©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.a

Die Entwicklung von Achlya klebsiana Pieters auf Samen verschiedener Pflanzen

Von Bosiljka Ristanović und Hilda Ritter-Studnička.
Biologisches Institut der Universität, Sarajevo.)

Samen finden auch heute noch die meiste Anwendung für das Auffangen wasserbewohnender Phycomyceten auf ihren natürlichen Standorten. Der Same von *Cannabis sativa* ist seit Harvey (1925) gewissermassen ein universaler Köder für Wasserpilze geworden, der ihn als geeignetes Substrat zur Beseitigung von Bakterien und Protozoën in Mischpopulationen von Mikroorganismen empfiehlt.

Wenn auch der Same dieser Pflanze allgemein angewendet wird, so ist es trotzdem eine Notwendigkeit, weitere Substrate aufzufinden, auf denen sich der gesamte Lebenszyklus dieses Pilzes abwickelt. Ferner ist aus der Praxis bekannt, dass auf Hanfsamen die Geschlechtselemente der Wasserphycomyceten nicht immer zur Entwicklung gelangen, so dass auch von diesem Aspekt die Kenntnis einer grossen Anzahl von Ködern ein sehr aktuelles Problem darstellt.

Da *Achlya klebsiana* in reinen Gewässern lebt, verdient sie als potentieller Indikator für deren Qualität besondere Aufmerksamkeit (Ristanović 1969). Ausser Hanfsamen sind aber wenig Substrate bekannt die ihre Entwicklung günstig beeinflussen. Pieters isolierte *Achlya klebsiana* auf Fliegenstücken, auf denen es zur Entwicklung von Oogonien und Antheridien kam. In einem Fall gelang ihm dies auch auf Erbsensamen. Coker erzielte die Entwicklung von Geschlechtselementen auf Maismehlagar, was Pieters in seinen Versuchen nicht bestätigen konnte (Zit. in Johnson 1956).

Unsere Arbeit setzte sich zum Ziel, die Kenntnis geeigneter Medien von Samen verschiedener Pflanzen für die Entwicklung von *Achlya klebsiana* zu erweitern.

Methodik

Der in den Versuchen verwendete Stamm von *Achlya klebsiana* ist aus dem Fluss Stavnja auf Hanfsamen isoliert worden. Reine Kulturen wurden auf Agar nach Foust (F_{13}) gewonnen (Sparrow 1960). Zur weiteren Züchtung sind Samen von 87 Pflanzenarten, die 29 verschiedenen Familien angehören, auf ihre Eignung als Substrat untersucht worden, und zwar:

