# 'n Bydrae tot die basidiokarpmorfologie van Coprinus comatus

Adriana Winterboer A. Eicker Departement Plantkunde, Universiteit van Pretoria

## UITTREKSEL

Die vorm van die pileus van Coprinus comatus (Müll. ex Fr.) S.F. Gray verander tydens ontwikkeling van ovaalvormig na klokvormig. Die hifes besit gespeverbindings en daar kom doliporieë in die dwarswande voor. Daar is twee soorte hifes: breë, opgeblase en dunner draadagtige hifes. Die lamelle bestaan uit drie lae: trama, subhimenium en himenium. Die himeniumlaag is diggepak met basidiums wat twee generasies voorstel, en sistidiums wat tussen die basidiums voorkom. Daar kom vesikels en glikogeenkorrels in die basidium voor. Die spoor is ellipsvormig en het 'n dik wand wat uit verskeie lae opgebou is.

# ABSTRACT

# A contribution to the basidiocarp morphology of Coprinus comatus

The shape of the pileus of Coprinus comatus (Müll. ex. Fr.) S.F. Gray changes during development from ovulate to bellshaped. The hyphae bear clamp connections, have dolipores in the septa and are of two kinds: wide, inflated and narrower, thread-like hyphae. The gills have three layers: trama, sub-hymenium and hymenium. The hymenial layer is densely packed with basidia representing two generations, and cystidia intermingled with the basidia. Vesicles and glycogen granules are found in the basidia. The basidiospore is ellipsoidal and has a thick multilayered wall.

## Inleiding

Coprinus comatus (Müll ex Fr.) S.F. Gray is 'n eetbare sampioen van hoë kwaliteit.<sup>1,2,3,4,5,6</sup> Alhoewel dit inheems is in Suid-Afrika, het die sampioen 'n kosmopolitiese verspreiding.<sup>6,7</sup> Daar is vasgestel dat C. comatus op dieselfde manier as die kommersieel verboude sampioen Agaricus brunnescens Peck. gekweek kan word (Fig. 1). Die geoeste basidiokarpe moet in 'n yskas bewaar word, waar dit tot 6 dae lank goed sal bly voordat dit outolise begin ondergaan.<sup>8,9,10</sup> Die outolisering of vervloeiing van die basidiokarp om 'n inkagtige swart vloeistof te vorm is 'n unieke metode van spoorvrystelling wat by die inaequi-himeniferale lamelle van die Coprinus-tipe basidiokarp aangetref word.<sup>6,11</sup> Buller<sup>11</sup> het oor die mikroskopiese morfologie van C. comatus gerapporteer.

Beckett *et al*<sup>12</sup> het oor die ultrastruktuur van C. *cinereus* gerapporteer, maar besonderhede oor die ultrastruktuur van C. *comatus* kon nie opgespoor word nie.

#### Materiaal en metodes

Basidiokarpe van C. comatus wat volgens die metode van Winterboer<sup>10</sup> in die laboratorium gekweek is (Fig. 1), is gebruik. Klein blokkies (3 mm<sup>3</sup>) is uit die verskillende dele van die basidiokarp gedissekteer, in 'n glashouer geplaas en met 'n 2,5 % glutaaraldehiedoplossing vir twee tot drie uur gefikseer. Die materiaal is drie keer in 'n fosfaatbuffer gewas. Die fiksering is in 1%-osmiumtetroksied in verseëlde houers voortgesit en die wasproses in die fosfaatbuffer is herhaal. Die materiaal is in toenemende konsentrasies etanol, nl. 40, 50, 60, 70, 80 & 90%, vir 20 minute by elke konsentrasie gedehidreer en die dehidrering is voltooi met drie behandelings in absolute etanol. Die materiaal is op 'n metaalknopie vasgeplak en in 'n Balzers Union-verstuiwingsapparaat met goud bedek. Die materiaal is met 'n Hitachi S-450-skandeerelektronmikroskoop ondersoek en gefotografeer.

