Molekulare und biologische Charakterisierung von *Gloeophyllum*-Arten in Gebäuden

OLAF SCHMIDT¹), KLAUS GRIMM²) & UTE MORETH¹)

Schmidt, O., K. Grimm & U. Moreth (2002) – Molecular and biological characterization of *Gloeo-phyllum* species in buildings. Z. Mykol. 68(2): 141–152.

Keywords: Gill polypores in buildings, *Gloeophyllum abietinum*, *G. sepiarium*, *G. trabeum*, molecular characterization techniques, nrDNA-ITS sequence, mycelial growth rate, temperature influence, wood decay, pH-value

Summary: Gloeophyllum abietinum, G. sepiarium and G. trabeum form a group of brown-rot fungi (`Gill polypores'), which are associated with wood decay in buildings. The species have similar occurrence, biology, mycelia and fruit bodies. Traditionally, the fungi are differentiated by their basidiomes. However, differentiating characteristics may be rare in cases such as if only mycelium is available from attacked wood.

For reliable species differentiation and isolate identification, the internal transcribed spacer (ITS) of the nuclear ribosomal DNA was amplified by the polymerase chain reaction and sequenced. Isolates from decayed wood and from culture collections were investigated. The ITS sequences characteristic of *G. abietinum*, *G. sepiarium* and *G. trabeum* were obtained and deposited in databases. The ITS size ranged from 625 to 632 bp. Intraspecific variation was low. Results facilitate future identification of respective isolates by sequence comparison, even if only vegetative mycelium was present. The ITS data enlarge our collection of sequences for the characterization of domestic wood decay fungi.

Finally, growth rate of mycelium, influence of temperature, wood decay capacity and substrate acidification were investigated to examine whether these traditional methods provide relevant information. Daily radial increment on agar was lower for isolates of *G. abietinum* (3.8–5.5 mm) than for *G. sepiarium* (6.6–8.3 mm) and *G. trabeum* (7.1–9.1 mm). Optimum temperature was 25–27.5 °C for *G. abietinum*, 27.5–32.5 °C for *G. sepiarium* and 30–37.5 °C for *G. trabeum*. Lethal temperature was 40–42.5 °C for *G. abietinum*, but *G. sepiarium* and *G. trabeum* survived three weeks at 45 °C. Growth rate on spruce wood samples (2.6–5.2 mm/day) and wood weight loss (26.7–47.4 %) were rather similar among the isolates and thus less suitable for species differentiation. The three *Gloeophyllum* species acidified their substrate to a lesser extent than typical brown-rot fungi

Zusammenfassung: Zur Charakterisierung und Diagnose der in Gebäuden Holz zerstörenden Blättlinge *Gloeophyllum abietinum*, *G. sepiarium* und *G. trabeum* wurde der ITS-Bereich ihrer ribosomalen DNS per PCR amplifiziert und sequenziert. Der ITS-Bereich umfaßte 625 bis 632 bp. Die intraspezifische Varianz war gering. Die Sequenzen sind in den Datenbanken niedergelegt. Unbekannte Pilzproben können nunmehr anhand ihrer Sequenz über Homologie identifiziert werden.

Anschrift der Autoren: 1) Ordinariat für Holzbiologie, Universität Hamburg, Leuschnerstraße 91, 21031 Hamburg, E-mail: oschmidt@holz.uni-hamburg.de

Botanisches Institut, Universität Karlsruhe (TH), Kaiserstraße 2, 76128 Karlsruhe;
 E-mail: klaus.grimm@bio-geo.uni-karlsruhe.de

Biologische Untersuchungen zur Charakterisierung und Differenzierung der drei Arten ergaben: *Gloeophyllum abietinum* wuchs auf Agar deutlich langsamer (3,8–5,5 mm täglicher radialer Zuwachs) als *G. sepiarium* (6,6–8,3 mm) und *G. trabeum* (7,4–9,1 mm). Die Optimaltemperatur betrug für *G. abietinum* 25–27,5 °C, für *G. sepiarium* 27,5–32,5 °C und für *G. trabeum* 30–37,5 °C. Bei *G. abietinum* lag die Letaltemperatur bei 40–42,5 °C; dagegen überlebten *G. sepiarium* und *G. trabeum* 3 Wochen bei 45 °C. Zuwachs auf Holzproben (2,6–5,2 mm/Tag) und Holzmasseverlust (26,7–47,4 %) waren jedoch wegen intraspezifischer Varianz für eine Artunterscheidung zu ähnlich. Verglichen mit anderen Braunfäulepilzen säuerten die drei *Gloeophyllum*-Arten ihr Substrat weniger stark an.

Einleitung

Eine komplexe Gruppe von Basidiomyceten verursacht in Gebäuden Holzzerstörung mit beträchtlichem wirtschaftlichem Ausmaß. Im gemäßigten Klima sind dies neben dem häufigsten Schadpilz Hausschwamm besonders mehrere Kellerschwämme und Porenhausschwämme. Einen nennenswerten Anteil haben auch drei Blättlinge, nämlich Tannenblättling, *Gloeophyllum abietinum* (Bull.: Fr.) P. Karsten, Zaunblättling, *G. sepiarium* (Wulf.: Fr.) P. Karsten, und Balkenblättling, *G. trabeum* (Pers.: Fr.) Murr. In Häusern im Hamburger Raum wurden 15 verschiedene Basidiomyceten gefunden, und eine Literaturauswertung über Holzpilze in Gebäuden ergab insgesamt etwa 60 Arten, darunter auch Sekundärbesiedler (HUCKFELDT 2002). Die drei Blättlinge sind wichtige Zerstörer von Holzfenstern und im Dachbereich und finden sich auch an Masten, Pfosten, Zäunen, Brücken, Schwellen, Grubenhölzern u.ä. (EATON & HALE 1993; SCHMIDT 1994). Ihre sogenannte Hitzestarre (MIRIĆ & WILLEITNER 1984) und Trockenstarre (THEDEN 1972) befähigt die Blättlinge zum Überleben im zeitweilig durch Sonneneinstrahlung erhitzten Fensterholz.

