

Aus dem Max Planck Institut für Kulturpflanzenzüchtung, Hamburg-Volksdorf

Untersuchungen über die Funktion der Deckschicht bei der Fruchtkörperbildung des Kulturechampignons, *Psalliota bispora* Lge.

Von
GERLIND EGER

Mit 3 Textabbildungen

(Eingegangen am 21. März 1961)

Seit etwa 200 Jahren wird *Psalliota bispora* kultiviert. Man kompostiert Pferdemist, Stroh, Heu oder Sagemehl mit mineralischen und eiweißreichen Zusätzen und beimpft das fertige Substrat mit Mycel. Hat sich das Mycel genügend ausgebreitet, wird es mit einer Schicht Erde, Lehm, Sand, Torf oder anderem gedeckt. Auf ungedecktem Mycel bleibt in der Regel die Fruchtkörperbildung aus.

Über die Wirkung der Deckschicht gibt es mehrere Hypothesen. Nach ZYCHA (1939) ist das Deckmaterial lediglich Verdunstungsschutz. PRIZER (1950) nimmt irgendwelche Substanzen in der Deckschicht an, die die Fruchtkörperbildung auslösen. STOLLER (1952) glaubt, daß das Champignonmycel einen flüchtigen Stoff ausscheidet, der das Mycelwachstum anregt und die Fruchtkörperbildung hemmt. In dem Deckmaterial soll dieser Stoff oxydiert werden. SCHISLER (1957) vermutet die Wirkung eines wenig flüchtigen Stoffes X. Die Deckschicht soll nur dazu dienen, ihn bis zu der wirksamen Konzentration anzureichern. TSCHIERPE (1958) schließlich sieht in der Deckschicht nur das Mittel, ein gewisses CO₂-Gefälle zwischen Substrat- und Raumluft einzustellen, das die Fruchtkörperbildung auslösen soll.

Eigene Versuche in den vergangenen 2¹/₂ Jahren brachten neue Gesichtspunkte in die Diskussion. In einer kurzen Mitteilung (EGER 1959) wurde das Mitwirken von Mikroorganismen erwogen im Gegensatz zu KOCH (1958) und PRIZER (1950), die auf Grund ihrer Experimente glaubten, eine Mikrobentätigkeit ausschließen zu können. Neue Versuche haben die Funktion der Deckschicht bei der Fruchtkörperbildung so weit geklärt, daß die Ergebnisse nunmehr vorgelegt werden können.

I. Material

Alle Versuche wurden mit dem Stamm 71 von *Psalliota bispora* Lge. durchgeführt, den Frl. FRITSCHÉ 1957 über die Sporenaussaat eines Fruchtkörpers des weißen Stammes von HULLEN, Erlangen, isoliert hatte. Die Stammkultur wird seitdem auf Biomalzagar und auf Weizenkörnern erhalten.

Das Max Planck-Institut für Kulturpflanzenzüchtung in Hamburg-Volksdorf besitzt einen modernen Champignonbetrieb für Versuchszwecke, in dem nach dem Kistensystem gearbeitet wird. Die Kisten haben eine Fläche von $\frac{1}{2}$ m² und sind 15 cm hoch. Sie wurden für einen Teil meiner Versuche in den Anbauräumen verwendet und mit 20 kg Kompost gefüllt.

Die als Substrat verwendeten Komposte aus Pferdemist und Stroh wurden viermal umgesetzt und anschließend „pasteurisiert“, d. h. etwa 60 Std auf 58—60°C gehalten.

Als Deckmaterial diente bei der Mehrzahl der Versuche Fruhsdorfer Einheitserde 0. Sie wurde meist ohne Vorbehandlung verwendet. Für die Versuche in Kisten aber wurde — wie für die Champignonkulturen des Betriebes — 1 m³ Einheitserde mit 30 kg CaCO₃ und (zur Bekämpfung von Schimmel und Nematoden) mit 600 cm³ „Vapam“ vermischt, angefeuchtet und warm gelagert, bis sich das „Vapam“ verflüchtigt hatte.

Für Laborversuche wurden neben Petrischalen und Reagensröhrchen hauptsächlich Einmachgläser (Weckgläser) von 1000 cm³ mit und ohne Glasdeckel, Erlenmeyerkolben von 500 cm³ und Milchflaschen von 500 cm³ verwendet.

Als Impfmateriale diente in den meisten Versuchen „Kornerbrut“. Weizenkörner wurden mit überstehendem Wasser 1 Std gekocht, das übriggebliebene Wasser abgossen und auf 400 g Korner 1,5 g Schlemmkreide zugesetzt. Die Körner wurden in Flaschen abgefüllt, sterilisiert und mit Mycel der Stammkultur beimpft.

Weizenkörner und Kompost wurden stets bei 121°C autoklaviert, und zwar die Weizenkörner je nach Menge $\frac{1}{2}$ —1 Std, Kompost 2 Std.

II. Versuche und Ergebnisse

A. Die Rolle des Substrates bei der Fruchtkörperbildung

1. Kulturversuche mit sterilen Substraten ohne Deckschicht

Das Mycel wurde in zahlreichen Wiederholungen auf sterilen flüssigen und festen Substraten kultiviert:

Verschieden feuchtem Kompost; Kompostauszügen in mehreren Verdünnungsstufen, zum Teil mit Agar; gehackseltem Weizenstroh; gekochten Weizenkörnern und Extrakten aus Weizenkörnern mit Agar; wäßrigen Auszügen aus Weizenkleie, 2 $\frac{1}{2}$ %—8% Biomalz, zum Teil mit Agar; synthetischen Nährlosungen mit steigenden Zusätzen an Glucose und Backerhefe; synthetischen Nährlosungen mit zunehmenden Mengen von Cellulose und Biomalz.

Auf den einzelnen Substraten gab es schwaches bis sehr gutes Mycelwachstum. Auf Kompost, Stroh und Weizenkörnern wuchs das Mycel mit kraftigen Strängen. Auf Agarnährboden und Flüssigkeitskulturen bildeten sich solche Strange erst, als das Substrat beträchtlich Wasser verloren hatte. In keinem Fall wurde die Bildung eines Fruchtkörpers beobachtet.

Auf mehreren Agar-Schragröhrchen mit Weizenextrakt wurden nach einer Kulturdauer von einigen Wochen in zwei aufeinanderfolgenden Versuchen einzelne Mycelknoten von etwa 1 mm Durchmesser beobachtet. Ob es sich um die ersten Ansätze zur Fruchtkörperbildung handelte, ist unsicher. Sie waren auf diesem Agar vorher nie aufgetreten und ließen sich in den folgenden Versuchen nicht reproduzieren.

2. Kulturversuche mit sterilen Substraten und unsteriler Deckerde

Kompost, gehackseltes Weizenstroh mit 15% Schlemmkreide, Weizenkörner und frisches Buchensägemehl mit einem Zusatz eines erweißreichen Abfallproduktes der Industrie wurden in Weckgläsern mit Deckeln sterilisiert, mit Körnerbrut beimpft und die Deckel mit Krepp-Papierstreifen („Hansakrepp“) als Schutz gegen Infektion und stärkere Austrocknung ringsherum festgeklebt.

Das Stroh würde vom Mycel etwa so schnell durchwachsen wie der Kompost. Auf Sägemehl dagegen wuchs das Mycel noch langsamer als auf Weizenkörnern, so daß nach 63 Tagen von 25 Gläsern nur 5 gedeckt werden konnten. — Die Versuche mit Kompost, Stroh und Körnern wurden in Reihen von 10—30 Gläsern mehrfach wiederholt.

Als das Mycel die Substrate ganz durchspinnen hatte, wurde mit Deckerde gedeckt. Die Gläser wurden ohne Deckel in Anbauräumen des Champignonhauses aufgestellt.

Auf Kompost und auf Stroh gab es 14 Tage später die ersten Fruchtkörperanlagen und nach etwa 3 Wochen die ersten reifen Fruchtkörper. Diese waren auf Kompost normal ausgebildet, auf Stroh dagegen langstielig. Die Erträge auf Stroh waren sehr gering.

Die Versuche mit Sägemehl mußten aus technischen Gründen 48 Tage nach dem Decken abgebrochen werden. Es hatten sich auf drei von fünf Gläsern zahlreiche Fruchtkörperanlagen bis zu einem Durchmesser von 5 mm gebildet.

Auf Weizenkörnern gab es dagegen nie Anlagen. Das Mycel wuchs zunächst etwas strangig durch die Deckschicht hindurch und bildete auf der Oberfläche einen Rasen, der nach dem Begießen zu einer wasserabstoßenden Schicht zusammensackte.

Die Versuche zeigen, daß das Substrat auf die Fruchtkörperbildung großen Einfluß hat. *Substrate, auf denen das Pilzmycel sehr gut und strangig wächst, können zur Fruchtkörperbildung ungeeignet sein.* Es wurde daher für alle folgenden Versuche Kompost verwendet.

