

Ein parasitischer Phycomycet (Lagenidiales) in *Coscinodiscus*¹

GERHARD DREBES

Biologische Anstalt Helgoland, Meeresstation, Helgoland

ABSTRACT: A parasitic phycomycete (Lagenidiales) in *Coscinodiscus*. Morphology, asexual reproduction, and host specificity of a marine parasitic phycomycete in the diatom *Coscinodiscus* was studied. The observations were supported by culturing the endobiotic fungus together with one of its hosts (*Coscinodiscus granii*). The plasma of the irregular branched and nonseptate mycelium contains light refractive, irregular shaped fatty droplets (reserve material), which are characteristic for the genus *Lagenidium*. However, in regard to the endogenous formation of numerous laterally biflagellate zoospores, this fungus corresponds more to the genus *Pontisma* (Sirolopidiaceae). Sexuality remains unknown. The unnamed phycomycete is a parasite in some species of *Coscinodiscus*, especially of the large-celled species *C. granii* and *C. concinnus*.

EINLEITUNG

Über das Vorkommen eines parasitischen Phycomyceten in der marinen Kieselalge *Coscinodiscus* berichtet erstmalig PAVILLARD (1914). PARSONS (1962) erwähnt einen im Habitus recht ähnlichen Phycomyceten in *Coscinodiscus centralis*, der später von JOHNSON (1966) ausführlich beschrieben und von beiden Autoren vorläufig in die Ordnung Lagenidiales als *Lagenidium* sp. eingereiht wird. In diese Gruppe gehört auch der Pilz, den ich in den Sommer- und Herbstmonaten 1966 häufig in *Coscinodiscus concinnus* und *C. granii* als Schmarotzer angetroffen habe. Zusammen mit seinen Wirtsalgen gelingt es leicht, diesen ansehnlich großen Phycomyceten zu kultivieren, und man kann erwarten, daß er schon jetzt ein für viele Fragestellungen geeignetes Versuchsobjekt sein wird. Die vorliegende Untersuchung beschäftigt sich mit seiner Morphologie, dem Vermehrungszyklus und der Spezifität der Wirtsalgen.

MATERIAL UND METHODEN

Das Material stammt aus Netzplanktonfängen, die an allen Werktagen mit dem Forschungsboot „Ellenbogen“ in der Nähe des Nordosthafens von Helgoland ge-

¹ Erweiterte Darstellung eines Vortrages während des Arbeitssymposiums über „Niedere Pilze im Küstenbereich“ (17. bis 19. Oktober 1966) im Institut für Meeresforschung, Bremerhaven.

nommen werden. Die infizierten *Coscinodiscus*-Zellen waren mit einem Stereomikroskop bereits bei 16facher Vergrößerung zu erkennen. Mehrere befallene Zellen wurden isoliert, in sterilem Seewasser gewaschen und dann in *Coscinodiscus granii*-Kulturen übertragen. Die Wirtsalge wuchs in einer modifizierten SCHREIBER-Lösung auf der Grundlage von Nordseewasser (vgl. VON STOSCH & DREBES 1964). Nach erfolgreicher Infektion der Diatomeen-Kulturen wurden Pilzklonkulturen durch Isolation von Wirtszellen erhalten, die nur von einem einzigen Pilz befallen waren. Das rasche Wachstum des Pilzes erforderte ein regelmäßiges Überimpfen nach jeweils 4 bis 6 Tagen (meist in Petrischalen aus Jenaer Glas mit 10 ml, seltener mit 70 ml Inhalt). Da mit der Möglichkeit von Diözie gerechnet werden mußte, wurden insgesamt acht Pilzklone aus zeitlich verschiedenen Planktonfängen isoliert und dann gemeinsam in einer einzigen Kultur mit *Coscinodiscus granii* gehalten. Die Kulturen standen in einem temperaturkonstanten Raum von 15° C mit Fluoreszenzlicht von 500 bis 1000 Lux in einem Licht-Dunkelrhythmus von 14 : 10 Stunden. Für Versuche mit anderen Temperaturbereichen diente ein Lichtthermostat (Firma Voetsch).

