

Versuche zur Frage der Erhaltungszüchtung beim Kulturchampignon

I. Vermehrung durch Teilung des Mycels

GERDA FRITSCHÉ

Max-Planck-Institut für Kulturpflanzenzüchtung, Hamburg-Volksdorf

Experiments on maintenance of strains of the cultivated mushroom

I. Propagation by mycelium transfer

Summary. 1. The paper deals with problems of maintaining strains of the cultivated mushroom. There are three possibilities for propagation: Transfer of mycelium, tissue culture and multispore culture. Of these the transfer of mycelium was investigated.

2. Multispore cultures (many types of nuclei) and monospore cultures (only two types of nuclei) were compared.

3. Mono- and multispore cultures were continuously propagated on agar media by transfers of mycelium. After 40 transfers the monospore culture showed no change in the mycelium. In the multispore culture degenerative symptoms in the form of slowly growing, matted mycelium appeared after 13 transfers, though the faster growing mycelium reappeared later in some cases. After the last (27th) transfer tested, the multispore culture showed a strong decrease in yield; none was found in the monospore culture.

4. Both strains were also propagated by grain transfer. After eight transfers there was no decrease in yield, and the one noticed after 15 transfers in a repeat experiment with the monospore culture proved to be statistically not significant.

5. From a petri dish containing, after the 22nd transfer of the multispore culture, matted, slow growing and stringy, fast growing mycelia, pieces of both kinds were taken. Thus it was possible to separate the two types of growth. However, sometimes stringy sectors reappeared in the matted type, and vice versa. Mycelia of the different types were transferred six consecutive times.

6. The separation of the various types is explained by a separation of types of nuclei. The question whether nuclei of the type of the slow growing mycelium were already present in the multispore culture before starting the culture or originated later by mutation or modification remains open.

In case of a modification or mutation the degeneration symptoms could have occurred in the monospore culture as well as in the multispore culture.

7. The reason for an incomplete separation could be the transfer of large pieces of mycelium. In further experiments disintegrated mycelium will be used. Then single cells selected under phase contrast microscope as poor in nuclei will be transferred.

8. Four multi- and four monospore cultures were compared for growth rates by selection for fast and for slow growing mycelium. For each strain the least overgrown (l-group) and the most overgrown (s-group) were chosen from ten culture plates and subcultured by five successive transfers to ten fresh plates.

The difference in average diameter of mycelium from the l-group and s-group varied and did not increase with the number of transfers. The mycelium of the l-groups of multispore cultures always grew slower than that of the s-groups; in monospore cultures the opposite also occurred. The difference between the l- and s-group in the multispore culture was twice as often significant as in the monospore culture. From this one can conclude that, in propagation with frequent transfer, multispore cultures change more easily than do monospore cultures.

9. Mycelium cultures on three different media (biomalt agar, wheat agar, compost agar) showed different growth rates. The slowest growth was found on biomalt agar. On compost agar, richest in nutrients, the difference in appearance of the mycelium was most obvious. Papers by other authors who found a great influence of the

medium on the mycelium and the reasons for this influence are discussed. For the maintenance of strains original cultures should be kept on a substrate rich in nutrients, i.e. compost.

10. Tests for bacteria and fungi on slow growing, matted mycelium were negative. Tests for virus (fusion tests, heat shock) showed different results. Results of electron microscopic studies¹ on this material will be reported later.

A. Einleitung

Der Champignonzüchter kann zwischen drei Methoden der Vermehrung seiner Stämme wählen. Die erste und einfachste Methode ist die Teilung des Mycels durch Überimpfen kleiner Mycelstücke auf einen neuen Nährboden. Eine zweite Methode ist die sogenannte „Gewebekultur“. Hier werden unter sterilen Bedingungen Stücke des Plektenchymis aus dem inneren Teil des Fruchtkörpers entnommen und auf einen Agar-Nährboden geimpft, auf dem sich bald neues Mycel entfaltet. Die Gewebekulturmethode hat in der letzten Zeit an Bedeutung verloren. Dagegen vermehren viele Bruthersteller² ihre Stämme durch Vielsporaussaat (3. Methode), weil sie glauben, dann leistungsfähigere Brut zu erhalten als bei fortlaufender Vermehrung des Mycels durch Teilung.

In unseren Arbeiten sollten die Auswirkungen aller drei Vermehrungsarten auf verschiedene Stämme studiert werden. Für die Untersuchungen wurden Viel- und Einsporkulturen herangezogen. Die durch Aussaat vieler Sporen gewonnene Vielsporkultur ist ein Gemisch vieler Genotypen, das durch Hyphenfusion (LAMBERT, 1959) zu einer Einheit verschmolzen ist. Demgegenüber kann die Einsporkultur nur zwei verschiedene Genotypen enthalten. Die Sporen von *Agaricus bisporus* (Lge.) sind dicaryotisch (KLIGMAN, 1943). Allerdings könnte sich durch parasexuelle Prozesse (PONTECORVO, 1958), die beim Kulturchampignon jedoch noch nicht nachgewiesen wurden, die Zahl der Genotypen erhöhen. Ebenfalls durch Modifikationen oder Mutationen.

Über das Verhalten von Champignonstämmen nach jahrelanger Vermehrung durch Mycelteilung liegen an verschiedenen Stellen Erfahrungen vor. LAMBERT (1959) berichtet von Kulturen, die mehr als 20 Jahre lang durch Mycelteilung vermehrt wurden. Einige wenige ließen in ihrer Leistung nach, die Mehrzahl der Stämme blieb jedoch unverändert.

HELTAY und UZONYI (1959) beobachteten bei drei verschiedenen Vielsporkulturen nach 42- bis 51maliger Vermehrung des Mycels starke Ertragsdepressionen. In keinem der Fälle ließ das Mycel in seiner Wuchsschnelligkeit nach; es spann jedoch stark

¹ Dr. HOLLINGS (Glasshouse Crops Research Institute, Littlehampton/Sussex) will carry out these investigations and I like to thank him for his kindness.

² Brut = das zum Bepflanzen der Kulturbeete bestimmte und unter sterilen Bedingungen herangezogene Mycel.

durch die Deckerde und bildete auf den Beetoberflächen einen krankhaft aussehenden dichten Belag.

Dieselben Erscheinungen konnten wir bei drei eigenen Einsporkulturen beobachten. Nach häufiger Vermehrung der Stämme bei Kultur auf Biomalz-Agar bildeten sich flauschige Sektoren, sowohl auf Agarnährboden als auch auf Weizenkörnern. Gelangte solch flauschiges Mycel ins Kulturbeet, spann es durch die Deckerde. Anstelle der Fruchtkörper bildeten sich feste, weiße Fladen.

SIGEL und SINDEN (1953) berichteten von einer Einsporkultur, die nach 10jähriger Mycelvermehrung merklich im Ertrag nachließ.

Wir selbst erlebten einen solchen Leistungsabfall bei einer Handelssorte, die wir für unsere Versuche wiederholt vermehrt hatten. Nachdem der Stamm in drei Prüfungen normal getragen hatte, ließ er plötzlich stark nach und brachte in fünf weiteren Versuchen nur noch 1–20% vom normalen Ertrag. Schließlich konnten wir bei einer Einsporkultur eine Veränderung in der Fruchtkörperform nach häufiger Mycelteilung feststellen (FRITSCH und v. SENG-BUSCH, 1963).

Über Versuche auf dem Gebiet der Mycelvermehrung berichteten KLIGMAN (1943), HELTAY und UZONYI (1959, 1963) sowie SIGEL und SINDEN (1953). KLIGMAN (1943) vermehrte je zwei Vielspor-, Einspor- und Gewebekulturen 28mal über Kartoffel-Dextrose-Agar und 12mal über Roggenkörner. Als einzige Veränderung traten bei einer Einsporkultur deformierte Fruchtkörper nach 12 Vermehrungen über Roggen auf.

HELTAY und UZONYI (1959, 1963) arbeiteten mit nur einer Vielsporkultur, aber sechs verschiedenen Nährböden. Nach 50 Vermehrungen hatte das Mycel nur auf zwei der sechs Nährböden seine volle Leistungsfähigkeit behalten.

SIGEL und SINDEN (1953) impften von Kulturen mit ungleichmäßigem Rand die am weitesten vorgeschobenen sowie die noch am weitesten zurückliegenden Hyphenspitzen ab. Es war ihnen jedoch nicht möglich, auf diese Weise verschieden schnell wachsende Typen voneinander zu trennen. Dagegen gelang ihnen in einigen Fällen die Isolierung von flauschigem sowie anliegendem schwach wachsendem Mycel, nachdem es in Vielsporkulturen als Sektor im normalen Mycel aufgetreten war. Die Autoren bezeichneten solche Sektoren als „echte Sektoren“.

Wie die Literaturzitate und unsere eigenen Beobachtungen zeigen, sind Veränderungen des Mycels nach häufiger Teilung verschiedentlich festgestellt worden. Der Zweck der vorliegenden Arbeit ist es, nach den Ursachen dieser Erscheinungen zu suchen. Wenn es sich um Entmischungen handelt, müßten sie um so eher eintreten, je vielgestaltiger das Material ist. Aus diesem Grunde wurden Viel- und Einsporkulturen miteinander verglichen.

Als schnell erkennbare Eigenschaften wurden die Wachstumsrate und das Aussehen des Mycels neben dem Ertrag für die Auswertungen herangezogen.

B. Material und Methoden

I. Fortlaufende Mycelteilung

a) Stämme

1. „Hu“. Vielsporkultur mit blondem* Hut. Eine Handelssorte, die von uns in vielen Versuchen verwendet

wurde, unter anderem als Partner bei den Versuchen zur Frage der Merkmalsübertragung beim Kulturchampignon (FRITSCH, 1964), Brut Dezember 1960 bezogen.

2. 867, Einsporkultur mit variierender Hutfarbe von fast weiß bis fast blond.

1959 von uns isoliert. 867 zeichnet sich durch hohen Ertrag und schnelles Mycelwachstum aus. Das über den Lamellen liegende Velum reißt leicht. Über die Einsporkultur wurde schon 1962 von uns berichtet (FRITSCH und v. SENG-BUSCH, 1962).

Mit den fortlaufenden Mycelteilungen wurde im April 1961 begonnen. 867 war zu dieser Zeit viermal geteilt worden, „Hu“ zweimal (4. bzw. 2. Vermehrungsstufe). Ob und wie oft der Bruthersteller die Vielsporkultur nach der Aussaat geteilt hatte, ist uns nicht bekannt. Die erste Mycelteilung innerhalb des Versuches bezeichneten wir bei beiden Stämmen als 1. Vermehrungsstufe, ungeachtet vorangegangener Vermehrungen.

b) Nährböden

1. Agar-Nährböden (Kultur in Reagenzröhrchen von 160×18 mm, 6 ml Inhalt. 1.–22. V.** von „Hu“. 1. bis 29. V. von „867“ auf Weizen-Agar (pH 6,6 nach dem Autoklavieren)

Rezept: 125 g Weizenkörner werden mit 4 l Aqua dest. 2 Stunden gekocht. 24 Stunden später wird die Flüssigkeit abgossen und mit 3% Agar-Agar verfestigt.

23.–25. V. von „Hu“. 30.–35. V. von „867“ auf Biomalz-Agar (pH 6,0 nach dem Autoklavieren)

Rezept: 1,5% Biomalz (Malzin-München) in Aqua dest. verfestigt mit 3% Agar-Agar.

26.–28. V. von „Hu“. 36.–40. V. von „867“ auf beiden Nährböden. Dabei wurde fortlaufend von Weizen-Agar auf Weizen-Agar bzw. von Biomalz-Agar auf Biomalz-Agar ungeimpft.

2. Getreidekörner (Kultur in 1/4 l Milchflaschen). Alle Vermehrungsstufen auf gekochten und mit 0,3% Schlemmkreide vermischten Weizenkörnern.

c) Technik der Vermehrung

1. Bei Agar-Kulturen. Wenn die Hyphen die schräge Nährbodenoberfläche übersponnen hatten, wurden aus beliebigen Stellen Stücke abgeimpft und auf frischen Nährböden übertragen.

Vor jeder neuen Teilung wurde das Mycel bonitiert. Die durchsponnenen Röhrchen wurden nach Abimpfen des Mycels zum Schutz vor Verdunstung in Polyäthylenbeutel verpackt und im Kühlraum bei +3 °C aufbewahrt.

2. Bei Körner-Kulturen. Wenn eine Flasche durchsponnen war, wurden einige Brutkörner in die nächste Flasche übergeschüttet. Die durchspinnene Flasche wurde danach bei +3 °C aufbewahrt.

