

Die symbiontische Keimung bei Orchideen

Hanns M. Seitz

Zusammenfassung

Die natürliche Keimung der Orchideensamen erfordert die Symbiose mit Pilzen (Mykorrhiza). Diese Pilze infizieren den im Samen enthaltenen Embryo. Sie werden von ihm teilweise verdaut und als Nahrungsquelle benutzt. Dargestellt und illustriert werden die Isolierung der Pilze, die frühen Stadien der Keimung, sowie das Heranwachsen der Pflanzen an den Beispielen *Orchis morio*, *Spiranthes spiralis* und *Orchis fragans*.

Abstract

The germination of orchid seeds requires the symbiotic association with fungus species (Mycorrhiza). The fungus infects the plant embryo and is partially digested within the cells of the embryo. The isolation of the fungus and the early stages of germination are described as well as the further development of the plants. The experiments were mainly carried out with *Orchis morio*, *Spiranthes spiralis* and *Orchis fragans*.

Orchideen bilden, wenn sie Samen ansetzen, sehr viele Samen, diese sind allerdings außerordentlich klein. Die Samen (Abb. 1) bestehen im Wesentlichen aus einem

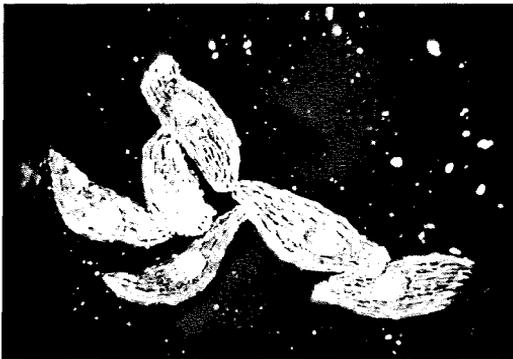


Abb. 1: Samen, *Cypripedium*

Pflanzenembryo, der keine Reservestoffe enthält, wie sie zur Keimung benötigt werden. Deshalb sind die meisten Orchideensamen nicht von sich aus keimfähig. Unter natürlichen Bedingungen ist die Keimung eine symbiontische, d.h., es wird die Hilfe von Pilzen benötigt. Diese Pilze sind bei vielen Orchideen noch in den Wurzeln enthalten, auch wenn die Pflanzen voll entwickelt sind. Generell bezeichnet man diese Pilze als Mykorrhiza und zwar,

weil sie im Inneren der Pflanze leben als Endomykorrhiza oder endogene Mykorrhiza. Manche Orchideenarten eliminieren den Pilz aus ihren Wurzeln und werden pilzunabhängig, andere dagegen bleiben stets mehr oder minder auf den Pilz angewiesen, sie sind mykotroph.

Im Folgenden soll die symbiontische Keimung von Orchideen dargestellt und illustriert werden. Hauptsächlich beziehen sich die Ausführungen auf einen Pilz, der aus der Wurzel von *Dactylorhiza majalis* gewonnen wurde und dessen genauere mykologische Bestimmung nicht möglich war. Die Pilze liegen in den äußeren Zellschichten der Orchideenwurzeln, dicht unter der Oberfläche. Im mikroskopischen Bild sind sie als dichte Pilzfädenknäuel zu erkennen (Abb. 2). Will man systematische



Abb. 2: Wurzelpilz, *Orchis pallens*

Keimungsversuche unternehmen, ist es notwendig, diesen Pilz in Reinkultur zu isolieren. Als Verfahren empfiehlt sich das von BURGEFF angegebene Vorgehen. Zunächst muss die Oberfläche eines kleinen Wurzelstückchens, aus dem man den Pilz gewinnen will, chemisch desinfiziert werden, um störende Bakterien und äußerlich anhaftende Bodenpilze abzutöten. Chloramin- oder Natriumhypochlorid-Lösungen können

dazu verwendet werden. Kleine Abschnitte der so desinfizierten Wurzel werden auf sterile Agarnährböden in Petrischalen gebracht (Abb. 3) und beobachtet. Im günstigen Fall wachsen nach zwei bis drei Tagen aus dem Wurzelstück die Pilzfäden der Mykorrhiza aus (Abb. 4). Sie entsprechen in ihrem Aussehen ganz dem der Hyphen in der Wurzelzelle. Durch periodische Übertragung von kleinen pilzdurchwachsenen Agarstückchen auf neue Agarplatten kann der isolierte Pilz in einer Dauerkultur gehalten werden.