ERGEBNISSE

Vorkommen in der Natur

Der Parasit wurde erstmalig am 22. August 1966 in einer Zelle von *Coscinodiscus granii* angetroffen. In den folgenden Tagen stieg die Anzahl infizierter Zellen, unter denen sich schließlich auch solche von *Coscinodiscus concinnus* befanden, leicht an. Das höchste Ausmaß der Pilzinfektion dürfte am 5. September 1966 erreicht worden sein. An diesem Tage wurde für *Coscinodiscus granii* eine Befallsrate von 11,4 % und für *C. concinnus* eine solche von 13,6 % festgestellt. Nur einmal wurde der Pilz noch in einer dritten *Coscinodiscus*-Art, welche in den Formenkreis von *C. apiculatus* gehört, angetroffen. Vom 16. September an war der Pilz aus dem Plankton verschwunden. Er erschien jedoch wieder vom 2. bis 10. November 1966 und vom 21. November bis 5. Dezember 1966. In den Zeiträumen seines Auftretens schwankte die Wassertemperatur zwischen 17,4 und 8,2° C. Morphologie und Vermehrungszyklus des Pilzes konnten bereits an Naturmaterial in ihren Grundzügen studiert werden. Die Beobachtungen stimmen mit den an Kulturmaterial gewonnenen überein. Abbildung 1 A zeigt den Pilz mit seiner Wirtsalge aus einem frischen Planktonfang. In Kultur infizierte Zellen von *Coscinodiscus granii* und *C. apiculatus* (Varietät) sind bei B und C dargestellt.

Morphologie und Vermehrungszyklus

Der Thallus dieses endobiotischen Pilzes ist in der Regel unregelmäßig räumlich verzweigt und unseptiert (Abb. 1 und 3 B). Der Durchmesser der Hyphen kann zwischen 6 und 36 μ schwanken, er beträgt im allgemeinen 10 bis 20 μ . Das Zytoplasma

