

Syntheseaktivität und Grösse der Zellkerne von *Phaseolus vulgaris* nach Infektion mit *Uromyces phaseoli typica*

W. H. FUCHS und J. TSCHEN

Institut für Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz der Georg August Universität, Göttingen, Deutschland Bundesrepublik

Genehmigt 29. August, 1968

Zusammenfassung

In rostinfizierten Bohnenblättern werden acht Tage nach der Infektion ^{14}C -Orotsäure und ^3H -Uridin in die Zellkerne von Wirt und Parasit eingebaut, wobei relativ hohe Aktivität in den Wirtskernen unter der Pustel gefunden wird. Vorbehandlungen mit Actinomycin D verhindert diesen Einbau zum grössten Teil. Die Durchmesser der Wirtskerne sind im Pustelbereich klein und nehmen nach aussen stetig zu; die Nucleolen sind dagegen im Bereich der Pusteln ebenso gross wie in 750–1000 μ Abstand vom Pustelrand, und im dazwischen liegenden Bereich kleiner. Unter den Pusteln von *Uromyces phaseoli typica* treten in grösserem Umfang Mitosen auf; die relative Zahl nimmt vom Pustelkern aus gegen das ungestörte Gewebe zu ab. Die Ergebnisse werden im Blick auf verschiedene Typen der Wirt-Parasit-Beziehung diskutiert.

Einleitung

Stoffwechsel und Wachstum der Wirtspflanze werden in mannigfacher Weise auch durch solche obligaten Parasiten beeinflusst, die nur diskrete, örtlich begrenzte Infektionsstellen hervorrufen (cf. Fuchs, 1961, 1965; Shaw, 1963, 1967; Daly, 1967 u.a.). Der Einfluss des Infekts zeigt sich noch in einer nicht mehr vom Pilz durchwachsenen Gewebezone ("Reizfeld" nach Roemer et al., 1938). Die hohe Stoffwechselaktivität macht diese Zone zu einem Attraktionszentrum ("Dominanzfeld", Shaw, 1963), welches durch gesteigerten Stoffverbrauch und Korrelationsstörungen die benachbarten Gewebe und die ganze Pflanze mittelbar beeinflusst.

Der Einfluss infektiogener Veränderungen auf das ganze Organ, bzw. die ganze Pflanze, ist eine Funktion der Infektionsdichte (cf. Yarwood und Cohen, 1950; Fuchs, 1965; Daly, 1967 u.a.). Dies belastet biochemische und stoffwechselphysiologische Vergleiche zwischen nichtinfizierten und infizierten Organen bei hohen Infektionsdichten: die Gesamtbelastung beschleunigt Alterungsvorgänge, die die Veränderungen im Infektionsfeld überdecken, aber auch den Verlauf der eigentlichen Wirt-Parasit-Beziehung beeinflussen. Diese lässt sich bei geringer Infektionsdichte leichter isolieren, so dass auch biochemische Unterschiede zwischen diesem und dem "Zwischengewebe" erfasst werden können (De la Isla, 1967; Tschén, 1966). Solche zeigen sich z.B. auch im Nucleinsäurehaushalt (cf. Heitefuss, 1966a, b) und in Veränderungen der Zellkerne.

Methodik

Primärblätter von *Phaseolus vulgaris*, cv. 'Favorit' (Anzucht im Thermostaten bei 25°–26°C, ca. 75% relative Luftfeuchte, 16 Stunden 6000 bis 8000 Lux in Pflanzenhöhe, weiterwachsender Spross am Tage nach der Inokulation und weiterhin mit Abstand von 5 Tagen dekapitiert) wurden am 10. Tage nach der Aussaat mit Uredosporen von *Uromyces phaseoli* (Pers.) Wint. var. *typica* derart beimpft, dass etwa 6 Pusteln je cm² ausbrachen. Für "Fütterungsversuche" wurden meist am 6. bis 8. Tage p.i. (post infectionem = nach der Infektion) Blattscheibchen (4 mm Ø) ausgestanzt und auf entsprechenden Lösungen schwimmen gelassen. Für histologische Beobachtungen wurde in Carnoy-Gemisch (Aethylalkohol: Eisessig: Chloroform 30:5:15 vol./vol.) fixiert, in der üblichen Weise in Paraffin übergeführt und die Mikrotomschnitte mit Giemsa-Gemisch (Merck 9203, Gude et al., 1955) oder Methylgrün-Pyronin, zu speziellen Beobachtungen der Kerne auch mit Hämotoxylin nach Heidenhain oder Ehrlich (Romeis, 1948), gefärbt. Mikroautographie wurde nach dem Verfahren von von Sydow (1966) nach Eintauchen der Schnitte in 2% Perchlorsäure (20 Minuten bei 4°C) zur Entfernung löslicher Nucleotide (Woods, 1959) auf Kodak-Autographic-Strippingfilm AR 10 durchgeführt (näheres cf. Tschen, 1966).

