

Über die Auffassung der Art *Verticillium malthousei* WARE

Olga FASSATIOVÁ

Botanisches Institut der Karls-Universität, Benátská 2, Praha 2*

Abstract — The paper deals with a taxonomic evaluation of the species *Verticillium malthousei* WARE and *Verticillium psaliotae* TRESCHOW, the evaluation being based on the morphology and morphogenesis of conidia. The studies were made on a series of 11 strains, cultivated on slide glasses on maltextract-agar.

In dieser Studie befasste ich mich mit den Arten der Gattung *Verticillium* NEES, welche sichelförmige bis spindelförmige Konidien bilden. Als Vergleichsmaterial dienten mir die folgenden 11 Stämme (CBS — Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn; CMI — Commonwealth Mycological Institut, Kew):

- V 1 — *Verticillium* sp. V-1, aus dem Boden in Wageningen, Holland
- V 2 — *Verticillium* sp. V-2, aus dem Boden in Wageningen, Holland
- V 3 — *Verticillium psaliotae* TRESCHOW, Stamm von LA TOUCHE vom CBS
- V 4 — *Verticillium psaliotae* TRESCHOW, Stamm Nr. 90 861 vom CMI
- V 5 — *Verticillium malthousei* WARE, Stamm D vom CBS
- V 6 — *Verticillium malthousei* WARE, Stamm von LA TOUCHE vom CBS
- V 7 — *Verticillium* sp. 10, in Baarn von Insekten isoliert
- V 8 — *Verticillium* sp. 15, in Baarn von Insekten isoliert
- V 9 — *Verticillium* sp. 231, in Russland von Insekten isoliert
- V 10 — *Verticillium* sp. 313, in Russland von Insekten isoliert
- V 11 — *Cephalosporium costantini* SMITH, aus dem Museum in Budapest

Die Gattung *Verticillium* NEES ist durch quirlständig verzweigte Konidienträger mit verzweigten oder unverzweigten Phialiden gekennzeichnet. Im jüngeren Kulturstadium befinden sich oft auf der Haupthyphse wechselständig oder gegenständig unverzweigte Phialiden. Dies kann zu einer Verwechslung mit den Arten der Gattung *Cephalosporium* CORDA führen. Bei der Gattung *Verticillium* NEES spalten sich die Konidien einzeln ab, sie können jedoch im Schleim im Konidienköpfchen am Ende des Konidienträgers eine gewisse Zeit lang zusammen verbunden bleiben. Das ist auch ein charakteristisches Merkmal der Gattung *Cephalosporium*. Die Bildung der Konidienköpfchen ist von der Schleimbildung in der Zellwand der Konidien abhängig, die mit den Lebens- und klimatischen Bedingungen zusammenhängt.

