

Die Dolipore der Basidiomyceten

Ch. THIELKE

Pflanzenphysiologisches Institut (Fachbereich Biologie)
und Abteilung für Elektronenmikroskopie (Fachbereich Chemie)
der Freien Universität Berlin

Eingegangen am 24. September 1971

The Dolipore of the Basidiomycetes

Summary. Using electron microscopy, more details have been found in the fine structure of dolipores in some basidiomycetes: 1. The pore channel may be closed by 1–3 membranes or plugs. 2. The parenthesome is covered by large plugs of material rich in ribosomes which is separated from the cytoplasm by endoplasmic reticulum. It is suggested that this "outer cap" controls the intercellular transport.

Zusammenfassung. Bei den Doliporen einiger Basidiomyceten sind weitere Differenzierungen bekannt geworden. 1. Der Porenkanal kann durch 1–3 Membranen oder durch Pfropfen verschlossen werden. 2. Das Parenthesom ist von einem ribosomenreichen Material bedeckt, das durch endoplasmatisches Reticulum vom übrigen Cytoplasma abgegrenzt wird. Diese „Außenkappe“ kontrolliert vielleicht den Stofftransport.

Bei Pilzen mit septierten Mycelien sind das Vorhandensein von Poren und deren Differenzierung von taxonomischer Bedeutung. Die „Dolipore“ galt bisher als typisch für Basidiomyceten (Moore u. McLearn, 1962; Wilsenach u. Kessel, 1965; Jersild et al., 1967). Bei nicht fruktifizierenden Mycelien läßt sich daher dieses Kennzeichen zur Diagnose benutzen (Kreger van Rij, 1969; Roskin, 1970). Diese Poren finden sich sowohl bei haploiden, bei dikaryotischen und vielkernigen Mycelien als auch in Fruchtkörpern. Da ähnliche Strukturen auch bei anderen Pilzen vorkommen scheinen (Lit. s. unten), soll im folgenden über einige neue Befunde berichtet werden, die vielleicht zur Kenntnis der Funktion dieser Struktur beitragen können.

Material und Methode

Zur Untersuchung dienten hauptsächlich die Fruchtkörper von *Agaricus bisporus*, daneben wurden auch die von *Coprinus radiatus* sowie die von *Stropharia rugosa annulata* verwendet. Die Pilze wurden auf Pferdemit bzw. auf Weizenstroh herangezogen. Da sich von den an der Basis der Basidien befindlichen Doliporen besonders gut mediane Längsschnitte herstellen lassen, wurden vor allem Querschnitte durch die Lamellen ausgewertet. Außerdem wurden von den gleichen Pilzen auch vegetative Mycelien (Anzucht auf Malzagar in Petrischalen) geprüft. Die zur Fruktifikation befähigten Mycelien sind bei *Agaricus* polyenergid, die von *Coprinus* und *Stropharia* sind dikaryotisch.

Das Material wurde bei ca. 16° C fixiert in 2% KMnO_4 für 10 min sowie in 2,5% Glutaraldehyd für 30–60 min mit anschließender Nachfixierung in 1% OsO_4 für 60 min (= GaO). Die Fixantien waren in Veronalacetat- oder Phosphatpuffer (pH 7,1) gelöst, mit den gleichen Puffern wurde auch ausgewaschen. Während der Entwässerung in Aceton erfolgte eine Stückkontrastierung mit 1% Uranylacetat in 70% Aceton (2 oder 12 h). Zur Einbettung dienten Maraglas oder ERL (Serva, Heidelberg). Die Schnitte (LKB-Ultratom) wurden mit Bleicitrat kontrastiert und mit dem Siemens „Elmiskop I“ untersucht.

Ergebnisse

Bei diesen Untersuchungen stellte sich zunächst heraus, daß der Bau der Pore bei den 3 verschiedenen Pilzen im Prinzip gleich ist. Obwohl bei allen drei Arten sehr verschiedene Entwicklungsstadien fixiert wurden, zeigten sich bezüglich der Ausbildung von Doliporen im Bereich der Basidien und im Trama keine Unterschiede; das gleiche gilt für die Septen der vegetativen Mycelien. Wenn trotzdem hier etwas unterschiedliche Doliporen abgebildet werden, dann ist dabei zu beachten, daß sie alle nebeneinander im gleichen Schnitt vorkommen können, also nicht Ausdruck verschiedener Altersstadien sein müssen.