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Betulaceae: Alnus glutinosa (L.) Gärtn., *Carpinus betulus* L., *Ostrya carpinifolia* Scop., *Corylus avellana* L.,
Fagaceae: Fagus silvatica L., *Quercus petraea* Mat.,
Chenopodiaceae: Beta vulgaris L.,
Euphorbiaceae: Ricinus communis L.,
Ranunculaceae: Clematis viticella L.,
Papaveraceae: Papaver somniferum L.,
Cruciferae: Thlaspi goesingense Hl., *Erysimum cuspidatum* DC., *Brassica rapa* var. *oleifera* Meteg.,
Malvaceae: Malva silvestris L., *Gossypium herbaceum* L.,
Aceraceae: Acer campestre L.,
Hippocastanaceae: Aesculus hippocastanum L.,
Celastraceae: Evonymus europaea L.,
Rhamnaceae: Rhamnus fallax Boiss.,
Rosaceae: Rosa canina L., *Sorbus torminalis* (L.) C'r., *Sorbus aucuparia* L., *Prunus spinosa* L., *Agrimonia eupatoria* L., *Crataegus monogyna* Jacq., *Prunus persica* (L.) Stokes,
Papilionaceae: -Caesalpinoideae: Ceratonia siliqua L.,
-Papilionatae: Robinia pseudacacia L., *Cicer arietinum* L., *Glycine hispida* (Mnch.) Maxim., *Vicia sativa* L., *Vicia pannonica* Cr., *Vicia faba* L., *Lens culinaris* Med., *Lathyrus sativus* L., *Phaseolus vulgaris* L., *Medicago sativa* L., *Melilotus albus* Desr., *Trifolium hybridum* L., *Trifolium pratense* L., *Trifolium repens* L., *Dorycnium germanicum* (Gremli) Rouy, *Lupinus albus* L., *Onobrychis sativa* Lam.,
Cornaceae: Cornus sanguinea L., *Cornus mas* L.,
Umbelliferae: Heracleum sphondylium L., *Laserpitium marginatum* W. K., *Torilis anthriscus* (L.) Gmel.,
Boraginaceae: Lappula echinata Gilib,
Solanaceae: Solanum nigrum L., *Solanum dulcamara* L., *Solanum lycopersicum* L., *Capsicum annuum* L., *Nicotiana tabacum* L.,
Scrophulariaceae: Scrophularia canina L.,
Plantaginaceae: Plantago lanceolata L.,
Oleaceae: Fraxinus ornus L., *Ligustrum vulgare* L.,
Caprifoliaceae: Sambucus racemosa L., *Sambucus ebulus* L.,
Cucurbitaceae: Bryonia alba L., *Citrullus vulgaris* Schrad., *Cucumis melo* L.,
Punicaceae: Punica granatum L.,
Compositae: Helianthus annuus L., *Centaurea scabiosa* L.,
Liliaceae: Scilla pratensis W. K.,
Amaryllidaceae: Leucoium aestivum L.,
Dioscoreaceae: Tamus communis L.,
Gramineae: Zea mays L., *Sorghum sorghum* (cult.) *Panicum miliaceum* L., *Phleum pratense* L., *Alopecurus pratensis* L., *Agrostis alba* L., *Arrhenatherum elatius* (L.) Presl., *Dactylis glomerata* L., *Poa pratensis* L., *Bromus inermis* Leyss., *Lolium multiflorum* Lam., *Lolium perenne* L., *Secale cereale* L., *Triticum aestivum* L., *Triticum durum* Desf., *Hordeum vulgare* L.

Die Samen wurden in Stückchen von annähernd gleicher Grösse geschnitten, und wenn dies wegen der harten Samenschale nicht möglich war, wurden sie vorher zum Anquellen in destilliertes Wasser gelegt. Die Samenstücke wurden mittels Tyndallisation sterilisiert. Runde Ausschnitte aus acht Tage alten Kolonien von *Achlya klebsiana* wurden mit destilliertem Wasser in Petrischalen übertragen.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.a

Auf diesen Ausschnitt ist das Samenstückchen einer Pflanze gelegt worden, so dass das Nährgewebe mit den Hyphen in Kontakt gelangen konnte. Sobald es zwischen den Samenteilen und den Hyphen zu einer festen Bindung kam, wurde das Inokulum entfernt, während die neu entstandene Kolonie mit destiliertem Wasser und einem weiteren Samenstück der gleichen Pflanzenart in eine andere Petrischale übertragen wurde. Auf diese Art ist das eventuelle Vorhandensein von Nährstoffen aus der F_{13} Unterlage entfernt worden.

Die Kulturen entwickelten sich bei 20° C und wurden dem Tageslicht ausgesetzt, das nach einigen Autoren für die Keimung der Sporen aus der Gattung *Achlya* unbedingt erforderlich ist (Ziegler 1948, Scott 1961). Alle 2—3 Tage wurden die Kolonien auf ihre morphologischen Merkmale sowie das Auftreten von Gemmen, Chlamydosporen, Zoosporangien, Oogonien und Antheridien mikroskopisch untersucht.

Die Samen von Kulturpflanzen wurden durch Ing. Azra Tomić-Sofo und Ing. Mr. Stojana Novaković von der landwirtschaftlichen Fakultät bezogen, wofür ihnen auch an dieser Stelle bestens gedankt sei.

