

Phyton (Austria)	Vol. 20	Fasc. 3—4	279—284	30. 9. 1980
------------------	---------	-----------	---------	-------------

Aus dem Institut für Pflanzenphysiologie und dem
Institut für Systematische Botanik der Universität Graz, sowie
dem Zentrum für Elektronenmikroskopie Graz

Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen an *Chrysomyxa abietis* befallenen Fichtennadeln

Von

Dieter GRILL *), Josef HAFELLNER **) und Hanns WALTINGER ***)

Mit 16 Abbildungen (4 Tafeln)

Eingelangt am 10. Dezember 1979

Key words: *Chrysomyxa abietis*, *Uredinales*, *Picea abies*, Fichtennadeln.

Summary

SEM investigations were carried out on spruce needles infected with *Chrysomyxa abietis* after clearing up methodical problems. It could be demonstrated that the infection of the needle occurs through the stomata followed by an inter- and intracellular display of fungus mycelium within the mesophyll tissue. In addition the ontogenesis of teleuto- and basidiospore layers of *Chrysomyxa abietis* was observed which has a microcyclic development of the leptothecium. Finally the infection of young needles was discussed.

Zusammenfassung

Mit Hilfe des REM wurden nach Klärung methodischer Probleme Untersuchungen an Fichtennadeln durchgeführt, welche von *Chrysomyxa abietis* infiziert waren. Es konnte gezeigt werden, daß die Infektion der Nadeln über die Spaltöffnungen erfolgt, woran sich eine Ausbreitung des Pilzmyzels inter- sowie intrazellulär im Mesophyll anschließt. Des weiteren wurde die Ontogenese des Leptotheciums beobachtet, welches eine mikrocyclische Entwicklung aufweist. Schließlich wurde die Infektion junger Nadeln diskutiert.

*) Univ.-Doz. Dr. Dieter GRILL, Institut für Pflanzenphysiologie an der Universität Graz, Schubertstraße 51, A-8010 Graz (Austria).

**) Dr. Josef HAFELLNER, Institut für Botanik an der Universität Graz, Holteigasse 6, A-8010 Graz (Austria).

***) Ing. Hanns WALTINGER, Zentrum für Elektronenmikroskopie, Steyrergasse 17, A-8010 Graz (Austria).

der Teleuto- und Basidiosporenlager im Verlauf der mikrocyclischen Entwicklung der Leptoform verfolgt und schließlich auf die Infektion junger Nadeln eingegangen.

Einleitung

Chrysomyxa abietis (Uredinales. *Chrysomyxaceae*), welcher einen mikrocyclischen Entwicklungsgang der Leptoform zeigt, ist ein häufiger Parasit junger, dichtstehender Fichtenbestände. Bei epidemischem Auftreten kommt es auf Grund vorzeitigen Nadelfalls zu Zuwachsverlusten, jedoch selten zum Absterben der Bäume (GÄUMANN 1959, HASSEBRAUK 1962, BUTIN & ZYCHA 1973). Die Ausbreitung des Pilzes in der Fichtennadel ist nach GRILL, LACKNER & SCHARNER 1978 auf das Mesophyll beschränkt, wobei der Pilz nach einem interzellulärem Wachstum im Herbst auch in die Zellen eindringen kann. Stützt sich die oben zitierte Arbeit auf lichtmikroskopische, zellphysiologische sowie histochemische Befunde, soll diese Arbeit mit Hilfe des Rasterelektronenmikroskops einen weiteren Beitrag zur Biologie dieses parasitischen Pilzes bringen.

Material und Methode

Als Versuchsmaterial dienten Nadeln 10–15 jähriger aufgeforsteter Fichtenbestände aus der Umgebung von Graz, welche z. T. äußerst stark von *Chrysomyxa* befallen waren. Der Untersuchungszeitpunkt richtete sich nach den zu erwartenden Ausbildungsstadien des Pilzes und wird jeweils an gegebener Stelle erwähnt.