In der Zeit vom März 1961 bis Oktober 1962 wurden auf diese Weise 16 Vermehrungen durchgeführt.

d) Technik des Mycelvergleichs

Zum besseren Vergleich wurde Anfang November 1964 von jeder Vermehrungsstufe in Röhrchen Mycel auf Petrischalen (Einmalpetrischalen aus Polystyrol, Ø 82 mm) übertragen. Folgende Nährböden wurden verwendet:

1. Weizen-Agar; 2. Biomalz-Agar; 3. Kompost-Agar (EGER, unveröffentlicht).

Rezept: 500 g gefrorener Kompost werden mit 2 l Aqua dest. im Starmix zerkleinert und danach mit 1,5% Agar-Agar verfestigt. pH 6,3 nach dem Autoklavieren.

Die Vorteile des Nährbodens sind, daß er das im praktischen Anbau verwendete Substrat enthält und sich das Mycel gut von dem dunklen Untergrund abhebt.

Zunächst wurden von Weizen- und Biomalz-Agar je eine, von Kompost-Agar je zwei Schalen beimpft.

Nachdem die Schalen durchsponnen waren, wurden von jeder zweiten Vermehrungsstufe mit dem Korkbohrer (Ø 4 mm) Mycel auf drei Schalen je Nährboden ungeimpft. Dabei wurde das Mycel nur auf den Nährböden verpflanzt, auf dem es vorher gewachsen war.

* blond = helles Braun

** V. = Vermehrungsstufe

Zum besseren Studium der Wirkung der verschiedenen Nährböden auf das Mycelwachstum wurden noch folgende drei Stämme in den Versuch aufgenommen:

1. „B“, Vielsporkultur mit weißem Hut; 2. 4385, Einsporkultur mit weißem Hut; 3. 1206, Einsporkultur mit blondem Hut.

Alle drei Stämme werden später genauer beschrieben. Das Mycel wurde von Petrischalen mit Weizen-Agar abgeimpft.

Nach 17 und 25 Tagen wurde in allen Schalen das Mycelwachstum bonitiert. Der Durchmesser des Mycels wurde an der schmalsten und breitesten Stelle gemessen.

e) Ertragsprüfungen

1. Vermehrungen auf Agar-Nährboden. Ertragsprüfungen wurden in zwei Versuchen im Herbst 1964 durchgeführt. Dazu wurde jede fünfte Vermehrungsstufe benutzt. Es wurde das Aktivmycel-Anbauverfahren angewendet (HUHNKE und v. SENGBUSCH 1959). Die Versuchsfäche betrug 4 qm (je Versuch 4 Kisten à 1/2 qm). Geerntet wurde 8–9 Wochen lang.

2. Vermehrung auf Körnern. Eine Ertragsprüfung der 2.–8. Vermehrungsstufe beider Stämme wurde in 10 Kulturkisten (5 qm Beetfläche) je Versuchsglied durchgeführt. Geerntet wurde 12 Wochen lang.

Von 867 wurden in einem weiteren Versuch die 4., 7. und 15. Vermehrungsstufe in je 4 Kulturkisten (2 qm Beetfläche) geprüft. Die Erntedauer betrug 7 Wochen.

II. Wachstumsteste bei fortlaufender Vermehrung der am schnellsten bzw. am langsamsten gewachsenen Mycele

a) Vielsporkultur Hu, 22. V.

Bei Kultur der 22. V. von „Hu“ in Petrischalen auf Kompost-Agar fiel eine Schale auf, die neben Stellen mit belagartig anliegendem langsamwachsendem Mycel mehrere Sektoren strängigen Mycels zeigte. In aufeinanderfolgenden Vermehrungen, die als „Test-Stufen“ bezeichnet wurden, wurde versucht, die verschiedenen Wuchstypen voneinander zu trennen. Die Umimpfungen wurden mit dem Korkbohrer vorgenommen. Als Nährboden diente Kompost-Agar. Tab. 2 veranschaulicht die Versuchsanstellung.

Von 30 verschiedenen Stellen der Ausgangsschale (1. Test-Stufe) wurde Mycel abgeimpft. Nach 20 Tagen wurde der Myceldurchmesser jeder der 30 Schalen (2. Test-Stufe) gemessen.

Fünf Schalen mit langsamwachsendem vorwiegend belagartigem Mycel (I-Gruppe) und fünf Schalen mit schnellwachsendem vorwiegend strängigem Mycel (S-Gruppe) wurden ausgewählt. Aus jeder Schale wurden acht Mycelstücke abgeimpft (3. Test-Stufe). Nach Messung des Mycelwachstums wurden zwei Nummern der langsamwachsenden Gruppe und zwei Nummern der schnellwachsenden Gruppe ausgesucht und von jeder Nummer von zwei der acht Schalen Mycel auf je acht neue Schalen übertragen (4. Teststufe). Unter diesen Schalen wurden zwei Stück ausgelesen, deren Mycel teils belagartig, teils fädig war. Eine der Schalen entstammte der langsamwachsenden und eine der schnellwachsenden Gruppe. Wie in der 1. Test-Stufe wurden auch hier aus den verschiedenartigsten Mycelstellen Stücke abgeimpft (5. Teststufe).

Von den 12 Schalen je Gruppe wurden in dem einen Falle je eine, in dem anderen Falle je zwei Schalen mit dem langsamsten bzw. dem schnellsten Wachstum ausgesucht. Je Schale wurden 10 Mycelstücke auf neuen Kompost-Agar übertragen (6. Teststufe).

Ertragsprüfungen wurden von drei langsam- und drei schnellwachsenden Mycelen der 4. Teststufe sowie zwei langsam- und zwei schnellwachsenden

Mycelen der 6. Teststufe durchgeführt. Die Prüfung fand in vier Kulturkisten = 2 qm Anbaufläche je Versuchsglied statt. Es wurde wieder das Aktivmycel-Anbauverfahren angewendet.

b) Vergleich von vier Viel- und vier Einsporkulturen

Nachdem die Wachstumsteste zunächst nur mit der 22. Vermehrungsstufe der Vielsporkultur „Hu“ durchgeführt worden waren, wurden weitere Viel- sowie auch Einsporkulturen für diese Art Untersuchungen herangezogen. Folgende Stämme wurden benutzt:

An Vielsporkulturen:

1. Hu, 4. V. eine niedrige Vermehrungsstufe von Hu im Vergleich zur hohen 22. Vermehrungsstufe.
2. B eine weiße Handelssorte. Die Originalbrut war uns im Mai 1961 geliefert worden und inzwischen siebenmal über Agarnährboden vermehrt worden.
3. U eine weiße Handelssorte anderer Herkunft als B. Die Originalbrut erhielten wir im Juni 1959. Sie wurde inzwischen viermal über Agar-Nährboden vermehrt.
4. F eine blonde Handelssorte der gleichen Herkunft wie U. Die Brut erhielten wir zur gleichen Zeit, vermehrten sie aber inzwischen sechsmal.

An Einsporkulturen:

- 1a) 867, 4. V. eine niedrige Vermehrungsstufe des bereits oben beschriebenen Stammes.
- 1b) 867, 34. V. eine hohe Vermehrungsstufe desselben Stammes.
2. 71 eine unserer weißen Einsporkulturen, die viel in Versuchen von EGER verwendet wurde (EGER, 1961), im Juni 1957 isoliert.
3. 4385 eine Ende November 1961 gewonnene weiße Einsporkultur.
4. 1206 eine im Mai 1959 gewonnene blonde Einsporkultur. Über diese Einsporkultur berichteten wir bereits 1962 (FRITSCHÉ und v. SENGBUSCH, 1962).

Die Wachstumsteste wurden auf Kompostagar-Nährboden in Petrischalen durchgeführt. Zunächst wurden von jedem Stamm zehn Schalen beimpft (1. Teststufe). Aus diesen zehn Schalen wurden die am langsamsten und die am schnellsten durchsponnene Schale herausgesucht und mit dem Korkbohrer Mycel auf je 10 neue Schalen umgeimpft (2. Teststufe). Um dabei möglichst gleichaltriges Mycel zu übertragen, wurden die Impfstücke alle aus gleicher Entfernung vom alten Impfstück nahe der Peripherie entnommen. Nachdem sich das Mycel entsprechend entwickelt hatte, wurde von der aus der langsamwachsenden Schale abstammenden Gruppe die langsamste Schale und von der aus der schnellwachsenden Schale abstammenden Gruppe die schnellste Schale ausgesucht und je Schale Mycel in zehn neue Schalen abgeimpft (3. Teststufe). In dieser Weise wurde weiter verfahren, bis das Ergebnis von sechs Wachstumsteststufen vorlag. Bei 867, 4. V. und „Hu“, 4. V. wurden in der 2. Teststufe statt einer zwei Schalen vom schnellsten bzw. langsamsten Mycel herausgesucht und vermehrt. Tabelle 3 veranschaulicht die Versuchsanstellung.

Am 18.–20. Tag nach dem Beimpfen der Schalen wurde der Myceldurchmesser an der schmalsten und breitesten Stelle gemessen.

**III. Methoden und Ergebnisse der Untersuchungen
abnorm aussehenden Myzels auf Krankheitsbefall**

Wenn Mycel in seinem Wachstum nachläßt und anomal aussieht, können verschiedene Ursachen vorliegen. Es können Degenerationserscheinungen eingetreten sein. Das Mycel kann aber auch von Krankheitserregern befallen sein, die, eng mit dem Mycel verbunden, nicht zu erkennen sind.

Zum Nachweis von Krankheitserregern wurden verschiedene Methoden angewendet.

a) Mikroskopische Kontrolle

Das Mycel wurde zunächst mikroskopisch bei 400facher Vergrößerung kontrolliert. Neben auf Agar wachsenden Kulturen wurden auch über Glas spinnende Hyphen untersucht. Es konnte kein Befall festgestellt werden.

b) Test auf Bakterien

Zum Nachweis von Bakterien wurde der Nährboden Nr. B 126 (Bacto-Beef-Extrakt) der Firma Difco/USA in 0,3%iger Lösung verwendet. Von jeder untersuchten Schale wurden fünf etwa 4 qmm große Mycelstücke abgeimpft und in Kölbchen mit 15 ml Lösung geprüft. Die Kulturen wurden bei 28 °C gehalten und am 1., 3. und 7. Tag nach dem Beimpfen auf Trübung bonitiert. Zum Vergleich wurden auch Kulturen mit normal aussehendem Mycel, unbeimpfte Nährbodenstücke und unsterile Erdkrümel untersucht.

Auch der Bakterientest fiel negativ aus. Von 80 Kölbchen wurde die Lösung nur in den fünf mit unsteriler Erde beimpften Kontroll-Kölbchen und bei einem mit normal aussehendem Mycel beimpften Kölbchen trüb. Bei letztem, das erst bei der 3. Bonitur Trübung zeigte, handelte es sich wahrscheinlich um eine nachträgliche Infektion.

c) Test auf Viren

1. Hyphenfusion. Zum Nachweis von Viren wurden Hyphen des krankhaft aussehenden Myzels mit Hyphen normalen Myzels anderer Stämme zur Fusion gebracht. Die Übertragung von Viren erfolgt beim Champignon vermutlich durch Hyphenfusion analog zur Übertragung durch Pfropfung bei höheren Pflanzen (HOLLINGS, GANDY und LAST, 1963).

Die Mycele wurden paarweise in 1 cm Entfernung in die Mitte von Petrischalen auf Weizen- und Kompost-Agar geimpft. Die Schalen wurden 17 Tage nach dem Beimpfen bonitiert. Zwei Tage später wurde Mycel aus beiden Seiten der Berührungslinie (unmittelbar anschließend, in 2 und in 7 mm Entfernung) abgeimpft und im Wachstum verglichen. Eine Verlangsamung des Wachstums des ursprünglich normalen Myzels würde auf Virusinfektion deuten.