Großflächige Erhebungen über die Häufigkeit der verschiedenen Gebäudepilze sind selten: In Kalifornien betrug der Anteil von *G. trabeum* bei Schäden an Holz im Innenbau und in Außenverwendung ohne Erdkontakt 19 % und bei *G. sepiarium* 15 % (Wilcox & Dietz 1997). Angaben über den Anteil an Gebäudeschäden beruhen jedoch häufig auf Auswertungen gutachtlicher Feststellungen und sind somit räumlich begrenzt (u.a. Schultze-Dewitz 1985, 1990) oder basieren auf Anfragen an staatliche Institute hinsichtlich Pilzidentifizierung, die somit nur das Spektrum der nicht durch Laien oder Sachverständige diagnostizierten Befälle widerspiegeln. Derartige Statistiken zeigen dennoch auch für die Blättlinge beträchtliche regionale Unterschiede: In Dänemark lag die Beteiligung von *Gloeophyllum* spp. von 1946 bis 1983 bei 2 bis 12% (Koch 1985), in Finnland war der Anteil 1978-1988 bei *G. sepiarium* 1,3 % und bei *G. trabeum* 1,4 % (VIITANEN & RITSCHKOFF 1991), und in Belgien waren letztere Pilze 1985-1992 zusammen nur mit 0,7 % Häufigkeit vertreten (GUILLITTE 1992). Im süddeutschen Raum betrug der Anteil von *Gloeophyllum* spp. 1989-2002 etwa 9 % (GRIMM unveröffentl.).

Traditionell werden die drei Blättlinge anhand ihrer Fruchtkörper bestimmt (u.a. Breitenbach & Kränzlin 1986; Ryvarden & Gilbertson 1993). Schwierigkeiten entstehen jedoch, wenn nur Mycel aufgefunden wird oder gar nur faules Holz ohne erkennbare Pilzmerkmale, von dem zunächst eine Reinkultur hergestellt werden muss. Wenige oder inkonstante Merkmale des vegetativen Mycels sowie die intraspezifische Variabilität ("Stammvarianz") erschweren die Bestimmung nahe verwandter Pilze mit konventionellen Methoden (Stalpers 1978). Bei Fäulnisschäden in Gebäuden fordert jedoch in Deutschland DIN 68 800 Teil 4 vor einer Sanierung eine eindeutige Artdiagnose.

Daher wurden verschiedene molekulare Techniken zur Pilzcharakterisierung bei den Gebäudepilzen etabliert (SCHMIDT 2000), nämlich Polymorphismen von zufällig mit der Polymerasekettenreaktion (PCR) vermehrten DNS-Abschnitten (`RAPD´) (Theodore et al. 1995; SCHMIDT & MORETH 1998), Restriktionsfragmentlängenpolymorphismen innerhalb der ribosomalen DNS (`ARDRA´) (SCHMIDT & MORETH 1999) sowie die PCR mit Pilzart-spezifischen Primern (`PPSP´) (MORETH & SCHMIDT 2000; SCHMIDT & MORETH 2000). Die RAPD-Analyse unterscheidet jedoch meist auf dem Niveau von Isolaten und ist somit nicht zur Arterkennung geeignet, und ARDRA sowie PPSP sind anfällig gegenüber Stammvarianz innerhalb der verwendeten DNS-Region.

Dagegen erwiesen sich PCR und nachfolgende Sequenzierung des `internal transcribed spacer´ (ITS) der nuklearen ribosomalen DNS (nrDNS) als geeignete Technik zur Charakterisierung und Identifizierung einer Pilzart (WHITE et al. 1990; BRUNS et al. 1991), da hierbei die gesamte Information der Nukleotidsequenz zur Verfügung steht und das Ausmaß der Stammvarianz deutlich wird. Für die wichtigen Fäulnispilze in Gebäuden liegen die ITS-Sequenzen vor (SCHMIDT & MORETH 2002a). Häufig handelt es sich um jeweils nahe verwandte Arten, deren Mycel mit klassischen Methoden kaum oder gar nicht differenzierbar ist (STALPERS 1978): Echter Hausschwamm, Serpula lacrymans (Wulfen: Fr.) Schroeter apud Cohn, und Wilder Hausschwamm, S. himantioides (Fr.: Fr.) P. Karsten (SCHMIDT & MORETH 2000, WHITE et al. 2001); die drei Kellerschwämme: Brauner Kellerschwamm, Coniophora puteana (Schum.: Fr.) P. Karsten, Trockener Kellerschwamm, C. arida (Fr.) P. Karsten, und Olivfarbener Kellerschwamm, C. olivacea (Fr.) P. Karsten (SCHMIDT et al. 2002); die fünf Porenhausschwämme: Breitsporiger weißer Porenschwamm, Antrodia vaillantii (DC.: Fr.) Ryv., Reihige Tramete, Antrodia serialis (Fr.) Donk, Schmalsporiger weißer Porenschwamm, A. sinuosa (Fr.) P. Karsten, Gelber Porenschwamm, A. xantha (Fr.: Fr.) Ryv., und Saftporling, Oligoporus placenta (Fr.) Gilb. & Ryv., sowie auch der Eichenporling Donkioporia expansa (Desm.) Kotl. & Pouzar (Moreth & Schmidt 2000; Schmidt & MORETH 2002b). Die ITS-Sequenzen des "Amerikanischen Hausschwammes", Meruliporia incrassata (Berk. & Curt.) Murr. und der seltenen Hausschwämme, Faltig-weiche Gewebehaut, Leucogyrophana mollusca (Fr.) Pouzar, und Gelbrandiger Hausschwamm, L. pinastri (Fr.) Ginns & Weres, sind in den Datenbanken niedergelegt (SCHMIDT & MORETH unveröffentl.). OH et al. (Datenbank unveröffentl.) deponierten bereits die ITS-Sequenz eines Isolates von G. trabeum.

Die vorliegende Arbeit behandelt zunächst die ITS-Sequenzen jeweils mehrerer Isolate der drei Gebäude-Blättlinge. Ziele waren eine molekulare Charakterisierung der Pilzarten, der Erhalt einer sicheren Basis zur Identifizierung der Blättlinge, auch wenn nur Mycel vorhanden ist, und die Erweiterung unserer Sequenz-Datei der Gebäudepilze (SCHMIDT & MORETH 2002a). Weiterhin erfolgten biologische Untersuchungen zur Charakterisierung und Differenzierung der drei Arten mittels der konventionellen Merkmale "Wuchsgeschwindigkeit auf Agar und auf Holz", "Abhängigkeit des Mycelwachstums von der Temperatur", "Intensität der Holzzersetzung" sowie "Substratansäuerung".

