

## Morphologische und anatomische Charakterisierung der Mykorrhiza *Lactarius deterrimus*-*Picea abies* in vitro

B. MÜNZENBERGER, B. METZLER, I. KOTTKE & F. OBERWINKLER

Lehrstuhl Spezielle Botanik der Universität Tübingen  
Auf der Morgenstelle 1, D-7400 Tübingen

Eingegangen am 10.4.1986

Münzenberger, B., Metzler, B., Kottke, I. & F. Oberwinkler (1986) – Morphological and anatomical characterization of the mycorrhiza *Lactarius deterrimus*-*Picea abies* in vitro. *Z. Mykol.* 52(2): 407–422.

**Key Words:** Ectomycorrhiza, *Lactarius deterrimus*, *Picea abies*, in vitro culture, substrate acidity, sugar concentration, morphology, anatomy, Hartig net, enzymes.

**Abstract:** Mycorrhizae of *Lactarius deterrimus* Gröger and *Picea abies* (L.) Karst. were synthesized under sterile conditions. The influence of substrate acidity and of different concentrations of glucose on the differentiation of mycorrhizae was examined. Typical ectomycorrhizae were formed at pH 4.8, and their morphology and anatomy are characterized here. The in vitro mycorrhizae are similar to natural mycorrhizae. At pH 3.5 and below no mycorrhiza formation could take place. The cultures without glucose in the medium (MMN) showed similar results.

Beside the mycorrhizae, lateral roots with vigorous hyphal growth in the cortical cells are described. The correlation between this pattern and the enzymatic properties of *Lactarius deterrimus* is discussed.

**Zusammenfassung:** Unter sterilen Bedingungen wurden Mykorrhizen von *Lactarius deterrimus* Gröger und der Fichte (*Picea abies* L.) Karst. synthetisiert. Es wurde der Einfluß von Substratazidität und von verschiedenen Zuckerkonzentrationen auf die Mykorrhizierung untersucht. Bei einem pH-Wert um 4.8 bildeten sich typische Ektomykorrhizen, die morphologisch und anatomisch charakterisiert werden. Die Morphologie der in vitro-Mykorrhizen stimmt mit den natürlichen Mykorrhizen überein. Bei einem pH-Wert unter 3.5 konnten keine Mykorrhizen entstehen. Das Weglassen von Glucose im MMN-Medium wirkte sich nicht nachteilig aus.

Neben den Mykorrhizen werden Seitenwurzeln mit starkem intrazellulärem Pilzwachstum beschrieben. Der Zusammenhang von intrazellulärem Pilzwachstum und der Enzymausstattung von *Lactarius deterrimus* wird diskutiert.

Mykorrhizen sind Wurzeln Höherer Pflanzen, die durch symbiontisches Zusammenleben mit Pilzen in charakteristischer Weise strukturell verändert werden. Bei der für Waldbäume fast ausschließlich relevanten Ektomykorrhiza umgibt der Pilz die Wurzel mit einem Hyphenmantel, dringt interzellulär in das Rindengewebe ein und umgibt die Rindenzellen mit einem in der Regel einschichtigen, dicht gepackten Hyphensystem, dem Hartig-Netz. Während der Pilzpartner mit Substrathyphen für den Aufschluß und die Aufnahme von Nährstoffen und Wasser aus dem Boden sorgt (Melin 1953, Melin & Nilsson 1953, Lundeberg 1970, Read 1984), liefert die höhere Pflanze vor allem lösliche Kohlenhydrate (Lewis & Harley 1965 a, b, c). Der Stoffaustausch erfolgt über das Hartig-Netz. Der Pilzmantel bildet auch eine Barriere gegen Pathogene (Zak 1965, 1967, 1971, Marx 1969). Unter natürlichen Bedingungen sind die Kurzwurzeln der meisten Waldbäume zu einem hohen Prozentsatz mykorrhiziert.

Da eine Störung des komplizierten Systems Schädigungen beim Baumpartner erwarten läßt, hat die Mykorrhizaforschung in Zusammenhang mit den aktuellen Waldschäden an Bedeutung gewonnen. Es stellt sich die Frage, inwieweit die Morphologie und Physiologie einzelner Pilze sowie das zur Symbiose befähigte Artenspektrum durch Umweltschadstoffe direkt über den Boden oder indirekt z. B. über die Schädigung des Photosyntheseapparates verändert werden können. Um gezielte Aussagen treffen zu können, ist es notwendig, die intakten Mykorrhizen morphologisch-anatomisch zu charakterisieren und die beteiligten Pilzarten möglichst zu identifizieren, um gegebenenfalls umweltbedingte Veränderungen erkennen zu können. Weiterhin ist die Identifizierbarkeit eine Voraussetzung, um Informationen über die ökologische Bedeutung der verschiedenen Pilzpartner zu gewinnen.

Die Bestimmung des Pilzes kann mit größter Vorsicht über die Myzelverbindungen mit benachbarten Fruchtkörpern im Freiland erfolgen (vgl. A g e r e r 1985) oder aber über die Synthese von Mykorrhizen in axenischen Kulturen mit Sämlingen des Wirtsbaumes und mit Myzel aus den entsprechenden Pilzfruchtkörpern; diesen Weg haben wir beschritten. Beide Methoden ergänzen sich. Während im Freiland von der natürlichen morphologischen Ausbildung der Mykorrhizen ausgegangen werden kann, ist im Laborsystem die Identifizierung des Pilzes eher gesichert. Wenn die Morphologie bei beiden Methoden übereinstimmt, wird die Identifizierung der Freilandmykorrhiza und die naturgemäße Morphologie der Labormykorrhiza bestätigt.

Die vorliegende Arbeit soll über Morphologie und Anatomie von steril synthetisierten Fichtenmykorrhizen mit dem Fichtenreizker (*Lactarius deterrimus* Gröger) informieren. Zur Optimierung der Kulturbedingungen wurde das Zuckerangebot im Substrat variiert. Zwei pH-Stufen sollten die Abhängigkeit der Mykorrhizierung von der Substratazidität zeigen.

## Material und Methoden

### 1. Anzucht steriler Fichtensämlinge

Fichtensamen aus der Staatsklengle Nagold (Baden-Württemberg) wurden 15 Minuten in Hydrogenperoxid (30 %) oberflächensterilisiert, auf Modified Melin Norkrans (MMN)-Agarplatten (s. u.), 2%ig, ausgelegt und ca. zwei Wochen inkubiert. Die Primärwurzeln hatten dann eine Länge von ein bis zwei Zentimetern.

### 2. Mykorrhizasynthese in Erlenmeyerkolben

Zur sterilen Synthese von Mykorrhizen wurde die von M e l i n (1921, 1923) entwickelte und von M a r x und Z a k (1965) verbesserte Methode angewandt. Zwanzig Erlenmeyerkolben (500 ml) wurden mit je 250 ml einer Mischung aus Perlite (statt Vermikulit) und Sphagnum (10:1) und mit 175 ml MMN-Nährlösung (nach M a r x 1969) gefüllt. Für zehn der Kolben wurde die Nährlösung ohne Glucose (MMNE) angesetzt. Jeweils die Hälfte beider Nährlösungen blieb im pH unverändert (pH nach dem Autoklavieren 6.0), die andere Hälfte wurde mit 10%iger Schwefelsäure auf pH 2.0 eingestellt, wodurch sich nach zweimaligem Autoklavieren ein pH von 3.5 ergab. Danach wurden die Kolben mit je drei Fichtensämlingen bepflanzt und in einer Klimakammer aufgestellt (T: 20 °C, Lichtverhältnisse: 10 000–12 000 Lux, 13 Std. hell/11 Std. dunkel). Nach einer weiteren Woche wurden Agarstückchen mit Pilzmyzel von *Lactarius deterrimus* (Isolat von I. Kottke, BR-Deutschland, Bayern, Oberjoch bei *Picea abies* 1.9.1984) zugegeben. Die Kolben wurden nach Bedarf mit MMN-Salzlösung ohne Zucker mit pH 4.8 bzw. 3.5 gegossen. Der pH des Substrates sank während der Kultivierung von 6.0 auf 4.9 bzw. von 3.5 auf 3.2.