Hier müssen noch einige Versuche erwähnt werden, die für die Diskussion der Ergebnisse wichtig sind:

In drei Wiederholungen wurden zahlreiche Gläser mit sterilem Kompost und mit sterilen Weizenkörnern mit „Tesakrepp 5250“ zugeklebt, das weniger luftdurchlässig ist als „Hansakrepp“. In allen Gläsern mit Kompost wuchs das Mycel normal, wenn auch langsamer als unter „Hansakrepp“. Der Geruch war nach mehreren Wochen Kulturdauer normal. Auf Weizenkörnern dagegen begann das Mycel nach 1 Woche zu kollabieren und sich gelb-grau zu verfärben. Nach mindestens 20 Tagen wurden die Gläser geöffnet. Sie rochen widerlich vergoren und um so stärker, je länger die Kultur gedauert hatte. Die Körner am Rande des Mycels wurden bei Luftzutritt geschwärzt. Eingehende Untersuchungen

stellten sicher, daß in keinem Fall eine Infektion mit irgendwelchen Mikroorganismen vorlag und daß Mycelwachstum und Geruch auf Korner um so schlechter sind, je starker der Luftabschluß ist. Offenbar unterscheiden sich die Stoffwechselprodukte des Champignons auf den beiden Substraten sehr. Dies zeigten auch Versuche unter völligem Abschluß von Frischluft. Bei einem Verhältnis von Substrat- zu Luftvolumen von 3 zu 5 wurde die Luft täglich dreimal langsam umgewälzt. Dabei wurde sie durch Waschflaschen mit KMnO_4 und Aktivkohle geleitet. Wo Korner als Substrat dienten, wurde KMnO_4 relativ schnell entfärbt, und das Mycelwachstum horte auf. Auf Kompost dagegen wuchs das Mycel kontinuierlich weiter.

B. Die Rolle der Belüftung bei der Fruchtkörperbildung

In der Literatur wurde häufig auf die Notwendigkeit einer guten Lüftung für die Fruchtkörperbildung hingewiesen, z. B. LAMBERT (1933), STOLLER (1945, 1952a und b), TSCHIERPE (1958). Es mußte deshalb geprüft werden, ob die Belüftung unter den für sterile Kulturen üblichen Verschlüssen für die Fruchtkörperbildung ausreicht.

Tabelle 1 Die Wirkung der Belüftung auf die Fruchtkörperbildung

Kulturgefaße	Kompost	nach dem Decken mit	Zahl der Gefaße	davon mit	
				Anlagen	Fruchtkörpern
Weckglaser	n st	Glasdeckel	15	0	0
	n st	Wattestopfen	15	2	0
	n st	Wattehaube	20	19	16
	st	Wattehaube	18	18	13
	n st.	offen	15	15	15
	n st	offen, nicht gedeckt	30	0	0
Milchflaschen stehend	n st.	Wattestopfen	8	0	0
	n st	offen	2	1	0
Milchflaschen liegend	n st	Wattestopfen	16	1	1
	n st	offen	14	5	3
Kolben stehend	st	Wattestopfen	10	0	0
	st	Wattehaube	10	0	0
Kolben liegend	st	Wattehaube	7	2	0
	st	Durchlüftung	30	29	26
Kolben	st	Durchlüftung, nicht gedeckt	17	0	0

Erläuterung der Tabelle: n st = nicht sterilisiert; st = sterilisiert.

Weckglaser wurden bis 3 cm unter den Rand mit etwa 400 g Kompost gefüllt, Milchflaschen und Erlenmeyerkolben mit 60—100 g (etwa $\frac{1}{3}$ der Gefaße). Ein Teil davon wurde sterilisiert. Vom Beimpfen bis zum Decken waren die Kulturgefaße mit Glasdeckeln oder Wattestopfen verschlossen. Die Mehrzahl der Flaschen und

Weckgläser mit unsterilem Kompost und Wattestopfen fiel aus, weil das Mycel nicht wuchs. Unter Glasdeckeln entwickelte sich das Mycel auf unsterilem Kompost nur, wenn die Gläser täglich kräftig gelüftet wurden. Auf sterilisiertem Kompost wuchs

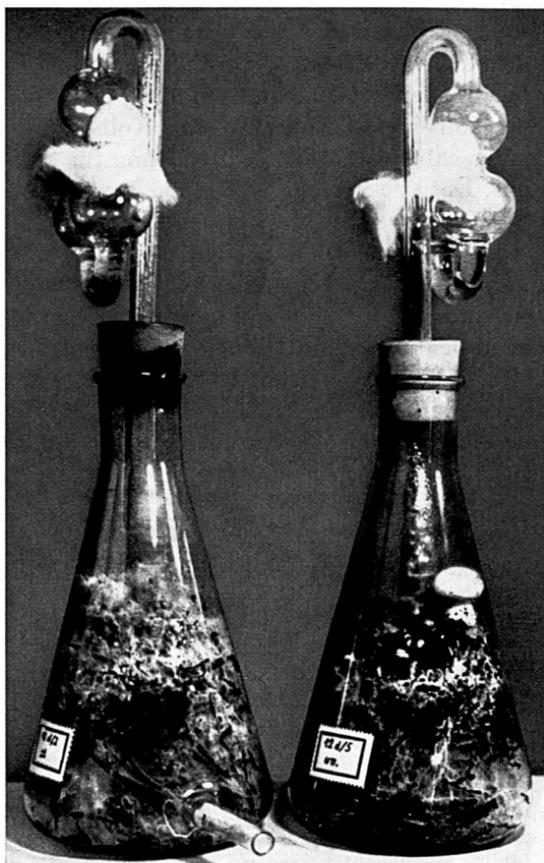


Abb. 1. Versuch mit durchlüfteten Kolben. Linker Kolben: Kompost und Deckerde steril. Das Mycel durchwächst die Erde ganz dicht. Rechter Kolben: Kompost steril, Deckerde unsteril. Das Mycel durchwächst nur den unteren Teil der Erdschicht dicht. Oben bleibt sie schwarz, und es entwickeln sich hier ein Fruchtkörper und zahlreiche Anlagen

das Mycel unabhängig vom Verschluß gut. Hatte das Mycel den Kompost durchwachsen, wurde mit unsteriler Deckerde 2 cm hoch gedeckt. Die Gefäße wurden nun verschlossen, wie Tab. 1, Spalte 3, angibt.

Die Glasdeckel lagen lose auf. Die Wattestopfen hatten einen Kern aus Zellstoff und waren 6 cm hoch. Die Hauben bestanden aus einer lockeren Lage Watte, die in Verbandmull eingenäht war. Sie waren für Kolben 0,5 cm, für Weckgläser 1,0 cm dick. Alle durchlüfteten Kolben hatten 2 cm über dem Boden einen Ansatzstutzen, der über Gummischläuche mit Quetschhähnen einer Saugpumpe angeschlossen war. Die Kolbenhäse verschlossen Gummistopfen mit umgekehrten Gärröhrchen (vgl. Abb. 1), deren U-Rohr und der untere Teil der anschließenden Kugeln mit destilliertem Wasser gefüllt war. Die freie Öffnung des Röhrchens war mit einem

Wattestopfen und einer darübergezogenen Wattehaube versehen, die als Filter dienten. Die angesaugte Luft wurde nach dem Durchtritt durch das Filter angefeuchtet. Die Luftzufuhr zu den einzelnen Kolben wurde durch Zählen der Luftblasen einreguliert.

Tab. 1 zeigt das Ergebnis der Versuche. Ohne Deckerde gab es bei sehr guter Lüftung keine Fruchtkörperanlagen. Mit Deckerde gab es Fruchtkörper nur in offenen Gefäßen, 1 cm unter einer Wattehaube oder in durchlüfteten Kolben. Bei Röhren und Kolben mit für Sterilkulturen üblichen Verschlüssen reicht die Belüftung für die Fruchtkörperbildung nicht aus. Die Deckschicht ist für die Fruchtkörperbildung unerlässlich.

Außerdem wurde beobachtet: In allen Gefäßen, in denen es keine Fruchtkörper gab, durchwuchs das Pilzmycel die Deckschicht so intensiv, daß sie weiß aussah. In Gefäßen mit Fruchtkörperbildung war das Mycelwachstum in der Deckschicht sehr viel schlechter, wenigstens die Oberfläche blieb schwarz. In wenigen Kolben und Flaschen blieben auch unter Wattestopfen einzelne Erdkrümel schwarz. Wurden die Stopfen entfernt und die Flaschen hingelegt, so bildeten sich auf diesen Krümeln Anlagen und sogar Fruchtkörper.

