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

Vereinfachung morphologischer und cytochemischer Untersuchungen an Pilzen durch Kultivierung auf Oblaten

Von Jürgen Reiss

(Institut für spezielle Botanik der Universität Mainz, Mainz)

Zur mikroskopischen Untersuchung der Morphologie von Pilzen ist eine Reihe von Methoden entwickelt worden, die vom einfachen Abdruck der Kolonieoberfläche mit Klebeband bis zur Anzucht in besonderen Kammern (z. B. Reiss, 1970) reichen. Nachteil der Klebeband-Methode ist die Zerstörung der meist zerbrechlichen oder zerfliessenden Sporangien, während in den Kulturkammern durch eintretenden Sauerstoffmangel die sporentragenden Organe sich manchmal nicht bis zur Reife entwickeln.

Cytochemische Untersuchungen an Pilzen gewinnen immer stärkeres Interesse. In den meisten Fällen werden hierzu die Pilze auf Deckgläsern (Reiss, 1968, 1969 a) oder Cellophanstückchen (Gagnon, 1966) angezüchtet. Diese Verfahren sind jedoch etwas kompliziert (insbesondere für Unterrichtszwecke) und erfordern Voruntersuchungen zur Auswahl geeigneter Kulturmedien.

Morphologische und cytochemische Untersuchungen lassen sich leicht durchführen, wenn man die Pilze auf Oblaten anzüchtet. Über die hierbei gewonnenen Ergebnisse soll hier berichtet werden.

Material und Methodik

Handelsübliche Backoblaten (verwendet wurden die Oblaten der Firma W. u. H. Küchle, Günzburg) wurden mit einem scharfen Messer in ihrer Dicke halbiert und auf ein Format von etwa 1 × 1 cm zurechtgeschnitten. Nach einer Sterilisation im Wärmeschrank bei 100° C/1 h sind die Scheiben gebrauchsfertig. In Petrischalen, die mit Filtrierpapier ausgelegt sind, werden Glasstöckchen gelegt und darüber je Petrischale einen Objektträger. Diese Kammern werden ebenfalls sterilisiert. Sodann wird das Filtrierpapier mit sterilem destilliertem Wasser angefeuchtet und auf den Objektträger ein Oblatenstückchen steril übertragen. Da die Oblaten alle für Schimmelpilze erforderlichen Nährstoffe enthalten (rund 70% Weizenmehl sowie Mais- und Kartoffelstärke nach Angaben des Herstellers), brauchen sie nur durch einen

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

kleinen Tropfen sterilen destillierten Wassers angefeuchtet zu werden, bevor ihr Zentrum mit etwas Sporenmaterial beimpft wird. Die so vorbereiteten feuchten Kammern werden bei geeigneter Temperatur bebrütet. Anschliessend werden die Objektträger entnommen und samt anhaftenden Oblaten-Kulturen weiter verarbeitet.

Beobachtungen und Diskussion

1. Morphologische Untersuchungen

Nach einer Kulturdauer von 24 Stunden liessen sich auf und an dem Inokulum der Pilze *Penicillium expansum, Aspergillus niger, Asp. nidulans, Asp. repens, Cladosporium herbarum, Thamnidium elegans* und *Mucor spinosus* reichlich ausgereifte Sporenköpfchen beobachten (Abb. 1, 2). Mit zunehmender Bebrütungszeit wurde das Oblatenstückchen völlig mit diesen Köpfchen bedeckt, die stets ihre artspezifische Ausbildung besaßen. Bei *Mucor spinosus* entstanden typische Sporangientropfen („sporangial drops") (Abb. 2), wie sie Dobbs (1939) für *Mucor hiemalis* beschrieben hat. Gerade derartige Strukturen lassen sich mit den üblichen Untersuchungsmethoden nicht oder nur schwer beobachten, weil die Tropfen vorzeitig zerfliessen. Bei *Asp. repens* und *Asp. nidulans* entstanden auf den Oblaten Cleistothecien, die jedoch nur undeutlich als gelbe Strukturen erkennbar waren, weil sie in den Poren des Substrates angelegt worden waren.

Bei den Untersuchungen der Oblatenkulturen müssen Luftbewegungen möglichst vermieden werden, da die Sporangien ungeschützt sind und daher die Gefahr der Sporenverbreitung besteht.