### 3. Lichtmikroskopie

Von einigen Wurzeln wurden im frischen Zustand Hand- oder Kryotomschnitte (Kryostat Leitz 1720) angefertigt und ohne Färbung mikroskopiert (Abb. 4, 5, 6, 8). Andere Wurzeln wurden in

Glutaraldehyd/Formaldehyd nach K a r n o v s k y (1965) fixiert und in Metacrylat (Historesin 2218–500, LKB) eingebettet und mit Glasmessern 2 µm dick geschnitten.

Die Färbungen erfolgten in Abb. 11 mit Chlorazol-Black E und Pianese III-B nach W i l c o x & M a r s h (1964), in Abb. 12 mit Toluidinblau O nach G e r l a c h (1969). Die Schnitte in Abb. 7, 9, 10 und 14 wurden mit Neufuchsin-Kristallviolett angefärbt.

Weitere lichtmikroskopische Untersuchungen wurden an Material durchgeführt, das für die Elektronenmikroskopie eingebettet wurde (siehe 4.).

Ein Zeiss-Standardmikroskop mit Phasenkontrast und Aufsatzkamera diente zur photographischen Dokumentation (Filmmaterial Ilford FP 4 bzw. Kodak Ektachrome 50).

#### 4. Elektronenmikroskopie

Das Material wurde nach K a r n o v s k y (1965) vorfixiert und mit Osmiumtetroxyd fixiert. Das Kontrastieren erfolgte mit Uranylacetat. Das Material wurde in ERL nach S p u r r (1969) eingebettet und mit einem Diamantmesser an einem Reichert Ultramikrotom Um03 geschnitten. Die Nachkontrastierung erfolgte mit Bleicitrat nach R e y n o l d s (1963).

Die Fotos wurden an einem Zeiss EM 9 S-2 aufgenommen.

## ERGEBNISSE

### 1. Mykorrhizierungsgrad

Bei pH 6.0/4.9 lag die Zahl der mykorrhizierten Wurzelspitzen bei wenigen Prozent. Die drei Pflanzen eines Kolbens unterschieden sich bezüglich ihrer Mykorrhizierung stark. Meistens waren die Mykorrhizen auf ein oder zwei Sämlinge beschränkt. Bei einer Pflanze (MMNE-Nährmedium, Ernte 14. Woche) waren 46 % der Wurzelspitzen mykorrhiziert.

Bei pH 3.5/3.2 unterblieb die Mykorrhizierung vollständig. Obgleich hier viele Wurzeln von einem losen Hyphengeflecht umgeben waren (wie Abb. 13), kam es weder zur Ausdifferenzierung des Hyphenmantels noch zur Entstehung des Hartig-Netzes.

### 2. Morphologische und anatomische Untersuchungen

#### Farbe und Habitus der Mykorrhiza

Bei pH 3.5/3.2 unterblieb die Mykorrhizierung vollständig. Obgleich hier viele Wurzeln Mykorrhizen gebildet. Sie sind bernsteinfarben (Abb. 1 und 2), können sich aber mit zunehmendem Alter noch orangebraun verfärben. Die Mykorrhiza zeichnet sich durch eine glatte Oberfläche aus. Nach vierzehn Wochen konnte an den Mykorrhizen die Bildung von mykorrhizierten Seitenwurzeln beobachtet werden (Abb. 1). Mehrere Wurzelanlagen durchbrechen den Hyphenmantel, dessen Reste zur Seite gedrückt werden. Das monopodiale Verzweigungsmuster (Abb. 2) ist typisch für *Picea* und einige andere Baumgattungen (M e l i n 1923, Z a k 1973).

#### Rhizomorphen

Wie oben erwähnt, können bei einem pH von 3.5 und darunter keine Mykorrhizen entstehen. Dagegen treten bei beiden pH-Stufen Rhizomorphen auf, die in ihrer Farbe zwischen grün (Abb. 3), bernsteinfarben und orange variieren. Meistens befinden sich die Rhizomorphen nicht an den Mykorrhizen, sondern an den nicht-mykorrhizierten Langwurzeln.

Das Quetschpräparat einer Rhizomorphe (Abb. 4) läßt eine längsparallele Anordnung der Hyphen erkennen. Sie besitzen keine Schnallen und sind ca. 2,5 µm dick. Zwischen diesen Hyphen sind die für die Gattung *Lactarius* typischen Lactiferen eingebunden. Ihr Durchmesser schwankt zwischen 3 und 6 µm. Im frischen Zustand leuchten sie gelb. Mit Sulfovanillin (nach M o s e r 1983) verfärben sich die Lactiferen rotbraun.

### Oberflächentextur und Struktur des Hyphenmantels

In der Aufsicht auf den Hyphenmantel sind wieder die gattungsspezifischen Lactiferen zu erkennen (Abb. 5 und 6). Sie sind unseptiert und variieren im Durchmesser zwischen 3 und 6  $\mu\text{m}$  und können über Anastomosen kontaktieren. Die übrigen Hyphen sind septiert, schnallenlos und zwischen 2,2 und 4  $\mu\text{m}$  dick. Sie bilden ein relativ lockeres Geflecht. Ein derartiges plectenchymatisches Gewebe wird als Prosenchym bezeichnet (Chilvers 1968, Dominik 1969). Typisch sind die keuligen Anschwellungen der Hyphen vor Verzweigungen. Die Dicke des Hyphenmantels variiert je nach Alter der Mykorrhiza zwischen 12 und 70  $\mu\text{m}$ .

Klarheit über die Wuchsrichtung der Hyphen im Bereich des Hyphenmantels gibt Abb. 7. Die Hyphen verlaufen im äußeren Bereich irregulär, nach innen zu vorwiegend parallel zur Wurzellängsachse. Im Bereich der äußersten Rindenzellschicht verläuft die Wuchsrichtung senkrecht zur Wurzellängsachse (Abb. 9). Hierbei bilden die Hyphen ein Pseudoparenchym. Die auf den äußersten Rindenzellen aufliegenden Hyphen sind gedrunken und bilden lappenartige Auswüchse (Abb. 8). Die Hyphenstruktur ähnelt hier bereits der des Hartig-Netzes (s. u.).

### Charakter des Hartig-Netzes

Vom Hyphenmantel aus dringen die Hyphen keilartig zwischen den Rindenzellen in den Cortex vor (Abb. 10) und bilden das Hartig-Netz. Die Wuchsrichtung der Hyphen verläuft dabei vorwiegend senkrecht zur Wurzellängsachse. Auffallend sind die dünnen Zellwände der Rindenzellen. Man erkennt deutlich hyphale Elemente (Abb. 10 und 11), von denen ausgehend sich die Hyphen fingerförmig aufgliedern, um die Rindenzelle flächenhaft zu bedecken. Durch die enge Verzahnung der Hyphen entsteht eine optimale Ummantelung der Rindenzelle, was für den Stoffaustausch von großer Bedeutung ist. Die Hyphen dringen maximal bis zur Endodermis vor, jedoch nie in den Zentralzylinder.

In den äußersten, augenscheinlich toten Rindenzellen mit feingranulärem Inhalt (Tanninzellen) sind häufig intrazelluläre Hyphen zu beobachten (Abb. 11 und 12). Neben diesen granulären Tanninzellen treten Zellen auf, die Polyphenoltropfen enthalten (Abb. 11 und 12). Diese Zellen sind plasmatisch, wie beide Abbildungen zeigen. Es konnte von uns beobachtet werden, daß diese lebenden Rindenzellen eine Voraussetzung für die Entstehung des Hartig-Netzes sind, d. h. sie werden nie intrazellulär besiedelt, sondern die Hyphen bleiben hier auf die Interzellularräume beschränkt. Im Alter können die Rindenzellen von außen nach innen absterben. Die Polyphenoltropfen werden durch die Pianesefärbung (Wilcox und Marsh 1964) und durch Toluidinblau (O'Brien & al. 1965) rotviolett angefärbt, die granulären Inhaltstoffe der Tanninzellen zeigen keine Farb-reaktion.

### Das Auftreten von intrazellulären Hyphen

Neben den Mykorrhizen sind Wurzeln vorhanden, die von watteartigem Myzel umgeben sind (Abb. 13). Die Rindenzellen dieser Wurzeln sind meist intrazellulär von Hyphen be-wachsen (Abb. 14). Die Hyphen dringen maximal bis zur Endodermis vor, jedoch nicht in den Zentralzylinder. Ein kompakter Hyphenmantel sowie ein Hartig-Netz fehlen hier.

