

Diss. ETH Nr. 8520

**FLORISTISCHE UND OEKOPHYSIOLOGISCHE ASPEKTE IM ZUSAMMENLEBEN  
VON TABAKPFLANZEN (NICOTIANA TABACUM L. VAR. SRI) UND  
ENDOPHYTISCHEN PILZEN**

**ABHANDLUNG**  
zur Erlangung des Titels  
Doktorin der Naturwissenschaften  
der  
EIDGENOESSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE  
ZUERICH

vorgelegt von  
LIVIA MARIA BERGAMIN STROTZ  
Dipl. Natw. ETH  
geboren am 24. Juni 1956  
von Vaz-Obervaz/GR und Uznach/SG

Angenommen auf Antrag von  
Prof. Dr. J.J. Oertli, Referent  
Prof. Dr. E. Müller, Korreferent

Zürich 1988

## 5. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurde die Lebensgemeinschaft von Tabakpflanzen und ihren endophytisch lebenden Pilzen zum einen auf floristischer und zum andern auf oekophysiologischer Ebene untersucht.

Im floristischen Teil wurde eine detaillierte Endophyten-Flora von Tabak (Nicotiana tabacum L. und N.sylvestris L.) an drei verschiedenen Standorten der Schweiz (Cadenazzo/TI, Changins/VD, Eschikon/ZH) erstellt. Dabei wurden insgesamt 34 verschiedene Arten bestimmt. Die am häufigsten vorkommenden Pilze waren Alternaria alternata, Aureobasidium pullulans, Cladosporium cladosporioides, Epicoccum purpurascens und Hypoxyylon fragiforme. Diese Pilze wurden für weitere Experimente ausgewählt und durch die für Tabak pathogene Art (virulenter Stamm) Chalara elegans (Thielaviopsis basicola) ergänzt. Die häufig vorkommenden Xylariaceae wurden um vier Stämme (S1, S3, 2041, 2067) der Art Hypoxyylon serpens erweitert. Die Artenverteilung wurde geographisch und zeitlich (Sommer und Herbst) erfasst und die Befallshäufigkeit und -dichte berechnet.

Im oekophysiologischen Teil wurden drei Aspekte im Zusammenleben der beiden Organismen berücksichtigt:

### a) Die Wechselwirkung zwischen lebenden Pflanzen und lebenden Pilzen

In einfachen Inokulationsversuchen an Gewebekulturen zeigte es sich, dass der Pilz Hypoxyylon serpens in der Lage ist, an den Tabakpflanzen wiederholt Blütenknospen zu induzieren; in einem Experiment war dies auch beim Pilz Chalara elegans zu beobachten. Die Ionenaufnahmefähigkeit der Blätter für Rubidium (Kalium) war für alle inokulierten Pflanzen erniedrigt; am deutlichsten ausgeprägt und statistisch gesichert war dieser Effekt bei den Pilzen Alternaria alternata und Hypoxyylon serpens Stämme S1 und 2067; bei Chalara elegans waren die Aufnahmearten ebenfalls tiefer, doch konnten sie rechnerisch nicht überprüft werden. Die Trockensubstanz inokulierter Pflanzen war immer geringer als jene der Kontrollpflanzen; der Anteil an Trockensubstanz in bezug zum Frischgewicht hingegen war erhöht, ebenso der Gesamtphenolgehalt. Der Blattflächenindex

war teilweise grösser, teilweise kleiner als jener von Kontrollpflanzen. Der Aethylengehalt in den Kunststoffdosen lag im Verlauf der Inokulationsexperimente immer unterhalb der Messgrenze.

b) Der Einfluss von Pilzextrakten auf das Wachstum von Tabakkeimlingen.

Die Analysen der Kulturfiltrate zeigten, dass alle getesteten Pilze in der Lage sind, Indolelessigsäure (IAA) an das Kulturmedium abzugeben. Bei den Cytokininen (t-Z + t-ZR, IPA) fiel das Resultat ebenfalls positiv aus für alle ausser einem Pilz (Chalara elegans). Auffallend hohe Werte an IAA wurden für Aureobasidium pullulans bestimmt, und deutlich höhere Cytokininwerte fanden sich bei der Gattung Hypoxyylon. Die gefundenen Mengen sind, soweit Literatur darüber existiert, ähnlich wie die Werte anderer Autoren. - Im Keimlingstest zeigten die Kulturfiltrate vorwiegend eine wachstumsverzögernde Wirkung auf die Tabakpflanzen. Einzig in tiefen Konzentrationen bewirkten Aetherextrakte eine leichte Wurzelverlängerung (IAA?). Der Einfluss der Filtrate auf die Keimrate und den Verlauf der Keimung ist unklar. Hohe Dosen synthetischer Auxine (NAA) verändern die Wurzelmorphologie und das Wachstum in anderer Weise, als dies von Harms (1982, persönliche Mitteilung) vermutet wurde; die Wurzelverkürzung lässt sich nicht direkt mit hohen Dosen von Auxin erklären.

c) Das Wachstumsverhalten von Endophyten bei Anwesenheit von Pflanzenextrakten (Methanol- und Aetherauszüge) im Kulturmedium.