Material und Methoden

Pilze und Kultivierungsbedingungen: Vier bis sechs Isolate der drei Arten wurden untersucht, um die artspezifische ITS-Sequenz aufzufinden. Verwendet wurden Isolate, deren richtige Bestimmung angenommen wurde. Sie stammen aus Sammlungen verschiedener Institute (Tabelle 1, Nr. 183, 241 und 243) und sind als Versuchsmaterial nicht in einem Herbar hinterlegt, von MUCL (Nr. 258) oder sind meist jüngere eigene Isolierungen von angegriffenem Holz, manchmal

mit benachbarten Fruchtkörpern. Die Isolierungen in Gebäuden standen oft im Zusammenhang mit vorausgegangenen Wasserschäden. Die Isolate 183 und 241 aus der Hamburger Institutssammlung sind Teststämme für die Europäische Norm EN 113 zur Prüfung der Wirksamkeit von Holzschutzmitteln. Die Anzucht der Pilze erfolgte als Oberflächenflüssigkultur in 2% Malzextrakt (Oxoid, Basingstoke, Hants, England) für 2 Wochen bei Zimmertemperatur.

DNS-Isolierung: Eine Pipettenspitze Mycel wurde in ein 1,5 ml-Eppendorfgefäß mit 200 μ l autoklaviertem Leitungswasser übertragen und die Hyphen einschließlich ihrer Zellkerne mechanisch mit einem sterilisierten Plastikpistill, das in das Gefäß passt, mittels eines Laborrührers 2 min. bei 10.000 Upm "geöffnet". Die erhaltene Suspension wurde für 1 min. zur Inaktivierung DNS-abbauender Enzyme gekocht und dann 1 + 4, 1 + 24 und 1 + 124 mit Leitungswasser für eine PCR-geeignete DNS-Konzentration verdünnt (SCHMIDT et al. 2002). Eine spezielle DNS-Reinigung hatte sich als unnötig erwiesen. Diese PCR-Vorbereitung ist für Hyphen von vegetativem Mycel und von Fruchtkörpergewebe geeignet. Das Pilzmaterial kann ferner von Reinkulturen aber auch direkt von befallenem Holz in Gebäuden stammen, wenn letzteres sichtbare Pilzteile aufweist, jedoch nicht oder wenig mit Schimmelpilzen kontaminiert ist oder es möglich ist, keimarme Teile aus dem Mycelinneren zu entnehmen.

PCR-Amplifizierung: Die komplette nrDNS-ITS-Region (ITS I, II und eingeschlossenes 5.8S rRNS-Gen) wurde mittels der ITS 1/ITS 4-Primerkombination von White et al. (1990) und dem `DyNAzyme II DNA polymerase kit' (Finnzymes Oy, Espoo, Finnland) gemäß der Produktinstruktionen in dem PTC-100-Thermocycler (MJ Research, Watertown, MA, USA) für 35 Zyklen von 94 °C Denaturierung, 55 °C `Annealing' und 72 °C `Extension', jeweils für 1 min., amplifiziert. Anfangsdenaturierung bei 94 °C und Schlußextension bei 72 °C erfolgten für 7 min.

Gelelektrophorese: Die PCR-Produkte wurden mittels horizontaler Elektrophorese in DNA Agarose-Gelen (Biozym, Hess. Oldendorf) in TBE-Puffer mit der `GNA-200-Kammer' (LKB-Pharmacia Biotech, Freiburg) kontrolliert. Die Gele wurden mit GelStar (Biozym) gefärbt und die DNS-Banden über 312 *n*m UV mit dem `DNA BioDocAnalyze-System' (Biometra, Göttingen) dokumentiert (SCHMIDT et al. 2002).

Sequenzierung und Analyse: Die PCR-Produkte wurden kommerziell gereinigt und jeweils beide DNS-Stränge sequenziert (MWG-Biotech, Ebersberg). Meist wurde die komplette ITS-Sequenz durch Überlappen beider Stränge erhalten. Manchmal mussten die Basenfolgen der ITS-Primer solchen Sequenzen zugefügt werden, die an einem oder beiden Enden unvollständig waren. Tab. 1 nennt die nrDNS-ITS-Längen der Isolate. Die Sequenzen wurden mit dem `Clustal W multiple alignment program´ einander zugeordnet und manuell endbearbeitet. Mittels einer BLAST-Suche in den Datenbanken wurden sie auf mögliche Homologie mit dortigen Sequenzen verglichen. Die Sequenzen von je zwei repräsentativen Isolaten je Art sind in den internationalen Datenbanken (EMBL, www.ebi.ac.uk/cgi-bin/emblfetch) niedergelegt und die Zugriffsnummern in Tab. 1 genannt.

Mycelwachstum, Temperaturverhalten, Holzabbau und pH-Wert: Der Temperatureinfluss auf das Mycelwachstum wurde in 2 % Malzagar-Petrischalen bei 20–45 °C in 2,5 °C-Schritten gemessen. Zur Überwindung des Impftraumas der Hyphen wurden die Schalen erst nach 3 Tagen bei Zimmertemperatur in die Brutschränke gegeben. Der radiale Zuwachs wurde zwei- bis dreimal wöchentlich mittels Faserschreiber markiert und auf den maximalen täglichen Zuwachs

Tab. 1: Untersuchte Isolate mit Kodierung und Herkunft, Länge des nrDNS-ITS-Bereichs und Datenbank-Zugriffsnummer

Art	Isolatnummer/ ursprüngliche Kodierung	prüngliche			
Gloeophyllum abietinum	197	Deckenbalken Fichte Leitungswasserschaden Ludwigshafen 1997	632		
	241/Ebw.68	fakultativer Normstamm in EN 113 Eberswalde	632		
	254	Deckenbalken Fichte Ludwigshafen 1997	632	AJ420947	
	255	Holzverkleidung Fichte Keller Karlsruhe 1998	632		
	256	Balken unter Bad Fichte Leitungswasserschaden Neckarsteinach 1999	632	AJ420948	
	430	Balkonholz Fichte 2001	632		
Gloeophyllum sepiarium	198	Palisade an Rasenfläche Fichte mit Fruchtkörper Karlsruhe 1994	625	AJ344141	
	201	Palisade Fichte mit Fruchtkörper Karlsruhe 1993	625		
	252	Außenbalken Holzhaus Fichte Bruchsal 1998	625		
	253	Balken unter Bad Fichte 1989	625	AJ420946	
Gloeophyllum trabeum	183/Ebw.109	Buchenholzfuß einer Wasserpumpe Eberswalde, obligatorischer Normstamm in EN 113	626	AJ420949	
	203	Deckenbalken Fichte Regenschaden Frankfurt/Main 1993	626		
	243/FPRL108N	= 183, erhalten aus England	626		
	257	Dielenholz Fichte St. Blasien 1992	626		
	258/MUCL 35053		626		
	259	Innenkellertreppe Fichte Lörrach 1999	626	AJ420950	

