

Einführung in die Bestimmung perithezialer Ascomyceten

B. Wergen 2017
Schwarzwälder Pilzlehorschau
Hornberg

Index

- Kurzübersicht und allgemeine Erklärungen
- Makro- und mikroskopische Eigenschaften
 - Sordariomycetes
 - Charakteristik der xylarialen Sordariomyceten
 - Gewöhnliche und ungewöhnliche Sporentypen
 - Die Gattung *Diaporthe*
 - Dothideomycetes
 - Was ist bitunikat? Und was bedeutet eigentlich fissitunikat?
 - Gewöhnliche und ungewöhnliche Sporentypen
 - Die Gattung *Sporormiella*
- Bestimmung der perithezialen Ascomyceten, step-by-step
 - Beispiel einer Bestimmung

ASCOMYCOTA

**Discomycetes
Becherlinge**

**Pyrenomycetes
Kernpilze**

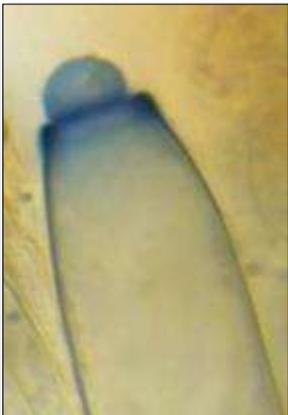
**operkulate
Becherlinge**

**inoperkulate
Becherlinge**

**unitunikate
Kernpilze**

**bitunikate
Kernpilze**

**Sp-Schlauch
mit Deckel**



Pezizomycetes

**Sp-Schlauch
mit Ring**



Leotiomyces

**Sp-Schlauch
mit einfacher
Wand**



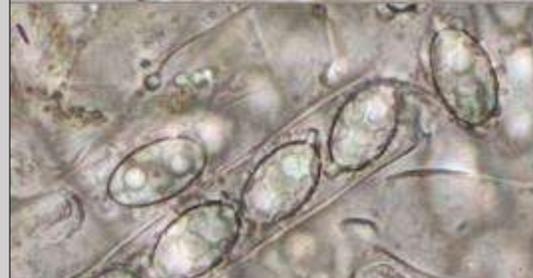
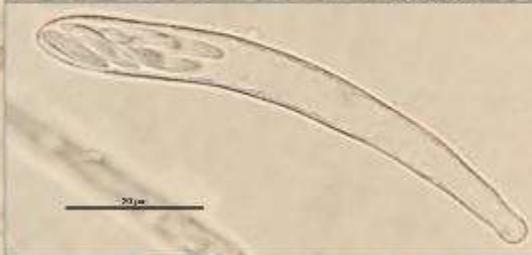
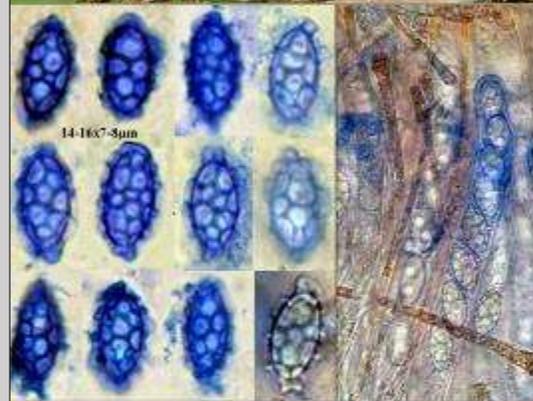
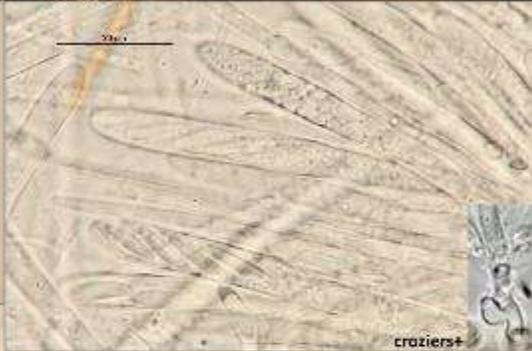
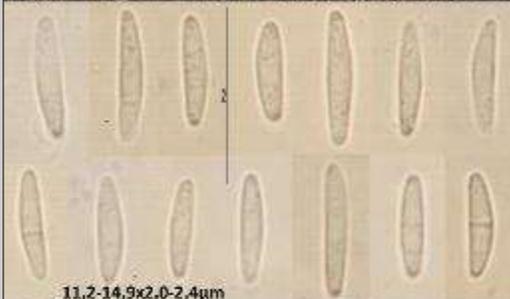
Sordariomycetes

**Sp-Schlauch
mit
doppelter
Wand**



Dothideomycetes

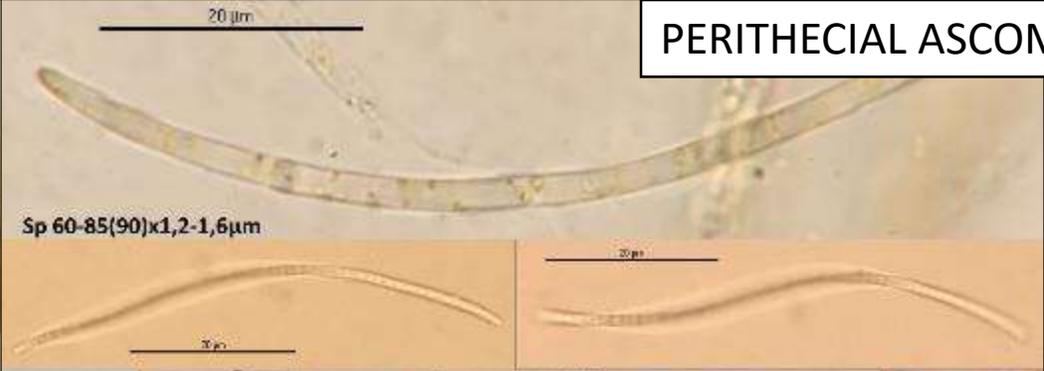
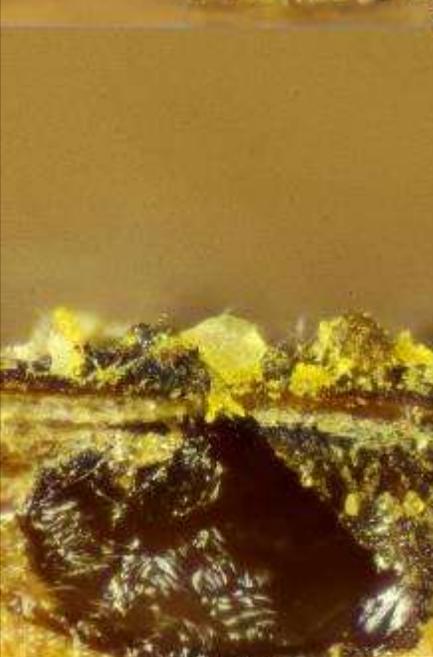
Becherlinge (APOTHEZIEN)



LEOTIOMYCETES

PEZIZOMYCETES

PERITHECIAL ASCOMYCETES



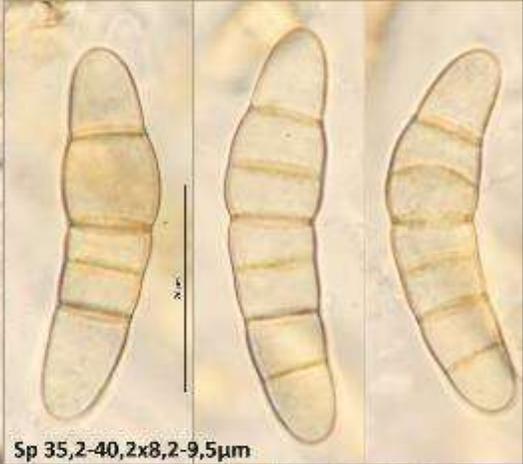
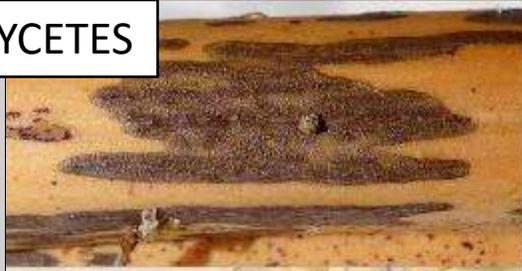
Sp 60-85(90)x1,2-1,6µm



