

Aus dem Forstbotanischen Institut, dem Institut für Holzforschung u. Holztechnik, Universität München, und dem Institut für Holzbiologie und Holzschutz, Bundesforschungsanstalt für Forst- und Holzwirtschaft, Reinbek

Über die mikromorphologischen Veränderungen der Zellwandstrukturen von Buchen- und Fichtenholz beim Abbau durch *Polyporus versicolor* (L.) Fr.

Von

ROSWITHA SCHMID und WALTER LIESE

Mit 13 Textabbildungen

(Eingegangen am 2. November 1963)

Der Abbau des Holzes durch Pilze wurde in den letzten Jahren verstärkt bearbeitet. Neben biochemischen Fragestellungen ist die Auswirkung eines Pilzbefalls auf die Zell- und Gewebestrukturen von besonderem Interesse. Seit einigen Jahren untersuchen wir elektronenmikroskopisch die morphologischen Veränderungen verholzter Zellwände, die bei einem Befall durch verschiedene holzerstörende Pilze entstehen. Einige Ergebnisse dieser Arbeiten wurden bereits veröffentlicht (LIESE u. SCHMID 1961, 1962 a, b; LIESE 1963).

Im folgenden soll über den Abbau von Buchen- und Fichtenholz durch den Weißfäuleerreger *Polyporus versicolor* (L.) Fr., den Schmetterlingsporling, berichtet werden. Dieser Basidiomycet lebt saprophytisch im Laubholz und ist durch sein häufiges Vorkommen und seine Zerstörungsintensität ein wirtschaftlich bedeutsamer Schadenserreger. Es liegen daher etliche Arbeiten vor, die sich mit seinem Wachstum im Holz, den biochemischen Vorgängen beim Abbau der Zellwände sowie den Veränderungen der Holzeigenschaften befassen (BAYLISS 1908; HUBERT 1924; SCHEFFER 1936; MEIER 1955; LYR 1961; COWLING 1961).

Material und Methode

Die Untersuchungen erfolgten an Holzproben von *Fagus sylvatica* L. und *Picea abies* (L.) Karst., die künstlich mit *Polyporus versicolor* Fr. infiziert worden waren. Klötzchen von 20 × 10 × 5 mm Größe wurden bei 105°C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet, mit Aqua dest. getränkt und in breite Reagensgläser eingebaut, in denen der Pilz auf 5%igem Malzagar wuchs. Um den fortschreitenden Abbau des Holzes zu erfassen, wurden bis zu einer Befallszeit von 7 Monaten wöchentlich einige Proben entnommen und nach Darrtrocknung gewogen.

Der Gewichtsverlust betrug beim Buchenholz nach einer Woche 1,5% und nach 28 Wochen 87% des Ausgangsgewichtes. Demgegenüber zeigten die Fichtenholzproben allgemein nur eine geringe Gewichtsabnahme, die auch nach 7 monatigem Befall kaum 5% erreichte.

Die Präparationstechnik für die elektronenmikroskopischen Beobachtungen entsprach im wesentlichen den bereits bei früheren Untersuchungen angewendeten Methoden (LIESE u. SCHMID 1961). Für die fortgeschrittenen Abbaustadien wurde neben dem Polymerisationsabdruckverfahren mit Methylmethacrylat auch Polystyrol verwendet, wobei die Matrizen teils durch Aufgießen, teils als Prägeabdruck mit angelösten Folien hergestellt wurden. Um die teilweise noch anhaftenden Fasern zu entfernen, wurden die Polystyrol-Abdrücke mit 75%iger Schwefelsäure behandelt. Trotz längerer Einwirkung konnten hierdurch nicht alle Faserreste gelöst werden, da die Zellwände in diesen Befallstadien offensichtlich noch größere Mengen von Substanzen enthalten, die durch die Schwefelsäure nicht angegriffen, bzw. oxydiert werden. Die nach einem mehrmonatigen Befall stark abgebauten, faserigen Buchenholzproben wurden in Araldit eingebettet und nach Erhärten aufgeschnitten. Von der Schnittfläche wurden Tylose-Abdrücke nach dem Verfahren von POHLMANN (1959) angefertigt. Die Beschattung und Bedampfung der Matrizen erfolgte mit Platin-Iridium und Kohle. Für die Dünnschnitte wurden kleine Holzspäne mit 1%igem Uranylacetat (in 70%igem Alkohol) kontrastiert und in Butyl-:Methylmethacrylat im Mischungsverhältnis 1:4 für Diamantmesser und 2:3 oder 3:2 für Glasmesser eingebettet. Die Schnitte wurden mit dem Ultramikrotom der Fa. Leitz angefertigt. Die elektronenmikroskopischen Untersuchungen folgten mit dem AEG-Zeiss-Gerät EM 8.

Ergebnisse

Lichtmikroskopische Beobachtungen

Die Buchenholzproben waren nach zweiwöchiger Infektionsdauer vom Pilzmycel vollständig durchwachsen. Die Hyphen erscheinen farblos und haben eine unterschiedliche Stärke von 1–3 μ . Sie durchziehen bevorzugt die weitlumigen Gefäße, während die Tracheiden, Holzfasern und Markstrahlen nur mäßig befallen sind. Die radiale und tangentiale Ausbreitung findet vorwiegend durch die Tüpfel statt, die von den Hyphen ohne erkennbare Einschnürung durchwachsen werden. Bohrlöcher wurden nur vereinzelt beobachtet; sie verlaufen meist quer durch die Zellwand und haben in den frühen Stadien eine Größe von 1–2 μ , während sie später meist breiter als die Hyphen sind. Die Zellwände erscheinen zunächst unverändert. Erst nach 3–4 wöchiger Infektionsdauer wird eine Abnahme der Wandstärke erkennbar, die mit längerer Befallszeit zunimmt. Zugleich werden in den Wänden Kerben und zahnartige Vertiefungen sichtbar. In späteren Stadien entstehen größere Fehlstellen, und die Wände sind teilweise vollständig aufgelöst. Obwohl das gesamte Gewebe von Hyphen durchdrungen ist, erfolgt der Abbau nicht gleichmäßig verteilt über den Zellverband; einzelne Bezirke sind deutlich stärker angegriffen. Tracheen, Tracheiden und Fasern werden schneller abgebaut als Markstrahlen und Strangparenchym. Bereits in den frühen Befallstadien läßt sich das Vorhandensein freigelegter Cellulose durch Färbung mit Chlorzinkjod nachweisen. Hierbei wird auch deutlich, daß der enzymatische Abbau des Zellwandgefüges vom Lumen aus beginnt und zur Mittellamelle hin fortschreitet.

