

Reaktionen sein. Schon MÄKINEN und LEWIS (1962) hatten auf Grund genetischer und immunologischer Untersuchungen vermuten können, daß der Ort der Hemmreaktion die Wand des Pollenschlauches ist.

#### Literatur

1. LARSON, D. A., and C. W. LEWIS: Cytoplasm in mature, non-germinated and germinated pollen. In: S. S. BREESE (Ed.), Electron Microscopy 2, W-11 (1962).
- 2. LINSKENS, H. F.: Physiologische Untersuchungen der Pollenschlauchhemmung selbststeriler Petunien. Z. Bot. 43, 1–44 (1955).
- 3. LINSKENS, H. F.: Biochemical aspects of incompatibility. Rec. Adv. Bot. (Toronto) 2, 1500–1503 (1961).
- 4. LINSKENS, H. F.: Biochemistry of incompatibility. Genetics today 3, 629–635 (1965).
- 5. LINSKENS, H. F., u. K. ESSER: Über die spezifische Anfärbung der Pollenschläuche im Griffel und die Zahl der Kallose-Pfropfen nach Selbstung und Fremdung. Naturwissenschaften 44, 16 (1957).
- 6. LINSKENS, H. F., u. K. ESSER: Stoffaufnahme des Pollenschlauches aus dem Leitgewebe des Griffels. Proc. Kon. Nederl. Akad. Wet. (Amsterdam) C 62, 150–153 (1959).
- 7. MÄKINEN, Y. L. A., and D. LEWIS: Immunological analysis of incompatibility (S) proteins and of cross reacting material of a self-compatible mutant of

- Oenothera organensis. Genet. Res. 3, 352–363 (1962).
8. MÜHLETHALER, K., u. H. F. LINSKENS: Elektronenmikroskopische Aufnahmen von Pollenschläuchen. Experientia (Basel) 12, 253–254 (1956).
- 9. O'KELLEY, J. C., and P. H. CARR: An electron micrographic study of cell walls of elongating cotton fibers, root hairs and pollen tubes. Amer. J. Bot. 41, 261–264 (1954).
- 10. ROSEN, W. G.: Chemotropism and fine structure of pollen tubes. In: H. F. LINSKENS (Ed.), Pollen Physiology and Fertilization, p. 159–166. Amsterdam 1964.
- 11. ROSEN, W. G., S. R. GAWLIK, W. V. DASHEK and K. A. SIEGESMUND: Fine structure and cytochemistry of *Lilium* pollen tubes. Amer. J. Bot. 51, 61–71 (1964).
- 12. SASSEN, M. M. A.: Fine structure of germinated *Petunia* pollen. In: H. F. LINSKENS (Ed.), Pollen Physiology and Fertilization, p. 167–169. Amsterdam 1964a.
- 13. SASSEN, M. M. A.: Fine structure of *Petunia* pollen grain and pollen tube. Acta Bot. Neerl. 13, 175–181 (1964b).
- 14. SCHOCH-BODMER, H., u. P. HUBER: Auflösung und Aufnahme von Leitgewebesubstanz durch die Pollenschläuche. Verh. Schweiz. Naturforsch. Ges. 1945, 161–162.
- 15. SCHOCH-BODMER, H., u. P. HUBER: Die Ernährung der Pollenschläuche durch das Leitgewebe. Vj. Schr. Naturforsch. Ges. Zürich 92, 43–48 (1947).
- 16. SCHLÖSSER, K.: Cytologische und cytochemische Untersuchungen über das Pollenschlauchwachstum selbststeriler Petunien. Z. Bot. 49, 266–288 (1961).

## Versuche zur Frage der Erhaltungszüchtung beim Kulturchampignon

### II. Vermehrung durch Gewebekulturen

GERDA FRITSCHE

Max-Planck-Institut für Kulturpflanzenzüchtung, Hamburg-Volksdorf

#### Experiments on maintenance of strains of the cultivated mushroom

##### II. Propagation by tissue culture

**Summary.** 1. In this report the suitability of the so-called "tissue culture method" for multiplication and preservation of mushroom strains is investigated. The multiplication of the plectenchyme is called tissue culture by the mushroom breeder. Under sterile conditions pieces from the interior of the fruiting bodies are cut and inoculated on agar. Soon new mycelium begins to form there.

2. No influence of the size of the pieces on the growth of the mycelium could be noticed.

3. On the other hand was shown, that mushroom strains can react very differently to the nutrients available.

During the modification from generative to vegetative phase they are especially sensitive to their lack. Tissue cultures growing slowly because of poor nutrition, developed as quickly on nutritive agar as those tissue cultures which had been grown on this agar from the beginning.

4. Growth tests were carried out on pieces of tissue from fruiting bodies of different weight and picked at different dates from two multisporous and three single-sporous cultures. One out of 20 tissue cultures did not grow like the original strain. It came from a single spore culture and grew slower than normal.