Ca. 40 Seitenwurzeln, die von diesem watteartigen Myzel umgeben waren, wurden mikroskopisch untersucht. Bei einigen Wurzeln sind die Hyphen nicht ins Wurzelinnere eingedrungen. Dann enthalten die Rindenzellen häufig tropfenförmige Polyphenole. Bei der Mehrzahl der untersuchten Wurzeln wurde intrazelluläres Eindringen der Hyphen gefun-

den. Bemerkenswert ist dabei, daß diese Rindenzellen keine Polyphenoltropfen enthalten. In keinem Fall konnte das Eindringen von Hyphen in Rindenzellen beobachtet werden, die Polyphenoltropfen enthielten. Das Eindringen der Hyphen in die toten Zellen der granulären Tanninschicht ist dagegen möglich (s. o.).

Die von Hyphen durchdrungenen Rindenzellen erscheinen lichtmikroskopisch oft völlig leer, sind gewöhnlich zellkernlos (Abb. 9 und 14) und somit tot. Reaktionen der Rindenzellen zur Abwehr der Penetration konnten nicht beobachtet werden. Abb. 14 zeigt das Eindringen zweier Hyphen von einer Tanninzelle aus in eine Nachbarzelle. Beim Durchdringen der Zellwand verengt sich der Hyphendurchmesser und weitet sich danach wieder. Die transmissions-elektronenmikroskopische Aufnahme (Abb. 17) legt eher eine enzymatische als eine mechanische Zellwandpenetration nahe. Die Polyphenole sind in diesen toten Zellen nicht mehr als Tropfen, sondern als elektronendichter Film ausgebildet, der die Innenseite der Zellwand und oft auch die intrazellulären Hyphen umgibt (Abb. 16 und 17).

Das intrazelluläre Hyphenwachstum wurde auch bei Mykorrhizen in den älteren, basalen Abschnitten sowie selten in jüngeren Wuchsabschnitten gefunden. Kleinräumig scheinen sich intrazelluläres Wachstum und die Ausbildung des Hartig-Netzes auszuschließen. Ist das Hartig-Netz ausgebildet, so unterbleibt die intrazelluläre Penetration. Sterben jedoch die Wirtszellen ab, können sie anschließend vom Pilz besiedelt werden (Abb. 9 und 11). Abb. 15 zeigt ein Initialstadium des Hartig-Netzes, das sich offensichtlich durch das Absterben der Rindenzellen nicht weiter entwickelt hat.

## DISKUSSION

### Mykorrhizierungsgrad

Das Ausbleiben einer Mykorrhizierung im sauren Substrat (pH 3.5/3.2) stimmt mit Beobachtungen im Freiland überein, wonach *Lactarius deterrimus* in Fichtenwäldern bevorzugt auf kalkhaltigem Untergrund vorkommt, dagegen weitgehend auf sauren Böden fehlt (H a a s 1979). Natürliche oder anthropogene Bodenversauerung dürften also für die Mykorrhizen des Fichtenreizkers schädlich sein.

Die Mykorrhizierung wurde durch das Weglassen der Glucose im MMNE-Medium nicht negativ beeinflusst.

### Morphologie der Mykorrhiza

Nach Chilver (1968) und Zak (1969, 1971) stellen die Rhizomorphen ein Merkmal zur Charakterisierung von Mykorrhizen dar. Bei der Mykorrhiza von *Lactarius deterrimus* in vitro stimmen die Farben der Rhizomorphen und der Lactiferen mit denen des Fruchtkörpers überein. Der orange Milchsaft, der beim Verletzen des Fruchtkörpers aus den Lactiferen austritt, gleicht dem Latex, der in den Lactiferen der Mykorrhiza und der Rhizomorphen auftritt. Die flaschengrüne Farbe, die oft den Pilzhut zonierte, entspricht exakt dem Farbton der grünen Rhizomorphen. Das Auftreten der Lactiferen sowohl in den Geweben der Mykorrhiza als auch in den Geweben des Fruchtkörpers zeigt beispielhaft, daß es gemeinsame Charakteristika von Fruchtkörper und Mykorrhiza gibt (vgl. Agreer 1985). Die für die Gattung *Lactarius* spezifischen Lactiferen wurden von Luppi & Gauto (1967) von Mykorrhizen anderer *Lactarius*-Arten an Wurzeln von *Quercus* spp. beschrieben. Das Auftreten der Lactiferen im Pilzgeflecht der Mykorrhizen scheint somit unabhängig von der Baumgattung zu sein.

Daß die Hyphenmanteldicke eine variable Größe darstellt, wurde hinreichend beschrieben (Chilvers 1968, Zak 1973). Sie eignet sich daher wenig zur Charakterisierung. Die außerordentlich dicken Hyphenmäntel, die unter Kulturbedingungen auftreten können (hier bis zu 70  $\mu\text{m}$ ), entsprechen jedoch nicht den natürlichen Verhältnissen, sondern sind auf die relativ hohe Zuckerkonzentration im Nährmedium zurückzuführen (Wilcox 1982). Die mit dem Alter auftretende Verfärbung des Hyphenmantels von *Lactarius deterrimus* von bernsteinfarben nach orange erklären wir uns durch die Zunahme des Hyphenmanteldurchmessers und die Zunahme der farbgebenden Lactiferen. Es gilt hierbei auch zu bedenken, daß der Farbeindruck nicht nur durch die Farbe des Hyphenmantels bedingt ist, sondern daß auch die darunterliegende Tanninschicht an der Farbgebung beteiligt ist (Dominiak 1969, Marks 1965). Da die Tanninschicht erst im Laufe der Ontogenie entsteht, weisen die jungen Mykorrhizaabschnitte immer eine hellere Färbung auf (Abb. 2).

Die Struktur des Hartig-Netzes zeigt nach bisherigen Erkenntnissen kaum spezifische Unterschiede, sondern typische Charakteristika, die bei den meisten Mykorrhizen übereinstimmen. Durch das Auffingern und Anschwellen der Hyphen kommt es zu einer dichten Ummantelung der Rindenzellen. Die bei *Lactarius deterrimus* gefundenen Strukturen stimmen im wesentlichen mit den Ergebnissen über Freilandmykorrhizen von Blasius & al. (im Druck) überein. Die Hyphen verlaufen meist quer zur Wurzellängsachse (siehe Abb. 10).

Die Untersuchungen von Agerer (1985) an Freilandmykorrhizen von *Lactarius deterrimus* decken sich bezüglich Habitus der Mykorrhiza und Rhizomorphenstruktur mit denen unserer Untersuchung. Dies bestätigt die Identifizierung der Freilandmykorrhiza und die naturgemäße Morphologie der in vitro-Mykorrhiza.

#### Intrazelluläres Hyphenwachstum

Über intrazelluläres Hyphenwachstum bei Mykorrhizasynthesen verschiedener *Lactarius*-Arten mit unterschiedlichen Baumarten wurde von mehreren Autoren berichtet (Modess 1941, Pachlewski 1967, Riffle 1973, Giltrap 1982, Godbout & Fortin 1985).

Da im Falle der Ektomykorrhizen das intrazelluläre Hyphenwachstum nur während bestimmter Stadien auftritt und nur in absterbenden oder bereits toten Rindenzellen erfolgt (Atkinson 1975, Harley & Smith 1983), sollte in diesem Zusammenhang der Begriff Ektendomykorrhiza nicht verwendet werden, obgleich dieser Begriff von einigen Autoren in dieser Weise gebraucht wurde (u. a. Norrans 1950, Wilcox 1971, Meyer 1984). Von Ektendomykorrhiza sollte nur dann gesprochen werden, wenn ein bestimmter Typus mit fehlendem oder nur dünnem Hyphenmantel gemeint ist, bei dem die intrazellulären Hyphen stets zusammen mit dem Hartig-Netz auftreten (Laiho 1965, Mikola 1965). Bei diesen ‚E-strains‘ handelt es sich wahrscheinlich ausschließlich um operculate Discomyceten (vgl. Yang & Wilcox 1984).

