

Die Wandstrukturen der Basidiosporen. IV. *Clitopilus prunulus*

Von H. Clémenton

Singer (1962) stellt die Gattung *Clitopilus* zu den Rhodophyllaceen, für die „unrunde“ Sporen, wie obtus-eckig bei *Rhodocybe*, stumpf längskantig bei *Clitopilus*, polyedrisch bei *Rhodophyllus*, sowie inamyloide, aber cyanophile Sporenwände charakteristisch sind.

Bei genauer Betrachtung der Sporen von *Clitopilus prunulus* mit dem Lichtmikroskop (LM) können eine innere und eine äußere Wandschicht, ein wie eingepfropft aussehender Apikulus und ein quer darüber liegender Apikulardeckel unterschieden werden. Das Elektronenmikroskop (EM) erlaubt festzustellen, daß das äußere Tegument eine Tunica, das innere ein Corium ist.

Anmerkung während des Druckes: Nach Abschluß des Manuskriptes fand in Lyon eine Besprechung mit Prof. Kühner und seinen Mitarbeitern statt mit dem Ziel, eine gemeinsame und recidierte Terminologie zu begründen. Die Ergebnisse werden in naher Zukunft publiziert werden. Für die vorliegende Arbeit muß „Tunica“ durch „Pseudotunica“ und „Corium“ durch „Pseudocorium“ ersetzt werden. Vgl. Besson 1972.

Im LM können Tunica und Corium am besten im optischen Querschnitt hochgestellter Sporen vom Scheitel her beobachtet werden. In dieser Stellung sieht man, daß die Tunica überall gleich dick ist und ein stumpfes Sechs- oder Siebeneck bildet. Das Corium erscheint als eingeschriebener Kreis, der das Polygon an den Flächen berührt (Fig. 1, Einsätze A, C, D).

In Melzers Jodlösung nimmt das Corium eine leuchtend rotbraune Farbe an und kann als feine, scharfe Linie gesehen werden. Es ist in den Längskanten der Sporen leistenartig verdickt, ohne jedoch diese ganz auszufüllen (Fig. 1, C). Die pseudoamyloide (= dextrinoide) Reaktion tritt nicht auf, wenn die Sporen mit Ammoniak vorbehandelt worden sind. Die geringe Dicke des Coriums und dessen erschwerte Erkennbarkeit in Seitenansicht der Spore sind wohl dafür verantwortlich, daß diese Jodreaktion bisher nicht bekannt geworden ist. Tunica, Apikulus und Apikulardeckel sind inamyloid.

Mit gleicher Klarheit kann das Corium auch mit Kresylblau dargestellt werden. Es färbt sich metachromatisch lilarot und hebt sich gut von der schwach orthochromatisch blau gefärbten Tunica ab (Fig. 1, D). Apikulus und Apikulardeckel werden durch Kresylblau nicht gefärbt.

Baumwollblau (Kotlaba und Pouzar 1964) färbt die Tunica blau (Fig. 1, A und B). Junge Sporen zeigen eine stärkere Cyanophilie als reife. Die Sporenoberfläche scheint dunkler gefärbt zu werden als die Tunica, welche im optischen Schnitt leuchtend hellblau erscheint. In Ultramikrotom-Schnitten wird jedoch die gesamte Tunica gleichmäßig durchgefärbt, so daß die dunkel erscheinende Oberfläche wohl auf

eine optische Erscheinung zurückzuführen ist. Auch der Apikulardeckel ist cyanophil, während das Apikularmark in Baumwollblau gänzlich ungefärbt bleibt. In den Präparaten erscheinen daher die Sporen unten quer abgestutzt. Die abgestutzte Fläche wird vom Apikulardeckel gebildet, während der Apikulus selbst schwer sichtbar ist (Fig. 1, B). Wie das Apikularmark bleibt auch das Corium ungefärbt.

Heiße Karminessigsäure ohne vorherige Metallbeizung färbt nur das Corium hellrot an. Wird jedoch mit Schwermetallen vorgebeizt, z. B. mit der Lösung FB (Clémenton 1968), so nimmt die Tunica eine dunkel violett-braune Farbe an, während das Corium wiederum hellrot erscheint. Die dunkle Farbe ist auf Metallkomplexe des Karmins zurückzuführen. Die notwendigen Metalle werden während der Beizung von der Tunica aufgenommen. Der dunkle Tunicafärbung liegt der gleiche Mechanismus zugrunde wie der Färbung der siderophilen Granulation der Lyophyllum-Basidie (Clémenton 1967), und ich schlage vor, solche Wände, seien es nun Sporentegumente oder andere Zellwände, ebenfalls „siderophil“ zu nennen.