Besprechung der Ergebnisse

Nach den Beschreibungen von Pieters 1915, Ito et Nagat 1931, Chaudhuri et Lotus 1936, und Johnson 1950 (Zit. in Johnson 1956), sind die taxonomischen Merkmale von *Achlya klebsiana* sehr variabel. Detaillierte Untersuchungen der morphologischen Eigenschaften am Stamm aus dem Flusse Stavnja haben jedoch ergeben, dass sie auf allen Samen beinahe gleichförmig ausgebildet waren. Nicht in einem einzigen Fall konnten weder Gemmen noch Zoosporangien von faden- oder schiffchenförmiger, sondern nur von spindelförmiger Gestalt beobachtet werden. Das Ausschwärmen der Zoosporen erfolgte nur akloid und niemals aplanoid. Der Oogonienträger ist gerade oder wenig gebogen und höchstens zweimal länger als der Durchmesser der Oogonien. Die Oogonmembran hat nur an der Berührungsstelle mit der antheridialen Zelle einen Tüpfel, was der Beschreibung von Pieters 1915 (Zit. in Johnson 1956) entspricht. Die Oogonien sind rund, nur ausnahmsweise ellipsoidisch und niemals eiförmig. Die Oosphären sind gleichfalls rund, seltener ellipsoidisch, während pyramidale Formen niemals gefunden wurden. In den Oogonien befinden sich meist 3—4, höchstens sieben Oosphären; solche mit nur einer Oosphäre wurden nicht gefunden. Die Antheridien enden meist röhren- und nicht keulenförmig. Da die Oogenese nicht gleichzeitig beginnt, sind die Oosporen verschiedenen Alters.

Die Samen der untersuchten Pflanzen ermöglichten *Achlya klebsiana* verschiedene Entwicklungsstadien. Auf den ungünstigsten Sub-

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.a

straten kam es nicht einmal zur Entwicklung von Hyphen. Auf etwas günstigeren Unterlagen gelangten ausser Hyphen noch Zoosporangien und Gemmen zur Entwicklung, während auf den günstigsten Substraten Oogonien und Antheridien auftraten. Der Nährwert dieser Samen hat aber nicht immer den Fertilisationsprozess zur Folge, so dass es trotz des Vorhandenseins von Geschlechtsorganen nicht zur Bildung von Oosporen kam. Daher können unter den günstigsten Substraten die Samen jener Pflanzen ausgeschieden werden auf denen sich der komplette Lebenszyklus der Pilze abspielt.

Auf Grund der erzielten Entwicklungsphasen können die untersuchten Pflanzen in einige Kategorien eingeteilt werden:

1. Der Pilz gelangt in keiner Weise zur Entwicklung so auf *Punica granatum,*
2. Nur somatische Hyphen bilden sich auf: *Alnus glutinosa, Quercus petraea, Rhamnus fallax, Sorbus aucuparia, Lathyrus sativus, Cornus mas, Laserpitium marginatum, Lappula echinata, Centaurea scabiosa* und *Bromus inermis.*
3. Ausser Hyphen bilden sich Gemmen und Zoosporangien auf: *Prunus persica, Vicia sativa* und *Cucumis melo.*
4. Neben Elementen ungeschlechtlicher Vermehrung treten Oogonien und Antheridien auf: auf *Corylus avellana, Fagus silvatica, Beta vulgaris, Clematis viticella, Papaver somniferum, Brassica rapa* var. *oleifera, Malva silvestris, Acer campestre, Aesculus hippocastanum, Crataegus monogyna, Lens culinaris, Medicago sativa, Melilotus albus, Trifolium hybridum, Trifolium repens, Dorycnium germanicum, Lupinus albus, Nicotiana tabacum, Solanum lycopersicum, Capsicum annuum, Scrophularia canina, Ligustrum vulgare, Citrullus vulgaris, Helianthus annuus, Leucoium aestivum, Tamus communis, Zea mays, Sorghum sorghum* (cult. hybrid.) *Phleum pratense, Alopecurus pratensis, Dactylis glomerata, Poa pratensis, Triticum aestivum, Triticum durum* und *Hordeum vulgare.*
5. Hyphen, Zoosporangien und Gemmen sowie vorwiegend leere Oogonien oder solche mit abnormal geformtem Inhalt entwickeln sich auf: *Sorbus torminalis, Ceratonia siliqua, Glycine hispida, Vicia pannonica, Onobrychis sativa, Scilla pratensis, Agrostis alba* und *Secale cereale.*
6. Ein vollkommener Lebenszyklus mit Bildung von Oosporen wickelt sich auf den Samen folgender Pflanzen ab: *Carpinus betulus, Ostrya carpinifolia, Ricinus communis, Thlaspi goesingense, Erysinum cuspidatum, Gossypium herbaceum, Evonymus europaea, Rosa canina, Cicer arietinum, Vicia faba, Phaseolus vulgaris, Trifolium pratense, Cornus sanguinea, Heracleum sphondylium, Torilis anthriscus, Solanum nigrum, Solanum dulcamara, Plan-*