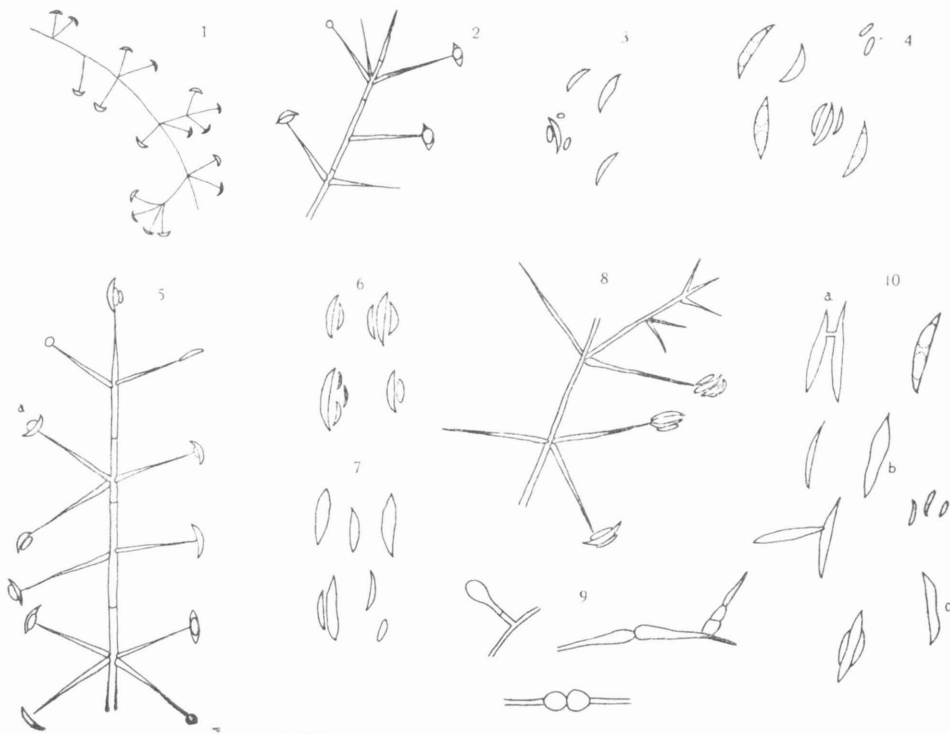
Alle untersuchten Stämme wurden auf Bierwürzeagar, manche auch Kirschenagar und alle auf einem speziellen Agar-Medium zwecks Pigmentbildung gezüchtet. Zur Beobachtung der Konidienbildung wurden Glaskulturen benützt. Ein kleines quadratisches Stück Bierwürzeagar wurde auf einem Objektträger mit Konidien inokuliert und mit einem Deckglas bedeckt. An diesen Glaskulturen kann man die Verzweigung des Konidienträgers sehr gut beobachten. Die Form der Konidien habe ich in Präparaten mit Lactophenol und cotton-blue beobachtet und gezeichnet.

Bei allen studierten Stämmen habe ich reife Konidien in sichelförmigen oder spindelförmigen Formen beobachtet. In der Literatur wurden bloss zwei Arten der Gattung *Verticillium* NEES mit solchen Konidien beschrieben. Es sind dies: *Verticillium malthousei* WARE und *Verticillium psaliotae* TRESCHOW. Diese beiden Arten wurden als Parasiten von in Kulturen gezüchteten *Agaricus-*

* Diese Studie wurde mit Unterstützung der Nederlandse organisatie voor Zuiver-wetenschappelijk onderzoek (ZWO) ausgeführt. Ich spreche deshalb auch an dieser Stelle dieser Organisation meinen aufrichtigen Dank aus.

Arten gefunden. Sie bilden weisse, filzartige Kolonien. WARE (1933) beschreibt bei *V. malthousei* meistens einfache Konidienträger mit Büscheln von 2 bis 12 Phialiden in der Grösse von $20-40 \times 2-3 \mu$. Konidien oval bis zylindrisch, manchmal unregelmässig fusoid, mit stumpfen Enden. Dimensionen $3-16 \times 1,5-5 \mu$, durchschnittlich $6,6 \times 2,5 \mu$. Die Konidien trennen sich einzeln von den Phialiden ab, verbleiben aber mittels des Schleims in den Köpfchen. Diese Köpfchen beschrieb der genannte Autor als kugelig, $4-14 \mu$ im Durchmesser, sie enthielten bis zu 64, manchmal auch mehr Konidien.

TRESCHOW (1941) erwähnt bei der Beschreibung von *Verticillium psaliotae* TRESCHOW Konidienträger, welche aus einem Büschel von 2—4 Phialiden



Konidienbildung von *Verticillium malthousei* WARE. 1. Verzweigter Konidienträger von *Verticillium malthousei* WARE schematisch dargestellt. 2. Ein Teil des Konidienträgers vom Stamm V 11. 3. Konidien vom Stamm V 11. 4. Konidien von den Stämmen V 1 und V 2. 5. Konidienträger vom Stamm V 3. 6. Konidien vom Stamm V 3. 7. Konidien vom Stamm V 3. 8. Ein Teil des Konidienträgers von den Stämmen V 7 und V 8. 9. Chlamydosporen von den Stämmen V 7 und V 8. 10. Konidien von den Stämmen V 7 und V 8.