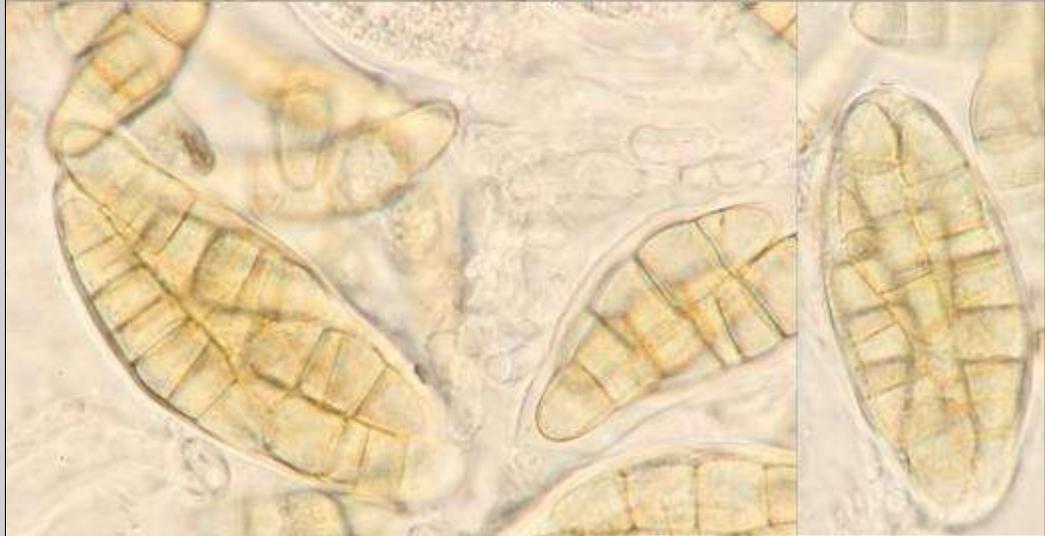
Asci 130-150x7-8,5µm



SORDARIOMYCETES

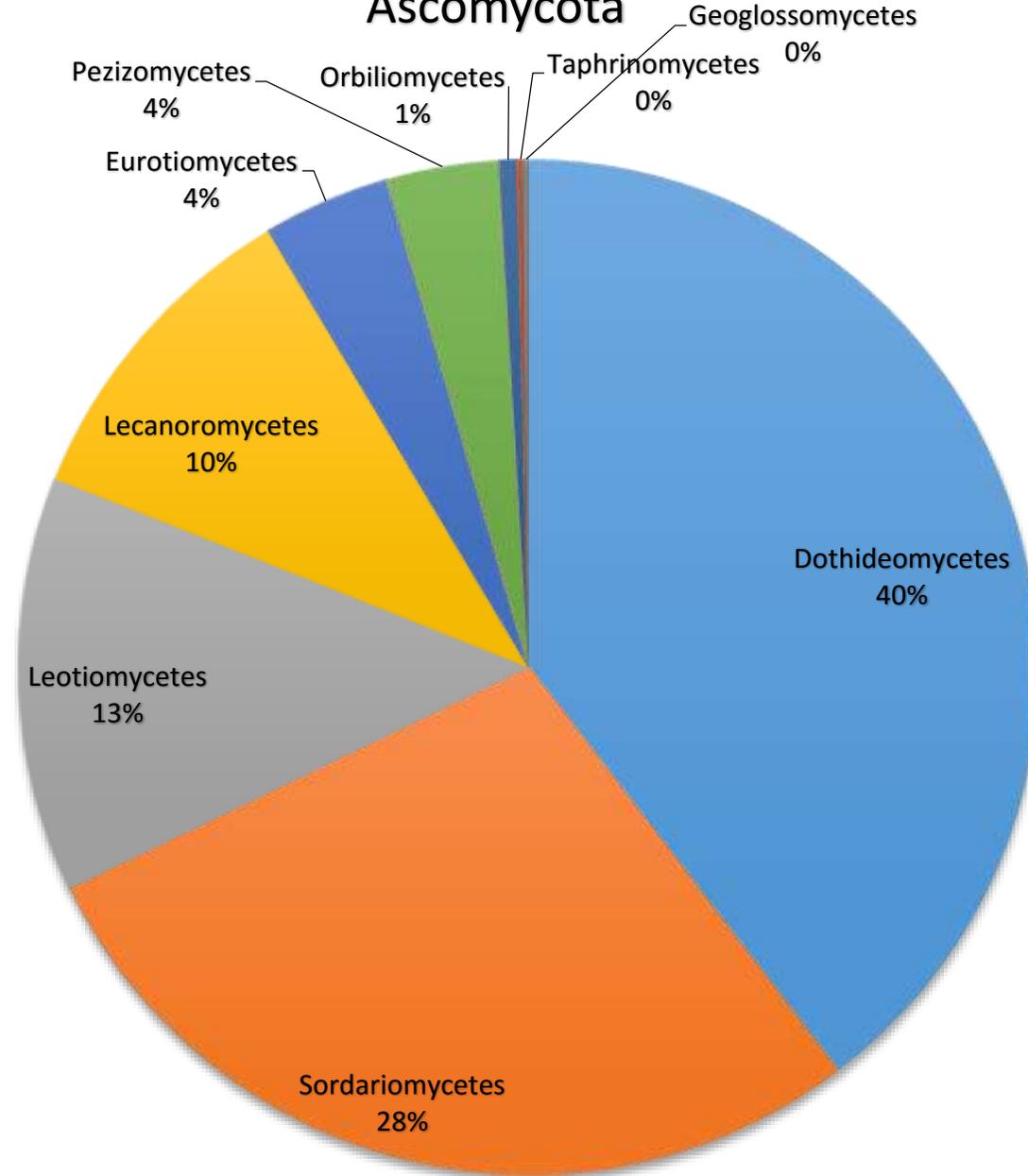


Sp 35,2-40,2x8,2-9,5µm



DOTHIDEOMYCETES

Ascomycota



Ein systematischer Überblick

Klasse Sordariomycetes: Kernpilze mit einfacher Ascuswand

Häufige Charakteristika: Fruchtkörper oft >1mm; Perithezien häufig in Stromata; tendenziell eher an Holz und Blättern; Ascusporus blauend (= Xylariales-Merkmal!); oft dunkle oder hyaline Sporen; selten dictyospor

Klasse Dothideomycetes: Kernpilze mit doppelter Ascuswand, Hymenium nicht dem Zentrum entspringend, Fruchtkörperwand zellig

Häufige Charakteristika: Fruchtkörper oft <1mm; Pseudoperithezien selten in Stromata (falls ja: Dothideales-Merkmal!); tendenziell eher an Stängeln und Grashalmen; Ascusporus NIE blauend (!); oft strohfarbene, gelbgrüne oder grünbraune Sporen; häufig dictyospor (= Pleosporales-Merkmal!)

Klasse Eurotiomycetes: Kernpilze mit doppelter oder einfacher Ascuswand, Hymenium dem Zentrum entspringend, oft ohne definierte Fruchtkörperwand

Häufige Charakteristika: Fruchtkörper <1mm; Cleistothezien nie in Stromata; tendenziell eher an Dung, Holz, Pflanzenresten; Ascusporus NIE blauend; oft grünliche Sporen; Ascus oft kugelig (= Eurotiales-Merkmal!).



SORDARIOMYCETES

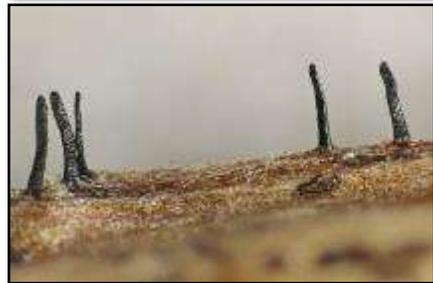
Hypocreales

Nectria
Trichoderma
Cordyceps sl



Diaporthales

Diaporthe
Gnomonia
Ditopella
Prosthecium



Sordariales

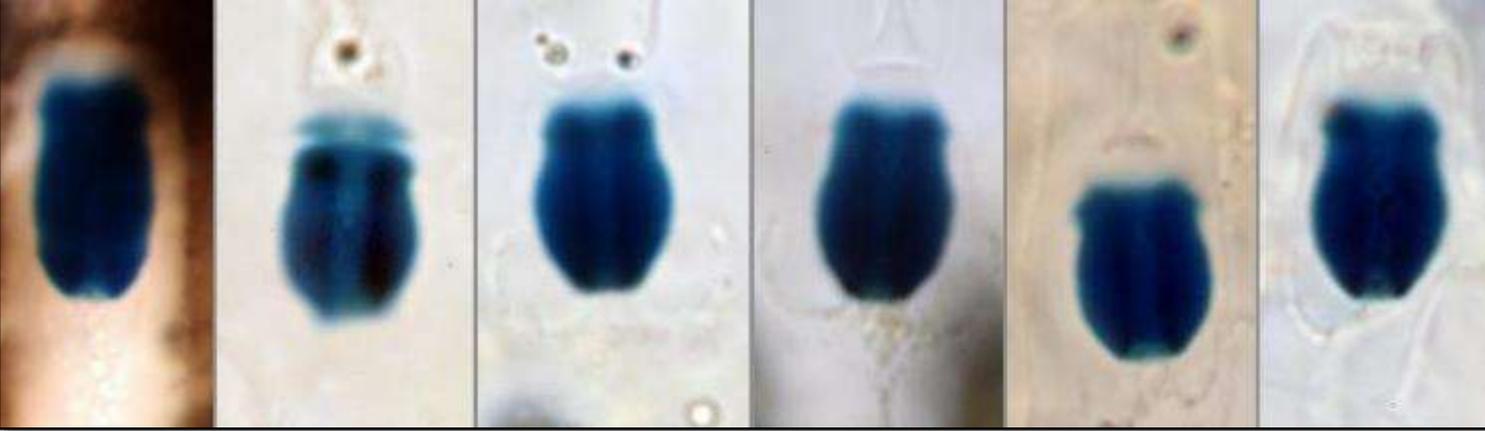
Sordaria
Lasiosphaeria
Bombardia



Xylariales

Hypoxylon sl
Diatrype
Eutypa, Eutypella
Xylaria
Daldinia



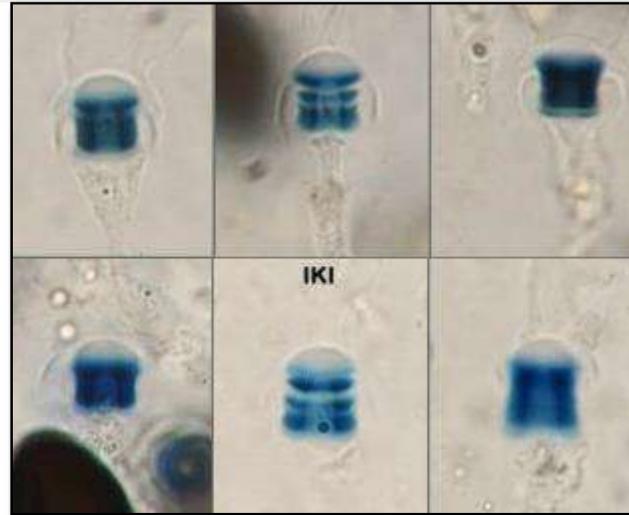


Für die Sordariomyceten sind anfärbbare **Apikalapparate** typisch, dennoch haben viele Arten derart dünne Strukturen, dass diese unter dem Lichtmikroskop als „negativ“ bezeichnet werden müssen. D.h. es gibt weder eine **congophile**, noch eine **amyloide** oder **hemiamyloide** Reaktion.