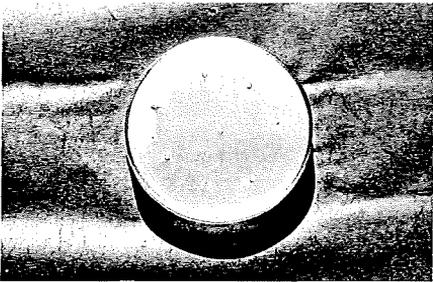


Abb. 3

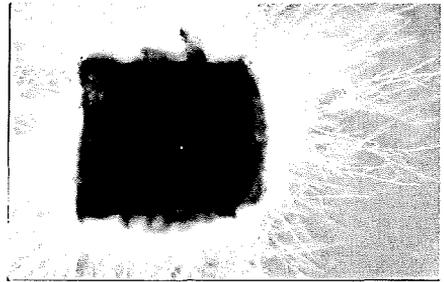


Abb. 4

Die Isolierung des symbiontischen Pilzes gelingt nicht immer ohne Weiteres. Die Schwierigkeiten bestehen einmal darin, das richtige Maß für die Desinfektion zu finden. Bei zu intensiver Desinfektion wird auch der symbiontische Pilz inaktiviert mit der Folge, dass nichts in der Agarplatte wächst. Bei zu schwacher Desinfektion können Pilze und Bakterien an der Oberfläche oder in den obersten abgestorbenen Zellschichten der Wurzel überleben, dann in der Agarplatte auswachsen, was zu

unübersichtlichen Mischkulturen führt, aus welchen der gewünschte symbiontische Pilz nicht isoliert werden kann. Die Hauptschwierigkeiten bestehen aber darin, dass einem dem Wurzelstück entwachsenen Pilz nicht anzusehen ist, ob er wirklich ein geeigneter Symbiont ist, dies kann erst durch Keimungsversuche geprüft werden, was eine gewisse Zeit in Anspruch nimmt.

Bringt man Orchideensamen und geeignete symbiontische Pilze in einem Kulturan-satz, etwa in einer Agarplatte, zusammen, so gewinnt man in vielen Fällen den Ein-druck, als würden die Hyphen des Pilzes gezielt ihr Wachstum auf die Orchideensa-men richten, so sprossen z.B. aus einem Pilzfaden, der an einem Orchideensamen vorbeiläuft, Abzweigungen aus, die mit dem Samen Kontakt aufnehmen (Abb. 5). Als erste Reaktion des Samens auf den Kontakt mit dem Pilz ist ein Anschwellen des Samens innerhalb der Samenhülle, der Testa, zu erkennen. Mikroskopiert man aufgehellte Präparate, so sieht man in diesem Stadium, dass einzelne Zellen des Embryos dunkler erscheinen (Abb. 6). Diese Zellen enthalten bereits Pilzknäuel. Deutlich wird zu diesem Zeitpunkt bereits auch eine gewisse polare Differen-zierung: Die pilzbefallenen Areale befinden sich auf der einen Seite des Pflanzenem-bryos, die gegenüberliegende Seite bleibt frei vom Pilzbefall.



Abb. 5

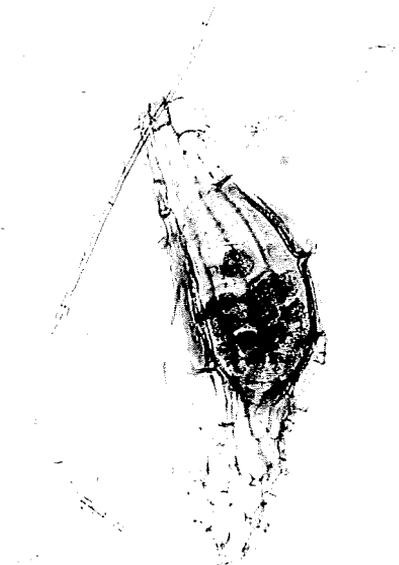


Abb. 6

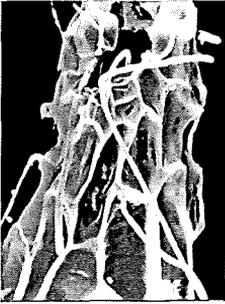


Abb. 7.