C. Die Rolle der Deckschicht bei der Fruchtkörperbildung

1. Deckversuche mit verschiedenem Material in Anbauräumen

Es wurden vier Versuche mit Kisten durchgeführt. Gedeckt wurde mit organischem und anorganischem Material verschiedener Teilchengröße. Das Ergebnis zweier Deckversuche zeigen die Tab. 2 und 3.

Die Kisten eines Versuches enthielten denselben Kompost und wurden in einem Anbauraum in gleicher Höhe so aufgestellt, daß Deckmaterial nicht von einer Kiste auf die andere gelangen konnte. Gedeckt wurde mit einer 2—3 cm dicken Schicht, nachdem der Kompost vom Mycel gut durchsponnen war. Die Kisten waren sehr gut mit Frischluft versorgt. Die Oberfläche der Deckschichten wurde leicht mit Wasser übersprüht, sowie sie etwas abgetrocknet war. Manches Deckmaterial mußte täglich angefeuchtet werden.

Zu den einzelnen Deckmaterialien, siehe Tab. 2 und 3, sei noch vermerkt: „Saran“ Nr. 50/023 der Saran-Webereien, Köln, ist ein Kunstfasergewebe von 0,5 mm Maschenweite. Es wurde fabriken neu benutzt. Die Glasperlen wurden mit konzentrierter HCl ausgekocht und anschließend 24 Std gewässert.

Der Kompost, der zum Decken verwendet wurde, stammte vom gleichen Ansatz wie das Substrat und wurde mit diesem zusammen pasteurisiert. Ein Teil wurde sofort nach dem Pasteurisieren bei + 80°C getrocknet und zu Pulver gemahlen. Die Hälfte des Pulvers wurde 14 Std bei 140°C erhitzt. Vor dem Decken wurden 1000 g Pulver mit 2500 cm³ Leitungswasser innig vermengt.

Der Rest des Kompostes wurde bei — 20°C eingefroren und bei dieser Temperatur gelagert. 1 Tag vor dem Decken wurde er aufgetaut. Ein Teil wurde homogenisiert. Dazu mußte mit dem Kompost viel Wasser in den Homogenisator gefüllt werden. Das Wasser wurde nachher abgepreßt. Der Rest des Kompostes wurde so lange gewaschen, bis das Wasser nicht mehr gefärbt war. Das überschüssige Wasser wurde abgepreßt.

Tabelle 2. *Fruchtkörperernte auf verschiedenem Deckmaterial*
 Erntedauer auf Deckerde 66 Tage. Autoklaviert wurde bei 121°C

Deckmaterial	Erste Ernte, Tage nach dem Decken	Z	G
nicht gedeckt	—	0	—
„Saran“ doppelt	—	0	—
Glasperlen, 6 mm \varnothing	—	0	—
pasteurisierter Kompost	—	0	—
homogenisierter Kompost	57	30	17
Kies, 7—15 mm \varnothing , 2 Std autoklaviert	26	650	15
Kies unter 5 mm \varnothing + Grobsand, 2 Std autoklaviert	25	690	21
feiner Quarzsand, 2 Std autoklaviert	30	310	33
Koks, 10—40 mm \varnothing , 2 Std autoklaviert	25	420	23
Koks, 5—15 mm \varnothing , 2 Std autoklaviert	24	400	18
zerklopfte Ziegelsteine, 10—20 mm \varnothing , 2 Std autoklaviert	24	290	25
Bimsstein (Merck 5291), ca. 5 mm \varnothing	25	260	20
Deckerde, 2 Std autoklaviert	25	320	15
Deckerde, nicht autoklaviert	21	1200	10

Erläuterung der Tabelle: Z = Zahl der Fruchtkörper je Quadratmeter;
 G = mittleres Gewicht eines Fruchtkörpers in Gramm.

 Tabelle 3. *Fruchtkörperertrag auf verschieden behandeltem Kompost als Deckmaterial*
 Erntedauer auf der Kontrollkiste mit Deckerde 37 Tage

Deckmaterial	Erste Ernte, Tage nach dem Decken	Z	G
nicht gedeckt	56	5	95
pasteurisierter Kompost	42	10	120
pasteurisierter Kompost	57	10	45
pulverisierter Kompost	51	4	18
pulverisierter Kompost	57	4	17
pulverisierter Kompost	58	4	20
pulverisierter Kompost	—	0	—
pulverisierter Kompost	—	0	—
homogenisierter Kompost	29	280	29
homogenisierter Kompost, ausgewaschen	30	240	30
ausgewaschener Kompost	28	750	18
ausgewaschener Kompost	29	320	21
ausgewaschener Kompost	31	610	20
ausgewaschener Kompost	31	1000	13
ausgewaschener Kompost	36	210	23
Deckerde	21	1360	9

Erläuterung der Tabelle: Z = Zahl der Fruchtkörper je Quadratmeter;
 G = mittleres Gewicht eines Fruchtkörpers in Gramm.

Tab. 2: Auf ungedecktem oder mit pasteurisiertem Kompost gedecktem Mycel gab es keine Fruchtkörper, auch nicht auf „Saran“ und den Glasperlen. Homogenisierter Kompost als Deckmaterial wurde vom Mycel rasch dicht weiß durchspinnen mit Ausnahme einiger scharfbegrenzter Flecken, die dunkel blieben. Nur auf diesen Flecken mit gehemmtem Mycelwachstum gab es Fruchtkörperanlagen und nach 57 Tagen die ersten erntereifen Fruchtkörper. Auf Deckerde (letzte Zeile) gab es schon

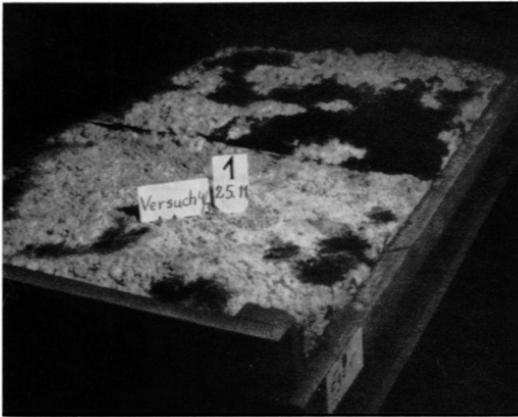


Abb. 2. Mycel auf kompostiertem Pferdemist wurde mit Kompostpulver gedeckt. Das Mycel durchwuchs die Deckschicht sehr dicht bis auf einige Flecke, die schwarz blieben. Nur auf den schwarzgebliebenen Flecken gab es später Fruchtkörper

wurde. Die Wiederholung des Versuches brachte dieselben Ergebnisse. Es wurden dabei auch Glasperlen von 3 mm und 1,5 mm Durchmesser in 2 cm hoher Schicht verwendet. Bei gleicher Dicke und gleichem Druck der Deckschicht auf den Kompost war so dasselbe Porenvolumen in kleinere Capillaren aufgeteilt. Auch auf den feinen Glasperlen gab es keine Fruchtkörper.

Tab. 3: In diesem Versuch wurde mit Kompost verschiedener Form gedeckt. Auf der ungedeckten Kiste gab es erstmalig einzelne Anlagen und Fruchtkörper, auch auf pasteurisiertem und pulverisiertem Kompost. Auf letzterem, siehe Abb. 2, wurde das Mycelwachstum in einzelnen, schwarzbleibenden Flecken gehemmt. Die Anlagen und Fruchtkörper erschienen später an diesen Stellen.

Mit homogenisiertem und ausgewaschenem Kompost als Deckschicht gab es dagegen gute Erträge, doch lagen sie in allen Fällen weit unter dem Ertrag auf Deckerde, und die Ernte begann wesentlich später. Bei der Wiederholung des Versuches wurde Kompostpulver verwendet, das auf 140°C erhitzt worden war. Es gab auf schwarz gebliebenen Flecken der Deckschicht Fruchtkörper, insgesamt 270 je Quadrat-

nach 21 Tagen eine sehr gute Ernte. Die obersten 1–2 mm der Erdschicht waren zu dieser Zeit praktisch frei von Mycel. Auf allen anderen Deckmaterialien begann die Ernte später als auf Deckerde, und der Ertrag war sehr viel niedriger. Ein Vergleich der letzten beiden Zeilen der Tabelle zeigt, daß durch zweistündiges Autoklavieren der Deckerde die Fähigkeit, Fruchtkörper auszulösen, stark vermindert

meter ab 62. Tag nach dem Decken gegenüber 990 Fruchtkörpern ab 25. Tag auf Deckerde.

Die Deckversuche lassen folgende Schlüsse zu:

1. Die entscheidende Wirkung der Deckschicht auf die Fruchtkörperbildung kann nicht der Verdunstungsschutz sein (vgl. ZYCHA 1939). Es müßten sonst auf normaler Deckerde, autoklavierter Deckerde und pulverisiertem Kompost gleich viele Fruchtkörper entstehen, da diese Materialien in ihrer physikalischen Struktur übereinstimmen. Auch unter Glasperlen müßte es Fruchtkörper geben, auf den feineren mehr als auf den groben, ebenso auf Kies. Die Fruchtkörperbildung unterbleibt aber auf Glasperlen und ist auf grobem und feinem Kies gleich.