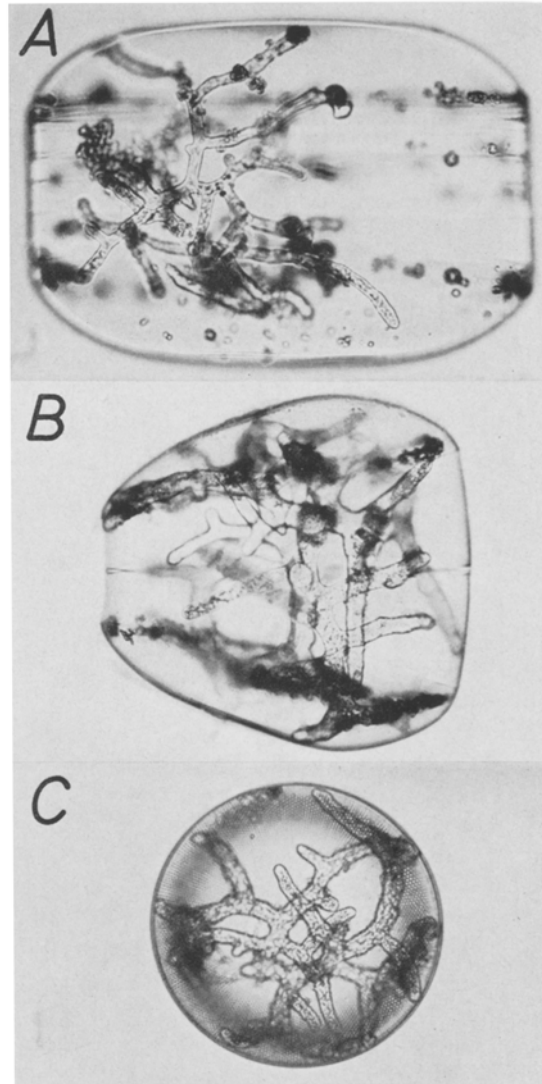


Abb. 1: *Lagenidium* (?). A Infizierte Zelle von *Coscinodiscus concinnus* in Gürtelansicht aus einem frischen Planktonfang. B Infizierte Zelle von *Coscinodiscus granii* (Gürtelansicht) in Kultur. C Desgleichen von *Coscinodiscus apiculatus* (Varietät) in Valvaransicht. Maßstab siehe Abb. 5 A

enthält stark lichtbrechende Einschlüsse. Es sind fettartige Reservestoffe, die sich mit 0,15%iger Sudan-III-Lösung intensiv anfärben. Form und Menge der Reservestoffe sind sehr uneinheitlich, meistens sind es zahlreiche kleinere, unregelmäßig geformte Tröpfchen (Abb. 2 A). Man trifft aber auch Thalli an, die völlig frei von Reservestoffen sind (Abb. 2 B).

Die Generationsdauer des Pilzes kann 2 bis 3 Tage betragen, aber auch kürzer oder länger sein. Das wird vermutlich von der Temperatur, besonders aber von der Größe der Wirtszellen abhängen. Die Generationsdauer dürfte sich verkürzen, wenn eine Wirtszelle mehrere Pilzthalli beherbergt (Abb. 3 C), was in Kultur bei der großen Anzahl der Wirtszellen in einem kleinen Flüssigkeitsvolumen nicht selten vorkommt. Sobald das Wirtsplasma aufgezehrt ist, wandelt sich der gesamte Thallus in ein einziges Zoosporangium um (Abb. 3 A und 5 A), der Pilz ist holokarp. Gleichzeitig wächst eine Hyphe zu einem Entleerungstubus aus. Seine Form hängt davon ab, wie

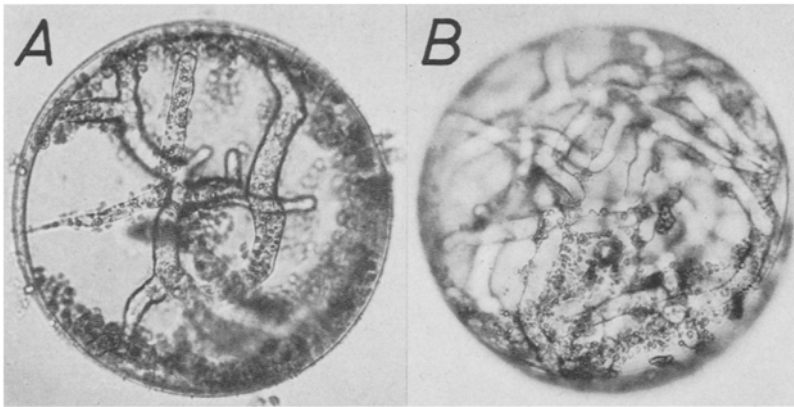


Abb. 2: *Lagenidium* (?) in *Coscinodiscus granii*-Kultur. A Protoplast mit zahlreichen Fetttropfchen. B Myzel ohne Fetttropfchen. Maßstab siehe Abb. 5 A

der Hyphe der Durchtritt durch den Kieselsäurepanzer des Wirtes gelingt (Abb. 4). Wenn die Theken des Wirtes schon auseinandergewichen sind, oder eine Hyphe sich zwischen den übereinandergreifenden Gürteln hinauszwingen kann, setzt sich die Hyphe schlauchartig fort (Abb. 4 A, B). In den meisten Fällen muß sich der Pilz den

Tabelle 1

Infektionsversuche an kultivierten Algen
(++ starke Infektion, + seltene Infektion, — keine Infektion)

