

ISSN 0077-6149 Abhandlung 40/1985	Neue Erkenntnisse in der Pilzkunde	Seite: 41 - 46	Naturhistorische Gesellschaft Nürnberg e.V. Gewerbemuseumsplatz 4 · 8500 Nürnberg 1
--------------------------------------	---------------------------------------	-------------------	--

Eine Einführung in die Pilzmikroskopie

NORBERT BOCK, Hallerstraße 27, D-8500 Nürnberg

Eingegangen am 15. 5. 1985

Bock, N. (1985) — An Introduction into the Microscopy of Mushrooms.

Summary: The technology of the microscopy of mushrooms will be explained in a distinct manner, just as the qualified materials and reagents will be discussed.

There to some fundamental elements of the construction of basidiomycetes and ascomycetes will be presented, to make it easier for an amateur to enter the microscopy of mushrooms.

Zusammenfassung: Es wird in einer verständlichen Form die Technik der Pilzmikroskopie erläutert, sowie die geeigneten Materialien und Reagenzien besprochen.

Dazu werden einige grundsätzliche Elemente des Aufbaus von Basidiomyceten und Ascomyceten gebracht, um den Amateur den Einstieg in die Pilzmikroskopie zu erleichtern.

Viele Pilzfreunde erfreuen sich an der Schönheit und Vielfalt unserer einheimischen Pilze. Sehr groß ist die Zahl der unterschiedlichen Merkmale, an denen wir die einzelnen Arten unterscheiden können. Diese Unterschiede sind jedoch nicht nur auf den makroskopischen Bereich beschränkt. Unter dem Mikroskop öffnet sich eine Welt, deren Formen ebenfalls so faszinierend sind und oft ist die eindeutige Bestimmung eines Pilzes erst mit der Darstellung des mikroskopischen Feinbaus möglich.

Die Pilzmikroskopie ist nicht nur auf die Hauptsammelzeit im Herbst beschränkt. Das ganze Jahr über können wir mit etwas Glück Pilze finden. Genau so gut lassen sich aber auch getrocknete oder tiefgefrorene Pilze mikroskopieren; es ist deshalb nicht erforderlich, sich gleich nach dem Sammeln an das Mikroskop zu setzen. Ein Vorrat an Trockenpilzen sichert die Beschäftigung für viele lange Winterabende.

Als Grundausstattung für die Pilzmikroskopie benötigen wir — neben dem Mikroskop — gar nicht so viele Geräte: Objektträger und viereckige Deckgläser, eine spitze Pinzette, zwei Präpariernadeln und ein billiges Einwegskalpell oder eine Rasierklinge. Außerdem brauchen wir in kleine Teile geschnittenes — nicht gerissenes — Filterpapier (Kaffee-Filter) zum Durchleiten von Flüssigkeiten unter dem Deckglas.

Vorteilhaft, aber nicht unbedingt erforderlich, ist ein sogenannter Fadenzähler — eine Lupe, die auf einem Fuß angebracht ist. Als Präparierlupe leistet er gute Dienste, da man zum Arbeiten beide Hände frei hat.

Jetzt brauchen wir noch einige Reagenzien zum Einweichen von Trockenpilzen und als Untersuchungsflüssigkeit bei der Präparation.

Am einfachsten können wir normales Leitungswasser verwenden. Allerdings besteht hier die Gefahr, daß die Sporen aufquellen und so ihre ursprüngliche Form ver-

lieren. Besser ist es, eine der nachfolgenden Lösungen zu verwenden:

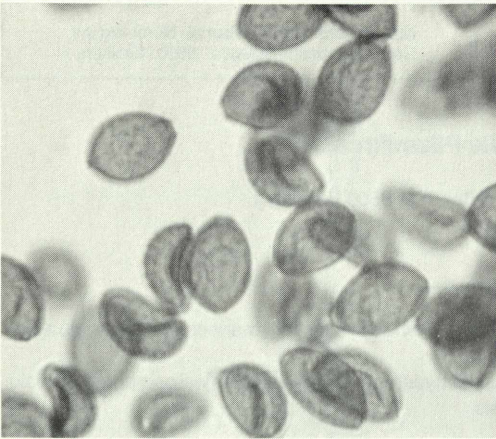
- 3%ige Ammoniaklösung, herstellbar durch Mischen von handelsüblichen Salmiakgeist mit destilliertem Wasser im Verhältnis 1 : 7.
- 3%ige Kalilauge
- physiologische Kochsalzlösung (0,8 %)
- Lösung von Chloralhydrat in destilliertem Wasser (1 : 1)

Höhere Konzentrationen von Lösungen sollten ebenfalls vermieden werden, da sonst Schrumpfungen am Untersuchungsmaterial auftreten können.