Sehr wesentliche Unterschiede finden sich aber zwischen Doliporen, die unterschiedlich fixiert wurden. Nach Einwirkung von KMnO_4 ist der Randwulst der Pore — anders als das Zellwandmaterial — stark kontrastiert (Abb. 1a). Das wird besonders deutlich beim Querschnitt durch diesen Bereich der Dolipore (Abb. 1b). Einen gleich starken Kontrast findet man in der Zelle beim Vacuoleninhalt. Die perforierte Porenkappe, das „Parenthesom“, steht in Verbindung mit wandständigem ER, wie es mehrfach beschrieben wurde (Moore u. McLearn, 1962; Wilsenach u. Kessel, 1965).

Nach Fixierung mit GaO zeigen sich etwas veränderte Strukturen. Der Inhalt des Porenwulstes ist ebenso schwach kontrastiert wie der der Vacuolen. Das Parenthesom ist zwar auch nach dieser Behandlung perforiert, steht aber meistens nicht mit wandständigem ER in Verbindung. In günstigen Anschnitten ist zu erkennen, daß es aus 3 Schichten aufgebaut ist (Abb. 2a). Parallel zum Septum finden sich anstelle des im KMnO_4 -Bild kontinuierlichen ER lediglich einige Vesikel. Der eigentliche Porus kann durch 1–3 Membranen verschlossen sein, die — wie die Schließhaut eines Hoftüpfels — in der Mitte inseriert sind oder peripher liegen (Abb. 2a, b, c). Bisher war nicht zu erkennen, daß die Porenhäute der Struktur von unit membranes entsprechen. Sie trennen manchmal Räume verschiedener optischer Dichte voneinander. In Abb. 2a werden Räume von unterschiedlicher Ribosomendichte durch die äußeren Schließhäute abgetrennt, während in Abb. 2c die mittlere Haut eine solche Begrenzung bildet. Gelegentlich ist auch anstelle der peripheren

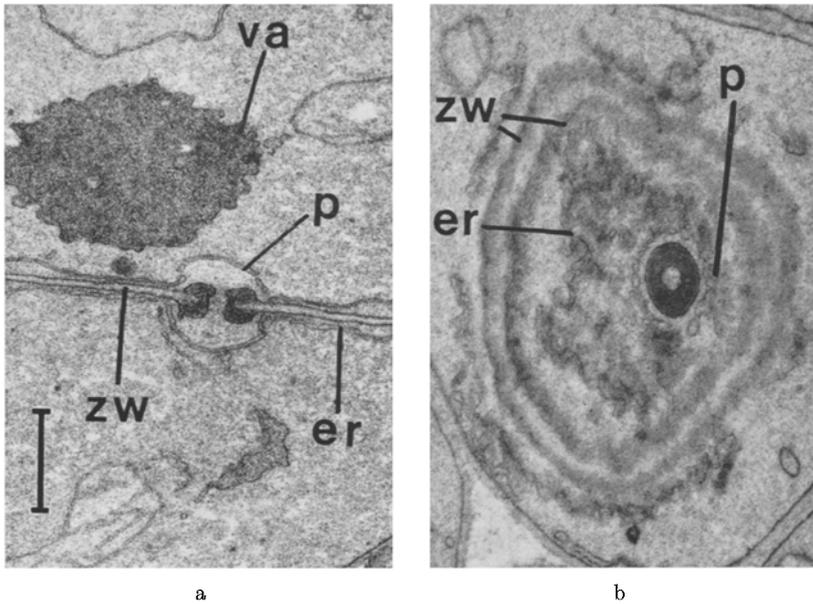


Abb. 1 a und b. Doliporen an der Basis der Basidien von *Agaricus bisporus*, KMnO_4 -Fixierung. a Dolipore im medianen Längsschnitt; b Dolipore im Querschnitt. Der Porensaum erscheint als dunkler Ring. *er* und *zw* sind durch ihren welligen Verlauf mehrfach im Schnitt getroffen. *ak* Außenkappe; *er* endoplasmatisches Reticulum; *n* Zellkern; *p* Parenthesom; *va* Vacuole; *zw* Zellwand. Maßstab = 1 μ .

Membranen ein kontrastreicher Besatz vorhanden, der — wie die Leisten bei Schließzellen — die Porenöffnung säumt (Abb. 2b). In einigen Fällen wurde auch in medianen Längsschnitten gesehen, daß ein Pfropfen aus ähnlich dichtem Material den Porenkanal völlig abschließt.