Zentrische Planktondiatomeen	Infektion	Zentrische Planktondiatomeen	Infektion	Rhodophyceen	Infektion
<i>Coscinodiscus con-</i> <i>cinnus</i>	++	<i>Biddulphia sinensis</i>	—	<i>Antithamnion</i>	
<i>C. granii</i>	++	<i>Bellerochea malleus</i>	—	<i>plumula</i>	—
<i>C. apiculatus</i>	+	<i>Lithodesmium</i>		<i>Callithamnion</i>	
(Varietät)		<i>undulatum</i>	—	<i>tetragonum</i>	—
<i>C. perforatus</i>	+	<i>Chaetoceros</i>			
(Varietät)		<i>decipiens</i>	—		
<i>C. excentricus</i>	—	<i>Rhizosolenia robusta</i>	—		
		<i>R. setigera</i>	—		
		<i>Lauderia borealis</i>	—		
		<i>Stephanopyxis turris</i>	—		

Austritt der Hyphe erzwingen; sie schwillt an und drückt gegen die Gürtelwand. Dabei platzt entweder ein Gürtelband ab (Abb. 4 C), oder die beiden Gürtel weichen

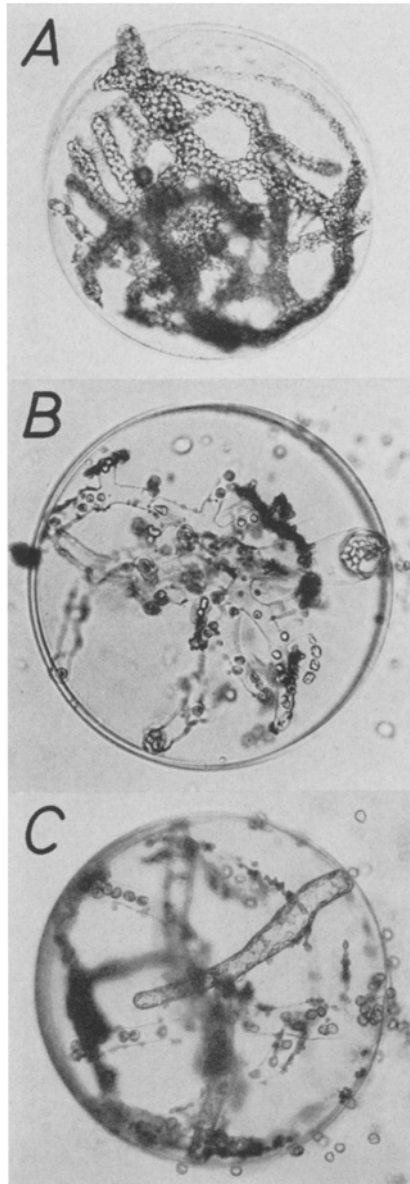


Abb. 3: *Lagenidium* (?) in *Coscinodiscus granii*-Kultur. *A* Reifer Thallus mit endogen gebildeten Zoosporen. Oben links der Entleerungstubus. *B* Nahezu entleertes Zoosporangium. Rechts der weitgeöffnete Entleerungstubus mit Zoosporen. *C* Wirtszelle mit drei Pilzthalli. Der größte und verzweigte entläßt gerade seine Zoosporen. Maßstab siehe Abb. 5 *A*

unter dem Druck der Hyphe lokal auseinander (Abb. 4 *D*). Mit der Bildung des Entleerungstubus ballt sich der Protoplast portionenweise zusammen (Abb. 4 *A* bis *D*), die Zoosporenbildung beginnt. Die Ausdifferenzierung der Zoosporen kann sehr rasch erfolgen; binnen weniger Minuten teilt sich der Protoplast je nach seiner Größe endogen

