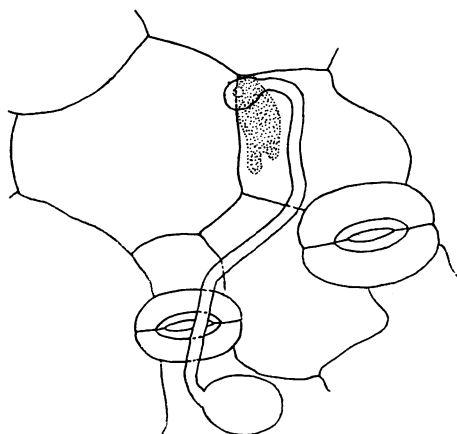


Fig. 6

Fig. 6 — O tubo germinativo de um conídio que cresceu sobre a epiderme de *Senecio* passou sobre um estomato aberto e depois de passar sobre alguns anticlinios, penetrou num destes que provavelmente exerceu uma irritação maior do que os anteriores.

Der Keimschlauch einer Konidie ist auf der Epidermis von *Senecio*

ueber eine geoeffnete Spaltoeffnung hinweg gewachsen und nach Ueberquerung einiger Antiklinen in eine solche eingedrungen, die offenbar einen staerkeren Reiz ausgeuebt hat als die vorhergehenden.

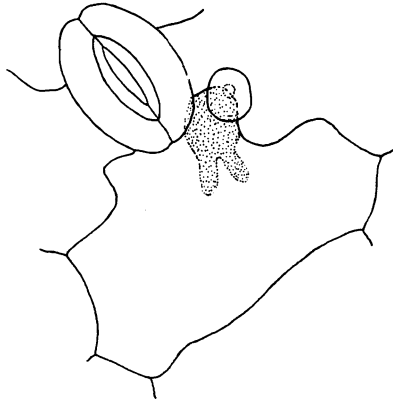


Fig. 7

Fig. 7 — Um conidio que se encontra junto de um estomato de Senecio, penetrou num anticlinio que se encontra sob o estomato, sem formar um tubo germinativo longo, provavelmente porque esse anticlinio exerceu uma irritação sufficientemente forte para isso.

Eine dicht neben einer Spaltoeffnung von Senecio liegende Konidie ist in die darunter liegende Antikline ohne Bildung eines laengeren Keimschlauchs eingedrungen, offenbar weil diese Antikline bereits einen genuegend starken Reiz geliefert hat.

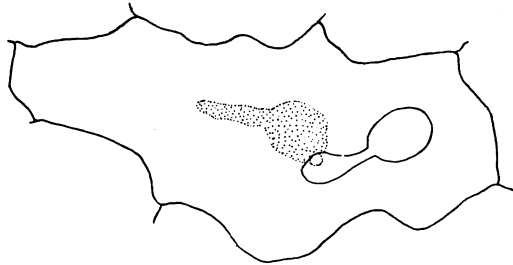


Fig. 8

Fig. 8 — Caso raro de infecção atravez da parede externa, periclinal de uma cellula epidérmica de Senecio.

Seltener Fall der Infektion durch die perikline Aussenwand der Epidermiszelle von Senecio.

de outro estomato para, finalmente, penetrar num anticlinio. A fig. 8 reproduz o caso raro de uma infecção nas paredes periclinaes da epiderme. Em Lactuca como em Senecio a infecção se dá principalmente nos anticlinios da epiderme. Parece, pois, que essas regiões da epiderme exercem uma irritação especial que faz com que o fio de infecção que sae do appressorio penetre numa parede anticlinal. O tubo germinativo pode até passar sobre um estomato sem penetrar nelle.



## b) O COMPORTAMENTO DOS ZOOSPOROS

Como se dará a infecção quando os conídios não formam tubo germinativo, mas germinam indirectamente por meio de zoosporos dotados de motilidade? Parece que os conídios formam zoosporos principalmente em temperaturas baixas (*Milbrath, 1923*). Só conseguimos zoosporos uma unica vez e com elles produzimos infecção em folhas de *Lactuca*. De accordo com nossas observações sobre o comportamento dos zoosporos de *Plasmopara viticola*, que são da mesma

