

Die Konidienform von *Graphis scripta* und Diskussion ihres systematischen Anschlusses *)

K. MESSNER **)

Summary

When examining thalli of *Graphis scripta* a thick hyaline stromatic tissue was found in the bark approximately 30 layers below a fruit-body, which showed cavities when cut transversely. Conidiophores with big, oblong blastoconidia were found both at its free surface and at the walls of the cavities.

For several reasons it is assumed that this is the conidial state of *Graphis scripta*. To prove this assumption, fruit-bodies collected from other localities were cut. Under these fruit-bodies no conidia were found. Those cuts were placed on a malt-yeast extract agar. After approximately 1 month the colonies thus obtained formed small elevations, at the tops of which clear drops were formed at first. Later on these drops were made turbid by the conidial mass excreted. The same conditions could be found with cuts through the elevations as with cuts through the stromatic tissue found on the natural substrate. Thus it seems to be proved that the examined conidia are the conidial state of *Graphis scripta*.

The question of its systematic position as well as a possible connection with *Psilospora* are being discussed.

Beobachtungen am natürlichen Substrat

Bei der Untersuchung des am Radsberg bei Klagenfurt gesammelten Materials stellte ich, als ich einen Thallus von *Graphis scripta* auf *Corylus avellana* schnitt, ca. 30 Zellschichten unter der Borkenoberfläche ein dickes stromatisches Geflecht, das von zwei Hohlräumen durchzogen war, fest (Abb. 1). An den Wänden der Hohlräume sowie an der freien Stroma-Oberfläche unterhalb des abgehobenen Wirtsgewebes waren an geraden, unverzweigten Trägern grosse, oblonge Konidien zu finden.

*) Herrn Doz. Dr. Harald RIEDL (Bot. Abt. Naturhist. Museum, Wien) möchte ich an dieser Stelle für die wertvolle Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit danken.