zusammengesetzt waren. Phialidengrösse $18-30 \times 1-1,5 \mu$. Konidien konvex-konkav oder plankonvex, an den Enden abgerundet und gewöhnlich auch gebogen. Nur wenige Konidien sah er oval. Konidiengrösse $6-10,5 \times 2-3,5 \mu$. Sie trennen sich von jeder Phialide auf charakteristische Weise einzeln ab. Die junge Phialide ist zuerst kugelig, später verlängert sie sich und stellt sich schliesslich senkrecht zur Phialidenspitze. Dieser Autor führt auch ein unregelmässiges Auftreten von gewöhnlich zweizelligen Chlamydosporen an. Dieser Pilz produziert in der Kultur ein rotes Pigment.

Die Bildung der Konidien bei der Art *Verticillium malthousei* WARE sowie *V. psaliotae* TRESCHOW beschrieb und zeichnete sehr genau LA TOUCHE (1947, 1949). Er stellte fest, dass die Konidienbildung dieser beiden Arten auf gleiche Weise erfolgt, so wie es TRESCHOW (1941) ursprünglich bei *V. psaliotae* beschrieb. Bei *V. malthousei* verfolgte LA TOUCHE die sukzessive Konidienbildung, wobei sich am Phialidenende stets Konidienköpfchen bildeten. Bei *V. psaliotae* beobachtete er keine Konidienköpfchen. LA TOUCHE meint, dass diese Art der Konidienbildung auch bei weiteren Typen der Gruppe von *Hyphomyceten*, wie *Cylindrocarpon*, *Fusarium* usw. auftritt, was er mit „movements“ bezeichnet.

Bei allen 11 Stämmen, die ich in Glaskulturen züchtete, beobachtete ich die Konidienbildung, auf die gleiche Art, wie sie TRESCHOW (l. c.) und noch ausführlicher LA TOUCHE (1947) beschrieb. Ich ergänze noch die Beschreibung durch folgende weitere Einzelheiten: Unter der primären Konidie, welche im gereiften Zustande eine senkrechte Lage zum Phialidenende aufwies, bildet sich noch vor ihrer Abtrennung stets eine sekundäre Konidie; in der Jugend ist sie ebenfalls kugelig. Durch den Schleim in der Zellwand beider Konidien beeinflusst bildet sich eine sehr enge Verbindung zwischen diesen beiden Konidien (Abb. 2), welche nach der Zeichnung von TRESCHOW und der Beschreibung von LA TOUCHE beide Autoren zu der Ansicht führte, dass die primäre Konidie eine grosse zentrale Vakuole hat. Oft kam es, wie ich beobachtete, zur Verschiebung des Paares dieser zwei Konidien ungleichen Alters auf die Art, dass sich die ältere Konidie mit der Konvexseite an das Phialidenende anklebte, während die sekundäre Konidie an ihrer konkaven Seite wie ihr Bestandteil haften blieb (Abb. 5a). Später kam es jedoch zu einer Differenzierung der sekundären Konidie, sie verlängerte sich und wurde auch sichelförmig, doch nicht so gross, wie die primäre. Beide Konidien verblieben weiter beieinander. Bei den als *V. psaliotae* bezeichneten Stämmen entstanden diese Konidienpaare sehr häufig, bei anderen Stämmen, wie z. B. V-7 und V-8, bildeten sich auch Konidienköpfchen, wobei die primäre Konidie stets die grösste und spindelförmig bis sichelförmig war; die weiteren kleineren und manchmal auch ovalen Konidien reihten sich beiderseits an die erstere an. (Abb. 8.)