umgerechnet (Tabelle 2, jeweils obere Zahl in einer Reihe). Als maximale Wüchsigkeit eines Isolates wurde sein Zuwachs bei seiner Optimaltemperatur gewertet. Zum Erkennen des Überlebens bei höheren Temperaturen wurden die Kulturen der oberen Temperaturstufen bei Versuchsende nach 3 Wochen auf frischen Agar überimpft und nach 2 weiteren Wochen bei Zimmertemperatur auf Wachstum überprüft. Gleichsinnige Untersuchungen wurden in Karlsruhe auf 1,7 % Malzagar durchgeführt (jeweils untere Zahl). Dort erfolgten ebenfalls Zuwachsmessungen auf Fichtenholzstäben (20 x 4 x 0,8 cm) in 3L-Erlenmeyerkolben, um dem natürlichen Substrat Holz nahe zu kommen. Die Stäbe befanden sich mit ihrem unteren Teil in Wasseragar (0,1 % CaCl₂ x 2 H₂0, 1,5% Agar, pH 5,7 nach Autoklav), waren mit einem Zentimeter-Maßstab markiert, wurden an der Kontaktstelle zwischen Holz und Agar beimpft und bei 20–25 °C inkubiert. Der pilzbedingte prozentuale Masseverlust wurde an kleinen Fichtenholzklötzchen (20 x 10 x 5 mm) in Petrischalen mit Wasseragar nach 6 Monaten bei 20–25 °C erfaßt. Bei Versuchsende wurde der pH-Wert des Wasseragars direkt neben den Holzproben mit einer Oberflächenelektrode gemessen. Alle Ansätze basieren auf bis zu fünf Parallelen.

Tab. 2: Wuchsgeschwindigkeit, Temperaturverhalten und Holzabbau

Maximale Ansäuerung	చ		3,0	3,1	3,2	2,8	3,4	3,2	8,8	3,3		3,2	3,1	3,1	
Masseverlust von Holz	%/6 Monate		39,0	43,4	41,6	39,0	42,0	38,2	26,7	35,3		47,4	41,3	30,5	
Zuwachs auf Holz	mm/Tag		4,1	3,4	5,2			3,5	3,7	2,6		2,7	3,3	3,7	
ပွ	45	nein	nein	nein	nein		<u>'a</u>	<u>'a'</u>	<u>.a</u>	<u>'a'</u>	' <u>a</u>	<u>'a'</u>	-		<u>'a'</u>
Überleben von °C	42,5	nein	nein	nein	nein nein		<u>'a</u> '	. <u>a</u>	<u>.a</u>	<u>.</u>	<u>.a</u>	' <u>a</u>	<u>.a</u>	y	<u>'a</u>
rlebe	40	=	-	nein	<u>.¤</u>		<u>.a</u>	<u>.a</u>	<u>.a</u>	<u>.a</u>	<u>.æ</u>	' <u>a</u> '	<u>.a</u>		<u>'a</u>
Radialer Zuwachs in mm/Tag bei °C Übe	37,5	<u>'a</u> '	' <u>a</u> '	<u>'a</u> '	<u>'a'</u>		<u>'a</u>	<u>.a</u>	' <u>a</u> '	<u>'a'</u>	<u>'a'</u>	' <u>a</u> '	<u>.a</u>		' <u>a</u>
	45	0	0	0	0		1,0	2,0	1,2	2,0	8,0	9,0	0,7		1,5
	42,5	0	0	0,5	0		1,2	1,0	6,1	1,0	1,5	2,0	1,7		1,8
	40	0	0,1	1,0	0,1		4,4	2,2	1,7	2,2	3,8	3,8	4,1		5,6
	37,5	0,1	2,0	1,5	1,0		5,8	4,3	3,1	3,5	7,3	6,7	6,7		6,5
	32	8,0	2,7	2,7	2,5	0,4	5,4	5,9	7,6	3,4	8,3	8,8	7,7	7,2	8,9
	32,5	2,2	3,5	3,5	3,5		9,9	6,9	8,3	7,3	9,1	8,5	6,5		1,1
	30	3,3	3,9	4,8	4,9 3,5	3,7	6,6 5,4	6,9	6,6	5,8	9,8	7,8	6,9	7,4	6,5
	27,5	3,8	4,5	4,8	5,4		6,1	7,5	6,4	9,9	7,8	7,1	6,3		6,5
	22	3,8	4,0	5,5	5,0	4,2	5,1	6,0	6,3 8,4	6,6	6,5	6,5	5,8	5,3	5,5
	20		3,1	3,1	3,4	3,2	3,1	3,4	3,6	3,2		4,0	3,6	4,3	
Isolat		241	254	255	256	430	198	201	252	253	183	203	257	258	259
Art	eophyllum				Gloeophyllum sepiarium			Gloeophyllum trabeum							

Leerstelle: nicht untersucht; obere Zahl: Versuche in Hamburg; untere Zahl: Versuche in Karlsruhe; fett: Maximum; 1 nur eine Parallele

Ergebnisse und Diskussion

nrDNS-ITS-Daten

Die nukleare ribosomale DNS und ihre vielfältigen Untersuchungstechniken haben breite Anwendung gefunden. Gründe sind, dass sich die ribosomalen Gene und ihre Zwischenabschnitte (ITS und `intergenic region') innerhalb einer Art gemeinsam entwickeln, nur geringe Sequenzabweichungen innerhalb der zahlreichen Kopien einer Art zeigen, jedoch Vergleiche zwischen Arten genügend Unterschiede zur Differenzierung aufweisen. Während die konservativen 18S- und 28S-Gene für größere Einheiten, wie Gattungen und Familien, geeignet sind, wird derzeit besonders der ITS-Bereich zur Analyse nahe verwandter Arten untersucht. Ein weiterer Grund für die Beliebtheit des ITS ist, dass durch Verwenden der Universalprimer ITS1 und ITS4 von Whitte et al. (1990), die sich am Ende des konservativen 18S- und 28S-rRNS-Gens anlagern, in der Regel auch die PCR-Amplifizierung des ITS bei bisher nicht untersuchten Organismen möglich ist. Grenzen für die Verwendung des ITS wurden diskutiert (u.a. Muir & Schlötterer 2000). ITS-Polymorphismen mit deutlichen Sequenzabweichungen innerhalb einer Art wurden selten gefunden, z.B. bei dem Mykorrhizapilz *Hebeloma velutipes* (AANEN et al. 2001) und bei den parasitischen *Armillaria*-Arten (POTYRALSKA et al. 2002).