Das Fichtenholz wurde von *Polyporus versicolor* nur schwach befallen. Eine auf die Holzersetzung hinweisende helle Verfärbung der Proben ließ sich erst nach mehrmonatiger Infektionszeit beobachten. Das Mycel wächst vorwiegend in den Tracheiden. Die Markstrahlen sind nur mäßig von Hyphen durchzogen, wobei ihre parenchymatischen Zellen gegenüber den tracheidalen bevorzugt werden. Die Ausbreitung des Mycels erfolgt sowohl durch die Tüpfel von Tracheiden und Markstrahlen als auch mit Hilfe direkter Zellwanddurchbrüche. Die Bohrlöcher sind am Eingang oft breiter als die durchwachsende Hyphe und verengen sich trichterförmig zur Mittellamelle hin.

Längsschnitte zeigen häufig eine Schrägstreifung und feine „Äderung“ der Tracheidenwände, die mit positiver Cellulosereaktion verbunden ist. In den angeschnittenen Zellwänden sind vom Lumen ausgehende, zwickelförmige Einkerbungen und Spalten zu beobachten. Nach mehrmonatiger Befallszeit beginnen sich die Tracheiden stellenweise voneinander zu lösen. In diesen Bereichen sind sie weitgehend delignifiziert und quellen bei Zugabe von Chlorzinkjod so stark, daß sich das Zellumen schlitzartig verkleinert. An den Tüpfelhöfen wird der Abbau zuerst an dem Porusrand sichtbar, und zwar meist an zwei einander gegenüberliegenden Stellen.

Elektronenmikroskopische Beobachtungen

Abdrücke von Buchenholzproben zeigten nach einem zweiwöchigen Befall des Holzes ein dichtes Mycel auf den Zellwänden der Gefäße. Tracheiden und Holzfasern waren dagegen deutlich weniger angegriffen. Die Hyphen werden teils direkt auf der Zellwand gebildet, teils wachsen sie frei im Lumen und kommen erst beim Herstellen des Abdruckes mit der Zellwand in Kontakt. In den zur Beobachtung aufgespaltenen Zellen liegt das Mycel entweder auf der Tertiärwand oder auf der Warzenschicht. Die Wandstruktur zeichnet sich durch die jungen Hyphen hindurch mitunter deutlich ab (Abb. 1). Eine Schnallenbildung ist häufig zu beobachten (Abb. 1, 3, 9). Die Hyphen sind oft von einer Zone umgeben, in der die Zellwandtextur nicht mehr deutlich erkennbar ist. Dieser Bereich liegt in der Wand eingesenkt und weist einen scharf begrenzten Rand auf. Art und Vorkommen dieser Zonen deuten darauf hin, daß hier ein Abbau der Zellwandsubstanz durch die pilzlichen Ektoenzyme vorliegt. Ein ähnlich erscheinender, aber erhabener Saum kann die Hyphen als Folge der Trocknung umgeben (Abb. 2). Andererseits können beim Abdruck Hyphen auf der Zellwand liegen, ohne daß diese irgendwelche Veränderungen zeigt. Vielfach entstehen lytische Zonen beidseitig der Hyphen erst später. Mit fortschreitendem Befall werden die lytischen Bereiche etwas größer (Abb. 3) und infolge des vermehrten Hyphenwachstums vor allem zahlreicher. In diesem Stadium

ist die Zellwand wie von einem Kanalsystem durchzogen, aus dem die noch nicht befallenen Bezirke inselartig herausragen (Abb. 4). Der Rand

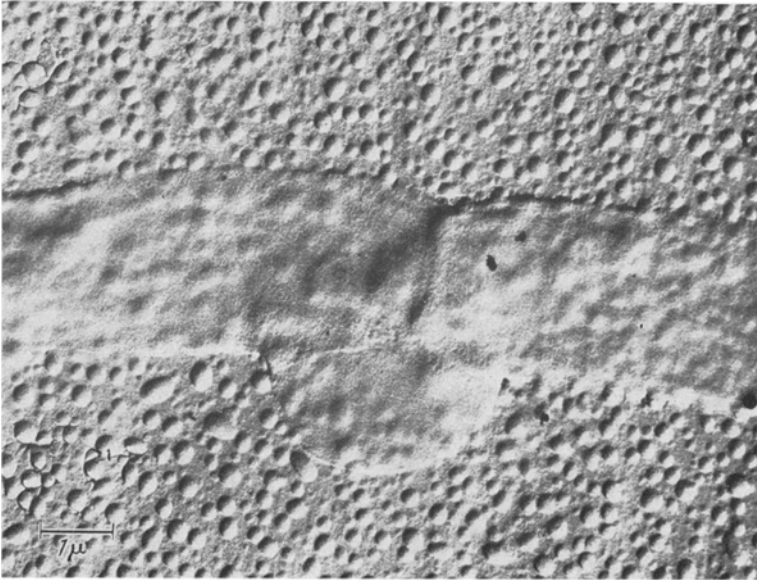


Abb. 1. Hyphe von *Polyporus versicolor* mit Schnalle auf der Warzenschicht eines Gefäßes von *Fagus silvatica*; 9000fach



Abb. 2. Hyphen mit erhabener Randzone auf der Tertiärwand eines Gefäßes; 8500fach

der Lysiszone, d. h. die Grenze zwischen abgebauter und intakt erscheinender Zellwand ist meist deutlich ausgebildet und klar begrenzt (vgl. Abb. 3). Oft verläuft diese Linie gestreckt, doch kann sie auch buchtig