Ergebnisse und Diskussion

Tschen (1966, Hinweis bei Heitefuss, 1966b) zeigte, dass ¹⁴C-Orotsäure (Schwimmversuch, 4 Stunden auf $2,87 \times 10^{-4}$ M, 9 µC/ml) am 6. bis 8. Tage p.i. vor allem in der Umgebung der Rostpusteln gespeichert wird. Es wurde erstmalig eine deutliche Markierung der Kerne der aktiven intramatrikalen Hyphen, aber auch anderer Teile des Rostpilzes neben der Markierung der Wirtskerne, besonders der Nucleolen im Infektionsfeld festgestellt. Die Aktivität ist vor allem in RNS gespeichert; sie wird durch deren Zerstörung mit Säuren oder RNase-Behandlung zu etwa 90% in lösliche Verbindungen übergeführt, während eine Behandlung mit DNase das jeweilige Bild nicht

Abb. 1. Einbau von ¹⁴C-Orotsäure in Hyphen von *Uromyces phaseoli*. A: ohne, B: mit Vorbehandlung mit Actinomycin D. (Vergrößerung 550 ×)

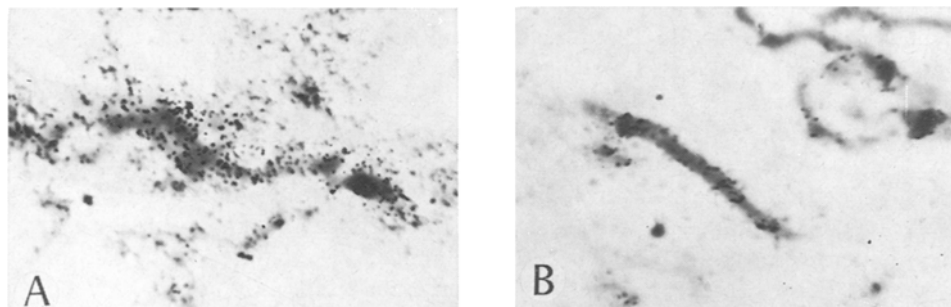


Fig. 1. Incorporation of ¹⁴C-oroic acid in hyphae of *Uromyces phaseoli*. A: without, B: with pretreatment with actinomycin D. (Magnification × 550)

Fig. 1. Inbouw van ¹⁴C-orotzuur in hyfen van *Uromyces phaseoli*. A: zonder, B: met voorbehandeling met actinomycine. (Vergroting 550 ×)

Abb. 2. Einbau von ^3H -Uridin in Zellkerne des Bohnengewebes. A: ohne, B: mit Vorbehandlung mit Actinomycin D. (Vergrößerung 600 \times)

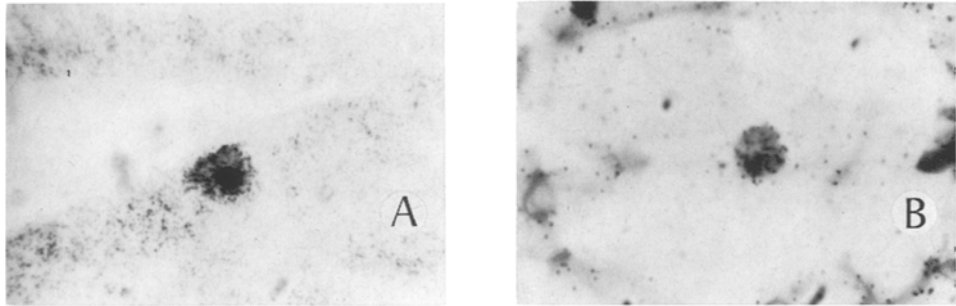


Fig. 2. Incorporation of ^3H -uridine in nuclei of bean tissues. A: without, B: with pretreatment with actinomycin D. (Magnification $\times 600$)