Die Tab. 1 nennt die untersuchten Isolate der drei Blättlinge. Vier bis sechs Isolate pro Art wurden bearbeitet, um möglichst sicher zu sein, dass die jeweils artspezifische Sequenz erhalten wurde, und um das Ausmaß der intraspezifischen Varianz abschätzen zu können. Die Stammvarianz war bei den drei *Gloeophyllum*-Arten gering und betrug innerhalb einer Art maximal drei Nukleotid-Positionen. Die in der Datenbank EMBL niedergelegten Sequenzen von je zwei repräsentativen Isolaten je Art sind mit ihren Zugriffsnummern in Tab. 1 genannt. Unsere Sequenzen für *G. trabeum* sind nahezu identisch mit derjenigen von OH et al. (Datenbank).

Die ITS-Länge betrug 632 Basenpaare (bp) bei *G. abietinum*, 625 bp bei *G. sepiarium* und 626 bp bei *G. trabeum*. Diese Längen liegen im Bereich derjenigen der bisher untersuchten Hausfäulepilze von 636 bis 729 bp: 655 bp *Serpula lacrymans*, 650 bp *S. himantioides*, 639 bp *Donkioporia expansa*, 668 bp *Oligoporus placenta* (MORETH & SCHMIDT 2000), 727-729 bp *Coniophora puteana*, 672 bp *C. arida*, 670–671 bp *C. olivacea* (SCHMIDT et al. 2002), 654-657 bp *Antrodia vaillantii*, 636–638 bp *A. serialis*, 657 bp *A. sinuosa*, 653 bp *A. xantha* (SCHMIDT & MORETH 2002b), 703–706 bp *Leucogyrophana mollusca*, 734 bp *L. pinastri*, 654–655 bp *Meruliporia incrassata* (SCHMIDT & MORETH Datenbank unveröffentl.).

Die bisherigen Untersuchungen an Hausfäulepilzen hatten gezeigt, dass insgesamt etwa 20 % aller Isolate Fehlbestimmungen waren und zum Teil sogar anderen Gattungen angehörten. Besondere Schwierigkeiten hatten sich bei den jeweils sehr ähnlichen Arten von *Coniophora* und *Antrodia* aufgezeigt. Bemerkenswert ist, dass innerhalb des vorliegenden Kollektivs von Isolaten der drei *Gloeophyllum*-Arten keine einzige Fehlbestimmung vorlag; diese Pilze waren mit klassischen Methoden bestimmt worden. Hierbei dienten Isolierungen von Rundhölzern im Freien sowie von exponierten Fachwerkbalken und der Außenseite von Holzhäusern, wo die *Gloeophyllum*-Arten zur Fruchtkörperbildung neigen, als Vergleich für Abimpfungen aus dem Gebäude-Inneren, wo diese Pilze höchstens atypische Dunkelfruchtkörper ausbilden.

Die erhaltenen Daten runden unsere Sammlung von ITS-Sequenzen der wichtigen Hausfäulepilze ab (SCHMIDT & MORETH 2002a). Das bisher untersuchte und deponierte Kollektiv dürfte hin-

sichtlich Quantität etwa 80% der Gebäudepilze und qualitativ die wesentlichen Arten umfassen (u.a. GUILLITTE 1992).

Unbekannte Pilzproben können nach PCR-Amplifizierung und Sequenzierung nunmehr über ihre nrDNS-ITS-Sequenz mittels einer BLAST-Suche (z.B.: www.nlm.nih.gov/blast/Blast.cgi) in wenigen Sekunden entweder identifiziert, oder ihre nächste Verwandtschaft genannt bzw. als unähnlich mit den bisher deponierten Sequenzen ausgewiesen werden.

DNS-Sequenzierungen gelten weiterhin derzeit als mit Abstand wichtigstes Werkzeug der "Mole-kularen Systematik" (SCHMIDT-RHAESA & BARTOLOMAEUS 2001). Für taxonomische Fragestellungen können die ITS-Sequenzen per Internet heruntergeladen und mit denen anderer Pilze verglichen werden ("Stammbäume"), wie beispielsweise bei Hausfäulepilzen für eine Untersuchung zum Vorkommen des Hausschwammes im Freien (WHITE et al. 2001).

Wuchsversuche, Temperatur, Holzabbau und Substratansäuerung

Die Untersuchungen zu Wuchsgeschwindigkeit, Temperaturverhalten, Holzabbauvermögen und Säureausscheidung sollten aufzeigen, ob sich die drei *Gloeophyllum*-Arten mit diesen konventionellen Methoden differenzieren lassen. Wegen der wirtschaftlichen Bedeutung der Blättlinge in Gebäuden liegen zahlreiche Literaturbefunde zu ihrer Biologie vor. Arbeiten und Literaturauswertungen zu mehreren Arten mit jeweils verschiedenen Isolaten über Wachstum, Temperatur und Holzabbau sind jedoch selten (Cockcroft 1979; Eaton & Hale 1993). Häufig handelt es sich um Einzelbefunde an nur einer Art bzw. nur einem einzigen Isolat, wie oft bei dem EN 113-Prüfstamm *G. trabeum* Ebw. 109 (Isolat 183, Tab. 1).

Die Tabelle 2 fasst unsere Ergebnisse zur Wuchsgeschwindigkeit des Mycels auf Agar und Holz, zum Temperaturverhalten und Holzabbau sowie zur Säureausscheidung zusammen. Der maximale radiale Mycelzuwachs auf Agar war bei den Isolaten von *G. abietinum* mit durchschnittlich 4,7 mm pro Tag deutlich geringer als bei *G. sepiarium* (7,4 mm) und *G. trabeum* (8,0 mm). Die unabhängig in Karlsruhe durchgeführten Versuche ergaben zwar teils geringfügig niedrige Zuwächse, zeigten aber denselben Trend. Unterschiede zwischen verschiedenen Labors trotz prinzipiell gleicher Techniken sind häufig und beruhen oft auf methodischen Besonderheiten, hier möglicherweise auf geringfügig unterschiedlich konzentriertem Malzextrakt. Im Vergleich mit anderen Basidiomyceten in Gebäuden liegt die Wüchsigkeit der drei *Gloeophyllum*-Arten im Bereich des Hausschwammes mit durchschnittlich 4 mm Zuwachs pro Tag bei 19 Isolaten (SEEHANN & v.Riebesell 1988) und des Kellerschwammes mit im Mittel 7,4 mm bei 27 Isolaten (SCHMIDT et al. 2002). Bei Kirk (1973) dagegen wuchsen *G. abietinum* und *G. trabeum* mit etwa 5,7 mm pro Tag gleich schnell. Andere Isolate von *G. trabeum* sowie auch *G. sepiarium* zeigten 2,1 bis 6,1 mm tägliches Wachstum (Micales & Highley 1986, Ważny & Greaves 1984).