Im Gegensatz dazu färbt das Karmin das Corium ohne Beizung schon, aber auch in Gegenwart von Schwermetallen, hellrot an. Hier liegt eine direkte Karminfärbung vor, und solchermaßen färbbare Strukturen sollten eigentlich „karminophil“ genannt werden. Dieser Ausdruck wurde jedoch bereits für die Lyophyllum-Granulation vorgeschlagen (Kühner 1938) und fand weite Verbreitung (Singer 1962, Moser 1967 u. a.). Deshalb schlage ich die Bezeichnung „eukarminophil“ für die hellrote, direkte Karminfärbung vor. Es ergeben sich damit folgende Möglichkeiten der Färbung mit Karminessigsäure (KES):

- a) ohne Beizung, in Abwesenheit von Schwermetallen:
 - hellrote Färbung: eukarminophil.
- b) nach Metallbeizung oder in Gegenwart von Schwermetallen:
 - b1) dunkel violett-braune Färbung: siderophil.
 - b2) hellrote Färbung: eukarminophil.

Die Tunica von *Clitopilus prunulus* ist siderophil, das Corium eukarminophil. Apikulus und Apikulardeckel werden nicht gefärbt. Junge Sporen sind stärker siderophil als reife. Es ist eine Erfahrungstatsache, daß cyanophile Strukturen manchmal auch siderophil sind, während siderophile bisher ohne Ausnahme auch cyanophil waren. Bei *Clitopilus prunulus* begegnen wir dem besonderen Fall, in einer einzigen Spore zwei verschiedene, cyanophile Strukturen zu treffen, von denen eine (die Tunica) gleichzeitig auch siderophil, die andere (der Apikulardeckel) hingegen asiderophil ist.

Rutheniumrot wird oft zum Nachweis von Mucopolysacchariden herangezogen, obwohl die Färbung nur als ein Hinweis gewertet werden darf. Häufiger wird deshalb das spezifischere Alcianblau verwendet. Die beiden Farbstoffe verhalten sich gegenüber der untersuchten Spore verschieden. Rutheniumrot färbt das Corium, Alcianblau den Apikulardeckel. In einigen Sporen wird auch der Apikulus durch Alcianblau schwach angefärbt.

Immer mehr werden Trypanblau und Direkttiefschwarz in der Mykologie verwendet. Beide färben in unserem Falle nur den Apikulus. Alle übrigen Strukturen bleiben auch nach Erhitzen der Präparate ungefärbt.

Das chemische und färberische Verhalten der vier Wandstrukturen sind in der Tabelle 1 zusammengefaßt.

Das EM bestätigt die vier lichtoptisch erkennbaren Wandteile, steigert die Genauigkeit der Beobachtung und fügt einige Ergänzungen bei.

Die Tunica ist ein 160-190 nm dickes, gleichmäßig dunkles und wenig strukturiertes Tegument, das ausnahmsweise und lokal nur 144 nm oder bis 224 nm erreichen kann. Auf einigen Aufnahmen werden grobe Ungleichmäßigkeiten sichtbar, die mit Sicherheit Schneideartefakte sind und welche die Härte der Tunica bezeugen (Fig. 1,4). In sehr dünnen Schnitten erscheint die Tunica marmoriert und verrät eine geringe, echte Heterogenität dieses Tegumentes (Fig. 7).

Die Außenseite der Tunica ist scharf begrenzt und trägt ein durchgehendes, nur ca. 20 nm dickes Sporothecium (Fig. 1-4). Wegen der Feinheit und der elektronenoptischen Ähnlichkeit mit der Tunica kann es leicht übersehen werden, und im LM ist es vollkommen unsichtbar. In günstigen Schnitten kann das Sporothecium in eine äußere, helle und in eine innere, dunkle Schicht aufgelöst werden (Fig. 1,3). Die helle Außenschicht, das Ektosporothecium, verschleimt, und der Schleim bildet dunkle Klümpchen. Daß das Sporothecium nicht unverrückbar mit der Tunica verklebt ist, geht aus der Fig. 2 hervor, wo sie teilweise abgelöst ist.

Das Corium erscheint hellgrau und strukturlos und ist 50-120 nm dick. In den Längskanten der Spore kann es auf das Dreifache verdickt sein. Damit wird die lichtoptische Beobachtung der leistenartigen Verdickung bestätigt. Die Figuren 5 und 6 stellen zwei verschiedene Querschnitte durch dieselbe Spore dar. In der Fig. 5 ist das Corium in den Ecken schwächer verdickt, als in der Fig. 6. Die Längskanten werden also nicht gleichmäßig vom Corium durchzogen, sondern dieses bildet lokale Verdickungen aus. Diese entsprechen sehr wahrscheinlich den von *B e s s o n* (1969) gefundenen Warzen, welche nach Hydrolyse an Stelle der Längskanten sichtbar werden.