Eine Verlangsamung des Wachstums normalen Myzels nach Fusion mit langsamwachsendem Mycel der 22. V. von „Hu“ trat jedoch in keinem Falle ein. Es war Mycel der blonden Stämme „Hu“, 2. V. und

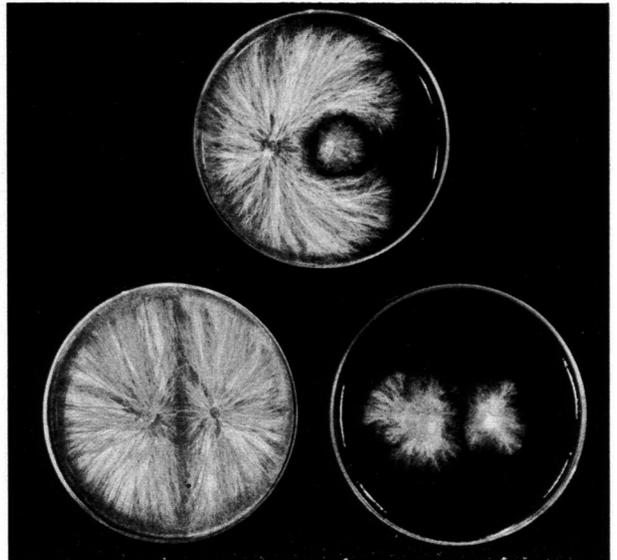


Abb. 1. Fusionsversuch zum Virusnachweis. — Obere Schale: links mit 1206, rechts mit „Hu“ 22. V. beimpft; untere Schalen: in Parallele zur oberen Schale mit 1206 × 1206 (linke Schale) sowie „Hu“ 22. V. × „Hu“ 22. V. (rechte Schale) beimpft. — Kulturen auf Kompostagar, 14 Tage nach dem Beimpfen fotografiert.

1206 und der weißen Einsporkkultur 71 für den Test verwendet worden. Das normalwachsende Mycel umschloß in der Regel das langsamwachsende Mycel, wie Abb. 1 für 1206 × „Hu“, 22. V. veranschaulicht. Beim ersten Blick auf Abb. 1 glaubt man, es gäbe keine Hyphenfusionen zwischen 1206 und „Hu“, 22. V. Doch beim genauen Hinsehen erkennt man, daß die dunkle Grenzfläche zwischen beiden Stämmen

aus:
1206 × Hu 22. V.
Seite 1206
1206 × Hu 22. V.
Seite Hu 22. V.
1206 × 1206
Hu 22. V.
× Hu 22. V.

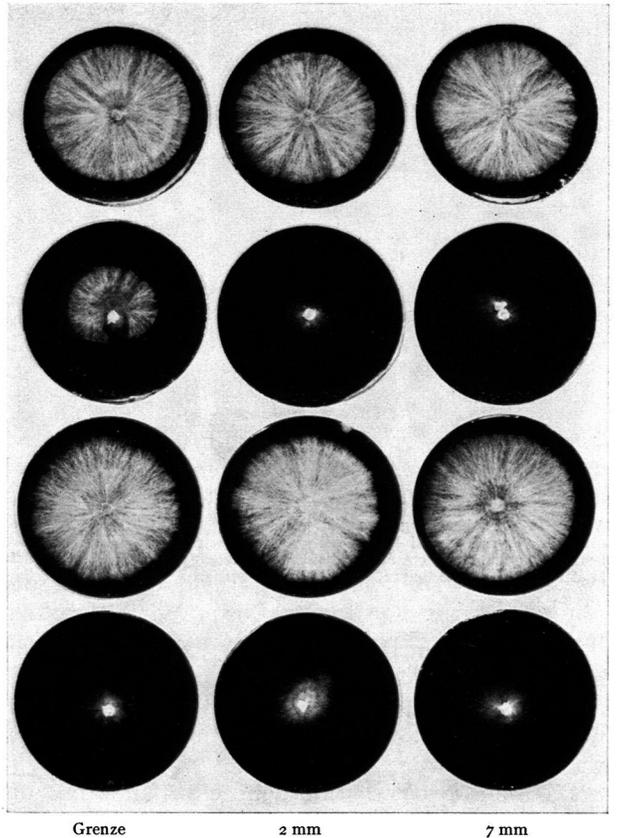


Abb. 2. Fusionsversuch zum Virusnachweis. Abimpfungen aus den Schalen der Abb. 1. Linke Reihe: Mycel aus der Berührungsstelle entnommen; mittl. Reihe: Mycel aus 2 mm Entfernung von der Berührungsstelle entnommen; rechte Reihe: Mycel aus 7 mm Entfernung von der Berührungsstelle entnommen. — Kultur auf Kompostagar. 17 Tage nach dem Beimpfen fotografiert.

an verschiedenen Stellen von Hyphen überwachsen wurde. Die mikroskopische Kontrolle zeigt noch deutlicher das Ineinanderwachsen der Hyphen beider Stämme.

Das zwei Tage nach der Aufnahme an der Berührungsstelle beider Stämme sowie jeweils in 2 mm und 7 mm Entfernung von der Berührungsstelle abgeimpfte Mycel wuchs seinem Typ entsprechend, wie in Abb. 2 zu sehen ist. Die Abbildung zeigt, daß 1206 nicht im Wachstum nachließ, „Hu“ 22. V. jedoch in einem Falle schneller als gewöhnlich wuchs. Da das entsprechende Mycel direkt aus der Berührungsstelle entnommen worden war, wird es sich bei dem schnell wachsenden Mycel um 1206 handeln, von der einzelne Hyphen unbemerkt mit abgeimpft wurden.

2. Wärmeschock. In einem zweiten Virustest wurde das abnorme Mycel 14 Tage lang bei 33 °C Temperatur gehalten. HOLLINGS und Mitarbeiter (1963) hatten durch diese Behandlung Mycel von Viren befreien können. Wir impften unmittelbar nach der Behandlung von der Peripherie der auf Kompost-Agar gehaltenen Kulturen Mycel ab und verglichen es im Wachstum mit unbehandeltem Mycel.

Das Ergebnis war unterschiedlich. Von den vier abgeimpften Mycelstückchen wuchsen zwei langsam weiter, während eines einen dicht fädigen, etwas flauschigen und schnell wachsenden Sektor bekam und das vierte nur dieses schnellwachsende Mycel zeigte. In Abb. 3 ist oben die Ausgangsschale zu sehen, die mit Wärme behandelt wurde. Aus den vier hellen Stellen wurde Mycel entnommen. Zur Zeit des Abimpfens befand sich dort die Peripherie der Kultur.

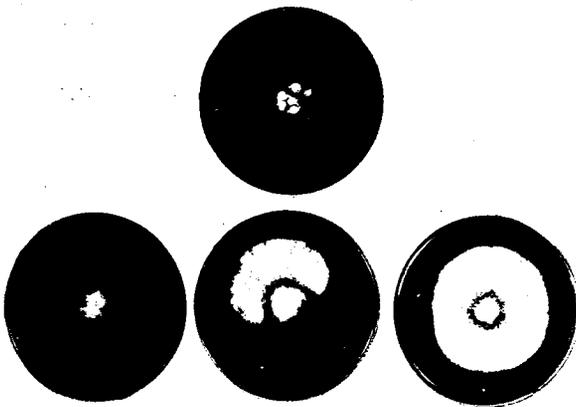


Abb. 3. Wärmebehandlung zum Virusnachweis. — Obere Schale: Mycel von „Hu“, 22. V., 14 Tage bei +33 °C kultiviert; untere Schalen: Nach der Wärmebehandlung von der oberen Schale abgeimpftes Mycel. Die runden weißen Stellen in der oberen Schale zeigen, von wo Mycel mit dem Korkbohrer abgeimpft wurde.

In der unteren Reihe der Abb. 3 sind drei der vier neu beimpften Schalen zu sehen, links eine mit belagartigem Mycel, in der Mitte die mit dem schnellwachsenden Sektor und rechts die mit nur schnell wachsendem Mycel.

Das schnelle Wachstum könnte auf Inaktivierung des Virus im Mycel durch Wärmebehandlung hindeuten. Doch könnte die Wärmebehandlung auch in virusfreiem Mycel Veränderungen hervorrufen. Das neue Mycel sieht abnorm aus (Abb. 3), und es ist zu bedenken, daß sich in „Hu“, 22. V., auch unter

normalen Temperaturverhältnissen schnellwachsende Sektoren gebildet haben.

Bei der Wiederholung des Versuches, bei der fünf Stücke vom behandelten Mycel abgeimpft wurden, behielt das Mycel sein langsames Wachstum bei.

Einen eindeutigen Beweis für Virusbefall können nur eingehende Untersuchungen erbringen, die die Viren im elektronenmikroskopischen Bild sichtbar machen. Da derartige Untersuchungen nicht am hiesigen Institut durchgeführt werden können, haben wir uns mit den entsprechenden Stellen in Verbindung gesetzt. Über das Ergebnis wird später berichtet werden.

C. Ergebnisse

I. Ergebnisse der fortlaufenden Mycelteilung

a) Bonitierungen des Mycels

Bei fortlaufender Mycelteilung verhielten sich die beiden verwendeten Stämme unterschiedlich. Die Einsporkultur 867 zeigte auch nach 40maliger Teilung keinerlei Wachstumshemmung. Die Vielsporkultur „Hu“ dagegen wuchs in der 13. Vermehrungsstufe plötzlich nur noch kümmerlich. Die 12. Vermehrungsstufe wurde daraufhin nochmals geteilt. Nur eines der neuen Röhrchen zeigte jetzt noch abnormen Wuchs, in den anderen Röhrchen war das Mycel normal ausgebildet. Der Wuchs war auch in den nächsten Vermehrungsstufen normal, bis bei der 22. Vermehrung abermals eine starke Wachstumshemmung eintrat. In den weiteren Vermehrungen wuchs das Mycel wieder etwas besser, erreichte aber nicht mehr die frühere Wachstumsrate.

Die graphische Darstellung in Abb. 4 veranschaulicht die Wuchsgeschwindigkeit der einzelnen Vermehrungsstufen der beiden verwendeten Stämme.

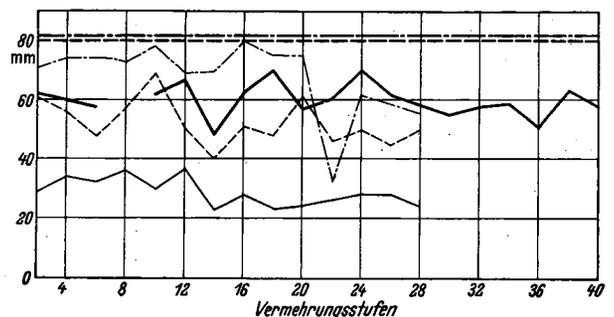


Abb. 4. Vergleich des Mycelwachstums einiger Vermehrungsstufen der Stämme „Hu“ und 867 bei Kultur auf drei verschiedenen Nährböden. — Ordinaten-Werte: \bar{x} Myceldurchmesser von drei Schalen in mm; Abszissen-Werte: Vermehrungsstufen; dünne Linien: Werte der Vielsporkultur „Hu“; dicke Linien: Werte der Einsporkultur 867; —: Kultur auf Biomalz-Agar; - - - -: Kultur auf Weizen-Agar; - - - -: Kultur auf Kompost-Agar. — Von 867 entfiel die 8. Vermehrungsstufe auf Biomalz-Agar wegen Unsterilität.

Um das Material etwas einzuschränken, wurde nur jede 2. Vermehrungsstufe erfaßt. Da das Mycel einiger Vermehrungsstufen fehlte, wurde in diesen Fällen auf die um eine Vermehrung höhere oder niedrigere Stufe zurückgegriffen. In Abb. 4 wurde auf diese Fälle nicht extra hingewiesen, da es nur verwirren würde und sich im Verhalten des Mycels dadurch nichts ändert.