Bei den Xylariales achtet man zudem noch auf die Form des Apikalapparats, dieser ist von Gattung zu Gattung verschieden. Typischerweise haben Arten der Gattung *Rosellinia* die auffälligsten Apikalapparate.

Starke congophile Reaktionen haben die Arten der Familie *Annulatasceae* (Wasserkugelpilze).

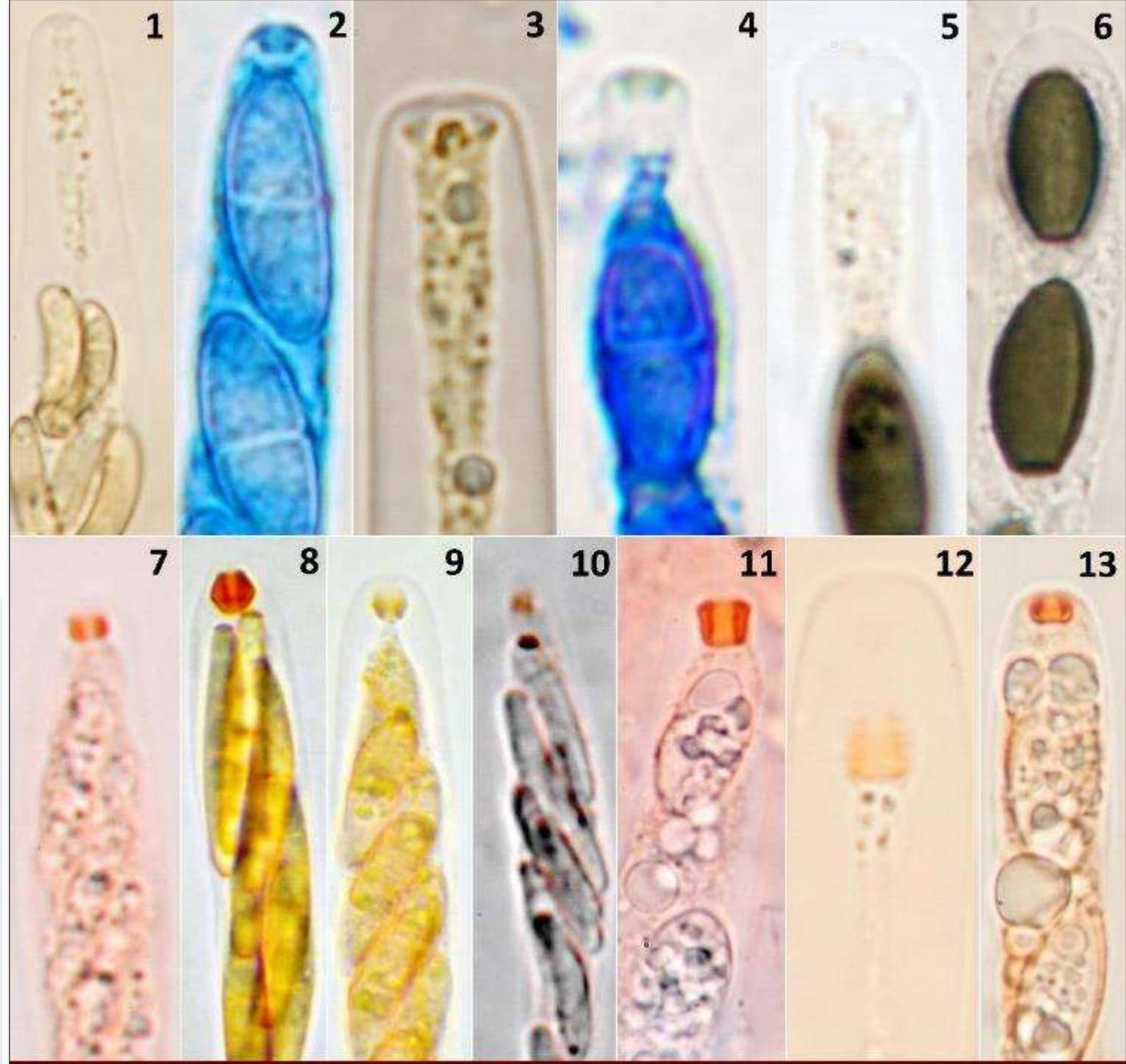
Sporenschläuche mit einfacher Wand sind unitunikat

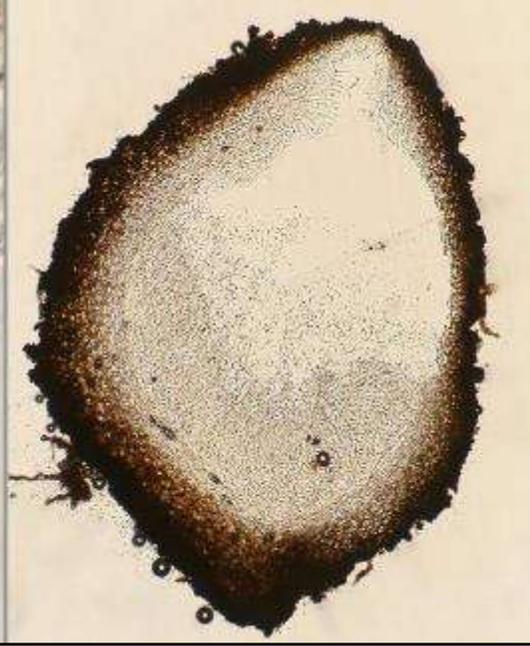
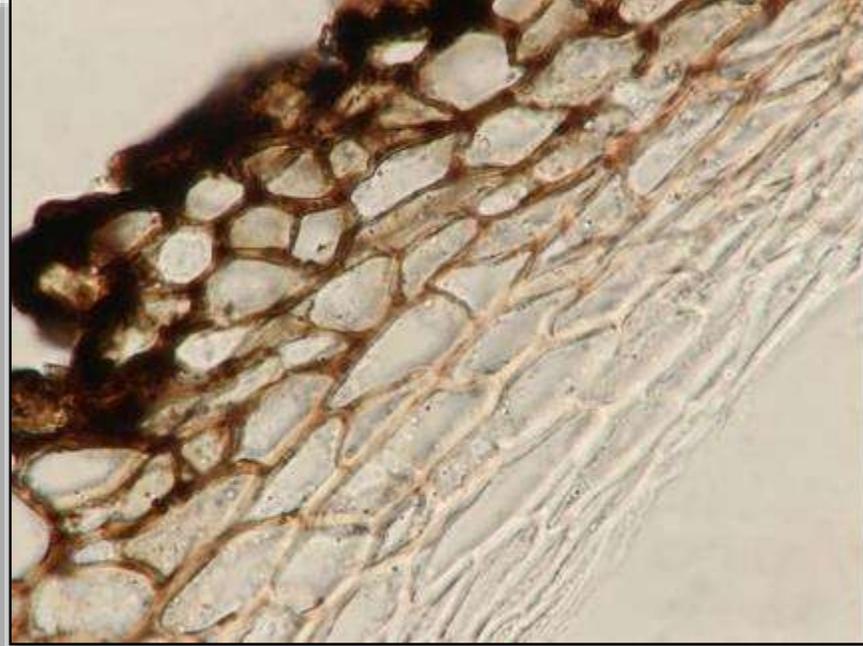


Beispiele für Apikalapparate der Sordariomycetes

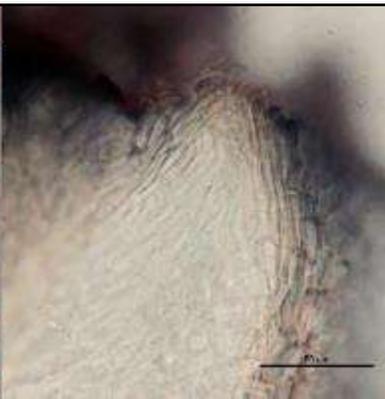
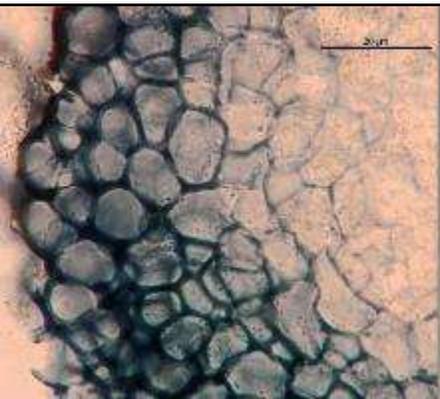
Die Apikalapparate der Sporenschläuche der Sordariomycetes sind vielfältig, wie die Collage zeigt. Die obere Reihe präsentiert Arten, die keine Reaktion auf Kongorot zeigen („nicht congophil“). Die Sporenschläuche der unteren Reihe sind allesamt anfärbbar aufgrund der massiven Apikalstruktur, in deren Mitte sich ein sichtbarer Porus befindet (von oben gesehen ein Ring, siehe Collage unten).