Zwischen Corium und Tunica liegt ein leicht zu übersehendes, nur 10-15 nm dickes Epicorium, das in den Ecken des Querschnittes bis zu 300 nm erreichen kann und hier auch sehr auffällig wird. Es ist heterogen und schaumig-blasig gebaut.

Wie schon in der ersten Arbeit dieser Serie (*C l é m e n ç o n* 1970) festgehalten wurde, stellt das Epicorium kein selbständiges Tegument dar, sondern leitet sich vom Corium ab und ist eine Nebenschicht. In der vorliegenden Arbeit wird gezeigt, daß die Tunica ebenfalls am Aufbau des Epicoriums beteiligt ist. Das Epicorium ist die mehr oder weniger gut abgrenzbare Übergangszone zwischen Corium und Tunica, in welcher sich die beiden Tegumente auf charakteristische Weise durchdringen und so das chemisch und wohl auch mechanisch verschiedene Sekundärtegument entstehen lassen. Auf diese Verhältnisse ist es zurückzuführen, daß die Innenseite der Tunica nicht scharf begrenzt ist.

Die Tunica durchdringt das Corium mit einem System verfilzter und anastomosierender, sehr feiner Adern (Fig. 4). Stellenweise sind die Äderchen so angeordnet, daß kleine, blasenartige Räume von 10-30 nm Weite entstehen, die mit Corium ausgefüllt sind. Das Corium wird auf diese Weise durch die Tunica aufgelockert und umgestaltet. Wahrscheinlich wird durch diese Durchdringung der Zusammenhalt beider Tegumente erhöht.

Über dem Apikulus befindet sich der schon lichtoptisch feststellbare Apikulardeckel. Im EM erscheint er dunkel und heterogen, ist aber von der Tunica durch eine hellere Zone getrennt (Fig. 7). Basalwärts ist er abgeflacht und am Rand gerundet, nach oben jedoch ist er lang und fein ausgezogen und geht in das Epicorium über. Die hohe Elektronenundurchlässigkeit resultiert aus einer Verdichtung des oben beschriebenen Tunica-Netzes. Der Apikulardeckel besteht aus verdichtetem Epicorium. Über dem Deckel liegt ein dünnes, durchgehendes Corium. Die seitlichen, hellen Zonen, die den

Deckel von der Tunica trennen, sind unverdichtetes Epicorium. Dieses geht unter dem Deckel in das Apikularmark über, welches aus aufgelockertem Epicorium besteht. Es ist bemerkenswert, daß die Tunica am Hilum (= Ansatzstelle des Sterigmas am Apikulus) unterbrochen ist.

Diskussion

Corium, Epicorium und Tunica kommen in dieser Form und Reihenfolge bei *Rhodophyllus* vor (Clémenton 1970). Ihre exakte Wiederholung in der Spore von *Clitopilus prunulus* bestätigt die Einteilung dieses Pilzes bei den Rhodophyllaceen.

In dieser Arbeit wird zum erstenmal die Feinstruktur des Epicoriums beschrieben. Es handelt sich wie bei der Coriotunica um eine Vermengung von Tunica und Corium. Diese einfache Aussage muß durch eine Qualifikation des Zustandes der Vermengung präzisiert werden. Zur klaren Gegenüberstellung von Epicorium und Coriotunica seien beide kurz charakterisiert.

Epicorium: Übergangszone zwischen Corium und Tunica. Das Corium wird durch sehr feine, oft anastomosierende Adern aus Tunica-Substanz scholligblasig aufgelockert. Spielt eine nebensächliche Rolle in der Gestaltung der Sporenwand.

Coriotunica: Selbständiges, meist dickes Tegument entstanden durch feine, granuläre bis mizellare, gleichmäßige oder zonierte Dispersion der Tunicasubstanz in der Corium-Matrix. Sehr oft sind beide Primärtegumente vollständig vermischt und bilden nur eine einzige, manchmal zonierte Wandschicht. Morphogenetisch wichtige und oft die einzige bedeutende Schicht der Sporenwand. Beispiele: *Cortinarius*, *Agrocybe*.

In der alten, lichtmikroskopisch definierten Terminologie besitzen die *Clitopilus*-Sporen ein Endospor und ein Epispor. Der Vergleich mit den vorliegenden Resultaten läßt leicht erkennen, daß das Epispor der Tunica, das Endospor dem Corium mit dem Epicorium entsprechen. Nach klassischer Auffassung wird das Apikularmark vom Endospor gebildet. Es handelt sich bei *Clitopilus prunulus* um das Epicorium, das sich somit wie ein Endospor verhält. Es muß betont werden, daß diese Verhältnisse vorläufig nur für *Clitopilus prunulus* gelten dürfen.