Schon bei KMnO_4 -fixiertem Material ist oft zu erkennen, daß der Raum innerhalb des Parenthesoms sich in seiner Dichte vom Außenraum unterscheidet. Nach GaO -Behandlung kann man besser erkennen, daß es sich dabei um eine weitere, bisher noch nicht beschriebene Differenzierung handelt: Dabei werden der größte Teil des Septums sowie das Parenthesom von einer Kappe mit stärker kontrastiertem Material, das meist mit Ribosomen angereichert ist, bedeckt. Diese Außenkappe ist ihrerseits von glattem, endoplasmatischem Reticulum eingeschlossen und damit vom übrigen Cytoplasma der Zelle abgegrenzt. In der Regel ist diese Kappe auf beiden Seiten der Dolipore vorhanden, oft aber in asymmetrischer Verteilung. Die größere Kappe ist meistens zum Trama hin orientiert, während die kleinere zur Basidie gehört (Abb. 2c, d).

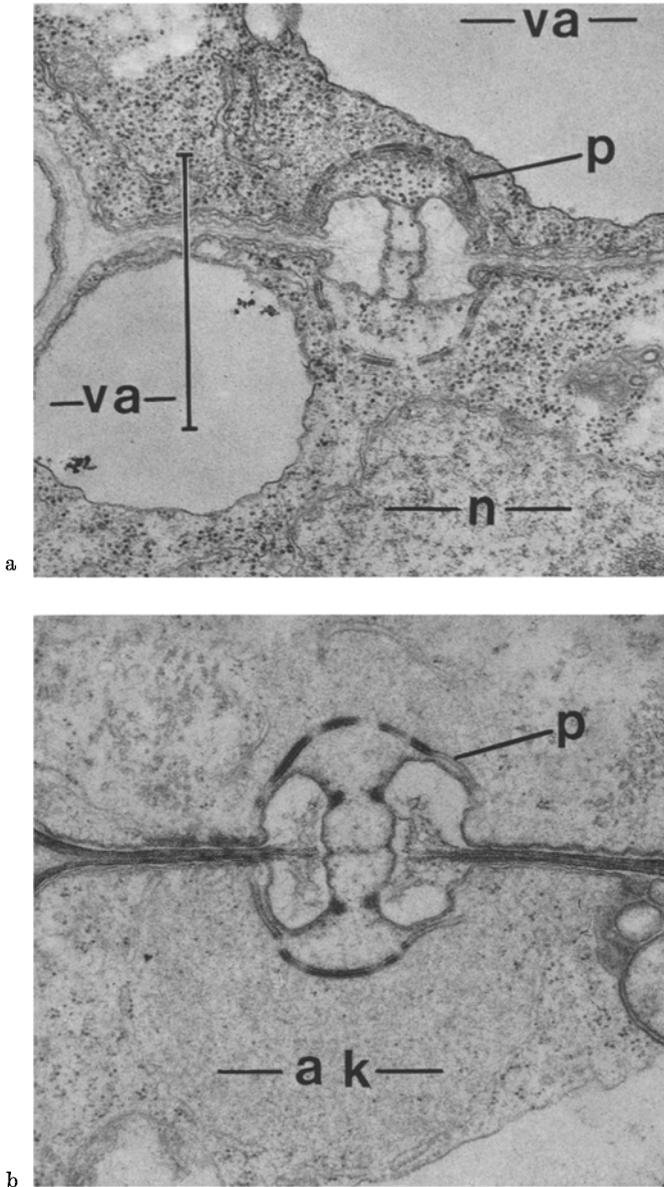


Abb. 2 a—d. Doliporen an der Basis von Basidien im medianen Längsschnitt, GaO-Fixierung. a *Stropharia rugosa annulata*, Porenkanal von 3 Membranen verschlossen; b *Agaricus bisporus*, Porenkanal von kontrastreichen Außenleisten besetzt und in der Mitte durch eine Membran verschlossen, Außenkappen vorhanden