Die Flüssigkeiten bewahren wir am Besten in kleinen verschließbaren Spritzfläschchen aus Plastik oder in Glasfläschchen mit Pipettenverschluß auf.

In der Pilzmikroskopie fertigen wir in der Regel „Nativpräparate“ an, d.h. das zu untersuchende Gewebe wird nicht konserviert, wie es beim Dauerpräparat üblich ist. Die Verarbeitung zum Dauerpräparat erfordert einen hohen Aufwand an Chemikalien und Zeit, und bringt dennoch oft nicht das gewünschte Resultat. Will man das Gesehene festhalten, ist dies durch Zeichnen und durch Mikrofotografie möglich.

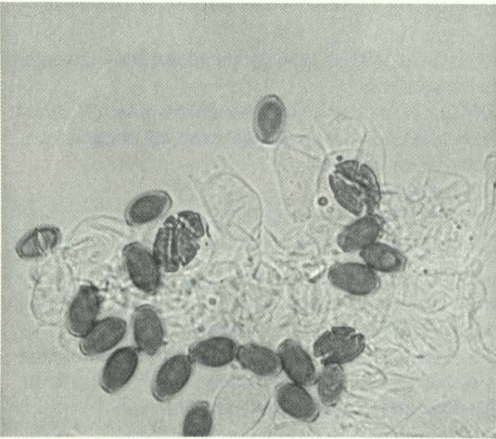
Die einfachste Methode Pilze zu mikroskopieren erhalten wir mit einem „Zupf-Quetschpräparat“: Man schneidet mit dem Skalpell oder der Rasierklinge ein winziges Stückchen vom Untersuchungsmaterial ab — je weniger, desto besser — und bringt es auf den Objektträger. Jetzt fügt man einen Tropfen der Untersuchungsflüssigkeit zu. Mit den beiden Präpariernadeln zerzupft man das Gewebe, so daß nur noch winzige Flocken übrig bleiben. Nun legen wir ein Deckglas auf und quetschen dies mit einem weichen Gegenstand (z.B. Radiergummi) vorsichtig. Das Untersuchungsmaterial wird dadurch unter dem Deckglas ausgebreitet. Die dabei an den Deckglasrändern austretende Flüssigkeit wird sofort mit einem Filterpapierstreifen aufge-



Bei den Sporen des Heudüngerlings, *Panaeolina foenisecii*, ist sowohl ein Apiculus, als auch ein Keimporus vorhanden. Die Sporen sind zitronenförmig, einseitig eingedellt und haben eine warzige Oberfläche.



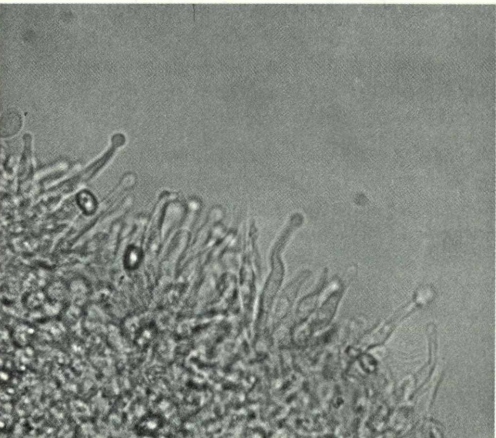
Bei einer Reihe von Rißpilzen finden wir Pleurozystiden mit Kristallschopf, so auch bei *Inocybe mixtilis*.