Methodisches

Untersuchter Pilz: *Clitopilus prunulus* (Scop. ex Fr.) Kummer, Kollektion Clémenton 71/45, aufbewahrt in der Sammlung des Autors (LAU).

Präparation: Sporenpulver wurde über Nacht in feuchter Kammer aus frischen Hüten gesammelt und noch feucht mit Lithiumpermanganat fixiert. Nach Aceton-Entwässerung wurde in Kunstharz (Spuer 1969) eingebettet. Ultramikrotom-Schnitte wurden für das EM mit Uranylacetat und darauf folgend mit Bleicitrat kontrastiert. Etwas dickere Ultramikrotom-Schnitte wurden für das LM auf Glasobjektträger aufgezogen und mit den üblichen Farblösungen und Reagentien wie normale Handschnitte durch frische Pilze behandelt.

Zur Erkennbarkeit feinsten Strukturen mit dem LM: Wiederholt bin ich auf Unglauben gestoßen, wenn ich berichtete, Strukturen von nur 0,05–0,1 μ Dicke sehen zu können. Die Zweifler begründen ihre Skepsis damit, daß das Auflösungsvermögen des LM bestenfalls $\frac{\lambda}{2 \text{ num. Ap.}} = \frac{0,55 \mu\text{m}}{2,60} = 0,21 \mu\text{m} = 210 \text{ nm}$ sei, und daß kleinere Strukturen nicht mehr erkennbar seien. Diese Argumentation ist falsch, denn Auflösungsvermögen und Erkennbarkeit sind zwei verschiedene Sachen. Für die Erkennbarkeit eines kleinen, schwarzen Scheibchens vom Radius r im Hellfeld gilt folgende Beziehung:

$$r = \frac{0,08 \cdot \lambda}{2 \text{ num. Ap.}} = \frac{0,08 \cdot 0,55 \mu\text{m}}{2,60} = 0,016 \mu\text{m} = 16 \text{ nm}$$

Für dunkle Striche im Hellfeld ist die Erkennbarkeit sogar noch besser, und die Breite b des gerade noch sichtbaren Striches ist

$$b = \frac{0,01 \cdot \lambda}{2 \text{ num. Ap.}} = \frac{0,01 \cdot 0,55 \mu\text{m}}{2,60} = 0,002 \mu\text{m} = 2 \text{ nm}$$

Damit ist erklärt, weshalb Tegumente, deren Dicke weit unter dem Auflösungsvermögen des LM liegen, dennoch klar gesehen werden können. Auflösungsvermögen und Erkennbarkeits-Grenzen im LM werden auf verständliche Weise von Françon (1967) diskutiert.

Literatur

- BESSON, M. (1969) – Structure de la paroi sporique des *Rhodocybe*, *Rhodotus* et *Clitopilus* (Agaricales). C. R. Acad. Sci. Paris **269**, 142–145.
- BESSON, M. (1972) – Contribution à la connaissance de l'infrastructure de la paroi sporique des Hyménomycètes. Dissertation, Univ. Cl. Bernard, Lyon.
- CLÉMENÇON, H. (1967) – Beiträge zur Kenntnis der Gattungen *Lyophyllum* und *Calocybe*. II. Cytochemie und Feinstruktur der Basidie von *Lyophyllum urbanense*. Nova Hedwigia **14**, 127–142.
- CLÉMENÇON, H. (1968) – Bemerkungen zum Nachweis der siderophilen Granulation der *Lyophyllum*-Basidie, Schweiz. Z. Pilzk. **46**, 55–59.
- CLÉMENÇON, H. (1970) – Bau der Wände der Basidiosporen und ein Vorschlag zur Benennung ihrer Schichten. Z. f. Pilzk. **36**, 113–133.
- FRANÇON, M. (1967) – Einführung in die neueren Methoden der Lichtmikroskopie. Verlag G. Braun, Karlsruhe.
- KOTLABA F., and Z. POUZAR (1964) – Preliminary results on the staining of spores and other structures of Homobasidiomycetes in cotton blue and its importance for taxonomy. Feddes Repert. Spec. Nov. Regni Veg. **69**, 131–142.
- KÜHNER, R. (1938) – Utilisation du carmin acétique dans la classification des Agarics leucosporés. Bull. Soc. Linn. Lyon **7**, 204–212.
- MOSER, M. (1967) – Die Röhrlinge und Blätterpilze (Agaricales). Band II b/2 in H. Gams, Kleine Kryptogamenflora. Fischer Verlag, Stuttgart.
- SINGER, R. (1962) – The Agaricales in Modern Taxonomy. 2nd ed. Cramer, Weinheim.
- SPURR, A. R. (1969) – A Low-Viscosity Epoxy Resin Embedding Medium for Electron Microscopy. J. Ultrastructure Res. **26**, 31–43.