Methodische Probleme:

Bei der Präparation für die REM-Untersuchungen ergaben sich insoferne Schwierigkeiten, als es sich beim Fichtennadel-Pilzsystem um ein sehr heterogenes Objekt handelt. Nach Untersuchungen von GRILL 1973a, b erbrachte Gefriertrocknung und anschließende Bedampfung mit Kohle und Gold bzw. Bestäubung mit Gold die besten Ergebnisse für die spätere Betrachtung der Fichtennadeln in REM (Abb. 15). Diese Vorbehandlung erwies sich für die Beobachtung des Pilzes als ungünstig, da die Hyphen und die Sporen in der Regel $\pm$ stark kollabierten (vgl. auch BRUNEGGER, PLANK & WOLKINGER 1976). Für die Beobachtung von pilzlichem Material schlagen O'DONNELL & HOOPER 1974 Fixierung des Materials und critical point drying (CPD) vor. Die für die Fixierung verwendeten Chemikalien, wie Glutaraldehyd bzw. die im Zuge der Gefriertrocknung angewandten organischen Lösungsmittel lösen jedoch die Wachsauflagerungen von den Koniferennadeln ab, sodaß der Gesichtspunkt, ob die Wachsaufgabe der Fichtennadel in der Biologie des Parasiten eine Rolle spielt, naturgemäß außer Acht bleiben müßte. Ein Kompromiß wurde insoferne erzielt, als eine möglichst schonende Entwässerung über die Alkoholreihe und anschließende CPD angewendet werden konnte, die zwar zu einer Deformie-