2. Ein Hungerfaktor entsprechend der Theorie von KLEBS (1896) kommt als auslösender Faktor ebenfalls nicht in Frage. Die Erträge müßten sich sonst in die fallende Reihe ordnen lassen: Glasperlen, Kies, Quarzsand – Ziegelsteine, Koks, Bimsstein – Deckerde – ausgewaschener Kompost – normaler Kompost, Kompostpulver.

3. Auch der Druck der Deckschicht auf das Mycel kann nicht von Einfluß sein, da sich keine Beziehung zwischen dem spezifischen Gewicht des Deckmaterials und dem Ertrag erkennen läßt.

4. Dagegen sprechen einige Beobachtungen dafür, daß es einen Faktor X gibt, der unabhängig von der Art des Deckmaterials auftreten kann, in unsteriler Deckerde besonders reichlich vorhanden ist und durch das Autoklavieren vermindert wird. Dieser Faktor bewirkt eine Hemmung des Mycelwachstums (schwarze Flecken auf homogenisiertem Kompost und schwarze Farbe der obersten Millimeter der Deckerde). Auch die Beobachtungen über das Mycelwachstum in der Deckschicht und die Fruchtkörperbildung (vgl. S. 318) deuten darauf hin.

2. Versuche mit Deckerde in Anbauräumen

17 Weckgläser, bis 4 cm unter den Rand mit von Mycel durchwachsenem Kompost gefüllt, wurden bis auf zwei Kontrollen nicht wie üblich gedeckt. Es wurden vielmehr Stücke von „Saran“ (vgl. S. 318) auf Draht- ringe gespannt, die genau in die Öffnung der Gläser paßten und 1 cm, 2 cm und 4 cm über der planierten Kompostoberfläche befestigt. Dann wurden auf das „Saran“ je 25 g feuchte Deckerde aufgetragen. Es gab nur dort Fruchtkörper, wo das Mycel mit der Erde Kontakt bekam: in den Kontrollgläsern, in drei Gläsern, wo einzelne Mycelstränge nach 4 Wochen das „Saran“ erreicht hatten und in die Erdschicht hineingewachsen waren, in zwei Gläsern, wo nach einiger Zeit Erdkrümel vom „Saran“ auf den Kompost gefallen waren.

In einem anderen Versuch wurden auf ungedeckten, von Mycel dicht durchsponnenen Kompost einzelne Deckerdekrümel verschiedener Größe aufgelegt. Bestanden die Krümel aus frisch bereiteter Deckerde, so wurde

sie rasch vom Mycel übersponnen, es gab keine Fruchtkörperanlagen. Wurden dagegen schwarze Krümel von Kisten heruntergenommen, auf denen bereits Fruchtkörper standen, so gab es darauf in den meisten Fällen einige bis sehr zahlreiche Anlagen.

Während eines Anbauversuches mit 300 Kisten, die alle am gleichen Tag mit derselben Erde gedeckt worden waren, konnte beobachtet werden, daß das Mycel auf den meisten Kisten in ausgedehnten Flecken durch die Deckerde hindurchwuchs und sich auf der Oberfläche ausbreitete, während an anderen Stellen das Mycel nur langsam in die Deckerde hineinwuchs und die obersten 1—2 mm frei davon blieben. Auf diesen schwarz aussehenden Flecken (vgl. Abb. 2) entstanden sehr viele Fruchtkörper, während die benachbarten weißen Flecken nahezu frei von Fruchtkörperanlagen waren.

Diese Versuche und Beobachtungen zeigen, daß das Mycel nur in engem Kontakt mit Deckerde Fruchtkörperanlagen bildet, daß der Faktor X, der für die Fruchtkörperbildung maßgebend ist, in frischen Deckerdekrümeln zumindest nicht in ausreichender Menge vorhanden ist, und daß dieser Faktor unter Umständen in der Deckerde unregelmäßig verteilt sein kann.

Auf Grund der geschilderten Beobachtungen wurde vermutet, daß Mikroorganismen diesen Faktor X darstellen. Es wurde in der Folgezeit versucht, dies nachzuweisen.

3. Deckversuche unter Laboratoriumsbedingungen

Über einen Teil der Versuche wurde bereits kurz berichtet (EGER 1959). Sie wurden in Weckgläsern und in durchlüfteten Kolben durchgeführt.

Es wurde gedeckt: unsteriler Kompost mit unsteriler Deckerde; unsteriler Kompost mit sterilisierter Deckerde; sterilisierter Kompost mit unsteriler Deckerde; sterilisierter Kompost mit sterilisierter Deckerde.

Waren Kompost und Deckerde oder eins von beiden unsteril, so gab es Anlagen und Fruchtkörper. Wurden die Kulturen steril angesetzt und eine nachträgliche Infektion verhindert, so blieb die Bildung von Fruchtkörperanlagen aus. Wurde bei steril angesetzten Kulturen eine Infektion aus der Luft ermöglicht, so gab es einige Anlagen und auch Fruchtkörper, aber später als bei Kulturen, die seit Versuchsbeginn unsteril waren.

Unter sterilen Bedingungen wurde die Deckschicht rasch und sehr dicht vom Mycel durchsponnen (Abb. 1, links), unter nicht sterilen Verhältnissen, aber gleicher Belüftung, blieb die Deckschicht teilweise schwarz. Auf den schwarzen Stellen entstanden Anlagen und Fruchtkörper (Abb. 1, rechts).

Planmäßige Versuche zeigten, daß auf sehr kleinen Kompostmengen (herunter bis zu 5 g!) voll ausgebildete Fruchtkörper entstehen können,

wenn man genügend Deckerde neben den Kompost gibt. Daraufhin wurde folgende Versuchsanordnung gewählt: Petrischalen wurden zur Hälfte mit etwa 10 g feuchtem Kompost 5 mm hoch gefüllt, mit 10 ml Wasser begossen und 2 Std autoklaviert. Der Kompost wurde mit von Mycel bewachsenen Agarstückchen beimpft. Nachdem das Mycel den Kompost durchwachsen hatte, wurde Deckerde in gleicher Höhe in die andere Schalenhälfte gefüllt (vgl. Abb.3).

Die Deckerde wurde vorher befeuchtet, gut gemischt und ein Teil in Petrischalen autoklaviert. Der autoklavierten Erde wurden vorsichtig 20 ml steriles Wasser je Petrischale zugesetzt, der unsterilen Erde Leitungswasser in gleicher Menge. In jedem Versuch waren sterile und unsterile Erde gleich naß. Eine Schale mit Erde diente zum „Decken“ zweier Schalen mit durchsponnenem Kompost. Alle Schalen wurden vor und nach dem Decken im selben Regal bei Zimmertemperatur aufbewahrt.

Über die autoklavierte Deckerde wuchs das Mycel schnell und dicht hinweg, die Erde sah dann weiß aus. Auf unsteriler Erde wuchs das Mycel in den ersten Tagen genau so schnell wie auf der autoklavierten. Nachdem es aber etwa 1 cm zurückgelegt hatte, verlangsamte sich das Wachstum immer mehr. Nach 14 Tagen zeigten sich an den Hyphenenden feine Knötchen, die sich in den folgenden 14 Tagen zu dicken Fruchtkörperanlagen entwickelten oder sogar zu Fruchtkörpern. Dabei verdickten sich die Hyphen zwischen den Anlagen und dem Kompost zu dicken Strängen. Die Erde zwischen den Strängen blieb schwarz. Das Bild, das man so erhält, gleicht einem Querschnitt durch die obersten Zentimeter eines Champignonbeetes (vgl. Abb.3).

Es ist für die Fruchtkörperbildung also nicht nötig, daß die Erde wirklich deckt. *Die Vorgänge, die sich im Champignonbeet in vertikaler Richtung abspielen, können ebenso gut auch in horizontaler Richtung ablaufen.* Damit sind wohl alle Hypothesen widerlegt, wonach die Deckschicht dazu dienen soll, flüchtige Stoffe anzureichern.