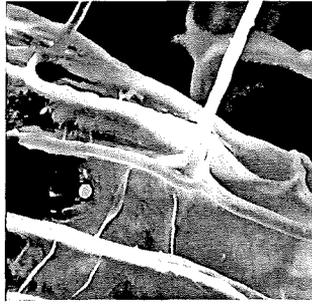


Abb. 8



Abb. 10

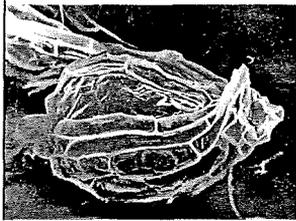
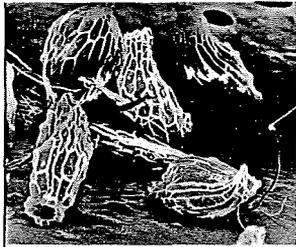


Abb. 9

Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen zeigen, dass die Pilzhyphen durch die offenen Enden der Samenhülle (Testa) zum Pflanzenembryo vordringen (Abb. 7). Sie können auch an den Nahtstellen zwischen den ausgetrockneten Testazellen (Abb. 8) ins Innere vordringen. Kommt die Keimung in Gang, werden die Embryonen schnell größer und sprengen die Testa (Abb. 9). Die prallen Einzelzellen werden an der Oberfläche sichtbar. Manchmal lassen sich die Eintrittsstellen der Pilzhyphe in den Embryo finden (Abb. 10). Gelegentlich wird an dieser Stelle eine merkwürdige „hammerartige“ Struktur ausgebildet.

Wenn Samen und Pilze gut harmonieren, können innerhalb von zwei Monaten schon deutlich differenzierte Keimlinge entstehen, die an der einen Seite eine deutliche

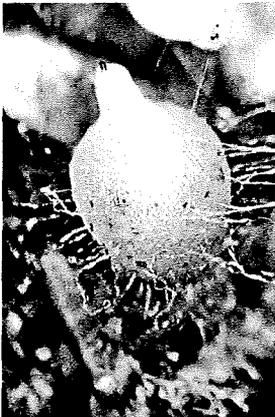


Abb. 11

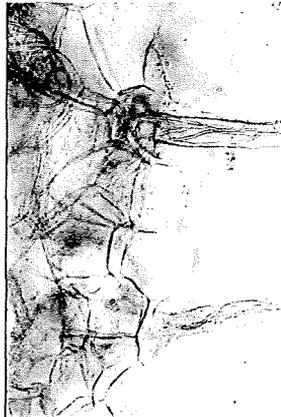


Abb. 12



Abb. 13

Spitze zeigen (Abb. 11). Hier wird sich die Sprossanlage entwickeln. Die gegenüberliegende Seite des Keimlings ist in der Regel bräunlich verfärbt, was durch die hier gelegenen verpilzten Zellen bedingt ist. Von der Oberfläche des Keimlings strahlen zahlreiche Wurzelhärchen in die Umgebung, in diesen verlaufen häufig Pilzhyphen, die an den Enden dieser Härchen austreten und im Substrat, in dem der Keimling wächst, verschwinden (Abb. 12). In Längsschnitten eines Keimlings wird die Differenzierung und die Verpilzung besonders deutlich (Abb. 13). Die Anlagen der künftigen Blätter zeigen bereits eine zarte Grünfärbung. Der untere Pol des Keimlings ist durch die verpilzten Zellen gekennzeichnet, in denen die z.T. aufgelösten Knäuel von Pilzhyphen als dunkle Klumpen erscheinen.