No infection of the tissue culture could be shown.

5. Yield tests were carried out with tissue cultures of large and small fruiting bodies from a multisporous culture and with some picked in the beginning and end of the

harvest. The yield of half the tissue cultures in all three tests was lower than that of mycelium propagated by division; no tissue culture yields were higher.

6. No influence of the weight of the fruiting body used for tissue culture on the average weight of those growing in tissue culture could be noticed.

7. There was influence of the harvesting time of the fruiting bodies used for tissue culture on the course of harvest from the tissue-culture. The fruiting bodies picked early were more productive sooner than those which had been gathered late.

From the mixture of genotypes of multisporous culture B hyphae with genes for early yield probably produced the first fruiting bodies.

8. Yield tests on tissue cultures of early and late fruiting bodies gained from two single spore cultures showed again nearly half the tissue-cultures in both tests to be below the standard, and only one tissue culture was above it in either test.

In one of the single spore cultures there was an influence of the harvesting time of the fruiting bodies used for tissue culture on the course of harvest from the tissue culture.

9. Through multiplication of a fruiting body of a new shape, arising spontaneously in an earlier tissue culture a commercially useful strain could be bred. The yield, rather low in the beginning, was increased considerably by further tissue cultures.

10. According to the results of these tests with normal cultures preservation of strains through multiplication in tissue culture cannot be recommended.

Unter Gewebekultur versteht der Brütersteller\* eine Vermehrung des Plectenchyms\*\*. Unter steri-

\* Brut – das zum Bepflanzen der Kulturbeete bestimmte und unter sterilen Bedingungen herangezogene Mycel.

\*\* Die Bezeichnung „Gewebekultur“ ist also botanisch falsch, wird jedoch im Folgenden gebraucht, da sie in der Champignonzüchtung üblich ist.

Über Versuche zur Frage der Erhaltungszüchtung wurde kürzlich von uns berichtet (FRITSCHE, 1966). Es war das Verhalten des Mycels nach Teilung studiert worden.

Die vorliegende Arbeit befaßt sich mit einer zweiten Methode der Erhaltungszüchtung, nämlich mit der Vermehrung der Stämme über Gewebekulturen.

len Bedingungen werden kleine Stücke aus dem Innern der Fruchtkörper ausgeschnitten und auf einen Agar-Nährboden geimpft. Dort bildet sich bald neues Mycel.

Die Gewebekulturmethode ist einfach zu handhaben, wird jedoch nicht mehr viel angewendet. Viele Brüdersteller glauben, daß sie nicht so sichere Brut liefere wie eine Vermehrung durch Vielsporaussaat (LAMBERT, 1959).

SARAZIN (1952) stellte fest, daß die durch Gewebekultur gewonnene Brut sehr unzuverlässig hinsichtlich Fruchtbarkeit und Widerstandsfähigkeit ist.

Demgegenüber erhielt KLIGMAN (1943) aus Gewebekulturen genauso sichere Bruten wie aus Vielsporaussaaten.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, die Brauchbarkeit der Gewebekulturmethode für die Erhaltungszüchtung erneut zu prüfen. Als besondere Charakteristika wurden dabei die Größe und der Erntezzeitpunkt der für die Gewebekulturen verwendeten Fruchtkörper berücksichtigt. Ferner wurde der Einfluß der Stückgröße und des Nährbodens auf das Mycelwachstum untersucht.

## B. Material und Methoden

### I. Der Einfluß des Nährbodens und der Größe des Fruchtkörperstückes auf das Mycelwachstum

#### a) Stämme

Die Versuche wurden mit zwei eigenen Einsporkulturen durchgeführt

1. **1206**, einer im Mai 1959 gewonnenen blonden Einsporkultur. Über diese Einsporkultur berichteten wir bereits 1962 (FRITSCHE und v. SENGBUSCH, 1962). Sie wurde außerdem zu den Versuchen zur Erhaltungszüchtung durch Mycelteilung verwendet (FRITSCHE, 1966).

2. **4385**, einer Ende November 1961 gewonnenen weißen Einsporkultur. Sie wurde bereits zu den Versuchen zur Erhaltungszüchtung durch Mycelteilung verwendet (FRITSCHE, 1966).

#### b) Nährböden

1. Kompost-Agar. Rezept (EGER, unveröffentlicht): 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.

2. Weizen-Agar. Rezept: 125 g Weizenkörner werden mit 4 l Aqua dest 2 Stunden lang gekocht. 24 Std. später wird die Flüssigkeit abgegossen und mit 2% Agar-Agar verfestigt. pH 6,6 nach dem Autoklavieren.

3. Biomalz-Agar. Rezept: 1,5% Biomalz (Malzin, München) in Aqua dest mit 2% Agar-Agar verfestigt. pH 6,0 nach dem Autoklavieren.