Vir transmissie-elektronmikroskopie is dieselfde metode gevolg tot by dehidrasie in absolute etanol. Die gedehidreerde materiaal is vir 20 minute in gelyke dele propileenoksied en etanol geplaas en geleidelik in 'n hars oorgeplaas.<sup>13</sup> Die hars is in 'n kapsule by 70°C vir 24 uur gepolimeriseer. Die polimeerblokkies met die materiaal is in 'n Reichert OMW 3-mikrotoom met 'n glasmes gesny en op roostertjies geplaas. Die roostertjies met materiaal is met 5%-uranielasetaat bedek en met loodsitraat gekleur.<sup>14</sup> Die gekleurde materiaal is met 'n Philips EM301-transmissie-elektronmikroskoop ondersoek en gefotografeer.

## **Resultaat en bespreking**

Die pileus van die onvolwasse basidiokarp is aanvanklik ovaalvormig, word later silindervormig en by verdere ontwikkeling word dit klokvormig totdat dit heeltemal oop en plat is nadat dit van die rand af opwaarts outolise ondergaan het (Fig. 2). Die pileus van



FIGUUR 1: Gekweekte basidiokarpe van C. comatus.



'n volwasse basidiokarp is voor outolise 13-15 cm hoog en 4-5 cm in deursnee. Die steel het 'n deursnee van ongeveer 3 cm en kan 'n lengte van tot 24 cm bereik. Aanvanklik is die steel nie sigbaar nie, maar wanneer dit begin verleng en die pileus bo die grondoppervlak uitdra, is dit waarneembaar. Waar die pileus van die steel vry kom, is daar 'n annulus sigbaar. Die buitenste oppervlak van die pileus is bedek met harige skubbe wat bestaan uit lengteverlopende hifes. Die skubbe verleen 'n wollerige voorkoms aan die pileus en vandaar die algemene naam "wollerige inkswam".

Die dunwandige hifes van die basidiokarp vertoon pseudoparenchimaties (Fig. 3), besit gespeverbindings en doliporieë is waarneembaar (Fig. 4). Die hifes in die steel het versterkende dwarswande en is in 'n lengteverlopende patroon gerangskik (Fig. 3). Soos by *Agaricus campestris*<sup>15</sup> bevat die steel ook twee soorte hifes, naamlik breë, opgeblase hifes en nouer draadagtige hifes (Fig. 3 & 5).

In dwarssnee van die lamelle kan die gewone drie lae, nl. trama, subhimenium en himenium, onderskei word (Fig. 6). Die trama bestaan uit 'n sentrale groep lengteverlopende hifes. Die subhimenium word ge-

FIGUUR 2: 'n Diagrammatiese voorstelling van die ontwikkeling van die basidiokarp van C. comatus. A, ovaalvormige onvolwasse basidiokarp; B, basidiokarp met silindervormige pileus; C, pileus verander en word klokvormig; D, klokvormige pileus besig om oop te gaan; E, oorblyfsel van die pileus op die steel nadat die res vervloei het.



FIGUUR 3: Skandeerelektronmikrograaf van 'n dwarsdeursnee deur die steel. s = septum.



FIGUUR 4: Transmissie-elektronmikrograaf van 'n doliporie in 'n dwarswand tussen twee selle van die basidiokarp van C. comatus. se = septum; spk = septale poriekappie; p = porie; sp = septaleporie; sw = septale porieswelsel; ed = elektrondigte materiaal.



FIGUUR 5: Skandeerelektronmikrograaf van 'n lengtesnee van die steel van C. comatus met breë, opgeblase hifes en dunner draadagtige hifes. gvb = gespeverbinding.



FIGUUR 6: Transmissie-elektronmikrograaf van 'n dwarsdeursnee van die himenium. sbh = subhimenium; hml = himenium; bs = basidium; pf = sistidium.



FIGUUR 7: Transmissie-elektronmikrograaf van 'n basidium in die himeniumlaag met nukleus, vesikels en glikogeen in die sitoplasma. vak = vakuool; hkm = nukleusmembraan; nuk = nukleus; glk = glikogeekorrel; ves = vesikel.