Auf dem natürlichen Substrat Holz war die Wuchsgeschwindigkeit insgesamt geringer (2,6–5,2 mm/Tag), da hier als Nährstoffe für die Braunfäulepilze die enzymatisch aufwendiger abbaubaren Makromoleküle Cellulose und Hemicellulose vorlagen.

Die Gebäudeblättlinge gelten als wärmetolerant (u.a. ZABEL & MORRELL 1992). Dies wird u.a. im Zusammenhang mit ihrem Vorkommen in durch Sonneneinstrahlung erhitztem Fensterholz gesehen. Als besonders wärmetolerant gilt *G. trabeum*, möglicherweise in Beziehung zu seiner Häufigkeit in warmen Klimaten (RYVARDEN & GILBERTSON 1993). Die Optimaltemperatur betrug bei den Isolaten von *G. abietinum* 25–27,5 °C und lag bei *G. sepiarium* mit 27,5–32,5 °C sowie

besonders bei G. trabeum mit 30-37,5 °C deutlich höher, wobei sich das Isolat 257 mit 37,5 °C hervorhob. Die Maximaltemperatur war bei G. abietinum 37,5-42,5 °C und lag bei G. sepiarium und G. trabeum oberhalb 45 °C. Auch die Letaltemperatur bei drei Wochen Einwirkung ergab G. abietinum mit 40-42,5 °C als relativ sensibel, während G. sepiarium und G. trabeum 3 Wochen bei 45 °C überlebten. Diese Daten wurden nach Überimpfen auf frischen Agar und Kultivierung bei Zimmertemperatur ermittelt, da einige Isolate bei den höheren Temperaturen zwar zunächst gewachsen waren, später aber ihre Aktivität einstellten. Bei höherer Temperatur wirkt sich nämlich zusätzlich zur Wärme das Austrocknen des Agars hemmend aus. Die erhaltenen Daten lassen sich mit den an zahlreichen Isolaten erlangten Werten von PALMER & PAYNE (1986) vergleichen, wo G. sepiarium bei 16 Tagen Einwirkung noch bei 41 °C, nicht bei 46 °C wuchs und nur noch wenige Stämme von G. trabeum bei 46 °C und nicht bei 52 °C Wachstum zeigten. Die Letalwerte nach Überimpfen auf neuen Agar waren für beide Pilze 52 °C. Für den Normstamm von G. trabeum (Isolat 183) ermittelte Wälchli (1977) als Optimum 31 °C, jedoch unter Verwendung größerer Temperaturabstufung. Mit vergleichbarer Zielsetzung durchgeführte Kurzzeitversuche zwischen 30 Minuten und 24 Stunden an je einem Isolat von G. sepiarium und G. trabeum ergaben: G. sepiarium überlebte 30 min. bei 65 °C, nicht jedoch 70 °C; G. trabeum widerstand 1 h bei 80 °C, nicht 3 h bei 70 °C (MIRIÉ & WILLEITNER 1984). XIE et al. (1997) nannten für G. sepiarium 1 h bei 60-65 °C als letal.

Im Hinblick auf das Holzzersetzungsvermögen finden sich zahlreiche Einzelwerte in Arbeiten, welche die Wirksamkeit von Holzschutzmitteln behandeln und den Versuchsansatz nach der Norm EN 113 durchführen, die unbehandelte Kontrollklötzchen zum Vergleich der Hemmwirkung vorsieht (siehe COCKCROFT 1979), Bei EN 113 wird als Holz für wässerige Schutzmittel das Splintholz von Kiefer verwendet, da sich deren Splint völlig durchtränken läßt. In Anbetracht, dass in Deutschland jedoch Fichte das häufigste Bauholz ist, wurden die Abbauversuche für eine größere Praxisnähe an Fichtenholzklötzchen durchgeführt. Verwendet wurde handelsübliche Fichte; eine Differerenzierung in Splint und Kern erfolgte daher nicht. Die gemittelten Daten für den Holzabbau nach sechs Monaten Kultivierung ergaben den geringsten Abbau bei G. sepiarium (35,6 %), mittlere Aktivität bei G. trabeum (37,5 %) und den höchsten Wert bei G. abietinum (40,6 %). Die Einzelwerte der erhaltenen Masseverluste reichten bei den vorliegenden Isolaten jedoch von 26,7 bis 47,4 % und überlappten zwischen den drei Arten, sodass eine Unterscheidung der Arten anhand ihres Holzzersetzungsvermögens nicht möglich war. Eine frühe Untersuchung aus dem Jahr 1930 unterschied bei G. abietinum zwischen 58 % Abbau bei frischen Fichtensplintholzproben, 30% bei getrocknetem Splint, 47 % bei frischem Kernholz und 24 % bei trockenem Kernholz (THÖRNOVIST 1987). Beim Normstamm von G. trabeum erhielten VIITANEN & RITSCHKOFF (1991) in Anlehnung an EN 113 nach 160 Tagen Kultivierung 70 % Masseverlust bei Fichtensplintholz und 62 % beim Kernholz.

Von den zahlreichen pH-Wertmessungen im Agar direkt neben pilzabgebauten Holzproben sind in Tab. 2 die minimalen pH-Werte aus der Serie von sechs Folgekulturen zum Holzabbau eingetragen. Bei den drei *Gloeophyllum*-Arten lag diese maximale Substratansäuerung im Bereich von nur pH 2,8 bis 3,4. Dies ist für Braunfäulepilze bemerkenswert, da diese Pilzgruppe ihre Substrate Holz, Agar oder flüssiges Medium in der Regel stärker ansäuert. Unter gleichen Bedingungen zeigten z.B. die Kellerschwammarten *Coniophora puteana* als Mittelwert bei 19 Isolaten pH 2,0, im Extrem pH 1,7, und *C. arida* pH 2,3 (SCHMIDT et al. 2002). Flüssigkulturen wurden von *Serpula lacrymans* und *Antrodia vaillantii* bis etwa pH 2,5 angesäuert (SCHMIDT 1995). Ursächlich für die Ansäuerung ist die bei Pilzen mengenmäßig als bedeutendste Säure ausgeschiedene Oxal-

