

Variation und Verhalten des Fichtennadelpilzes *Lophodermium piceae* in Kultur

M. OSORIO

Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Forestales, Casilla 853, Valdivia, Chile

B. R. STEPHAN

Bundesforschungsanstalt für Forst- und Holzwirtschaft,
Institut für Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung,
Sieker Landstraße 2, W-2070 Großhansdorf

Eingegangen am 8.5.1991

Osorio, M. & B. R. Stephan 1991 – Variation and behaviour of the Norway spruce needle fungus *Lophodermium piceae* in culture. Z. Mykol. 57(2): 215–228.

Key words: cultural variation, conidiomata formation, growth curve, *Lophodermium piceae*, *Picea abies*.

Summary: Cultural strains of the Norway spruce needle fungus *Lophodermium piceae* showed in vitro a large variation of morphological characters. Studies of the growth at different temperatures showed that all strains grew between 0 °C and 30 °C with an optimum between 20 °C and 25 °C. The conidiomata formation was studied on various culture media. Good conidiomata formation could be observed on spruce needle media with needle residues + malt agar (3 %) and on pieces of apple and pear tissues spread on agar media. The latter ones give a good possibility to study and compare the morphogenesis of conidiomata formation in fungal strains of different provenances and different hosts. Ascumata formation did not occur.

Zusammenfassung: Isolate des Fichtennadelpilzes *Lophodermium piceae* zeigten in Kulturversuchen eine sehr große Variabilität hinsichtlich ihrer morphologischen Merkmale. Wachstumsversuche bei unterschiedlichen Temperaturen ergaben, daß alle Pilz-Isolate zwischen 0 °C und 30 °C wuchsen mit einem Optimum zwischen 20 °C und 25 °C. Die Fruchtkörperbildung wurde in vitro auf verschiedenen Nährböden geprüft. Gute Konidiomatabildung war auf allen Fichtennadelnährböden mit Rückständen + Malzagar (3 %) sowie auf Gewebestücken von Apfel und Birne zu beobachten. Letztere bieten gute Möglichkeiten, die Morphogenese der Konidiomata bei Pilz-Isolaten von verschiedenen Herkunftten oder Wirtspflanzenarten vergleichend zu untersuchen. Die Bildung von Ascumata konnte nicht festgestellt werden.

Im Zusammenhang mit den neuartigen Waldschäden gilt das zunehmende Interesse auch solchen Pilzarten, die bisher als Saprophyten oder Schwächeparasiten gegolten haben und daher kaum Beachtung fanden. Zu diesen Pilzarten gehört der Ascomycet *Lophodermium piceae* (Fuckel) v. Höhn., der in den Nadeln der Fichte (*Picea abies* (L.) Karst.) vorkommt. Diese Pilzart ist weit verbreitet und in nahezu allen natürlichen oder künstlich angebaute Fichtenbeständen zu finden.

Obwohl dieser Fichtennadelpilz seit etwa 200 Jahren wissenschaftlich bekannt ist, gab es über seine Biologie bis vor kurzem nur wenige Informationen (vgl. Osorio & Stephan

1990, 1991). Erst neuere Untersuchungen gaben Hinweise darauf, daß *L. piceae* zu den Endophyten zu rechnen ist, die in gesunden Pflanzenteilen leben können, ohne dort sichtbare Krankheitssymptome hervorzurufen (Barklund & Rowe 1983, Kowalski & Lang 1984, Butin 1986, Barklund 1987, Sieber 1988, Osorio 1989, Suske & Acker 1989, 1990). Diese Organismen beenden ihren Lebenszyklus in der Regel erst, wenn das Wirtsgewebe durch natürliche oder streßbedingte Alterung abstirbt. Bei *L. piceae* konnte dieser Lebenszyklus in jüngster Zeit eingehend untersucht werden (Osorio 1989, Osorio & Stephan 1991). Im Verlauf dieser Untersuchungen zeigte sich aber auch, daß sich bisher nur wenige Arbeiten mit physiologischen oder forstpathologischen Eigenschaften von *L. piceae* befaßt haben. Mit Ausnahme der Beobachtungen von Rack & Butin (1984) über Wuchsmerkmale von *L. piceae*-Kulturen gibt es über die Variabilität und Physiologie dieser Pilzart in vitro keine weiteren Literaturhinweise. Bereits Hilitzer (1929, S. 61) schrieb, „es ist auffallend, daß diese Art, die so häufig in ganz Mitteleuropa ist, erst sehr spät die Aufmerksamkeit von Mykologen und Phytopathologen auf sich gelenkt hat“. Es erschien daher wünschenswert, durch die Erforschung der Variation und des Verhaltens von Pilzisolaten unter Laborbedingungen zur besseren Kenntnis von *L. piceae* beizutragen.

1. Material und Methoden

1.1. Herkunft der *L. piceae*-Isolate

Für die Gewinnung von *L. piceae*-Isolaten standen über 800 Nadelproben der Fichte (*Picea abies*) von unterschiedlichen Standorten in der Bundesrepublik Deutschland und in weiteren mittel- und nordeuropäischen Ländern zur Verfügung. Diese Proben wurden in der Zeit zwischen Juni 1986 und August 1988 eingesammelt und bei -5°C aufbewahrt. Es wurden sowohl Proben aus geographisch weit entfernten Herkünften als auch Proben aus direkter Nachbarschaft innerhalb einer Herkunft genommen, um die Variation zwischen und in Herkünften untersuchen zu können.

1.2. Gewinnung von *L. piceae*-Isolaten

Die Isolierungen erfolgten zum Teil aus hymenialem Gewebe, wobei als Inokulum das Innere von gequollenen Ascomata mit einer sterilen Nadel aufgenommen wurde, zum größeren Teil jedoch aus Myzel, das aus Nadelstücken herausgewachsen war. Für den letzteren Fall wurde eine bei Rack & Butin (1984) beschriebene Isolierungstechnik abgewandelt. Die Nadeloberfläche wurde in 1 %igem Natriumhypochlorid sterilisiert. Hierzu wurden Fichtennadeln zunächst 10 min in Natriumhypochlorid gebadet, dann 5 min in sterilem Wasser geschwenkt und anschließend bis zur weiteren Verarbeitung in sterilem Wasser aufbewahrt. Die Nadeln wurden unter sterilen Bedingungen in jeweils 5 Stücke zerschnitten. Dabei wurden von der Spitze, von der Basis und aus der Mitte je 2 mm abgeschnitten. Die beiden übrigen Teilstücke wurden auf Malzagar-Platten (3 % Malzextrakt, 2 % Agar; Sterilisation 20 min bei 120°C) ausgelegt, und die Petrischalen im Brutschrank bei 23°C inkubiert. Um ein Austrocknen des Nährbodens und Fremdinfectionen während der Inkubationszeit zu verhindern, wurden die Petrischalen mit Klebeband versiegelt.