Die Vermehrungsstufen waren für die Messungen in Petrischalen auf drei verschiedenen Nährböden kultiviert worden. Alle Schalen wurden am gleichen Tage beimpft. Die Schalen, von denen abgeimpft wurde, waren ebenfalls am gleichen Tage beimpft

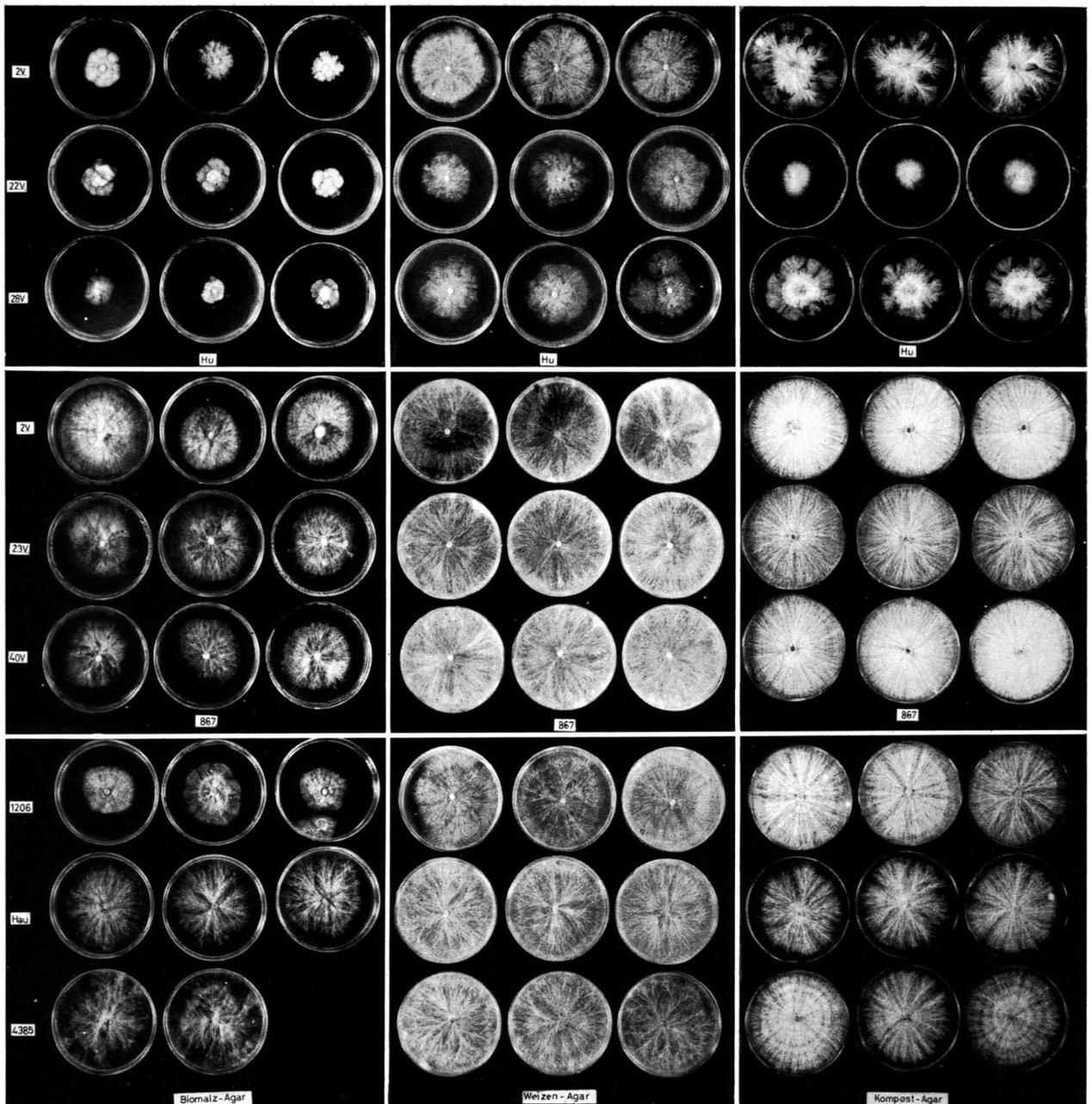


Abb. 5. Vergleich des Mycelwachstums mehrerer Stämme und Vermehrungsstufen auf drei verschiedenen Nährböden. Schalen 17 Tage nach dem Beimpfen fotografiert. — V = Vermehrungsstufe.

worden, so daß für den Test gleichaltriges Mycel zur Verfügung stand. Berücksichtigt werden muß, daß die niedrigsten Vermehrungsstufen am längsten gelagert worden waren. Jedes Versuchsglied wurde in drei Wiederholungen geprüft.

In Abb. 4 wurde jeweils das Mittel der drei Meßwerte eingetragen. Die Meßwerte allein genügen jedoch zur Beurteilung des Wachstums nicht. Auch krankhaft aussehendes Mycel kann mitunter relativ schnell wachsen. In Abb. 5 werden deshalb Aufnahmen einiger Schalen gezeigt. Aus räumlichen Gründen konnten nur die jeweils niedrigste, mittlere und höchste Vermehrungsstufe abgebildet werden.

In der graphischen Darstellung in Abb. 4 wurden drei verschiedene Linienarten für die drei verschiedenen Nährböden verwendet. Die Linien wurden dick gezeichnet, wenn es sich um die Einsporkultur 867 handelte, dünn im Falle der Vielsporkultur „Hu“.

Bei beiden Stämmen liegt die durchgehende Linie in Abb. 4 (Biomalz-Agar) unter den anderen Linien, das Mycel ist also auf Biomalz-Agar am langsamsten gewachsen. Die Linie von „Hu“ liegt wiederum weit unter der von 867. Die Wachstumsunterschiede zwischen den einzelnen Vermehrungsstufen sind unregelmäßig. Sie betragen, besonders bei 867, mitunter mehr als 10 mm. Bei „Hu“ liegen die 14. und 28. Vermehrungsstufe unter der 2.—12. Der stärkste Abfall erfolgt von der 12. zur 14. Vermehrungsstufe, an derselben Stelle, an der in Agarröhrchen das erste Mal ein Nachlassen des Mycelwachstums beobachtet wurde.

Bei 867 liegen die höheren Vermehrungsstufen nicht generell in der Wuchsschnelligkeit unter den niedrigeren Stufen, jedoch gibt es große Schwankungen im Wachstum.

Bei Kultur auf Weizen-Agar haben von 867 am Tage der Bonitur (25 Tage nach dem Impfen) alle

Vermehrungsstufen die Schale durchspinnen (Strichlinie in Abb. 4).

Von „Hu“ hat noch keine der Vermehrungsstufen die Nährbodenoberfläche an diesem Tage ganz übersponnen. Die Schwankungen der Werte sind groß. Das geringste Wachstum zeigt auch hier die 14. Vermehrungsstufe. Danach steigt die Wachstumsrate wieder bis zur 20. Vermehrung an, um dann erneut abzusinken.

Das Mycel sieht jedoch, besonders ab 22. Vermehrungsstufe, nicht mehr normal aus, wie Abb. 5 veranschaulicht. In der Mitte des Bildes sind in der obersten Reihe drei Schalen der 2. Vermehrung von „Hu“ zu sehen. Das Mycel ist fädig. Die drei Schalen darunter wurden mit der 22. Vermehrungsstufe von „Hu“ beimpft. Das Mycel ist belagartig und zeigt nur vereinzelt Fäden. Nicht anders sieht das Mycel der 28. Vermehrungsstufe von „Hu“ (Reihe darunter) aus.

Auf Kompost-Agar (Punkt-Strich-Linie in Abb. 4) hat Stamm 867 die Schalen in 25 Tagen übersponnen. Stamm „Hu“ in der 16. Vermehrungsstufe ebenfalls. Auch in den anderen Vermehrungsstufen, die zwischen der 2. und 20. liegen, ist das Mycel relativ weit gewachsen, am wenigsten weit wieder in der 14. und auch der 12. Stufe. Eine starke Wachstumsdepression tritt jedoch erst in der 22. Vermehrungsstufe auf. Der Myceldurchmesser fällt von 75 auf 32 mm. In der 24. Stufe steigt er jedoch wieder an, um zur 28. Stufe hin wieder langsam abzusinken.

Über die Art des Mycels sagt wieder Abb. 5 etwas aus. Rechts im Bild sind die Kulturen auf Kompost-Agar abgebildet, ganz oben die von „Hu“. Man sieht, daß in der 2. Vermehrung die Schalen zwar weit durchspinnen sind, das Mycel aber krankhaft verändert aussieht. Von einer dichter durchspinnenen Mitte gehen in ungleichmäßigen Abständen Stränge ab, die sich reich verzweigen. Die Schalen der 22. Vermehrungsstufe (Reihe darunter) haben nur wenige mm um das Impfstück herum belagartig anliegendes Mycel gebildet. Bei der 28. Vermehrung (Reihe darunter) ist dieser Belag dichter. Ringsherum wächst daraus dünnfädiges Mycel hervor.

Wie Abb. 5 veranschaulicht, hat das Mycel von 1206 (dritte Reihe von unten) auf Biomalz-Agar die Schalen erst zur Hälfte durchspinnen, während es auf den beiden anderen Nährböden die Schalen ganz oder fast ganz durchwachsen hat. Bei „B“ und 4385 (zweitunterste und unterste Reihe) sind die Schalen auf Weizen-Agar ganz durchspinnen, auf den anderen Nährböden fast ganz.

Im allgemeinen wächst das Mycel auf Weizen-Agar schneller, aber nicht so dicht wie auf Biomalz-Agar. In Abb. 5 ist dieser Unterschied nicht gut zu erkennen, was unter anderem auf den gegenüber dem Biomalz-Agar weniger durchsichtigen Weizen-Agar zurückzuführen ist.

b) Ertragsprüfungen

1. Vermehrungen auf Agar-Nährboden. Von den auf Agar-Nährboden gehaltenen Ver-

mehrungen zeigte nur die höchste Vermehrungsstufe der Vielsporkultur „Hu“ einen Leistungsabfall, wie aus Tab. 1 zu ersehen ist. In beiden Versuchen erreichte die 27. V. von „Hu“ nur 24 bzw. 20% des Ertrages der anderen Vermehrungsstufen dieses Stammes. In Versuch 212 war das Aktivmycel so schlecht durchspinnen, daß nur 0,5 statt 2 qm Versuchsfläche damit gespickt werden konnten. Da der Ertragsabfall der 27. V. von „Hu“ eindeutig ist, bei 867 dagegen die hohen Vermehrungsstufen keinen geringeren Ertrag als die niedrigen Stufen brachten, wurde auf die Errechnung der Sicherungen der Differenzen verzichtet.

Die Ertragswerte (angegeben als $\bar{x} \pm S\bar{x}$) wurden durch im Kompost auftretende Schadpilze ungünstig beeinflusst. Trotzdem geht die Unterlegenheit der 27. Vermehrung von „Hu“ gegenüber den anderen Vermehrungsstufen dieses Stammes aus den Zahlen klar hervor.

2. Vermehrungen auf Körnern. Bei den auf Körnern kultivierten Vermehrungen traten keine gesicherten Ertragsunterschiede auf. In Versuch 94 (Tab. 1) beträgt die höchste Differenz 1,7 kg/qm, die Grenzdifferenz für einen p-Wert von 5% jedoch 1,9 kg/qm. Auch in Versuch 151 ist die Differenz von 1,7 kg/qm zwischen der 4. und 15. Vermehrungsstufe nicht statistisch gesichert.

Tabelle 1. Ertragsprüfungen der Vermehrungsstufen.

Vers.-Nr.:	Vermehrung auf Agar-Nährböden			
	210		212	
	kg/m ²		kg/m ²	
Stamm:	Hu	867	Hu	867
V.-St.				
2.	3,7 ± 0,18	4,2 ± 0,70	5,6 ± 0,44	6,3 ± 1,01
7.	3,2 ± 0,38	4,1 ± 0,17	5,6 ± 0,28	6,0* ± 0,66
12.	4,2 ± 0,59	5,9 ± 0,09	5,2* ± 0,66	6,3 ± 0,99
17.	—	3,6 ± 0,47	6,4 ± 0,46	5,0 ± 0,66
22.	3,7* ± 0,00	3,5 ± 0,53	5,7 ± 0,14	6,0 ± 0,73
27.	0,9 ± 0,19	3,5 ± 0,41	1,1* ± —	6,9* ± 1,10
32.	—	4,2 ± 0,50	—	5,4 ± 0,26
37.	—	3,2 ± 0,87	—	6,2 ± 0,17
40.	—	—	—	5,1 ± 0,30

Vers.-Nr.:	Vermehrung auf Körnern			
	94		151	
	kg/m ²		kg/m ²	
Stamm:	Hu	867	867	867
V.-St.				
2.	7,7 ± 0,54	11,2 ± 0,47	—	—
3.	7,9 ± 0,36	10,0 ± 0,66	—	—
4.	—	10,4 ± 0,51	—	7,0 ± 0,23
5.	7,2 ± 0,36	9,5 ± 1,16	—	—
6.	—	11,1 ± 0,45	—	—
7.	6,2 ± 0,57	10,0 ± 0,58	—	6,5 ± 0,84
8.	7,6 ± 0,55	—	—	—
15.	—	—	—	5,3 ± 0,49

\bar{x} und $S\bar{x}$ angegeben in kg/m²

Vers.-Nr. = Versuchs-Nummer

V.St. = Vermehrungsstufen

— = wegen Unsterilität der Brut nicht geprüft

Die Zahl der Wiederholungen betrug:

in den Versuchen 151, 210 und 212 = 4 (2 m²)

in Versuch 94 = 10 (5 m²)

* = Bei den mit * versehenen Zahlen lagen wegen Brut-Unsterilität nur zwei bzw. bei der 27. Vermehrungsstufe von „Hu“ in Versuch 212 wegen schlechter Mycelentwicklung nur eine Wiederholung vor.