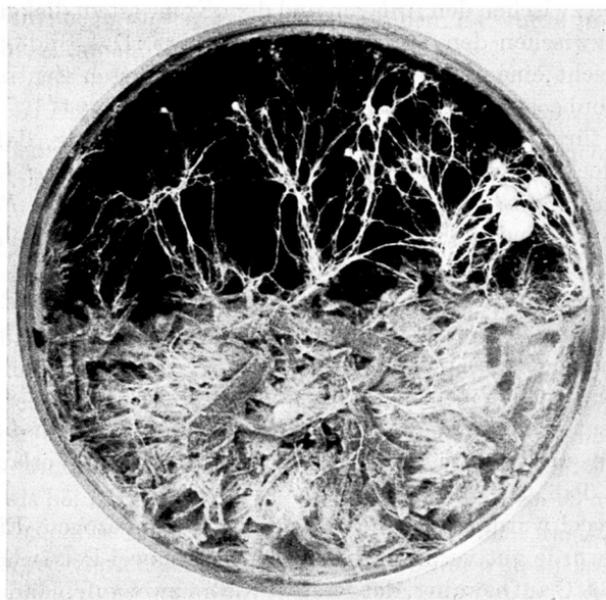
Wichtig ist die Beobachtung, daß die Hemmung des Mycelwachstums bei Verwendung unsteriler Deckerde erst nach einigen Tagen beginnt und sich zunehmend verstärkt.

Mit der geschilderten Methode, dem „Halbschalentest“, wurde versucht, zu entscheiden, ob die Fruchtkörperbildung wirklich durch Mikroorganismen ausgelöst wird. Eine Übersicht über den Verlauf der Versuche gibt Tab. 4.

Das Mycel wurde auf sterilem Kompost herangezogen. Eine Portion Deckerde wurde gut vermischt. Davon wurden zwei Petrischalen gefüllt und bei + 4°C aufbewahrt, der Rest wurde an zwei aufeinanderfolgenden Tagen je 2 Std autoklaviert, so daß mit Sicherheit alle Keime abgetötet waren. Eine Probe der sterilen Erde wurde in zwei sterilen Petrischalen aufbewahrt, der Rest in flacher Schicht über Nacht in drei Anbau-räumen des Champignonhauses unter den Abluftrohren ausgebreitet.



A



B

Abb. 3. „Halbschalentest“. Die untere Hälfte der Petrischalen enthält sterilen, von Champignonmycel durchspannen Kompost. Die obere Hälfte der Schalen enthält bei A sterile, bei B unsterile Erde. Nur auf unsteriler Erde gibt es Fruchtkörperanlagen. Die sterile Erde wird vom Mycel so dicht durchspannen, daß sie weiß aussieht. Auf unsteriler Erde dagegen ist das Mycelwachstum gehemmt, die Erde bleibt schwarz. (Die Deckel der Petrischalen wurden zum Photographieren abgenommen)

Die Frischluft strömt an der Decke der Räume herein, streicht über die Oberfläche der Kisten hinweg und wird an zwei Ecken der Räume über dem Boden wieder abgesaugt.

Am nächsten Morgen wurden alle Erdproben (auch die im Kühlschrank und die sterile) gleichmäßig mit sterilem Wasser angefeuchtet. Je vier Schalen mit Mycel auf sterilem Kompost wurden dann „gedeckt“.

Tabelle 4. Versuch zum Nachweis der Mikroorganismen

1. Teil

	Erde 2 × 2 Std autoklaviert				Kontrolle: Erde nicht autoklaviert
	14 Std in flacher Schicht ausgebreitet unter den Abluftrohren von Kulturraum			steril aufbewahrt	
	1 Erde angefeuchtet, vier Schalen „gedeckt“	2 Erde angefeuchtet, vier Schalen „gedeckt“	3 Erde angefeuchtet, vier Schalen „gedeckt“	Erde angefeuchtet, vier Schalen „gedeckt“	Erde angefeuchtet, vier Schalen „gedeckt“
Fruchtkörperanlagen nach 28 Tagen:	zahlreich	zahlreich	zahlreich	keine, Erde dicht weiß überwachsen	zahlreich

2. Teil

	Aus je einer Schale mit Anlagen die in Raum 1—3 infizierte Erde herausgenommen, in 250 cm ³ H ₂ O geschüttelt, durch Filter 520 b (Schleicher & Schüll) filtiert			Kontrolle: aus je einer Schale mit Anlagen einen schwarz gebliebenen Krümel der Deckerde, die in Raum 1—3 infiziert worden war, herausgenommen und neben Reinkulturmycel in eine neue Schale gelegt
	20 cm ³ auf sterile Erde, zwei Schalen „gedeckt“	durch Filter 597 (Schleicher & Schüll) gegossen		
		20 cm ³ auf sterile Erde, zwei Schalen „gedeckt“	durch Seitz-EK-Filter sterilfiltriert, 2 × 20 cm ³ auf sterile Erde, vier Schalen „gedeckt“	
Fruchtkörperanlagen nach 28 Tagen:	zahlreich	zahlreich	keine, Erde dicht weiß überwachsen	einzelne

Nach 28 Tagen wurde der 1. Teil des Versuches abgebrochen. Es hatten sich in den Schalen mit nicht sterilisierter Erde und in denen mit autoklavierter, aber in den Kulturräumen ausgebreiteter Erde, zahlreiche Fruchtkörperanlagen gebildet, in den Schalen mit sterilem Substrat und steriler Erde aber nicht. Nur hier hatte das Mycel die Erde dicht weiß überwachsen.

Von den vier Schalen, die mit in einem Kulturraum ausgebreiteter Erde gedeckt worden waren, wurden je zwei Schalen ausgewählt. Aus

einer Schale wurde ein Krümel schwarze Erde herausgenommen und neben das Mycel in einer neuen Halbschale gelegt. Nach 28 Tagen waren einige Fruchtkörperanlagen darauf. Aus der anderen Schale wurde die Erde samt Mycel und Anlagen herausgenommen und in 250 cm³ Leitungswasser suspendiert. Nachdem sich die größten Teile abgesetzt hatten, wurde durch ein grobes Papierfilter (Schl. & Sch. Nr. 520 b) filtriert. 20 cm³ dieses Filtrates wurden verwendet, um 2×2 Std sterilisierte Erde zu begießen und damit zwei Petrischalen mit Mycel auf sterilem Kompost zu „decken“. Nach 28 Tagen gab es auf allen Schalen Anlagen. Der Rest des Filtrates wurde durch ein feineres Papierfilter (Schl. & Sch. 597) filtriert. Mit 20 cm³ der drei Filtrate wurde wieder sterile Deckerde begossen und je zwei Schalen damit „gedeckt“. Auf allen Schalen gab es Anlagen. Die Reste der drei Filtrate wurden mit größter Sorgfalt durch Bakterienfilter (Seitz EK) sterilfiltriert. Mit je 20 cm³ wurden je zwei Petrischalen mit steriler Erde begossen und vier Schalen „gedeckt“. Nach 28 Tagen war die Erde in diesen Schalen dicht weiß durchspinnen, es gab keine dicken Mycelstränge und keine Fruchtkörperanlagen. Der Versuch wurde in gleicher Weise noch zweimal wiederholt und brachte jedesmal dasselbe Ergebnis.

Die Ergebnisse der Laborversuche sind: 1. Die Hemmung des Mycelwachstums durch den Faktor X fehlt in den ersten Tagen nach dem Decken und nimmt dann allmählich zu. X muß sich demnach erst entwickeln oder vermehren. 2. X wird durch das Autoklavieren zerstört. 3. X kann durch die Luft wieder in die Erde gelangen. 4. X passiert Papierfilter, wird aber von Bakterienfiltern zurückgehalten.

Damit ist nachgewiesen, daß der Faktor X weder eine physikalische Eigenschaft des Deckmaterials noch eine chemische Substanz sein kann. *Es muß sich vielmehr um Organismen von mindestens Bakteriengröße handeln.*

4. Versuche zur näheren Bestimmung der Mikroorganismen

In dem auf Seite 322 erwähnten Anbauversuch wurden von schwarzen Deckerdeflecken mit zahlreichen Fruchtkörpern und von Deckerdestellen, an denen das Mycel die Deckschicht dicht weiß durchspinnen hatte, die oberste Erdschicht abgesammelt. In den folgenden Versuchen wurde die Mikroflora in den schwarzen Flecken (S) mit der in den weißen Flecken (W) sowie mit der in frischer Deckerde (F) verglichen. Je ein Krümel der einzelnen Proben wurde in 10 cm³ sterilem Wasser 5 min kräftig geschüttelt, absetzen gelassen und eine Verdünnungsreihe in Zehnerstufen angesetzt. Zwischen den einzelnen Verdünnungsschritten wurde immer wieder kräftig geschüttelt. Mit je 1 cm³ der einzelnen Verdünnungsstufen wurde die Oberfläche von Agarplatten beimpft. Es wurde angenommen, daß die schwarz gebliebene Deckerde die für die

Fruchtkörperbildung nötigen Organismen angereichert enthält, und daß diese in frischer und in von Mycel durchspannener Erde nur wenig vorhanden sind. Die Unterschiede in der Mikroflora könnten dann auf einer geeigneten Verdünnungsstufe sichtbar werden.