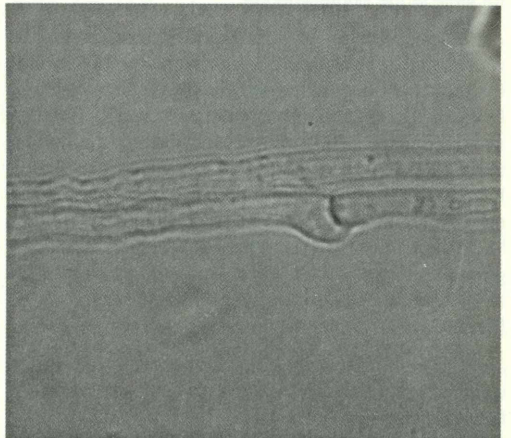
Die Sterigmen einer Basidie sind oft nicht zusammen erkennbar, da durch die sehr begrenzte Schärfenebene die 4 Sterigmen nicht zusammen abgebildet werden.



An den Lamellenschnitten können ebenfalls sterile Zellen vorkommen. Man nennt sie Cheilozystiden. *Coprinus plicatilis*, Scheibchentintling



Pleurozystiden sind sterile Zellen an den Lamellenflächen eines Ständerpilzes. Hier die Pleurozystiden des Anissägeblättrlings, *Lentinus lepideus*.



Bei den Generativhyphen eines Pilzes können an den Übergängen zweier Zellen Schnallen auftreten. Sie sind ein wichtiges Bestimmungsmerkmal.

saugt. Jetzt können wir das Präparat unter dem Mikroskop betrachten.

Bei den Pilzen, die wir so vorbereiten, werden wir sehen, daß sich das Gewebe sehr kontrastarm vom Untergrund abhebt. Jedoch sind die Sporen – wenn wir die Fruchtschicht (Hymenium) mikroskopieren und der Pilz schon welche ausgebildet hat – meistens deutlich sichtbar. An ihnen können wir schon viele Merkmale für die Bestimmung eines Pilzes erkennen. Vor allen Dingen ist die Sporenform und -farbe sehr wichtig. Es werden u.a. runde, ellipsoide, zitronen-, bohnenförmige, unregelmäßig geformte oder auch septierte mehrzellige Sporen gefunden.

Sind die Sporen farblos durchscheinend, bezeichnet man sie als „hyalin“. Ansonsten kommen bei den Sporen rosa und von hellgelben über braunen bis schwarzen Farben alle Schattierungen vor. Ebenso können wir die Oberflächenstruktur der Sporen überprüfen. Man findet glatte, gratige, höckerige, warzige oder stachelige Oberflächen. Diese Ornamentation läßt sich besonders gut mit dem Dunkelfeldverfahren betrachten, da kleine Strukturen, die jenseits der normalen optischen Auflösungsgrenze des Hellfeldverfahrens liegen, noch dargestellt werden können.

Im Hellfeld können wir auch noch andere charakteristische Merkmale der Sporen erkennen. So sieht man bei Ständerpilzsporen (= Basidiosporen) den Appendix, auch Apikulus genannt, einen kleinen Ansatz an der Spore, an dem diese beim Heranwachsen und Reifen mit der Basidie verbunden ist. Außerdem können wir oft einen Keimporus als Abplattung gegenüber dem Appendix feststellen. Bei Schlauchpilzsporen (= Ascosporen) kann dagegen eine Keimspalte als länglicher Einschnitt vorhanden sein; ein Apikulus fehlt hier. Im Inneren der Sporen finden wir, falls vorhanden, einen oder mehrere, für die Art typische Öltropfen. Mit einem für das Mikroskop geeichten Meßokular können wir schließlich die Sporen nach Länge und Breite ausmessen.

Für die Darstellung der Bestandteile des Pilzgewebes führt man zur Kontraststeigerung eine Färbung durch. In der Pilzmikroskopie nehmen wir am häufigsten zwei Farbstoffe:

- Kongorot

Diesen Farbstoff verwendet man sowohl in wässriger Lösung (1 %), als auch in ammoniakalischer Lösung. Hier wird entweder eine 3 %ige Lösung in 0,5 %igem Amoniak oder eine 1 %ige Lösung in konzentriertem Ammoniak hergestellt.

- Baumwollblau

Wir verwenden eine 0,2 %ige Lösung des Farbstoffes in 80-85 %iger Milchsäure.

Bei einer intensiven Blaufärbung von Sporen oder deren Ornamentationen oder auch der Zellwände des Gewebes, bezeichnet man diese Pilzarten als „cyanophil“. Erfolgt keine Färbung, nur eine geringe oder nur eine Färbung des Plasmas, sind diese Arten „acyanophil“. Die Unterscheidung ist nicht immer ganz einfach.