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.a

tago lanceolata, Fraxinus ornus, Sambucus racemosa, Sambucus ebulus, Bryonia alba, Panicum miliaceum, Arrhenatherum elatius Lolium multiflorum, und *Lolium perenne.*

Die Mehrzahl der Samen der untersuchten Pflanzen (80,4%) bilden offensichtlich ein günstiges Substrat für die Entwicklung von Geschlechtsorganen dieses Pilzes, doch bieten immerhin nur 38,6% von ihnen entsprechende Nährböden für seinen Fertilisationsprozess. Im Zeitraum von 5—10 Inkubationstagen konnte dieser Prozess an den Samen folgender Pflanzen festgestellt werden: *Ostrya carpinifolia, Gossypium herbaceum, Cicer arietinum, Cornus sanguinea* und *Bryonia alba.* Auf den Samen der übrigen Pflanzen begann der Fertilisationsprozess erst nach 8 Tagen und dauerte bis 20 Tage nach erfolgter Inkubation.

Über den Komplex stimulativer Faktoren die die hormonale Aktivität dieses Pilzes beeinflussen, kann kein Einblick gewonnen werden, da die gesamte Reihe der physikalischen und chemischen Faktoren der untersuchten Samen nicht verglichen werden kann. Wegen ungenügender Kenntnis der chemischen Zusammensetzung vieler Samen können die Resultate dieser Arbeit daher nicht entsprechend dokumentiert werden und müssten auf Grund der gewonnenen Ergebnisse die wirksamen Faktoren einer biochemischen Untersuchung unterzogen werden.

Auf einer geringen Anzahl der Samen (9,2%) des untersuchten Materials blieb die Bildung des Zellinhalts in den Oogonien aus, das Plasma konglomerierte ohne dass es zur Formierung der Oosphären kam. Die Proliferation unreifer Oogonien blieb eine sehr seltene Erscheinung und zeigte sich nur auf den Samen von *Ligustrum vulgare* und *Leucoium aestivum.* Interkalare Oogonien wurden nur auf Samen von *Trifolium pratense* beobachtet. Antheridische Hyphen entwickelten sich in allen Kolonien wo Oogonien bestanden, doch bildeten sich antheridiale Zellen nicht nur wenn Oogonien Oosphären enthielten sondern auch wenn diese leer waren oder keine ausgebildeten Oosphären enthielten. Besonders auffallend war dies in den Kolonien auf Samen von *Scilla pratensis* zu beobachten.

Auf 15% des untersuchten Materials kam es bei *Achlya klebsiana* nur zur Entwicklung der vegetativen Phase. Diese Samen dürften arm an Reservestoffen sein, was Clausz (1968) als primären Faktor für die Keimung von *Achlya hypogyna* betrachtet. Doch könnten auch inhibitorische Substanzen die Entwicklung des Pilzes in einem bestimmten Stadium aufhalten. Der Same dieser Pflanzen käme daher als Köder für *Achlya klebsiana* auf natürlichen Standorten in Betracht, nicht jedoch für ihre taxonomische Bestimmung, da auf ihnen nur ungeschlechtliche Organe zur Ausbildung gelangen.

Obwohl Gemmen kein wichtiges taxonomisches Merkmal sind, so ist doch erwähnenswert, dass interkalare Gemmen, die vorwiegend in

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.a

Reihen angeordnet sind, auf Samen von *Sambucus racemosa, Sambucus ebulus* und *Malva silvestris* dominieren.

Der Grösse und Dichte der Hyphen entsprechend sind die Pilzkolonien auf den Samen der einzelnen Pflanzen sehr verschiedenartig ausgebildet. Obwohl der Durchmesser der Kolonien nicht genau gemessen werden kann, ist es doch möglich, ihn annähernd zu bestimmen. So bildeten sich spärliche Kolonien mit einem Durchmesser von 10 mm auf *Rhamnus fallax, Cornus mas, Lappula echinata* und *Bromus inermis.* Auf Kolonien von gleichen minimalen Dimensionen entwickelten sich jedoch Zoosporangien und Gemmen, ferner Oogonien mit reifen Oosporen und Antheridien auf *Nicotiana tabacum, Plantago lanceolata* und *Fraxinus ornus.* Andernteils kam es in dichten Kolonien von 18—20 mm Durchmesser nur zur Bildung von Hyphen auf *Robinia pseudoacacia* oder aber von unreifen Oogonien, beispielsweise auf *Helianthus annuus, Lens culinaris, Solanum lycopersicum, Capsicum annuum, Sorghum sorghum, Secale cereale* und *Triticum durum.* Ausgesprochen grosse Kolonien von 20 mm Durchmesser und gut entwickelten Oosporen fanden sich auf *Solanum dulcamara* und *Cornus sanguinea.* Dichte Geflechte somatischer Hyphen entwickelten daher nicht immer auch Elemente der geschlechtlichen Vermehrung.