Auf Nährböden mit Fleischextrakt waren Unterschiede in der Bakterienflora zu sehen. So war ein gewisser Organismus nur auf den Platten mit der Suspension von S zu finden, ein anderer praktisch nur auf den Platten, die mit der Suspension von W beimpft worden waren. Das Bakterium von S wurde isoliert und im „Halbschalentest“ (siehe S. 323 ff.) auf seine Fähigkeit zur Fruchtkörperauslösung geprüft, indem eine Suspension auf sterile Erde gegossen und diese zum „Decken“ in Petrischalen verwendet wurde. Das Bakterium von S war nicht imstande, das Mycelwachstum auch nur geringfügig zu hemmen.

Auf Calciumformiatagar nach OMELIANSKI (1904) wuchsen fast nur Bakterien, und es ließen sich visuell keine Unterschiede in der Flora der drei Erdproben feststellen. Daraufhin wurde von je einer Agarplatte von W, S und F in der Verdünnungsstufe 1 zu 10000 die Mikroflora abgeimpft und Suspensionen davon auf ihre Wirkung im Halbschalentest geprüft. Die Bakterien, die aus S stammten, hemmten das Mycelwachstum stark und führten zur Bildung von Fruchtkörperanlagen. Die Bakterien aus W und F hatten keine Wirkung auf das Champignonmycel. Es wuchs über die Erde mit den Bakteriensuspensionen genauso ungehemmt hinweg wie über sterile Erde.

Die Bakterienmischung von S vom Calciumformiatagar wurde erneut verdünnt und auf neue Calciumformiatplatten übertragen. Auf diesen Platten wuchsen nur Bakterien. Eine Suspension derselben wurde erneut im Halbschalentest geprüft. Die Fähigkeit, das Champignonmycel zu hemmen und zur Bildung von Fruchtkörperanlagen anzuregen, war voll erhalten geblieben.

Die Bakterienmischung von S wurde auch auf Calciumformiatagar in Schrägröhrchen übergeimpft, wo sie sich kräftig entwickelte. Nach 35 Tagen wurde etwas von den Bakterien mit einer Öse herausgenommen und in sterilem Wasser suspendiert. Ein Teil der Suspension wurde verdünnt und zum Beimpfen von Calciumformiatplatten verwendet, mit dem anderen wurde sterile Erde beimpft. Diese wurde im Halbschalentest geprüft. Sie zeigte eine starke Hemmung des Mycelwachstums und zahlreiche Fruchtkörperanlagen, während in den Kontrollen mit steriler Erde keinerlei Wirkung auf das Mycelwachstum festzustellen war. Auf den Kontrollplatten mit Calciumformiatagar wuchsen nur Bakterien.

Aus diesen Befunden schließe ich, daß gewisse Bakterien für die Fruchtkörperbildung nötig sind. Es sind Versuche im Gange, sie von den unwirksamen Begleitorganismen zu trennen und zu identifizieren.

5. Versuche mit Aktivkohle

Im letzten Abschnitt wurde wahrscheinlich gemacht, daß Bakterien die Fruchtkörperbildung des Kulturchampignons auslösen. Nun erhebt sich die Frage, in welcher Weise sie auf das Champignonmycel wirken. Es wäre denkbar, daß sie Hemmstoffe ausscheiden, die das Mycelwachstum stoppen und die Fruchtkörperbildung einleiten, daß sie zur Fruchtkörperbildung nötige Stoffe liefern oder daß sie irgendwelche Stoffwechselprodukte beseitigen.

Um die letzte Möglichkeit zu prüfen, wurden Versuche mit gekörnter Aktivkohle (Merck) durchgeführt. Sollten die Bakterien Stoffwechselprodukte des Pilzes beseitigen, dann wäre auch mit steriler Aktivkohle

Tabelle 5 Wirkung von Aktivkohle auf die Fruchtkörperbildung

Kulturgefäße		„gedeckt“ mit	Zahl der Gefäße mit Anlagen in %	mittlere Zahl der Anlagen in Gefäßen mit Anlagen
Art	Zahl			
belüftete Kolben	10	steriler Deckerde	0	0
	11	steriler Aktivkohle	73	4
	12	unsteriler Aktivkohle	92	19
Petrischalen	20	steriler Deckerde	0	0
	20	steriler Aktivkohle	60	4
Weckgläser	50	steriler Deckerde	12	4
	40	steriler Deckerde + Aktivkohle 1.1	98*	20

* In acht Glasern gab es reife Fruchtkörper

als Deckmaterial eine gewisse Wirkung auf die Fruchtkörperbildung zu erwarten, da sie Stoffwechselprodukte adsorbieren würde.

In einigen Versuchen wurde das Champignonmycel auf sterilem Kompost herangezogen und dann mit Aktivkohle, die in nassem Zustand 2 Std autoklaviert worden war, gedeckt. Zur Kontrolle wurde auch unsterile Kohle und sterile Deckerde verwendet.

Aktivkohle hat eine geringe Wasserkapazität und trocknet sehr schnell aus. Sie muß daher sehr naß zum Decken verwendet werden. Trotzdem sind so gedeckte Kulturen in bezug auf den Wasserfaktor gegenüber Deckerde im Nachteil. In einem Versuch wurde daher die Kohle mit sterilisierter Deckerde im Verhältnis 1:1 gemischt und dadurch die Wasserkapazität erhöht.

Die Kulturen in Petrischalen und Kolben wurden während der Versuchsdauer nicht begossen, die in Weckgläsern 14 Tage nach dem Decken mit 15 cm³ sterilen Wassers (Versuchsdauer nach dem Decken 28 Tage).

Tab.5 gibt eine Übersicht über die Versuche. In belüfteten Kolben (vgl. Abb.1) gab es auf steriler Deckerde keine, auf steriler Aktivkohle dagegen in den meisten Kolben einige dicke Anlagen. Die Wirkung der autoklavierten Aktivkohle war aber bedeutend geringer als diejenige von unsteriler Kohle. Am Schluß des Versuches wurde jeder Kolben auf

Bakterien getestet. In den Kolben, die mit steriler Erde und steriler Kohle gedeckt worden waren, konnten keine Bakterien festgestellt werden. Auf der unsterilen Kohle dagegen hatte eine Massenentwicklung stattgefunden.

In den Versuchen mit Petrischalen gab es auf steriler Deckerde wie immer keine Anlagen, auf steriler Aktivkohle dagegen entwickelten sich auf 60% der Schalen einzelne Anlagen und sogar Fruchtkörper. Am Schluß des Versuches wurde die Kohle um die Anlagen herum oder an der Basis der Fruchtkörper herausgenommen und auf Bakterien getestet. Es ließen sich keine Bakterien nachweisen.

Die Weckgläser wurden nach dem Decken mit sterilen Hauben aus 1 cm dickem Kunstschaum, Porella Type 25 (vgl. CLAUS 1959), verschlossen und bei 80% relativer Feuchtigkeit aufbewahrt. Bis Versuchsende hatten sich auf einzelnen Gläsern mit Deckerde wenige kleine Anlagen gebildet, auf Deckerde mit Aktivkohle dagegen in 39 von 40 Gläsern zahlreiche dicke Anlagen und auch reife Fruchtkörper.

Unterstellt man, daß die Bakterien, die die Fruchtkörperbildung auslösen, auf den verwendeten Testnährböden nicht wachsen, sich also eine nachträgliche Infektion sterilen Deckmaterials mit ihnen nicht nachweisen läßt, so ist doch sehr unwahrscheinlich, daß in Versuchsreihen mit so vielen Wiederholungen und vollkommen gleicher Behandlung der einzelnen Versuchsglieder, immer nur Kulturgefäße mit Aktivkohle infiziert worden sind, Kulturen mit Deckerde aber praktisch nicht. Man kann daher mit großer Wahrscheinlichkeit annehmen, daß die sterile Aktivkohle selber in der Lage ist, die Fruchtkörperbildung auszulösen. Doch ist die Wirkung im Vergleich zu unsterilem Deckmaterial sehr viel geringer.

Ich nehme an, daß die Bakterien durch den Abbau irgendwelcher Stoffe die Fruchtkörperbildung auslösen.

III. Diskussion über die Auslösung der Fruchtkörperbildung

Die Versuche zeigten, daß der Stamm 71 auch bei ausgezeichnetem Mycelwachstum und guter Luftung nicht in der Lage ist, unter sterilen Bedingungen Fruchtkörper zu bilden. Vielmehr braucht er zur Auslösung der Fruchtkörperbildung irgendwelche Mikroorganismen, wahrscheinlich Bakterien. Da alle im Handel befindlichen Champignonsorten ohne Deckschicht keinen Ertrag bringen, durften sie sich grundsätzlich ebenso verhalten.