Verdankung

Mit Unterstützung des Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung, Nr. 3.517.71.

Tabelle 1: Chemisches und färberisches Verhalten der Wandstrukturen.

	TUNICA	CORIUM	APIKULUS	APIKULARDECKEL
Melzer	inamyloid	PSEUDO-AMYLOID (= DEXTRINOID)	inamyloid	inamyloid
Kresylblau	SCHWACH ORTHO- CHROMATISCH	METACHRO- MATISCH	ufb	ufb
Baumwollblau	CYANOPHIL	ufb	ufb	CYANOPHIL
Karminessigsäure	SIDEROPHIL	EUKARMINOPHIL	ufb	ufb
Rutheniumrot	ufb	RUTHENIOPHIL	ufb	ufb
Alcianblau	ufb	ufb	ufb oder schwach blau	BLAU
Trypanblau	ufb	ufb	BLAU	ufb
Direkttiefschwarz	ufb	ufb	HELLGRAU	ufb

ufb = ungefärbt

Abstract

The wall structures of basidiospores. IV. *Clitopilus prunulus*.

The spore wall of *Clitopilus prunulus* (Scop. ex Fr.) Kummer is composed of an outer, inamyloid, cyanophilic, siderophilic and weakly orthochromatic pseudotunica and an inner, pseudoamyloid (= dextrinoid), metachromatic, eucarminophilic, rutheniophilic but asiderophilic pseudocorium, and an epicorium between those two teguments. The structure and architecture of the epicorium is described. Above the apiculus there is an apicular cover composed of condensed epitunica. The apicular medulla consists of dilute epicorium. The pseudotunica is covered by a very thin sporothecium.

With iron-acetocarmin two different types of staining can be obtained: a dark violet-brown colour due to metal-complexes, and a bright red colour due to direct staining by the carmin. For the latter the term „eucarminophilic“ is proposed.

The differences between light optical resolving power and the limits of visibility in the light microscope are presented to avoid confusion.