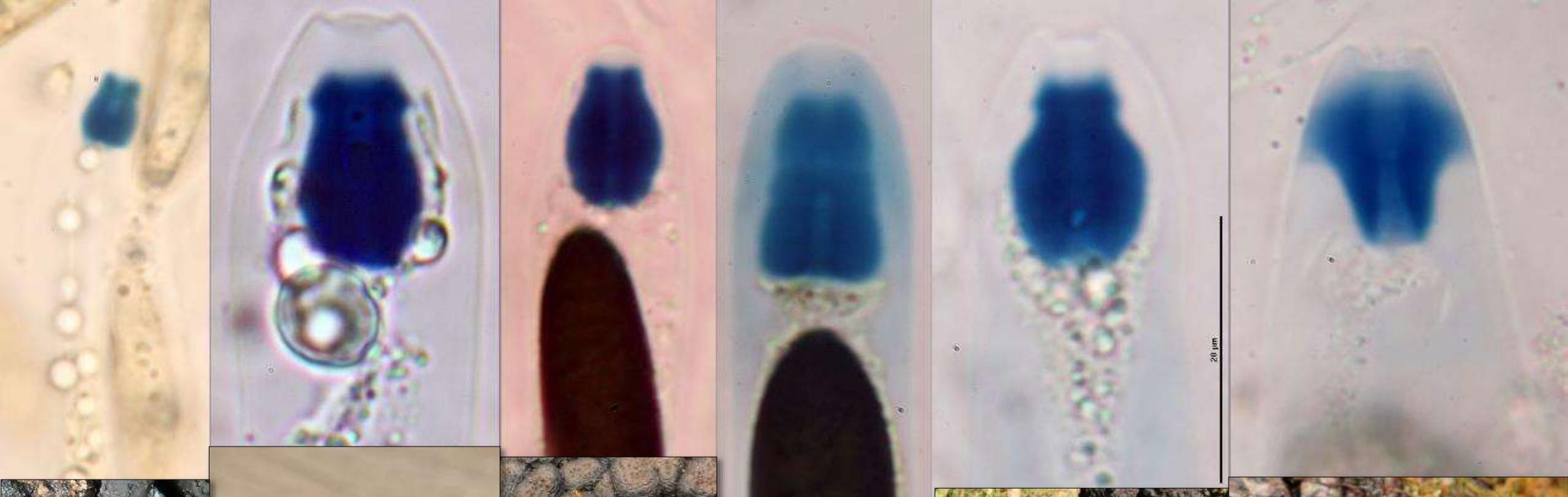
Es gibt auch einige Xylariales, die weder amyloide, noch congophile Porusreaktionen zeigen (vor allem *Barrmaelia*, einige *Anthostomella* und *Eutypella*).





Verschiedene Fruchtkörperformen und Wandstrukturen in **Sordariomycetes**





KRETZSCHMARIA

K. deusta
Germany

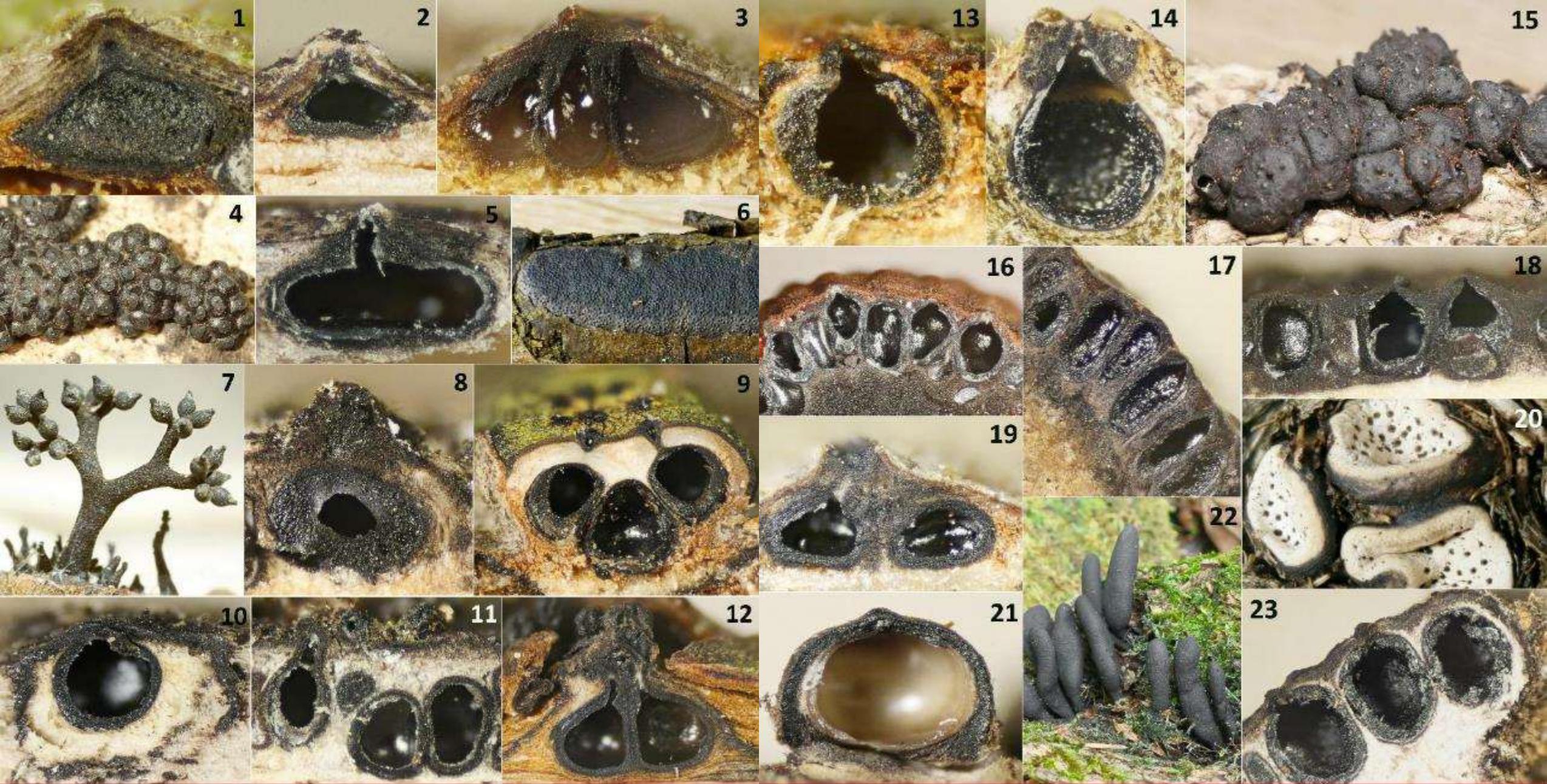
K. milleri
La Réunion

K. cetrarioides
Panama

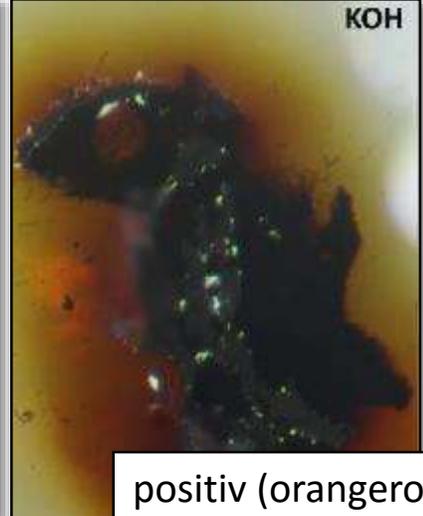
K. clavus
Panama

K. guyanensis
Panama

K. sp. nov.
Panama



Macromorphology of *Xylariales*



positiv (orangerot)



negativ



positiv (olivgrün)



KOH

KOH-Reaktion (3%)

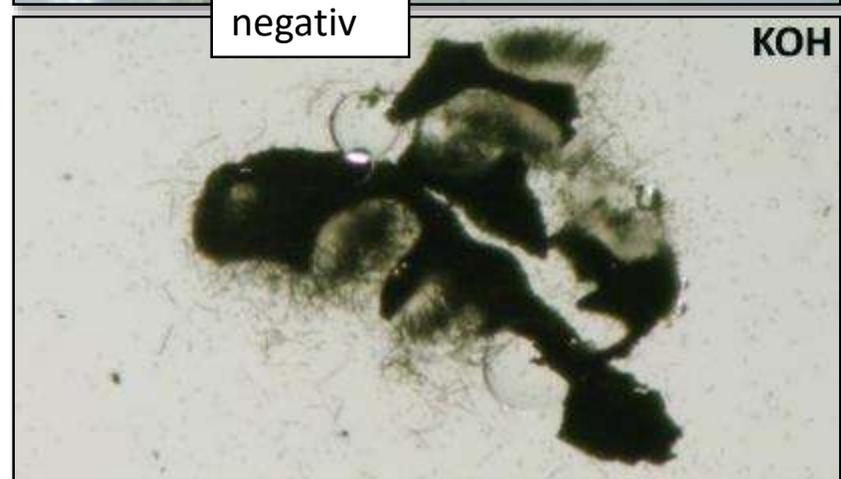
Methode:

Eine kleine Scheibe von einem Anschnitt schneiden und in KOH 3%/20% legen. Mit einer Präpariernadel oder einer Rasierklinge etwas zerzupfen, um die Intensität des Herauslösens der Farbe zu verstärken.