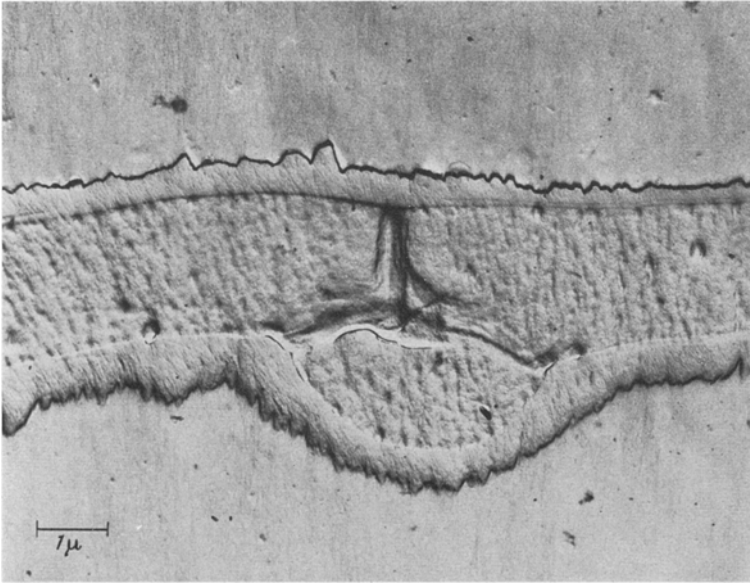


Abb. 3. Hyphe mit Schnalle auf einer Gefäßwand mit zahnförmig begrenzter Lysiszone; 9000fach



Abb. 4. Enzymatische Auflösung einer Gefäßwand durch Hyphen von *Polyporus versicolor*; die Lysiszonen sind kanalförmig eingesenkt; 2900fach

oder zahnartig geformt sein. Mit zunehmendem Alter der Hyphen werden die Zonen breiter, wobei benachbarte Bereiche miteinander verschmelzen können. Der sichtbare enzymatische Wandabbau scheint aber über eine gewisse Entfernung von den Hyphen nicht hinauszugehen. Selbst in den späten Befallstadien betrug die Lysiszone in der Regel nicht mehr als $2,5 \mu$; sie entspricht damit etwa dem Hyphendurchmesser.

Die angegriffene Zellwand erscheint teils amorph, teils sind die fibrillären Strukturen noch andeutungsweise zu sehen. Aus der Orientierung dieser Reste wird die jeweils vorliegende Zellwandschicht

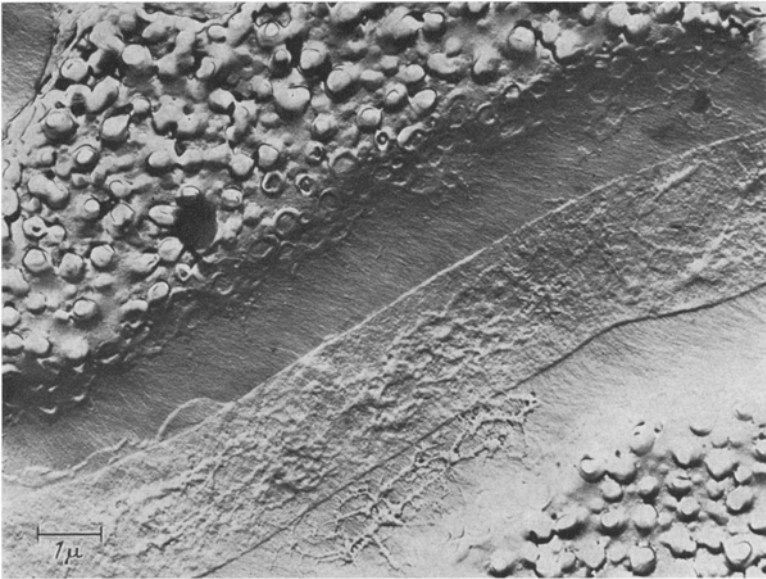


Abb. 5. Fortgeschrittener Abbau einer Gefäßwand längs einer Hyphe, mit freigelegter Tertiärwand und angelöster Warzenschicht; 8500fach

erkennbar. Während in den Anfangsstadien noch die lytisch veränderte Tertiärwand besteht, werden bei stärkerem Befall die Sekundärwandschichten sichtbar. Es ist auffallend, daß hierbei kaum Rückstände zu beobachten sind. Die Zellwandsubstanzen werden anscheinend vollständig von den Ektoenzymen abgebaut und von den Hyphen aufgenommen.

Bemerkenswert ist die Lysis der Warzenstruktur (Abb. 5). Diese Wandschicht erscheint anfangs verschleiert, geht dann in einen amorphen Zustand über und ist schließlich vollends aufgelöst, wobei die darunterliegende Tertiärwand sichtbar wird. Beim enzymatischen Abbau der einzelnen Warzen wird zuerst das eingeschlossene sphärische Körperchen, die „Warze“, und die ihr aufliegende, in das Zellumen ragende Membran angegriffen, so daß in der Schicht kreisförmige Löcher entstehen. Die

Warzenschicht wird bisweilen um die Pori von Hoftüpfeln herum abgebaut, ohne daß Pilzhypphen sichtbar sind. Es ist denkbar, daß in diesen Fällen in der benachbarten Zelle Hypphen in die Tüpfelkammer eingedrungen sind und die Ektoenzyme durch die Tüpfelwandung bzw. den Torus in die Nachbarzelle diffundieren und dann hier die Warzenschicht angreifen.

Dünnschnitte von Holzproben aus frühen Befallstadien zeigen zahlreiche Hypphen, die entsprechend ihrer Wuchsrichtung in verschiedenen Ebenen angeschnitten sind. Sie befinden sich teils im Zellumen, häufiger jedoch liegen sie der Wand an, und sind dann teilweise in diese eingesenkt.

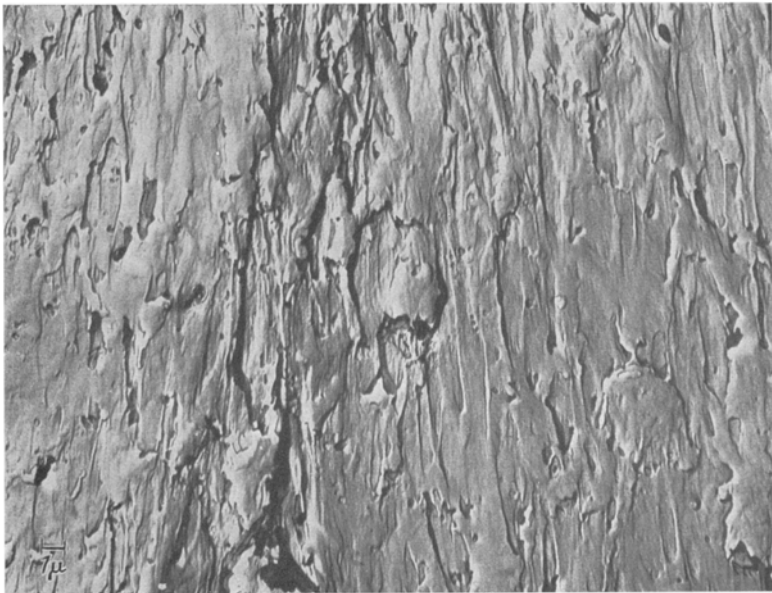


Abb. 6. Spätes Abbaustadium einer durch *Polyporus versicolor* angegriffenen Zellwand mit scholligen Strukturen; 2900fach

Die Grenzlinie zwischen abgebauter und noch erhaltener Zellwand ist deutlich ausgeprägt. Auch zeigt letztere in der Umgebung der Befallzonen keine auffallenden Veränderungen. Die Zellwand scheint hiernach annähernd gleichmäßig angegriffen zu werden, ohne daß ein selektiver Abbau der einzelnen Komponenten sichtbar wird.