Tabelle 2. Übersicht über die Wachstumsteste mit der 22. Vermehrung der Vielsporkultur „Hu“. Die Verbindungslinien zeigen an, aus welcher Schale bzw. Schalengruppe das Mycel jeweils entnommen wurde.

Teststufe	Bedeutung der Zahlenwerte	I-Gruppe langsamer wachsend		s-Gruppe schneller wachsend	
1.	Stück-Nr. in Abb. 6	(14) 50	(17) 50	5 61	10 59
2.	∅ mm	49	44	64	69
3.	\bar{x} ∅ mm	50	59	73	89
4.	\bar{x} ∅ mm	(18) 48	(19) 38	12 65	15 60
		43	49	86	62
		63	63	89	88
		(25) 50	(27) 57	10 59	12 65
		65	65	64	67
		59	59	73	85
5.	Stück-Nr. in Abb. 11/10	1 68	2 77	3 78	4 73
	∅ mm	31	38	34	36
6.	\bar{x} ∅ mm	5 31	6 31	7 28	8 30
		68	75	41	48
		11 12	12 12	13 11	14 12
		15 11	16 11	17 11	18 11
		19 11	20 11	21 11	22 11
		23 11	24 11	25 11	26 11
		27 11	28 11	29 11	30 11
		31 11	32 11	33 11	34 11
		35 11	36 11	37 11	38 11
		39 11	40 11	41 11	42 11
		43 11	44 11	45 11	46 11
		47 11	48 11	49 11	50 11
		51 11	52 11	53 11	54 11
		55 11	56 11	57 11	58 11
		59 11	60 11	61 11	62 11
		63 11	64 11	65 11	66 11
		67 11	68 11	69 11	70 11
		71 11	72 11	73 11	74 11
		75 11	76 11	77 11	78 11
		79 11	80 11	81 11	82 11
		83 11	84 11	85 11	86 11
		87 11	88 11	89 11	90 11

Abb. 10

Abb. 11

∅ = Durchmesser der von Mycel überwachsenen Fläche.

II. Ergebnisse der Wachstumsteste bei fortlaufender Vermehrung der am schnellsten bzw. am langsamsten gewachsenen Mycelstellen

a) Vielsporkultur „Hu“, 22. V.

1. Verhalten des Mycels. Das Mycel von „Hu“ zeigte nach 22maliger Vermehrung starke Wachstumsdepressionen. Auf Kompost-Agar in Schalen abgeimpft bildete es nur einen langsam wachsenden dichten Belag. Bei einer dieser Schalen zeigte sich jedoch nach einiger Zeit an der Peripherie des Belages an mehreren Stellen fädiges Mycel (Abb. 6). Von 30 verschiedenen Stellen der Schale wurde daraufhin Mycel mit dem Korkbohrer abgeimpft und je auf eine neue Schale übertragen. Die Zahlen in Abb. 6 geben Stellen an, aus denen Mycel entnommen wurde. Der Übersichtlichkeit halber wurden nur die Impfstellen aufgeführt, deren Mycel später weiter vermehrt wurde. Das Mycel der eingekreisten Zahlen wuchs am langsamsten, das der anderen Zahlen am schnellsten von allen geprüften Impfstücken weiter. Wie Abb. 6 veranschaulicht, lagen die langsamwachsenden Impfstücke alle in einem Abschnitt zusammen,

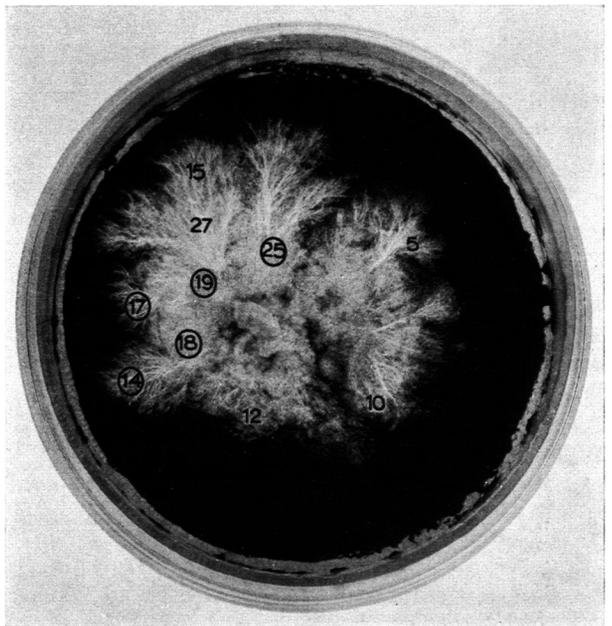


Abb. 6. „Hu“, 22. Vermehrung, 1. Teststufe. — Die Zahlen kennzeichnen die Stellen, aus denen abgeimpft wurde. — o: Impfstück später langsam wachsend.

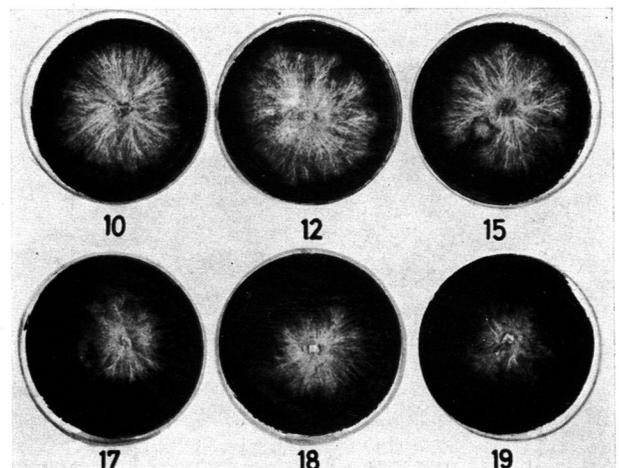


Abb. 7. „Hu“, 22. Vermehrung, 2. Teststufe. — Die Zahlen zeigen an, um welches Impfstück aus Abb. 6 es sich handelt.

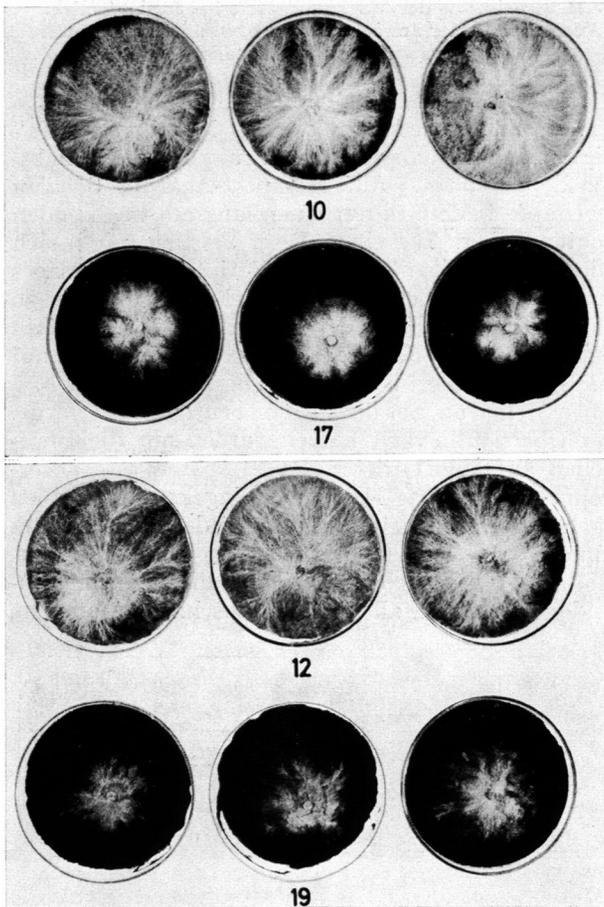


Abb. 8. „Hu“, 22. Vermehrung, 3. Teststufe. — Die Zahlen zeigen an, von welchem Impfstück aus Abb. 6 die Schalen abstammen.

während die schnellspinnenden Stücke etwas verteilt vorwiegend an der Peripherie lagen. Sie waren nicht alle vom fädigen Myceltyp, wie auch alle langsamwachsenden Stücke nicht vom belagartigen Myceltyp waren. In Tab. 2 sind in der Spalte der 1. Test-

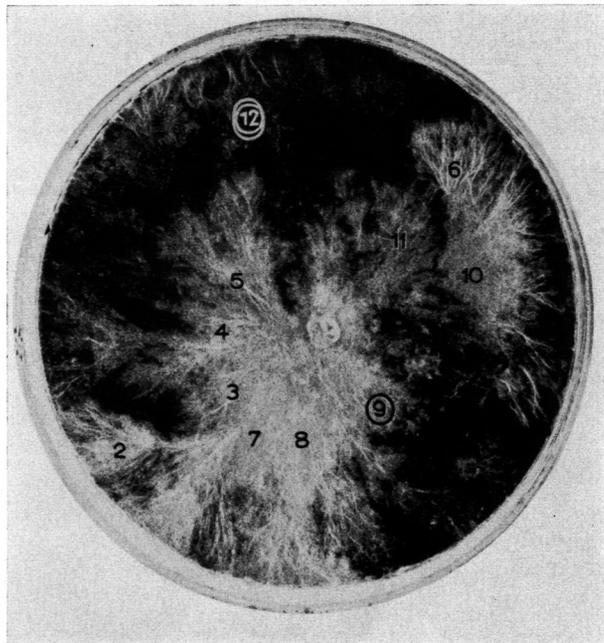


Abb. 10. „Hu“, 22. Vermehrung, 4. Teststufe. — Rechte Schale der zweituntersten Reihe in Abb. 9. Die Zahlen kennzeichnen die Stellen, aus denen abgeimpft wurde. — o: Impfstück später am langsamsten wachsend; ⊙: Impfstück später am schnellsten wachsend.

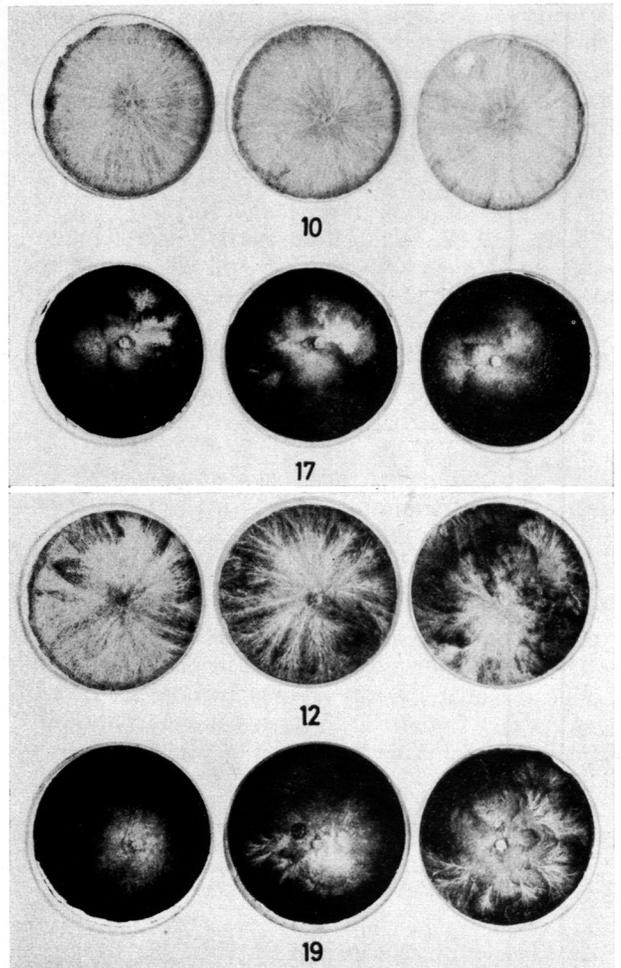
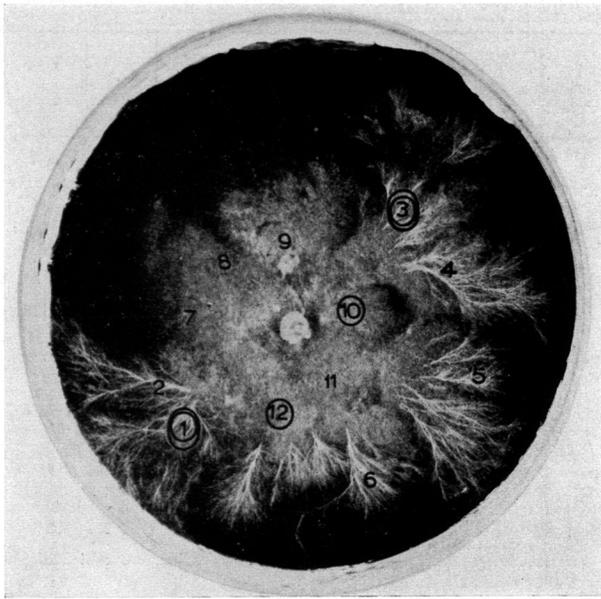