Der wachsende Orchideenkeimling hat eine schwierige Aufgabe zu lösen. Er ist auf den Pilz als Lieferant von Nährstoffen angewiesen, muss also dem Pilz erlauben, in den eigenen Organismus einzudringen, muss aber andererseits den Pilz unter Kontrolle behalten, denn ein Überwuchern des Pilzes würde den Tod des Keimlings bedeuten. Dies ist in der Tat gelegentlich in den Kulturen zu beobachten. Es können Samen sehr frühzeitig verpilzen (Abb. 14, rechts) und zerstört werden, aber auch Keimlinge, die sich zunächst regelrecht entwickelt und bereits ein recht fortgeschrittenes Stadium erreicht haben, können plötzlich vom Pilz überwältigt und getötet werden (Abb. 15). Wodurch solche „Katastrophen“ ausgelöst werden, ist schwer zu sagen. Beobachtungen deuten darauf hin, dass dies auf Substraten mit höherem Angebot an Nährstoffen häufiger der Fall ist als auf mageren Substraten.

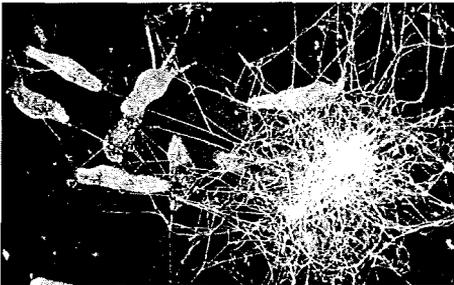


Abb. 14

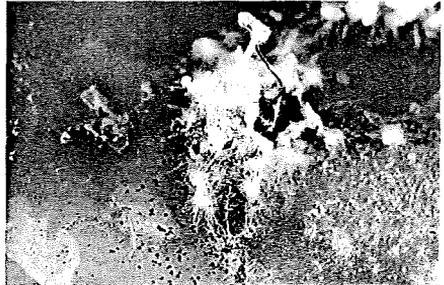


Abb. 15

Ist das Stadium der Blattanlage einmal erreicht, entwickeln sich echte Wurzeln und die ersten Blätter häufig innerhalb kurzer Zeit. Allerdings gibt es auch Kulturen, die plötzlich ihre weitere Entwicklung einstellen. Dies ist in der Regel ein Zeichen dafür, dass die Pflanzen eine Ruheperiode in der Kälte benötigen. Sechs bis acht Wochen bei etwa 4° C im Kühlschrank reichen meist aus, um das Wachstum wieder in Gang zu bringen, wenn die Kulturen in normale Temperaturen gebracht werden.

Irgendwann ergibt sich die Notwendigkeit, die Pflanzen zu pikieren. Dazu muss ein Erds substrat vorbereitet werden, das den symbiontischen Pilz in ausreichender Menge enthält. Dies lässt sich leicht dadurch erreichen, dass man Pilz in Agarkulturen in größerer Menge heranzieht und dann den pilzdurchwachsenen Agar mit der Pflanzerde, die man verwenden will, vermischt. Nach wenig erfolgreichen Versuchen, gedämpfte Erde zu verwenden, habe ich schließlich mit wesentlich besseren Resultaten einfach unbehandelte Gartenerde verwendet. Die mit dem Pilz vermischte Gartenerde habe ich zunächst zwei Wochen in einem Eimer ruhen lassen, um dem Orchideenpilz Gelegenheit zu geben, die Erde zu durchwachsen. Die Verluste an Pflanzen durch das Pikieren sind gering, bei vorsichtigem Arbeiten mit weichen Holzstäbchen (z.B. Japanische Essstäbchen) weniger als 10 %.

Die Zeit, die von der Aussaat bis zur Blüte der Pflanzen vergeht, ist wahrscheinlich nicht nur von der Orchideenart abhängig, sondern auch davon, wie gut Pilz und Pflanze harmonieren. Sicher spielen auch andere Faktoren, wie Temperatur, Art des Substrats und die Belichtungsverhältnisse eine Rolle. Die kürzesten Entwicklungszeiten, die ich beobachten konnte, von der Aussaat bis zu blühenden Pflanzen, waren 16 und 18 Monate für *Orchis fragrans* und für *Dactylorhiza majalis*.

Mit einigen Abbildungen sei die Entwicklung der symbiontisch aufgezogenen Pflanzen illustriert. Und zwar für *Orchis morio* (Abb. 16 – 17), *Spiranthes spiralis* (Abb. 18 - 20) und *Dactylorhiza majalis* (Abb. 21 - 24).