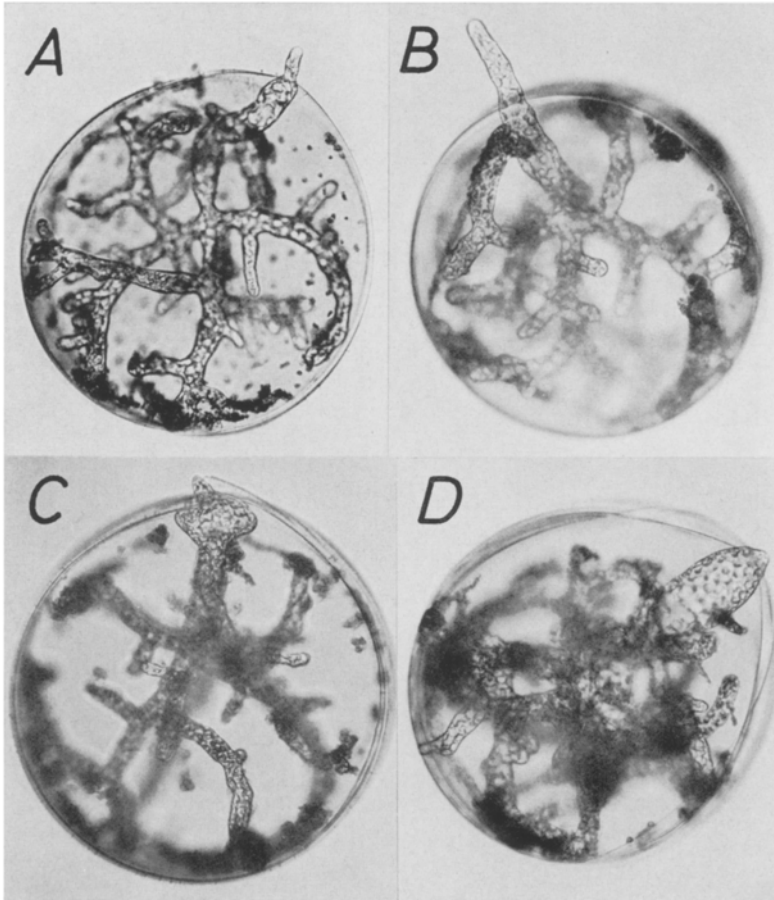
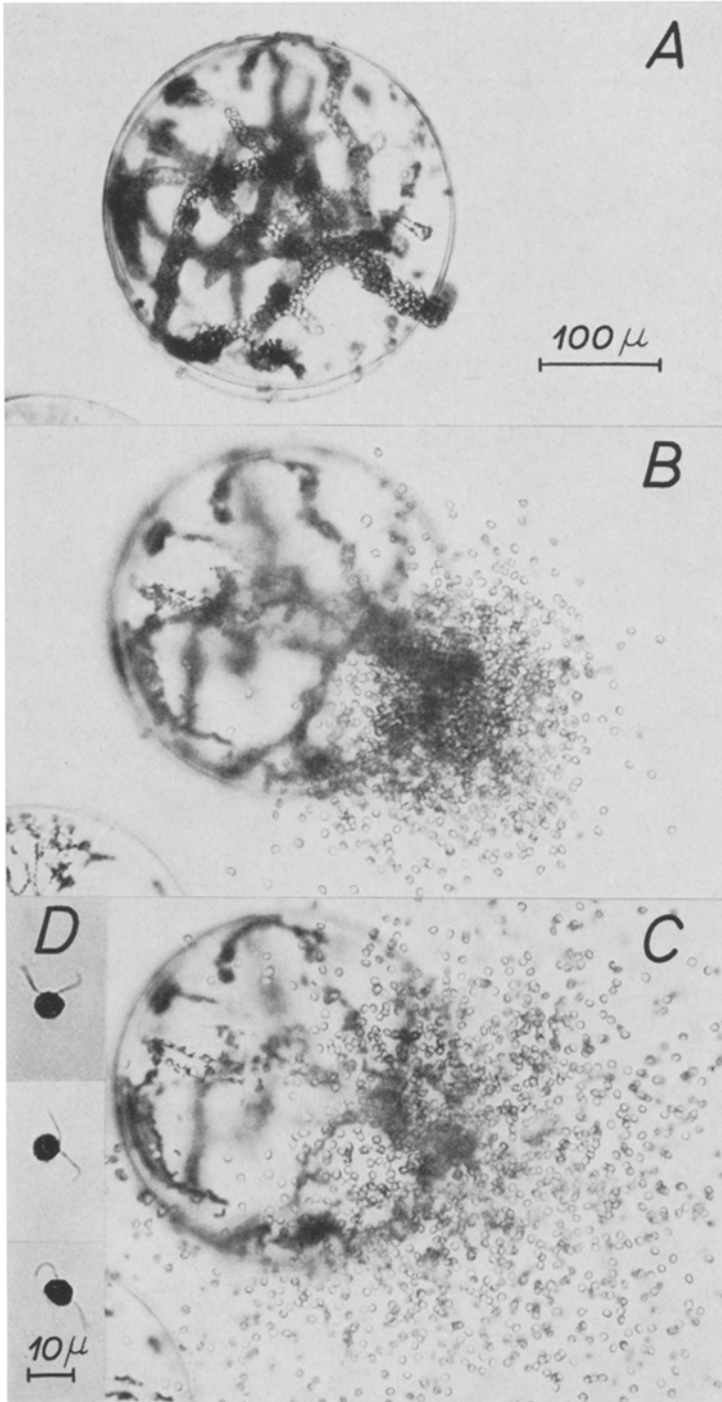