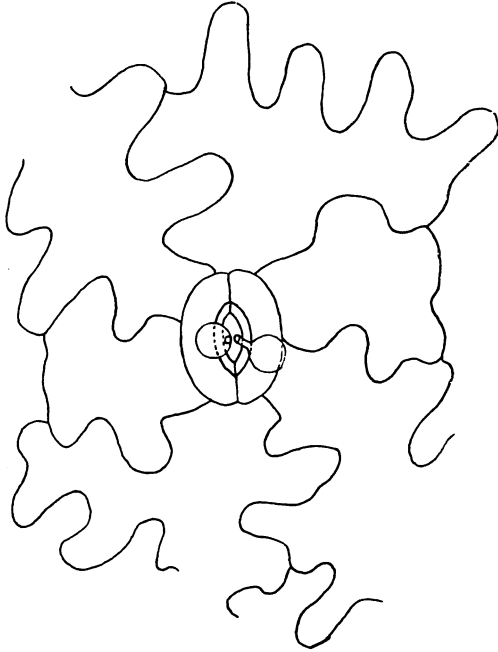


Fig. 9

Fig. 9 — Dois zoosporos foram attrahidos chimotacticamente por um estomato de *Lactuca*. Recobriram-se de uma membrana e emittiram um tubo germinativo para o interior do estomato.

Zwei Zoosporen sind von der Spaltoeffnung von *Lactuca* chemotaktisch angelockt worden, haben sich mit einer Membran umgeben und einen Keimschlauch in das Innere der Oeffnung geschickt.

estrutura morphologica que os de *Bremia*, a infecção deveria dar-se atravez dos estomatos e não dos anticlinios. Pudemos, de facto, observar a infecção atravez dos estomatos. A fig. 9 mostra dois zoosporos já em repouso, junto de um estomato aberto de *Lactuca*. Ambos emittiram tubos germinativos para o interior do estomato. Não pudemos encontrar outro typo de infecção por meio de zoosporos, quasi não pode haver duvida que a infecção se dá, em suas particularidades, exactamente como observamos em *Plasmopara viticola*. Os zoosporos com certeza tambem soffrem uma irritação chimica por parte dos es-

tomatos que os faz perder a motilidade, envolvem-se então com uma membrana. Em seguida o tubo germinativo é dirigido para o interior do estomato aberto.

Observamos, pois, no mesmo cogumelo um comportamento inteiramente diferente dos tubos germinativos dos conídios e dos zoosporos. Os tubos germinativos dos conídios penetram nos anticlinios, ao passo que os dos zoosporos se introduzem nos estomatos abertos. Já sabemos que os zoosporos, nas primeiras phases de vida, nadam livremente, reagindo por tactismo, ao passo que os tubos germinativos dos conídios *immotus* reagem, desde o início, chimotropicamente. Mas, os zoosporos, na segunda phase de vida, tendo perdido a motilidade, também só podem reagir chimotropicamente, formando tubos germinativos. Pode-se, pois, concluir que o chimotropismo dos tubos germinativos dos conídios differe do dos zoosporos em repouso. As irritações que determinam o chimotactismo positivo dos zoosporos pelos estomatos seriam diferentes das que provocam a penetração dos conídios em germinação, nos anticlinios.

## Causas específicas da infecção

### a) INFECCÃO PELOS ESTOMATOS

Se considerarmos irritações químicas como responsáveis pelos diversos tipos de reacção, seria interessante saber a que substancias podemos attribuir taes papéis. Como, em geral, efeitos químicos só são exercidos por substancias dissolvidas (na agua), deveriam manifestar-se nos pontos da epiderme em que se dão as infecções typicas. Se considerarmos o ultimo typo de infecção, pelos zoosporos, é muito provavel que elles se comportem como os zoosporos de *Plasmopara viticola*. Estes reagem nitidamente ás soluções de reacção alcalina, portanto aos ionios OH (*Arens*, 1929). Com o material escasso de zoosporos, de que pudemos dispôr, verificamos que os zoosporos se agglomeram de preferencia na abertura de tubos capillares feitos de vidro commum. A reacção de agua distillada introduzida nesses tubos capillares, em poucos minutos se eleva a um pH = 9, como consequencia da dissolução de substancias alcalinas das paredes do vidro. Neste caso, têm os zoosporos de *Bremia* exactamente o mesmo comportamento que os de *Plasmopara viticola*. Nos zoosporos de *Plasmopara* foi possivel observar que a superficie da folha de *Vitis* provoca nelles chimotactismo positivo. Já suppunhamos, então, que a superficie da folha tinha reacção alcalina. Nesse interim pudemos provar (*Arens*, 1934) que a superficie de inumeras folhas, entre as quaes *Vitis vinifera*, provocam na agua uma reacção alcalina; fica assim comprehensivel o comportamento dos zoosporos de *Plasmopara*. Terá também reacção alcalina a superficie da folha de *Lactuca sativa*? O facto dos zoosporos de *Bremia* reagirem positivamente aos ionios OH, suggere essa supposição.