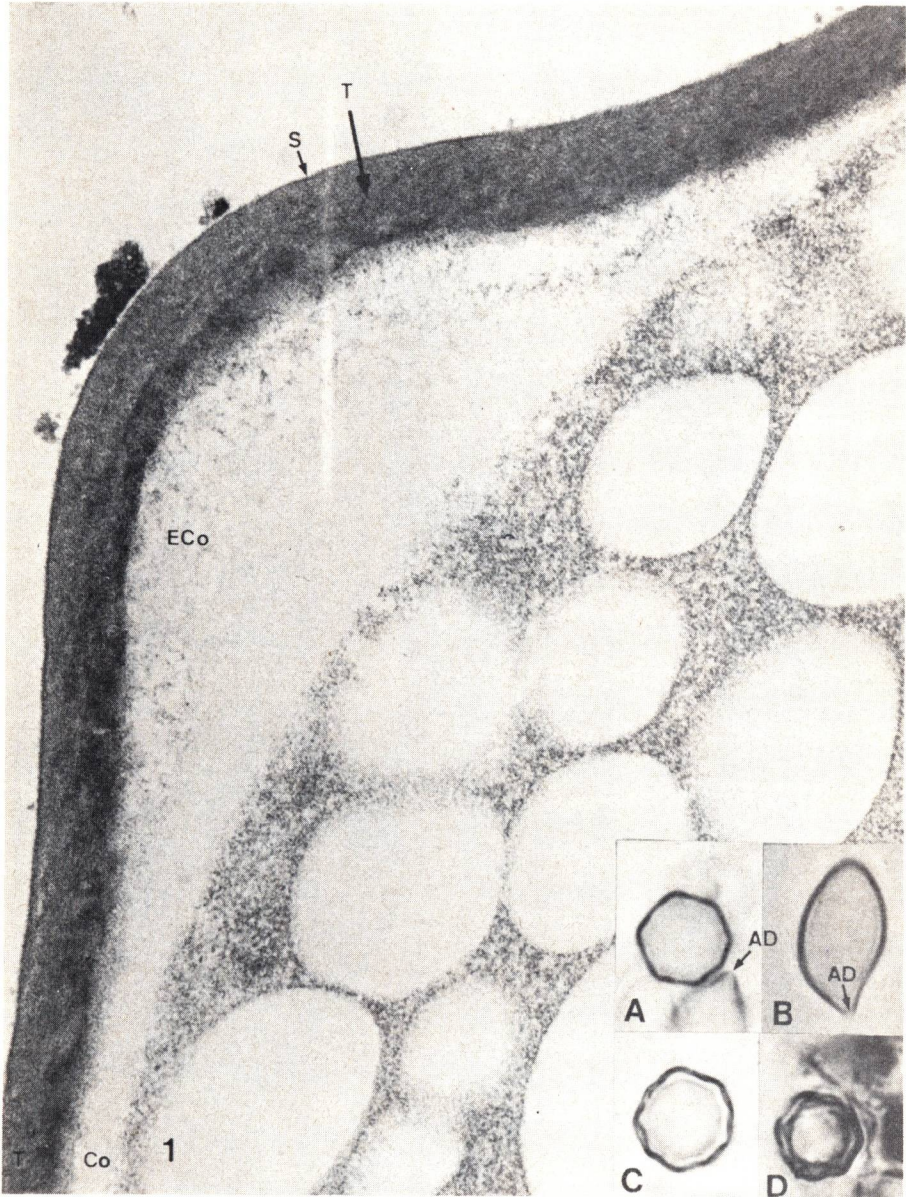


Fig. 1: Querschnitt durch eine Längskante der Spore. Co: Corium, in der Ecke verdickt; T: Tunica, links unten mit Schneide-Stauungen; S: Sporothecium, das helle Ektosporothecium wird unter dem Schleimklumpen als Zwischenraum sichtbar. 75 000:1.

Einsätze: A, B: Baumwollblau. Im optischen Querschnitt A ist das Corium als schwach kontrastierter Kreis sichtbar; in B bildet der Apikulardeckel AD die kleine, quer abgestutzte Fläche über dem schwer sichtbaren Apikulus. C: in Melzer, Corium pseudoamyloid, in den Ecken leistenartig verdickt. D: in Kresylblau, Corium metachromatisch, mit Grünfilter photographiert. A–D 2000:1, Lichtmikroskop.



Fig. 2: Querschnitt durch eine Längskante, Corium in der Ecke kaum verdickt, Epicorium deutlich schaumig, Sporothecium z. T. abgelöst. 75 000:1.