FIGUUR 8: Transmissie-elektronmikrograaf van 'n basidium. Al die sitoplasma is by die top van die basidium geleë. bs = basidium; vak = vakuool; stp = sitoplasma.



FIGUUR 9: Skandeerelektronmikrograaf van die himeniumlaag in bo-aansig. Die basidiums en spore is van twee generasies. Verbindingshifes kom voor. bs l = basidium van die eerste generasie; bs 2 = basidium van die tweede generasie; vbh = verbindingshifes.



FIGUUR 10: Skandeerelektronmikrograaf van die himenium in oppervlakaansig. Die basidiums van twee generasies is in 'n duidelike patroon gerangskik. bs l = basidium van die eerste generasie; bs 2 = basidium van die tweede generasie.

S.A. Tydskrif vir Natuurwetenskap en Tegnologie 2, no. 3 1983



FIGUUR 11: Transmissie-elektronmikrograaf van 'n sterigma met 'n ontwikkelende basidiospoor. bsp = basidiospoor; h = hilum; st = sterigma; bs = basidium.



FIGUUR 12. Skandeerelektronmikrograaf van 'n gedeelte van die himenium in oppervlak-aansig. By die een is die basidiospore reeds vrygestel. Die hilum is duidelik sigbaar waar spore nog vasgeheg is. st = sterigma; bs = basidium; bsp = basidiospoor.



FIGUUR 13: Transmissie-elektronmikrograaf van die sterigma met die elektrondigte laag waar die basidiospoor later afsnoer. st = sterigma; ed =elektrondigte laag.



FIGUUR 14: Transmissie-elektronmikrograaf van 'n dwarsdeursnee deur 'n basidiospoor. ap = apikale porie; ekt = ektosporium; eks = eksosporium; epi = episporium, end = endosporium.

vorm deurdat die hifes uitwaarts buig. Die subhimenium is direk onder die himenium geleë en lg. bestaan uit 'n palissadeagtige laag van volwasse basidiums, ontwikkelende basidiums en sistidiums. Sistidiums wat by ander *Coprinus*-spp. oor die ruimte tussen die kieue strek, is nie hier waargeneem nie (Fig. 6).

Volgens Wells en Wells<sup>16</sup> het *C. comatus* 'n basidium wat apikaal baie vergroot. Dit word deur hierdie ondersoek bevestig (Fig. 7 & 8). Die ontwikkelende basidium is aanvanklik met sitoplasma gevul (Fig. 7), maar 'n vakuool ontwikkel later sodat slegs 'n dun wandstandige lagie sitoplasma in die apikale deel van die basidium oorbly (Fig. 8). Glikogeenkorrels is ook dikwels in die sitoplasma aanwesig (Fig. 7).

Die basidiums is duidelik dimorfies en verteenwoordig die produkte van twee opeenvolgende sporulasieperiodes, wat deur Buller<sup>17</sup> generasies genoem word. Die basidiums van die eerste generasie is langer as dié van die tweede (Fig. 9 & 10). Die spore word gevolglik ook in twee lae gedra. Spore van 'n spesifieke generasie wat onderling met hifes verbind is, is ook waargeneem (Fig. 9). Die funksie en oorsprong van hierdie hifes is nie bekend nie. Die basidiums is op 'n bepaalde wyse gerangskik sodat daar 'n mosaïekpatroon, wat ook deur Buller<sup>11</sup> waargeneem is, vorm (Fig. 10).

Die ontwikkeling van die basidiospoor word geïnisieer deur die ophoping van vesikels in die apikale deel van die basidium.<sup>17</sup> Beckett *et al*<sup>12</sup> is van mening dat die vesikels van die Golgi-apparaat afkomstig is. Die spoor word gevorm deur 'n vergroting van die sterigmatop (Fig. 11). Die hilum is as 'n duidelike swelsel waarneembaar (Fig. 12). Die jong basidiospore word endogeen uit die basidium gevorm (Fig. 11). Die inhoud van die spoor is aaneenlopend met die sitoplasma van die sterigma en basidium, maar 'n definitiewe elektrondigte laag waar die spoor van die sterigma afsnoer, ontwikkel later (Fig. 13).