As experiencias correspondentes, feitas com folhas de *Lactuca* do Jardim do Departamento de Botânica, estão resumidas na tab. 3.

Tabella 3

Exp. n.º		em H <sub>2</sub> O distill.	em orvalho
1/2	. . . . .	7,2	7,5
»	» 3/4	. . . . . 7,5	. . . . . 7,3
»	» 5/6	. . . . . 7,2	. . . . . 7,7
»	» 7/8	. . . . . 7,9	. . . . . 7,4
»	» 9/10	. . . . . 8,0	. . . . . 7,4
»	» 11/12	. . . . . 7,3	. . . . . 7,6
»	» 13/14	. . . . . 7,7	. . . . . 7,9
»	» 15/16	. . . . . 7,6	. . . . . 8,2

Para uma serie de experiencias empregamos agua bi-distillada, na outra medimos apenas o pH do orvalho natural. A agua distillada era collocada sobre a parte superior das folhas, com uma pipeta. Em seguida, para evitar a rapida transformação pelo acido carbonico do ar, recobriam-se as folhas com laminulas grandes, perfeitamente paraфинadas. A agua possuía no inicio, devido ao conteúdo de CO<sub>2</sub> proveniente do ar, um pH = 5,8. Como o mostram as experiencias da primeira columna da tabella, o pH subiu de 5,8 até acima de 7. O orvalho natural sobre as folhas de *Lactuca* tambem apresenta reacção alcalina. Convem notar que somente folhas frescas (naturalmente sem nenhum fermento) têm reacção alcalina, ao passo que folhas murchas têm reacção acida. Explica-se assim o comportamento especifico de infecção dos zoosporos de *Bremia Lactuca* e dos de *Plasmopara viticola* da maneira seguinte:

1.º) Os zoosporos approximam-se da superficie folhear, attrahidos chimotacticamente pelas substancias alcalinas excretadas.

2.º) No espaço livre dos estomatos deve formar-se uma membrana superficial, no limite entre a gotta d'agua que cobre a folha e o ar que enche o estomato. Como pudemos constatar em 1929 e, mais minuciosamente em 1934, as folhas deixam sahir tanto substancias organicas como inorganicas, de modo que, por isso, a tensão superficial da agua e sua reacção são de facto modificadas. E' nessa membrana superficial que se fixam os zoosporos para germinar. O tubo germinativo sae desse ponto da membrana superficial.

#### b) INFECÇÃO PELAS ANTICLINAS

Quanto aos conidios, talvez o comportamento diferente dos seus tubos germinativos possa igualmente ser posto em connexão com a eliminacão de substancias alcalinas pelas folhas. Seria preciso, então, suppôr que as regiões anticlinaes têm uma *produccão* mais forte do que as periclinaes.

As pesquisas já mencionadas, que mostraram a secreção de substancias alcalinas pelas folhas, provaram tambem a sahida de saes mineraes e substancias organicas (Confirmação dos resultados por *Th. Lausberg*, 1935). Trata-se de grandes quantidades de material eliminado. Ha muitas folhas que quando são molhadas por agua de chuva, por orvalho ou agua distillada, eliminam, em poucas horas, 20 a 30 % de seu conteúdo total em substancias mineraes. Se os tubos germinativos dos conidios apresentarem uma reacção chimotropica positiva em relação a essas substancias, sejam ionios de OH sejam outras substancias, então esse chimotropismo positivo se torna comprehensivel se os anticlinios forem os pontos electivos de eliminação. Ha realmente muitas constatações favoraveis á idéa de ser a epiderme das folhas mais permeavel nos anticlinios do que nos periclinios.