Das gehäufte Auftreten von intrazellulären Hyphen bei *Lactarius* spp. hängt offensichtlich mit der besonderen Enzymausstattung der Arten dieser Gattung zusammen. Von einigen bemerkenswerten Ausnahmen abgesehen (s. u.), werden die Mykorrhizapilze für unfähig gehalten, Enzyme produzieren zu können, die die Zellwände der Wirtspflanzen abbauen (HacsKaylo 1973, Lindeberg & Lindeberg 1977, Ramstedt & Söderhäll 1983). Da im Falle von *Lactarius deterrimus* die intrazellulären Hyphen die Rindenzellwände durchquerten, ohne daß Anzeichen mechanischer Aktivität zu erkennen waren, liegt die Vermutung nahe, daß dieser Mykorrhizapilz in der Lage ist, die

Zellwände enzymatisch abzubauen. T r o j a n o w s k i & al. (1984) wiesen für fünf andere Mykorrhizapilze die Fähigkeit zum Zellwandabbau nach.

Die Diskussion über die Fähigkeit der Mykorrhizapilze, Cellulasen, Pektinasen und Phenoloxidasen (Laccasen) bilden zu können, verläuft jedoch widersprüchlich. Obgleich von einigen Autoren das Fehlen einer Pektinaseaktivität bei Mykorrhizapilzen beschrieben wurde (L y r 1963, L i n d e b e r g & L i n d e b e r g 1977), wiesen andere Autoren zumindest für bestimmte Mykorrhizapilze eine Pektinaseaktivität nach (H o w 1940, R i t t e r 1964, L u n d e b e r g 1970, P a c h l e w s k i & C h r u s c i a k 1979, G i l t r a p & L e w i s 1982).

N o r k r a n s (1950) erhielt bei dem Mykorrhizapilz *Tricholoma fumosum* einen Rückgang der Cellulaseproduktion durch den Einfluß von Glucose. Gleichfalls stellte sie jedoch fest, daß eine niedrige Konzentration an löslichen Kohlenhydraten und das Vorhandensein von Cellulose die Synthese des Enzyms Cellulase induzierten. Aus dieser Beobachtung entwickelte N o r k r a n s die Hypothese, daß die Cellulaseproduktion unterdrückt wird, solange vom Baumpartner lösliche Kohlenhydrate an die Hyphen abgegeben werden. Produziert die Pflanze keinen Überschuß an löslichen Kohlenhydraten mehr, kommt es durch die Cellulose der Zellwand zur Cellulase-Induktion (vgl. R i t t e r 1964).

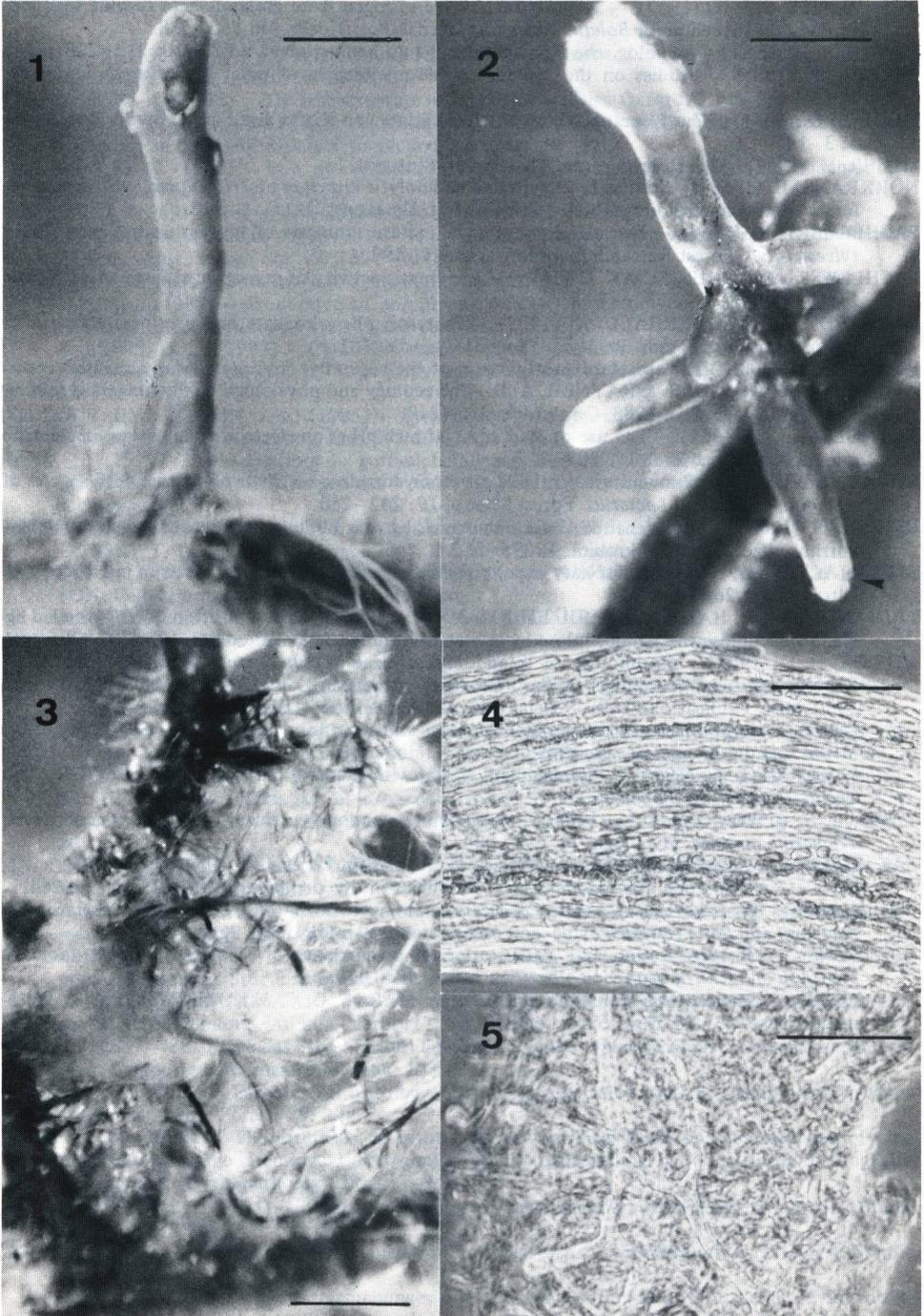
Viele Vertreter der Gattung *Lactarius* zeichnen sich durch eine relativ hohe Polyphenoloxi-daseaktivität aus (L i n d e b e r g 1948, L u n d e b e r g 1970, G i l t r a p 1982). Dies würde neben dem Abbau der Zellwände auch die Beobachtung erklären, daß die von Hyphen erfüllten Rindenzellen meist nur noch wenig Polyphenole enthalten. Offensichtlich werden die Polyphenole von den Hyphen abgebaut und genutzt. Aufgrund der lichtmikroskopischen Beobachtungen ist zu ersehen, daß die Rindenzellen, die tropfenförmiges phenolisches Material enthalten, leben und vermutlich ein intrazelluläres Wachstum abwehren. Dies würde erklären, warum es im Bereich dieser Zellen zur Hartig-Netz-Bildung kommt. Daß die Entstehung des Hartig-Netzes an lebende Rindenzellen gebunden ist, wurde von H a r l e y (1984) zusammenfassend dargestellt. Bei den Tanninzellen handelt es sich dagegen um tote Zellen (F o s t e r & M a r k s 1966, C h i l v e r s 1968).

Durch die für Mykorrhizapilze ungewöhnliche Enzymausstattung von *Lactarius*-Arten, die offensichtlich auch zum Streuabbau befähigt, erhebt sich die Frage, ob *Lactarius deterrimus* als ein fakultativer Mykorrhizapilz anzusehen ist. Die enge Bindung des Pilzes an lebende Fichten deutet aber vielmehr auf eine obligate Symbiose hin (vgl. G i l t r a p 1982).