Es muss betont werden, dass alle reifen Konidien, welche spindelförmig bis sichelförmig waren, an beiden Enden scharf zugespitzt erschienen, was weder WARE noch TRESCHOW in der Beschreibung anführen. Die Dimensionen der reifen Konidien sind bei manchen Stämmen verschieden. Die grössten Konidien wiesen die Stämme V-7 und V-8 auf; sie erreichten eine Grösse bis zu $16\ \mu$, wobei die grössten Konidien eher spindelförmig und in der Mitte beiderseits mässig konkav waren (Abb. 10b). Bei denselben Stämmen massen kleinere Konidien beiläufig $9\ \mu$ und waren sichelförmig. Bei diesen Stämmen beobachtete ich auch in einigen Fällen Anastomosen zwischen je zwei Konidien (Abb. 10a). Die Anastomosen sind bei den *Hyphomyceten* zwischen den Hyphen häufig, doch zwischen den Konidien habe ich sie noch niemals gesehen und auch in der Literatur keine Erwähnung darüber gefunden. Die kleinsten Konidien wiesen die Stämme V-9 und V-10 und auch der Stamm V-11 (*Cephalosporium costantini* SMITH) auf, und zwar in der Grösse von $4,8\text{—}7,2\ \mu$.

Den Stamm V-11 (*Cephalosporium costantini* SMITH) erhielt ich aus der Sammlung des Budapest Museums. Er stammte ursprünglich aus der Sammlung CBS. Bei meinem Besuch im Centraalbureau voor Schimmellecultures in Baarn hatte ich Gelegenheit, nur die Abbildungen dieses Stammes in der Anstaltsikonothek einzusehen. Die reifen Konidien waren dort spindelförmig bis sichelförmig gezeichnet und ihre Dimensionen erreichten $5,3\text{—}13 \times 2\text{—}3,3\ \mu$. Smith (1924) führt in seiner Beschreibung von *Cephalosporium costantini* ovale bis nierenförmige Konidien von der Grösse $3\text{—}4 \times 1\text{—}1,5\ \mu$ an, manchmal auch bis zu $7\ \mu$ lang. Nach seiner Abbildung

Tabelle 1

Stamm	Form reifer Konidien	Dimensionen reifer junger Konidien in μ		Färbung der Unterseite der Kultur und des Nährbodens
<i>Verticillium psalioetae</i> (nach TRESCHOW)	konvex-konkav, oder plankonvex, an den Enden leicht abgerundet	6—10 × 2—3,5		Die rote Färbung diffundiert in das Agar-Medium
<i>Verticillium malthousei</i> (nach WARE)	oval oder cylindrisch, unregelmässig fusoid mit stumpfen Enden	5—7,5 × 1,5—1,8		
V 1	sichelförmig bis spindelförmig	9—12 × 1,9—3	3—4,5 × 1,5—1,7	Lichtbraunrosa bis braunviolette Färbung der Unterseite. Braunrote Gutation auf dem Mycelium
V 2	sichelförmig bis spindelförmig	8—11 × 2—2,5	3—4,5 × 1,5—1,7	Braunrosa bis dunkelviolettblaue Färbung der Unterseite dringt in den Nährboden ein
V 3	sichelförmig bis spindelförmig	6—8,5 × 1,5—2	3,7 × 1,5	Braunrosa bis dunkelrote Färbung der Unterseite dringt stark ins Agar-Medium ein
V 4	sichelförmig bis spindelförmig	5,8,2 × 1,7—2,5	3,6—4 × 1,5—2	Rosa bis braunrote Färbung der Unterseite dringt ins Agar-Medium ein
V 5	sichelförmig	6,5—9 × 1,5—2	3,5 × 1—1,5	Unterseite lichtrosa
V 6	sichelförmig bis spindelförmig	5—7,5 × 1,5—1,8	3—4,5 × 1,3—1,5	Unterseite lichtrosabraun
V 7	sichelförmig bis spindelförmig	9—15 × 1,8—2,2	3—4,5 × 1,4	Unterseite lichtgelb
V 8	sichelförmig bis spindelförmig	9—16 × 1,8—2,2	3—4,5 × 1,4	Unterseite lichtgelbbraun
V 9	sichelförmig bis spindelförmig	6—7,2 × 1,8—2,5	3—5 × 1,6—2	Unterseite lichtgelb
V 10	sichelförmig bis spindelförmig	6—7,2 × 1,8—2,5	3—5 × 1,6—2	Ohne Färbung
V 11	sichelförmig	5—7 × 1,7—2	3—4,5 × 1,4—2	Unterseite lichtorange

sind Phialiden an der Hauptachse wechselständig oder manchmal gegenständig, jedoch nicht quirlständig. Daraus kann man erkennen, dass SMITH tatsächlich die Gattung *Cephalosporium* beschrieb, wogegen der unter dem Namen *Cephalosporium costantini* geführte Stamm aus dem Budapester Museum *Verticillium* war.

