

HEINZ B. SCHMIDT, HORST OPEL und MARTIN SCHMIEDEKNECHT

Moderne Verfahren zum Studium der Biologie mikroskopischer Pilze

Mikromyzeten spielen im Haushalt der Natur und in volkswirtschaftlicher Hinsicht eine wichtige Rolle. Die Ursachen, warum diese Pilze trotz ihrer Bedeutung stiefmütterlich behandelt und vernachlässigt werden, erläuterte ARNOLD (1980) in dieser Zeitschrift. Wir können seinen Schlußfolgerungen nur zustimmen. Die Determination und Bestandsaufnahme von Mikromyzeten wird häufig durch höheren materiellen und zeitlichen Aufwand erschwert, doch Eigenschaften wie beispielsweise ihre einfache Herbarisierbarkeit, auf die bereits ARNOLD hingewiesen hat, bieten auch gewisse Vorteile für die Arbeit mit diesen Pilzen. Bei der Bestimmung pflanzenparasitärer Kleinpilze geben deren Spezialisierung auf einen mehr oder weniger engen Wirtspflanzenkreis sowie spezifische Infektionsstrukturen wertvolle Hilfe.

Wir möchten an Hand zweier bekannter, wirtschaftlich bedeutungsvoller Pflanzenparasiten des Getreides und ihres Infektionsprozesses kurz auf zwei neuere Verfahren hinweisen, die in Untersuchungen über die Biologie von Mikromyzeten eingesetzt werden können und herkömmliche mikroskopische Methoden sehr wirkungsvoll ergänzen. Als Objekte wählten wir die Erreger des Mehltaues (*Erysiphe graminis* DC.) und des Gelbrostes (*Puccinia striiformis* WEST.).

Besonders plastisch und eindrucksvoll kann die Entwicklung pflanzenparasitärer Pilze mit dem Rasterelektronenmikroskop verfolgt werden (Abb. 1 bis 4). Fallen z. B. Konidien von *Erysiphe graminis* auf die Epidermis anfälliger Getreidepflanzen, in unserem Falle auf Weizenpflanzen (Abb. 1), dann keimen sie mit kurzen Keimschläuchen (K) aus und bilden besondere Haftorgane, die Appressorien (A). Das Eindringen des Pilzes durch die Epidermiszellwand in die Epidermiszelle vollzieht sich nach neueren Erkenntnissen vermutlich in zwei Teilschritten, enzymatisch und mechanisch (SCHWINN und DAHMEN 1973, AIST 1976). Die deutlich erkennbaren Höfe um die Primärinfektionsstellen (H) werden auf enzymatische Wirkungen des Pilzes zurückgeführt. Nach dem mechanischen Durchdringen der enzymatisch aufgeschlossenen Zellwand mit einem Penetrationsfortsatz bilden sich im Inneren der Epidermiszelle Haustorien, die als Nährgorgane des Pilzes das weitere Wachstum gewährleisten. Bei *Erysiphe graminis* haben diese Haustorien eine ganz charakteristische, parallel zur Blattoberfläche verlaufende, mit zahlreichen fingerförmigen Ausstülpungen versehene Gestalt. Zur Darstellung dieser Strukturen sind die Rasterelektronenmikroskopie und das fluoreszenzoptische Verfahren nicht oder nur begrenzt einsetzbar. Von den Haustorien ernährt, bilden die Hyphen auf der Blattoberfläche ihrer Wirtspflanzen ein dichtes fädiges Myzel (Abb. 2), das später auf zahlreichen Konidienträgern in großen Mengen Konidiosporen entwickelt (AUST und HINDORF 1975). Sie verursachen den mehlartigen Belag der Blätter, nach dem die von Vertretern der *Erysiphales* verursachten Pflanzenkrankheiten benannt sind.