Die Kulturen wurden regelmäßig kontrolliert. Nach 4–6 Wochen wurden von den aus den Nadelstücken auswachsenden Kolonien Reinkulturen angelegt.

Die Bestimmung der Pilzkulturen erfolgte nach Beschreibungen bei Rack & Butin (1984), Butin & Wagner (1985) und Butin (1986). Die eindeutige Identifizierung der Kulturen als *L. piceae* erfolgte anhand der Konidiomatabildung und der Größe und Form der Konidien. Die verschiedenen Pilzisolat von *L. piceae* wurden hinsichtlich Kolonienfarbe, Form, Myzelwachstum sowie hinsichtlich Größe, Häufigkeit und Anordnung der Konidiomata auf der Kolonienoberfläche charakterisiert.

1.3. Kulturversuche bei verschiedenen Temperaturen

Für diesen Versuch wurden insgesamt 11 Isolate ausgewählt, die sich in ihren Merkmalen und ihrer Herkunft unterschieden. Dabei sollte vor allem die geographische Verbreitung von *L. piceae* gut repräsentiert sein. Als Inokulum wurde ein Impfstück des jeweiligen Pilzstammes (2,5 mm Durchmesser; 1,5 mm Höhe) verwendet. Das Wachstum wurde zwischen 0° und 35 °C bei Temperaturschritten von 5 °C geprüft und der Koloniedurchmesser wöchentlich gemessen.

1.4. Kulturversuche auf verschiedenen Nährsubstraten und unter verschiedenen Lichtbedingungen

Außer Malzagar (3 %) wurden die folgenden Nährböden verwendet:

a) Fichtennadel-Nährböden (vgl. Stephan 1969). Verwendet wurden 1jährige grüne Nadeln (nN), 2–5jährige grüne Nadeln (aN), und braune Nadeln (bN), je 40 g pro 1000 ml Wasser. Jedes der drei Substrate wurde nach dem Homogenisieren in vier Filtratfraktionen aufgeteilt:

1. Fein-Filtrat (Tuch) in Agar 2 %
2. Grob-Filtrat (Sieb) in Agar 2 %
3. Rückstände von 1 + 2 in Agar 2 %
4. Rückstände von 1 + 2 in Malzagar 3 %

b) Synthetischer Nähragar (Stephan 1967): 1 g KH_2PO_4 , 0,5 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$, 2 g NaNO_3 , 20 g Glucose, 2 g Pepton aus Casein, 2,5 g Hefe-Extrakt, 20 g Agar, 1000 ml dest. Wasser. Sterilisation 20 min bei 120 °C.

c) Pflanzengewebe. Im Autoklav sterilisierte Stücke (1,5 x 1,5 x [0,2–] 0,5 cm) von Sellerie, Apfel, Birne, Banane, Kartoffel und Zwiebel (alle mit Schale, Kartoffel auch ohne Schale) wurden unter sterilen Bedingungen an den Rand von bereits auf dem Malzagar wachsenden *L. piceae*-Kulturen gelegt.

Die einzelnen Nährböden wurden mit verschiedenen Pilzstämmen von *L. piceae* beimpft und unter folgenden Bedingungen inkubiert:

- im Labor mit 10–12 Std. Kunst- und Tageslicht bei ca. 22 °C,
- in Wuchskabine mit 12 Std. Licht (2 Leuchtstoffröhren: Atlas Warm White 15W) und 12 Std. Dunkelheit bei ca. 10 °C,
- in Wuchskabine mit 24 Std. Licht (2 Leuchtstoffröhren: 1 Osram L-Fluora 40W/77, 1 Philipps TLF 40 W/33; ca. 2000 lux) bei ca. 10 °C,
- in Wuchskabine mit 12 Std. Licht (2 Leuchtstoffröhren: Osram Schwarzlicht L 36W/7) bei ca. 10 °C,
- im Freiland unter natürlichen Licht- und Temperaturbedingungen (ca. 2500 lux am Tag, zwischen 0 °C bis 10 °C).

2. Ergebnisse

2.1. Variation der Kulturmerkmale von *L. piceae*-Isolaten

Insgesamt wurden 454 Stämme von *L. piceae* isoliert, die in Form und Größe der Kolonien eine große Variation zeigten. Im Grunde stellte jedes Pilzisolat einen eigenen Typ dar. Eine Einteilung in jeweils gleichartige Kulturtypen-Gruppen war nicht möglich. Die Unterschiede waren erst nach mehreren Wochen deutlich (Abb. 1). Nach 1–2 Wochen hatten alle Isolate ein mehr oder weniger weißes Luftmyzel. Nach etwa 6 bis 10 Wochen ließen sich die Pilzisolate am besten unterscheiden, wenn sich ausreichend Konidiomata gebildet hatten, von denen einige bereits reif waren. Sie trugen zur besseren Differenzierung der Isolate bei. Die Isolate unterschieden sich durch Wachstumsleistung, Färbung und Dichtigkeit des Substrat- und Luftmyzels, Höhe des Luftmyzels und Ausprägung des Kolonienrandes. Die Färbung der Kolonien variierte zwischen den Isolaten außerordentlich stark. Die Färbungen reichten von Weiß bis Dunkelbraun (Abb. 1), und zwischen diesen Extremen gab es eine große Vielfalt der Tönungen (Weiß-Hellgelb, Hellbeige, Weiß-Hellgrün, Weiß-Hellrosa, Hellbraun, Braun). Bei einigen Isolaten verfärbte sich das Kulturmedium in Umgebung der Kolonien (Abb. 1 C). Darüber hinaus unterschieden sich die einzelnen Isolate auch durch Größe und Häufigkeit der Konidiomata und ihre Verteilung auf der Kolonienoberfläche (z. B. Abb. 1 B und D). Hinsichtlich der Ausbildung der Kolonienränder konnten drei Typen unterschieden werden (Abb. 2).

Die beobachteten Merkmale traten unabhängig voneinander auf. Zwischen der Herkunft und den Merkmalen der Isolate konnten keine Beziehungen nachgewiesen werden. Oft zeigten bereits Isolate derselben Herkunft sehr verschiedene Merkmale. In mehreren Fällen variierten sogar Isolate aus demselben Ascoma sehr stark. Bei den Kulturmerkmalen handelt es sich offenbar um genetische Merkmale, da sie auch nach mehreren Überimpfungen der Isolate konstant blieben.