Abb. 4: *Lagenidium* (?) in *Coscinodiscus granii*-Kultur. Beginnende Fertilisierung, Zusammenballung des Plasmas und Entleerungstuben. *A, B* Durch die geöffnete Diatomeenzelle wachsen die Entleerungstuben schlauchartig aus. *C* Ein angeschwollener Entleerungstubus hat ein Gürtelband abgesprengt. *D* Ein stark verdickter Entleerungstubus hat die Gürtel der Wirtszelle lokal auseinandergedrückt. Maßstab siehe Abb. 5 *A*

in Hunderte bis Tausende begeißelter Zoosporen auf (Abb. 3 *A* und 5 *A*). Der Entleerungstubus öffnet sich an seiner Spitze (Abb. 3 *B*), und in wenigen Sekunden oder Minuten strömen die Zoosporen ins freie Medium. Abbildung 5 zeigt einen reifen Thallus und die fortschreitende Entleerung seiner Zoosporen. Die Zoosporen sind einheitlich in ihrer Form, kugelig, oval bis nierenförmig; sie messen im Leben 7,1 bis



$10 \times 5,6$ bis $7,5 \mu$. Sie haben zwei lateral inserierte Geißeln, die in fixiertem Zustand etwa von gleicher Länge sind. Die Zoosporen können unmittelbar nach ihrer Entlassung ohne Ruhepause *Coscinodiscus*-Zellen infizieren. Die Zoospore setzt sich unter Enzystierung fest und treibt einen Keimschlauch in die Wirtszelle, was in der Regel an

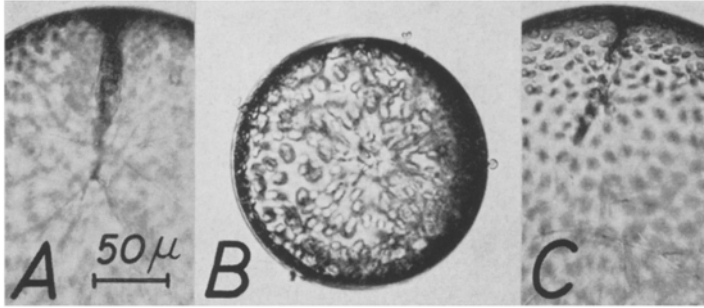


Abb. 6: *Lagenidium* (?) in *Coscinodiscus granii*-Kultur. A, C Erste Stadien der Infektion. B Kleine Wirtszelle mit mehreren, zum Teil eingefalteten Zoosporenhüllen