In den späteren Befallstadien war das Buchenholz so stark zersetzt, daß am Abdruck stets Holzreste haften blieben. Von diesen Proben wurden daher teils Dünnschnitte untersucht, teils wurde das ganze Klötzchen mit Araldit durchtränkt. Die dann von der angeschnittenen Oberfläche erhaltenen Tyloseabdrücke geben nicht mehr allein die Strukturelemente der Zellwand wieder, sondern zugleich auch das umhüllende Araldit. Derartige Präparate spalten beim Schneiden überwiegend in der

mittleren und äußeren Sekundärwand auf. Trotz einer großen Zahl von Beobachtungen wurden in den Proben keine Tertiärwandstrukturen festgestellt. Typisch für einen solchen Zersetzungsgrad ist ein schollenförmiges Gefüge mit kleinflächigen Bruchstücken der Zellwandlamellen (Abb. 6). Fibrilläre Wandstrukturen sind kaum mehr erkennbar, was teils auf dem fortgeschrittenen Abbau, teils auf dem umhüllenden Araldit beruhen dürfte.

Dünnschnitte von stark angegriffenen Proben lassen eine weitgehende Auflösung der Zellwände erkennen. Meist sind aber noch kompakte Wandreste vorhanden, die in der Regel einseitig bis zur Mittellamelle



Abb. 7



Abb. 8

Abb. 7. Querschnitt durch stark abgebaute Zellwände mit teilweise erhaltener Mittellamelle; 6600fach

Abb. 8. Stark zersetzte Zellwand mit Kavernen; Dünnschnitt 12300fach

abgebaut sind. Anscheinend setzt die ligninreiche Mittellamelle der enzymatischen Auflösung größeren Widerstand entgegen, da sie häufig den erkennbaren Bereich der Wandlysis begrenzt (Abb. 7). In gleicher Weise sind auch die Zellwickel resistenter. Bemerkenswert ist, daß die Mittellamelle und die Zellwickel stellenweise porös erscheinen. Dies deutet auf einen lokalen Abbau des Lignins hin ohne eine vollständige Lysis der Wandsubstanzen. Weiterhin ist eine Aufspaltung der Zellwand in einzelne Lamellen zu beobachten mit dazwischenliegenden wabenförmigen Hohlräumen (Abb. 8). Hyphen sind bei diesem Befallsgrad kaum mehr zu erfassen.

Bohrlöcher wurden in allen Befallstadien relativ selten beobachtet. Meist verlaufen sie durch die Zellwand, während die Tüpfel nur vereinzelt durchwachsen sind. Die Größe der Bohrlöcher beträgt $0,3-0,5 \mu$.

Bei einem Befall von Fichtenholz durch *Polyporus versicolor* zeigt sich eine Lysiszone meist erst in einiger Entfernung von der Hyphenspitze. Der Zellwandabbau beginnt beidseitig der Hyphen in Form schmaler Streifen

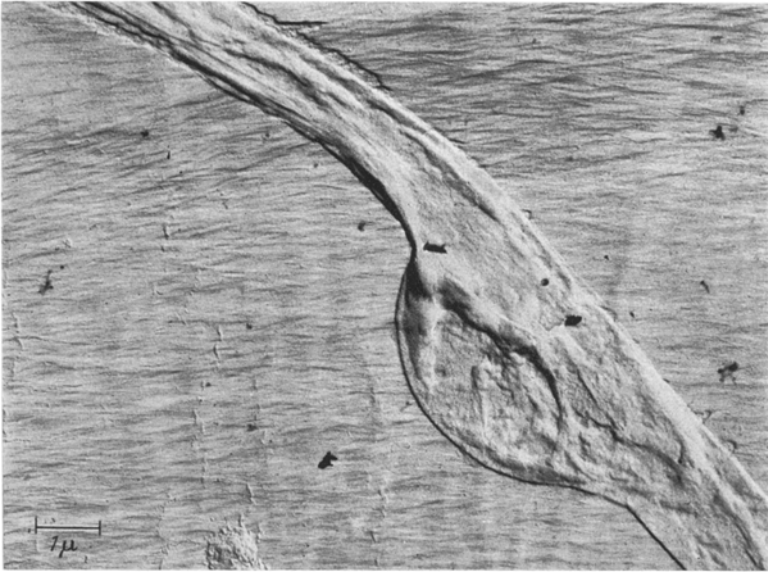


Abb. 9. Hyphe auf der Tertiärwand einer Fichtenholztracheide mit beginnender Lysis der Zellwand (links oben) 8800fach

(Abb. 9), die mit dem Alter der Hyphen breiter werden und in den untersuchten Proben eine Ausdehnung bis zu 3μ erreichten. Die Wand ist in diesem Bereich eingesenkt und erscheint angeätzt, wobei die fibrilläre Textur granulös verändert aussieht (Abb. 10). Vereinzelt ist noch die ursprüngliche Orientierung der Mikrofibrillen erkennbar. Innerhalb der enzymatischen Abbauzone können sich noch inselartige Reste der Tertiärwand befinden, die meist einen rhombischen Umriß haben. Auch der scharf ausgeprägte Rand der Lysiszone weist ein ähnliches Muster auf. Er ist zackenartig ausgebildet, wobei deutlich zwei bevorzugte Richtungen erkennbar sind. Hierdurch entstehen spitzkegelig begrenzte Abbaufiguren mit einem Öffnungswinkel zwischen $60-80^\circ$. Die Hyphen liegen meist in der Mitte der „Aktionszone“; teils sind sie als Abdruck sichtbar, teils deuten nur noch Restsubstanzen ihre frühere Lage an. Da in diesen Fällen stets ein breiter Lysisbereich ausgebildet ist, dürften an den Hyphen autolytische Prozesse abgelaufen sein. Die Lysis der Zellwand beschränkt sich bei den untersuchten Fichtenholzproben auf die