Methanol-Blattextrakte beschleunigten bei den Pilzen Alternaria alternata und Epicoccum purpurascens das Flächenwachstum; bei allen andern Pilzen blieb es unverändert oder wurde verlangsamt. Aether-Extrakt erhöhte für den Pilz Chalara elegans und etwas weniger deutlich für Epicoccum purpurascens die Ausbreitungsgeschwindigkeit. Verlangsamt oder gleich blieb das Wachstum für die andern getesteten Pilze. Beim verwendeten Stamm von Aureobasidium pullulans induzierten beide Typen von Blattextrakten die Konidienbildung und beim Pilz Alternaria alternata wurde diese durch beide Extrakte stark gefördert.

## SUMMARY

The present study investigates the life system of tobacco plants and their endophytic fungi from floristic and oekophysiological standpoints.

In the floristic section, a detailed list of the endophytic flora of tobacco (Nicotian tabacum L. and N. sylvestris L.), at three sites in Switzerland (Cadenazzo/TI, Changins/VD, Eschikon/ZH), was compiled; thirty-four species were determined. The most common fungi were Alternaria alternata, Aureobasidium pullulans, Cladosporium cladosporioides, Epicoccum purpurascens and Hypoxyton fragiforme. These fungi were chosen for further experiments together with Chalara elegans (Thielaviopsis basicola), a species pathogenic for tobacco (virulent strain). The common Xylariaceae were extended by adding four strains (S1, S3, 2041, 2067) of the species of Hypoxyton serpens. The distribution of the species was determined according to location and season (summer and autumn); density and rate of incidence of infection were calculated.

In the oekophysiological section, three aspects of the association of the two organisms were covered:

### a) The interaction between living plants and living fungi

In simple inoculation experiments with plants (tissue culture), it was demonstrated that the fungus Hypoxyton serpens is capable of repeatedly inducing budding (this was also observed in one experiment with the fungus Chalara elegans). The ion uptake of rubidium (potassium) was reduced for the leaves of all inoculated plants; this effect was most pronounced and statistically significant for the fungi Alternaria alternata and Hypoxyton serpens (strains S1 and 2067); the rate of ion uptake for Chalara elegans was also lower but could not be checked mathematically. The dry weight of inoculated plants was always lower than that of the control plants; on the other hand, the ratio of dry weight to fresh weight was higher for the inoculated plants as was the total content of phenols. The leaf area index was sometimes higher, partly lower than that of the reference plants. Ethylene in the plastic boxes throughout the inoculation experiments was indetectable.

b) The influence of fungal extracts on the growth of tobacco seedlings

The analysis of the culture extract showed that all tested fungi were capable of releasing indoleacetic acid (IAA) into the culture medium. Except for Chalara elegans, the results were also positive for cytokinins (t-Z + t-ZR, IPA). The fungus Aureobasidium pullulans showed very high values for IAA and the genus Hypoxylon even higher values for cytokinins. To the limited extent that literature exists on this subject, similar values were also found by other authors. In a seedling bioassay, it was found that the fungal culture filtrate inhibited the growth of tobacco plants to a great extent. One exception was found with low concentrations of ether extracts which caused a slight increase in the lengths of the roots (IAA?). The influence of the filtrate on the rate and course of germination is not clear. Large doses of synthetic auxins (NAA) changed the morphology of the root and the growth of the plant in a manner different to that expected by Harms (1982, personal communication); the shorter roots cannot therefore be explained by high doses of auxins.

c) Growth behaviour of endophytes in the presence of plant extracts (methanol and ether extracts) in the culture medium

Methanol leaf extracts increased the rate of growth expansion for the fungi Alternaria alternata and Epicoccum purpurascens; for all other fungi, the rate of growth expansion remained the same or was reduced. The ether extract increased the rate of expansion for Chalara elegans and to somewhat lesser extent, for Epicoccum purpurascens. The rate of expansion remained the same or was reduced for all other tested fungi. Both leaf extracts induced the production of conidia for the tested strain of Aureobasidium pullulans; for Alternaria alternata the production of conidia was found to be enhanced.