der Gürtelseite geschieht. Die Zoosporenhülle bleibt außen zurück, sie faltet sich ein und ist noch längere Zeit sichtbar (Abb. 6 B). An der Infektionsstelle erschwert die Ansammlung von Plastiden die direkte Beobachtung des ersten Entwicklungsstadiums (Abb. 6 A und C). An weitgehend aufgezehrten Zellen wie in Abbildung 2 A sind Einzelheiten zu erkennen. Man sieht links die Infektionsstelle und die allmählich sich verdickende Hyphe.

Um den Einfluß der Temperatur auf die Zoosporenbildung zu prüfen, wurde *Coscinodiscus granii* bei 6° , 8° , 15° , 21° , 25° und 30° C infiziert. Zwischen 8° und 25° C erfolgte Zoosporenbildung, bei 6° und 30° C blieb sie aus. Dieses Experiment sollte gleichzeitig Aufschluß darüber geben, ob der Pilz in Abhängigkeit von der Temperatur zu geschlechtlicher Fortpflanzung schreitet. Anzeichen dafür wurden jedoch nicht beobachtet. Auch eine Mischkultur von acht verschiedenen Pilzklonen bei 15° C zeigte keine Sexualisierung.

Spezifität der Wirtsalgen

Zur Klärung der Spezifität der Wirtsalgen wurden die Infektionsversuche auf eine Anzahl weiterer Diatomeen und zwei Rotalgen ausgedehnt, von denen Kulturen zur Verfügung standen. Es waren in erster Linie großzellige Arten, die Zellen der Rotalgen entsprachen in ihrer Größe etwa der von *Coscinodiscus granii*. Je zwei Kulturen einer Art wurden mit mehreren schwärmreifen Thalli des Parasiten in *Coscono-*

Abb. 5: *Lagenidium* (?) in *Coscinodiscus granii*-Kultur. A–C Reifer Thallus mit fortschreitender Entleerung seiner Zoosporen; rechts der Entleerungstubus. D Lateral zweigeißelige Zoosporen, mit Haematoxylin nach EHRlich gefärbt

discus granii (oft zusätzlich mit frisch ausgeschwärmten Zoosporen) beimpft und bei 15° C gehalten. Die Ergebnisse dieser Infektionsversuche sind in Tabelle 1 dargestellt. Danach vermag der Pilz wohl nur in bestimmten Arten der Gattung *Coscinodiscus* zu parasitieren. Er bevorzugt die großlumigen Arten *Coscinodiscus granii* und *C. concinnus*, die beiden flach-scheibenförmigen Arten, welche den Formenkreisen von *C. apiculatus* und *C. perforatus* angehören, werden seltener, die sehr kleine Art *C. excentricus* überhaupt nicht befallen. Negativ war auch das Ergebnis bei allen übrigen geprüften Arten.

Die Frage muß offen bleiben, ob es sich um einen obligatorischen Parasiten handelt, also um einen nur zusammen mit seinem Wirt lebensfähigen Phycomyceten. Der erste Versuch, den Pilz mit einem der üblichen Ködersubstrate (steriles Seewasser mit *Pinus*-Pollen) heranzuziehen, blieb ohne Erfolg (GAERTNER, mündlich). Es soll nun versucht werden, frisch ausgeschwärmte Zoosporen auf Malz-Peptonagar auszustreichen.