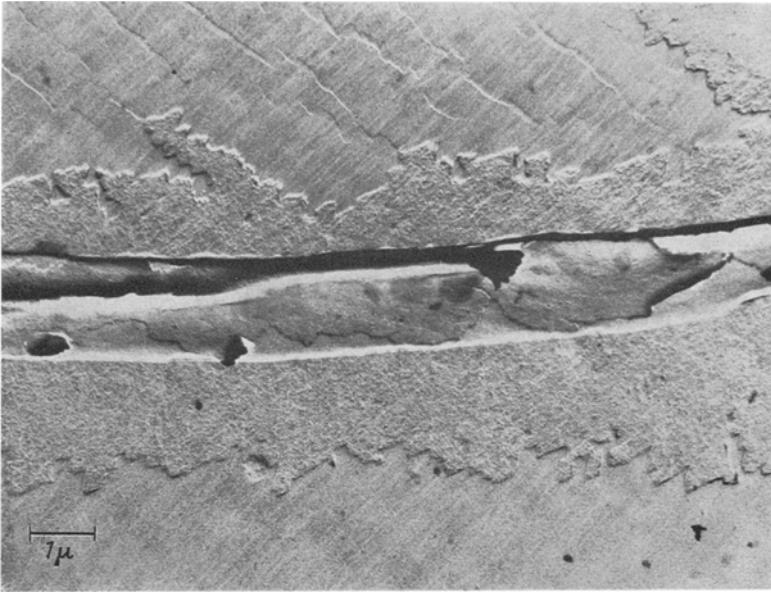


Abb.10. Enzymatischer Abbau der Tertiärwand einer Tracheide (*Picea abies*) durch *Polyporus versicolor*; 8800fach

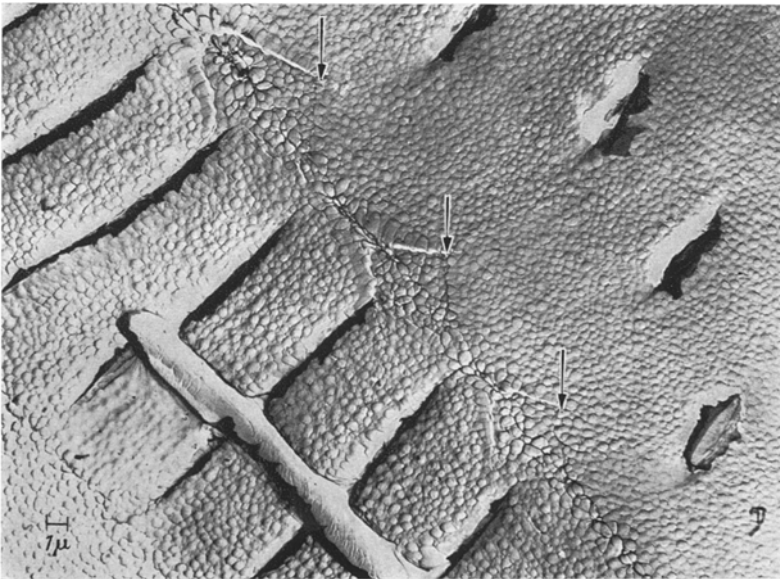


Abb.11. Gefäß von Buchenholz mit Hyphe und rhomboiden Abbaufiguren (Pfeile); 2900fach
19*

Tertiärwand; ein Übergreifen auf die Sekundärwand wurde nicht beobachtet. Bohrlöcher durch die Zellwand konnten nur selten erfaßt werden. Ihre Größe beträgt 1—2 μ .

Die Tracheidenwände werden des öfteren von gezackten Bruchlinien durchzogen, deren Richtung der vorherrschenden fibrillären Orientierung

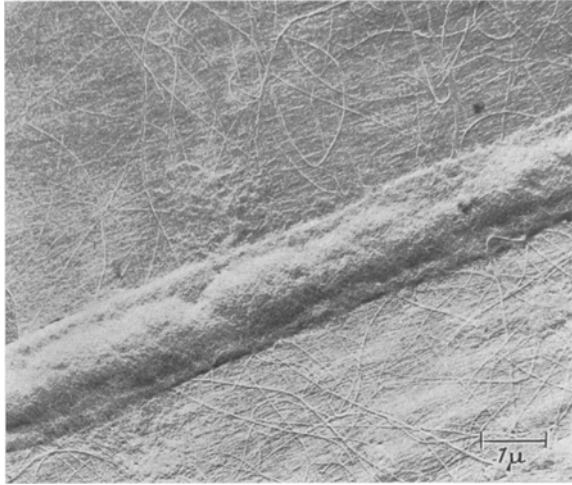


Abb.12. Mycofibrillen längs einer Hyphe von *Polyporus versicolor* auf der Zellwand einer Tracheide (*Fagus silvatica*); 8500fach

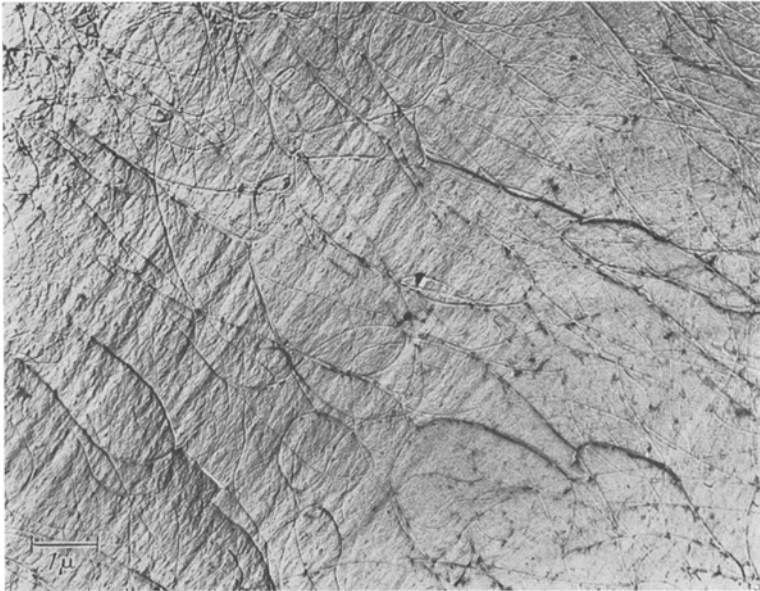


Abb.13. Mycofibrillen auf der Zellwand einer Holzfaser (*Fagus silvatica*); 8500fach

der Sekundärwand entspricht. Diese Brüche innerhalb der Zellwand sind nicht nur in der Nähe einer Lysiszone ausgebildet, sondern erscheinen auch auf Zellwänden, die keinen enzymatischen Abbau erkennen lassen.