Abb. 9. „Hu“, 22. Vermehrung, 4. Teststufe. — Die Zahlen zeigen an, von welchem Impfstück aus Abb. 6 die Schalen abstammen.

stufe die einzelnen Impfstücke aufgeführt. In der Spalte der 2. Teststufe ist der Myceldurchmesser jeder Schale angegeben. Die Zahlenwerte rechtfertigen die Einteilung der Schalen in eine langsam- und eine schnellwachsende Gruppe. Abb. 7 veranschaulicht diese Einteilung. In der oberen Reihe werden drei Schalen der schnellwachsenden Gruppe, in der unteren Reihe drei Schalen der langsamwachsenden Gruppe gezeigt. In Abb. 8 sind je drei der acht von den Schalen 10, 17, 12 und 19 abgeimpften Schalen zu sehen (3. Teststufe). Der Unterschied zwischen den beiden Wuchsgruppen in der Wuchsgeschwindigkeit ist stärker ausgeprägt als in Abb. 7. Noch klarer kommt die Differenz bei weiterer Vermehrung des Mycels heraus (4. Teststufe, Abb. 9). Die Schalen des Impfstückes Nr. 10 zeigen jetzt ein dicht fädiges, gleichmäßig schnell wachsendes Mycel, während das Mycel des Impfstückes 17 durchweg belagartig ist und sehr langsam spinnet. Weniger prägnant sind die Wuchsunterschiede zwischen den Impfstücken 12 und 19. Besonders die ganz rechts abgebildeten Schalen sind sehr ungleichmäßig. Die rechte Schale der Nr. 12 zeigt fast genau so viel belagartiges wie fädiges Mycel und die rechte Schale der Nr. 19 bildet um die belagartige Mitte Mycelstränge aus. Bei beiden Schalen wurde wieder versucht, die verschiedenen Wuchstypen zu trennen. In Abb. 10 und 11 sind die Schalen einzeln abgebildet. Die eingetragenen Nummern kennzeichnen die Stellen, aus denen Mycel ab-



19

Abb. 11. „Hu“, 22. Vermehrung, 4. Teststufe. — Rechte Schale der unteren Reihe in Abb. 9. — Die Zahlen kennzeichnen die Stellen, aus denen abgeimpft wurde. — o: Impfstück später langsam wachsend; ●: Impfstück später schnell wachsend.

geimpft wurde. Über die Spinnschnelligkeit der einzelnen Impfstücke gibt die Spalte der 5. Teststufe in Tab. 2 Auskunft. Die Impfstücke der zu der langsamspinnenden Gruppe gehörenden Schale 19 wuchsen bis auf eine Ausnahme langsamer als die Impfstücke der Schale 12 der schnellspinnenden Gruppe. Die Ausnahme ist Impfstück 1, das schneller wächst als die beiden langsamsten Impfstücke von Schale 12. Auch Impfstück 3 der Schale 19 wächst schneller als die übrigen Impfstücke. Beide Stücke kommen aus fädigen Stellen der Schale 19, wie Abb. 11 zeigt. In Abb. 12 sind sie neben den zwei langsamsten Impfstücken der Schale 19 (Nr. 10 u. 12) und neben dem langsamsten (Nr. 9) und schnellsten Impfstück (Nr. 12) der Schale 12 zu sehen. Abb. 13 veranschaulicht, wie sich die vier Impfstücke der Schale 19 nach einer weiteren Vermehrung verhielten (6. Teststufe). 1 und 3 haben die Schalen gleichmäßig dichtfädig durchgesponnen, 10 und 12 zeigen dagegen ein belagartiges Mycelwachstum. Aber schon sind wieder fädige Stellen in drei der vier Schalen zu sehen. Wahrscheinlich würde man hier wieder schneller wachsendes Mycel abimpfen können und die Wuchstypen auf diese Weise für eine mehr oder weniger lange Zeit voneinander trennen können.

2. Ergebnisse der Ertragsprüfungen. Die Ertragsprüfungen zeigten, daß die langsamwachsenden Mycelien auch im Kompost sehr langsam wuchsen. Das Aktivmycel war nur teilweise durchgesponnen und brachte einen entsprechend geringen Ertrag. In der 4. Test-Stufe wurde von den schlecht spinnenden Mycelien der Nr. 19 (Abb. 9) nur halb so viel geerntet wie von dem besser wachsenden Mycel der Nr. 12. Aber auch hier war der Ertrag gering (2,4–3,7 kg/qm gegenüber 0,3–1,2 kg/qm bei Nr. 19). In der 6. Test-Stufe, wo nur Mycel von Nr. 19 verwendet wurde (Abb. 13), wuchsen 1 und 3 etwas besser im Kompost als 10 und 12. Der Ertrag war jedoch in allen Fällen gleich schlecht (0,3–1,6 kg/qm).

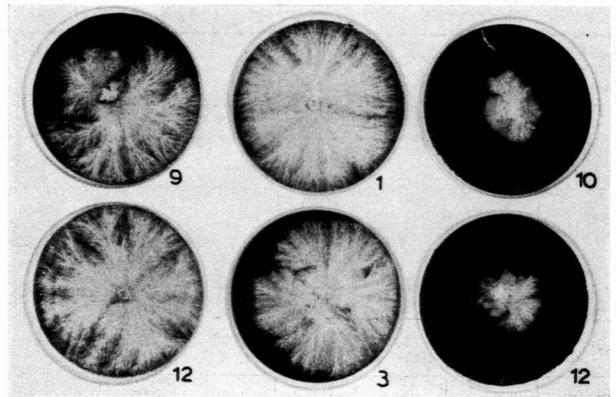


Abb. 12. „Hu“, 22. Vermehrung, 5. Teststufe. — Die Zahlen zeigen an, von welchen Impfstücken in Abb. 10 (linke Spalte) bzw. 11 die Schalen abstammen.

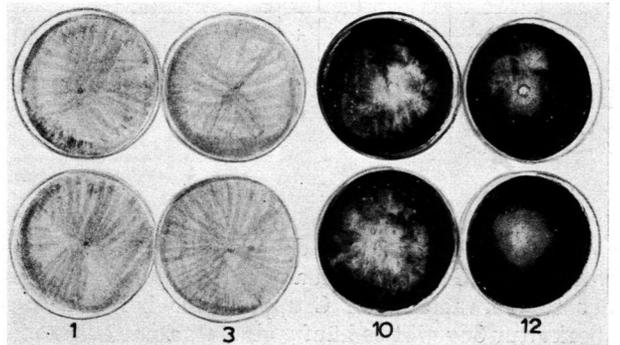


Abb. 13. „Hu“, 22. Vermehrung, 6. Teststufe. — Die Zahlen zeigen an, um welches Impfstück aus Abb. 11 es sich handelt.

b) Vergleich von vier Viel- und vier Einsporkulturen

Nachdem die Isolierung verschiedener Wuchstypen bei der 22. Vermehrungsstufe von „Hu“ gelungen war, wurden von weiteren Viel- sowie Einsporkulturen Wachstumsteste durchgeführt. Systematisch wurde bei jedem Stamm aus der schnellwachsenden Gruppe die schnellste, aus der langsamwachsenden Gruppe die langsamste Schale vermehrt. Eine Übersicht über die Ergebnisse der Wachstumsteste von 6 Teststufen zeigen Tab. 3 und die graphische Darstellung in Abb. 14. In Tab. 3 wurden von links nach rechts zunächst die 4 Vielsporkulturen und anschließend die 4 Einsporkulturen aufgeführt. Die 6 Test-Stufen stehen untereinander. Die Zahlenwerte der Tabellen geben den Durchmesser der Mycelkulturen in Petrischalen an. In der 1. Test-Stufe bezieht dieser Wert auf Einzelschalen, nämlich auf die Ausgangsschalen für die weiteren Test-Stufen. In der 2. Test-Stufe wird mit Ausnahme von „Hu“, 4. V. und 867, 4. V. der mittlere Durchmesser von je 10 Schalen angegeben. Unter jedem Durchschnittswert steht die Streubreite der Einzelwerte, d. h. es ist jeweils der geringste sowie der weiteste Durchmesser aufgeführt. Neben diesen Werten ist in einer besonderen Spalte die Differenz zwischen dem Myceldurchmesser der beiden Gruppen (l und s) angegeben. In einer weiteren Spalte findet man eine Angabe über die statistische Sicherung dieser Differenz. Sie ist für einen p-Wert von 5% errechnet worden.

Bei „Hu“, 4. V. und 867, 4. V. sind erst in der 3. Test-Stufe Durchschnittswerte zu finden, da in der 2. Teststufe eine neue l- und s-Gruppe aufgestellt wurden.

Tabelle 3. Wachstumstest mit vier Viel- und vier Einsporkulturen. Auslese auf langsames und schnelles Wachstum.

Brut-Nr. Art/Farbe Gruppe	Hu. 4. V V./b.								F V./b.				B V./w.				U V./w.			
	l				s				l		s		l		s		l		s	
	D.		S.		D.		S.		D.		S.		D.		S.		D.		S.	
1.	(61)				(73)				(57)	(71)	14		(42)	(74)	32		(46)	(52)	6	
2.	(32)	(60)	28		(36)	(43)	7		68 (60-77)	70 (67-75)	2	0	57 (43-70)	68 (60-78)	11	+	43 (39-50)	44 (42-47)	1	0
3.	68 (52-85)	77 (58-85)	9	+	56* (45-65)	59 (43-78)	3	0	70 (49-80)	76 (68-82)	6	+	45* (40-48)	55 (47-65)	10	+	41 (36-49)	49 (43-55)	8	+
4.	68 (60-80)	79 (74-88)	11	+	68 (62-78)	76 (70-85)	8	+	81 (75-82)	81 (77-82)	0	0	56* (41-66)	70 (66-75)	14	+	42 (36-47)	48 (31-60)	6	+
5.	68 (44-78)	70 (57-80)	2	0	63* (58-70)	69* (46-80)	6	+	76 (72-79)	78 (73-80)	2	+	48 (42-55)	54 (50-58)	6	+	49 (41-54)	57 (50-61)	8	+
6.	66* (60-75)	76 (68-81)	10	+	65* (57-73)	77 (70-84)	12	+	82 (∞ 82)	82 (∞ 82)	0	0	72 (61-83)	74 (65-79)	2	0	49 (45-57)	57 (53-64)	8	+

Die in Klammern gesetzten Zahlen sind Meßwerte der Einzelschalen, die Zahlen ohne Klammern Durchschnittswerte von je 10 Schalen. Wo zwei Zahlen in Klammern stehen, wurden die beiden Extremwerte angeführt.

V = Vielsporkultur
E = Einsporkultur

b = blonde Fruchtkörper
c = cremefarbene Fruchtkörper
w = weiße Fruchtkörper

Der Myceldurchmesser der Schalen der langsamwachsenden Gruppe ist im allgemeinen kleiner als der der schnellwachsenden Gruppe. Nur bei der Einsporkultur 867 gibt es häufig eine negative Differenz, d. h. die Mycele der schnellwachsenden Gruppe sind langsamer gewachsen als diejenigen der langsamwachsenden Gruppe. In drei Fällen ist diese negative Differenz sogar statistisch gesichert. Eine geringe negative Differenz von -1 mm tritt außerdem einmal bei der Einsporkultur 4385 auf. Diese geringe Differenz ist nicht statistisch gesichert.

Die Unterschiede zwischen l und s sind bei den Vielsporkulturen sehr viel häufiger, nämlich in 70% der Fälle statistisch gesichert als bei den Einsporkulturen, wo sie nur in 36% der Fälle gesichert sind. Der t-Test der Gruppe Vielsporkultur gegen die Gruppe Einsporkultur ergab eine statistische Sicherung der unterschiedlich großen Differenzen bei der 4. und 6. Test-Stufe. Bei der 3. und 5. Test-Stufe brachten die Vielsporkulturen keine gesichert größeren Differenzen als die Einsporkulturen. Allerdings war bei der 5. Test-Stufe die Sicherung fast erreicht (wirkliche Differenz = 3,3 mm, Grenzdifferenz = 3,5 mm).