Anders verläuft der Infektionsvorgang mit *Puccinia striiformis* auf Gerste. Die Hyphen keimender Uredosporen dringen ohne Appressorienbildung durch die Spaltöffnungen in ihre Wirtspflanze ein und schwellen nach Passieren des Spaltenmundes in der Atemhöhle zu einem substomatären Bläschen an. Von diesem wachsen zwei oder drei Hyphen aus, an deren Spitzen durch ein Septum eine Haustorienmutterzelle abgegrenzt wird, sobald sie in Kontakt mit einer Zellwand des Wirtes kommen. Nun werden in die Wirtszelle birnen- bis schlauchförmige zarte Haustorien getrieben. Im nächsten Entwicklungsabschnitt erfolgt von den Hyphen hinter den primären Haustorienmutterzellen ausgehend durch Bildung von Seitenzweigen die Besiedelung des Wirtes. Hierbei kann man dickere, wenig verzweigte „runner“-Hyphen und dünnere, stark verzweigte „feeding“-Hyphen unterscheiden. Beide Hyphentypen wachsen stets interzellulär. Ihre Funktion: Ausbreitung bzw. Ernährung des Myzels, wird durch die Bezeichnung klar ausgedrückt. Die „feeding“-Hyphen bilden an kurzen Seitenzweigen Haustorienmutterzellen (Abb. 3), von denen ausgehend die Pflanzenzellwand mit einem Penetrationsfortsatz durchdrungen wird. In den Wirtszellen entwickeln sich Haustorien. Der Pilz bleibt zunächst innerhalb des Blattes und wird erst sichtbar, wenn sich während der weiteren Entwicklung unter der Epidermis die Uredosporenlager gebildet haben, bis schließlich die Epidermis aufreißt (Abb. 4). Die Uredosporenlager erscheinen dann als gelbe Pusteln auf dem Blatt und entlassen in großer Zahl Uredosporen, die im reifen Zustand charakteristische Oberflächenstrukturen aufweisen.

Aus der Darstellung des Infektionsprozesses beim Gelbrost ist leicht zu ersehen, daß die Rasterelektronenmikroskopie nur begrenzt eingesetzt werden kann. Die Vorgänge im Innern des Blattes können nur verfolgt werden, wenn die Epidermis abgerissen wird, aber auch dann sind nicht alle Pilzstrukturen (z. B. Haustorien, Penetrationsfortsätze) erkennbar. Hier hat sich ein fluoreszenzoptisches Verfahren bewährt, das es erlaubt, den Pilz zwischen oberer und unterer Epidermis in seinem Wachstum und seiner Differenzierung zu verfolgen, ohne daß Blätter geschnitten oder Epidermisabrisse gemacht werden müssen. Die Methode beruht auf der Selektivfärbung des Pilzes mit Fluorochromen (ROHRINGER u. a. 1977, OPEL und SCHLEGEL 1980, SCHLEGEL u. a. 1982). Fluorochrome werden als Tagesleuchtfarben, als optische Aufheller und sogenannte „Weißmacher“ in der Faserstoff- und Textilindustrie sowie bei Waschmitteln verwendet. Mit ihrer Hilfe gelingt es, beim Gelbrost alle oben beschriebenen Infektionsstrukturen nachzuweisen. Wir müssen jedoch vermerken, daß manche pilzlichen Erreger als Objekte nicht geeignet sind, um alle Infektionsstrukturen nachweisen zu können. Beim Mehltau beispielsweise wird durch die starke Fluoreszenz des extramatrikalen Myzels der Nachweis von Haustorien sehr erschwert. Herkömmliche Verfahren erweisen sich hier nach wie vor als geeigneter.

Wir haben bewußt keine fluoreszenzoptischen Aufnahmen in unsere Publikation aufgenommen. Die Farbunterschiede, die im mikroskopischen Bild zwischen Pilz und pflanzlichem Gewebe bestehen, lassen sich nur schwer als Schwarz-Weiß-Kontrast photographisch umsetzen. Beim Gelbrost kommt hinzu, daß er die interzellulären Räume der Pflanze in den drei Dimensionen so willkürlich durchwächst, daß man während des Mikroskopierens nur durch ständiges Fokussieren seinen genauen Verlauf erkennt. Wir haben daher auf photographische Aufnahmen verzichtet. Die Eignung des Verfahrens zur Beobachtung des Erregers im Blattgewebe wird damit nur unwesentlich geschmälert. Die guten Erfahrungen, die wir mit beiden Methoden an den von uns untersuchten Objekten machen konnten, haben uns bewogen, sie hier vorzustellen und für andere, schwierig zu erfassende Mikromyzeten zu empfehlen. Auf technische Einzelheiten kann in diesem Rahmen nicht eingegangen werden.