In dem befallenen Buchen- und Fichtenholz wurden an den Zellwänden außer den Lysiszonen längs der Hyphen vereinzelt auch rhomboide Formen beobachtet, die als Abbaufiguren angesprochen werden (Abb. 11). Diese Strukturen befinden sich teils in der Nähe von Hyphen, teils aber von diesen weiter entfernt. Sie prägen sich vom Zellumen aus durch ein lokales Einsinken der Tertiärwand ab und sind auch innerhalb aufgespaltener Sekundärwände zu erkennen. Die Kavernen haben eine Länge von 4–7 μ und sind ungleich gestaltet mit einem breiteren Winkel von 60–90° und einem schmaleren von 35–75°. Untereinander sind sie geradlinig durch schmale Kanäle verbunden.

Die auf den Zellwänden wachsenden Hyphen von *Polyporus versicolor* zeichnen sich durch ein reichliches Vorkommen von Mycofibrillen (LIESE u. SCHMID 1963) aus (Abb. 12). Diese fibrillären Strukturen haben an beschatteten Abdrücken eine Breite von etwa 200–500 Å und wurden längs der Hyphen in allen Abbaustadien festgestellt. Sie gehen in der Regel seitlich von den Hyphen ab, können diese aber auch dicht überlagern. Ihre Anordnung ist unregelmäßig, ihr Verlauf gerade oder gewunden. Bisweilen sind die Mycofibrillen auch außerhalb der Lysiszone sichtbar (Abb. 13), wobei dann die Zellwand erste Anzeichen einer Zersetzung erkennen läßt.

Diskussion der Ergebnisse

Die vorstehenden Untersuchungen hatten zum Ziel, das Wachstum von *Polyporus versicolor* in Buchen- und Fichtenholz weiter aufzuklären und vor allem die mikromorphologischen Veränderungen der Zellwandstrukturen durch die pilzlichen Ektoenzyme zu erfassen. Über das Wachstum dieses Pilzes in Laubholz liegen bereits mehrere lichtoptische Untersuchungen vor (u. a. BAYLISS 1908; HUBERT 1914; SCHEFFER 1936; COWLING 1961), die durch unsere Befunde weitgehend bestätigt und teilweise ergänzt wurden.

Die in den Holzzellen wachsenden Hyphen sind unterschiedlich breit, wobei dickere und dünnere nebeneinander ausgebildet werden. Nach CARTWRIGHT u. FINDLAY (1958) kann ihre Stärke bis zu 7 μ betragen. Das Mycel breitet sich im Buchenholz bevorzugt in den weitlumigen Gefäßen aus, weniger in den Holzfasern und den Markstrahlen. COWLING (1961) hatte bei *Liquidambar styraciflua* Hyphen vor allem in den Markstrahlen festgestellt. In den ersten Befallstadien wachsen die Hyphen vorwiegend durch die Tüpfel, die hierbei durchbohrt werden (SCHEFFER 1936). Erst mit fortgeschrittenem Abbau werden kleine Bohrlöcher durch die Zellwände ausgebildet. Die Beobachtungen von BAYLISS (1908) und

HUBERT (1924) über das häufige Vorkommen von Zellwanddurchbohrungen dürften darauf beruhen, daß die Autoren stärker angegriffene Proben untersucht haben, worauf bereits SCHEFFER (1936) hinwies.

Die elektronenmikroskopischen Aufnahmen lassen erkennen, daß die Zellwände vom Lumen her enzymatisch aufgelöst werden. Da die Hyphen den Zellwandschichten aufliegen und kaum innerhalb der Wand zu beobachten sind, dürften die ausgeschiedenen Enzyme die Zellwand durchdringen und lagenweise abbauen. Auch an Dünnschnitten zeigt sich ein allmählicher Abbau der Zellwände vom Lumen her, wobei sie deutlich dünner werden. In fortgeschrittenen Stadien können die Wände zunehmend poröser und wabig aufgelockert werden. Ähnliche Befunde erhielten auch MEIER (1955) an Holz von *Betula verrucosa* und COWLING (1961) an *Liquidambar styraciflua*. Die Größe der hierdurch entstehenden Spalten bzw. Kavernen ist unterschiedlich und schwankt in dem von uns untersuchten Buchenholz zwischen 0,2 und 1,5 μ . COWLING fand für *Liquidambar* Werte von 0,1 . . . 2 μ . Aus der langgestreckten Form der Spalten kann man schließen, daß die pilzlichen Enzyme vorzugsweise in Längsrichtung entsprechend dem Verlauf der Mikrofibrillen diffundieren. Der Abbau der Zellwände wird häufig an der Mittellamelle gehemmt, da diese stark lignifizierte Schicht der enzymatischen Auflösung offenbar einen größeren Widerstand entgegengesetzt. Gleiches gilt für die Zellkanten, die auch bei stärker befallenem Holz kaum verändert erscheinen. Erst in den letzten Abbaustadien zeigt eine Porosität der Mittellamelle und der Zellzwickel einen enzymatischen Angriff an.

Vergleicht man diese morphologischen Befunde über den sukzessiven Abbau der Wandschichten mit den biochemischen Ergebnissen von COWLING (1961) über die beträchtliche Ligninabnahme bereits in den ersten Stadien, so scheint hier ein gewisser Widerspruch zu bestehen. Man muß daher annehmen, daß vom Lumen aus zuerst die cellulosereiche Sekundärwand von den Ektoenzymen angegriffen wird, daß aber zugleich Ligninasen durch die Sekundärwand diffundieren und den stark lignifizierten Bereich der Mittellamelle abzubauen vermögen.

Das von MEIER (1955) an Dünnschnitten beobachtete wabige Agglomerat im Zelllumen konnte an unserem Material nicht festgestellt werden. Möglicherweise hat das Herauslösen des Einbettungsmittels zur Entstehung dieser eigenartigen Strukturen beigetragen.