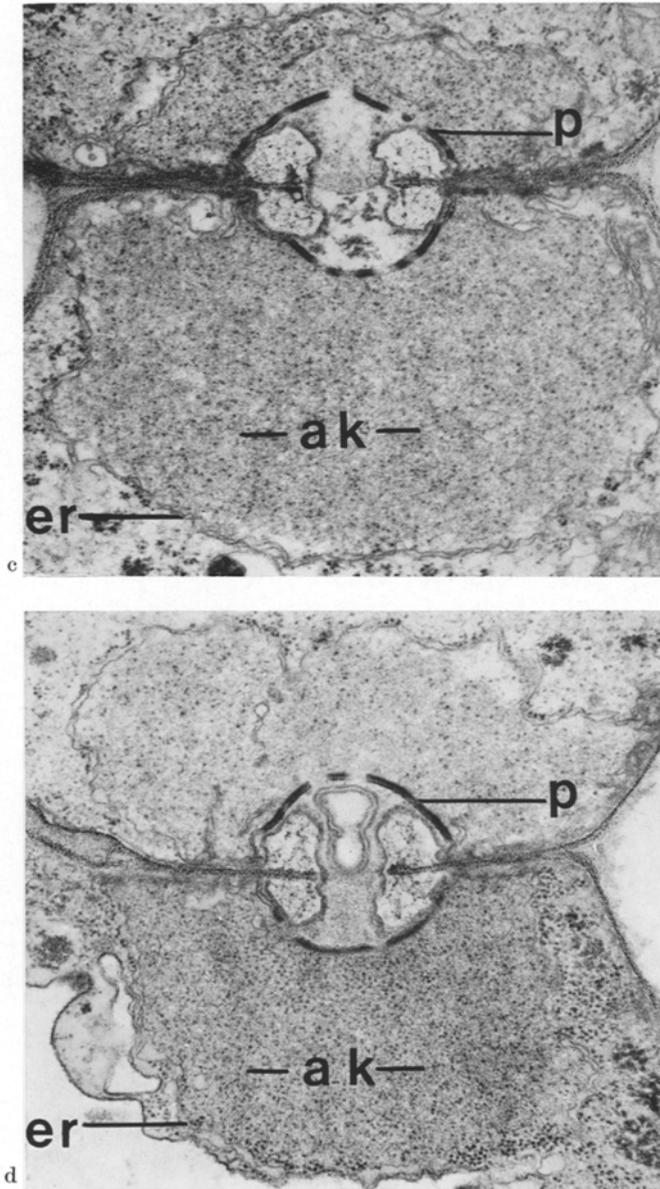


Abb.2. c *Agaricus bisporus*, in der Mitte des Kanals eine Schließhaut, Außenkappen vorhanden; d *Agaricus bisporus*, Außenkappen mit unterschiedlicher Ribosomendichte, im Kanal Membranstrukturen unbekannter Herkunft, evtl. Artefakt

Diskussion

Nach diesen Befunden scheint die Dolipore doch etwas komplizierter gebaut zu sein, als man bisher angenommen hatte. Sicher ist, daß die Verdickung des Porensaums nicht — wie bei einem Hoftüpfel — aus festem Zellwandmaterial besteht. Auf solche chemische Differenzen haben bereits Bracker u. Butler (1963) hingewiesen. Ihre Angaben darüber, daß eine nicht mehr lebende Zelle eine solche Verdickung nicht besitzt, paßt recht gut zu der Vorstellung, daß hier ein dem Vacuoleninhalt vergleichbares Material zwischen Zellwand und Plasmalemma auftritt und nach Verlust der Semipermeabilität dieser Membran verloren geht. Vielleicht sind an diesem Ort Enzyme lokalisiert, die den Stoffdurchtritt direkt regulieren oder am Auf- bzw. Abbau von Schließhäuten und Pfropfen beteiligt sind. Da neben den komplexen Doliporen sehr oft auch einfache Poren beobachtet wurden (Giesy u. Day, 1965; Jersild et al., 1967), und diese wahrscheinlich sekundär entstanden sind, ist mit dem Vorhandensein wenigstens der abbauenden Enzyme zu rechnen.

Die Schließhäute im Porenkanal sind offenbar recht fixierungsstabil. Es ist bisher nicht sicher, ob die in Abb. 2a—d dargestellten Varianten unterschiedlichen Funktionszuständen entsprechen oder artefiziell bedingt sind. Die Mittellinie des Parenthesoms wurde von Bracker u. Butler 1963 sogar nach KMnO_4 -Behandlung bei *Rhizoctonia* nachgewiesen. Sie müßte danach von chemisch anderer Beschaffenheit sein als die Schließhäute, die dabei wahrscheinlich immer zerstört werden.

Auch für die Außenkappen ist nicht sicher, ob sie permanent oder nur zeitweise vorhanden sind. Sie besitzen vielleicht eine ähnliche Funktion wie die Woroninschen Körper der Ascomyceten bzw. der Deuteromyceeten, deren Feinbau mehrfach beschrieben wurde (Brenner u. Carroll, 1968; Schrantz, 1970). Zwischen beiden Organellen bestehen allerdings strukturelle Differenzen: Woronin-Körper sind stets von einer Membran umgeben und enthalten keine Ribosomen. Auffällig ist die Tatsache, daß bei den Septen der Pilzhyphen entweder Doliporen oder Woronin-Körper auftreten, niemals sind beide nebeneinander im gleichen Pilz zu finden. Die in und an den Doliporen vorkommenden Pfropfen und eventuell auch die oben beschriebenen Leisten lassen sich dagegen mit den bei anderen Pilzen beobachteten „septal-plugs“ vergleichen (Kreger van Rij, 1969; Reichle u. Alexander, 1965; Young, 1969). Diese Strukturen sind nicht von Membranen umgeben und weisen einen ähnlichen Kontrast auf.