DISKUSSION

PAVILLARD (1914) berichtete zum ersten Male über einen in einer nicht näher bezeichneten *Coscinodiscus*-Art parasitierenden Phycomyceten aus dem westlichen Mittelmeer. Die kurze Beschreibung und Abbildung schließen nicht aus, daß er meinem Untersuchungsobjekt nahesteht oder gar identisch mit ihm ist. Sicherlich unterscheidet er sich von der *Lagenidium*-Art in *Coscinodiscus centralis*, die von PARSONS (1962) und JOHNSON (1966) in den Küstengewässern von Washington und British Columbia angetroffen wurde. Nach JOHNSON (1966) ist dieser Pilz spärlich septiert und hat exogene Zoosporenbildung. Neben diesen beiden Eigenschaften sprechen besonders die lichtbrechenden, unregelmäßig geformten Ölkörper im Plasma für die Eingliederung bei *Lagenidium*, eine Ansicht, die auch SPARROW (mündlich) hinsichtlich unseres Nordsee-Pilzes teilt. Die endogene Bildung zahlreicher kleiner Zoosporen schließt aber auch engere Beziehungen zu *Pontisma* (*Sirolopidiaceae*) nicht aus (vgl. SPARROW 1960, p. 969, Fig. 78 B). Der Nordsee-Pilz vereinigt also offensichtlich Merkmale verschiedener Gattungen. SPARROW hält eine Revision der „man made“-Gattung *Lagenidium* für notwendig. Ich sehe daher zunächst von einer Benennung des Pilzes ab, zumal über seine Sexualität – falls sie überhaupt vorkommt – noch nichts bekannt ist. Letzteres war auch für JOHNSON (1966) der Grund, eine endgültige Benennung aufzuschieben. Die Ordnung *Lagenidiales*, die sehr uneinheitliche Vertreter biflagellater Phycomyceten in sich vereinigt, ist um einen weiteren Pilz aus dem marinen Biotop bereichert worden.

ZUSAMMENFASSUNG

1. Über einen in *Coscinodiscus*-Arten der Nordsee endobiotisch parasitierenden Phycomyceten wird erstmalig ausführlich berichtet. Gemeinsam mit seinen Wirtsalgen läßt er sich leicht kultivieren.
2. Der Pilzthallus ist unregelmäßig räumlich verzweigt und unseptiert. Der Protoplast enthält stark lichtbrechende, unregelmäßig geformte Fetttropfen.

3. Der Pilz ist holokarp. Die lateral zweigeißeligen Zoosporen entstehen endogen und werden durch einen Entleerungstubus entlassen. Die Zoosporenbildung erfolgt bei Temperaturen zwischen 8° und 25° C. Sexuelle Vorgänge wurden nicht beobachtet.
4. Als Wirtsalgen werden die beiden großlumigen Arten *Coscinodiscus granii* und *C. concinnus* bevorzugt. Andere *Coscinodiscus*-Arten werden selten oder gar nicht befallen.
5. Da eine zwanglose Einordnung des Pilzes in das gegenwärtige System der *Lagenidiales* nicht möglich ist, bleibt er zunächst unbenannt.

Herrn Prof. F. K. SPARROW (Ann Arbor, Michigan) und Herrn Dr. A. GAERTNER (Bremerhaven) danke ich für wertvolle Diskussionen.

ZITIERTE LITERATUR

- JOHNSON, T. W., Jr., 1966. A *Lagenidium* in the marine diatom *Coscinodiscus centralis*. *Mycologia* **58**, 131–135.
- PARSONS, T. R., 1962. Infection of a marine diatom by *Lagenidium* sp. *Can. J. Bot.* **40**, 523.
- PAVILLARD, J., 1914. Observations sur les Diatomées. 3. *Bull. Soc. bot. Fr.* **61**, 164–172.
- SPARROW, F. K., Jr., 1960. Aquatic Phycomycetes. 2nd ed. Univ. of Michigan pr., Ann Arbor, Mich., 1187 pp.
- STOSCH, H. A. VON & DREBES, G., 1964. Entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen an zentrischen Diatomeen. 4. Die Planktondiatomee *Stephanopyxis turris*, ihre Behandlung und Entwicklungsgeschichte. *Helgoländer wiss. Meeresunters.* **11**, 209–257.