Nicht alle Stämme der Gruppe Vielsporkultur zeigen vorwiegend statistisch gesicherte positive Differenzen zwischen l und s. Bei der Vielsporkultur „F“ sind nur in 2 von 5 Fällen die Differenzen gesichert, während bei allen anderen Vielsporkulturen diese Sicherung in 3 von 4 bzw. 4 von 5 Fällen gegeben ist. „F“ verhält sich demnach genau so wie die Einsporkulturen, bei denen in 2 von 5 oder 1 von 4 Fällen eine statistische Sicherung der Differenz vorliegt. Allerdings sind darunter auch negative gesicherte Unterschiede.

Die Sicherung der Differenz ist ab 5 mm in allen Fällen gegeben. Vereinzelt sind jedoch auch Unterschiede von 4 und 3 mm, in einem Falle sogar von 2 mm statistisch gesichert. Hier war die Streuung der Einzelwerte innerhalb der Gruppen relativ gering, wie man an den in Klammern gesetzten Zahlen unter den jeweiligen Durchschnittswerten sehen kann.

Der Unterschied zwischen der Spinn Schnelligkeit der auf langsamwachsendes Mycel und der auf schnellwachsendes Mycel ausgelesenen Gruppen erhöht sich nicht mit der Zahl der Test-Stufen. Es ist in keinem Fall gelungen, die verschiedenen Wuchstypen durch

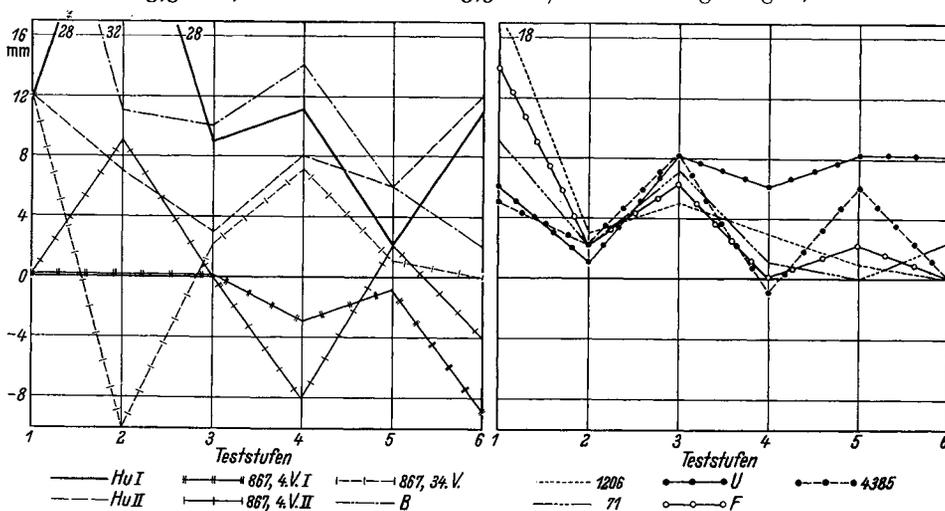


Abb. 14. Vergleich der Differenz zwischen dem mittleren Myceldurchmesser der l- und s-Gruppe im Verlaufe von 6 Teststufen bei 4 Vielspor- und 4 Einsporkulturen. — Vielsporkulturen: Hu, B, U, F; Einsporkulturen: 867, 1206, 71, 4385; + Werte: s > l; - Werte: s < l. — Einige Male betrug die Differenz mehr als 16 mm. In diesen Fällen wurde der Differenzwert direkt an die Linie geschrieben.

Übersicht über den mittleren Durchmesser des Mycel in mm.

1206 E./b.				867, 4. V. E./c.				867, 34. V. E./c.				71 E./w.				4385 E./w								
l		s		l		s		l		s		l		s		l		s						
		D.	S.			D.	S.			D.	S.			D.	S.			D.	S.					
(61)	(79)	18		(85)				(85)				(45)	(57)	12		(69)	(78)	9		(69)	(74)	5		
					D.	S.			D.	S.														
				l	s			l	s															
71 (54-79)	74 (70-78)	3	o	(87)	(87)	o		(78)	(87)	9		86 (84-87)	76* (71-80)	-10	-	57 (51-60)	59 (55-64)	2	o	54* (50-60)	56 (52-60)	2	o	
77 (66-82)	82 (80-82)	5	+	84 (80-87)	84 (80-87)	o	o	83 (79-87)	83 (70-85)	o	o	64 (50-73)	66 (57-72)	2	o	65 (62-69)	72* (65-80)	7	+	69 (65-73)	77 (73-80)	8	+	
79 (65-83)	82 (80-83)	3	+	72 (57-85)	69 (50-78)	-3	o	74 (67-85)	66 (61-79)	-8	-	73* (58-80)	80* (74-85)	7	+	69 (62-74)	70 (65-77)	1	o	76 (72-79)	75 (70-79)	-1	o	
76 (72-80)	77 (75-80)	1	o	80* (67-85)	79 (53-85)	-1	o	80* (78-85)	82 (78-85)	2	o	68 (63-75)	69 (63-73)	1	o	66 (62-72)	66* (62-70)	o	o	67* (61-72)	73 (69-77)	6	+	
82 (80-82)	82 (80-82)	o	o	74 (70-77)	65 (60-70)	-9	-	69 (65-75)	65 (44-72)	-4	o	86 (80-87)	86 (83-87)	o	o	73 (68-78)	76 (70-79)	3	+	78 (75-80)	78 (76-80)	o	o	

Ein * an der Zahl besagt, daß wegen Unsterilität und anderer Gründe weniger als 10 Schalen zur Verfügung standen.

l = von langsamspinnendem Mycel abgeimpft
s = von schnellspinnendem Mycel abgeimpft

D = Differenz
S = Sicherung der Differenz
+ : mit einem p-Wert von 5% s schneller als l
- : mit einem p-Wert von 5% s langsamer als l
o : Differenz nicht gesichert

systematische Auslese immer mehr voneinander zu trennen. Bei der 22. Vermehrungsstufe von „Hu“ war diese Trennung teilweise geglückt (Abb. 6—9, Impfstück 10 u. 17).

Eine graphische Darstellung der Differenzen zwischen der l- und s-Gruppe (Abb. 14) veranschaulicht die Zahlenwerte der Tabelle 3. Auf der Abszisse wurden die Teststufen eingezeichnet, auf der Ordinate oberhalb der Abszisse die positiven Differenzen zwischen l und s ($s > l$), unterhalb der Abszisse die negativen Differenzen ($s < l$). Die verschiedenen Prüfungen (Stämme und Wiederholungen mit denselben Stämmen) wurden durch verschiedenartige Linien gekennzeichnet. Da die große Anzahl der Linien verwirren würde, wurden die Linien auf zwei Koordinatensysteme verteilt. Die Prüfungen waren nicht alle gleichzeitig durchgeführt worden. Die zuerst untersuchten Stämme waren in Glaspetrischalen von 87 mm Bodendurchmesser, die später getesteten Stämme in Einmal-Petrischalen aus Polystyrol mit 82 mm Durchmesser kultiviert worden. Nach Material der Kulturschalen getrennt wurden die Stämme auf die beiden Koordinatensysteme verteilt.

Im linken Koordinatensystem in Abb. 14 sind die Vielsporkulturen „Hu“ (2x) und „B“ der Einsporkultur 867 (3x) gegenübergestellt. Die Kurven der Vielsporkulturen liegen, bis auf eine Ausnahme in der 2. Test-Stufe, über den Kurven der Einsporkultur; die Differenzen zwischen l und s sind also bei den Vielsporkulturen größer als bei der Einsporkultur. Bei 867 fallen die außerordentlich großen Schwankungen auf. Zwei der drei Kurven liegen abwechselnd mal hoch im positiven, mal tief im negativen Bereich. Die dritte Kurve schwankt weniger, verläuft aber nur auf der o-Linie oder im negativen Bereich.

Im rechten Koordinatensystem sind die Kurven der übrigen zwei Vielspor- und drei Einsporkulturen aufgezeichnet. Die Kurve der Vielsporkultur „U“ fällt auf, da sie ab 3. Test-Stufe über allen anderen Kurven liegt. Die andere Vielsporkultur „F“ unterscheidet sich nicht von den Einsporkulturen. Unter den Einspor-

kulturen fällt Nr. 4385 durch unregelmäßigen Kurvenverlauf, der einmal sogar in den negativen Bereich führt, auf. Die sehr unterschiedliche und teils große Höhe der Kurven in der 1. Test-Stufe erklärt sich durch die Tatsache, daß von ausgesuchten Einzelschalen ausgegangen wurde, während später mit Mittelwerten operiert wurde.

D. Diskussion der Ergebnisse

Bei häufiger Vermehrung einer Viel- sowie einer Einsporkultur durch Mycelteilung zeigte die Vielsporkultur bereits in der 13. Vermehrung abnormes, langsamwachsendes Mycel, während die Einsporkultur auch nach 40maliger Mycelteilung nichts von ihrer Wüchsigkeit eingebüßt hatte.

Eine Erklärung dieses unterschiedlichen Verhaltens liegt auf der Hand. Nach KLIGMAN (1943), SARAZIN (1955) und EVANS (1959) ist die Zahl der Kerne in den vegetativen Zellen von *Agaricus bisporus* unterschiedlich. Sie schwankt nach EVANS (1959) zwischen 1 und 36 Kernen. SARAZIN (1955) zählte z. B. in drei aufeinanderfolgenden Zellen 27, 8 und 13 Kerne. Die Kerne teilen sich in der Regel unabhängig voneinander. Auch die Zellwandbildung erfolgt unabhängig von der Kernteilung. Auf Grund dieser Unregelmäßigkeiten ist es denkbar, daß das Mycel in den verschiedenen Zellen genetisch verschiedene Kerne in unterschiedlichem Verhältnis zueinander enthält. Sogar eine Trennung genetisch verschiedener Kerne ist vorstellbar.

Einsporkulturen können in der Regel nur zwei genetisch verschiedene Kerne enthalten, während das Mycel von Vielsporkulturen eine große Zahl von Kernen verschiedenen Gehaltes aufweisen kann.

Infolge der Unregelmäßigkeiten von Kernteilung und Zellwandbildung kann es vermutlich zur Anreicherung bestimmter Genotypen an einzelnen Stellen des Mycels kommen. Durch Abimpfungen aus diesen Stellen werden diese Typen von den anderen getrennt.

Die gelungene Trennung der verschiedenen Wuchstypen aus der 22. Vermehrung von „Hu“ (Vielspor-

kultur) bestätigt diese Annahme. Allerdings war die Trennung teilweise unvollkommen. Der belagartige Typ trat später wieder im fädigen Typ auf und umgekehrt. Dieses Ergebnis ist jedoch nicht verwunderlich, wenn man bedenkt, daß bei der angewendeten Methode nur relativ große Mycelstücke abgeimpft werden konnten. In Fortsetzung der Versuche arbeiten wir jetzt mit bis Zellgröße zerkleinertem Mycel. Die einzelnen Zellen werden vermehrt, wenn sie durch mikroskopische Kontrolle bei Phasenkontrast als kernarm bestimmt worden sind.

Nimmt man an, daß das Merkmal „abnormes Wachstum“ genetisch bedingt war, dann könnten die dafür verantwortlichen Gene entweder bereits von der Aussaat an in der Vielsporkultur vorhanden gewesen sein und sich erst nach mehreren Vermehrungen durch Entmischungen manifestiert haben oder sie könnten erst später durch Mutation entstanden sein. Ferner ist es denkbar, daß der abnorme Wuchstyp nicht auf mutative, sondern auf modifikative Einflüsse oder auf eine Virusinfektion zurückzuführen ist. In allen Fällen bis auf den erstgenannten Fall hätten die Veränderungen genau so in Einwie in Vielsporkulturen auftreten können.

Der Lösung des Problems, ob sich Einsporkulturen bei Mycelvermehrung leichter konstant erhalten lassen als Vielsporkulturen, kommt der Versuch der Trennung nach Wuchsschnelligkeit näher, der mit vier Viel- und vier Einsporkulturen durchgeführt wurde. Nach fortgesetzter Vermehrung der langsamsten und schnellsten Mycele zeigte sich, daß eine Trennung von Wuchstypen leichter bei Vielsporkulturen als bei Einsporkulturen zu erreichen ist. Bei den Vielsporkulturen war das schnellere Mycelwachstum der s-Gruppe gegenüber der l-Gruppe doppelt so häufig gesichert als bei den Einsporkulturen. Das Ergebnis war nach dem oben Gesagten erwartet worden.

Für die Erhaltungszüchtung kann daraus gefolgert werden, daß sich Vielsporkulturen bei Vermehrung durch Teilung leichter verändern können als Einsporkulturen.