Die Färbung wird folgendermaßen durchgeführt: Wir nehmen unser Präparat und tauschen zuerst die Untersuchungsflüssigkeit gegen destilliertes Wasser aus. Dies geschieht, indem wir das Wasser unter dem Deckglas durchsaugen. Auf einer Seite, neben dem Deckglas, wird auf dem Objektträger ein Tropfen Wasser gegeben, der die Kante des Deckglases gerade benetzt. An der gegenüberliegenden Seite wird jetzt ein Filterpapierstreifen an der Deckglaskante so angelegt, daß die Untersuchungsflüssigkeit abgesaugt und der Wassertropfen unter das Deckglas angesaugt wird. Nun nehmen wir einen Tropfen Farbstofflösung und leiten ihn in gleicher Weise unter das Deckglas, bis sich der Farbstoff gleichmäßig verteilt hat. Nach ca 5 Minuten – solange lassen wir das Färbemittel einwirken – wird der überschüssige Farbstoff mit destilliertem Wasser ausgewaschen. Wir bringen wieder einen Tropfen Wasser neben den Deckglasrand und saugen diesen, wie oben beschrieben, mit einem neuen Filterpapierstreifen durch.

Will man das Präparat noch längere Zeit aufheben, leiten wir einen Tropfen unserer ursprünglichen Untersuchungsflüssigkeit unter das Deckglas. Um zu verhindern, daß das Präparat austrocknet, was sonst innerhalb kurzer Zeit geschieht, verschließen wir die Ränder des Deckglases dick mit Nagellack. Damit erhalten wir zwar kein Dauerpräparat, aber wir können den Objektträger einige Stunden bis Tage aufheben.

Durch die Festkittung des Deckglases mit dem Nagellack können wir jetzt wesentlich einfacher Beobachtungen, vor allem an den Sporen, mit einem starken Öl-immersionsobjektiv durchführen, ohne daß sich diese mit der Tubusbewegung (wegen der Verbindung Deckglas-Mikroskop durch den Immersionsöltropfen) beim Scharfstellen mitbewegen.

Eine wichtige Rolle bei der Bestimmung von Pilzen spielt auch die Frage nach der „Amyloidität“. Dazu benötigen wir „Melzers Reagenz“, das folgendermaßen hergestellt wird:

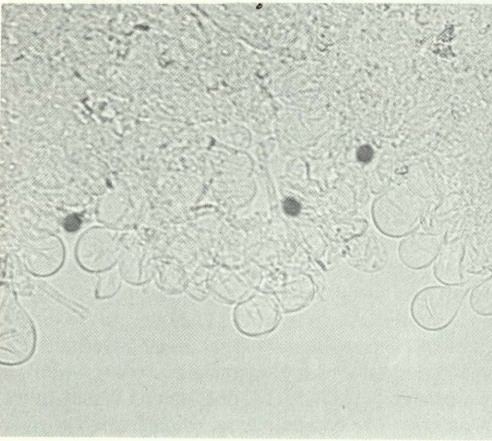
Man löst in 20 ml destilliertem Wasser 1,5 g Kaliumjodid und 0,5 g reines Jod nacheinander restlos auf. Danach werden noch 20 g Chloralhydrat zugegeben.

Wir fertigen ein ungefärbtes Präparat an und leiten einen Tropfen Melzers Reagenz unter das Deckglas durch.

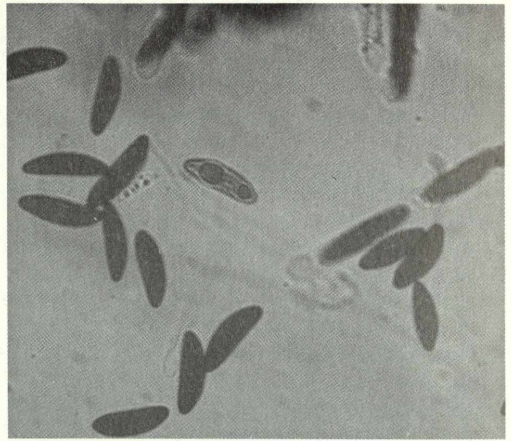
Bei Ständerpilzen (Basidiomyceten) können sich Sporen, Sporenornamentation oder Teile des Pilzgewebes (Basiden, Hyphen, Zystiden) kräftig blau färben. Sie sind dann amyloid.