*Rawitscher* observou (1933) que os aphidios para as picadas escolhem os mesmos lugares anticlinaes. Sem duvida tal preferencia indica uma secreção qualquer nestes lugares. Já *Buesgen* (1893) faz notar que justamente sobre os anticlinios as bacterias se agglomeram, o que fala em favor da idéa de que principalmente ahí sejam eliminadas as substancias de irritação. *Buscalioni e Pollaci* (1901-02) observaram, com o seu methodo de collodio, que a transpiração cuticular das folhas é mais forte sobre os anticlinios do que sobre os periclinios. Isto indica maior facilidade de acesso da agua a essas regiões. Mas, onde existe maior permeabilidade á agua, ahí tambem ha mais facilidade da diffusão de substancias dissolvidas. Assim, *Rudolf* pode mostrar (1925) que substancias toxicas penetram mais facilmente nos anticlinios das folhas do que nos periclinios. E' pois muito provavel que nos anticlinios haja maior excreção. Provavelmente isso tambem diz respeito á excreção cuticular referida na pg. 51. E' pois muito comprehensivel a razão pela qual os tubos germinativos dos conidios de *Bremia* e outros fungos penetram de preferencia nos anticlinios. Se nos anticlinios são excretadas as mesmas substancias que nos periclinios, então nestes, devido á menor quantidade de excreção, o limite de irritação (a reacção minima para produzir uma irritação — «*minimum stimulation*» ou «*Reizschwelle*») só será attingido raramente. Mesmo sobre os anticlinios não haverá sempre a mesma quantidade de substancias irritantes, de modo que pode acontecer que um tubo germinativo passe sobre varios anticlinios (o que nos mostram as figuras). Entretanto, ainda nos são desconhecidas as substancias que provocam taes reacções.

### Discussões

Ha innumeradas questões de infecção e de immunidadade que podem ser attribuidas ao effeito de substancias chimicas que podem ser examinadas experimentalmente. Até agora quasi não foram estudados os primeiros estados do ataque do parasita ao hospedeiro, sob o ponto de vista de uma influencia de substancias, provenientes do hospedeiro,

sobre o parasita. Fischer e Gaeumann (1929) citam alguns trabalhos que procuram relacionar a infecção á secreção de substancias. Pode, porém, ser considerado como certo que a penetração do fungo e a preferéncia por determinados pontos devem ser attribuidas a efeitos de certas substancias, a efeitos chimicos do hospedeiro sobre o parasita.

Se, entretanto, a superficie da planta hospedeira diffundir substancias de efeito chimotropico ou chimotactico, então é de esperar que a excreção dependa das condições de vida, sobretudo das condições de nutrição da planta. Temos razões para suppôr que uma planta em condições determinadas de nutrição elimine substancias menos efficazes, ou em tão pouca quantidade, que o grau de irritação não é atingido. Como as excreções estão necessariamente ligadas ao metabolismo geral, qualquer modificação se traduz numa transformação qualitativa ou quantitativa das reacções. A frequente observação que plantas, que recebem uma forte adubação com potassio, são immunes aos ataques de fungos, explicaria-se nesse sentido.

Talvez, ha certas condições, onde *Bremia* só possa penetrar pelos estomatos, como indica Sorauer. Como já dissemos acima, os tubos germinativos dos *Uredosporos* penetram pelos estomatos das folhas, ao passo que os *Basidiosporos* das mesmas *Uredineas*, que se formam na primavera, penetram por aberturas formadas por elles mesmos. Mas, os *Basidiosporos* que se formam no Outomno e que portanto infectam folhas de Outomno, também penetram pelos estomatos (Fischer, 1929). E' provavel que as substancias excretadas na primavera e no Outomno sejam differentes e provoquem, por isso, efeitos também differentes. Assim, por exemplo, a *Botrytis cinerea*, segundo Blackman e Welsford (1916), penetra atravez da epiderme de folhas sãs de *Vicia faba*, ao passo que em folhas doentes entra pelos estomatos. Curtis (1928) diz que *Botrytis*, em folhas de ameixa penetra pelos estomatos, em cereja pela epiderme e em abricots por ambos.

Na *Phytopathologia* merece attenção especial a infecção do parasita, considerada como um efeito final, resultante da reacção do chimotropismo e chimotactismo do fungo, em relação com as excreções attractivas e repulsivas do hospedeiro. Como já vimos, os meios de combate geralmente empregados são toxicos que matam o parasita ou diminuem sua actividade. Talvez seja possivel conseguir outros methodos de combate, não toxicos, que tenham influencia sobre o chimismo da planta hospedeira. Talvez seja possivel encontrar um tratamento que, na alface, attenué e talvez até inverta as causas do chimotropismo e do chimotactismo positivos do parasita.