**) Institut für Biochemische Technologie und Mikrobiologie, TU-Wien, Getreidemarkt 9, 1060 Wien.

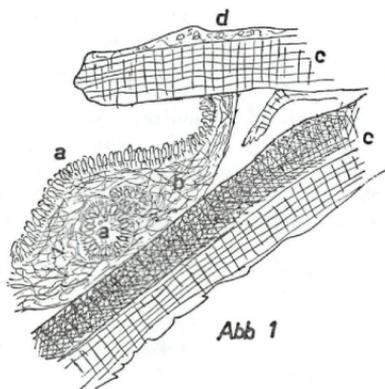


Abb 1

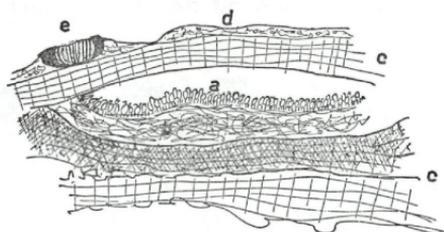


Abb 2

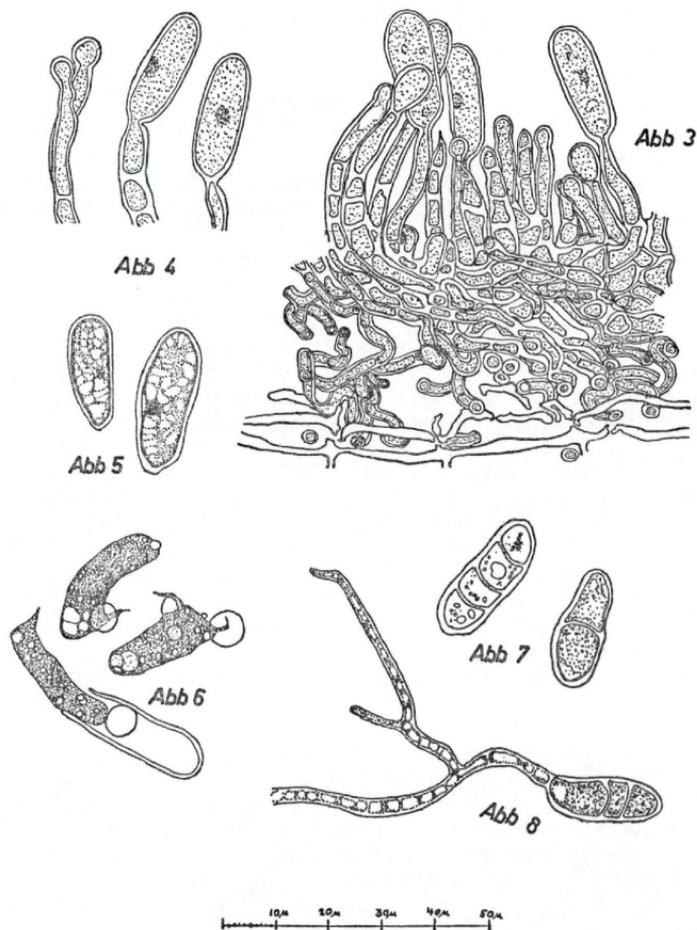
Das Stroma ist im Schnitt 1 mm breit und an der dicksten Stelle $\pm 0,3$ mm hoch. An den Rändern beträgt die Dicke $\pm 40 \mu$. Es hatte sich an der Grenze zweier verschieden gefärbter Borkenschichten gebildet und die darüberliegende Borke emporgehoben. Diese zeigt über dem Scheitel der stromatischen Erhebungen eine Öffnung. Das Stroma ist im Schnitt gewölbt. Die seitlichen Ränder sind nach oben hin aufgebogen, wodurch vermutlich der Hohlraum zwischen dem Stroma und der Borke entsteht. Die zwei Hohlräume in der Mitte des Stromas sind $\pm 70 \mu$ bzw. $\pm 100 \mu$ breit und ± 120 bzw. $\pm 150 \mu$ hoch. Sie sind durch eine $\pm 15 \mu$ dicke Scheidewand voneinander getrennt. Die Hyphen des Stromas sind dünnwandig, hyalin, dicht miteinander verflochten und bilden ausser in der Randzone ein geschlossenes Plektenchym. Gegen die Oberfläche sowie gegen die Hohlräume hin nehmen die Hyphen immer stärker plagiotrope Richtung, also parallel zu den Grenzflächen, an. An den Oberflächen wenden sie sich in orthogonale Richtung und bilden eine Palisadenschicht, bestehend aus

unseptierten Konidienträgern und septierten Hyphen, die den Paraphysen homolog sein dürften (Abb. 3). Die Konidienträger sowie die meisten paraphysenartigen Hyphen sind $\pm 25 \mu$ lang und $\pm 4 \mu$ dick. Einige paraphysenartige Hyphen, besonders die am Rande der Paliadenschicht, überragen die Konidienträger samt Konidie bei weitem. Am Ende der Träger wird jeweils eine vorerst kugelige Konidie als apikale Ausstülpung gebildet, die sich zu oblonger Form streckt und schliesslich abgeschnürt wird (Abb. 4). Die Bildung der Konidien erfolgt anscheinend nach dem (holo-) blastischen Schema (nach ELLIS 1971). Ketten werden nie gebildet. Die maximale Grösse der abgeschürten Konidien beträgt $\pm 30 \mu \times \pm 10 \mu$. Das Plasma erscheint im Mikroskop körnig-netzig und ist sehr reich an Öltröpfen (Abb. 5). Bei Quetschen der Sporen kann es vorkommen, dass der gesamte Protoplast ausschlüpft (Abb. 6). Der Kern ist $\pm 1 \mu$ gross und gut erkennbar.

Wenn die Konidien abgeschürt werden, sind sie einzellig, können jedoch später durch Querwände unterteilt werden (Abb. 7). Ihr Austritt erfolgt an dem über dem Scheitel des Stromas liegenden Riss durch die Borke.