Die Organismen, die zur Fruchtkörperbildung nötig sind, müssen im Boden weit verbreitet sein und in großer Zahl in der Luft herumwirbeln. Dafür spricht die große Mannigfaltigkeit der Deckerden, die im Champignonanbau verwendet werden und die Tatsache, daß sterilisierte Erde auch außerhalb von Champignonbetrieben bei nicht genügend steriler

Aufbewahrung leicht so infiziert werden kann, daß sie als Deckerde einen gewissen Pilzertrag hervorruft.

So erhielten SCHISLER (1957) und KOCH (1958) mit sterilisiertem Substrat, das mit sterilisierter Erde bzw. sterilisiertem Loslehm gedeckt worden war, Fruchtkörper oder wenigstens Anlagen. Bei der Versuchsanordnung von SCHISLER war eine Infektion aus der Luft unvermeidlich. KOCH hatte das Material vielleicht nicht genügend sterilisiert. In eigenen Versuchen mit Loslehm, wie ihn KOCH verwendet hat (aus dem gleichen Bodenaufschluß und derselben Schicht) gab es unter einwandfrei sterilen Bedingungen jedenfalls keine Fruchtkörperanlagen (vgl. EGER 1959).

Die Mikroorganismen, die für die Fruchtkörperbildung nötig sind, können unter normalen Bedingungen nicht im Kompost gedeihen oder wenigstens nicht die Fruchtkörperbildung beeinflussen. Es ist für sie daher eine Tragerschicht nötig, die anders beschaffen ist als der Kompost.

In den Deckversuchen (vgl. S. 319 ff.) konnte Material, das keinerlei organische Substanz enthält, wie Kies und Quarzsand, ebenso als Tragerschicht dienen wie Einheitserde. Auf Glasperlen mit ihrer glatten Oberfläche können sich Mikroorganismen viel schlechter ansiedeln als auf Material mit rauher Oberfläche. Aus diesem Grund gab es wohl mit Glasperlen keinen Ertrag.

Auf Einheitserde O waren die Ernten am höchsten. Besonders groß war die Zahl der Fruchtkörper, wenn die Erde nicht mit „Vapam“ behandelt wurde (Versuche bisher nicht erwähnt). Wie DOMSCH (1959) zeigte, wird durch die „Vapam“-Behandlung der Bakteriengehalt vermindert.

Einheitserde ist ein Gemisch von Torf und Ton. Laut STOLLER (1952 b, c) ist Torf ein ausgezeichnetes Deckmaterial, wenn der pH-Wert durch Zusatz von CaCO_3 erhöht wird. Die englischen Champignonanbauer benutzen Mischungen aus Torf und Kreide seit Jahren und klagen oft über zu viele Fruchtkörperanlagen auf ihren Kulturen. Nach BELS (1950) ist auch eine Mischung von „Vermiculite“ mit Torf sehr gut. Offenbar gedeihen auf Torf zur Auslösung der Fruchtkörperbildung geeignete Mikroorganismen in besonders großer Zahl.

Diese Organismen können sich auf ausgewaschenem Kompost ansiedeln.

Auf ein Auswaschen der obersten Kompostschichten laufen auch die Versuche von FLEGG (1959) hinaus. Er erhielt auf ungedecktem Kompost einen merklichen Fruchtkörperertrag, wenn der Kompost regelmäßig stark begossen wurde.

STOLLER (1952 c) verhinderte in seinen Versuchen mit Torf die Fruchtkörperbildung durch Zusatz von 1% löslicher Stickstoffsalze. STOLLER verwandte einen „well decomposed“ Torf „from the lower parts of the bog“, also Schwarztorf. In ihm ist der Stickstoff weitgehend in Huminstoffen festgelegt (SCHEFFER-SCHACHTSCHABEL 1960) und für die Mikroflora schwer angreifbar. Der Torf ist in diesem Sinne ein N-armes Sub-

strat, das eine spezielle Flora beherbergt. Eine Änderung des verfügbaren N durch Zusatz leichtlöslicher Salze könnte zu Verschiebungen im Artenspektrum führen.

In bezug auf die Fruchtkörperbildung verhält sich also Torf mit N-Salzen wie Champignonkompost, der ebenfalls N in leicht angreifbarer Form enthält. Ausgewaschener Kompost dagegen nähert sich in bezug auf den N-Faktor reinem Torf. Versuche werden entscheiden müssen, ob der N-Faktor die Brauchbarkeit eines Materials zum Decken bestimmt.

Aus den Deckversuchen kann man weiter schließen, daß die Organismen, die zur Fruchtkörperbildung nötig sind, ohne Kohlenstoffquelle im Substrat auskommen können. Nur so ist zu erklären, daß selbst auf größerem Kies (vgl. Tab. 2) Fruchtkörper entstehen können. Ich nehme an, daß es sich um Bakterien von einem Typus ähnlich dem der *Methanomonadaceae* (BERGEYS Manual 1957 und WAKSMAN 1931) oder oligocarbo-philer Actinomyceten handelt, wie sie mehrfach beschrieben wurden (vgl. HIRSCH u. ENGEL 1956; HIRSCH 1960). Diese Organismen können auf rein mineralischen Substraten gedeihen, weil sie ihren Energie- und C-Bedarf aus der Luft decken, z. B. durch die Oxydation von H₂, CH₄, CO oder flüchtigen organischen Substanzen aus Leuchtgas, Benzin und Petroleum (vgl. auch RIPPEL 1955). Dabei muß auch an das Zusammenwirken mehrerer streng spezialisierter Arten gedacht werden, ähnlich dem von KASERER (1906) und NIKLEWSKI (1910) berichteten. Ein Teil der beschriebenen Organismen kann auch auf organischen Substraten gut gedeihen, entnimmt aber dann die nötigen Stoffe nicht mehr der Luft, sondern dem Substrat

Es wurde mehrfach berichtet, daß das Champignonmycel flüchtige organische Stoffe ausscheidet (STOLLER 1952a; MADER 1943, SCHISLER 1957). Die Annahme, daß solche Stoffwechselprodukte in größerer Menge existieren und die Tatsache, daß unter vollsterilen Bedingungen mit Aktivkohle als Deckmaterial Fruchtkörper gebildet werden (vgl. S. 328), erlauben die Aufstellung der folgenden Theorie über die Auslösung der Fruchtkörperbildung beim Kulturchampignon.

Wird von Champignonmycel durchwachsener Kompost mit unsterilem Deckmaterial gedeckt, so dringen flüchtige Stoffwechselprodukte des Pilzes in die Deckschicht ein und werden dort von gewissen Mikroorganismen oxydiert. Bei ausreichender Versorgung mit den flüchtigen Nahrungsstoffen kommt es in der Deckschicht schnell zu einer Massenz Vermehrung dieser Lebewesen, vorausgesetzt, daß auch Feuchtigkeit und Temperatur günstig sind.

Ausschlaggebend für die Ausbildung der Mikroflora in der Deckschicht ist deshalb das Substrat des Pilzes. So zeigten Versuche (vgl. S. 316), daß der Champignon auf Weizenkornern bei schlechter Luftung andere

Stoffwechselprodukte erzeugt als auf Kompost (Geruch, Entfärbung von KMnO_4). Es ist anzunehmen, daß auch unter den Luftungsbedingungen in den Anbauäumen unterschiedliche Stoffwechselprodukte entstehen. Die Stoffwechselprodukte vom Kornersubstrat sind nicht geeignet, die zur Auslösung der Fruchtkörperbildung nötigen Mikroorganismen zu ernähren, da es in keinem Versuch mit Weizenkornern zur Bildung von Fruchtkörperanlagen kam. Die Anzuchtbedingungen des Mycels können dabei nicht von Bedeutung sein, da (in anderen Versuchen) auch bei der Anzucht unter Wattestopfen und Wattehauben die Fruchtkörperbildung ausblieb. Man muß vielmehr auf Grund der Versuche von SINDEN u. HAUSER (1959) annehmen, daß die Stoffwechselprodukte von Kornersubstraten auf die spezifischen Organismen in der Deckerde giftig wirken. SINDEN u. HAUSER haben Champignonkompost mit steigenden Mengen Kornbrut (von Champignonmycel umspinnene Roggenkörner) vermischt. Enthielt das Substrat 50% Körner oder mehr, so gab es keine Fruchtkörper.