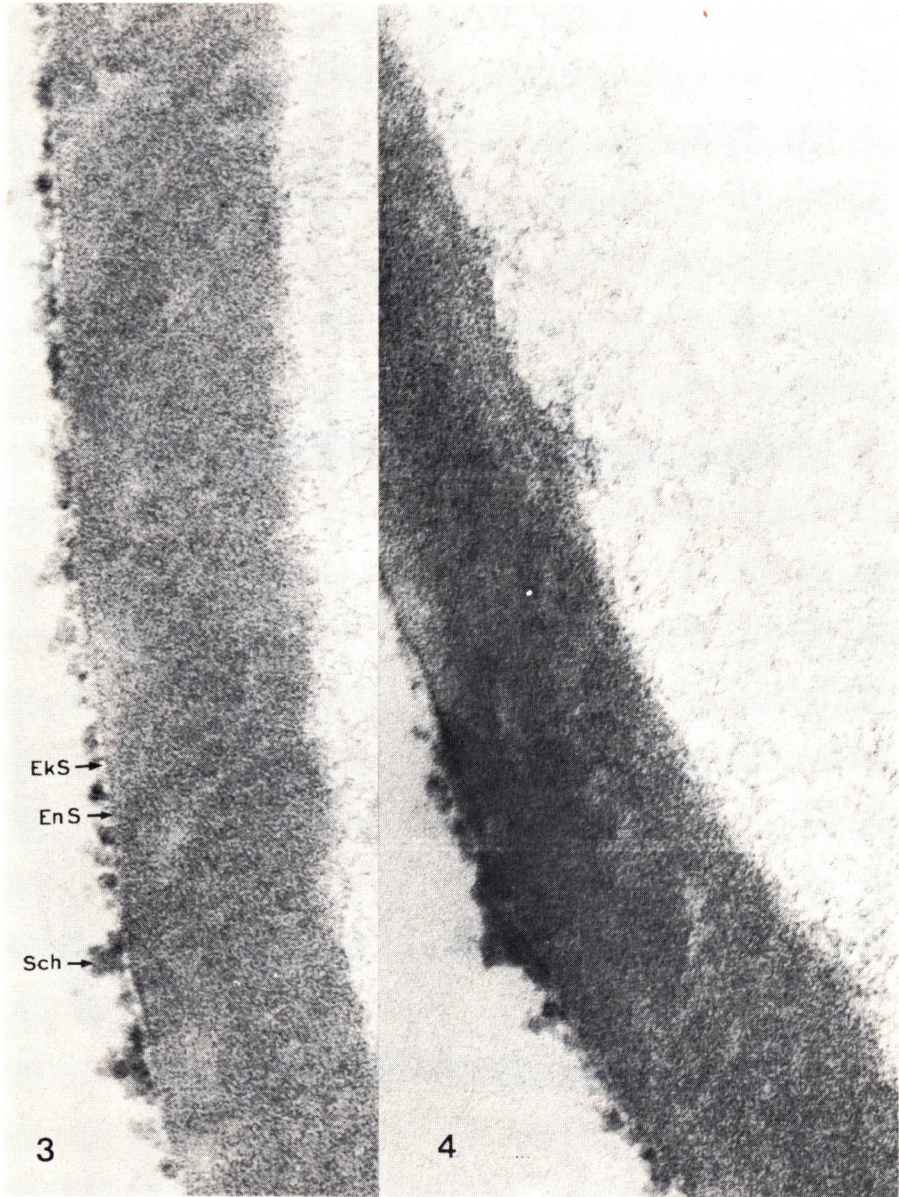


Fig. 3: Sporothecium mit Schleimklümpchen Sch, Ektosporothecium EkS und Endosporothecium EnS über der Tunica. Rechts Epicorium. 150 000:1.

Fig. 4: Kontinuität der Tunica mit den dunklen Adern des Epicoriums. Schräger Längsschnitt durch eine Längskante. 150 000:1.

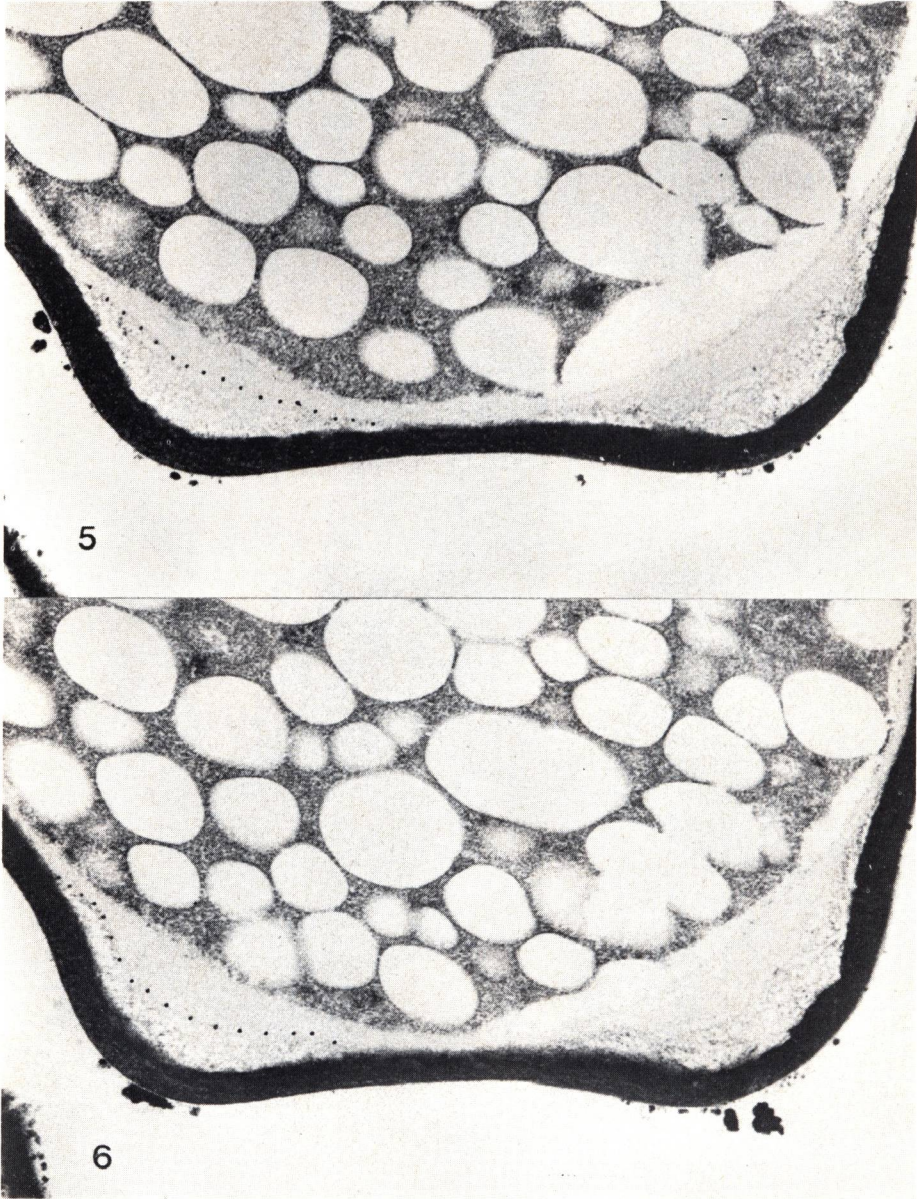


Fig. 5 und 6: Zwei verschiedene Querschnitte durch dieselbe Spore, die gleichen Längskanten zeigend. In Fig. 5 ist das Corium wesentlich weniger verdickt, als in der Fig. 6. Links die äußere Grenze des Coriums punktiert eingezeichnet. 30 000:1.