An der von der Borke gebildeten Decke der Höhle, in der sich das Stroma befindet, sind einzelne verzweigte, vom Rande des Stromas ausgehende Hyphen zu finden, die zum Teil in den Hohlraum herabhängen und zum Teil aufwärts in die Borke verlaufen. An der Oberfläche der Borke befindet sich ein Thallus von *Graphis scripta* mit hervorstehenden Fruchtkörpern. Obwohl die Fruchtkörper noch keine Ascosporen entwickelt haben, sie also noch sehr jung sein müssten, führt der Thallus bereits dicke Kristalldrüsen. Dieselben unregelmässigen, polygonalen, matt durchscheinenden Kristalle sind auch an einigen Schnitten durch das Stroma der Konidienform zu finden, wo sie besonders in den unteren Stromapartien dicht eingelagert sind. Die direkte Hyphenverbindung zwischen Thallus und Stroma ist bei der Dichte und Färbung der Borke natürlich nicht durch 30 Zellagen hindurch unmittelbar zu verfolgen. Es können lediglich Anschnitte gleich dicker Hyphen in den Borkenzellen festgestellt werden. Da auch die an der Decke der Höhle wachsenden und in die Borke verlaufenden Hyphen gleich dick wie die Thallushyphen sind und ausserdem sowohl im Flechtenthallus wie im Stroma der Konidienform die gleichen Kristalle gebildet werden, kann mit grosser Wahrscheinlichkeit angenommen werden, dass das konidientragende Stroma mit dem darüberliegenden Thallus in Zusammenhang steht und die asexuelle Fruchtform von *Graphis scripta* ist.

Einige Schnitte weiter nahm die Dicke des Stromas stark ab (Abb. 2). Am Ende waren nur noch einige stark verzweigte Hyphen zu finden, die an Stemmgeflechte von *Graphis scripta* erinnerten, wie



sie oft in der Borke unter Fruchtkörpern auftreten und diese emporheben.

Den endgültigen Beweis für die Zugehörigkeit zu *Graphis scripta* lieferte ein Kulturversuch. Als ich Schnitte durch Fruchtkörper von mir in Eschenau/NÖ. gesammelten Materials kultivierte, entstanden Stromata, die die gleichen Konidienträger bildeten, wie ich sie in Natur bei Klagenfurt gefunden hatte.

Beobachtungen in Kultur

Mehrere dünne Transversalschnitte durch Fruchtkörper von *Graphis scripta* (Fundort: Eschenau a. d. Traisen/NÖ. auf Fraxinus), die von Thallus- und Borkenteilen befreit waren, wurden auf Schrägagar (Malz-Hefeextrakt-Agar zu je 15 ml im Röhrchen, 18 mm \varnothing , 20° C) aufgelegt.

Unter dem Felctenthallus, dessen Fruchtkörper zur Kultivierung herangezogen wurden, konnten keine konidienbildenden Stromata gefunden werden.

Nach wenigen Tagen sprossen bereits Hyphen aus den Fruchtkörperschnitten.

Nach einer Woche hatte sich bei Zimmertemperatur ein Pilzgeflecht von ca. 5 mm Durchmesser um die Schnitte gebildet, das ein dichtes Luftmyzel besass. Die Substrathyphen waren braun gefärbt, während das Luftmyzel weiss und dicht verfilzt war. Nach einem Monat bedeckte das Pilzmyzel die gesamte Oberfläche des Schrägagars (5,5 cm Länge). Die durch Auflegen des Schnittes ebenfalls auf den Agar gebrachten Bakterien entwickelten sich in den ersten Tagen rascher als der Pilz, waren jedoch nach einer Woche bereits völlig von Luftmyzel überzogen und wurden in ihrer weiteren Entwicklung vom Pilz fast vollständig gehemmt. Nach 2½ Wochen traten ringförmig um das Zentrum der Kultur angeordnete klare Tropfen auf, unter denen bald nach ihrer Entstehung kleine Erhebungen sichtbar wurden. Die Tropfen wurden immer grösser und waren schliesslich hellbraun und später dunkelbraun gefärbt. Der grösste Tropfen hatte einen Monat nach Ansetzen der Kultur einen Durchmesser von ca. 3 mm und der darunter entwickelte Geflechtskegel war ca. 2 mm hoch. Die Anzahl der Tropfen um das Zentrum vergrösserte sich, und nach 4 Wochen wurden sie auch nahe dem Myzelrand gebildet. Die zuerst kegelförmigen Erhebungen streckten sich mit der Zeit zu kurzen, länglichen Wülsten und liessen durch die auf ihnen liegenden Tropfen eine dunkle Stelle erkennen. Weiters begannen sich die Tropfen an der Basis zusehends zu trüben. Nach 5 Wochen wurden Schnitte durch die Erhebungen angefertigt, die folgendes ergaben:

Die Erhebungen sind aus mehreren gegeneinander abgegrenzten Hyphenschichten aufgebaut. Ihre oberste, pseudoparenchymatische Schicht besitzt unregelmässige Hohlräume, in die Konidienträger mit Konidien ragen. Die Trübung der Tropfen war durch das Ausscheiden von Konidien in die Tropfen und Keimung der Konidien entstanden. Die Hyphenschichten in den Erhebungen (Abb. 9) sind folgendermassen aufgebaut: Der ganze Agar ist basal von einem lockeren, dünnwandigen Hyphengeflecht durchwachsen, dessen Hyphendicke zwischen 1 μ und 5 μ liegt (Abb. 10). Die dünneren Hyphen sind manchmal spiralförmig gewunden. Alle sind plasmareich und enthalten zum Teil Öltröpfchen.

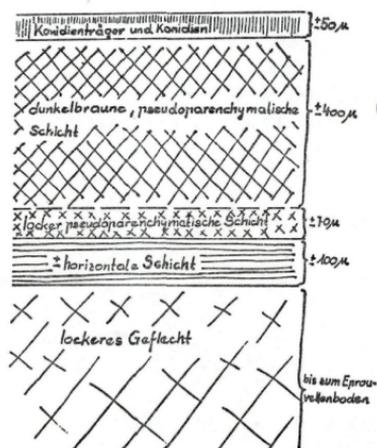
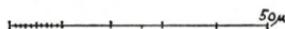
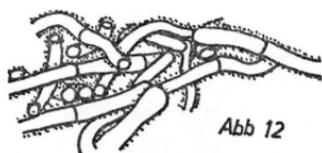
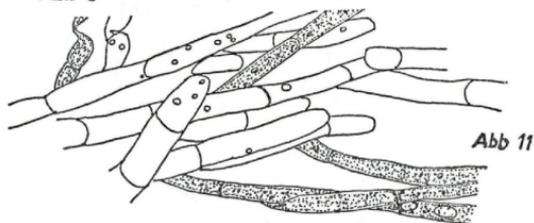
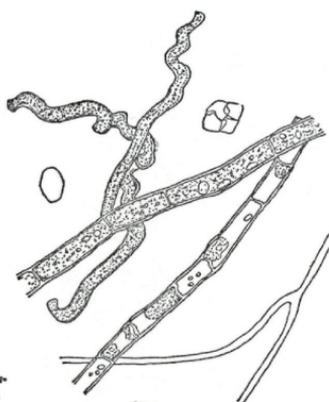


Abb 9



Auffallend sind auch die im Agar reichlich gebildeten Kristalle. Unter den Erhebungen ordnen sich die Substrathyphen parallel zur Agaroberfläche an, so dass ein ± 1 mm dickes Geflecht aus \pm horizontal gerichteten Hyphen entsteht (Abb. 11). Sie sind dicker als die tiefer gelegenen Substrathyphen ($3-7 \mu$). Ihre Zellwände sind ebenfalls dünn und hyalin. Ein Teil der Hyphen ist fast plasmalos.

Nach oben hin werden die Hyphen der horizontalen Schicht wieder ungeordnet, sie verflechten sich stärker und bilden eine vorerst noch locker verflochtene, hellbraun pigmentierte Schicht, deren Dichte und Färbung immer mehr zunimmt, sodass unter der Palisadenschicht der Konidienträger das oben erwähnte, dunkelbraun gefärbte, dichte Pseudoparenchym liegt (Abb. 12). Die gesamte ge-