Der Einfluß des Nährbodens auf das Mycelwachstum erwies sich als erheblich (Abb. 4 und 5). Die Unterschiede zwischen den niedrigen und hohen Vermehrungsstufen von „Hu“ treten am klarsten auf Kompost-Agar in Erscheinung. Kompost-Agar ist der nährstoffreichste der drei verwendeten Nährböden und kommt dem Substrat des Kulturbeetes am nächsten.

Auf die Bedeutung des Nährbodens für das Champignonmycel wurde auch von anderen Seiten hingewiesen.

Die Unterschiede im Myceltyp der von SIGEL und SINDEN (1953) gewonnenen Vielsporkulturen zeigten sich bei Kultur auf Kartoffel-Dextrose-Agar viel deutlicher als bei Kultur auf Grüne-Bohnen-Agar.

HELTAY und UZONYI (1963) stellten bei der von ihnen verwendeten Vielsporkultur bei Kultur auf Maiskörnern schon nach wenigen Vermehrungen Degenerationserscheinungen fest. Auch bei Kultur auf Roggenkörnern kam es bald zu Degenerationserscheinungen, während dieselbe Vielsporkultur bei Kultur auf Heubündelchen auch nach 50maliger Umimpfung weder in der Wachsfreudigkeit noch im Ertrag nachließ. Auch bei Kultur auf Biomalz-Agar

wurde das Mycel nicht geschädigt. Es war jedoch im Wuchs und Ertrag nicht so gut wie bei Kulturen auf Heubündelchen.

LAMBERT (1959) stellte fest, daß lange Zeit auf Getreidekörnern gehaltene Brut in einen flauschigen Typ übergehen kann, der auf dem Kulturbeet „schwimmendes Mycel“ hervorbringt. Das stimmt überein mit den Beobachtungen von STOLLER (1962), daß sich auf stärkehaltigem Substrat besonders viel flauschig wachsende Sektoren bilden.

Es ist auch aus der Phytopathologie bekannt, daß der Nährboden den Pilz beeinflusst. Man kennt viele Beispiele für ein Nachlassen der Virulenz des Schadpilzes nach Kultur unter Laborbedingungen (GÄUMANN, 1951). Die Abnahme der Virulenz kann sowohl durch Über- als auch Unterernährung hervorgerufen werden, sie kann nach kurzer Kultur auf dem natürlichen Substrat in vollem Maße wiedererlangt werden, aber auch gänzlich verlorengehen.

Zur Klärung der Frage, welche Ursachen die verschiedenen Erscheinungen haben und ob ihre Entstehung auf Entmischungen zurückzuführen ist, sind folgende Feststellungen von Bedeutung:

Bei Kultur eines Genotypengemisches auf verschiedenen Substraten werden jeweils die Genotypen gefördert, die sich dem Nährboden am besten anpassen können. Auf diese Weise kann es zu Entmischungen kommen.

Da jedoch nicht nur gut wachsende Typen wie der Flauschtyp, sondern auch langsam wachsendes abnormes Mycel auftrat, können die beobachteten Degenerationserscheinungen allein durch Entmischungen nicht erklärt werden. Vermutlich spielen auch Modifikationen oder sogar Mutationen eine Rolle, deren Bildung durch Kultur auf bestimmten Nährböden gefördert wurde.

Schließlich darf die Möglichkeit des Befalls durch Viren und andere Krankheitserreger nicht unberücksichtigt bleiben. Durch Kultur auf nährstoffarmen Medien könnte die Widerstandsfähigkeit des Mycels gegenüber diesen Parasiten herabgesetzt werden.

Für die Erhaltungszüchtung kann gefolgert werden, daß die Stammkulturen auf einem möglichst nährstoffreichen Substrat z. B. Kompost gehalten werden sollten.

Zusammenfassung

1. Die Arbeit befaßt sich mit Fragen der Erhaltungszüchtung beim Kulturchampignon. Von den drei Möglichkeiten der Vermehrung, Mycelteilung, Gewebekultur und Aussaat, wird die Mycelteilung untersucht.

2. Es wurden zu diesem Zweck Vielsporkulturen (viele Kerntypen) und Einsporkulturen (nur 2 Kerntypen) miteinander verglichen.

3. Eine Ein- und eine Vielsporkultur wurden bei Kultur auf Agar-Nährboden fortlaufend durch Mycelteilung vermehrt. Während die Einsporkultur auch nach 40maliger Teilung keine Mycelveränderung zeigte, traten bei der Vielsporkultur nach 13maliger Vermehrung Degenerationserscheinungen in Form von langsam wachsendem belagartig anliegendem Mycel auf. Später bildete sich teilweise wieder schneller wachsendes Mycel.

In Ertragsprüfungen zeigte die Vielsporkultur in der höchsten geprüften Vermehrungsstufe (27. V.)

einen starken Ertragsabfall. Bei der Einsporkultur trat kein Ertragsrückgang ein.

4. Beide Stämme wurden auch durch Überimpfungen von Körnern vermehrt. Nach achtmaliger Vermehrung war kein Ertragsabfall nachzuweisen. Der in einem zweiten Versuch mit der Einsporkultur allein festgestellte Ertragsrückgang nach 15 Vermehrungen konnte statistisch gesichert werden.

5. Von einer Schale der 22. Vermehrung der Vielsporkultur, die belagartige langsamwachsende und fädige schnellwachsende Sektoren enthielt, wurden von beiden Mycelarten Stücke abgeimpft. Es war dadurch möglich, die verschiedenen Wuchstypen voneinander zu trennen. Jedoch bildeten sich manchmal wieder fädige Sektoren im belagartigen Typ und umgekehrt. Insgesamt wurde sechsmal hintereinander Mycel der verschiedenen Typen abgeimpft (6 Teststufen).

6. Die Trennung der verschiedenen Wuchstypen wird mit Kernentmischung erklärt. Die Frage bleibt offen, ob Kerne vom Typ des langsam wachsenden Mycels schon von der Aussaat an in der Vielsporkultur waren oder erst später durch Mutation oder Modifikation entstanden. In diesem Falle hätten sich die Degenerationserscheinungen genauso gut in der Einsporkultur wie in der Vielsporkultur zeigen können.

7. Daß die Entmischung unvollkommen war, liegt vermutlich an den großen Mycelstücken, die abgeimpft wurden. In Fortsetzung der Versuche wird mit zerkleinertem Mycel gearbeitet. Dann werden einzelne Zellen, die unter dem Phasenkontrastmikroskop als kernarm bestimmt wurden, übergeimpft.

8. Vier Viel- und vier Einsporkulturen wurden in Wachstumstesten bei Auslese auf schnell- und langsamwachsendes Mycel miteinander verglichen. Es wurden von jedem Stamm aus zehn Kulturschalen die am wenigsten durchspinnene Schale (l-Gruppe) und die am weitesten durchspinnene Schale (s-Gruppe) ausgelesen und vermehrt. Von der l-Gruppe wurde fünfmal hintereinander aus der am wenigsten durchspinnenen Schale, von der s-Gruppe genausooft aus der am weitesten durchspinnenen Schale Mycel auf zehn neue Schalen abgeimpft.

Die Differenz zwischen dem durchschnittlichen Myceldurchmesser der l- und s-Gruppe war unterschiedlich und vergrößerte sich nicht mit der Zahl der Überimpfungen. Die l-Gruppen der Vielsporkulturen wuchsen immer langsamer als die s-Gruppen, während es bei den Einsporkulturen auch umgekehrte Fälle gab. Auch war die Differenz zwischen der l- und s-Gruppe im Mycelwachstum bei den Vielsporkulturen doppelt so häufig statistisch gesichert als bei den Einsporkulturen.

Für die Erhaltungszüchtung kann daraus gefolgert werden, daß sich Vielsporkulturen bei Vermehrung durch Teilung leichter verändern können als Einsporkulturen.

9. Mycelkulturen auf drei verschiedenen Nährböden (Biomalz-Agar, Weizen-Agar und Kompost-Agar) zeigten je nach Nährboden unterschiedliches

Wachstum. Auf Biomalz-Agar wuchsen die Kulturen am langsamsten. Auf Kompost-Agar, dem nährstoffreichsten der drei Nährböden, waren die Unterschiede im Aussehen des Mycels am deutlichsten ausgeprägt.

Es wird über einige Arbeiten anderer Autoren berichtet, in denen ein großer Einfluß des Nährbodens auf das Mycel festgestellt wurde.

Die Ursachen dieses Einflusses werden diskutiert.

Für die Erhaltungszüchtung wird gefolgert, daß die Stammkulturen auf einem möglichst nährstoffreichen Substrat, z. B. Kompost, gehalten werden sollten.

10. In Untersuchungen des schlecht wachsenden belagartigen Mycels auf Krankheitsbefall konnten weder Bakterien noch Schadpilze nachgewiesen werden. Die Virusteste (Fusionsversuche, Wärmeshock) fielen unterschiedlich aus. Das Material wird noch mit Hilfe der Elektronenmikroskopie genauer untersucht werden.* Über das Ergebnis wird später berichtet.

Frau CHRISTIANE V. HOLST danke ich herzlich für die aufmerksame Betreuung der Versuche, Herrn KONRAD ENGELHARDT für die Anfertigung der Photographien.

Literatur

1. EGER, GERLIND: Untersuchungen über die Funktion der Deckschicht bei der Fruchtkörperbildung des Kulturchampignons, *Psalliota bispora* Lge. Archiv für Mikrobiologie 39, 313—334 (1961). — 2. EGER, GERLIND: Persönliche Mitteilung. — 3. EVANS, H. J.: Nuclear behaviour in the cultivated mushroom. Chromosoma (Berl.) 10, 115—135 (1959). — 4. FRITSCH, G., und R. v. SENGBUSCH: Die züchterische Bearbeitung des Kulturchampignons (*Psalliota bispora* Lge.). Probleme und erste eigene Ergebnisse. Der Züchter 32, 189—199 (1962). — 5. FRITSCH, G., und R. v. SENGBUSCH: Beispiel der spontanen Entwicklung neuer Fruchtkörperformen beim Kulturchampignon. Der Züchter 33, 270—274 (1963). — 6. FRITSCH, G.: Versuche zur Frage der Merkmalsübertragung beim Kulturchampignon *Agaricus (Psalliota) bisporus* (Lge.). Sing. Der Züchter 34, 76—93 (1964). — 7. GÄUMANN, E.: Pflanzliche Infektionslehre. Basel: Verlag Birkhäuser 1951. — 8. HELTAY, IMRE, und ADÉLE LÁTKOCZKY-UZONYI: Investigations to elucidate the Degeneration Problem of the Cultivated Mushroom (*Psalliota bispora* (Lge.) Möll-Schäff.) Varieties. Mushroom Science IV, 52—85 (1959). — 9. HELTAY, IMRE, und ADÉLE LÁTKOCZKY-UZONYI: Adatok a termesztett csiperke leromlása kérdéséhez. Mikologiai Közlemények (Budapest) 4, 16—25 (1963). — 10. HOLLINGS, M., DOREEN G. GANDY, and F. T. LAST: Die Viruskrankheit eines Pilzes: der Champignon-Virus. Endeavour 87, Bd. XXII, 112—117 (1963). — 11. HUHNKE, W., und R. v. SENGBUSCH: Aktivmycelpickung von Champignonkulturen. Die Deutsche Gartenbauwirtschaft 7, 238—239 (1959). — 12. KLIGMAN, A. M.: Some cultural and genetic problems in the cultivation of the mushroom *Agaricus campestris* Fr. Amer. Journ. Bot. 30, 745—763 (1943). — 13. LAMBERT, E. B.: Improving Spawn Cultures of Cultivated Mushrooms. Mushroom Science IV, 33—51 (1959). — 14. PONTICORVO, G.: Trends in genetical analysis. Columbia Biological Series 18 (1958). — 15. SARAZIN, A.: The cultivated mushroom. Übersetzung aus dem Französischen von Dr. C. J. TOUCHE (1955). — 16. SIGEL, EDITH M., and J. W. SINDEN: Variations in cultures made of the strain of mushrooms used at the Butler County Mushroom Farm, Inc. Mushroom Science II, 65—68 (1953). — 17. STOLLER, B. B.: Some practical Aspects of Making Mushroom-spawn. Mushroom Science V, 170—184 (1962).

* Herr Dr. HOLLINGS (Glasshouse Crops Research Institute, Littlehampton/Sussex) hat sich freundlicherweise bereit erklärt, die Untersuchungen vorzunehmen. Hierfür sei ihm vielmals gedankt.