## Literatur

- AGERER, R. (1985) – Vortrag anlässlich der Rhizosphären-Arbeitstagung am 28./29.3.85 an der Universität Tübingen, Institut für Biologie I.
- ATKINSON, M. A. (1975) – The fine structure of mycorrhizas. Diss. Oxford.
- BLASIUS, D.; FEIL, W.; KOTTKE, I. & OBERWINKLER, F. (im Druck) – Hartig net structure and formation in fully ensheathed ectomycorrhizas. *Nordic J. Bot.*
- CHILVERS, G. A. (1968) – Low power electron microscopy of the root cap region of eucalypt mycorrhizas. *New Phytol.* 67: 663.
- DOMINIK, T. (1969) – Key to ectotrophic mycorrhizae. *Folia Forest. Pol. Ser. A* 15: 309–321.
- FOSTER, R. C.; MARKS, G. C. (1966) – The fine structure of the mycorrhizas of *Pinus radiata* D. Don.. *Aust. J. Biol. Sci.* 19: 1027–1038.
- GERLACH, D. (1969) – Botanische Mikrotechnik. Stuttgart.
- GILTRAP, N. J. (1982) – Production of polyphenol oxidases by ectomycorrhizal fungi with special reference to *Lactarius* spp.. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 78(1): 75–81.
- & LEWIS, D. H. (1982) – Catabolite repression of the synthesis of pectin-degrading enzymes by *Suillus luteus* (L. ex Fr.) S. F. Gray. and *Hebeloma oculatum* BRUCHET. *New Phytol.* 90: 485–493.
- GODBOUT, C. & FORTIN, J. A. (1985) – Synthesized ectomycorrhizae of aspen: fungal genus level of structural characterization. *Can. J. Bot.* 63: 252–262.
- HAAS, H. (1979) – Die Pilzflora in rotfäulebefallenen Fichten-Durchforstungsbeständen auf der Schwäbischen Alb. *Mitteilungen des Vereins für Forstliche Standortskunde und Forstpflanzenzüchtungen*, H. 27.
- HACSKAYLO, E. (1973) – Carbohydrate physiology of ectomycorrhizae. In: MARKS, G. C. & KOZ-LOWSKI, T. T.: *Ectomycorrhizae*: 207–231, New York, London.
- HARLEY, J. L. (1984) – The mycorrhizal associations. In: LINSKENS, H. F. & HESLOP-HARRISON: *Cellular interactions*, Berlin, Heidelberg.
- & SMITH, S. E. (1983) – *Mycorrhizal symbiosis*. London, New York.
- HOW, J. E. (1940) – The mycorrhizal relations of larch. I. A Study of *Boletus elegans* Schum. in pure culture. *Ann. Bot., Lond., N. S.* 4: 135–150.
- KARNOVSKY, M. J. (1965) – A formaldehyde glutaraldehyde fixation of high osmolarity for use in electron microscopy. *J. Cell Biol.* 27: 137–138.
- LAIHO, O. (1965) – Further studies on the ectendotrophic mycorrhiza. *Acta Forest, Fenn.* 79: 1–35.
- LEWIS, D. H.; HARLEY, J. L. (1965 a, b, c) – Carbohydrate physiology of mycorrhizal roots of beech. I. The identity of endogenous sugars and utilization of exogenous sugars. *New Phytol.* 64: 224–237. II. Utilization of exogenous sugars by uninfected and mycorrhizal roots. *New Phytol.* 64: 238–255. III. Movement of sugar between host and fungus. *New Phytol.* 64: 256–269.
- LINDEBERG, G. (1948) – On the occurrence of polyphenol oxidases in soilinhabiting basidiomycetes. *Physiologia Plantarum* 1.
- & LINDENBERG, M. (1977) – Pectinolytic ability of some mycorrhizal and saprophytic hymenomycetes. *Arch. Microbiol.* 115: 9–12.
- LUNDEBERG, G. (1970) – Utilization of various sources, in particular bound soil nitrogen, by mycorrhizal fungi. *Studia forestalia Suecica* 79: 5–95.
- LUPPI, A. M. & GAUTERO, C. (1967) – Ricerche sulle micorrhize di *Quercus robur*, *Q. petraea* e *Q. rubescens* in Piemonte. *Allonia* (Turin) 13: 129–148.
- LYR, H. (1963) – Zur Frage des Streuabbaues durch ektotrophe Mykorrhizapilze. *Mykorrhiza*, Intern. Myk. Symposium Weimar 1960, Jena: 123–145.
- MARKS, G. C. (1965) – Pathological histology of root rot associated with late damping-off in *Pinus lamertiana*. *Aust. Forest.* 29: 238.
- MARX, D. H. (1969) – The influence of ectotrophic mycorrhizal fungi on the resistance of pine roots to pathogenic infections. I. Antagonism of mycorrhizal fungi to root pathogenic fungi and soil bacteria. *Phytopathology* 59: 153–163.
- MARX, D. H.; ZAK, B. (1965) – Effect of pH on mycorrhizal formation of slash pine in aseptic culture. *Forest Sci.* 11: 66.
- MELIN, E. (1921) – Über die Mykorrhizapilze von *Pinus sylvestris* L. und *Picea abies* (L.) Karst. *Svensk Bot. Tidskr.* 15: 192–203.
- (1923) – Experimentelle Untersuchungen über die Konstitution und Ökologie der Mykorrhizen von *Pinus sylvestris* L. und *Picea abies* (L.) Karst. *Mykol. Untersuch. und Ber.* 2: 73–331.
- (1953) – Physiology of mycorrhizal relations in plants. *Ann. Rev. Plant-Physiol.* 4: 325–346.

- & NILSSON, H. (1953) – Transfer of labelled nitrogen from glutamic acid to pine seedlings through the mycelium of *Boletus variegatus*. Svensk Bot. Tidskr. 48: 555–558.
- MEYER, F. H. (1984) – Mykologische Beobachtungen zum Baumsterben. AFZ 9/10: 212–228.
- MIKOLA, P. (1965) – Studies on the ectendotrophic mycorrhiza of pine. Acta Forest. Fenn. 79: 1–56.
- MODESS, O. (1941) – Zur Kenntnis der Mykorrhizabildner von Kiefer und Fichte. Symb. Bot. Upsal. 5: 3–147.
- MOSER, M. (1983) – Die Röhrlinge und Blätterpilze. Stuttgart.
- NORKRANS, B. (1950) – Studies in growth and cellulolytic enzymes of *Tricholoma*, with special reference to mycorrhiza formation. Symbolae Bot. Upsaliensis 11(1): 1–126.
- PACHLEWSKI, R. (1967) – Investigations of pure culture synthesis of mycorrhizal of pine (*Pinus sylvestris* L.). Forest Research Institute Warsaw: 1–193.
- PACHLEWSKI, R. & CHRUSCIAK, E. (1979) – Enzymatic activity of mycorrhizal fungi. Acta Mycol. 15(1): 3–9.
- RAMSTEDT, M. & SÖDERHÄLL, K. (1983) – Protease, phenoloxidase and pectinase activities in mycorrhizal fungi. Trans. Br. Mycol. Soc. 81(1): 157–161.
- READ, D. J. (1984) – The structure and function of the vegetative mycelium of mycorrhizal roots. In: JENNINGS, D. H. & RAYNER, A. D.: The ecology and physiology of the fungal mycelium. Symp. Brit. Myc. Soc. 1983, Cambridge: 215–240.
- REYNOLDS, E. S. (1963) – The use of lead citrat at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. J. Cell Biol. 17: 208–212.
- RIFFLE, J. W. (1973) – Pure culture synthesis of ectomycorrhizae on *Pinus ponderosa* with species of *Amanita*, *Suillus* and *Lactarius*. Forest Science 19: 242–250.
- RITTER, G. (1964) – Vergleichende Untersuchungen über die Bildung von Ektoenzymen durch Mykorrhizapilze. Z. Allg. Mikrobiol. 4: 295–312.
- SPURR, A. R. (1969) – A low-viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. J. Ultrastr. Res. 26: 31–43.
- TROJANOWSKI, J.; HAIDER, K. & HÜTTERMANN, A. (1984) – Decomposition of <sup>14</sup>C-labelled lignin, holocellulose and lignocellulose by mycorrhizal fungi. Arch. Microbiol. 139: 202–206.
- WILCOX, H. E. (1971) – Morphology of ectendomycorrhizae in *Pinus resinosa*. In: HACKSKAYLO, E.: Mycorrhizae, Proceedings of the First North American Conference on Mycorrhizae, April 1969, Misc. Publication 1189 US Department of Agriculture – Forest Service.
- (1982) – Morphology and development of ecto- and ectendomycorrhizae. In: SCHENK, C. D.: Methods and principles of mycorrhizal research, Minnesota.
- & MARSH, L. C. (1964) – Staining plant tissues with Clorazol Black E and Pianese III-B. Stain Technology 39: 81–86.
- YANG, C. S. & WILCOX, H. E. (1984) – An E-Stain ectendomycorrhiza formed by a new species *Tricharina mikolae*. Mycologia 76: 675–684.
- ZAK, B. (1965) – Aphids feeding on mycorrhizae of Douglas-fir. Forest. Sci. 11: 410.
- (1967) – A nematode (*Meloidodera* sp.) on Douglas-fir mycorrhizae. Plant Dis. Rep. 51: 264.
- (1969) – Characterization and classification of mycorrhizae of Douglas-fir. I. *Pseudotsuga menziesii* and *Poria terrestris* (blue- and orange-staining strains). Can. J. Bot. 47: 1833.
- (1971) – Characterization and classification of mycorrhizae of Douglas-fir. II. *Pseudotsuga menziesii* and *Rhizopogon vinicolor*. Can. J. Bot. 49: 1079.
- (1973) – Classification of ectomycorrhizae. In: MARKS, G. C. & KOZLOWSKI, T. T.: Ectomycorrhizae: 43–78, New York, London.