Fig. 2. Inbouw van ^3H -uridine in kernen van bonneweefsel. A: zonder, B: met voorbehandeling met actinomycine D. (Vergroting 600 \times)

verändert. Entsprechendes beobachtete Heitefuss an *Puccinia graminis tritici* auf Weizen (cf. Tschen, 1966). Der Einbau von ^3H -Uridin (Schwimmversuche; 4 Stunden auf $7,5 \times 10^{-6}$ M, 25 $\mu\text{C}/\text{ml}$) wurde bei beiden Objekten nachgewiesen. An rostbefallenen Weizen stellten auch Bhattacharya und Shaw (1967) die Markierung der Kerne von Wirt und Parasit mit ^3H -Uridin und ^3H -Cytidin im Gegensatz zu den Befunden von Nielsen und Rohringer (1963) fest.

Einen Einbau von ^3H -Orotsäure fanden auch Dekhuijzen et al. (1967) in Hyphen von *U. phaseoli*, welche durch Zentrifugieren aus dem Gewebe isoliert worden waren. Zwar ist der Vergleich von deren Bildern mit den unsrigen durch die unterschiedliche Schärfe der ^{14}C und ^3H Autoradiogramme erschwert. Jedoch scheint die Intensität und Verteilung der Aktivität nach 2–5-stündiger Behandlung mit Orotsäure in isolierten und in intramatrikalen Hyphen sehr ähnlich zu sein. Dies deutet darauf hin, dass die Isolierung der Hyphen deren RNS-Synthese wenig beeinträchtigt und dass das Wirtsgewebe den Zutritt der Orotsäure zum Pilz nicht behindert; wir erhielten einen entsprechenden Einbau von ^{14}C -Orotsäure wie in Schwimmversuchen durch Einstellen abgeschnittener Sprosse in Orotsäurelösung.

Tschen (1966) konnte durch Vorbehandlung der Scheibchen mit Actinomycin-D (Actinomycin-C 1 nach H. Brockmann) (Schwimmethode; 13 Stunden auf 40 ppm Actinomycin, anschliessend 4 Stunden auf Actinomycin + ^{14}C -Orotsäure; Vergleichsmuster während der Vorbehandlung auf sterilem destilliertem Wasser) den Einbau der ^{14}C -Orotsäure auf etwa 10% der in den Vergleichsmustern eingebauten Menge vermindern und damit nachweisen, dass der Einbau über eine DNS-abhängige RNS-Synthese verläuft. Eine gewisse Markierung war auch nach Actinomycin-Vorbehandlung in den Kernen von Wirt und Parasit in ähnlicher Verteilung wie in den vorhergehenden Versuchen zu bemerken. Eine Hemmung des ^{14}C -Orotsäure-Einbaues in Schwarzrost-befallenen Weizen durch Actinomycin-Behandlung stellte Heitefuss gleichzeitig fest (Heitefuss, unveröffentlicht), ähnliches auch Shaw (1967) bei keimenden Sporen von *Melampsora lini* für den Einbau von ^3H -Cytidin. Weitere Versuche liessen auch eine Verminderung des ^3H -Uridin-Einbaues durch Actinomycin-Vorbe-

handlung an unserem Objekt erkennen, jedoch scheint sich diese Hemmung auf den Einbau in Pilzkerne weniger auszuwirken, als auf den in Wirtskerne. Dies zu deuten wäre verfrüht.

Bei den Einbauversuchen fiel auf, dass sich die höchste Aktivität in den Kernen und Nucleolen der Wirtszellen unterhalb der Pusteln und in der benachbarten, vom Pilz durchwachsenen Zone fand und gegen das "gesunde" Gewebe stetig abnahm. Ferner fiel auf, dass die Zellkerne unter den Pusteln überraschend klein waren, vereinzelt aber Mitosen zeigten. Dies veranlasste eine nähere Untersuchung der Kernverhältnisse in verschiedenen Zonen um die Pusteln bis zu einem Abstand von 1 mm vom Pustelrand am 8. Tage p.i. in Paraffinschnitten ($10\ \mu$) (Tabelle 1).