säure. Es besteht die verbreitete Meinung, dass Braunfäulepilze ihr Substrat stärker als Weißfäulepilze ansäuern (u.a. Rypáček 1966). Braunfäulepilze reichern die Säure im Substrat an, Weißfäuleerreger dagegen decarboxylieren Oxalat mittels Oxalatdecarboxylase zu Formiat und setzen Oxalsäure ebenfalls im Zusammenhang mit dem enzymatischen Ligninabbau durch Ligninperoxidase und Manganperoxidase um (SHIMADA et al. 1994). Bei Weißfäulepilzen liegen die pH-Werte bei Versuchsende daher eher im nur leicht sauren bis sogar alkalischen Bereich. Beispielsweise bewirkte der Eichenporling (D. expansa) in Wasseragar neben Fichtenholz pH 3-4 (GRIMM unveröffentl.), und in Flüssigkultur ergaben die Speisepilze Shii-take (Lentinula edodes) pH 3,0-3,8, Stockschwämmchen (Kuehneromyces mutabilis) pH 5,4, Austernseitling (Pleurotus ostreatus) pH 6,0–6,5 und Winterpilz (Flammulina velutipes) pH 7,7 (SCHMIDT & KEBERNIK 1985, 1987) sowie der saprophytische Spaltblättling (Schizophyllum commune) pH 7,5 (SCHMIDT & LIESE 1978). Eine relativ geringe Säureproduktion bei Braunfäulepilzen wurde jedoch bereits für G. trabeum nachgewiesen, indem dieser Pilz ¹⁴C-Oxalsäure im Zusammenhang mit Celluloseabbau zu ¹⁴CO₂ umsetzte (ESPOJO & AGOSIN 1991). Im Hinblick auf die relativ geringe Ansäuerung (Tab. 2) könnte dieser Mechanismus für alle drei Gloeophyllum-Arten zutreffen. Demzufolge war jedoch eine Differenzierung der drei Arten hinsichtlich ihrer Säurebildung nicht möglich.

Insgesamt ergab sich, dass konventionelle Methoden zur Charakterisierung der drei *Gloeophyllum*-Arten wertvolle Hinweise liefern. Die molekulare Technik der ITS-Sequenzierung kann jedoch erstens nahezu jede beliebige Pilzprobe identifizieren, sofern zum Vergleich die artspezifische Sequenz in einer Datenbank vorliegt, und benötigt zweitens mit PCR, Gelelektrophorese und Sequenzierung wenig Zeit.

Danksagung

Der molekulare Anteil der Arbeit wurde dankenswerterweise von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) innerhalb des Projektes "Molekulare Untersuchungen an Hausfäulepilzen zur Charakterisierung und Diagnose" gefördert. Frau Sybille Wörner danken wir für ihre experimentelle Hilfe.

Literatur

- AANEN, D. K., T. W. KUYPER & R. F. HOEKSTRA (2001) A widely distributed ITS polymorphism within a biological species of the ectomycorrhizal fungus *Hebeloma velutipes*. Mycol. Research. **105**: 284-290.
- Breitenbach, J. & F. Kränzlin (1986) Pilze der Schweiz. Bd. 2. Luzern.
- Bruns, T. D., T. J. White & J. W. Taylor (1991) Fungal molecular systematics. Annu. Rev. Ecol. Syst. 22: 525-564.
- Cockcroft, R. (1979) Some wood-destroying basidiomycetes. Vol. 1 Collection of monographs. Papua, New Guinea.
- EATON, R. A. & M. D. C. HALE (1993) Wood decay, pests and protection. London.
- ESPEJO, E. & E. AGOSIN (1991) Production and degradation of oxalic acid by brown rot fungi. Appl. Environm. Microbiol. **57**: 1980-1986.
- GUILLITTE, O. (1992) Épidémiologie des attaques. In La mérule et autres champignons nuisibles dans les bâtiments, 2. Aufl., S. 34-42. Meise, Belgique.
- HUCKFELDT, T. (2002) Echter Hausschwamm. Informationen zu holzzerstörenden Pilzen. www.stud.unihamburg.de/users/Serpula.

- KIRK, H. (1973) Untersuchungen über die Zerstörungsintensität von Pilzstämmen verschiedener Herkunft der Gattungen Coniophora, Lentinus, Poria, Gloeophyllum und Chaetomium. Holztechnologie 14: 79-86.
- Koch, P. (1985) Wood decay in Danish buildings. Int. Res. Group Wood Preserv. 1261, 8 S.
- MICALES J. A. & T. L. HIGHLEY (1986) The use of senescent cultures of *Postia placenta*, *Gloeophyllum sepiarium* and *Gloeophyllum trabeum* in the study of wood decay. In Current topics in forest research. Proc. Nat. Symp. Gainesville Fl, Bericht **46**: 71-81.
- MIRIĆ, M. & H. WILLEITNER (1984) Lethal temperature for some wood-destroying fungi with respect to eradication by heat treatment. Int. Res. Group Wood Preserv. 1229, 8 S.
- MORETH, U. & O. SCHMIDT (2000) Identification of indoor rot fungi by taxon-specific priming polymerase chain reaction. Holzforschung **54**: 1-8.
- MUIR, G. & C. SCHLÖTTERER (2000) Limitations to the phylogenetic use of ITS sequences in closely related species and populations a case study in *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. Mittlg. Bundesforschungsanst. Forst- Holzwirtsch. 198: 87-93.
- Palmer, J. G. & R. G. Payne (1986) The effects of supraoptimal temperatures upon North American brown-rot fungi in pure culture. Can. J. For. Res. 16: 169-176.
- POTYRALSKA, A., O. SCHMIDT, U. MORETH, P. LAKOMY & R. SIWECKI (2002) rDNA-ITS sequence of *Armillaria* species and a specific primer for *A. mellea*. Forest Genetics **9**, im Druck.
- Rypáček, V. (1966) Biologie holzzerstörender Pilze. Jena.
- RYVARDEN L. & R. L. GILBERTSON (1993) European polypores. Teil 1. Oslo.
- SCHMIDT, O. (1994) Holz- und Baumpilze Biologie, Schäden, Schutz, Nutzen. Berlin, Heidelberg, New York.
 - (1995) Über die Porenhausschwämme. Symp.-Bericht 20. Holzschutztagung 1995. Dtsch. Ges. Holzforsch., 171-196.
 - (2000) Molecular methods for the characterization and identification of the dry rot fungus Serpula lacrymans. Holzforschung 54: 221-228.
- SCHMIDT, O., K. GRIMM & U. MORETH (2002) Molecular identity of species and isolates of the *Coniophora* cellar fungi. Holzforschung **56**, im Druck.
- SCHMIDT, O. & U. KEBERNIK (1985) Versuche zur Zucht von Speisepilzen auf Holzreststoffen. Material Organismen 20: 157-170.
- (1987) Wuchsansprüche, Enzyme und Holzabbau des auf Holz wachsenden Speisepilzes `Shii-take'
 (*Lentinus edodes*) sowie einiger seiner Homo- und Dikaryonten. Material Organismen 22: 237-255.
- SCHMIDT, O. & W. LIESE (1978) Biological variations within Schizophyllum commune. Material Organismen 13: 169-185.
- SCHMIDT, O. & U. MORETH (1998) Characterization of indoor rot fungi by RAPD analysis. Holzforschung 52: 229-233.
 - (1999) Identification of the dry rot fungus, Serpula lacrymans, and the wild merulius, S. himantioides, by amplified ribosomal DNA restriction analysis (ARDRA). Holzforschung 53: 123-128.
- (2000) Species-specific priming PCR in the rDNA-ITS region as a diagnostic tool for Serpula lacrymans. Mycol. Research. 104: 69-72.
- (2002a) Data bank of rDNA-ITS sequences from building-rot fungi for their identification. Wood Sci. Technol. 36, im Druck.
- (2002b) Molecular identity of species and isolates of internal pore fungi Antrodia spp. and Oligoporus placenta. Holzforschung 56, im Druck.
- SCHMIDT-RHAESA, A. & T. BARTOLOMAEUS (2001) Fortschritte in der Zoologischen Systematik. Naturwiss. Rundsch. **54**: 121-131.