2.2. Entwicklung der Konidiomata von *L. piceae* in Kultur

In Kultur bildeten sich die Konidiomata hauptsächlich auf dem Nährboden. Form und Größe waren sehr variabel. Es entwickelten sich kugelige bis kissen- oder linsenförmige einzelne Konidiomata mit einem Durchmesser von ca. 300 µm, oder es bildeten sich Aggregate von 3000 bis 4000 µm Durchmesser (Abb. 3). Diese in Kultur entwickelten Konidiomataformen waren sehr verschieden von den auf Fichtennadeln gebildeten (vgl. Osorio & Stephan, im Druck). In Kultur glichen sie einer Zwischenform zwischen Pyknidium und Sporodochium. Außen besaßen die Konidiomata Gewebe mit *textura intricata* (Abb. 4 B), das in einem fortgeschrittenen Stadium aus melanisierten Zellen bestand (Abb. 4 A). Im Inneren besaßen die Konidiomata Gewebe mit *textura globulosa* (Abb. 4 C). Insbesondere im Anfangsstadium der Konidiomatabildung konnten Konidienträger mit Konidien auch auf der Außenseite des Fruchtkörpers beobachtet werden (Abb. 4 B). Die meisten Konidienträger wurden allerdings im Inneren gebildet (Abb. 4 C). In fortgeschrittenem Stadium wurden die im Inneren sehr reichlich gebildeten Konidien in schleimigen Tröpfchen entlassen (Abb. 3). Form und Größe der Konidienträger und Konidien stimmten mit deren Form und Größe in der Natur überein.

2.3. Der Einfluß der Temperatur auf das vegetative Wachstum

Der Einfluß der Temperatur wurde an 11 *L. piceae*-Isolaten in einem Bereich zwischen 0 °C und 35 °C untersucht (Abb. 5.). Alle Isolate wuchsen bei 0 °C. Das Wachstum nahm allmählich mit ansteigender Temperatur bis zum Optimum zu, das bei 20 °C bzw. 25 °C

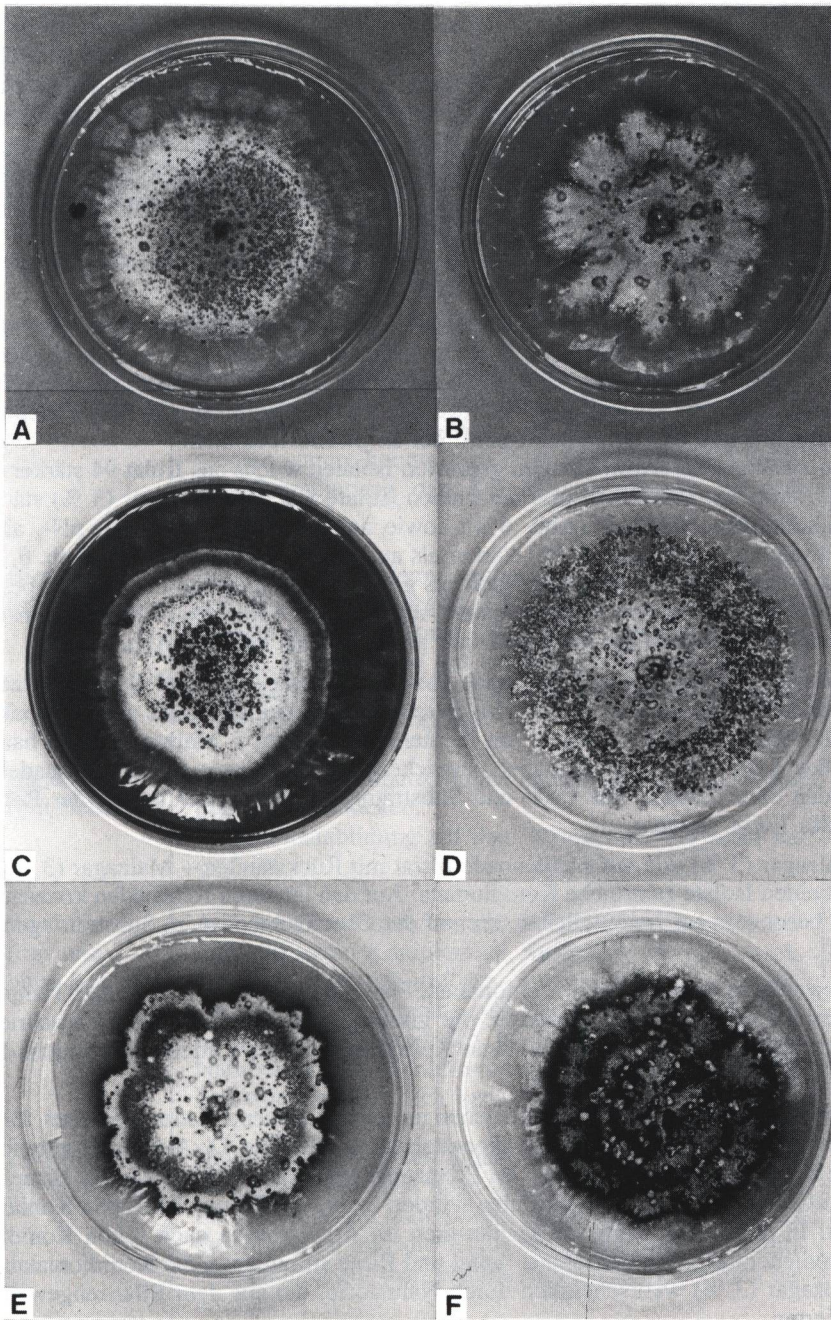


Abb. 1: Verschiedene Isolate von *L. piceae* auf Malzagar. A–F, sehr unterschiedliche Färbung des Luftmyzels und des Nährbodens von hell bis dunkelbraun; unterschiedliche Größe, Häufigkeit und Verteilung der Konidiomata auf den Kolonien.

Fig. 1: Different isolates of *L. piceae* on malt agar. A–F, very different colouring of aerial mycelium and culture medium from light to dark brown; different size, frequency and distribution of conidiomata on the colonies.

lag. Über 25 °C nahm das Wachstum schnell ab. Bei 30 °C war mit Ausnahme der Isolate 150 und 163 fast kein Wachstum mehr festzustellen. Bei 35 °C wuchs keines der geprüften Isolate. Insgesamt war festzustellen, daß sich die Isolate sowohl in ihrem absoluten Kolonienwachstum als auch hinsichtlich der für das vegetative Wachstum optimalen Temperatur unterschieden. Solche Unterschiede bestanden nicht nur zwischen Isolaten geographisch entfernter Herkünfte, sondern wurden bereits zwischen Isolaten derselben Herkunft, derselben Probe, derselben Nadel oder desselben Fruchtkörpers (Ascoma) deutlich.

2.4. Der Einfluß verschiedener Nährsubstrate und Licht auf das Wachstum und die Konidiomatabildung

Die aus unterschiedlich alten Fichtennadeln hergestellten Nährböden hatten unterschiedliche pH-Werte: mit Filtratfraktion aus jungen Nadeln (nN) pH 3,29; aus 2- bis 5jährigen Nadeln (aN) pH 3,95; aus braunen Nadeln (bN) pH 4,67. Der nN-Nährboden verfestigte sich nicht infolge des niedrigen pH-Wertes. Die unterschiedlichen pH-Werte beeinflussen das Wachstum und das Erscheinungsbild der *L. piceae*-Kolonien.