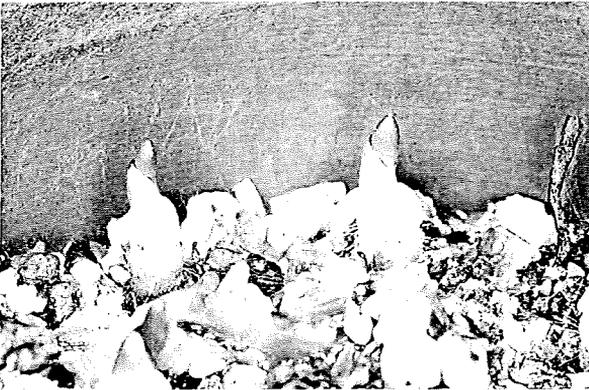


Abb. 16: *Orchis morio*. Keimlinge etwa 4 Monate nach der Aussaat auf pilzdurchwachsenes Substrat (Bimskies, Vermikulit, Polypodiumwurzeln). Hyphen des Pilzes sind an der Wand des Blumentopfes zu erkennen. Die Entwicklung der ersten echten Wurzel hat begonnen, die Sprossanlage enthält bereits Chlorophyll.

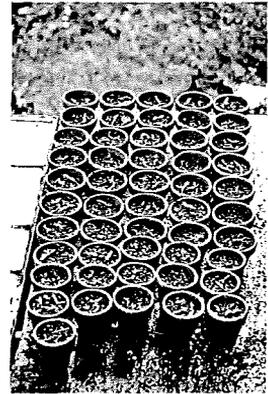


Abb. 17: *Orchis morio*. Jungpflanzen, etwa ein Jahr alt. Die Pflanzen haben den Winter ungeschützt in Freien überstanden, und sollen ausgepflanzt werden.



Abb.18: *Spiranthes spiralis*. Keimlinge etwa 6 Monate alt nach einer längeren Periode im Kühlschrank um die für das Weiterwachsen anscheinend erforderliche Winterruhe zu simulieren. Alle Keimlinge stammen aus dem selben Ansatz, eine solche sehr unterschiedliche Entwicklung der Keimlinge war bei fast allen Versuchen zu beobachten.

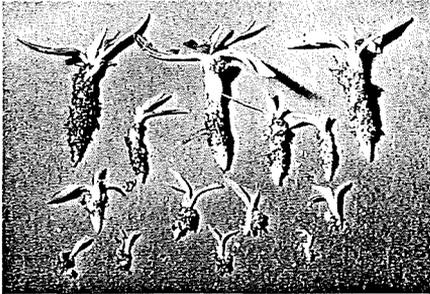


Abb. 19: *Spiranthes spiralis*. Jungpflanzen aus dem selben Ansatz wie Abb. 18 im Alter von etwa 10 Monaten. Die typische Gestalt der erwachsenen Pflanzen ist bereits zu erkennen.



Abb. 20: *Spiranthes spiralis*. Jungpflanzen kurz vor dem Auspflanzen.



Abb. 21: *Dactylorhiza majalis*. Zweimal pikierte Jungpflanzen, etwa 1 Jahr alt, mit kräftiger Entwicklung der Wurzeln.

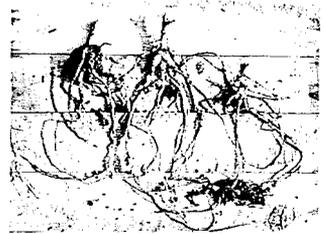


Abb. 22: *Dactylorhiza majalis*. Wie Abb. 21, die Wurzelballen jedoch aufgelöst.

Will man die in symbiontischer Kultur herangezogenen Pflanzen ins Freiland bringen, so gibt es zunächst keine Probleme. Die Pflanzen sind robust und vermögen sich, wenn sie ins richtige Biotop gelangen, auch durchzusetzen gegen die Konkurrenz der übrigen Pflanzen. Die Erfahrung hat aber gezeigt, dass es meist schwierig ist, geeignete Biotope zu finden. Besonders skeptisch bin ich, wenn diskutiert wird, alte Standorte, an denen Orchideen verschwunden sind, wieder „aufzuforsten“, denn das Verschwinden der ursprünglichen Orchideenpopulationen dürfte im Allgemeinen ein Zeichen dafür sein, dass das Biotop für ein Fortbestehen der Orchideenpopulation nicht mehr geeignet war.