In Anbetracht dessen, dass WARE in seiner Beschreibung von *Verticillium malthousei* die Konidiengrösse mit der beträchtlichen Spannweite von 3—16 μ anführt, kann man keinen der Stämme, die ich gesehen habe, als Varietät betrachten.

Weiter habe ich auch auf verschiedenen Nährböden die Pigmentbildung aller untersuchten Stämme verfolgt. Besonders intensiv war das Pigment auf dem Nährboden von folgender Zusammensetzung: Glukose 30 g, KH_2PO_4 1 g, MgSO_4 0,5 g, CaCl_2 0,2 g, Pepton 1 g, Agar-agar 20 g, H_2O 1000 cem. Einige Stämme färbten das Agar-Medium stark weinrot bis braunrot, einige überhaupt nicht.

Wenn man alle untersuchten Stämme mit den Beschreibungen von *Verticillium malthousei* WARE und *V. psaliotae* TRESCHOW vergleicht, ist es klar, dass beide Diagnosen nicht nur bezüglich der Angaben über die Konidienbildung, sondern auch bezüglich ihrer Form ungenau sind. Die Konidienbildung, wie sie TRESCHOW beschreibt, ist nicht nur für *V. psaliotae* charakteristisch, sondern findet sich auch bei *V. malthousei*. WARE (l. c.) und TRESCHOW (l. c.) führten Konidien mit stumpfen oder abgerundeten Enden an, ich fand jedoch bei allen untersuchten Stämmen reife Konidien mit zugespitzten Enden. Die Färbung der Unterseite der Kultur sowie auch das ins Agar-Medium diffundierende Pigment kann nicht als verlässliches Merkmal angesehen werden. In der beiliegenden Tabelle sind alle oberwähnten Merkmale angeführt.

Aus diesen Gründen halte ich es für nötig, bei Stämmen der Gattung *Verticillium* NEES, welche sichelförmige bis spindelförmige Konidien bilden, nur eine Art anzuerkennen. *Verticillium malthousei* WARE besitzt die Priorität vor *V. psaliotae*. Weil aber weder die Form noch die Bildung der Konidien bei *V. malthousei* hinreichend beschrieben wurden, ergänze ich die Diagnose, wie folgt:

Verticillium malthousei WARE — 1933

Syn. *Verticillium psaliotae* TRESCHOW — 1941

Mycelium auf Bierwürzeagar nach 14 Tagen weiss, filzartig, bis 5 mm hoch. Hyphen hyalin, 1—3 μ im Durchmesser. Konidenträger grösstenteils aus unverzweigten, quirlständigen Phialiden bestehend, je 3—6, am häufigsten je 3—4, aber auch zu zwei oder einzeln. Phialiden länglich mit etwas breiterer Basis und sich verschmälernden Enden, oft auch septiert. Manchmal sind diese auch verzweigt und bilden zwei oder mehrere sekundäre Phialiden. Masse: 13—40 $\times$ 1—3 μ . Die Sporulation auf Bierwürzeagar beginnt nach 5—7 Tagen. Die Konidien sind zuerst kugelig, später oval; die reife Konidie ist sichelförmig bis spindelförmig, an beiden Enden scharf zugespitzt. Reife Konidien sind 6—16 $\times$ 1,5—2,2 μ gross, junge 3—5 $\times$ 1,2—2 μ . Bei den grössten Konidien kann man in der Mitte eine Verengung beobachten, bei den spindelförmigen an beiden, bei den sichelförmigen an einer Seite (Abb. 10b, c). Die Konidien entstehen an den Phialiden auf charakteristische Art, so dass die primäre Konidie im reifen Zustand eine senkrechte Lage zum Phialidenende hat. Bei manchen Stämmen wurden 1-2zellige Chlamydosporen beobachtet (Abb. 9). Manche Stämme erzeugen im Agar-Medium ein rosa bis braunrotes, andere ein lichtgelbes bis gelbbraunes Pigment.