Von den zwei in allen Behandlungen geprüften Isolaten wuchs das Isolat 94 stärker als Isolat 95 (Abb. 6). Das Wachstum der beiden Isolate war auf Malzagar (3 %) stärker als auf synthetischem Nähragar (Abb. 6 a), sowie auf allen Nährböden mit nN-, aN- und bN-Rückständen + Malzagar (3 %) stärker als auf reinem Malzagar (3 %) (Abb. 6, a, b, c, d). Beide Isolate wuchsen auf Nährböden aus grünen Fichtennadeln (nN und aN) besser als auf Nährböden aus braunen Fichtennadeln (Abb. 6 b, c, d). Auf den Nährböden aus grünen Fichtennadeln war aber das Wachstum auf aN besser als auf nN (Abb. 6 b, c).

Auf Malzagar (3 %) entwickelten beide Isolate reichlich Luft- und Substratmyzel. Auf synthetischem Nährmedium war die Myzelentwicklung beider Isolate sehr kompakt. Auf allen Nährböden mit Rückständen von Fichtennadelfiltraten + Malzagar (3 %) hatte sich reichliches Luft- und Substratmyzel entwickelt. Dagegen war auf Fichtennadelfiltrat-Nährboden ohne Zusätze das Luft- und Substratmyzel sehr locker und in der Regel nur gegen das Licht sichtbar.

Auf Malzagar (3 %) und auf Fichtennadelfiltrat mit Rückständen + Malzagar (3 %) bildeten die beiden Isolate zahlreiche Konidiomata. Auf den letzteren Nährböden konzentrierten sie sich besonders auf Nadelteilchen, die auf der Oberfläche oder im Substrat lagen (Abb. 3 D, E).

Die Verwendung verschiedener Lichtquellen, Photoperioden und zusätzlicher Temperaturvarianten führte nicht zu Ergebnissen, die grundsätzlich von dem bereits beschriebenen Verhalten der Pilzisolates abwichen. Diese Kulturbedingungen förderten auch nicht die Bildung der Ascomata von *L. piceae*.

Von den verschiedenen in die Untersuchungen einbezogenen Pflanzengeweben förderten vor allem Apfel und Birne die Konidiomatabildung (Tabelle 1). Auf Apfel entwickelten sich die Konidiomata hauptsächlich im Pflanzengewebestück (Abb. 3 C), auf Birne in und auf dem Gewebestück. In beiden Fällen wurden bereits nach etwa 25 Tagen Konidiomata gebildet. In demselben Zeitraum konnte man im Apfelgewebe auch schon Konidientlassung beobachten. Apfel und Birne stimulierten die Konidiomatabildung auf Malzagar (3 %) wahrscheinlich durch Nährstoffe, die aus dem Pflanzengewebestück diffundierten.

Auf Kartoffelstücken ohne Schale wurden Konidiomata gebildet, nicht aber auf Stücken mit Schale. Auf dem Nährboden war eine Stimulierung der Myzelentwicklung zu beobachten, wahrscheinlich ebenfalls durch Nährstoffe, die aus den Kartoffelstücken diffundierten.

BEHANDLUNG		FRUCHTKÖRPERBILDUNG	
Nr.	Pflanzen- gewebe	Konidiomata	Asco- mata
1	Sellerie (mit Schale)	Beide Isolate haben keine Konidiomata in oder auf den Gewebestücken gebildet. Zu beobachten war die Bildung einer schwarzen Zone am Rand der Kolonien ähnlich einer antagonistischen Reaktion. Die Konidiomatabildung auf dem Nährboden war etwas negativ beeinflusst.	keine
2	Apfel (mit Schale)	Beide Isolate bildeten zahlreiche Konidiomata, hauptsächlich in den Gewebestücken. Circa 25 Tage, nachdem die Gewebestücke am Rand der Kolonie ausgelegt worden waren, konnte man reife Konidiomata beobachten. Stimulierung der Konidiomatabildung auf dem Nährboden.	keine
3	Birne (mit Schale)	Beide Isolate bildeten zahlreiche Konidiomata in und auf den Gewebestücken. Circa 25 Tage, nachdem die Gewebestücke am Rand der Kolonie ausgelegt worden waren, gab es schon gut entwickelte Konidiomata und ihre Reife begann. Stimulierung der Konidiomatabildung auf den Nährboden.	keine
4	Banane (mit Schale)	Beide Isolate bildeten keine Konidiomata in oder auf den Gewebestücken. Konidiomatabildung auf dem Nährboden war nicht beeinflusst.	keine
5	Kartoffel (mit und ohne Schale)	Auf den Gewebestücken mit Schale bildeten beide Isolate sehr selten Konidiomata. Reichliche Myzelentwicklung, hauptsächlich auf den Gewebestücken mit Schale. Zahlreiche Konidiomata auf den Gewebestücken ohne Schale. Stimulierung der Myzelentwicklung auf dem Nährboden. Die Konidiomatabildung auf dem Nährboden war nicht deutlich beeinflusst.	keine
6	Zwiebel (ohne Schale)	Beide Isolate bildeten Konidiomata unter und auf den Gewebestücken. Die unter den Gewebestücken gebildeten Konidiomata hatten Schwierigkeiten das Gewebe zu durchbrechen und die Konidien zu entlassen. Konidiomatabildung auf dem Nährboden war nicht deutlich beeinflusst.	keine
Kontrolle	Malzagar (3 %)	Beide Isolate bildeten Konidiomata hauptsächlich auf dem Nährboden. Nach 30 bis 35 Tagen waren schon gut ausgebildete Konidiomata vorhanden.	keine

Tab. 1: Fruchtkörperbildung von *L. piceae* auf einigen PflanzengewebenTab. 1: Fruit body formation of *L. piceae* on some plant tissues

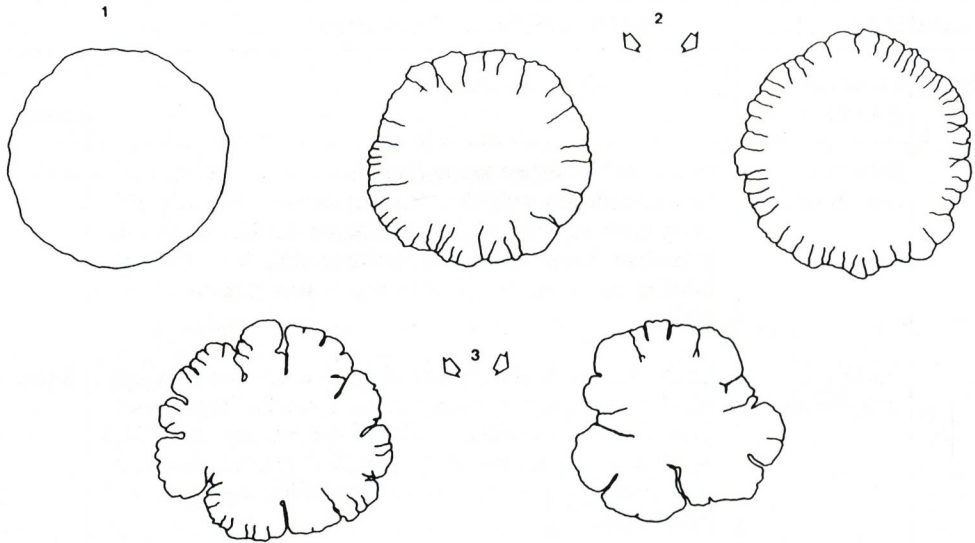


Abb. 2: Typen der Kolonienränder von *L. piceae*. Typ 1: Rand gleichmäßig, nicht gelappt. Typ 2: Rand leicht gelappt. Typ 3: Rand tief gelappt. Kolonien der Typen 1 und 2 fast kreisförmig; Kolonien des Typs 3 unregelmäßig.