Während der enzymatische Angriff auf die Zellwand bei einer elektronenmikroskopischen Untersuchung von Dünnschnitten an Hand von Einkerbungen, einem allmählichen Schwächerwerden der Wandstärke sowie in Form einer zunehmend wabigen Auflockerung erkennbar ist, wird durch das Abdruckverfahren die Lysis der Zellwand direkt sichtbar. Die von Abdruckfolien erhaltenen Aufnahmen zeigen erstmals deutlich das Vorhandensein einer Lysiszone längs der Hyphen. Allerdings ist ein derartiger

lytischer Zellwandabbau nicht bei allen Hyphen zu beobachten. Dies beruht teilweise darauf, daß bei der Ausbildung des Mycels innerhalb der Zellumina einige Hyphen direkt auf der Zellwand wachsen, andere dagegen frei im Lumen liegen und erst beim Herstellen des Abdrucks zum Teil an die Zellwand gedrückt werden und dann ihr aufliegend erscheinen. Diese Hyphen können nicht von einem lytisch veränderten Zellwandbereich umgeben sein. Einige Beobachtungen deuten darauf hin, daß auch die direkt auf der Zellwand wachsenden Hyphen nicht immer eine Lysis verursachen müssen. Dies könnte eine funktionelle Differenzierung der Hyphen bedeuten, indem sie teils dem vegetativen Wachstum, teils durch ihre enzymatische Aktivität der Ernährung dienen. Inwieweit eine derartige physiologische Spezialisierung besteht und ob es sich gegebenenfalls hierbei um verschiedenartige Hyphen handelt oder ob Entwicklungsstadien vorliegen, bedarf noch eingehender Untersuchungen. Für mehrere Pilzarten ist bereits eine morphologische und physiologische Differenzierung der Hyphen nachgewiesen worden; besonders bekannt ist das verschiedenartige Mycel vom echten Hausschwamm [*Merulius lacrymans* (Wulf) ex Fr.] und vom Hallimasch (*Armillaria mellea* Kumm.). Das Vorkommen von besonders gestalteten Mikrohyphen, die von den Hyphen apikal oder lateral abgehen und die vorzugsweise die Zellwände zu durchbohren scheinen (LIESE u. SCHMID 1962 b), weist auf eine weitere Differenzierung hin.

Die Wirkung der Ektoenzyme wird vielfach bereits an der Hyphenspitze sichtbar; bisweilen entstehen die Lysiszonen aber erst in einiger Entfernung von ihr, und zwar als schmale Säume, die sich mit dem Alter der Hyphen vergrößern. Die laterale Diffusionsfähigkeit der Ektoenzyme scheint jedoch begrenzt zu sein, da der sichtbare Zellwandabbau auf einen Bereich von rund 3μ beidseitig der Hyphen beschränkt bleibt. Eine fortschreitende Holzzerstörung entsteht demnach weniger durch eine stete Vergrößerung der lytischen Bereiche infolge anhaltender Enzymproduktion als vielmehr durch ein fortdauerndes Mycelwachstum.

Die lytische Aktivität der Enzyme erfaßt nacheinander die Warzenschicht, die Tertiärwand und die Sekundärwandschichten, wobei kaum Restsubstanzen sichtbar sind. Die Zellwandbestandteile werden offensichtlich durch die Ektoenzyme weitgehend abgebaut und von den Hyphen aufgenommen. Dies unterstützt die Annahme COWLINGS (1961), daß die Bestandteile der Zellwand nur soweit depolymerisiert werden, wie die Abbauprodukte in den Stoffwechsel des Pilzes einbezogen werden können. Die Auflösung der Warzenschicht erscheint bemerkenswert, da diese Schicht gegenüber chemischen Reagentien besonders resistent ist und daher zu den widerstandsfähigsten pflanzlichen Membranen gerechnet werden kann (WARDROP, LIESE u. DAVIES 1958; CRONSHAW, DAVIES u. WARDROP 1961). Die Tertiärwand, besonders von Nadelholzarten, besitzt

zwar gegenüber den Enzymen der Braunfäule- und der Moderfäuleerreger eine erhöhte Widerstandsfähigkeit (MEIER 1955; LIESE 1960; 1963, LIESE u. SCHMID 1962 b), kann aber von dem Weißfäulepilz *Polyporus versicolor* abgebaut werden. ISHIKAWA, SCHUBERT u. NORD (1963) wiesen nach, daß *P. versicolor* und weitere Weißfäuleerreger isoliertes Nadelholzlignin verwerten können. Nach dem Auflösen der Tertiärwand erfaßt die Lysis beim Buchenholz auch die Lamellen der Sekundärwand, wobei mit zunehmender Abbauintensität Lysiszonen und Hyphen kanalartig in die Wand einsinken. NĚCESANÝ u. JURASEK (1956) beobachteten gleichfalls einen sukzessiven Abbau der Zellwandschichten bei einem Befall von Kiefernholz durch *Panus stipticus*.

Das Vorkommen von rhomboiden Abbaufiguren in der Zellwand in einiger Entfernung von den Hyphen deutet darauf hin, daß ein Teil der ausgeschiedenen Enzyme anscheinend ein stärkeres Diffusionsvermögen besitzt. Die Feststellung von SCHEFFER (1936), daß *P. versicolor* Enzyme produzieren kann, welche die Holzsubstanz angreifen, ohne daß diese in direktem Kontakt mit den Hyphen steht, würde hierdurch bestätigt werden. Ähnliche Abbauformen wurden auch bei Braunfäulepilzen beobachtet, die durch Cellulasen eine Hydrolyse der Polysaccharide verursachen (LIESE u. SCHMID 1962 b). Es ist möglich, daß diese gesondert vorkommenden Rhomben gleichfalls auf der Wirkung von Cellulasen beruhen.

Auffallend ist das reichliche Vorkommen von Mycofibrillen längs der Hyphen. Da diese für *P. versicolor* auch an Hyphen festgestellt wurden, die auf einer anorganischen Unterlage wuchsen (LIESE u. SCHMID 1963), muß es sich um Ausscheidungsprodukte oder extracelluläre Strukturen handeln. Ihre Entstehung und mögliche Funktion wird gegenwärtig näher untersucht.