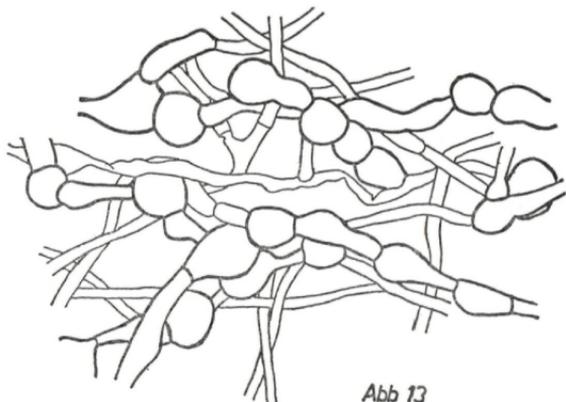


Abb 13

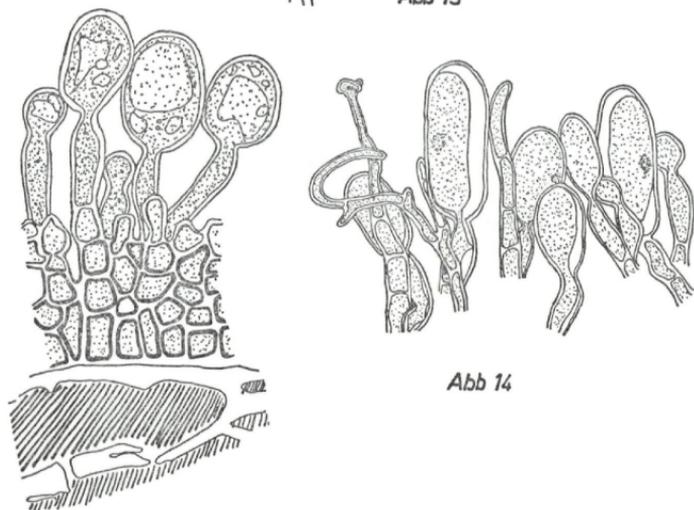


Abb 14

Abb 15



färbte Schicht zwischen horizontaler Hyphenlage und Palisadenschicht ist ± 3 mm dick. Die Hyphen sind dickwandig, pigmentiert und haben einen Durchmesser von 4–5 μ . Die Substrathyphen einer der Kolonien (Abb. 13), neben der sich ein Myzel von *Penicillium spec.* ausgebreitet hatte, zeigten zahlreiche Chlamydosporen.

Aus dieser Schicht gehen direkt die palisadenartig angeordneten hyalinen Konidienträger hervor, an deren Ende sich je eine vorerst kugelige Konidie abschnürt. Die Konidienbildung erfolgt nach demselben Schema wie am natürlichen Substrat. Die reifen Konidien entsprechen in der Gestalt denen am natürlichen Substrat und können eine maximale Länge von 32 μ und maximale Dicke von 10 μ erreichen. Solange die Konidien am Träger sitzen, sind sie einzellig. Erst später können sie durch Querwände in mehrere (bis zu 5) Zellen unterteilt werden (Abb. 7). Im einzelligen Zustand ist der Kern gut sichtbar (± 1 μ gross). Die Konidienproduktion muss sehr vehement vor sich gehen, da sie in manchen Tropfen schon nach einer Woche ein Viertel des Volumens ausfüllen.

Die Konidien beginnen bereits nach der Abschnürung noch im Tropfen zu keimen, wobei die Trägeransatzstelle als Keimporus bevorzugt wird (Abb. 8). Eine Keimung ist jedoch auch an anderen Stellen möglich. Die Keimhyphen sind dünnwandig, 2–3 μ dick und stark ölführend. Nach Färbung mit Lactophenol erscheinen die Keimhyphen blau-gelb quergestreift, wobei das Öl bis zu $\frac{2}{3}$ des Hyphenvolumens einnehmen kann.

Die Bildung der meist unseptierten Konidienträger erfolgt sowohl an der Oberfläche als auch in unregelmässigen, möglicherweise lysigen entstandenen spaltartigen Hohlräumen. Zwischen den Trägern stehen haarförmige, gekammerte Hyphen mit breiter Basiszelle, die entweder kurz und keilförmig bleiben oder die Konidienträger samt Konidien überragen (Abb. 14). Sie gleichen den paraphysenähnlichen Hyphen der Konidienform am natürlichen Substrat. In Parallelkulturen, die von Anfang an so stark mit Bakterien infiziert waren, dass der Pilz nie richtig die Oberhand bekam, wurden zwar Tropfen gebildet, doch blieb ihre Bräunung und auch die Konidienbildung aus.