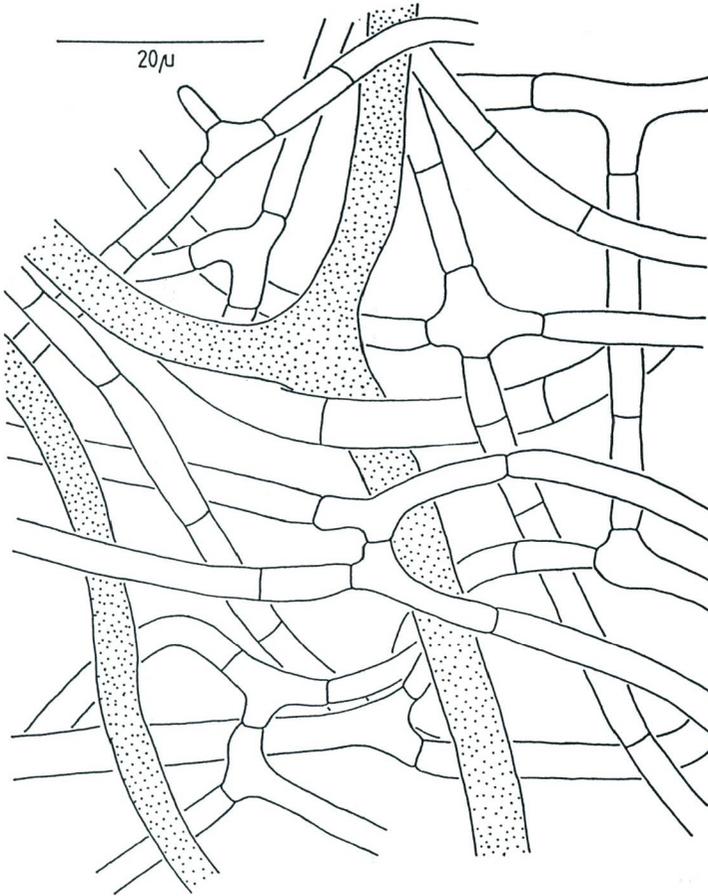


Abb. 1: Mykorrhiza mit den Hyphenmantel durchbrechenden Seitenwurzeln vierzehn Wochen nach Inokulation. (Meßstrich 1 mm)

Fig. 1: Simple mycorrhiza of *Lactarius deterrimus* and *Picea abies*. Lateral roots breaking through the sheath fourteen weeks after inoculation. (scale bar 1 mm)

Abb. 2: Monopodial verzweigtes Mykorrhizasystem sechzehn Wochen nach Inokulation. Bei schnellem Wachstum kann die Wurzelspitze den Hyphenmantel durchbrechen (Pfeil). (Meßstrich 1 mm)

Fig. 2: Monopodial branched mycorrhizal cluster sixteen weeks after inoculation. The rapid growing root apex can break through hyphal mantle (arrow). (scale bar 1 mm)

Abb. 3: Rhizomorphen an der Primärwurzel des Fichtensämlings. (Meßstrich 1 mm)

Fig. 3: Rhizomorphs at the primary root of the seedling. (scale bar 1 mm)

Abb. 4: Quetschpräparat einer Rhizomorphe. In längsparalleler Anordnung befinden sich die farbgebenden Lactiferen. (Phasenkontrast, Meßstrich 50 µm)

Fig. 4: Rhizomorph with parallel orientated lactifers. (phase contrast, scale bar 50 µm)

Abb. 5: Aufsicht auf den Hyphenmantel. Zwischen den Hyphae des Prosenchyms sind anastomisierende Lactiferen erkennbar. (Phasenkontrast, Meßstrich 50 µm)

Fig. 5: Surface of the hyphal mantle. Between the hyphae of the prosenchyma are anastomosing lactifers. (phase contrast, scale bar 50 µm)

Abb. 6: Zeichnerische Darstellung der Hyphenmantelaufsicht. Lactiferen punktiert. (Handschnitt)

Fig. 6: Surface of the hyphal mantle. Lactifers dotted. (manual section)

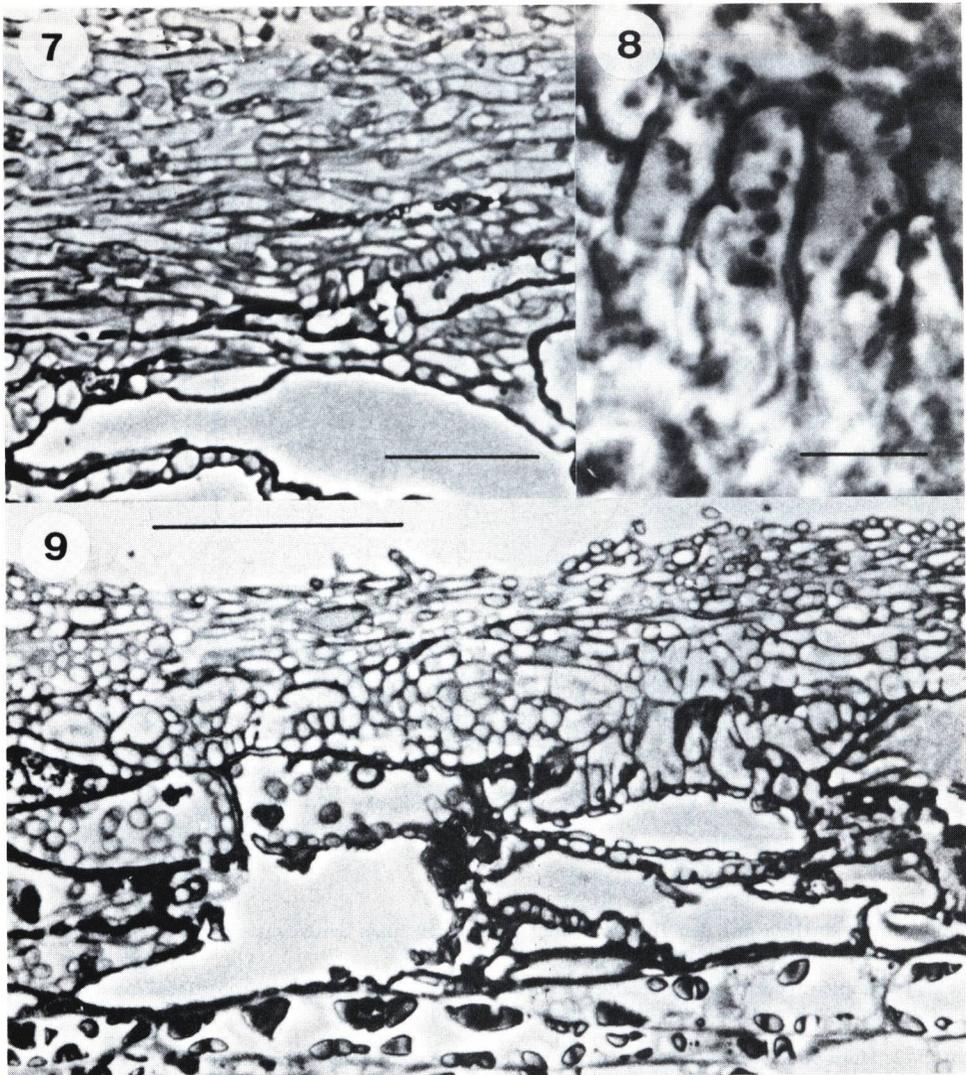


Abb. 7: Längsschnitt durch den Hyphenmantel. Zwischen den Hyphen sind noch deutliche Interhyphalräume erkennbar. Im unteren Bildabschnitt sind äußere Rindenzellen mit dem Hartig-Netz zu sehen. (Semidünnschnitt (Historessin), Maßstrich 30  $\mu\text{m}$ )