Achtung: Die Sporen mancher Arten wirken in der Masse olivgrünlich.

Positive Reaktionen haben z.B. Arten der Gattungen *Hypoxylon*, *Annulohypoxylon* und *Daldinia*.

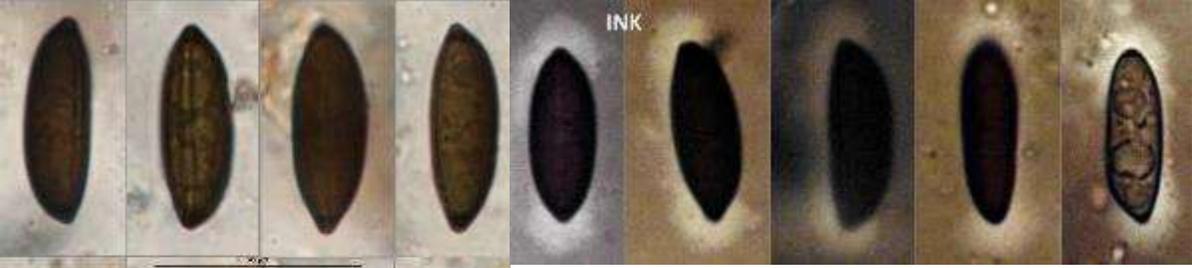
Negative Reaktionen haben z.B. *Kretzschmaria* und *Nemania*.



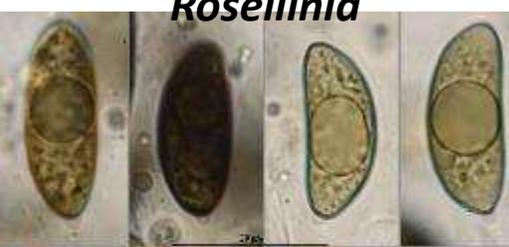
KOH



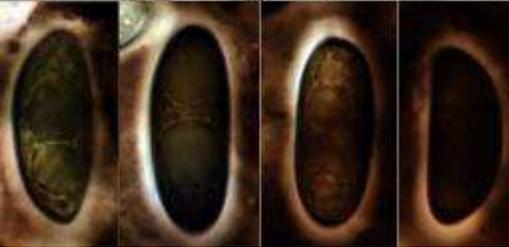
KOH



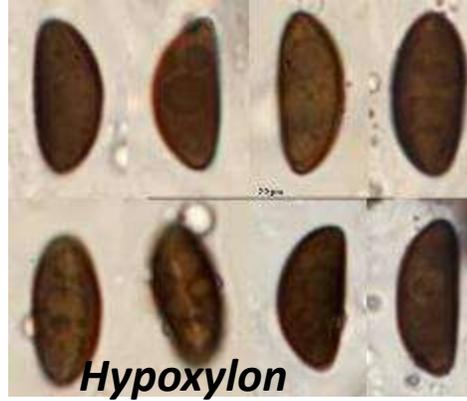
Rosellinia



Kretzschmaria



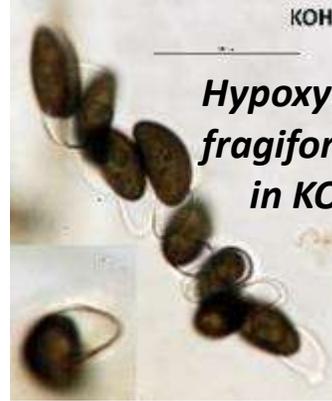
Amphisphaerella



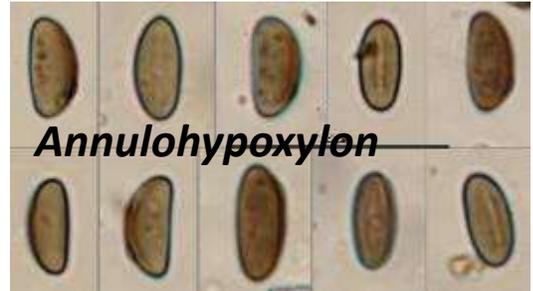
Hypoxylon



„*Euepixylon*“



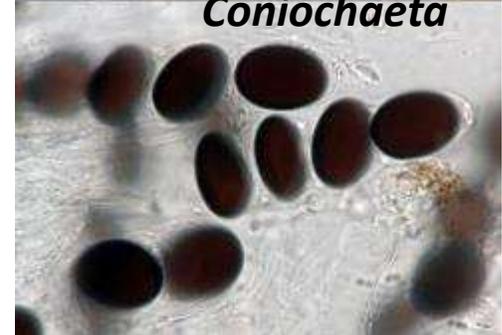
Hypoxylon fragiforme
in KOH 3%



Annulohypoxylon



Coniochaeta



Arnium apiculatum



The spores of dark-spored Sordariomycetes usually have one or few germ pores or a germ slit, which is important to check.

SPORENTYPEN 1: Hyaline bis blassbraune, 1-2zellige Sporen



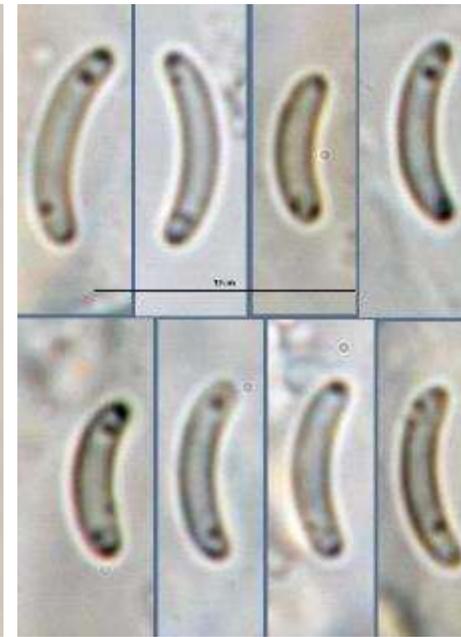
Diaporthe

Sporen elliptisch, oft mit zugespitzten Enden. Oft mit 1-2 Tropfen pro Zelle, zentral septiert, viele Arten mit hyalinem Anhängsel an beiden Enden.



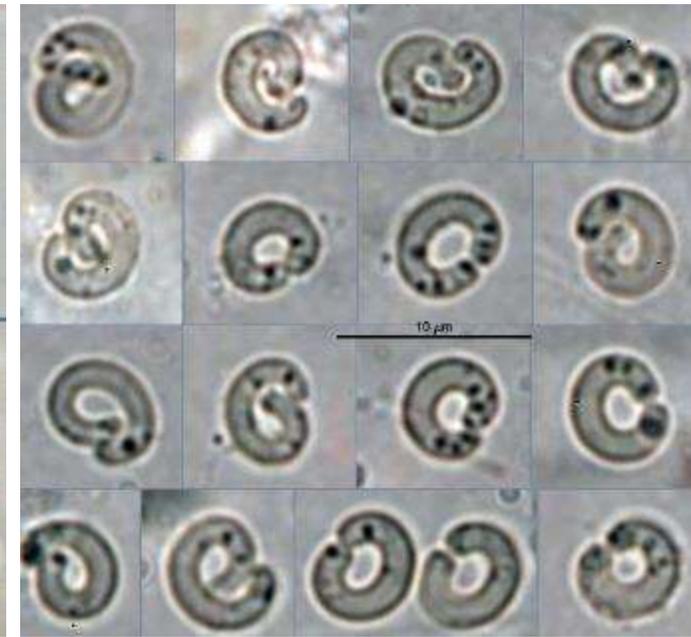
Valsa

Sporen zylindrisch bis allantoid, ohne Tropfen, Enden abgerundet, ohne Septierung, ohne Anhängsel.



Diatrype/Diatrypella

Sporen oft deutlich allantoid, hellbraun, mit Tropfen an beiden Enden, ohne Septierung, ohne Anhängsel.



„cyclospor“

Sporen bilden einen Kreis bei folgenden Arten:

Eutypa crustata

Calosphaeria cyclospora

SPORENTYPEN 2: mauersporige Sordariomycetes



Thyronectria

Sporen elliptisch, hyalin bis blass braun, glattwandig, ohne Gelhülle, ohne Anhängsel. Z.T. durch alle Zellen mit mindestens einer Längsseptierung.



Discostroma massarina

Sporen elliptisch, hyalin, glattwandig, ohne Gelhülle, ohne Anhängsel. Nur durch 1-2 Zellen mit einer Längsseptierung, Ascus IKI+ (sehr seltene Merkmalskombination!)