Literatur

- ARNOLD, G. R. W. (1980): Die mikroskopischen Pilze — Stiefkinder der DDR-Mykologen? *Boletus* **4**: 21—22.
- AIST, J. R. (1976): Cytology of penetration and infection — fungi. In: HEITEFUSS, R. and WILLIAMS, P. H., *Physiological plant pathology*. Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York, pp. 197—221.
- AUST, H. J. und HINDORF, H. (1975): Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen zur Konidienträgerbildung von *Erysiphe graminis* DC. f. sp. *hordei* MARCHAL. *Z. Pflanzenkrankh.* **82**: 549—552.
- OPEL, H. und SCHLEGEL, H. (1980): Fluoreszenzmikroskopischer Nachweis von Infektionsstrukturen des Gelbrostes *Puccinia striiformis* WEST. in Gerstenblättern mit dem optischen Aufheller Wobital 3 BTZ. *Arch. Phytopathol. Pflanzenschutz* **16**: 229—230.
- ROHRINGER, R., KIM, W. K., SAMBORSKI, D. J. and HOWES, N. K. (1977): Calcofluor: An optical brightener for fluorescence microscopy of fungal plant parasites in leaves. *Phytopathology* **67**: 808—810.
- SCHLEGEL, H., NOLL, B. und OPEL, H. (1982): Die Verwendung optischer Aufheller als Fluorochrome zur Selektivfärbung pilzlicher Strukturen in Geweben parasitierter Pflanzen. *Zbl. Mikrobiol.* **137**: 36—41.
- SCHWINN, F. J. und DAHMEN, H. (1973): Beobachtungen zum Infektionsvorgang bei *Erysiphe graminis* DC. *Phytopath. Z.* **77**: 89—92.

Abb. 1—4: p. 44/45.

Abb. 1: Epidermis einer Weizenpflanze mit Epidermiszellen (E) und Spaltöffnungen (S). Die Sporen des Mehltaupilzes *Erysiphe graminis* (Sp) bilden kurze Keimschläuche (K) und Appressorien (A). Primärinfektionsstelle mit Hof (H).

Abb. 2: Fädiges Myzel von *Erysiphe graminis* auf der Oberfläche eines Weizenblattes.

Abb. 3: Blick in das Schwammparenchym eines mit Gelbrost *Puccinia striiformis* infizierten Gerstenblattes nach Epidermisabriß. Der Pilz (G) wächst interzellulär und bildet vier Haustorienmutterzellen (H), mit denen er über Penetrationshyphen und Haustorien Parenchymzellen (P) des Blattes parasitiert.

Abb. 4: Durch die Entwicklung des Uredosporenlagers des Gelbrostes wird die Epidermis des Gerstenblattes gesprengt. Die reifen Uredosporen (Sp.) mit ihrer typischen Struktur sind sichtbar.

Anschriften der Verfasser:

Dr. HEINZ B. SCHMIDT, Dr. HORST OPEL, Institut für Phytopathologie Aschersleben der Akademie der Landwirtschaftswissenschaften der DDR, DDR-4320 Aschersleben, Theodor-Roemer-Weg 4