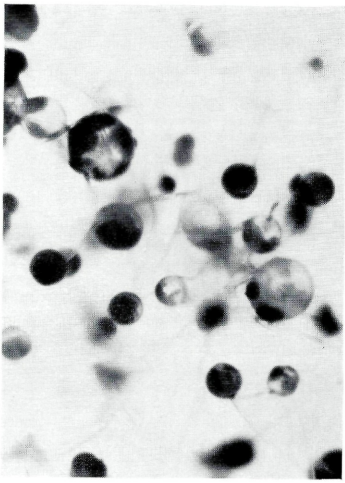
2. Cytochemische Untersuchungen

Oblatenkulturen von *Cladosporium herbarum* und *Thamnidium elegans* wurden fixiert und zur Anfärbung der Kerne in Hyphen und Sporen mit Giemsa-Lösung behandelt (Reiss, 1969 b). Bei sorgfältiger Handhabung blieben die Oblatenstückchen während Fixierung, Hydrolyse, Färbung und den verschiedenen Spülungen auf den Objektträgern haften, so dass brauchbare Kernfärbungen entstanden (Abb. 3). Diese sind naturgemäss nur in Hyphen, die seitlich aus dem Oblatenstück herausgewachsen sind, zu beobachten — nicht dagegen im Mycel, das in der Oblate selbst gewachsen war.

Zusammenfassung

Verschiedene Pilze wurden auf mit sterilem destilliertem Wasser angefeuchteten Oblatenstückchen in feuchten Kammern kultiviert. Bei anschliessenden Untersuchungen der Morphologie der Pilze erwies sich als vorteilhaft, daß sporentragende Organe sich völlig ungestört entwickelt hatten. Dies war insbesondere bei den leicht zerfliessenden

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



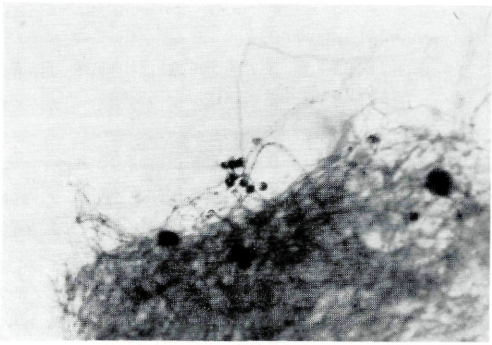


Abb. 1. *Aspergillus nidulans:* Konidienköpfchen auf Oblatenkultur.
Abb. 2. *Mucor spinosus:* Sporangientropfen („sporangial drops") auf Oblatenkultur.
Abb. 3. *Thamnidium elegans:* Kernfärbung einer Oblatenkultur mit Giemsa-Lösung.

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

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

Sporangientropfen von *Mucor spinosus* der Fall. Mit Erfolg konnten die Oblatenkulturen auch zur Färbung der Kerne in Hyphen und Sporen verwendet werden.

Summary

Different fungi were cultivated in moist chambers on pieces of wafer, moistened with sterile distilled water. Subsequent study of fungal morphology showed that spore-bearing structures had developed normally. This was especially the case with the diffluent sporangial drops of *Mucor spinosus*. The wafer cultures could also be used with success for staining the nuclei in hyphae and spores.

Literatur

Dobbs, C. G.: „Sporangial drops" in the Mucoraceae. Nature (Lond.) **143**, 286 (1939).

Gagnon, C.: Fungus culture on cellophane membrane for cytochemical tests. Stain Techn. **41**, 247 (1966).

Reiss, J.: The cytochemical demonstration of dehyrogenases and oxidases in the cells of fungi. Experientia **24**, 854—856 (1968).

— Cytochemischer Nachweis von Hydrolasen in Pilzzellen. I. Glycosidasen. Histochemie **18**, 12—23 (1969 a).

— Untersuchungen über den Einfluss von Coffein, Colchicin, Acenaphthen, Cumarin und 8-Hydroxychinolin auf die Kerne des Pilzes *Thamnidium elegans* Link. Cytologia **34**, 449—453 (1969 b).

— A simple cultivation chamber for the study of aerial reproductive elements of fungi. J. gen. appl. Microbiol. **16**, 185—187 (1970).

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): Reiss Jürgen

Artikel/Article: Vereinfachung morphologischer und cytochemischer Untersuchungen an Pilzen durch Kultivierung auf Oblaten. 305-307