Nach Überimpfen der zuerst beschriebenen Kulturen auf frischen Agar konnten die gleichen Kulturergebnisse erzielt werden.

Stellung der Konidienform von *Graphis scripta* im System der Pilze

Im System der Fungi Imperfecti käme die Nebenfruchtform von *Graphis scripta* zu den Melanconiales zu stehen, wenn man die Bildung von Konidienträgern und Konidien an der Oberfläche des in das Substrat dauernd eingesenkten Basalstromas als den typischen Fall ansieht, zu den Sphaeropsidales, wenn die Bildung in Hohlräumen des

Stromas als typisch angenommen wird. Auf der Suche nach vergleichbaren Formgattungen von Fungi Imperfecti (vor allem nach SUTTON in AINSWORTH and SUSSMAN 1973) stiess ich zuerst auf *Psilospora*, nach ARNAUD (1952) die Nebenfruchtform von *Heterographa*, bei der auch — ähnlich wie bei *Graphis scripta* — lirellenartige Fruchtkörper auftreten.

Ausserdem zeigten Beobachtungen an *Haplosporella mali* ganz übereinstimmende Verhältnisse mit der von mir neu gefundenen Konidienform von *Graphis scripta*. Wegen ihrer weiterführenden Konsequenzen sollen sie aber erst in einer später folgenden Arbeit behandelt werden.

Vergleich von *Psilospora* mit der Konidienform von *Graphis scripta*

Gemeinsame Merkmale:

Der in Natur und Kultur beschriebenen Nebenfruchtform von *Graphis scripta* steht, was die Gestalt der Konidien und Konidienträger betrifft, die Gattung *Psilospora* sehr nahe. Dabei entspricht *Psilospora faginea* in der Gestalt der Konidien und *Psilospora quercus* in Länge und Dicke der Konidienträger ungefähr der Nebenfruchtform von *Graphis scripta* (Abb. 15, 16).

	<i>Graphis scr.</i>	<i>Psilospora faginea</i>	<i>Psilospora quercus</i>
Konidien:	$\pm 30 \times 10 \mu$	$\pm 30 \times 10 \mu$	$\pm 26 \times 16 \mu$
Konidien- träger:	$\pm 25 \times 4 \mu$	$\pm 20 \times 4 \mu$	$\pm 25 \times 4 \mu$

Unterschiedliche Merkmale:

Die Substrathyphen von *Graphis scripta* (Nebenfruchtform) sind wie die des vegetativen Thallus $\pm 2 \mu$ dick, hyalin und schlauchförmig, während sie bei *Psilospora* unregelmässig dick und braun gefärbt sind. Häufig füllen sie, entweder einzeln oder zu mehreren, die ganze Borkenzelle aus. Weiters dringen die Hyphen von *Psilospora* nicht so tief in das Substrat ein wie die der Nebenfruchtform-bildenden *Graphis*. Als wesentlicher Unterschied wäre zu erwähnen, dass *Psilospora* Pycniden mit dicken kohligen Wänden besitzt (Abb. 17), die nahe der Oberfläche entstehen, während bei *Graphis* die Konidien in und auf einem hyalinen Stroma 30 Borkenlagen unter der Oberfläche gebildet werden. Die Pyknidenwände von *Psilospora* sind pseudoparenchymatisch und die Konidienträger gehen in direkter Verlängerung daraus hervor (Abb. 15). Dieses Merkmal ist beiden Arten von *Psilospora* eigen.

Die Stromazellen von *Graphis scripta* (Nebenfruchtform) hingegen sind gestreckt und bilden ein Plectenchym. An den Oberflächen liegen

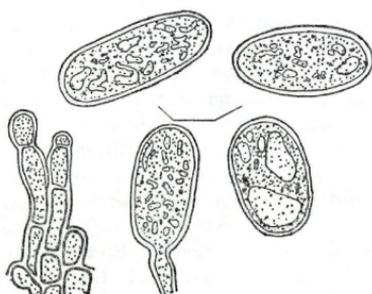


Abb 16



Abb 17



die Hyphen \pm parallel zur Oberfläche und richten sich erst, wenn sie die Konidienträger und sterilen Hyphen bilden, normal zur Oberfläche auf (Abb. 3).