Bei Schlauchpilzen (Ascomyceten) verwendet man die Färbung der Schlauchspitzen zur Abgrenzung der verschiedenen Arten. Bei Bläuung verwendet man die Bezeichnung „J+“, erfolgt keine Farbreaktion „J-“.

Einige Schlauchpilzarten können allerdings unterschiedlich reagieren, je nachdem, ob man in Lauge eingeweichte Exsikkate oder Frischmaterial in Wasser untersucht.



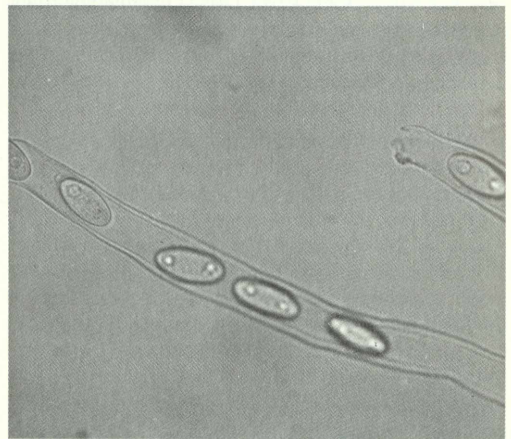
Die Huthaut eines Pilzes kann ebenfalls als Bestimmungsmerkmal dienen. Treten hier rundliche Zellen auf, spricht man von einem Epithelium.



Sporen der Vielgestaltigen Holzkeule, *Xylaria polymorpha*. Bei den Schlauchpilzsporen (Ascosporen) ist kein Apiculus vorhanden.



Bei den Heterobasidiomyceten teilen sich die Basidien erst während der Entwicklung des Fruchtkörpers. Man kann in der unreifen Basidie (Basidiole) des Goldgelben Zitterlings, *Tremella mesenterica*, die beginnende Ausbildung von Querwänden erkennen.



Ascus einer Frühjahrsorchel, *Gyromitra esculenta*. Typisch sind die beiden Öltropfen in den Sporen.



Bei den reifen Basidien des Goldgelben Zitterlings sind die Sterigmen um ein Mehrfaches länger als die ursprünglichen Basidiole.



Bei dem zinnberroten Pustelpilz, *Nectria cinnabarina*, werden ebenfalls 8 Sporen im Schlauch ausgebildet. Die Sporen sind durch eine Querwand septiert.

Erfolgt mit Melzers Reagens keine intensive Blaufärbung, sondern eine Braun- oder Rotfärbung, bezeichnet man dies als dextrinoid oder pseudoamyloid. Bei Ausbleiben einer Färbung ist der Pilz inamyloid. Mit den beschriebenen Verfahren können die wichtigsten Mikromerkmale unserer Großpilze untersucht werden.

Für die Darstellung des Gewebeaufbaus ist es jedoch erforderlich, Dünnschnitte anzufertigen. So kann der Lamellenaufbau von Basidiomyceten nur mit entsprechenden Querschnitten sichtbar gemacht werden. Am einfachsten ist folgende, seit Jahrzehnten erprobte Methode:

Ein Stückchen Holundermark wird senkrecht eingeschnitten. In dem entstehenden Spalt wird das zu schneidende Pilzfragment eingeklemmt. Mit der einen Hand wird das Holundermark gehalten, während mit der anderen Hand eine ungebrauchte Rasierklinge ohne Druck darübergezogen wird. Dabei sind beide Hände auf dem Tisch aufzulegen, weil so am ruhigsten gearbeitet werden kann. Mit etwas Übung gelingt es uns, hauchdünne Scheibchen abzuschneiden, die zumindest dort, wo der Schnitt auskeilt, brauchbare Präparate liefern. Der Schnitt wird dann, ohne das Deckglas zu quetschen, in Untersuchungsflüssigkeit betrachtet und wie vorstehend beschrieben gefärbt.

Aufwendiger ist die Herstellung von Schnitten mit dem Mikrotom. Diese Methode ergibt natürlich wesentlich bessere Resultate, kommt aber wegen des hohen apparativen Aufwandes und der zeitraubenden Einbettungsverfahren für den Amateur meistens nicht in Frage.