Fig. 2: Types of colony edges of *L. piceae*. Type 1: edge uniform, not lobed. Type 2: edge slightly lobed. Type 3: edge deeply lobed. Colonies of types 1 and 2 nearly circular; colonies of type 3 irregular.

In Zwiebelstücken entwickelten sich Konidiomata nur unter dem Gewebe, das sie kaum durchbrechen konnten.

In Sellerie- und Bananengewebe wurden keine Konidiomata in oder auf dem Gewebe beobachtet. Gegenüber Selleriegewebe zeigten beide Isolate von *L. piceae* eine antagonische Reaktion.

3. Diskussion

In Kultur zeigten die untersuchten *L. piceae*-Isolate aus *Picea abies*-Nadeln eine sehr große Variation, und zwar sowohl zwischen geographisch weit entfernten Herkunftsn als auch innerhalb derselben Herkunft, d. h. von demselben Ort, Baum, Nadel oder Ascoma. Verallgemeinernd kann man sagen, daß von den 454 Isolaten keines wie das andere war. Über Kulturmerkmale von *L. piceae* gibt es kaum Informationen. So berichten nur Rack & Butin (1984) über eine große Variabilität zwischen *L. piceae*-Isolaten. Die hier beobachtete Variabilität zeigt interessante Übereinstimmungen mit Ergebnissen bei *Lophodermium pinastri* (Stephan 1973). Auch bei dieser Pilzart war die Variation zwischen 500 untersuchten Isolaten sehr ausgeprägt, so daß kaum ein Isolat mit einem anderen völlig übereinstimmte.

Die Variation der Kulturmerkmale konnte am besten nach einer Kulturdauer von 6–10 Wochen beurteilt werden, weil dann die Konidiomatabildung deutlich sichtbar und häufig war und die Konidiomata bereits sporulierten. Alle Merkmale der Konidiomata (u. a. Größe, Färbung, Häufigkeit und Verteilung auf der Kulturoberfläche, Neigung zur Aggregatbildung) boten eine sehr gute Hilfe bei der Unterscheidung von Pilz-Isolaten. Zimmertemperatur und Laborlicht ermöglichten bereits ein gutes Wachstum der Kulturen und gute Konidiomatabildung. Bei niedrigen Temperaturen, etwa bei 0 °C im Kühlschrank, nahm die Neigung zur Konidiomatabildung ab. Dieses Verhalten kann mit ein Grund dafür sein, daß sich nach Beobachtung einiger Autoren (z. B. Rack & Butin 1984) die Ausbildung von Konidiomata in Sekundärkulturen erheblich verlangsamen oder auch ganz ausbleiben kann. In den vorliegenden Untersuchungen haben alle Sekundärkulturen ihre Fähigkeit zur Konidiomatabildung behalten, wenn sie unter optimalen Bedingungen kultiviert wurden. Es war auch immer möglich, Kulturen von *L. piceae* mit Konidiomata zu bekommen, obwohl nach Laing (1985) die Bildung der Konidiomata bei *L. piceae* selten sein soll. Dies ist aber vermutlich auf eine zu kurze Beobachtungsdauer und/oder auf niedrige Kulturtemperaturen zurückzuführen. Nach Barklund (1987) entwickeln sich zwar eventuell Konidiomata, doch bleiben sie unreif. Bei den vorliegenden Untersuchungen wurden bei allen Isolaten reife Konidiomata beobachtet. Allerdings gelingt es bisher nicht, die Konidien zur Keimung zu bringen. Vermutlich spielen sie eine Rolle als Spermatien im Sexualzyklus von *L. piceae*.

Die in vitro beobachtete Kugel- bis Kissen- oder Linsenform der Konidiomata stimmte mit den von Rack & Butin (1984) ebenfalls in Kulturversuchen festgestellten Formen überein. Die in den Fichtennadeln in vivo gebildeten Konidiomata unterschieden sich hiervon allerdings in Form und Größe (Osorio & Stephan, im Druck). Auch Pagony (1976) fand in Reinkulturen von *L. pinastri* größere Pyknidien (Konidiomata) als in vivo.

Die in-vitro-Bildung der Ascoma-Form von *L. piceae* konnte in den vorliegenden Untersuchungen nicht nachgewiesen werden und muß daher zukünftigen Experimenten vorbehalten bleiben.

Die verwandten Pilzarten *L. pinastri* und *L. seditiosum* sind Organismen mit mehrkernigen Hyphenzellen, womit die morphologische und physiologische Variabilität erklärt werden kann (Stephan 1969). Die Kernverhältnisse in den Hyphenzellen von *L. piceae* sind noch nicht untersucht, doch ist auch bei dieser Art Mehrkernigkeit anzunehmen. Die große Variabilität der Isolate könnte in einem solchen Fall auf Heterokaryose zurückgeführt werden, doch ist nicht auszuschließen, daß die Variabilität auch durch sexuelle Neukombinationen im Verlauf der Ascomabildung hervorgerufen wird.

Die *L. piceae*-Isolate variierten nicht nur in ihren morphologischen Kulturmerkmalen, sondern besaßen in dem geprüften Temperaturbereich auch unterschiedliche Wachstumskurven, variierten demnach auch in ihrem physiologischen Verhalten. Allerdings lag das Optimum für das vegetative Wachstum der verschiedenen Pilz-Isolate in einem relativ engen Bereich zwischen 20 °C und 25 °C. Alle Isolate zeigten auch bei 0 °C Wachstum, was darauf hinweist, daß *L. piceae* unter natürlichen Bedingungen auch in der kühleren Jahreszeit bei Temperaturen um 0 °C in den Fichtennadeln zu wachsen vermag. In diesem Zeitraum bilden sich unter natürlichen Bedingungen auf den Nadeln Konidiomata und Ascomata (Osorio & Stephan 1991).

Viele Pilzarten zeichnen sich durch eine große physiologische Variabilität aus. Diese Eigenschaft ermöglicht ihnen vermutlich die schnelle Anpassung an formenreiche Wirtspflanzenarten und an unterschiedliche Umweltbedingungen. In der Tat handelt es sich bei *Picea abies*, der Wirtspflanzenart von *L. piceae*, um eine Baumart mit großer genetischer

Variation zwischen und in Populationen (Schmidt-Vogt 1977, 1986). Die große Variation von *L. piceae*, wie sie sich hier in Kulturversuchen gezeigt hat, befähigt diese Fichtennadelpilzart offenbar auch zu ihrer geographisch weiten Verbreitung.