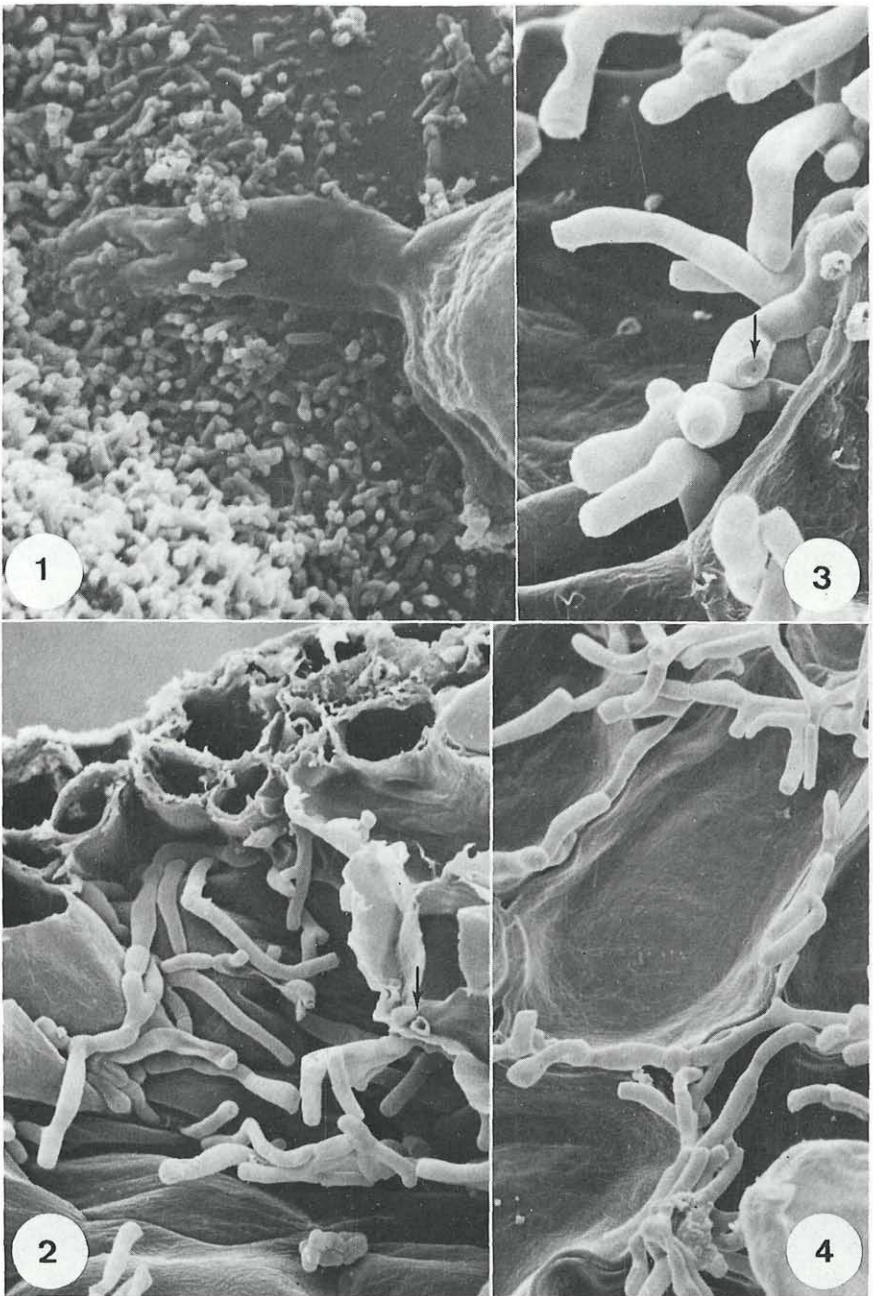


Abb. 1. Auskeimende Basidiospore von *Chrysomyxa abietis*, der Keimschlauch durch die Spaltöffnung eindringend, Mai (6000 $\times$). — Abb. 2. Querschnitt durch eine befallene Fichtennadel: links eine angeschnittene Spaltöffnung, das Myzel von *Chrysomyxa abietis* hauptsächlich interzellulär, doch Hyphen auch in die Zellen eindringend ($\rightarrow$), Juni (700 $\times$). — Abb. 3. Hyphen von *Chrysomyxa abietis*: die Querwände durch die typischen Poren durchbrochen ($\rightarrow$), Juni (1400 $\times$). — Abb. 4. Interzelluläres Myzel von *Chrysomyxa abietis*, Juni (700 $\times$)