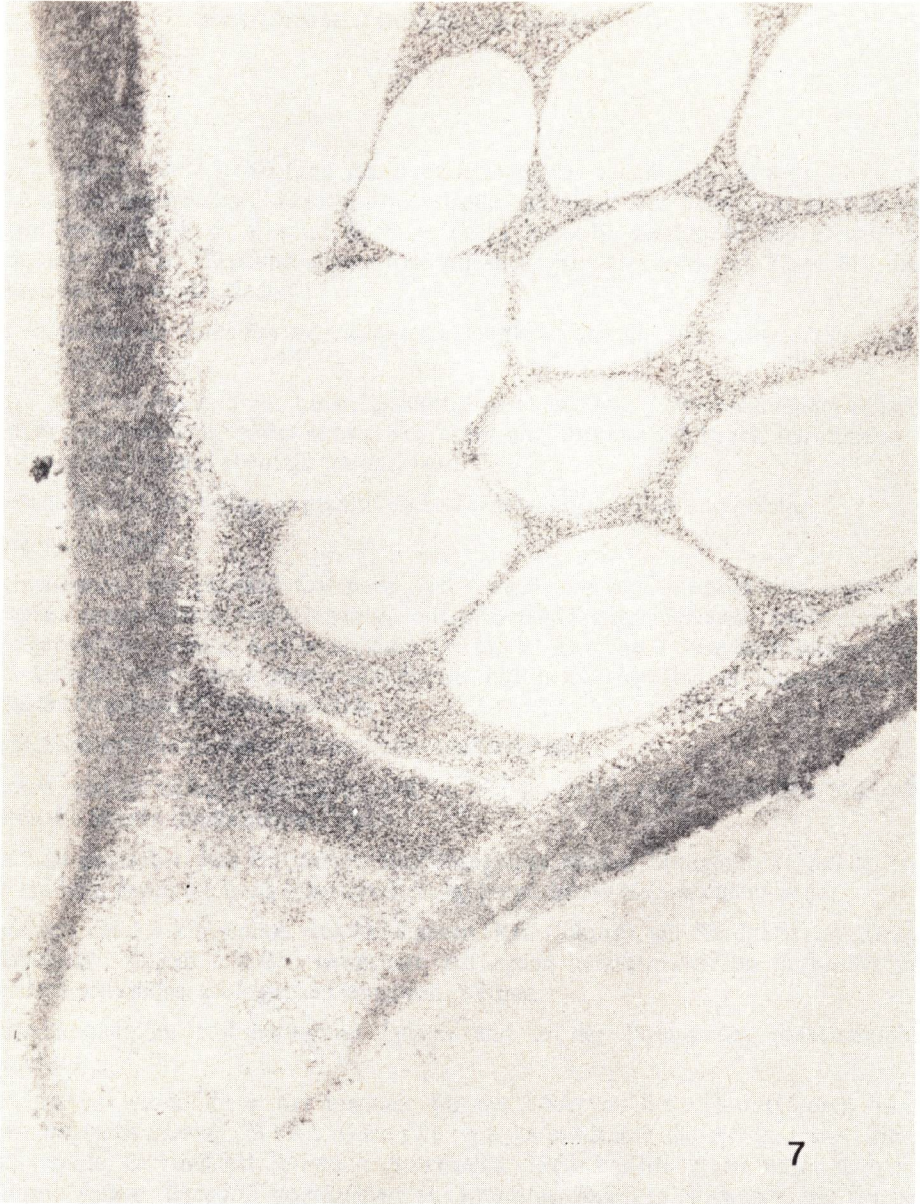


Fig. 7: Medianer Längsschnitt durch den Apikulus mit dem Apikulardeckel, darüber das Corium, darunter das Apikularmark. Hilum offen. 75 000:1.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Zeitschrift für Pilzkunde](#)

Jahr/Year: 1973

Band/Volume: [39_1973](#)

Autor(en)/Author(s): Clemencon Heinz

Artikel/Article: [Die Wandstrukturen der Basidiosporen. IV. Clitopilus prunulus 245-256](#)