Rhamphoria

Sporen spindelig, hyalin, glattwandig, mit kaum sichtbaren Septierungen (=> Melzer). Mit mindestens einer unterbrochenen, oft schrägen Längsseptierung durch alle Zellen



„*Amylostrickeria*“

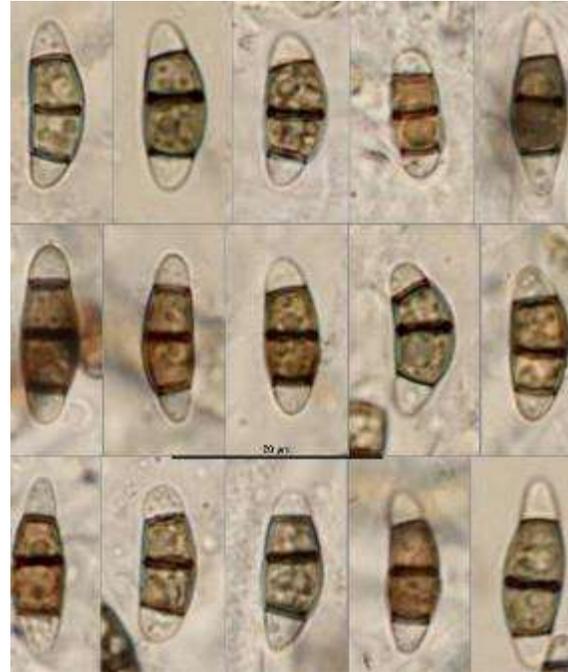
Sporen elliptisch, blassgrünlich, glattwandig, ohne Gelhülle, ohne Anhängsel. Oft nur durch 1 Zelle mit einer Längsseptierung. Ascus IKI+ (bislang nicht bekannte Merkmalskombination!)

SPORENTYPEN 3: Zweifarbige Sporen



Endoxyla mallochii
Clypeosphaeria perfidiosa

Sporen zweizellig, davon die große dunkel und die kleine hyalin (bc = bicolor). Man achte auf den **Keimporus** an der dunklen Zelle.



Ascocodinaea stericola

Sporen vierzellig, davon die beiden zentralen Zellen braun, die Endzellen hyalin.



Ascotaiwania lignicola

Sporen achtzellig, davon die sechs inneren Zellen braun, die Endzellen hyalin.

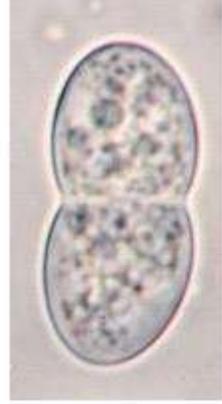
Dictyoporthe bipapillata

Sporen mauerförmig, die inneren Zellen braun, die Endzellen hyalin.



Example: Identification of species of the genus *Diaporthe*

On this page you can see an example plate which can help you to put a species of the large genus *Diaporthe* into a group. Each group is defined by spore shape and appendages. Although the spores look very similar in nearly all of the species, there are some minor differences. Furthermore, identifying the host can help you too (according to literature, like Munk 1966, Dennis 1978 and others the substrate is the main feature to differ the species. After studying dozens of species I can tell you that the substrate is not all you can get ;)



inaequalis (*Cytisus*)
fibrosa (*Rhamnus*)



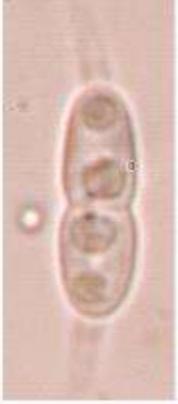
detrusa (*Berberis*)
otthi (*Ulmus*)
padi (*Prunus padus*)
spiculosa (*Sambucus*)
strumella (*Ribes*)
Amph. leiphaemia (*Quercus*)



arctii (z.B. *Arctium*)
eres (various)



ailanthi (*Ailanthus*)
briardiana (*Salix*)
oncostoma (*Robinia*)
pustulata (*Acer*)
syngenesia (*Frangula*)



cedricola (*Cedrus*)
All. decedens



single perithecia

arcti, eres



clustered (valsoid) perithecia

ailanthi, briardiana, cedricola, detrusa, fibrosa, inaequalis, oncostoma, otthi, padi, pustulata, spiculosa, strumella, syngenesia, Amph. leiphaemia, All. decedens

DOTHIDEOMYETES

Pleosporales

Pleospora
Sporormiella
Lophiostoma



Dothideales

Dothidea
Dothiora



Tubeufiales

Acanthostigma
Tubeufia



Hysteriales/Mytilinidiales

Hysterium, Mytilinidion





Dothideomyceten sind eine mehr oder weniger geschlossene, aber sehr heterogene Gruppe mit häufig unauffälligen Arten, die winzige Fruchtkörper in oder auf verschiedenen Substraten bilden. Typisch sind ihre Sporenschläuche, die aus einem **Endo- und** einem **Exoascus** bestehen. Der Endoascus befindet sich bis zur Sporenreife im Exoascus und fährt bei Reife teleskopartig aus, sodass sich die Länge des Sporenschlauchs verdoppeln kann (diese Sporenschläuche werden NICHT für die Längenmessung benötigt!). Die recht dünne Wand des Endoascus reißt unregelmäßig auf oder zerfällt und lässt somit die Sporen frei.

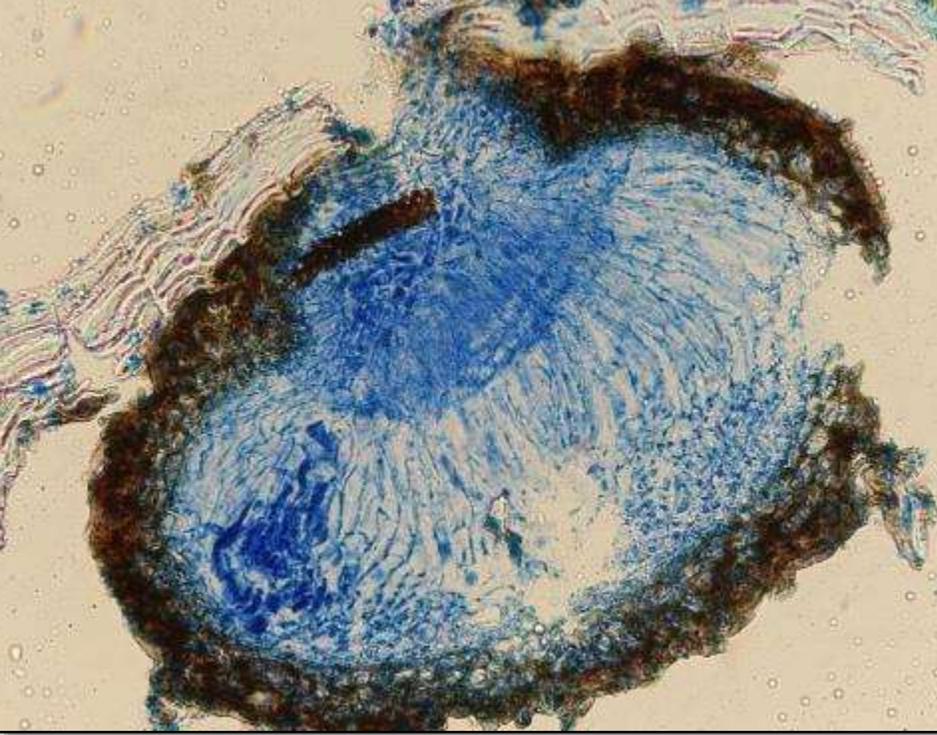
Typischerweise befindet sich an der Sporenschlauchspitze eine etwas dünnere Stelle, der **Apikalapparat**. Dieser lässt sich im Regelfall nicht anfärben und reagiert auch nicht mit Iodreagenzien.

Dothideomyceten sind in ihrer anamorphen Erscheinungsform häufig Parasiten, in ihrer teleomorphen E. leben sie dann als Saprobionten weiter.



Sporenschläuche mit doppelter Wand bestehend aus Endo- und Exoascus heißen bitunikat.

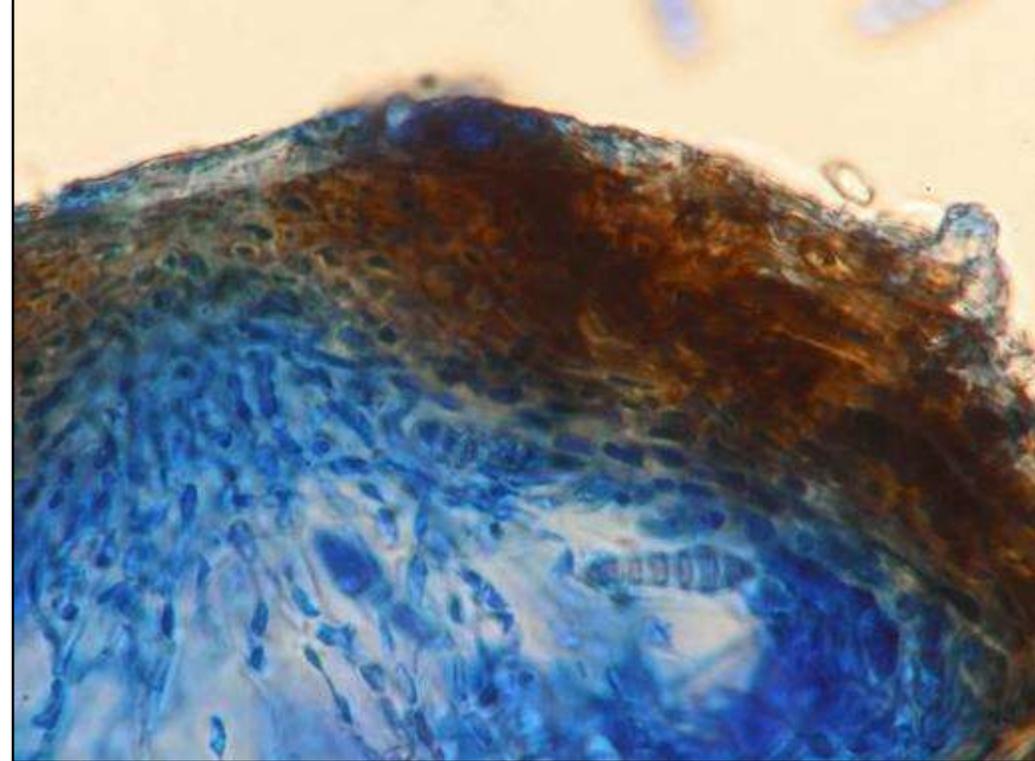
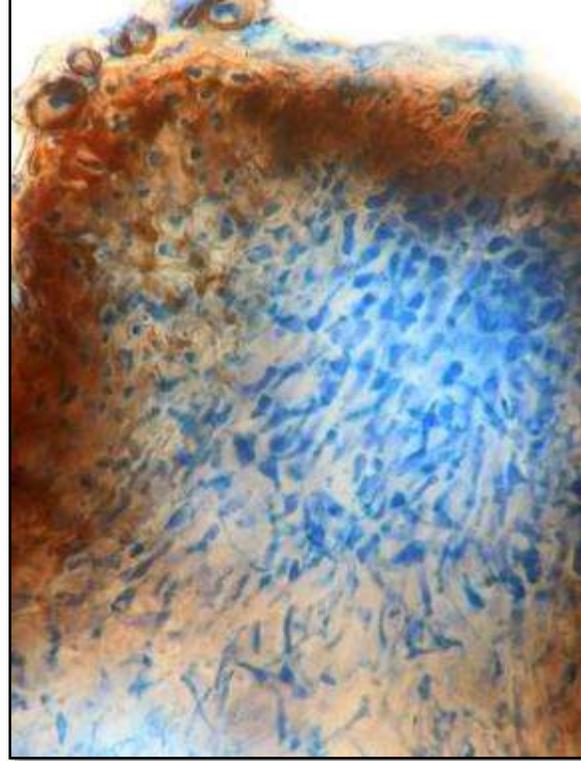
Die Eigenschaft, dass der Endoascus teleskopartig ausfährt, nennt man fissitunikat.