Fig. 7: Longitudinal section through the hyphal mantle. Between the hyphae, interhyphal spaces can be seen. In the lower part of the picture the outer cortical cells with Hartig net are visible. (semi-thin section (Historessin), scale bar 30  $\mu\text{m}$ )

Abb. 8: Hyphenschicht auf den äußersten Rindenzellen. Die Hyphen liegen dicht aneinander und ähneln bereits den Hartig-Netz-Strukturen. (Kryotomschnitt, Maßstrich 5  $\mu\text{m}$ )

Fig. 8: Hyphae on the outer cortical cells. The hyphae are close together and look similar to the Hartig net structures. (kryotom section, scale bar 5  $\mu\text{m}$ )

Abb. 9: Wurzellängsschnitt: im rechten Bildteil geht der pseudoparenchymatische innere Hyphenmantel in das Hartig-Netz über; im linken Bildteil sind die Rindenzellen intrazellulär bewachsen, es ist dort kein Hartig-Netz ausgebildet. Unten: Zentralzylinder mit Polyphenoltropfen. (Semidünnschnitt (ERL), Maßstrich 50  $\mu\text{m}$ )

Fig. 9: Longitudinal section of the root. pseudoparenchymatic inner hyphal mantle and the Hartig net (right); intracellular hyphae penetrate the cortical cells, no Hartig net is there established (left). Bottom: pericycle with polyphenol drops. (semi-thin section (ERL), scale bar 50  $\mu\text{m}$ )



Abb. 10: Hartig-Netz (Tangentialschnitt). Hyphen bilden fingerförmige Ausbuchtungen, die die Rindenzelle dicht ummanteln. Im unteren Hyphensystem ist ein Dikaryon (D) zu erkennen. Hyphen dringen keilartig (Pfeil) zwischen die Wirtszellen ein (Semidünnschnitt (ERL), Maßstrich 20  $\mu$ m)

Fig. 10: Tangential section of the Hartig net. Hyphae form fingerlike lobes, which closely ensheath the cortical cell. Wedge-shaped hyphae (arrow) grow between cortical cells. D: dikaryon (semi-thin section (ERL), scale bar 20  $\mu$ m)

Abb. 11: Tangentialschnitt im Bereich der feingranulären Tanninzellen (T). Von einer Hyphe fächert sich das Hartig-Netz feingliedrig auf. IH: intrazelluläre Hyphe; P: Polyphenoltropfen (Semidünnschnitt (Histoiresin), Maßstrich 20  $\mu$ m)

Fig. 11: Tangential section through the fine-granulated tannin cells (T). A hyphae forms a fan-like structure of the Hartig net. IH: intracellular hypha P: polyphenol drops (semi-thin section (Histoiresin), scale bar 20  $\mu$ m)

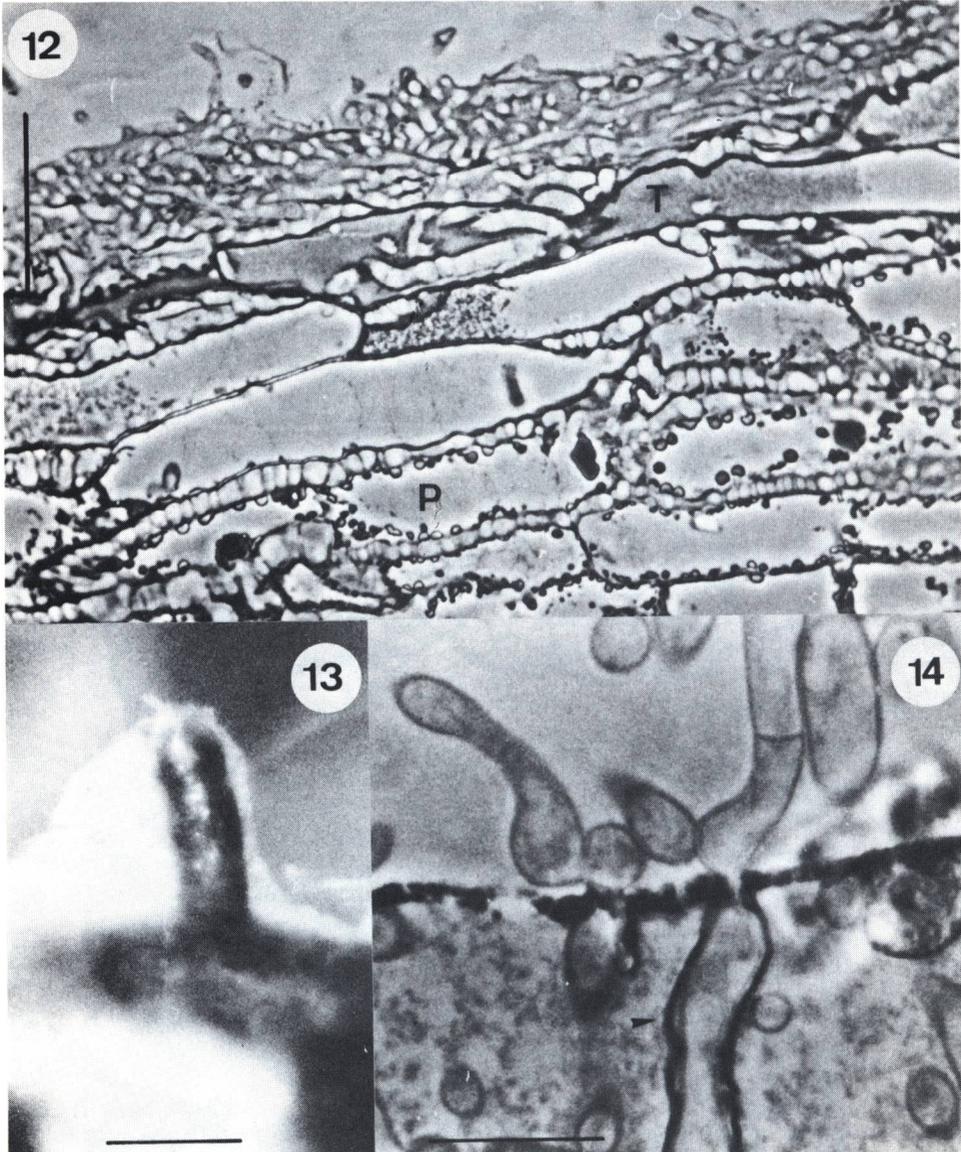


Abb. 12: Längsschnitt durch den Cortex mit Hartig-Netz. Äußere Tanninzellen (T) sind intrazellulär von Hyphen bewachsen. Innere Zellschichten sind plasmatisch und mit Polyphenoltropfen (P) gefüllt. (Semidünnschnitt (Histo-resin), Meßstrich 50  $\mu$ m)

Fig. 12.: Longitudinal section through the cortex with Hartig net. The outer tannin cells (T) are penetrated by intracellular hyphae. The inner cell layers are plasmatic and filled with polyphenol drops (P). (semi-thin section (Histo-resin), scale bar 50  $\mu$ m)

Abb. 13: Nicht-mycorrhizierte Seitenwurzel von watteartigem Myzel umgeben. (Meßstrich 0,5 mm)

Fig. 13. Non-mycorrhizal lateral root surrounded by loose mycelium. (scale bar 0,5 mm)