Der Durchmesser der *Chloroplasten* (Färbung nach Giemsa oder mit Methylgrün-Pyronin) betrug in den Zellen unter der Pustel nur etwa ein Drittel des Durchmessers anscheinend "normaler" Chloroplasten in $750\text{--}1000\ \mu$ vom Aussenrand der Pustel. Er nimmt von innen nach aussen stetig zu. Dies entspricht Beobachtungen an anderen Objekten, wie auch der Verminderung des Chloroplastengehaltes in der Umgebung einer Pustel am 14. Tage p.i. (Tschen, 1966).

In den Wirtszellen unter der Pustel und in ihrer unmittelbaren Nachbarschaft fand sich ein grösserer Anteil von *Kernen* mit 2 Nucleolen als in den äusseren Bezirken, bzw. in nichtinfizierten Blättern (Hämatoxylinfärbung). Daher wurden für vergleichende Messungen nur Interphase-Kerne mit einem Nucleolus herangezogen. Gemessen wurden an 5 unabhängigen Mustern in jeweils 5 verschiedenen Schnitten je 5 wahllos herausgegriffene Kerne, also je Zone 125 Kerne. Eine Varianzanalyse ergab, dass unbeschadet gewisser Unterschiede in der durchschnittlichen Kerngrösse in den 5 Mustern die Grössendifferenzen zwischen den einzelnen Zonen hochsignifikant sind: Der Kerndurchmesser ist unter unseren Bedingungen in den ungeschädigten Zellen unter der Pustel am kleinsten und nimmt nach aussen stetig zu; die Nucleolen dagegen zeigen im Pustelbereich die gleiche Grösse wie in der 750 bis $1000\ \mu$ von der Pustelperipherie entfernten Zone, in dem dazwischen liegenden Bereich dagegen nur etwa 85% dieser Grösse. Die Variabilität der Nucleolen-Durchmesser ist grösser als die der Kerndurchmesser, jedoch sind die genannten Unterschiede signifikant. Das Grössenverhältnis von Nucleolus zu Kern ist daher im Pustelbereich eindeutig enger als in den äusseren Zonen. Dies deutet daraufhin, dass unter der Pustel "jüngere" Kerne vorkommen.

Kernteilungen (Hämatoxylinfärbung) fanden sich in hoher Zahl vor allem im Gewebe unter der Pustel; es konnten alle Mitosephasen in normaler Ausprägung beobachtet werden; die relativ geringe Grösse der Zellen in den Teilungsbereichen stützt die Annahme, dass es sich um normale Teilungsvorgänge handelt.

In Vorversuchen wurde festgestellt, dass die Teilungen unter unseren Bedingungen mit einem Maximum zwischen 5 und 7 Uhr morgens auftreten. Daher wurden etwa um 6 Uhr Proben von 5 verschiedenen Pflanzen entnommen und in jeweils 5 Schnitten die Anzahl der Kernteilungen in den verschiedenen Zonen des Infektionsfeldes festgestellt. Da die verwendete Technik eine sichere Erkennung von Telophasen sehr erschwerte, wurde die Summe der beobachteten Pro-, Meta- und Anaphasen der Zahl der eindeutigen Interphasenkerne gegenübergestellt. Die Unterschiede der Teilungsfrequenz in den verschiedenen Zonen sind signifikant.

Die Kernteilungsfrequenz beträgt in Pustelnähe ein Vielfaches des im äussersten Bereich festgestellten Wertes und fällt stetig mit der Entfernung von der Pustelperipherie

Tabelle 1. Beobachtungen an Chloroplasten, Kernen und Nucleolen in verschiedenen Zonen um die Pusteln am 8. Tage nach der Inokulation

		Mittlere Durchmesser (μ) von		Relation Nucleolus/Kern	Zahl der Kerne		Relation Mitosen/ Interphasen
		Chloroplasten	Kern		beobachtet	in Mitose	
Pustelbereich von der Pustelgrenze	0 – 250 μ	2,50	3,94	1,21	440	154	0,54
	250 – 500 μ	3,30	5,50	1,05	673	149	0,28
	500 – 750 μ	5,00	6,70	1,02	591	110	0,23
	750 – 1000 μ	6,70	7,39	1,07	647	102	0,19
		7,70	8,32	1,23	655	71	0,12