## ZUSAMMENFASSUNG

Einleitend wird ausgeführt, dass es verschiedene Typen der Infektion gibt. Die Keimschlaeuche einer Anzahl von Pilzen dringen nur durch die Stomata. Andere wieder bevorzugen die antiklinen Ausenwaende der Epidermis, um ins Innere des Wirtes vorzudringen. Das Verhalten des einzelnen Pilzes ist dabei im allgemeinen streng spezifisch. Da die frei schwimmenden Zoosporen und die Keimschlaeuche der Konidien von *Bremia Lactucae* nach unseren Befunden streng spezifische Stellen auf der Oberflaeche des Wirtes (Blattes) aufsuchen, um nur dort einzudringen, muessen wir auf streng spezifische Reize schliessen.

Unter diesen Gesichtspunkten war es besonders interessant, den Infektionsvorgang von *Bremia* zu studieren, weil zwei verschiedene Moeglichkeiten der Infektion, 1) — durch Konidien und 2) — durch Zoosporen gegeben sind. Die Tabelle 1 zeigt das Resultat von kuenstlichen Infektionen mit Konidien. Das Infektionsmaterial stammte von Spontaninfektionen auf *Lactuca*. Die Keimschlaeuche drangen nur bei *Lactuca* und *Senecio* ein, wobei die Weiterentwicklung aber nur auf *Lactuca* erfolgte. Beim Studium des Erfolges der Infektion fiel auf, dass die groesseren Hyphen innerhalb des Blattgewebes die Tendenz haben, sich wie die Konidientraeger dichotom zu verzweigen (Fig. 1). Die Tabelle 2 gibt die Resultate ueber den Ort des Eindringens der Keimschlaeuche auf den Blaettern von *Lactuca sativa* und *Senecio cruentus*. Es zeigt sich, dass die Keimschlaeuche zu mehr als 90 % durch die Antiklinen eindringen (Zahl der beobachteten Faelle in Klammern). Die Figuren 2 bis 8 bringen das Verhalten der Konidien, 2 bis 4 auf *Lactuca* und 5 bis 8 auf *Senecio*. Die Figuren 3, 4 und 6 lassen erkennen, dass der Keimschlauch bisweilen ueber verschiedene Antiklinen oder selbst ueber die Stomata (6) hinweg wachsen kam, ohne dort einzudringen. Der Reiz ist dann offenbar nicht geeignet (Stomata) oder an den ersten ueberquerten Antiklinen zu schwach, um die Bildung eines Appressoriums und die Infektion zu veranlassen. Dagegen zeigen die Figuren 5 und besonders 7, dass der Keimschlauch sofort in die unter der Konidie gelegene Antikline eindringt, weil hier offenbar der Reiz stark genug ist.

Ganz anders ist der Infektionsmodus der Zoosporen. Leider gelang es mir nur einmal, aus den Konidien Zoosporen zu erhalten. Diese reagieren positiv chemotaktisch auf OH- Ionen wie ich fuer die Zoos-

poren von *Plasmopara* naeher feststellen konnte (1929). Der Infektionsmodus ist ebenderselbe wie bei den Zoosporen von *Plasmopara viticola*. Die Zoosporen werden von den Spaltoeffnungen chemotaktisch angelockt und schicken nach Verlust ihrer Beweglichkeit die Keimschlaeuche in die Atemhoehle.

Es kommen also zwei verschiedene und fuer jeden Fall typische Infektionsarten beim gleichen Pilz vor. Beide muessen wohl auf Reizwirkungen an der Blattoberflaeche zurueckgefuehrt werden. Da die Zoosporen positiv auf OH — Ionen reagieren, lag es nahe eine alkalische Reaktion an der Blattoberflaeche zu suchen. Wie der Autor 1934 nachweisen konnte, reagiert die Oberflaeche vieler Blaetter alkalisch. Auch die Blaetter des Salats verursachen in Aqua destillata und im Tau eine alkalische Reaktion (Tab. 3). Die Zoosporen werden also offenbar von der Blattoberflaeche angelockt und bleiben dann an einem Oberflaechenhaeutchen, das sich an den Stomata befindet, haengen.