In weiteren Arbeiten sollen die submikroskopischen Veränderungen der Zellwände durch andere Typen holzzerstörender Pilze behandelt werden. Nach Vorliegen dieser Befunde wird es möglich sein, die spezifische Wirkung der verschiedenen Ektoenzyme auf die verholzte Zellwand genauer zu erfassen um hierdurch zum weiteren Verständnis der Vorgänge beim enzymatischen Abbau pflanzlicher Zellwände beizutragen.

Zusammenfassung

1. Der Abbau von Buchen- und Fichtenholz durch den Weißfäuleerreger *Polyporus versicolor* wurde licht- und elektronenmikroskopisch untersucht.

2. Die Ausbreitung des Mycels erfolgt in den ersten Abbaustadien vorwiegend durch die Tüpfel und weniger mit Hilfe von Zellwanddurchbohrungen. Die Zellwände werden vom Lumen aus enzymatisch abgebaut, wobei längs der Hyphen lytische Zonen entstehen. Hierbei werden

alle Wandschichten lagenweise angegriffen. Die ligninreiche Mittellamelle und die Zellkanten sind widerstandsfähiger.

3. Außer den Lysiszonen wurden auf den Zellwänden auch rhomboide Abbaufiguren beobachtet, die auf einer vorausgehenden Hydrolyse der Polysaccharide beruhen dürften.

4. Stark angegriffene Zellwände erscheinen im Dünnschnitt teilweise aufgelockert mit langgestreckten Kavernen, während der Abdruck ein schollenförmiges Gefüge mit kleinflächigen Bruchstücken der einzelnen Lamellen wiedergibt.

5. Längs der Hyphen sind häufig Mycofibrillen vorhanden, die größere Zellwandbereiche bedecken können. Ihre Entstehung und mögliche Funktion werden weiter untersucht.

Summary

1. The decomposition of beech-wood and spruce-wood by the white rot fungus *Polyporus versicolor* was investigated by light and electron microscopy.

2. In early stages of decay the hyphae preferably spread by penetrating the pits; bore-holes through the cell walls were found only occasionally. The decomposition of the cell wall starts from the cell lumen. Along the hyphae on the cell wall lysis zones occur, in which the wall substances are decomposed by the ecto-enzymes of the hyphae. All cell wall layers are attacked equally; the lignin containing middle lamella and the cell corner, however, proved to be more resistant.

3. Besides the lysis zones on the cell wall, rhomboid figures were observed, which probably arise due to an earlier hydrolysis of the carbohydrates.

4. Heavily attacked cell walls show in ultrathin sections a loosened texture and large cavities and on replicas a cloddy appearance.

5. Along the hyphae frequently myco-fibrils occur, which occasionally may cover larger parts of the cell walls. Their origin and possible function is being investigated further.

Fräulein ELISABETH BALDERMANN danken wir für ihre Hilfe bei der Präparation, Frau H. BAUER für die photographischen Arbeiten.

Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

Literatur

- BAYLISS, J. S.: The biology of *Polystictus versicolor* Fries. J. Econ. Biol. **3**, 1–24 (1908).
- CARTWRIGHT, K. ST. G., and W. P. K. FINDLAY: Decay of timber and its prevention. 2. Aufl. London: H. Maj. St. Off. 1958.
- COWLING, E. B.: Comparative biochemistry of the decay of Sweet Gum sapwood by white-rot and brown-rot fungi. Techn. Bull. U. S. Dept. Agric. No. 1258, 1–79 (1961).

- CRONSHAW, J., G. W. DAVIES and A. B. WARDROP: A note on the wart structure of conifer tracheids. *Holzforsch.* **15**, 75—78 (1960).
- HUBERT, E. E.: The diagnosis of decay in wood. *J. Agric. Res.* **29**, 523—567 (1924).
- ISHIKAWA, H., W. J. SCHUBERT and F. F. NORD: Investigations on lignin and lignification XXVII. The enzymatic degradation of softwood lignin by white-rot fungi. *Arch. Biochem.* **100**, 131—139 (1963).
- LIESE, W.: Die Struktur der Tertiärwand in Tracheiden und Holzfasern. *Holz als Roh- u. Werkst.* **18**, 296—303 (1960).
- Neue Befunde über den Abbau des Holzes durch Pilze. *Holz Zentralblatt* **88**, 505—507 (1963).
- , u. R. SCHMID: Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen über das Wachstum von Bläuepilzen in Kiefern- und Fichtenholz. *Holz als Roh- u. Werkst.* **19**, 329—337 (1961).
- — Submicroscopical changes of cell wall structures by wood-destroying fungi. *Electron Microscopy*, Vol. 2, W 5, New York: Academic Press (1962a).
- — Elektronenmikroskopische Untersuchungen über den Abbau des Holzes durch Pilze. *Angew. Bot.* **36**, 291—298 (1962b).
- — Fibrilläre Strukturen an den Hyphen holzzerstörender Pilze. *Naturwissenschaften* **50**, 102—103 (1963).
- LYR, H.: Der Holzabbau durch Pilze. *Arch. Forstwes.* **10**, 615—626 (1961).
- MEIER, H.: Über den Zellwandabbau durch Holzvermorschungspilze und die submikroskopische Struktur von Fichtentracheiden und Birkenholzfasern. *Holz als Roh- u. Werkst.* **13**, 323—338 (1955).
- NECESANÝ, V., u. L. JURASEK: Veränderungen der submikroskopischen Struktur durch Weißfäule angefallenen Holzes. *Lesnícky Casopis (Bratislava), Forstl. Z.* **2**, 43—52 (1956).
- POHLMANN, G.: Der Tyloseabdruck, ein Doppelabdruckverfahren für die elektronenmikroskopische Oberflächenuntersuchung. *Radex-Rundsch. H.* **6**, 762—763 (1959).
- SCHAEFFER, T. C.: Progressive effects of *Polyporus versicolor* on the physical and chemical properties of Red Gum sapwood. *Techn. Bull. U.S. Dept. Agric. No. 527* (1936).
- WARDROP, A. B., W. LIESE and G. W. DAVIES: The nature of the wart structure in conifer tracheids. *Holzforsch.* **13**, 115—120 (1959).

Prof. Dr. W. LIESE, Bundesforschungsanstalt für Forst- und Holzwirtschaft,
Institut für Holzbiologie und Holzschutz, 2057 Reinbek Bez. Hamburg, Schloß

Dr. R. SCHMID, Forstbotanisches Institut der Universität München,
8 München 13, Amalienstr. 52