Der Vergleich der Eigenschaften des gemeinsamen Parameters von *Achlya klebsiana* (Dichte der Hyphen, Grösse der Kolonien, Entwicklung reifer Oogonien und Antheridien) auf den untersuchten Samen mit jenem auf Hanf haben ergeben, dass ungefähr gleiche Resultate auf *Rosa canina, Vicia faba, Heracleum sphondylium, Solanum dulcamara, Panicum miliaceum, Lolium multiflorum, Lolium perenne* und *Arrhenatherum elatius* erzielt wurden, während günstigere Substrate für die gesamte Entwicklung des Lebenszyklus die Samen von *Evonymus europaea, Cicer arietinum, Trifolium pratense* und *Bryonia alba* boten. Die Samen dieser Pflanzen bilden daher wichtige Substrate zum Auffangen dieser, und vielleicht auch anderer Pilzarten auf ihren natürlichen Standorten.

Ergebnis

Untersuchungen der Entwicklungsmöglichkeit von *Achlya klebsiana* auf 87 Samen von verschiedenen Kultur- und Wildpflanzen ergaben folgende Resultate:

1. Der Pilz entwickelt sich nicht auf Samen von *Punica granatum.* Nur somatische Hyphen entwickeln sich auf 15% der untersuchten Arten, Zoosporangien und Gemmen noch auf drei weiteren Arten. Unreife Oogonien und Antheridien entwickeln sich auf 40.2% der Arten, solche mit abnormalen differenzierten oogonialen Inhalts an 9.2% und reife Oogonien auf 31% des gesamten untersuchten Pflanzenmaterials.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.a

2. Auf den günstigsten Samen wickelt sich der Fertilisationsprozess 5 bis 10 Tage nach der Inkubation des Pilzes ab, und zwar auf *Ostrya carpinifolia, Gossypium herbaceum, Cicer arietinum, Cornus sanguinea* und *Bryonia alba.*
3. Günstigere Entwicklungsbedingungen als Samen von Hanf boten die von *Evonymus europaea, Cicer arietinum, Trifolium pratense* und *Bryonia alba.*

Literatur

Clausz C. J. — 1968: Factors effecting Oogenesis and Oospora Germination in *Achlya hypogyna.* Mycological Studies Honoring John N. Couch North Carolina.

Esau K. — 1965: Plant Anatomy II Ed. New York.

Harvey J. V. — 1925: A study of the Water Molds and *Pythium* occurring in the soils of Chapel Hill. J. Elisha Mitchell Sci. Soc. 41, 151.

Johnson T. J. — 1956: The Genus *Achlya.* Morphology and Taxonomy. Ann Arbor.

Ristanović B. — 1969: Mikoflora reke Stavnje i nekih njenih pritoka. Mikrobiologija, Beograd (Im Druck).

Sparrow K. F. — 1960: Aquatic Phycomycetes. Ann. Arbor.

Weston H. W. — 1917: Observations on an *Achlya* lacking sexual Reproduction. Amer. J. of Botany 4, 354.

Willoughby G. L. — 1962: The Occurrence and distributions of reproductive spores of Saprolegniales in fresh water. J. Ecol. 50, 733.

Ziegler A. W. — 1948: A Comparative study of Zygote germination in the Saprolegniaceae. Science 107 (2785), 506.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Sydowia

Jahr/Year: 1970/1971

Band/Volume: 24

Autor(en)/Author(s): Ristanovic Bosiljka, Ritter-Studnicka Hilda

Artikel/Article: Die Entwicklung von Achlya klebsiana Pieters auf Samen verschiedener Pflanzen. 32-38