Danksagung

Diese Arbeit ist Teil der Dissertation von M. Osorio an der Georg-August-Universität Göttingen. Sie wurde durch ein Stipendium der Deutschen Stiftung für Entwicklungshilfe (DSE) finanziell unterstützt, wofür auch an dieser Stelle gedankt wird. Der Dank gilt auch den zahlreichen Kollegen im In- und Ausland, die die Untersuchungen mit Fichtennadelproben unterstützt haben. Herr Prof. Dr. H. Butin, Braunschweig, hat freundlicherweise einige Isolate nachgeprüft bzw. bestimmt.

Literatur

- BARKLUND, P. (1987) – Occurrence and pathogenicity of *Lophodermium piceae* appearing as an endophyte in needles of *Picea abies*. Transactions of the British mycological Society 89, 307–313.
- & J. ROWE (1983) – Endophytic fungi in Norway spruce – possible use in bioindication of vitality. Aquilo Ser. Bot. 19, 228–232.
- BUTIN, H. (1986) – Endophytische Pilze in grünen Nadeln der Fichte (*Picea abies* Karst.). Zeitschrift für Mykologie 52, 335–346.
- & C. WAGNER (1985) – Mykologische Untersuchungen zur „Nadelröte“ der Fichte. Forstwissenschaftliches Centralblatt 104, 178–186.
- HILITZER, A. (1929) – Monografická studie o českých družích radu Hysteriales a o sypankách jimi pusobených. Vedecké spisy vydavane. Československou Akademii Zemedelskou 3, 161 S.
- KOWALSKI, T. & K. J. LANG (1984) – Die Pilzflora von Nadeln, Trieben und Ästen unterschiedlich alter Fichten (*Picea abies* (L.) Karst.) mit besonderer Berücksichtigung vom Fichtensterben betroffener Altbäume. Forstwissenschaftliches Centralblatt 103, 349–360.
- LAING, K. M. (1985) – A critical examination of *Lophodermium* species in coniferous litter. Thesis, University of Aberdeen, 62 S.
- OSORIO, M. (1989) – Zur Biologie des in Fichtennadeln vorkommenden Pilzes *Lophodermium piceae* (Fuckel) v. Höhn. Dissertation, Georg-August-Universität, Göttingen. 175 S.
- & B. R. STEPHAN (1990) – Zur Taxonomie und Nomenklatur von *Lophodermium piceae* (Fuckel) v. Höhn. European Journal of Forest Pathology 20, 355–366.
- (1991) – Life cycle of *Lophodermium piceae* in Norway spruce needles. European Journal of Forest Pathology 21.
- (im Druck) – Morphological studies of *Lophodermium piceae* (Fuckel) v. Höhn. on Norway spruce needles. European Journal of Forest Pathology.
- PAGONY, H. (1976) – Züchtung von Reinkulturen des Pilzes *Lophodermium pinastri* (Schrad.) Chev. zur Entstehung von sexuellen Fruchtkörpern (Hysterothecien). European Journal of Forest Pathology 6, 71–74.
- RACK, K. & H. BUTIN (1984) – Experimenteller Nachweis nadelbewohnender Pilze bei Koniferen. I. Fichte (*Picea abies*). European Journal of Forest Pathology 14, 302–310.
- SCHMIDT-VOGT, H. (1977) – Die Fichte. Bd. I, Verlag Paul Parey, Hamburg und Berlin. 647 S.
- (1986) – Die Fichte. Bd. II/1, Verlag Paul Parey, Hamburg und Berlin. 563 S.
- SIEBER, T. (1988) – Endophytische Pilze in Nadeln von gesunden und geschädigten Fichten (*Picea abies* (L.) Karsten). European Journal of Forest Pathology 18, 321–342.
- STEPHAN, B. R. (1967) – Untersuchungen über die Variabilität bei *Colletotrichum gloeosporioides* Penzig in Verbindung mit Heterokaryose. I. und II. Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene, II. Abt., 121, 41–57; 58–72.
- (1969) – Karyologische Untersuchungen an keimenden Ascosporen und Hyphenzellen von *Lophodermium pinastri* (Schrad.) Chev. Archiv für Mikrobiologie 67, 318–327.
- (1973) – Untersuchungen zur Variabilität von *Lophodermium pinastri*. I. Kulturvarianten. European Journal of Forest Pathology 3, 6–12.
- SUSKE, J. & G. ACKER (1989) – Identification of endophytic hyphae of *Lophodermium piceae* in tissues of green, symptomless Norway spruce needles by immunoelectron microscopy. Canadian Journal of Botany 67, 1768–1774.
- (1990) – Host-endophyte interaction between *Lophodermium piceae* and *Picea abies*: cultural, ultrastructural and immunocytochemical studies. Sydowia 42, 211–217.