Table 1. Observations on chloroplasts, nuclei, and nucleoli in different zones around rust pustules, on the 8th day after infection
Tabel 1. Waarnemingen aan chloroplasten, kernen en nucleoli in verschillende zones om de sporehoopjes, op de 8e dag na infectie

Abb. 3. Mitosen im Gewebe unterhalb der Rostpustel. A: Metaphase, B: Anaphase. (Vergrößerung 1050 \times)

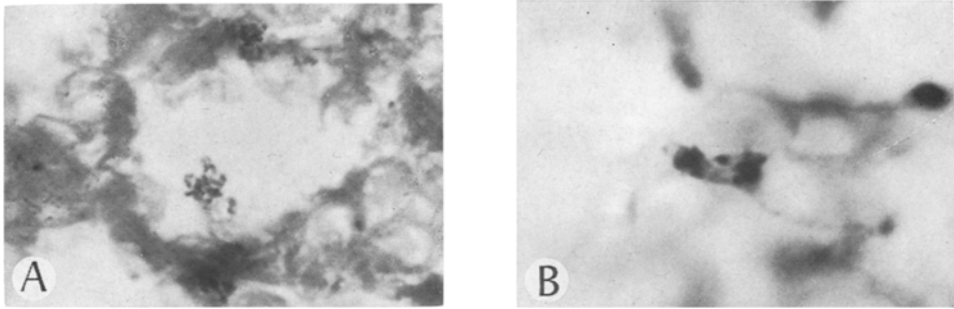


Fig. 3. Mitoses in bean tissue beneath a rust pustule. A: metaphasis, B: anaphasis. (Magnification \times 1050)

Fig. 3. Mitosen in boneweefsel onder een roest-sporenhoopte. A: metaphase, B: anaphase. (Vergroting 1050 \times)

auf einen auch im “gesunden” Gewebe vorkommenden Wert ab.

Um festzustellen, ob derartige Kernteilungen während der Entwicklung der Rostpusteln regelmässig auftreten, wurde mit vereinfachter Methodik (Quetschpräparate, Carminessigsäurefärbung) die Teilungshäufigkeit ohne Berücksichtigung der Verteilung innerhalb der Schnitte vom 7. bis 10. Tage p.i. (post infectionem) untersucht. Die maximale Teilungshäufigkeit lag zwischen dem 8. und 9. Tage p.i. Mit diesem Zeitpunkt stimmt überein, dass unter ähnlichen, aber nicht identischen Bedingungen durchgeführte Versuche mit dem gleichen Objekt eine überraschende sprunghafte Zunahme des DNS-Gehaltes rostinfizierter Blätter zwischen dem 7. und 9. Tage p.i. ergeben hatte (de la Isla, 1967; Bauer, 1968) und sich der über den ^{32}P -Einbau festgestellte Nucleinsäureumsatz auf einem hohen Wert befindet (de la Isla, 1967). Auch der bisher isoliert stehende Befund von Staples und Ledbetter (1960), dass ^3H -Thymidin als DNS-Baustein in die pustelnahen Wirtskerne rostinfizierter Bohnenblätter eingebaut wird, fügt sich gut diesen Ergebnissen an.

Schlussbetrachtung

All dies steht im Gegensatz zu den Befunden an dem System *Puccinia graminis tritici* – *Triticum aestivum*. Die Kerngrösse im Pustelbereich nimmt von innen nach aussen ab (Whitney et al., 1962; Bhattacharya et al., 1965). Der DNS-Gehalt der Kerne nimmt nach cytohistochemischen (Whitney et al., 1962; Bhattacharya und Shaw, 1967) und analytischen (Heitefuss, 1966a) Untersuchungen mit fortschreitender Rostentwicklung nicht zu, sondern nach dem 6. bis 8. Tage p.i. ab. Ein Einbau von ^3H -Thymidin findet nicht statt (Bhattacharya und Shaw, 1967; Shaw, 1967). Es ist allerdings zu berücksichtigen, dass unsere Untersuchungen mit erheblich geringeren Infektionsdichten durchgeführt wurden als die der genannten Autoren.