Die jong basidiospore is omring deur 'n dun, meerlagige wand wat aaneenlopend is met die van die basidium en sterigma (Fig. 11). Die wand bestaan aanvanklik net uit twee lae, naamlik die interne basidiale laag en die buitenste pedikel (Fig. 11). By verdere ontwikkeling verdik die spoorwand en meer lae verskyn. Die episporium kan maklik uitgeken word en gee oorsprong aan die eksosporium (Fig. 14). In die apikale streek is die eksosporium onverdik om die kiemporie te vorm. Die endosporium is ook duidelik waarneembaar (Fig. 14). Die ektosporium ontwikkel later uit die eksosporium en vorm die harde buitenste wandlaag van die spoor. Beckett *et*  $al^{12}$  kon soortgelyke lae by *C. cinereus* waarneem. Volgens Wells en Wells<sup>16</sup> heers daar nog groot onduidelikheid oor die aard van die spoorwand. Webster<sup>15</sup> berig dat die spore van *Coprinus* spesies ook 'n perisporium besit wat die spoor as 'n kleurlose sak omhul. So 'n laag kon nie in hierdie studie by *C. comatus* waargenem word nie. Singer<sup>17</sup> meen dat die perisporium 'n vinnig verdwynende laag kan wees, wat verklaar waarom dit moeilik waarneembaar is.

#### Erkennings

Hierdie navorsing is moontlik gemaak deur toekennings van die Universiteit van Pretoria en die WNNR.

#### LITERATUURVERWYSINGS

- 1. Millar, O.K. (1972). *Mushrooms of North America* (E.P. Dutton & Co, New York).
- 2. Rinaldi, A & Tyndalo, V. (1972). Mushrooms and other fungi (Hamlyn, London).
- 3. Gray, W.D. (1973). The use of fungi as food and in food processing. Part 2. (CRC Press, Ohio).
- Findlay, W.P.K. (1977). Mushrooms, toadstools and other common fungi (Frederick Warne, London).
- Delmas, J. (1978). The biology and cultivation of edible mushrooms, Chang, S.T. & Hayes, W.A. eds (Academic Press, New York).
- Dickinson, C & Lucas, J. (1979). The encyclopedia of mushrooms (Orbis, London).
- 7. Bottomley, A.M. & Talbot, P.H.B. (1953). Algemeen eetbare en giftige sampioene in Suid-Afrika. Pamflet 324. Dept. Landbou (Staatsdrukker, Pretoria).
- 8. Vaandrager, M. (1978). De teelts van Coprinus comatus. De Champignoncultuur, 7, 237-239.
- Lelley, J., Hasuk, A., Ernst, A.A. & Van Stumpfeldt, W.W. (1979). Untersuchungen über die Einsatzmöglichkeiten des Müllklarschlammkompostes als substrat und Deckerde im Scopftintling-anbau. *Mitteilungun der Versuchanstalt für Pilzeanbau*, 3, 37-42.
- 10. Winterboer, A. (1981). 'n Studie van die wolhaarinkswam Coprinus comatus (Mull. ex. Fr.) S.F. Gray in Suid-Afrika (MSc verhandeling, Universiteit van Pretoria).
- 11. Buller, A.H.R. (1809). Researches on fungi Vol. 1. (Longman, Greene & Co., London).
- 12. Beckett, A., Heath, I.B. & McLaughlin, D.J. (1974). An atlas of fungal ultrastructure (Longman, London).
- Spurr, A.R. (1969). Low viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. Journal of ultrastructure research, 26, 31-43.
- Reynolds, E.S. (1963). The use of lead citrate at a high pH as an electron opague stain in electron microscopy. *Journal of Cellular Biology*, 17, 208 – 212.
- 15. Webster, J. (1980). Introduction to fungi. (Cambridge University Press, New York.).
- 16. Wells, K. & Wells, E.K. (1982). Basidium and basidiocarp evolution, cytology, function and development (Springer-Verlag, New York).
- 17. Singer, R. (1975). The Agaricales in modern taxonomy (J. Cramer, Leutershausen).