- SCHULTZE-DEWITZ, G. (1985) Holzschädigende Organismen in der Altbausubstanz. Bauztg. 39: 565-566.
- (1990) Die Holzschädigung in der Altbausubstanz einiger brandenburgischer Kreise. Holz-Zbl. 116:
 1131.
- SEEHANN, G. & M. v. RIEBESELL (1988) Zur Variation physiologischer und struktureller Merkmale von Hausfäulepilzen. Material Organismen 23: 241-257.
- SHIMADA, M., D.-B. MA, Y. AKAMATSU & T. HATTORI (1994) A proposed role of oxalic acid in wood decay systems of wood-rotting basidiomycetes. FEMS Microbiol. Rev. 13: 285-296.
- STALPERS, J. A. (1978) Identification of wood-inhabiting Aphyllophorales in pure culture. Stud. Mycol. Baarn 16, 248 S.
- THEDEN, G. (1972) Das Absterben holzzerstörender Pilze in trockenem Holz. Material Organismen 7: 1-10.
- THEODORE, M. L., T. W. STEVENSON, G. C. JOHNSON, J. D. THORNTON & A. C. LAWRIE (1995) Comparison of *Serpula lacrymans* isolates using RAPD PCR. Mycol. Research **99**: 447-450.
- THÖRNQVIST, T. (1987) Vedegenskaper och mikrobiella angrep i och på byggnadsvirke (Holzeigenschaften und mikrobieller Angriff in und auf Bauholz). Sveriges Lantbruksuniversitet Uppsala, Bericht 10, 113 S.
- VIITANEN, H. & A.-C. RITSCHKOFF (1991) Brown rot decay in wooden constructions. Swed. Univ. Agricult. Sci. Dept. For. Prod. 222, 55 S.
- WAŻNY, J. & H. GREAVES (1984) A comparison of fungal strains used in the bioassay of wood preservatives. Int. Res. Group Wood Preserv. 2220, 38 S.
- WÄLCHLI, O. (1977) Der Temperatureinfluß auf die Holzzerstörung durch Pilze. Holz Roh-Werkstoff 35: 45-51.
- WHITE, N. A., P. K. DEHAL, J. M. DUNCAN, N. A. WILLIAMS, J. S. GARTLAND, J. W. PALFREYMAN & D. E. L. COOKE (2001) Molecular analysis of intraspecific variation between building and `wild´ isolates of *Serpula lacrymans* and their relatedness to *S. himantioides*. Mycol. Research **105**: 447-452.
- WILCOX, W. W. & M. DIETZ (1997) Fungi causing above-ground wood decay in structures in California. Wood Fiber Sci. 29: 291-298.
- XIE, Y., J. BJURMAN & L. WADSÖ (1997) Microcalorimetric characterization of the recovery of a brown-rot fungus after exposures to high and low temperature, oxygen depletion, and drying. Holzforschung 51: 201-206.
- ZABEL, A. & J. J. MORRELL (1992) Wood microbiology. Decay and its prevention. San Diego.

Eingereicht am 2.8.2002



Dieses Werk stammt aus einer Publikation der DGfM.

www.dgfm-ev.de

Über Zobodat werden Artikel aus den Heften der pilzkundlichen Fachgesellschaft kostenfrei als PDF-Dateien zugänglich gemacht:

- Zeitschrift für Mykologie
 Mykologische Fachartikel (2× jährlich)
- Zeitschrift für Pilzkunde (Name der Heftreihe bis 1977)
- DGfM-Mitteilungen
 Neues aus dem Vereinsleben (2× jährlich)
- Beihefte der Zeitschrift für Mykologie
 Artikel zu Themenschwerpunkten (unregelmäßig)

Dieses Werk steht unter der <u>Creative Commons Namensnennung</u> - <u>Keine Bearbeitungen 4.0 International Lizenz</u> (CC BY-ND 4.0).



- Teilen: Sie dürfen das Werk bzw. den Inhalt vervielfältigen, verbreiten und öffentlich zugänglich machen, sogar kommerziell.
- Namensnennung: Sie müssen die Namen der Autor/innen bzw.
 Rechteinhaber/innen in der von ihnen festgelegten Weise nennen.
- Keine Bearbeitungen: Das Werk bzw. dieser Inhalt darf nicht bearbeitet, abgewandelt oder in anderer Weise verändert werden.

Es gelten die <u>vollständigen Lizenzbedingungen</u>, wovon eine <u>offizielle</u> <u>deutsche Übersetzung</u> existiert. Freigebiger lizenzierte Teile eines Werks (z.B. CC BY-SA) bleiben hiervon unberührt.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Zeitschrift für Mykologie - Journal of the German Mycological Society

Jahr/Year: 2002

Band/Volume: <u>68 2002</u>

Autor(en)/Author(s): Schmidt Olaf, Grimm Klaus, Moreth Ute

Artikel/Article: Molekulare und biologische Charakterisierung von Gloeophyllum-

Arten in Gebäuden 141-152