Nach dem Decken beginnt das Pilzmycel aus dem Substrat in die Deckschicht hineinzuwachsen. Während die Mikroflora sich zunehmend entwickelt, wird das Pilzmycel in steigendem Maße gehemmt (vgl. S. 323) und schließlich kommt es zur Bildung von Fruchtkörperanlagen. Im einzelnen stelle ich mir den Vorgang so vor: Wenn die Hyphen in das Deckmaterial hineinwachsen, treffen sie auf Anhäufungen von Bakterien, die von den flüchtigen Stoffwechselprodukten leben. In engem Kontakt mit den Pilzzellen beseitigen sie diese Stoffwechselprodukte direkt an der Zellwand und erhöhen so das Diffusionsgefälle. Die erhöhte Diffusionsgeschwindigkeit führt im Plasma zu Änderungen im chemischen Gleichgewicht oder pH - und r_H -Verschiebungen, die das Zellwachstum hemmen. Manche Zellen werden durch die Bakterien in ihrem Gleichgewicht so gestört, daß es zu tiefgreifenden Änderungen im Stoffwechsel kommt. Dadurch entsteht ein Reiz auf die anschließenden Zellen, der einen Nährstoffstrom aus den älteren Mycelteilen zu der angegriffenen Zelle einleitet. Die Fruchtkörperbildung beginnt.

Die Umgestaltung des Stoffwechsels bei der Fruchtkörperbildung wird an den gesteigerten Ansprüchen an die Belüftung deutlich. Ob es sich dabei um erhöhtes O_2 -Bedürfnis handelt oder um Empfindlichkeit gegen CO_2 und andere Verbindungen (vgl. TSCHIERPE 1958 und STOLLER 1952), müssen weitere Versuche entscheiden.

Während spezifische Bakterien das Mycelwachstum in der Deckschicht hemmen, verhindert dichter Bewuchs mit Champignonmycel die Entwicklung dieser Organismen. Nur so ist verständlich, daß im Halbschalentest (vgl. S. 323) in dem Teil der Erde, der in den ersten Tagen nach dem Decken vom Mycel dicht durchspunnen wird, später keine Fruchtkörperanlagen entstehen. Dabei unterdrückt das ältere Champignon-

mycel entweder die Bakterien direkt durch Stoffausscheidungen, oder es begünstigt Arten, die die zur Fruchtkörperbildung nötige Flora unterdrücken.

Zusammenfassung der Ergebnisse

1. Auf sterilen Substraten ohne Deckschicht bildete Stamm 71 von *Psalliota bispora* Lge. keine Fruchtkörper.

2. Nicht alle Substrate, auf denen das Mycel sehr gut wächst, waren für die Fruchtkörperbildung geeignet. Bei Verwendung derselben Deckerde gab es auf Kompost gute Erträge, auf Weizenhäcksel nur wenige, langstielige Fruchtkörper, auf Weizenkörnern nicht einmal Anlagen.

3. Unter Anbaubedingungen war zum Decken organisches wie anorganisches Material geeignet. Autoklavierte Einheitserde brachte einen viel niedrigeren Ertrag als nicht autoklavierte. Die Erträge mit Einheitserde waren am höchsten, wenn die obersten Millimeter der Deckschicht vom Mycel nicht durchsponnen wurden.

4. Die Fruchtkörperbildung erfolgte nur bei engem Kontakt zwischen Mycel und Deckerde.

5. Fruchtkörper bildeten sich nur, wenn Kompost oder Deckerde unsteril waren oder steril angesetzte Kulturen nachträglich infiziert wurden.

6. In Petrischalen entstanden Fruchtkörper, wenn man unsteriles Deckmaterial nicht auf, sondern neben den Kompost legte. In dieser Weise konnte das Wachstum von Reinkulturmycel auf steriler und unsteriler Deckerde beobachtet werden. Das Mycelwachstum auf unsteriler Erde wurde im Vergleich zu den sterilen Kontrollen mit der Zeit immer stärker gehemmt.

7. Es gelang der Nachweis, daß Mikroorganismen, wahrscheinlich Bakterien, die Fruchtkörperbildung des Pilzes auslösen.

8. In Versuchen mit Aktivkohle als Deckmaterial kam es auch unter sterilen Bedingungen zur Fruchtkörperbildung.

9. Aus den Versuchsergebnissen wird eine Theorie über die Auslösung der Fruchtkörperbildung beim Kulturechampignon abgeleitet.

Herrn Prof. VON SENGBUSCH danke ich herzlich für die großzügige Förderung meiner Arbeit, Frl. HELLMUTH und Frl. SPECHT für zuverlässige Assistenz.

Literatur

BERGEYS Manual of Determinative Bacteriology, 7. Aufl. p. 74—78 u. 726. Baltimore: 1957.

CLAUS, D.: Polyurethan-Schaumstoffe zum infektionssicheren Verschuß von Kulturgefäßen. Naturwissenschaften 46, 536 (1959).

DOMSCH, K. H.: Die Wirkung von Bodenfungiciden. III. Quantitative Veränderungen der Bodenflora. Z. Pflanzenkrankh. 66, 17—26 (1959).

EGER, G.: Zum Problem der Fruchtkörperbildung beim Kulturechampignon (*Psalliota bispora* Lge.). Naturwissenschaften 46, 498—99 (1959).

- FLEGG, P. B.: The casing layer, fruiting and moisture stress. MGA-Bulletin 117, 283—84 (1959a).
- FLEGG, P. B.: The function of the compost and casing layer in relation to fruiting and growth of the cultivated mushroom. IV. Intern. Champignonkongreß, Kopenhagen (noch nicht ausgeliefert) (1959b).
- HAUSER, E., u. J. W. SINDEN: Industria research and investigations into some factors affecting yield. IV. Intern. Champignonkongreß, Kopenhagen (noch nicht ausgeliefert) (1959).
- HIRSCH, P.: Einige weitere, von Luftverunreinigungen lebende Actinomyceten und ihre Klassifizierung. Arch. Mikrobiol. 35, 391—414 (1960).
- HIRSCH, P., u. H. ENGEL: Über oligocarbophile Actinomyceten. Ber. dtsch. bot. Ges. 69, 441—454 (1956).
- KASERER, H.: Die Oxydation des Wasserstoffs durch Mikroorganismen. Zbl. Bakt., II. Abt. 16, 681 (1906).
- KLEBS, G.: Die Bedingungen der Fortpflanzung bei einigen Algen und Pilzen. Jena 1896.
- KOCH, W.: Untersuchungen über Mycelwachstum und Fruchtkörperbildung bei einigen Basidiomyceten (*Polystictus versicolor*, *Polyporus annosus*, *Pleurotus ostreatus* u. *Psallhota bispora*). Arch. Mikrobiol. 30, 409—432 (1958).
- LAMBERT, E.: Effect of excessive carbon dioxide on growing mushrooms. J. Agricult. Res. 47, 599—608 (1933).
- MADER, E. O.: Some factors inhibiting the fructification and production of the cultivated mushroom, *Agaricus campestris* L. Phytopathology 33, 1134—1145 (1943).
- NIKLEWSKI, B.: Über die Wasserstoff-Oxydation durch Mikroorganismen. Jb. wiss. Bot. 48, 113 (1910).
- OMELLANSKI: Über die Zersetzung der Ameisensäure durch Mikroben. Zbl. Bakt., II. Abt. 11, 177, 256, 317 (1904)
- PIZER, N. H.: Some experiments with mushroom casing soils. Mushroom Science 1, 74—78 (1950).
- RIPPEL-BALDES, A.: Grundriß der Mikrobiologie, 3. Aufl. S. 112 und 115. Berlin, Göttingen, Heidelberg: 1955.
- SCHAEFFER-SCHACHTSCHABEL: Lehrbuch der Agrikulturchemie und Bodenkunde, 1. Teil, 5. Aufl. Stuttgart 1960.
- SCHISLER, L. C.: A physiological investigation of sporophore initiation in the cultivated mushroom, *Agaricus campestris* L. ex Fr. Diss. Abstr. 17, 958. Publ. 20 973, Pennsylvania Univ. 1957.
- STOLLER, B. B.: Abnormal growth and fructification of the cultivated mushroom. Science 116, 320—322 (1952a).
- STOLLER, B. B.: Studies on the function of the casing: part I. The relation of the abnormal growth of the cultivated mushroom to fructification and casing soil. MGA-Bulletin 34, 289—297 (1952b).
- STOLLER, B. B.: Studies on the function of the casing for mushroom beds, II. Some chemical and physical characteristics of the casing soil and their effect on fructification. MGA-Bulletin 35, 321—326 (1952c).
- STOLLER, B. B.: Studies on the function of the casing, III. Use and characteristics of peat as a casing for mushroom beds. MGA-Bulletin 36, 352—360 (1952d).
- TSCHIERPE, H. J.: Diss. Techn. Univ. Berlin Nr. 91, Fakultät f. Landbau (1958).
- TSCHIERPE, H. J.: Untersuchungen über den Einfluß des Kohlendioxyds auf den Kulturchampignon. Gartenbauwissenschaft 24, 18—75 (1959).
- WAKSMAN, S. A.: Principles of Soil Microbiology, 2. Aufl. London: 1931.
- ZYCHA, H.: Mykologische Grundlagen der Champignonkultur. Angew. Bot. 21, 46—59 (1939).