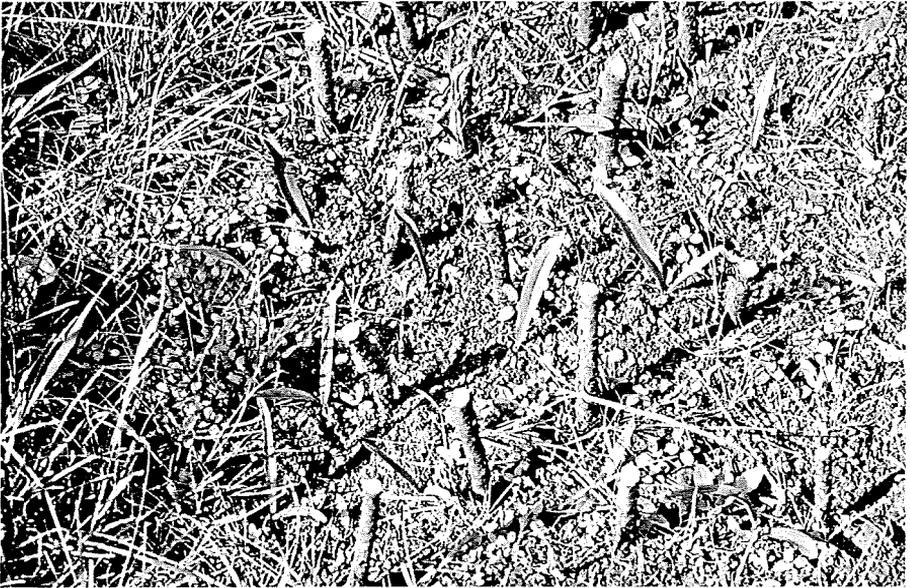


Abb. 23: *Dactylorhiza majalis*. Kurz nach der Aussaat.

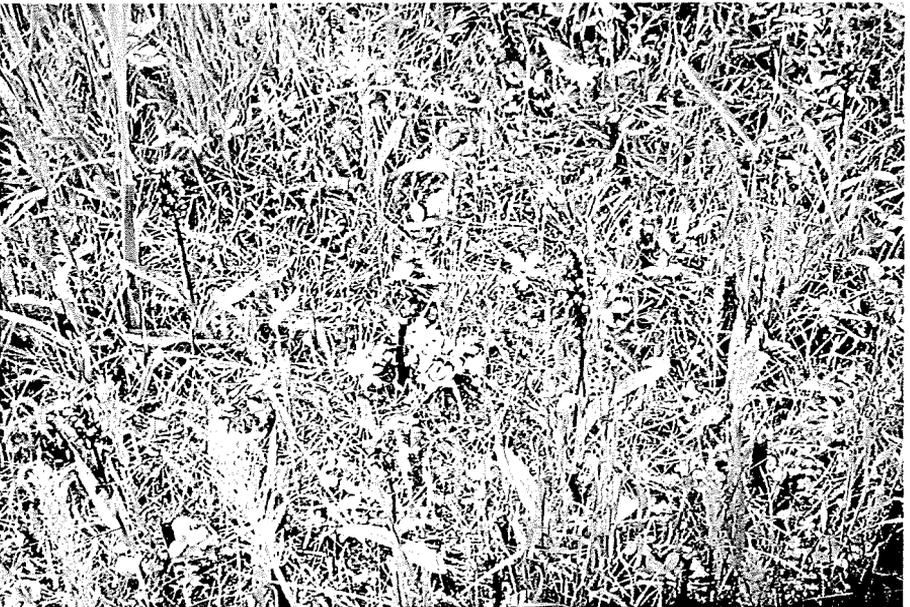


Abb. 24: *Dactylorhiza majalis*. Gleiche Stelle ein Jahr später.