Der Pilz tritt als Parasit bei gezüchteten *Agaricus*-Arten, auf Insekten und als Bodensaprophyt auf.

Über die Problematik beider Arten, *Verticillium malthousei* und *V. psaliotae*, habe ich in CBS mit Frau Dr. SCHOL-SCHWARZ diskutiert und wertvolle Ratschläge erhalten. Ich spreche ihr auch an dieser Stelle meinen besten Dank aus.

Summary

The observations based on shape and formation of conidia resulted in conclusion that all the 11 strains, which were object of the present study pertain to one single species *Verticillium malthousei* WARE. *Verticillium psaliotae* TRESCHOW is to be classified as synonym of *V. malthousei* because there is no difference between the shape and size of conidia. Consequently its species diagnosis was to be supplemented.

Verticillium malthousei WARE (1933)

Syn. *Verticillium psaliotae* TRESCHOW (1941)

Mycelium white, felted, after 14 days of growing on maltextractagar up to 5 mm of height, hyphae of 1 to 3 μ in diameter. Conidiophores consisting of whorls of not branched phialides whorls with 3–6, mostly 3–4 phialides. Sometimes are found conidiophores bearing solitary or paired opposite phialides. Phialides are elongated with a slightly enlarged lower part and with narrowed terminal parts and sometimes provided with septa. Sometimes are found also branched phialides with union of two or more secondary phialides. Dimensions: $13-40 \times 1-3 \mu$. Spore-formation took place on maltextract-agar after 5–7 days. Conidia are successively formed on one phialide and may seat in pairs or agglomerates covered with mucus on the terminal part of the phialide. The form of conidia is in the early stage globose one, later oval one and the mature conidia are lunate or fusiform with sharp-pointed both terminal parts.

The largest fusiform conidia are in the middle part on both sides slightly concave. Dimensions of conidia are: in the early stage of $3-5 \times 1-2,6 \mu$, in the stage of maturity $5-16 \times 1,9-5 \mu$.

The formation of conidia on the phialide takes place in a characteristic way. The primary conidium, which is globose in the early stage, successively increases in length and is in the final maturity stage lunate or fusiform. In this stage moves the said conidia transversally to the longitudinal axis of the phialide, remaining attached to the end of it by its concave side. The secondary conidium, which grows under the primary one, is in the early stage globose and remains firmly attached to the concave side of the primary conidium. Later it change the shape to lunate but it does not reach the size of the primary one. Whenever the formation of conidia continues, just formed conidia move back to the coaxial position with the phialide, while other younger or smaller conidia are symmetrically grouping around them. Some strains showed 1–2 celled chlamydospores. Some strains produce in the nutrient medium brownish-red, yellow or brownish-yellow pigment.

A parasitic fungus attacking cultivated mushrooms was isolated from insect and as soil saprophyte.

The study confirmed and supplemented observation of conidia described by LA TOUCHE (1947, 1949).

Literatur

- LA TOUCHE C. J. (1947): Passive movements of newly formed acrogenous spores in *Verticillium* and some other genera of Hyphomycetes. — Nature, London, 160 : 679.
— (1949): Spore prints from individual phialides of *Verticillium* spp. — Nature, London, 163 : 69.
SMITH F. E. V. (1924): The diseases of cultivated mushrooms. — Trans. brit. myc. Soc. 10 : 81–97
TRESCHOW C. (1941): The *Verticillium* diseases of cultivated mushrooms. — Dansk. bot. Arkiv 11 : 1–31.
WARE W. M. (1933): A disease of cultivated mushrooms caused by *Verticillium malthousei* sp. n. — Ann. Bot. 47 : 763–785. Pl. 26, 27.