In den folgenden Abschnitten werden noch einige charakteristische Mikromerkmale beschrieben, die wir bei unseren Großpilzen erkennen können.

1. Basidiomyceten

Zuerst betrachten wir die Ständerpilze = Basidiomyceten. Unter diese Klasse fallen alle Pilze, die ihre Sporen an Ständern, sog. Basidien, ausbilden. Wir unterscheiden zwei Unterklassen:

a) Holobasidiomyceten

Die Basidien bestehen bei diesen Pilzen aus einzelnen, nicht septierten Zellen. Meistens sitzen hier 4 Sporen, über fingerförmige Auswüchse (Sterigmen) verbunden, an der Basidie. Verhältnismäßig häufig kommen auch Ständer mit zwei Sporen vor.

Alle Lamellen- und Röhrenpilze zählen dazu, ebenso die Korallenpilze und Porlinge. Die Bauchpilze, die ihre Sporen im Inneren der Fruchtkörper ausbilden, gehören gleichfalls in diese Gruppe. Bei diesen Pilzen können mehr als 4 Sporen vorkommen.

Die Sporen bei den Holobasidiomyceten sind immer einzellig.

Bei der mikroskopischen Betrachtung von Basidiomyceten fallen auch andere charakteristische Zellen, sog. Zystiden auf. Es handelt sich um sterile Zellen, die zwischen den Basidien an den Lamellen, aber auch in der

Huthaut und am Stiel vorkommen können. Nach ihrem Auftreten unterscheidet man deshalb auch Pleurozystiden an der Lamellenfläche, Cheilozystiden an der Lamellenschneide, Dermatozystiden an der Hutoberfläche und Caulozystiden an der Stielloberfläche. Der Aufbau der Zystiden ist – falls welche vorhanden sind – von Pilz zu Pilz unterschiedlich. Es kommen hier dünn- und dickwandige, flaschenförmige, an den Enden runde oder hakenförmige, blasig runde oder büschelig angeordnete Zellen vor. Die auftretenden Formen sind sehr vielfältig.

Das Stützgewebe der Pilze, die Hyphen, kann ebenfalls Bestimmungsmerkmale liefern. Bei den Lamellen- und Röhrenpilzen kommt nur eine Hyphenart – die Generativ- oder Wachstumshyphen vor. Man nennt dies ein monomitisches Hyphensystem.

Bei den Nichtblätterpilzen (Aphyllophorales) können auch dimitische Hyphensysteme, mit Generativ- und Bindehyphen oder Generativ- und Skeletthyphen auftreten. Wenige harte Porlingsarten weisen alle drei Hyphentypen auf; man nennt sie deshalb trimitisch. Bei den Generativhyphen gibt es weitere Unterscheidungsmerkmale: An den Übergängen der einzelnen Hyphenzellen (Septen) können entweder keine, einseitig oder beidseitig Schnallen auftreten. Diese zeigen sich durch Ausbuchtungen oder Überwachungen der Hyphen an der Zellmembran.

b) Heterobasidiomyceten

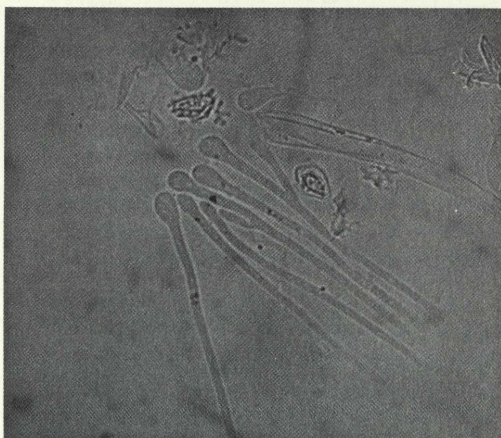
Bei diesen Pilzen, die zu den Nichtblätterpilzen zählen, sind die Basidien quer- oder längsgeteilt. Großpilze mit quergeteilten Basidien gibt es nur in der Ordnung Auriculariales.