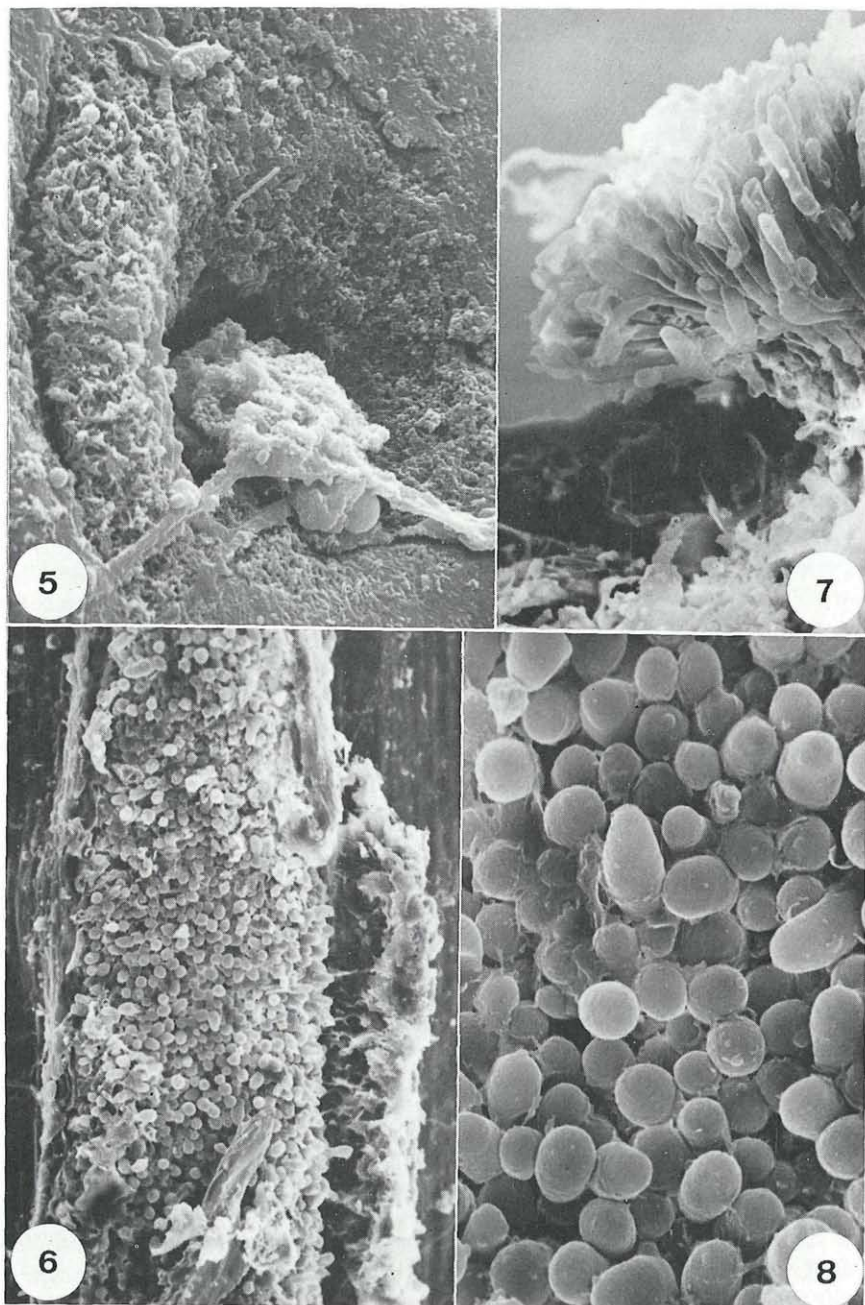


Abb. 5. Spaltöffnung einer befallenen Nadel im Winter (1950 $\times$). — Abb. 6. *Chrysomyxa abietis*: junges Teleutosporenlager in Aufsicht, Mai (120 $\times$). — Abb. 7. *Chrysomyxa abietis*: angeschnittenes Teleutosporenlager in Seitenansicht, Mai (300 $\times$). — Abb. 8. *Chrysomyxa abietis*: Scheitel von Teleutosporenketten (600 $\times$)

rung, jedoch zu keiner Auflösung der Wachse führte (Abb. 16). Gleichzeitig zeigten auch Pilzhypen kaum Schrumpfungen im REM, wodurch eine Vorfixierung entfallen konnte. Die zu verwendende Methode, Gefrier-trocknung oder CPD wurde nach der jeweiligen Fragestellung angewandt.

Praktische Durchführung:

Nach Beendigung der Gefriertrocknung bzw. CPD wird die Leitfähigkeits-schicht (Gold) aufgebracht.

Bei den Fichtennadeln wurde in der Regel das Ionenstrahlzerstäuben zum Aufbringen einer dünnen Goldschicht verwendet. Unseren Erfahrungen zufolge ist durch eine Zerstäubungsschicht eine genügende Bedeckung der meist sehr gegliederten Oberfläche des Präparates zu erreichen, sodaß eine vorherige Kohlenstoffbedeckung überflüssig erscheint.

Beim Ionenstrahlzerstäuben wird der gerichtete Strahl einer Ionenkanone im Hochvakuum auf eine Goldtarget gelenkt und die hiedurch zerstäubten Goldatome, die das Target geradlinig verlassen, vom Präparat aufgefangen; eine Dreh- und Schwenkvorrichtung sorgt für eine allseitige Bedeckung (GRASENICK, JAKOPIĆ & WALTINGER 1972a, b). Der Vorteil dieser Schichten liegt in ihrer im Vergleich zu aufgedampften Schichten besseren Haftfähigkeit und im Fortfall einer Wärmestrahlungsbelastung, die gerade bei Wachstrukturen zu Beschädigungen durch Aufschmelzen führen kann. Erwähnt sei noch, daß das Ionenstrahlzerstäubungsverfahren in einfacher Weise auch mittels einer besonderen Einrichtung (Atomstrahlenquelle) durchgeführt werden kann, ohne daß dafür eine Ionenkanone benötigt wird (JAKOPIĆ *et al.* 1978a, b).

Die Objekte wurden mit einem CAMBRIDGE Stereoscan Mark IIa — Gerät bei 20 kV untersucht.

Ergebnisse und Besprechung

Die von den Phragmobasidien im Mai bis Anfang Juni abgegliederten Basidiosporen sind sofort keimfähig. Von *Chrysomyxa abietis* ist die Keimungszeit nicht bekannt, als Richtwert kann aber die von GOULD & SHAW 1969 für *C. piperiana* — eine nordamerikanische Art — angegebene dienen. Bei dieser Art wurde von den genannten Autoren das Einsetzen der Keimung nach 1,5 Stunden beobachtet und nach 20 Stunden waren bereits 50% der Basidiosporen ausgekeimt. Es darf also angenommen werden, daß die Infektion der in den Maitrieben heranwachsenden Nadeln unmittelbar nach der Bildung der Basidiosporen an einjährigen Nadeln erfolgt. Abb. 1 zeigt auf einer jungen Nadel eine derartige Spore, welche auskeimt und den Keimschlauch in Richtung Spaltöffnung wachsen läßt, wobei dieser den Wachspropfen, eine lockere Anhäufung von Wachsröhrchen (GRILL 1973b), durchdringt und nach Passieren des Zentralspalts ins Innere der Nadel gelangt. Die Infektion erfolgt also in ähnlicher Weise wie bei anderen Rostpilzen über die Stomata (BROWN & SHIPTON 1964). In den Folge-

monaten breitet sich nun im Mesophyll ein Myzel aus, das nach LINDFORS 1924 durchwegs aus einkernigen Zellen besteht.