Wenn auch die Doliporen bisher als spezifische Differenzierung der Basidiomyceten angesehen wurden, so können doch auch bei anderen Pilzen die Septalporen mit einer Randanschwellung ausgestattet sein. Solche Strukturen sind immerhin schon bei *Linderina* (Young, 1969), *Endomyopsis* (Kreger van Rij, 1969) und bei *Galactinia* (Schrantz, 1970) nachgewiesen worden. Eine vergleichende Analyse der Porensysteme bei

septierten Hyphen scheint nach diesen Befunden notwendig zu sein. Da bei der Untersuchung jungen Materials unfertige Porenapparate gefunden werden könnten, sollte eine solche Arbeit möglichst umfangreich sein.

Bei den komplizierten Porensystemen können vermutlich mehrere Verschlusssysteme zur Kontrolle des Stofftransportes eingesetzt werden. Daß wenigstens zeitweise dort Energie mobilisiert werden kann, konnte durch den Nachweis von ATPase bestätigt werden. Die elektronenoptische Analyse zeigte außerdem, daß dieses Enzym vor allem im Kanal des Porus lokalisiert ist (Schramm, 1971). Bei diesen Untersuchungen fiel jedoch auf, daß dieser Nachweis sowohl bei Mycelien als auch bei verschiedenen Abschnitten des Fruchtkörpers stets nur bei einem Teil der Doliporen gelang. Danach wäre anzunehmen, daß benachbarte Poren sich in funktionell verschiedenen Zuständen befinden könnten. In Verbindung mit der Strukturanalyse sollten daher vermehrt histochemische Reaktionen benutzt werden, um die Fragen des Stofftransportes in Pilzzellen zu beantworten. Auch über die Polarität eines solchen Transportes ist bisher sehr wenig bekannt.

Fräulein Arnhild Essen danke ich für technische Assistenz.

Literatur

- Bracker, C. E., Butler, E. E.: The ultrastructure and development of septa in hyphae of *Rhizoctonia solani*. Mycologia (N. Y.) **55**, 35—58 (1963).
- Brenner, P. M., Carroll, G. G.: Fine structural correlates of growth in Hyphae of *Ascodesmis sphaerospora*. J. Bact. **95**, 658—671 (1968).
- Giesy, R. M., Day, P. R.: The septal pores of *Coprinus lagopus* in relation to nuclear migration. Amer. J. Bot. **52**, 287—293 (1965).
- Jersild, R., Mishkin, S., Niederpruem, D. J.: Origin and ultrastructure of complex septa in *Schizophyllum commune* Development. Arch. Mikrobiol. **57**, 20—32 (1967).
- Kreger van Rij, N. J.: Septal pores in *Endomyopsis platypodis* and *Endomyopsis monospora*. J. gen. Microbiol. **57**, 91—96 (1969).
- Moore, R. T., McLearn, J. H.: Fine structure of *Mycota*. 7. Observations on septa of *Ascomycetes* and *Basidiomycetes*. Amer. J. Bot. **49**, 86—94 (1962).
- Reichle, R. E., Alexander, J. V.: Multiperforate septations, *Woronin* bodies and septal plugs in *Fusarium*. J. Cell. Biol. **24**, 489—496 (1965).
- Roskin, P. A.: Ultrastructure of the host-parasite interaction in the *basidiolichen* *Cora pavonia*. Arch. Mikrobiol. **70**, 176—182 (1970).
- Schramm, K.-H.: Enzymmuster bei Pilzen. Dissertation Berlin 1971.
- Schrantz, J. P.: Étude cytologique en microscopie optique et électronique de quelques *Ascomycètes*. II. La paroi. Rev. Cytol. Biol. vég. **33**, 111—168 (1970).
- Wilsenach, R., Kessel, M.: On the function and structure of the septal pore of *Polyporus rugulosus*. J. gen. Microbiol. **40**, 397—400 (1965).
- Young, T. W. K.: Ultrastructure of aerial hyphae in *Linderina pennispora*. Ann. Bot. **33**, 211—216 (1969).

Prof. Dr. Ch. Thielke
Pflanzenphysiologisches Institut
der Freien Universität
D-1000 Berlin 33, Königin Luise-Str. 12—16a
Deutschland