Die Fruchtkörper der Dothideomyceten werden **Pseudoperithezien** genannt. Damit werden sie vor allem aus mikromorphologischen Gründen von den Sordariomyceten abgegrenzt (diese haben Perithezien). Typisch für Pseudoperithezien sind die kugelige bis flachgedrückte Form mit einer häufig recht robusten, aus polygonalen oder rundlichen Zellen bestehenden Wand sowie eine radiale Sporenschlauchanordnung, bei der sich zwischen den Sporenschläuchen oft recht dicht die **Pseudoparaphysen** befinden.

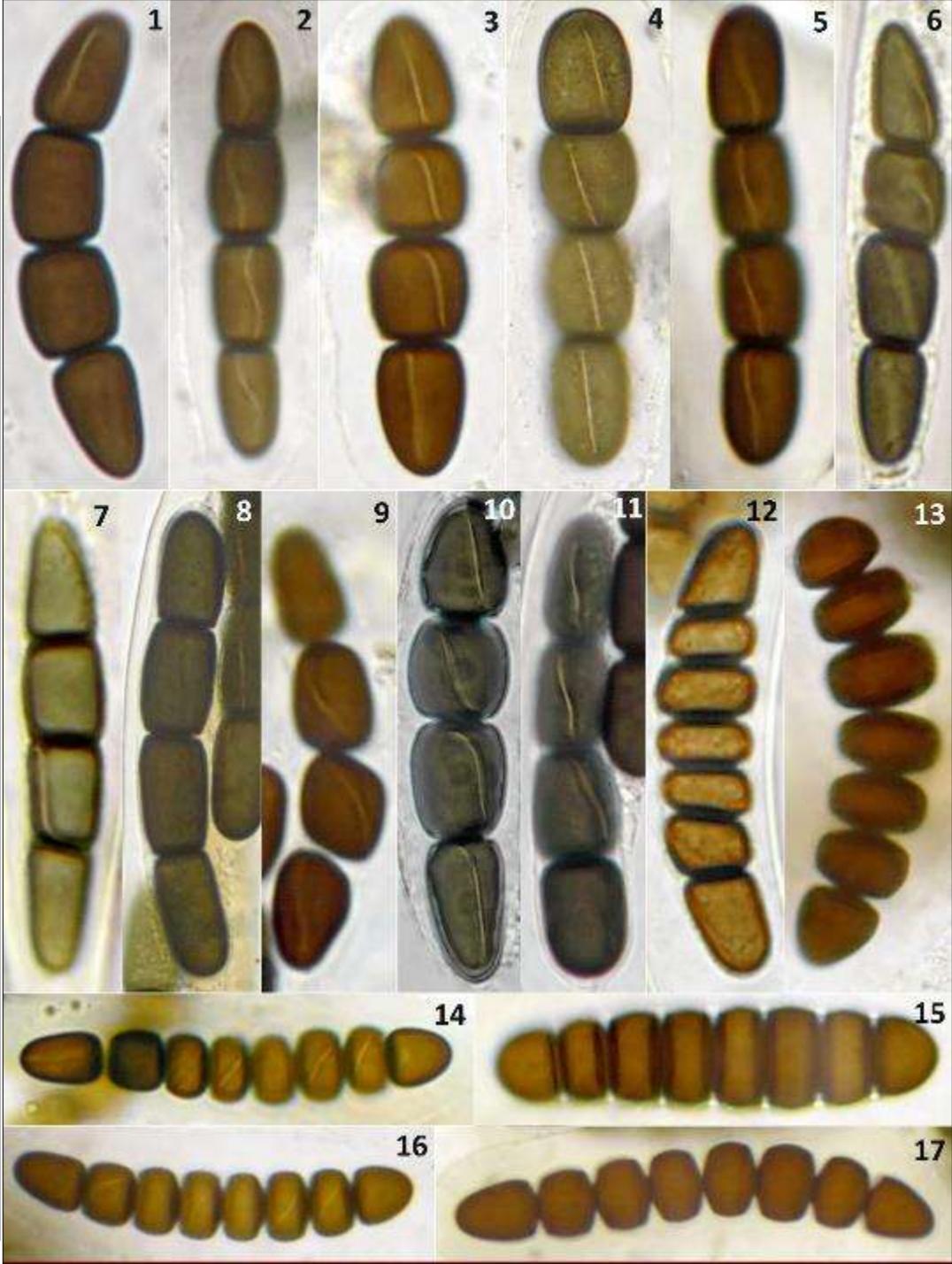
Es handelt sich hierbei nicht um Paraphysen im eigentlichen Sinn, sondern um fädige Zellstrukturen, die an beiden Enden an der Fruchtkörperwand befestigt sein können und zusätzlich durch Querverbindungen (= **Anastomosen**) miteinander verbunden sind.

Häufig haben auch **bitunikate** Kernpilzarten **periphysate** Pseudoperithezien-öffnungen. Häufig sind die Fruchtkörper im jungen Zustand komplett geschlossen und es entsteht erst im Alter eine Öffnung.



Pseudoperithezienöffnungen verschiedener Arten (z.T. mit BWB gefärbt). Zu sehen sind periphysioide Strukturen, die fadenartig von der Mündung nach unten laufen und das Hindurchschleusen der Sporen beschleunigen. Die Spitze ist bis zur völligen Reife komplett geschlossen. Hat eine Art besonders lange Pseudoperithezienkanäle (= Rostrum), so kann dieser komplett mit Periphysen gefüllt sein.

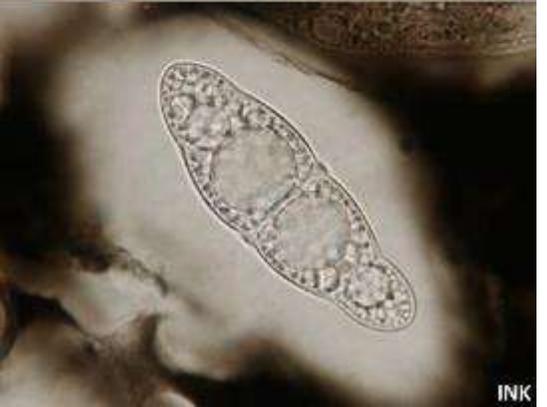
The genus *Sporormiella*





Bitunikater Ascus am beispiel einer *Extrawettsteinina*: Zunächst eiförmig-birnenförmig, dann langgestreckt (Endoascus).

Sporentypen 1



Sporen des *Pleomassariaceae*-Typs sind immer mehrzellig und z.T. distoseptiert. Die meisten Arten haben eine sehr markante, beständige Gelhülle. Man achte auf die Stelle mit der stärksten Einschnürung: hier befindet sich die Primärseptierung.

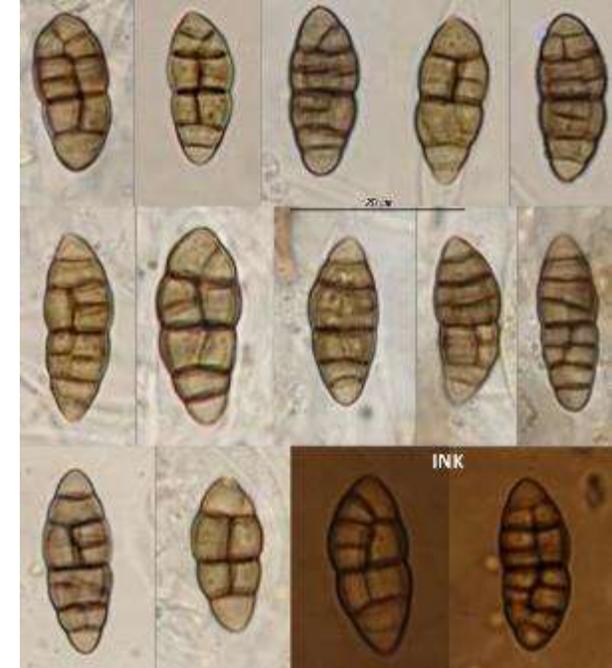
Gattungen mit diesem Sporentyp sind *Splanchnonema*, *Splanchospora*, *Pleomassaria* und *Asteromassaria*.