Zuerst erfolgt das Wachstum interzellulär (GRILL, LACKNER & SCHARNER 1978), wobei, wie Abb. 2 zeigt, große Interzellularen, wie die inneren Atemhöhlen, sehr dicht mit dem Hyphengeflecht erfüllt sind. Innerhalb des plattenförmig ausgebildeten Mesophylls (NAPP-ZINN 1966) sind, wie der Querschnitt einer Nadel zeigt, die Interzellularen sehr eng. Aber auch durch diese zwingen sich überaus reichlich Pilzhyphe (Abb. 3, 4). In jedem Fall liegen die Hyphen mehr oder weniger dicht den Zellwänden an, was für die Ernährung des Parasiten offenbar eine Notwendigkeit darstellt (Abb. 3). Bei fortgeschrittenerem Befall der Fichtennadel mit *Chrysomyxa*, vor Anlage der Teleutosporenlager im Herbst, erfolgt, wie an Hand lichtmikroskopische Befunde bereits berichtet wurde (GRILL, LACKNER & SCHARNER 1978), auch ein intrazelluläres Wachstum des Pilzes. Wie Abb. 2 zeigt, können jedoch auch bereits im Sommer vereinzelt intrazelluläre Hyphen nachgewiesen werden (→). Ist das Myzel physiologisch genügend erstarkt und möglicherweise auch durch Umweltbedingungen induziert, werden im Herbst die Teleutosporenlager angelegt. Diese kann man bereits zu dieser Zeit in Form orangeroter Streifen, die Farbe wird durch die karotinreichen generativen Zellen hervorgerufen, unter den reihenweise geordneten Spaltöffnungen erkennen. In diesen Anlagen wird durch paarweises Verschmelzen von palisadenartig geordneten, plasmareichen Zellen das Dikaryon hergestellt. Diese paarkernigen Zellen wachsen ohne Ruhepause zu kurzen verzweigten Hyphen aus. Die Entwicklung dieser Hyphen wird aber mit Einzug des Winters unterbrochen (KURSANOV 1922). Erst im darauffolgenden Frühjahr läuft die Ontogenie des Teleutosporenlagers weiter und es entstehen wiederholt verzweigte Zellketten, wobei jede beliebige Zelle Ausgangspunkt einer Verzweigung werden kann, worauf LINDFORS 1924 ausdrücklich hinweist. Mindestens die Endzellen dieser Ketten sind als Teleutosporen zu betrachten. Unter dem Druck des in dieser Weise volummäßig heranwachsenden Lagers reißt die Epidermis der Fichtennadel auf und die palisadenartig gedrängten Enden der Teleutosporenketten brechen hervor (Abb. 6, 7, 8). Für *C. piperiana* und *C. ledicola* geben GOULD & SHAW 1969 als Optimaltemperatur zur Ausreife von Teleutosporen 15–20° C an.

Bemerkenswert ist, daß die Teleutosporen von *C. abietis* morphologisch nicht differenziert sind. Ihre Zellwände sind weder pigmentiert noch verdickt und auch Keimporen sind, weil nicht notwendig, nicht vorhanden. Zudem sind sie reich an karotinhaltigen Reservestoffen. Was als Teleutospore zu bezeichnen ist, ist im Endeffekt allein durch die karyologischen Vorgänge bestimmt, denn in Teleutosporen findet eine Karyogamie statt, in sterilen Basalzellen bleibt das Dikaryon erhalten. Diese Teleutosporen keimen, nachdem auch die Meiose in ihnen abgelaufen ist, mit Basidien aus, in die die haploiden Kerne einwandern. Mit der Ausbildung der für die