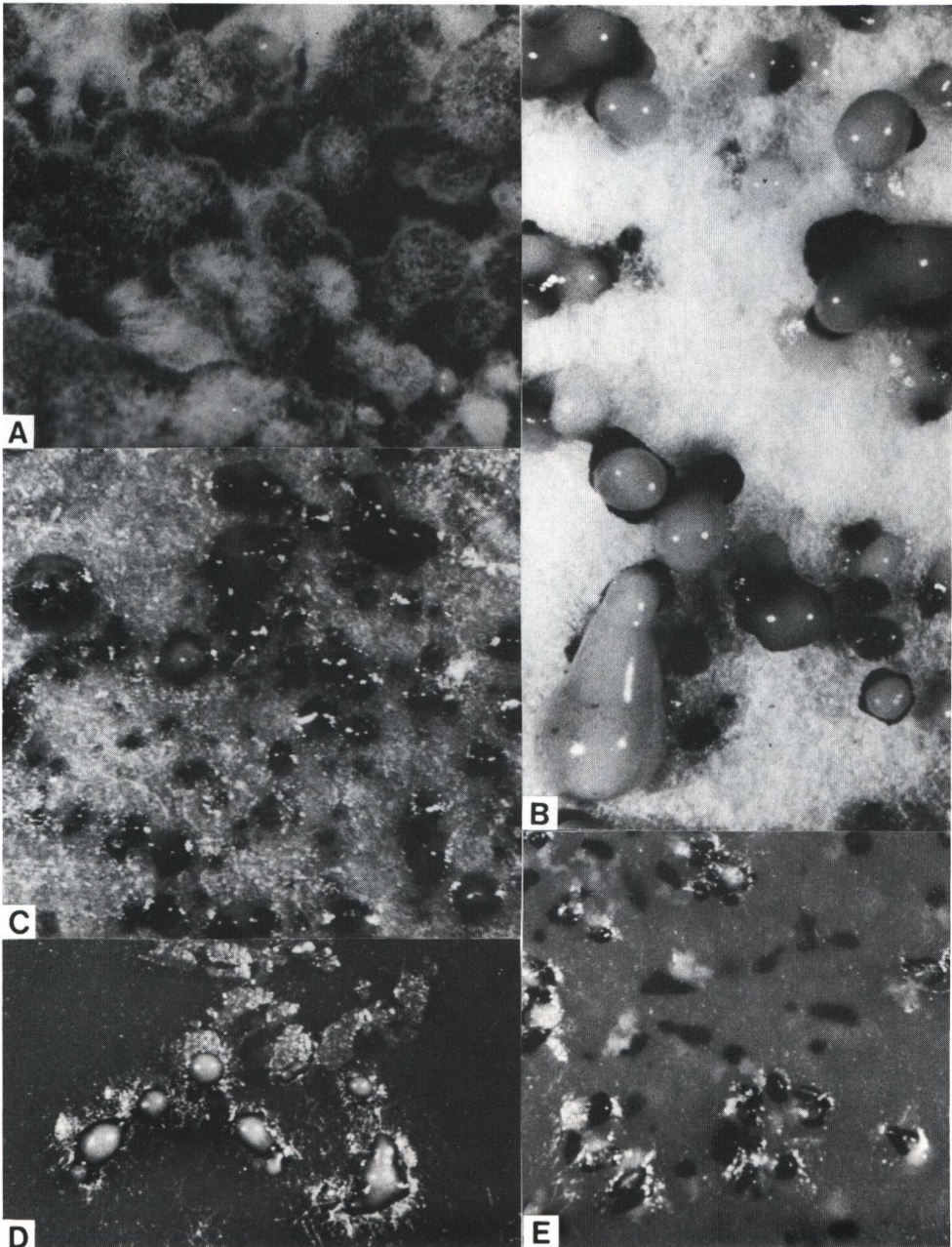


Abb. 3: Konidiomatabildung von *L. piceae* in Kultur. A–B, verschiedene Formen und Größen der Konidiomata, einzeln und in Aggregaten. Die zahlreich entwickelten Konidien sammeln sich in schleimigen Tröpfchen. C, in Apfelstücken. D–E, auf Rückständen von Fichtennadelfiltrat + Malzagar (3 %). Die Konidiomatabildung ist hier auf die Nadelstücke konzentriert.

Fig. 3: Conidiomata formation of *L. piceae* in culture. A–B, various forms and sizes of conidiomata, solitary and in aggregates. The numerous developed conidia accumulate in mucous droplets. C, in pieces of apple. D–E, on residuals of spruce needle filtrate + malt agar (3 %). The conidiomata formation is concentrated on needle pieces.

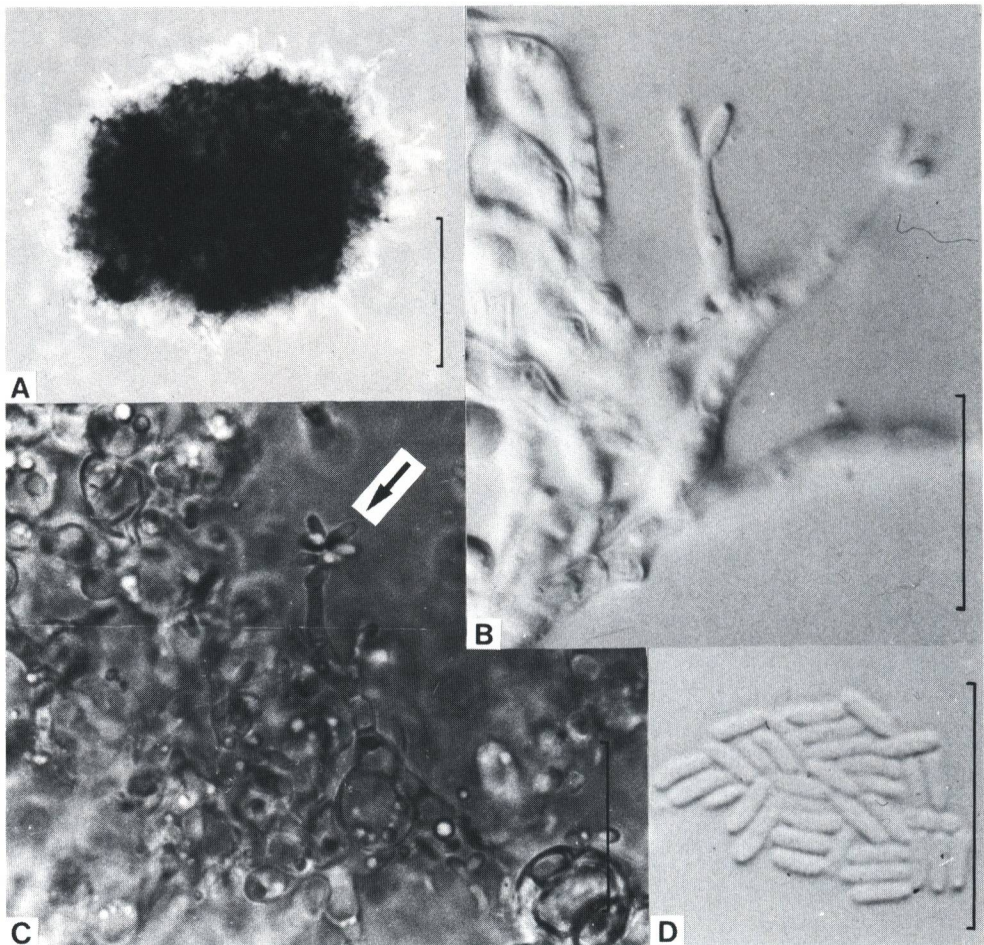
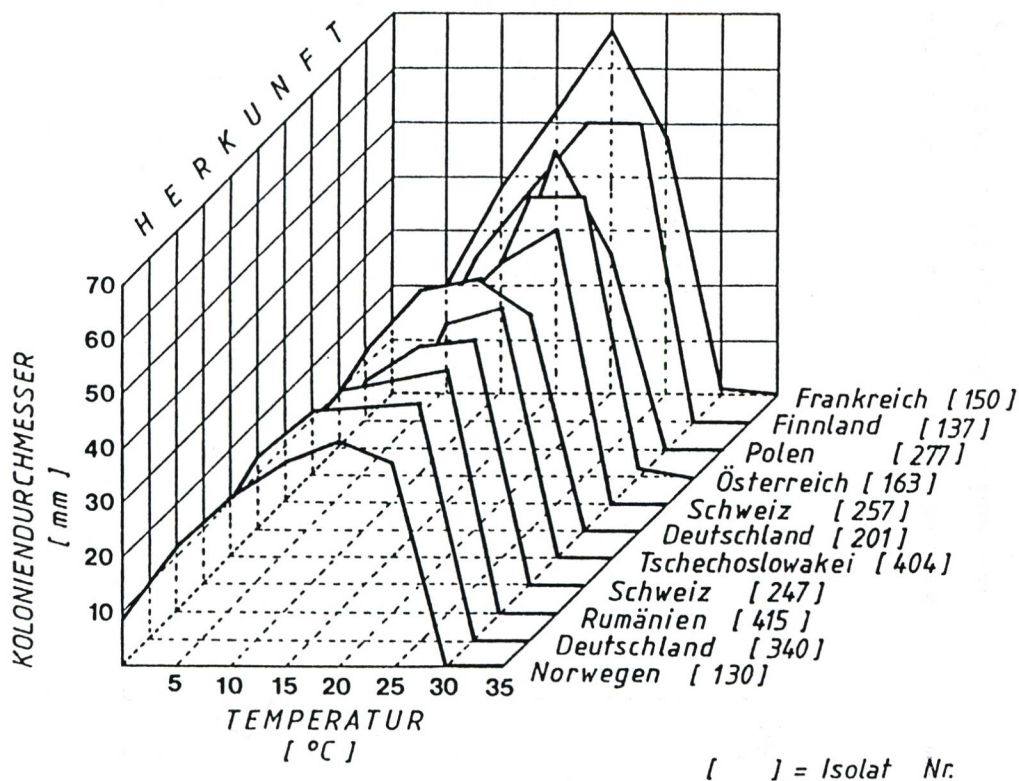