Unsere Befunde stehen dagegen an rostinfizierten Bohnen in voller Übereinstimmung mit den Beobachtungen von Yarwood und Cohen (1950), welche “Hypertrophie” des

Bohnenblattes durch Rostinfektion von 1–200 Pusteln/cm² eingehend beschrieben. Die von uns gewählte Pusteldichte lag in dem für maximalen Flächenzuwachs des rostinfizierten Blattes gekennzeichneten Bereich; in den Versuchen von Yarwood und Cohen (1950) hebt sich das infizierte Blatt durch fortschreitendes Wachstum gerade vom 5. bis 7. Tage p.i. von dem langsam seiner Endgrösse zustrebenden Gegenblatt ab. Wir haben entsprechende Messungen bisher nicht durchgeführt. Unter unseren Bedingungen vermindert die regelmässige Entfernung der Sprossspitze den Wettbewerb zwischen dem apikalen Attraktionszentrum und dem konkurrierenden Dominanzfeld des infizierten Blattes. Dadurch sind trotz der relativ geringen Lichtintensität günstige Bedingungen für das Weiterwachsen des Primärblattes gegeben.

Bei geringer Infektionsdichte tritt in verträglichen Wirt–Parasit-Kombinationen nach dem Haften der Infektion zuerst eine Stabilisierung der Wirt–Parasit-Beziehungen ein. Das Infektionsfeld wird zum Attraktionszentrum und bewirkt verstärkten Nährstoff-zustrom, u.U. unter vorübergehender Erhöhung der Photosyntheseleistung, die später in Folgeblättern stärker eintritt (cf. Daly, 1967). Die nichtbefallenen Gewebe werden kaum gestört, jedoch aktiviert; während der Ausbildung der Pusteln übt der Pilz einen Teilungs- und Wachstumsreiz auf die Wirtsgewebe aus. Es kommt zu örtlicher Hyperplasie unterhalb und in der Umgebung der Pusteln. Es wäre denkbar, dass solche Reize mit der Zeit grössere Teile der Blattfläche, insbesondere meristematische Zonen, erfassen, deren Aktivität erhalten bleibt und zu weiterer Vergrösserung der Blattfläche führt. So lange die günstige Nährstoffversorgung bestehen bleibt, hypertrophieren auch die Zellen der Blattgewebe (Yarwood und Cohen, 1950). Eine Weiterentwicklung des Rostpilzes (Sekundärpustelbildung) bleibt möglich. In solchen Fällen bleibt also auf Grund der Ausgeglichenheit der Wirt–Parasit-Beziehung und der Empfänglichkeit des Wirtes für bestimmte, im Infektionsfeld gebotene Reize, die eusymbiotische Phase für längere Zeit bestehen, falls nicht Überbelastung oder Unterversorgung im infizierten Organ zu einer Alterung der “Zwischengewebe” führt, während die Infektionsfelder selbst ihre Aktivität noch längere Zeit erhalten (“Grüne Inseln”).

Unsere Versuche stützen Yarwood's (1967) These, dass Infektionen biotropher Parasiten bei geringer Infektionsdichte einen stimulierenden und vitalitätserhöhenden Einfluss auf die Wirtspflanze ausüben können. Die eusymbiotische Phase der Wirt–Parasit-Beziehung (Roemer et al., 1938) wird verlängert, während diese bei hohen Infektionsdichten, bzw. in rostkranken Getreideblättern schon wenige Tage nach Inokulation in eine dyssymbiotische Phase umschlägt. Die biochemisch-stoffwechselphysiologisch erfassbaren Veränderungen in rostinfizierten Weizen, bzw. Bohnen sind überwiegend ähnlich. Freilich können sie je nach der Veranlagung der Wirtspflanze sich unterschiedlich auswirken, wie Sequeira (1963) für die infektiogene Steigerung des Indolyllessigsäurespiegels durch Rostpilze ausführt.

Unterschiede in der Reaktionsfähigkeit der Wirtspflanzen könnten auf diesem Wege die Phaseabfolge des Krankheitsprozesse bestimmen. Die vermehrte Bildung oder Aktivierung von Cytokinin im Zuge der Auseinandersetzung von Wirt und Parasit (Kiraly et al., 1967) können durch Erhaltung des anabolischen Stoffwechsels auch bei Alterung der Zwischengewebe von Bedeutung sein.