Abb. 14: Intrazelluläre Hyphen beim Durchqueren der Zellwand. Unterer Hyphenabschnitt von Polyphenolsaum umgeben. (Pfeil). (Semidünnschnitt (ERL), Meßstrich 10  $\mu$ m)

Fig. 14: Intracellular hyphae penetrate cell wall. Lower part of hypha is surrounded by phenolic material (arrow). (semi-thin section (ERL), scale bar 10  $\mu$ m)

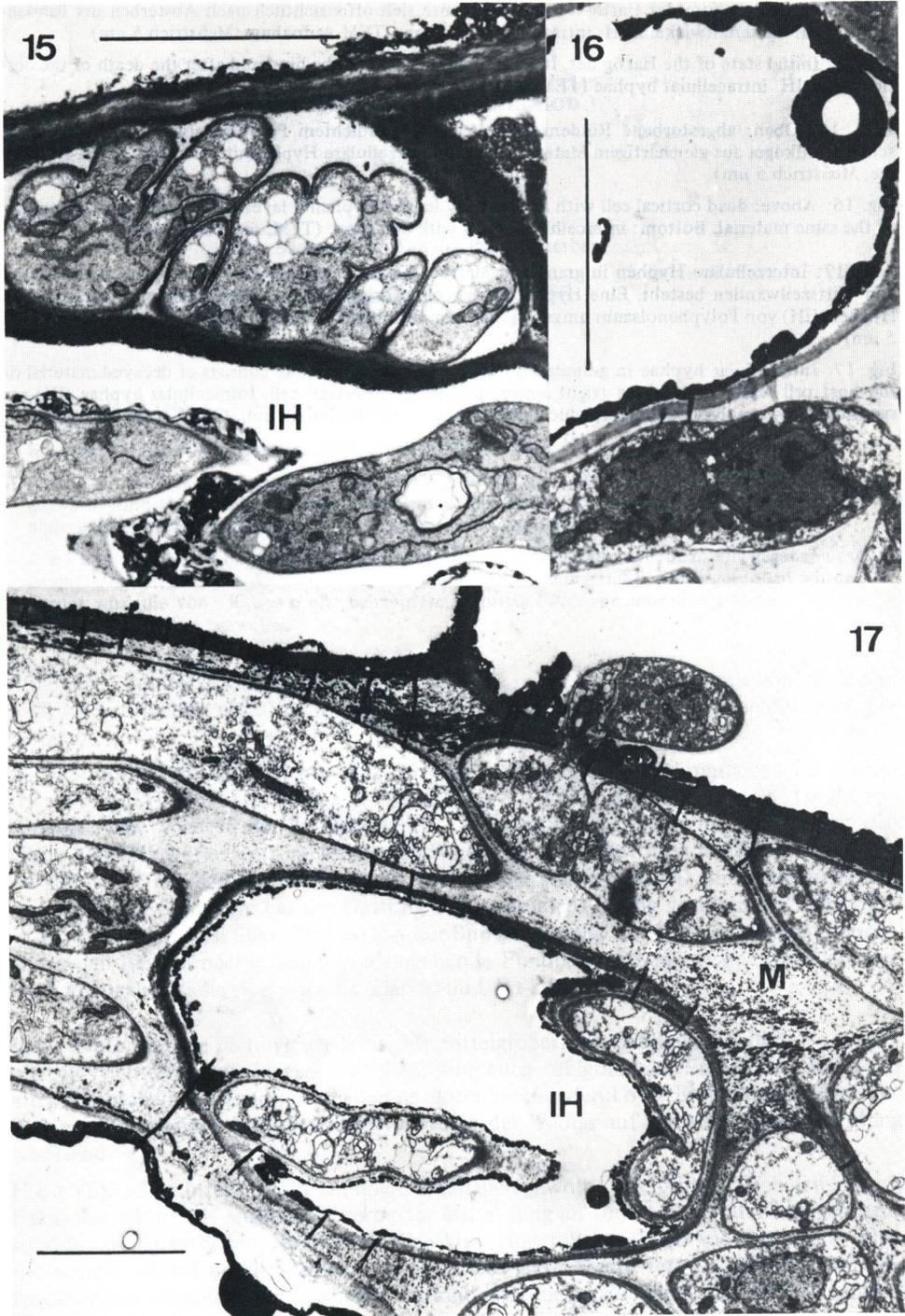


Abb. 15: Initialstadium des Hartig-Netzes. Es konnte sich offensichtlich nach Absterben der Rindenzellen nicht weiterentwickeln. IH: intrazelluläre Hyphen. (TEM-Aufnahme, Maßstrich 5  $\mu\text{m}$ )

Fig. 15: Initial state of the Hartig net. Its development seems to be hindered after the death of the cortical cells. IH intracellular hyphae (TEM, scale bar 5  $\mu\text{m}$ )

Abb. 16: Oben: abgestorbene Rindenzelle mit elektronendichtem Polyphenolsaum und einer typischen Hohlkugel aus gleichartigem Material. Unten: interzelluläre Hyphe mit Dikaryon. (TEM-Aufnahme, Maßstrich 5  $\mu\text{m}$ )

Fig. 16: Above: dead cortical cell with an elektron dense polyphenol layer and a typical hollow sphere of the same material. Bottom: intercellular hypha with dikaryon. (TEM, scale bar 5  $\mu\text{m}$ )

Abb. 17: Interzelluläre Hyphen in granulärer Matrix (M), die möglicherweise aus abgebautem Material von Wirtszellwänden besteht. Eine Hyphe (oben rechts) dringt in eine Rindenzelle ein. Intrazelluläre Hyphen (IH) von Polyphenolsaum umgeben, der hier auffallend ausdünn. (TEM-Aufnahme, Maßstrich 5  $\mu\text{m}$ )

Fig. 17: Intercellular hyphae in granulated matrix (M), which possibly consists of decayed material of the host cell walls. One hypha (right above) penetrates a cortical cell. Intracellular hyphae (IH) are surrounded by a polyphenol layer, which seems to be under decomposition. (TEM, scale bar 5  $\mu\text{m}$ )



Deutsche Gesellschaft für Mykologie e.V.  
German Mycological Society

Dieses Werk stammt aus einer Publikation der DGfM.

[www.dgfm-ev.de](http://www.dgfm-ev.de)

Über [Zobodat](#) werden Artikel aus den Heften der pilzkundlichen Fachgesellschaft kostenfrei als PDF-Dateien zugänglich gemacht:

- **Zeitschrift für Mykologie**  
Mykologische Fachartikel (2× jährlich)
- **Zeitschrift für Pilzkunde**  
(Name der Hefreihe bis 1977)
- **DGfM-Mitteilungen**  
Neues aus dem Vereinsleben (2× jährlich)
- **Beihefte der Zeitschrift für Mykologie**  
Artikel zu Themenschwerpunkten (unregelmäßig)

Dieses Werk steht unter der [Creative Commons Namensnennung - Keine Bearbeitungen 4.0 International Lizenz](#) (CC BY-ND 4.0).



- **Teilen:** Sie dürfen das Werk bzw. den Inhalt vervielfältigen, verbreiten und öffentlich zugänglich machen, sogar kommerziell.
- **Namensnennung:** Sie müssen die Namen der Autor/innen bzw. Rechteinhaber/innen in der von ihnen festgelegten Weise nennen.
- **Keine Bearbeitungen:** Das Werk bzw. dieser Inhalt darf nicht bearbeitet, abgewandelt oder in anderer Weise verändert werden.

Es gelten die [vollständigen Lizenzbedingungen](#), wovon eine [offizielle deutsche Übersetzung](#) existiert. Freigebiger lizenzierte Teile eines Werks (z.B. CC BY-SA) bleiben hiervon unberührt.

# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://www.zobodat.at)

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Zeitschrift für Mykologie - Journal of the German Mycological Society](#)

Jahr/Year: 1986

Band/Volume: [52\\_1986](#)

Autor(en)/Author(s): Münzenberger Babette, Metzler Berthold, Kottke Ingrid, Oberwinkler Franz

Artikel/Article: [Morphologische und anatomische Charakterisierung der Mykorrhiza Lactarius deterrimus-Picea abies in vitro 407-422](#)