Längsgeteilte Basidien kommen bei allen Gallertpilzen (Tremellales) vor. Die häufigsten Gattungen sind bei uns Tremella und Exidia. An einem ausgewachsenen Fruchtkörper finden wir meistens alle Stadien, beginnend mit der Teilung der kugeligen Basidiole (unreife Basidie), den Wachstumsbeginn der Sterigmen und schließlich den ausgewachsenen Basidien, deren Sterigmen oft ein mehrfaches an Länge des Basidien-durchmessers erreichen können und dann Epibasidien genannt werden.

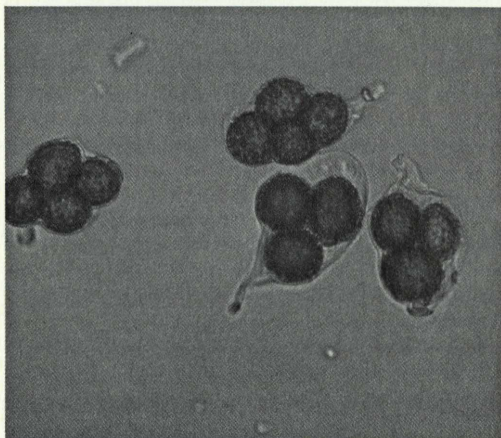
2. Ascomyceten

Diese Pilze treten schon makroskopisch in vielfältiger Form auf, bilden jedoch alle ihre Sporen in Schläuchen (Asci) aus. Bei den meisten Ascomyceten sind 8 Sporen im Schlauch vorhanden, es kommen aber auch Schläuche mit weniger, z.B. 1 Spore und mit dem Vielfachen von 8 (bis zu einigen Hundert) vor. Die Sporen können einzellig oder mehrzellig sein.

Man unterscheidet z.B. eine Gruppe von Schlauchpilzen nach der Art, wie sie ihre Sporen abgeben. Reißt das obere Ende des Schlauches auf indem eine Art Deckelchen gebildet wird, so nennt man diesen Schlauch operculat.



Als Stützgewebe zwischen den Schläuchen dienen die Paraphysen. Hier die Paraphysen des Orangebecherlings, *Aleuria aurantia*.



Bei den echten Trüffeln werden die Sporen in beutelförmigen Schläuchen gebildet, die bei der Reife in mehrere Teile zerfallen. Die Sporenanzahl schwankt zwischen einer und 8 Sporen pro Schlauch.

Wird vom Schlauch (Ascus) ein vorgegebener Kanal mit rundlicher Öffnung (Porus) ausgebildet, durch den die Sporen austreten, ist dieser inoperculat.

Als Stützgewebe zwischen den Schläuchen wachsen Paraphysen, die für die Bestimmung eines Ascomyceten ebenfalls charakteristisch sind. Diese Zellen kommen ebenfalls in verschiedenen Formen vor und sind septiert oder unseptiert.

Für die Bestimmung unserer Pilze nach mikroskopischen Merkmalen sind natürlich einige Nachschlagwerke erforderlich:

So sind im Rahmen der „Kleinen Kryptogamenflora“ im Gustav Fischer Verlag die beiden Bestimmungsbücher MEINHARD MOSER „Die Röhrlinge und Blätterpilze“ und WALTER JÜLICH „Die Nichtblätterpilze, Gallertpilze und Bauchpilze“ erschienen.

Eine Bestimmung der Gattungen ist auch mit dem „Gattungsschlüssel für Blätter- und Röhrenpilze nach mikroskopischen Merkmalen“ von A. BRESINSKY im Beiheft Nr. 1, 1976, zur Zeitschrift für Pilzkunde möglich. Im Buch „Pilze der Schweiz“ Band 1, Ascomyceten von J. BREITENBACH und F. KRÄNZLIN (Mykologische Gesellschaft Luzern) finden wir viele Schlauchpilze mit ihren Mikromerkmalen beschrieben.

Natürlich kann auch jedes andere Pilzbestimmungsbuch, das auf Mikromerkmale hinweist, zur Bestimmung verwendet werden.

Die Technik der Pilzmikroskopie ist umfaßend in dem Buch „Pilzmikroskopie“ von BRUNO ERB und WALTER MATHEIS (Kosmos Verlag) beschrieben.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Abhandlungen der Naturhistorischen Gesellschaft Nürnberg](#)

Jahr/Year: 1985

Band/Volume: [40](#)

Autor(en)/Author(s): Bock Norbert

Artikel/Article: [Eine Einführung in die Pilzmikroskopie 41-46](#)