Teichospora sp. G00055



Teichospora sp. G00740



Platystomum compressum

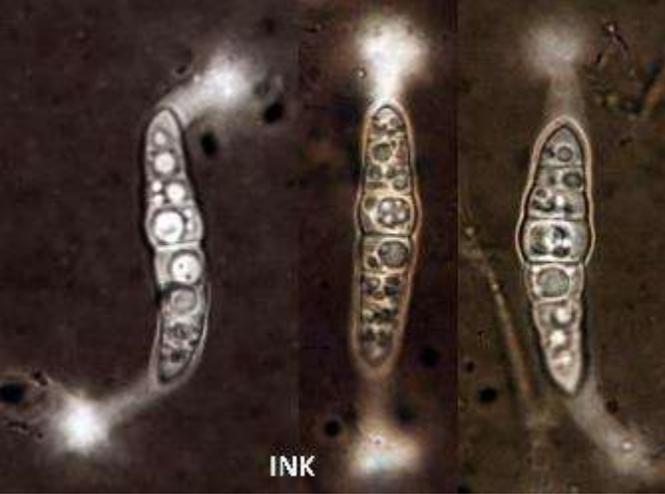
Sporen des *Cucurbitaria-Teichospora-Platystomum*-Typs sind überwiegend braun bis dunkelbraun und haben weder Gelhülle noch Anhängsel.

Arten mit solchen Sporen wachsen tendenziell eher an holzigen Substraten.

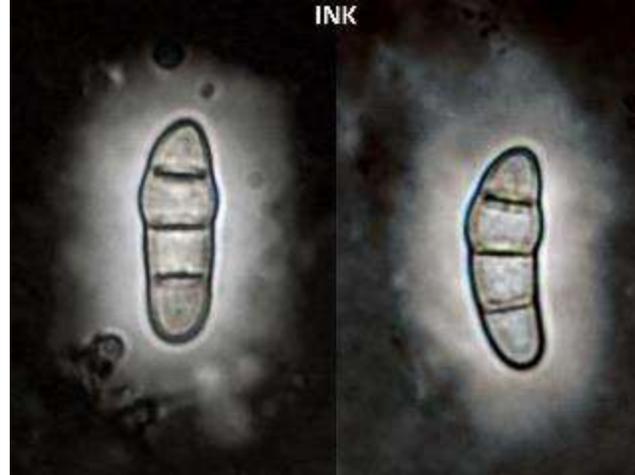
Cucurbitaria elaeagni



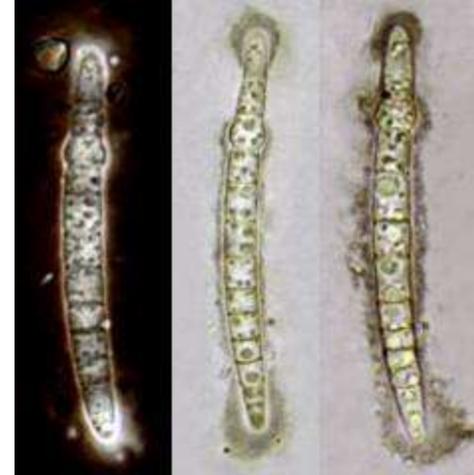
Sporentypen 3



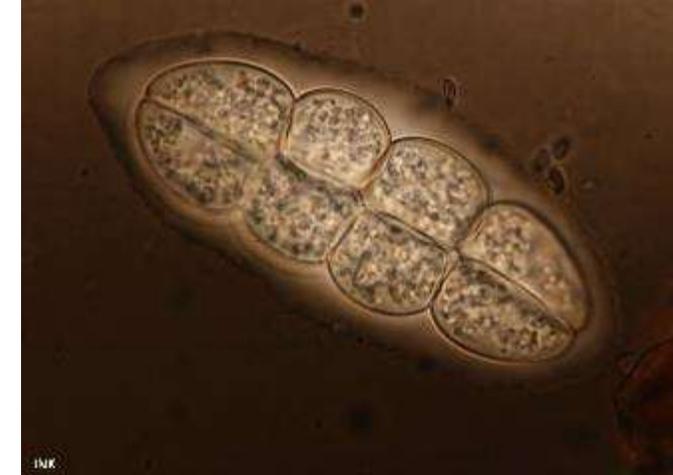
Lophiostoma winteri



Phaeosphaeria parvula

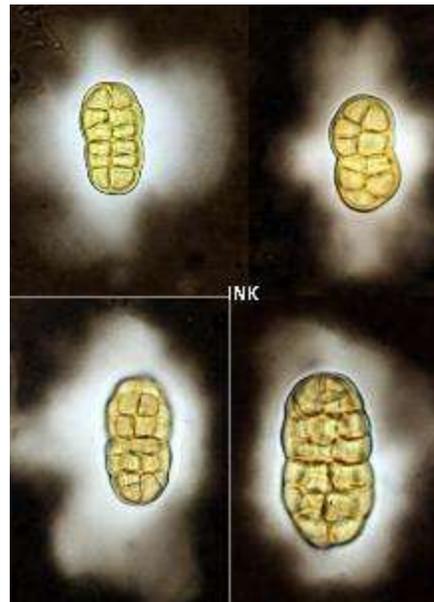
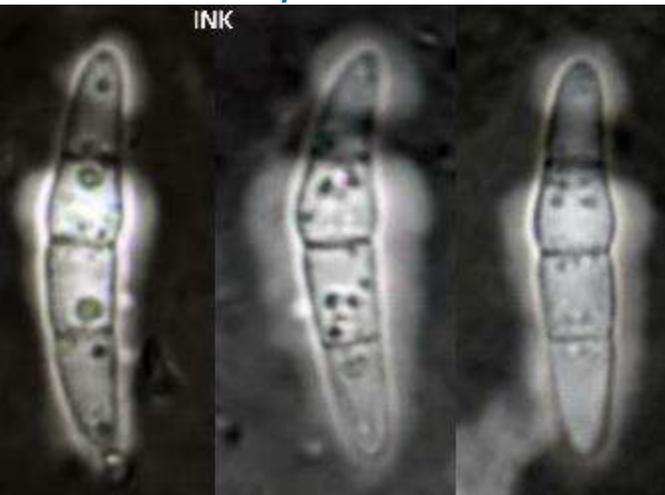


Phaeosphaeria pontiformis



Comoclathris typhicola

Phaeosphaeria nodorum



Pleospora sp.



Phaeosphaeria culmorum

Phaeosphaeria hiemalis



Gelhüllen und Anhängsel

Getestet wird stets in Indian Ink / China Ink. Dafür kann man entweder in einer Wasser-Tinten-Mischung untersuchen, oder aber man lässt im Laufe der Untersuchung von einer Seite Tinte ins Präparat laufen.

Spore OHNE Gelhülle

Identification of perithecial ascomycetes, step-by-step

1. The first preparation should be made in water. Take some notes of the spore septation and colour. You can easily group the species into classes each containing a combination of septation and colour:

„1s phaeo means“: spores with one septation having a colour (like brown, yellow, green etc.).

„5s hyaline means“: spores with 5 septations having no colour (hyaline).

2. Test the reaction to the following **chemicals**:

=> iodine solutions like Barals, Melzer. Apical plugs react positive in a lot of species of **[SORD]Xylariales**

=> if the reaction to iodine solutions is negative, make a new preparation in Congo red. Species with positive reaction are in **[SORD]Diaporthales** and **[SORD]Annulatascales**.

=> there are over 70% of the species with a negative reaction to both iodine solution and congo red!

3. Look at the fruitbodies and the type of growing, like „**embedded into wood**“, „**on the surface of the substrate**“, „**valsoid**“, „**with a long neck**“ and so on. **Take some notes of the colour of the fruitbodies or stromatal tissues.**

4. Note the host. Some species are host specific, especially **[DOTH]Pleomassariaceae**. There are also some species which only grow on highly degraded wood, like **[SORD]Natantiella ligneola**.

5. If possible, look for single or double-layered ascus walls. Interpretation is not easy for a beginner (and even not clear in all species!), so this point is the last in the list which is not always used.

Identification of perithecial ascomycetes, step-by-step

Pay attention.

- 1.** Immature or overmatured spores can have other characteristics than usually observed in mature stage. The amount of septation can be quite different in overmatured spores, especially in species with phragmospores (spores do have transverse septations only). Immature spores often do not show a colour, they appear hyaline.
- 2.** A gelatinous sheath or appendages are easily overlooked, but very important for identification. In any cases you mean to observe something, test it in indian ink.
- 3.** Do not measure spores which are immature (and still inside the asci). They can be much smaller than mature ones.



Just an example of how it works

No. of possible species
in the book (794)

9

1. Amount of septations: **Three**.
Spore colour: **bicolorous**.

8

2. Reaction to chemicals: IKI -. Congo -.

2

3. Fruitbody macro characters: **hairy**,
(without stroma), **black**

1

4. Host: **old fruitbodies of *Stereum***

Result: [SORD]*Ascocodinaea stereicola*