Abb. 25: *Orchis fragrans*, 18 Monate nach Aussaat

Große Verluste können bei Auspflanzungen auftreten durch Schnecken, Vögel, aber auch „Schädlinge“, wie etwa den Dachs, der z.B. eine Auspflanzung von etwa 200 *Orchis morio* in einer Nacht vollständig zerstört hat, indem er die von ihm geschätzten Salepknollen sämtlich ausgegraben hat. Ebenso negativ verlief eine Auspflanzung von mehr als 100 *Spiranthes spiralis*. Die Pflanzen sind zunächst gut angewachsen, dann aber in einer längeren regenlosen Periode vertrocknet, vermutlich weil sie noch keinen ausreichenden Kontakt mit der Umgebung aufgenommen hatten. Kleine Erfolge konnten erzielt werden. Noch heute nach mehr als zwanzig Jahren besteht ein mit *Dactylorhiza majalis* geschaffener, gut kontrollierter künstlicher Standort mit etwa 30 Pflanzen, die z.T. fast kniehoch sind (Abb. 24). Wahrscheinlich sind dies die Nachkommen der ursprünglich angesiedelten Pflanzen.

Noch einige Bemerkungen zur Technik der symbiontischen Aufzucht und zur Spezifität der symbiontischen Pilze. Im Wesentlichen bin ich in der Zusammensetzung der Puffer- und Salzlösungen, sowie der Anfertigung der Substrate den Angaben von BURGEFF gefolgt. Statt der Farnwurzeln (*Polypodium* oder *Osmunda*) habe ich auch andere Stärkequellen in den Pflanzsubstraten verwendet. Gut geeignet waren einfache grobe Haferflocken, vorausgesetzt, dass sie nur in kleinen Mengen zugegeben wurden (s.o. „Katastrophen“). Wie dargestellt ist es gut möglich, die ersten Phasen der Keimung auf Agarplatten zu induzieren, wobei sich bewährt hat, die Samen nicht direkt auf die Agaroberfläche zu geben, sondern den Agar nach der Beimpfung mit dem Pilz mit einem sterilen Filterpapier zu bedecken. Dieses wird von den Pilzhypphen durchwachsen, die so zu den Orchideensamen auf dem Filterpapier gelan-

gen. Eine andere Möglichkeit besteht darin, in geeigneten Gefäßen z.B. Glasdosen ein Substrat einzubringen, das aus einer Schicht Osmunda- oder Polypodiumwurzeln besteht, die überlagert wird von einem Gemisch aus feinem Bimskies und Vermikulit. Dieses künstliche Erdreich hat sich mir besonders bewährt. Allerdings muss das Vermikulit erst unter mehrfachem Wasserwechsel gewaschen werden, da es offensichtlich Stoffe enthält, die die Keimung behindern. Die mit den Farnwurzeln und dem Bimskies-Vermikulit-Gemisch beschickten Glasdosen werden autoklaviert. Ein Stückchen pilzdurchwachsender Agar wird dann auf die Oberfläche des Substrats gebracht. Die unbehandelten (nicht desinfizierten!) Orchideensamen können aufgestreut werden, wenn der Pilz das Substrat völlig durchgewachsen hat, was bei Zimmertemperatur etwa zwei Wochen in Anspruch nimmt.

Bei den von mir durchgeführten Keimungsversuchen hat sich wider Erwarten gezeigt, dass die Pilze, die eine Keimung der Orchideensamen auslösen können, nicht spezifisch sind. Ein Pilz, der aus *Dactylorhiza majalis* isoliert wurde, war in der Lage, nicht nur *Dactylorhiza majalis*-Samen zum Keimen zu bringen, sondern auch Samen von *Dactylorhiza incarnata*, *Orchis fragrans*, *Orchis morio*, *Orchis militaris* und *Spiranthes spiralis*. Die Keiminduktion durch diesen Pilz war sogar besser als die durch Pilze aus den Mutterpflanzen.

Literatur

- BURGEFF, H. (1936): Samenkeimung der Orchideen und die Entwicklung ihrer Keimpflanzen. Fischer, Jena
BURGEFF, H. (1954): Samenkeimung und Kultur europäischer Erdorchideen. Fischer, Stuttgart

Prof. Dr. H.M. Seitz
Institut für Med. Parasitologie
Postfach 1825
53008 Bonn

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Jahresberichte des Naturwissenschaftlichen Vereins Wuppertal](#)

Jahr/Year: 2002

Band/Volume: [55](#)

Autor(en)/Author(s): Seitz Hanns Martin

Artikel/Article: [Die symbiontische Keimung bei Orchideen 251-261](#)