Der angestellte Vergleich zeigt deutlich, dass die Nebenfruchtform von *Graphis scripta* trotz der ähnlichen Sporen nicht zu *Psilospora* gestellt werden kann. Weiters konnten Kristalle, wie sie bei *Graphis scripta* vorkommen, bei *Psilospora* nie gefunden werden.

Bei der Untersuchung von Thalli von *Graphis scripta* wurde in der Borke ca. 30 Zellschichten unter einem Fruchtkörper ein dickes, hyalines Stroma gefunden, welches im Transversalschnitt Hohlräume aufwies. Sowohl an seiner freien Oberfläche wie an den Wänden der Hohlräume befanden sich Konidienträger mit grossen oblongen Blastokonidien.

Aus mehreren Gründen wird angenommen, dass es sich dabei um die Konidienform von *Graphis scripta* handelt.

Zur Beweisführung wurden an anderen Standorten gesammelte Fruchtkörper geschnitten, unter denen sich keine Konidien befanden,

und die Schnitte auf Malz-Hefeextrakt-Agar aufgelegt. Die so erhaltenen Pilzkulturen bildeten nach ca. 1 Monat Erhebungen, an deren Oberfläche sich ein vorerst klarer Tropfen befand, der sich durch die ausgeschiedene Konidienmasse trübte. An Schnitten durch die Erhebungen waren die gleichen Verhältnisse vorzufinden wie sie an Schnitten durch das Stroma am natürlichen Substrat vorlagen.

Damit scheint der Beweis erbracht zu sein, dass es sich bei den untersuchten Konidien um die Konidienform von *Graphis scripta* handelt.

Das Problem der systematischen Stellung sowie ein etwaiger Zusammenhang mit *Psilospora* wird diskutiert.

Literatur

- ARNAUD, G. (1952). Mycologie concrete: Genera. Soc. Myc. de France 68: 181—223.
 ELLIS, M. B. (1971). Dematiaceous Hyphomycetes. Commonwealth Mycologic. Institute, Kew.
 SUTTON, B. C. (1973). Coelomycetes. In "The Fungi" (G. C. Ainsworth, F. K. Sparrow, A. S. Sussman ed.): Bd. 4 A; 513—582. Academic Press New York and London.

Abbildungstext

Abb. 1—14. *Graphis scripta*

Abb. 1, 2. Schnitte durch das konidienbildende Stroma von *Graphis scripta* (Abb. 1. an dickster Stelle, Abb. 2. am Rande),
 a = Konidien-schicht,
 b = Stroma,
 c = Borke,
 d = vegetativer Flechtenthallus von *Graphis scripta*
 e = Fruchtkörper von *Graphis scripta*

Abb. 3. Konidientragendes Stroma

Abb. 4. Konidienentwicklung

Abb. 5. Reife Konidien

Abb. 5. Reife Konidien

Abb. 6. Reife Konidien gequetscht

Abb. 7. Alte Konidien, septiert.

Abb. 8. Konidie mit Keimhyphen.

Abb. 9. Schematischer Aufbau des Stromakegels in Kultur.

Abb. 10. Lockeres Geflecht

Abb. 11. Horizontale Schicht

Abb. 12. dunkelpigmentierte, dichter verflochtene Schicht

Abb. 13. Chlamydosporenbildung einer Parallelkultur.

Abb. 14. Ausschnitt aus der Konidien-schicht in Kultur.

Abb. 15. *Psilospora quercus*: Ausschnitt aus Pyknidienbasis (siehe Abb. 17)

Abb. 16. *Psilospora faginea*: Konidien

Abb. 17. *Psilospora quercus*: Schnitt durch Pyknide

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Sydowia](#)

Jahr/Year: 1976/1977

Band/Volume: [29](#)

Autor(en)/Author(s): Messner Kurt

Artikel/Article: [Die Konidienform von Graphis scripta und Diskussion ihres systematischen Anschlusses. 104-114](#)