Allerdings glauben wir nicht, dass die Wachstumsregulatoren allein die letzte Erklärung für die beschriebenen Erscheinungen bieten. Diese liegen, ähnlich wie die Entscheidung über die Verträglichkeit einer Wirt–Parasit-Kombination, in noch nicht hinreichend bekannten Eigenschaften der Partner, insbesondere auch der Wirtspflanze.

Dies mahnt zur Vorsicht gegenüber Verallgemeinerungen von Befunden an einzelnen, in der Analyse bevorzugten Modellen und widerspricht einer zu weit gehenden Analogisierung biotroph parasitärer Prozesse mit beschleunigter Alterung oder einem Dauerstress. Ob und wann diese mitspielen, hängt von der Infektionsdichte ab. So lange diese gering bleibt, besteht die Möglichkeit, dass biotrophe Parasiten mit ihren Wirten im Sinne von Yarwood (1967) schadlos, ja unter Förderung des Wirtes zusammenleben.

Dank

Wir danken Fräulein V. Hrasche und Herrn Diplomlandwirt Hellwig für technische Hilfe, den Kollegen der Arbeitsgruppe für kritische Diskussion und der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die freundliche Förderung.

Abstract

Synthetic activity and nuclear size of Phaseolus vulgaris after infection with Uromyces phaseoli typica

Orotic acid- ^{14}C and uridine- ^3H was applied to floating discs of tissue from main leaflets of *Phaseolus vulgaris* infected with *Uromyces phaseoli*. Label appeared not only in the nuclei of the host cells but also in the nuclei of actively growing hyphae of the rust, as shown by Tschen (1966). The label is accumulated by DNA-dependent RNA synthesis. Pretreatment with actinomycin D limits labelling to about 10%. The label is destroyed by treating the tissue with RNase, not with DNase.

In sections of host tissues near the rust pustule, the activity was higher in host nuclei near the pustule. In this region there were many dividing nuclei. The nuclei are smaller directly below the pustule than in zones of tissue further away from the centre of infection. Cell divisions are most frequent on the 7th to 8th day after inoculation.

The results contrast with those on wheat with rust and are considered as a stimulation of the host tissue in a progressed stage of host-parasite relationship; it depends on the density of infection. The results are consistent with observations of Yarwood and Cohen (1950) on hypertrophy of bean leaves with rust.

Samenvatting

Synthetische activiteit en grootte van de celkernen van Phaseolus vulgaris na infectie met Uromyces phaseoli typica

Met orotzuur- ^{14}C , toegediend aan drijvende schijfjes van primaire bladeren van *Phaseolus vulgaris* geïnoculeerd met *Uromyces phaseoli*, is het niet slechts mogelijk de kernen van de waardplant te merken, maar zoals aangetoond door Tschen (1966) ook die van de actief groeiende hyphen van de roest. ^{14}C -accumulatie vindt plaats door van DNA afhankelijke RNA-synthese. Voorbehandeling met actinomycine D voorkomt de inbouw van ^{14}C voor ongeveer 90%. De substitutie wordt teniet gedaan door behandeling van het weefsel met RNase, niet met DNase.

Coupees van het waardplantweefsel onder en rond het roest-sporehoopje geven een grotere activiteit in de waardplantkernen te zien dichtbij het sporehoopje. In deze om-

geving zijn vele delende kernen te zien. Onder het sporehoopje zijn de kernen kleiner dan in de weefselgedeelten die verder van het infectiecentrum zijn verwijderd. Celdelingen vinden het meest plaats 7–8 dagen na de inoculatie.

De resultaten, strijdig met waarnemingen aan door roest aangetaste tarwe, worden beschouwd als een activering van het waardplantweefsel in een vergevorderd stadium van de waardplant–parasiet-relatie, afhankelijk van de mate van infectie. Deze resultaten stemmen overeen met waarnemingen van Yarwood en Cohen (1950) betreffende hypertrofie bij door roest aangetaste bonebladeren.