Abb. 4: Konidiomata von *L. piceae* in Kultur. A, fortgeschrittenes Stadium der Konidiomatabildung (Maßstab 100 µm). B, Konidienträger am Außengewebe des Fruchtkörpers. C, Konidienträger am Innengewebe des Fruchtkörpers. D, in Kultur gebildete Konidien. Maßstab 20 µm (B–D).

Fig. 4: Conidiomata of *L. piceae* in culture. A, advanced state of conidiomata formation (scale = 100 µm). B, conidiophores on the outer tissue of the fruiting body. C, conidiophor on the inner tissue of the fruiting body. D, conidia developed in culture. Scale = 20 µm (B–D).

Abb. 5: Wachstumskurven von 11 *L. piceae*-Isolaten aus verschiedenen Herkünften in Beziehung zur Temperatur.Fig. 5: Growth curves of 11 *L. piceae* isolates of different provenances in relation to the temperature.

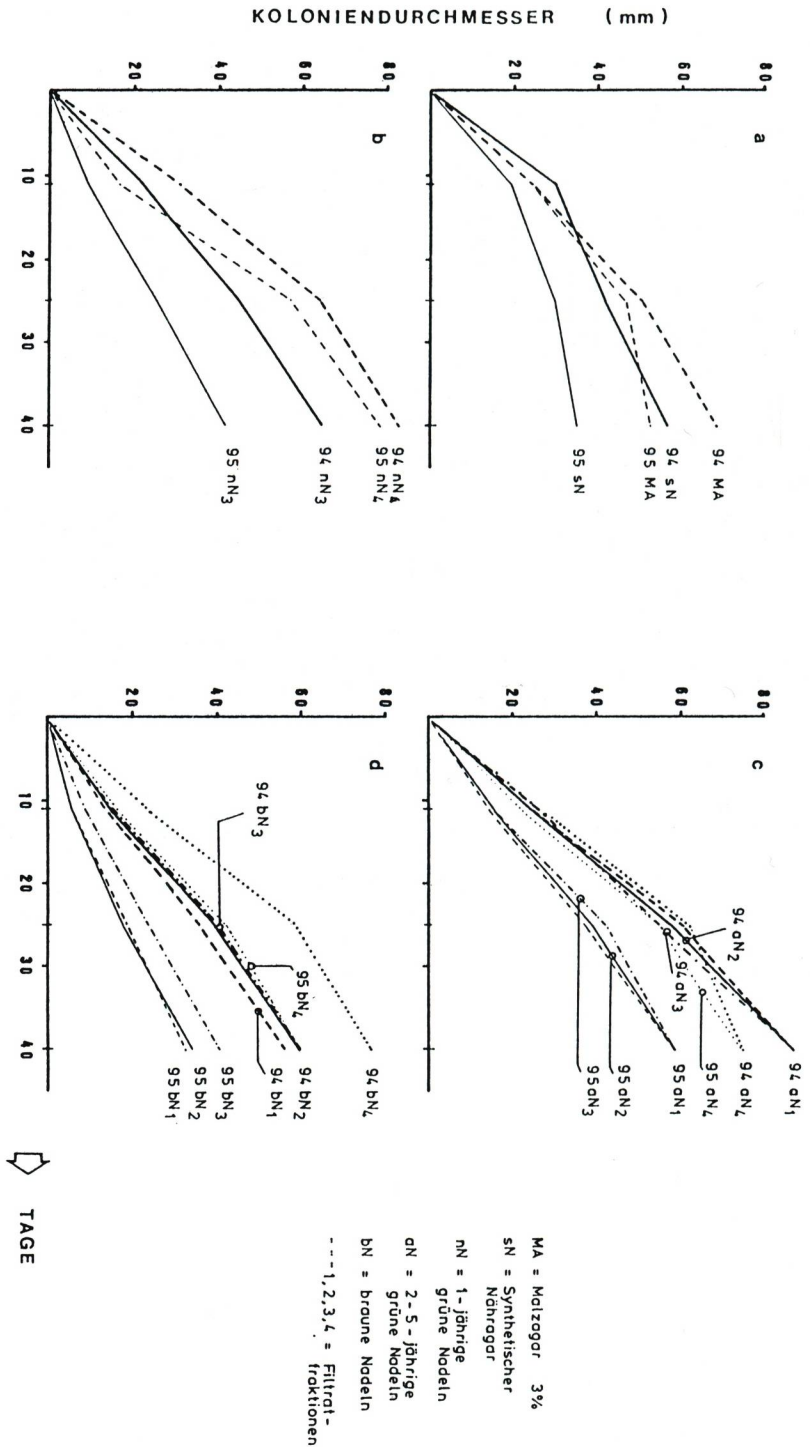


Abb. 6: Wachstum von *L. piceae*-Isolaten auf verschiedenen Fichtennadel-Nährböden und Maltzagar (3 %).

Fig. 6: Growth of *L. piceae* isolates on various spruce needle media and malt agar (3 %).



Deutsche Gesellschaft für Mykologie e.V.
German Mycological Society

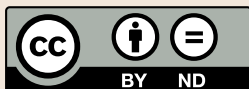
Dieses Werk stammt aus einer Publikation der DGfM.

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 Heftreihe 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. Freigegebiger lizenzierte Teile eines Werks (z.B. CC BY-SA) bleiben hiervon unberührt.

ZOBODAT - 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: 1991

Band/Volume: [57_1991](#)

Autor(en)/Author(s): Osorio M., Stephan Bruno Richard

Artikel/Article: [Variation und Verhalten des Fichtennadelpilzes *Lophodermium piceae* in Kultur 215-228](#)