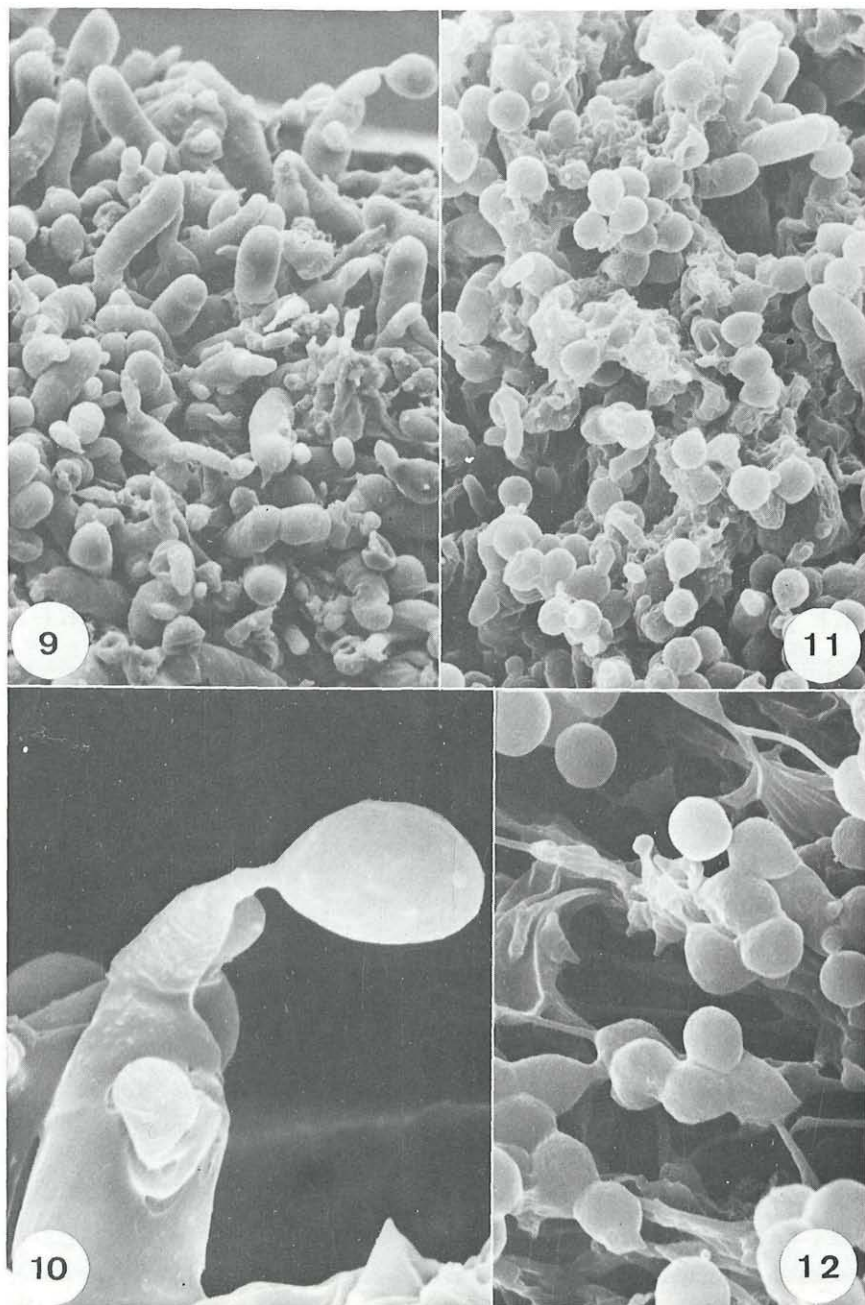


Abb. 9. *Chrysomyxa abietis*: Phragmobasidien in verschiedenen Entwicklungszuständen, Mai—Juni ($600\times$). — Abb. 10. *Chrysomyxa abietis*: Scheitel einer Phragmobasidie ($2400\times$). — Abb. 11. *Chrysomyxa abietis*: reifes Teleutosporenlager mit zahlreichen Basidiosporen, Juni ($600\times$). — Abb. 12. *Chrysomyxa abietis*: auf altem Teleutosporenlager anhaftende Basidiosporen, Juni ($1200\times$)