Das Verhalten der Keimschlaeuche der Konidien muss ebenfalls als stoffliche Reizwirkung gedeutet werden, zumal wir wissen (Arens 1934, Lausberg, 1935), dass die Blaetter grosse Substanzmengen in darauf befindliches Wasser ausscheiden. Nun gibt es eine Anzahl Untersuchungen, die nachweisen, dass die Kutikula ueber den Antiklinen wegsamer ist, als ueber den Periklinen (Buscalioni 1901-02, Rudolf 1925). So wird auch das Verhalten der Keimschlaeuche der Konidien als stoffliche Reizwirkung verstaendlich. Die Keimschlaeuche duerften daher infolge der staerkeren Konzentration der ausgeschiedenen Stoffe ueber den Antiklinen auf diese positiv chemotropisch reagieren.

Wenn aber beide Infektionstypen von *Bremia* auf einem positiven Chemotropismus bzw. auf einer positiven Chemotaxis beruhen, dann waere es moeglich, anstatt von giftigen Bekaempfungsmitteln, die zudem beim Salat nicht anwendbar sind, ungiftige zu benutzen, wenn sie nur die Faehigkeit haben, beide positiven Reaktionen aufzuheben oder in negative zu verkehren.

## BIBLIOGRAPHIA

- ADERHOLD, R., Die Fusikladien unserer Obstbäume. Landw. Jahrb. 25, 1900.
- ARENS, K., Physiologische Untersuchungen an *Plasmopara viticola*, unter besonderer Berücksichtigung der Infektionsbedingungen. Jahrb. f. wiss. Bot. 70, 1929.
- ARENS, K., Die kutikuläre Exkretion des Laubblattes. Jahrb. f. wiss. Bot. 80, 1934.
- BARY, A. DE, Recherches sur le développement de quelques champignons parasites. Ann. Sci. Nat. 20, 1863.
- BLACKMAN, V. H., and E. J. WESFORD, Studies in the physiology of parasitism. II. Ann. Bot., 30, 1916.
- BÜSGEN, M., Über einige Eigenschaften parasitischer Pilze. Bot. Zeitg. 51, 1893.
- BUSCALIONI, L. e G. POLLACCI, L'applicazione delle pellicole di collodio allo studio di alcuni processi fisiologici delle piante e in particular modo della transpirazione. Atti Inst. Bot. Pavia. 7, (1901-02).
- CURTIS, K. M., The morphological aspect of resistance to brownrot in stone fruit. Ann. Bot., 42, 1928.
- FISCHER, E. und E. GÄUMANN, Biologie der pflanzenbewohnenden parasitischen Pilze. Jena 1929.
- HARTER, L. L. and WEIMER J. L., The relation of the enzym pectinase to infection of sweet potatoes by *Rhizopus*. Americ. Journ. Bot., 10, 1923.
- HARTIG, R., Die Buchenkeimlingskrankheit, erzeugt durch *Phytophthora Fagi*. Forstwiss. Centralbl., N. F., 1, 1879.
- KLEBAHN, H., Über die *Botrytis*-Krankheit der Tulpen. Ztschr. f. Pflanzenkrankheiten, 14, 1904.
- LAUSBERG, TH., Quantitative Untersuchungen über die kutikuläre Exkretion des Laubblattes. Jahrb. f. wiss. Bot. 81, 1935.
- MILBRATH, G. D., Downy mildew of lettuce in California. Journ. Agr. Res., 23, 1923.
- MIYOSCHI, M., Botan. Zeitg., 52, 1894.
- RAWITSCHER, F., Wohin stechen die Pflanzenläuse? Ztschr. f. Bot. 26, 1933.
- RUDOLF, K., Epidermis und epidermale Transpiration. Bot. Archiv. 9, 1925.
- RUTTLE, M. L., and FRASER, W. P., A cytological study of *Puccinia coronata*..... Publ. Botany, Univ. Californ. 14, 1927.
- SCHWEIZER, J., Die kleinen Arten bei *Bremia Lactucae* (Regel) und ihre Abhängigkeit von Milieueinflüssen. Verh. Thurgau. Naturforsch. Ges., H. 23, 1923.
- SORAUER, P., Handbuch der Pflanzenkrankheiten. Berlin 1921.
- WORONIN, M., Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Pilze. Frankfurt 1882.
- YOUNG, P. A., Penetration phenomena and facultative parasitism in *Alternaria*, *Diplodia* and other fungi. Bot. Gazz. 81, 1926.