Literatuur

- Bauer, M. L., 1968. Die Veränderungen des Nukleinsäuregehaltes im Blatt von *Phaseolus vulgaris* var. *typica*. *Phytopath. Z.* 61: 191–196.
- Bhattacharya, P. K. and Shaw, M., 1967. The physiology of host–parasite interaction. XVIII. Distribution of tritium-labeled cytidine, uridine and leucin in wheat leaves infected with stem rust fungus. *J. Bot.*, Lond. 45: 535–563.
- Bhattacharya, P. K., Naylor, J. M. and Shaw, M., 1965. Nucleic acid and protein changes in wheat leaf nuclei during rust infection. *Science* 150: 1605–1607.
- Daly, J. M., 1967. Some metabolic consequences of infection by obligate parasites. In: C. J. Mirocha and I. Uritani (Editors), *The dynamic role of molecular constituents in plant–parasite interaction*. *Am. Phytopath. Soc. St. Paul/Minn.*
- Dekhuijzen, H. M., Singh, H. and Staples, R. C., 1967. Some properties of hyphae isolated from bean rust fungus. *Contr. Boyce Thompson Inst. Pl. Res.* 23: 367–372.
- Fuchs, W. H., 1961. Betrachtungen zum Resistenzproblem. *Ber. dt. bot. Ges.* 84: 343–358.
- Fuchs, W. H., 1965. Wirt–Parasit–Beziehungen. *Meded. LandbHogesch. OpzoekStns Gent* 30: 1336–1352.
- Gude, W. D. Y., Upton, A. C. and Odell, T. T., 1955. Giemsa staining of radioautograms prepared with stripping film. *Stain Technol.* 30: 161–162.
- Heitefuss, R., 1966a. Untersuchungen zur Physiologie des temperaturgesteuerten Verträglichkeitsgrades von Weizen und *Puccinia graminis tritici*. II. Veränderungen des Nucleinsäurestoffwechsels. *Phytopath. Z.* 55: 67–85.
- Heitefuss, R., 1966b. Nucleic acid metabolism in obligate parasitism. *A. Rev. Phytopath.* 4: 221–244.
- Isla, M. L. de la, 1967. Beitrag zum Ribonucleinsäurestoffwechsel von *Phaseolus vulgaris* nach Infektion mit *Uromyces phaseoli* var. *typica*. Dissertation, Göttingen.
- Kiraly, Z., El Hammady, M. and Poszar, B. I., 1967. Increased cytokinin activity of rust infected bean and broad bean leaves. *Phytopathology* 57: 93–94.
- Nielsen, J. and Rohringer, R., 1963. Incorporation of cytidine-³H into the primary leaves of wheat following infection with *Puccinia recondita*. *Can. J. Bot.* 41: 1501–1508.
- Roemer, T., Fuchs, W. H. und Isenbeck, K., 1938. Die Züchtung resistenter Rassen der Kulturpflanzen. *Kühn Arch.* 45: 1–427.
- Romeis, B., 1948. *Mikroskopische Technik*. Leipzig-Verlag, München.
- Sequeira, L., 1963. Growth regulations in plant disease. *A. Rev. Phytopath.* 1: 5–30.
- Shaw, M., 1963. The physiology and host–parasite relations of the rusts. *A. Rev. Phytopath.* 1: 259–294.
- Shaw, M., 1967. Cell biological aspects of host–parasite relations of obligate fungal parasites. *Can. J. Bot.* 45: 1205–1220.
- Staples, R. C. and Ledbetter, M. C., 1960. Incorporation of tritium-labelled thymine with nuclei of rusted bean leaves. *Contr. Boyce Thompson Inst. Pl. Res.* 20: 349–351.
- Sydow, B. von, 1966. Über den Einbau von ¹⁴CO₂ in Weizenblätter nach Infektion mit *Puccinia graminis tritici*. *Phytopathology* 56: 78–96.
- Tschen, J., 1966. Die Verteilung einiger durch *Uromyces phaseoli* (Pers.) Wint. induzierter Veränderungen des Stoffwechsels im Primärblatt von *Phaseolus vulgaris* L. Dissertation, Göttingen.
- Whitney H. S., Shaw, M. and Naylor, J. M., 1962. The physiology of host–parasite relations. XII.

- A cytophotometric study on the distribution of DNA and RNA in rust-infected leaves. *Can. J. Bot.* 40: 1533–1544.
- Woods, P. S., 1959. RNA in nucleic-cytoplasmatic interaction. *Brookhaven Symp. Biol.* 12: 153–174.
- Yarwood, C. E., 1967. Pathogens as organisms out of place. *Phytopath. Z.* 58: 305–314.
- Yarwood, C. E. and Cohen, M., 1950. Hypertrophy from the stage of bean rust. *Bot. Gaz.* 112: 293–300.