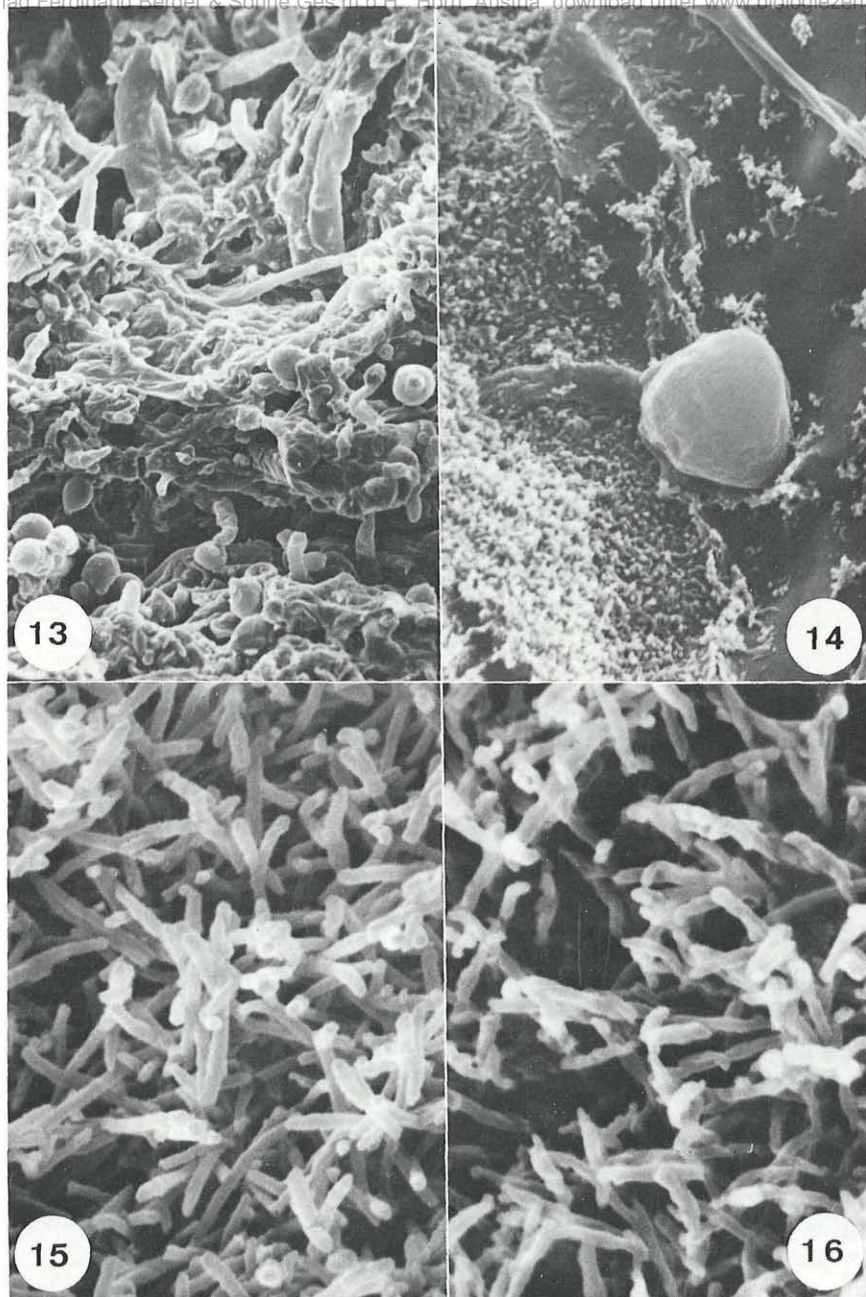


Abb. 13. *Chrysomyxa abietis*: altes kollabiertes Teleutosporenlager, nur noch vereinzelt Basidiosporen anhaftend, Juni ($600\times$). — Abb. 14. Basidiospore von *Chrysomyxa abietis* an einer jungen Nadel von *Picea abies* anhaftend, mit Keimschlauch, Mai ($2400\times$). — Abb. 15. Wachsauflagerung auf einer jungen Nadel von *Picea abies*. Präparationsmethode: Gefriertrocknung, Goldbedampfung ($10.000\times$). — Abb. 16. Wie Abb. 15, Präparationsmethode: CPD, Alkoholreihe, Goldbedampfung ($12.000\times$)

Uredinales charakteristischen quergeteilten Phragmobasidie (Abb. 9) und der Differenzierung der Basidiosporen (Abb. 10, 11, 12) ist der Entwicklungskreislauf geschlossen.