Dr. MARTIN SCHMIEDEKNECHT, DDR-4320 Aschersleben, Halberstädter Str. 22

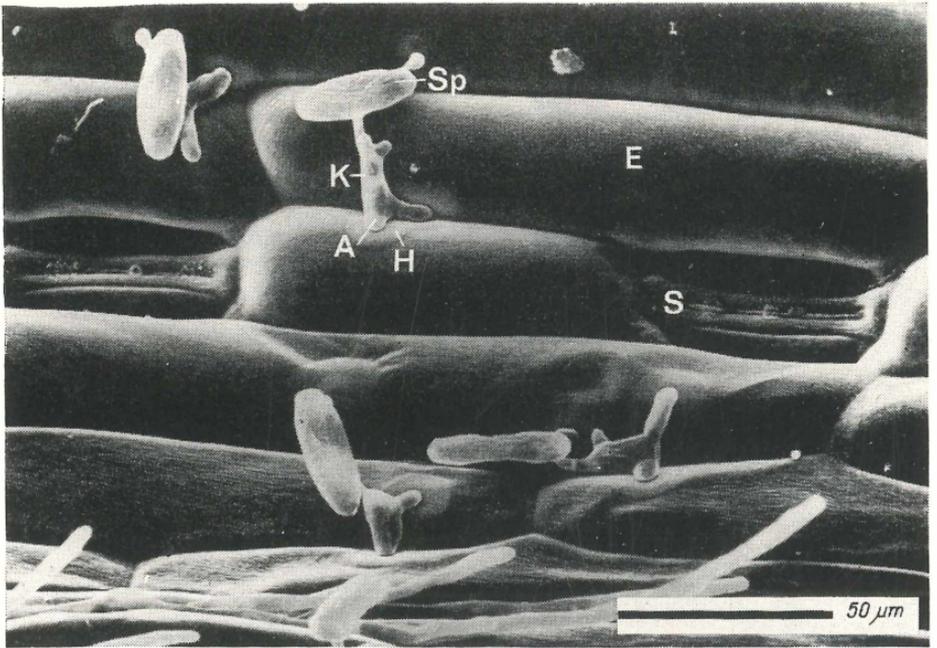


Abb. 1: vgl. p. 43

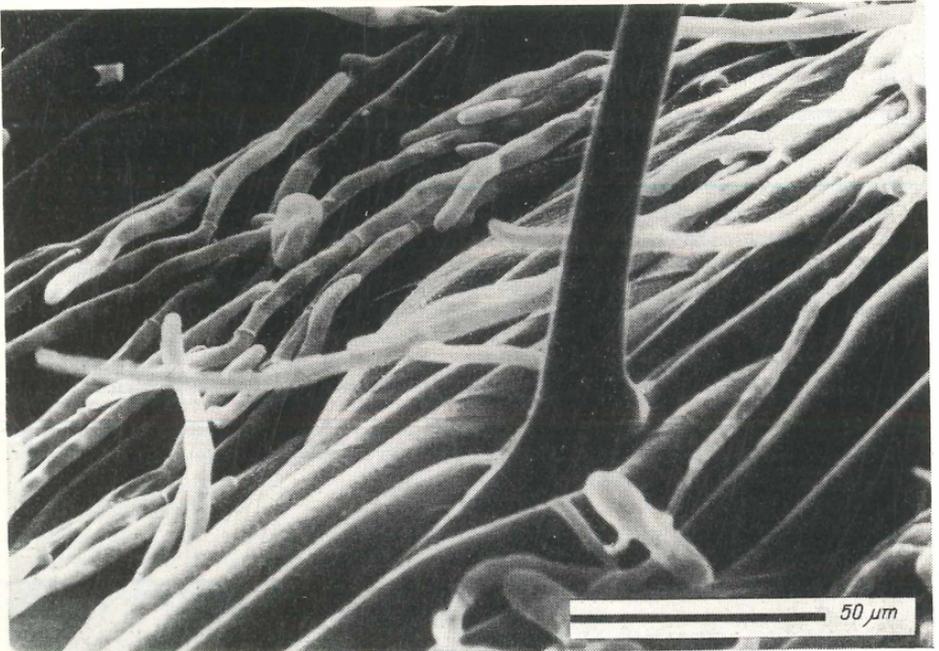


Abb. 2: vgl. p. 43

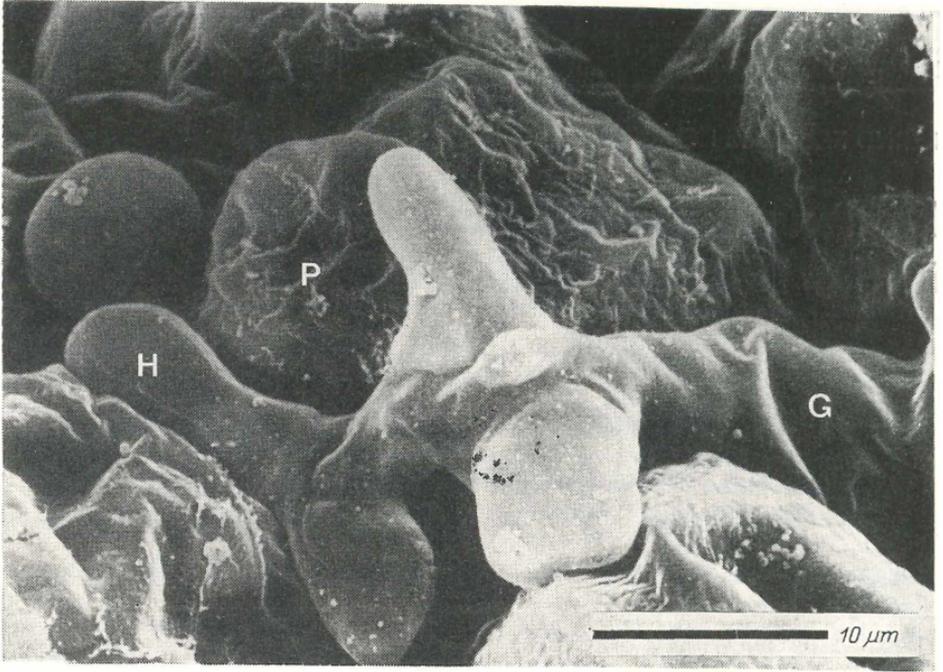


Abb. 3: vgl. p. 43

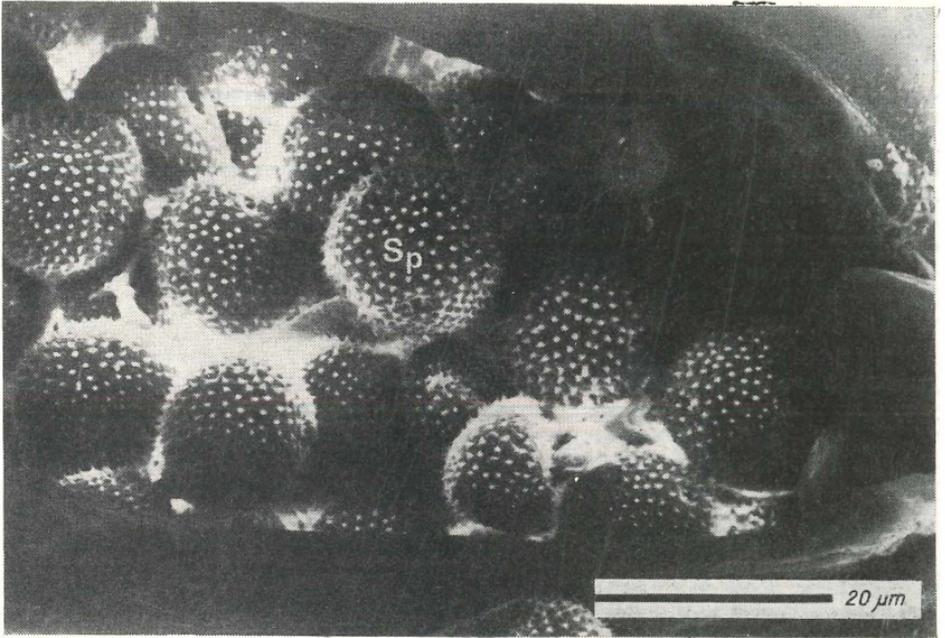


Abb. 4: vgl. p. 43

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Boletus - Pilzkundliche Zeitschrift](#)

Jahr/Year: 1982

Band/Volume: [6](#)

Autor(en)/Author(s): Schmidt Heinz, Opel Horst, Schmiedeknecht
Martin

Artikel/Article: [Moderne Verfahren zum Studium der Biologie
mikroskopischer Pilze 41-45](#)