Die von den Lagern abfallenden Basidiosporen keimen auf alten oder jungen Nadeln gleicherweise aus (Abb. 1, 14). Eine Infektion allerdings erfolgt nur auf jungen, frisch ausgetriebenen Nadeln, wogegen an alten nie eine Infektion zu beobachten ist. Die Gründe dafür sind sicher im physiologischen Bereich der Nadeln zu suchen; weiteres ist nicht bekannt. Unterschiedliche Wachsauflagerungen der Nadeln, auf denen die Sporen festkleben könnten, spielen kaum eine Rolle. Wie Abb. 14 zeigt, liegen die Sporen meist auf der Nadeloberfläche, welche in der Regel nur geringe Wachsauflagerungen zeigt (GRILL 1973b) und nicht auf den Wachspfpöfen über den Spaltöffnungen.

Diese Arbeit wurde auf Grund von Zuwendungen des Bundesministeriums für Wissenschaft und Forschung ermöglicht.

Schrifttum

- BROWN J. F. & SHIPTON W. A. 1964. Some environmental factors influencing penetration from appressoria of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* on seedling wheat leaves. — *Phytopathol.* 54: 949—954.
- BRUNEGGER A., PLANK S. & WOLKINGER S. 1976. Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen von Pilzhypen im Holz. — *Micron* 7: 183—191.
- BUTIN H. & ZYCHA H. 1973. Forstpathologie. — Stuttgart.
- GÄUMANN E. 1959. Die Rostpilze Mitteleuropas mit besonderer Berücksichtigung der Schweiz. In: Beiträge zur Kryptogamenflora der Schweiz. Bd. 12, 93—106. — Bern.
- GOULD C. J. & SHAW C. G. 1969: Spore germination in *Chrysomyxa* ssp. — *Mycologia* 61: 694—717.
- GRASENICK F., JAKOPIĆ E. & WALTINGER H. 1972a. Metallbeschichtung nichtleitender Materialien zur Rasterelektronenmikroskopie. — *Naturwissenschaft* 59: 362.
- — — 1972b. Ein Verfahren zur Metallbeschichtung nichtleitender Materialien für das Raster-Elektronenmikroskop. — *Beitr. elektronenmikroskop. Direktabb. Oberfl.* 5: 421—432.
- GRILL D. 1973a. Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen an Nadeln einiger Pinaceen, Cupressaceen und Taxaceen. — *Mikroskopie* 29: 348—358.
- 1973b. Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen an Wachstrukturen der Nadeln von *Picea abies* (L.) KARST. — *Micron* 4: 146—154.
- GRILL D., LACKNER E. & SCHARNER M. 1978. Untersuchungen an mit *Chrysomyxa abietis* befallenen Fichtennadeln. — *Phyton (Austria)* 19: 71—82.
- HASSEBRAUK K. 1962. Uredinales (Rostpilze). In: SORAUER P., Handb. Pflanzenkrankh., Bd. 3/4, 2—275. 6. Aufl. — Berlin—Hamburg.

- JAKOPIĆ E., BRUNEGGER A., ESSL R. & WINDISCH G. 1978a. Eine kompakte Apparatur zur Herstellung von Zerstäubungsschichten für die elektronenmikroskopische Präparation. — *Mikroskopie* 34: 117.
- — — — 1978b. A sputter source for electron microscopic preparation. — 9th Int. Congr. on Electron Microscopy, Toronto 1978, Proceedings vol. I, 150—151.
- KURSANOV L. 1922. Recherches morphologiques et cytologiques sur les Urédinées. — *Bull. Soc. Naturalist. Moscou, Sect. Biol., nouv. sér.*, 31: 1—129.
- LINDFORS T. 1924. Studien über den Entwicklungsverlauf bei einigen Rostpilzen aus zytologischen und anatomischen Gesichtspunkten. — *Svensk Bot. Tidskr.* 18: 1—81.
- NAPP-ZINN K. 1966. Blattanatomie der Gymnospermen. — Berlin—Nikolassee.
- O'DONNELL K. L. & HOOPER G. R. 1974. Scanning ultrastructural ontogeny of paragymnohymenial apothecia in the operculate discomycete *Peziza quelepidotia*. — *Can. J. Bot.* 52: 873—876.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Phyton, Annales Rei Botanicae, Horn](#)

Jahr/Year: 1980

Band/Volume: [20_3_4](#)

Autor(en)/Author(s): Grill Dieter, Hafellner Josef, Waltinger Hanns

Artikel/Article: [Rasterelektronische Untersuchungen an Chrysomyxa abietis befallenen Fichtennadeln. 279-284](#)