#### c) Fruchtkörperstücke

Folgende vier verschiedene Stückgrößen wurden verwendet:

1. ca. 7 mm<sup>3</sup> (Stücke mit dem Korkbohrer Nr. 3 in entsprechender Dicke ausgestanzt)
2. ca. 4 mm<sup>3</sup> (Stücke mit dem Korkbohrer Nr. 1 in entsprechender Dicke ausgestanzt)
3. ca. 2 × 2 × 4 mm } mit dem Spatel ausgeschnitten.
4. ca. 0,5 mm<sup>3</sup> }

#### d) Versuchsdurchführung

Von jeder Einsporkultur wurden zehn Fruchtkörper ausgesucht. Sie wurden mit einem Pinsel gesäubert und zur äußeren Desinfektion kurz in eine 1%ige Zephirolösung (Bayer) getaut. Danach wurden sie aufgebrochen und aus jedem Fruchtkörper drei Stücke der vier

angegebenen Größen ausgeschnitten. Diese Stücke wurden auf die drei Nährböden übertragen, so daß von jeweils einem Pilz alle Nährböden mit allen Stückgrößen einmal beimpft waren.

Als Kulturgefäße wurden Einmal-Petrischalen aus Polystyrol (Ø 82 mm) verwendet. Die „Gewebestücke“ wurden jeweils in die Mitte der Schalen gelegt. Parallel dazu wurden je 10 Schalen mit dem Originalmycel der beiden Einsporkulturen beimpft.

20 Tage nach dem Beimpfen wurde das Mycelwachstum bonitiert. Der Durchmesser des Mycels wurde an der schmalsten und breitesten Stelle gemessen.

Um die Nachwirkungen von Nährboden und Stückgröße auf die weiteren Mycelkulturen zu studieren, wurde aus einigen Schalen Mycel abgeimpft. Es wurden zu diesem Zweck von jeder Einsporkultur die zu einem Fruchtkörper gehörenden Stücke aller Größen und von allen Nährböden ausgesucht und in je zehn Wiederholungen auf dieselben Nährböden übergeimpft. Außerdem wurde von dem kleinsten Gewebestück (entspricht dem normalen Verfahren) und vom Originalmycel von jedem Nährboden in fünf Wiederholungen auf alle Nährböden übergeimpft. Das Mycelwachstum wurde nach 14 Tagen bonitiert.

## II. Wachstumsteste mit Gewebekulturen verschiedener Fruchtkörper

#### a) Stämme

Alle Viel- und Einsporkulturen waren schon in den Versuchen zur „Erhaltungszüchtung durch Mycelteilung“ verwendet worden (FRITSCHE, 1966).

Es handelt sich um folgende 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 (FRITSCHE, 1964). Brut Dezember 1960 bezogen und inzwischen durch Teilung vermehrt.

2. B: Vielsporkultur mit weißem Hut. Eine Handelssorte, deren Brut wir im Mai 1961 geliefert bekamen und inzwischen durch Teilung vermehrt hatten.

3. 867: Einsporkultur mit variierender Hutfarbe von fast weiß bis fast blond. 1959 von uns isoliert. Über die Einsporkultur wurde schon 1962 von uns berichtet (FRITSCHE und v. SENGBUSCH, 1962).

4. 1206: Einsporkultur mit blondem Hut, bereits oben aufgeführt.

5. 4385: Einsporkultur mit weißem Hut, bereits oben aufgeführt.

#### b) Eigenschaften der Fruchtkörper

Von jedem Stamm wurden zwei zu Ertragsbeginn geerntete Fruchtkörper (1.-7. Tag, bei 4385 auch 11. Tag) sowie zwei gegen Ende der Ernteperiode geplückte Fruchtkörper (65. Tag, bei 1206 = 35. Tag) verwendet. Von den beiden Fruchtkörpern war jeweils einer mittelgroß-groß (5-24 g) und einer sehr klein (2-3 g).

#### c) Versuchsdurchführung

Die Gewebestücke wurden aus Hut und Stiel geschnitten. Sie wurden auf Reagenzröhren mit Weizen-Agar geimpft. Als die Nährbodenoberfläche übersponnen war, wurde aus jedem Röhrchen Mycel aus der Nähe des Gewebestückes sowie aus der weitesten Entfernung vom Gewebestück auf je eine Petrischale mit Kompost-Agar übertragen. Zur Kontrolle wurden zwei Schalen mit Originalmycel jedes Stammes beimpft.

Nachdem die Schalen durchsponten waren, wurden von jeder Schale aus der Peripherie der Kultur fünf neue Schalen beimpft. Die Entwicklung des Mycels wurde nach 14 Tagen bonitiert, indem die schmalste und breiteste Stelle jeder Kultur gemessen wurde.

Das Mycel zweier Gewebekulturen einer Einsporkultur, die sich stark in der Wuchsschnelligkeit unterschieden, wurde noch dreimal weitervermehrt und der Mycelwuchs gemessen. In allen Fällen wurde als Nährsubstrat Kompost-Agar verwendet.

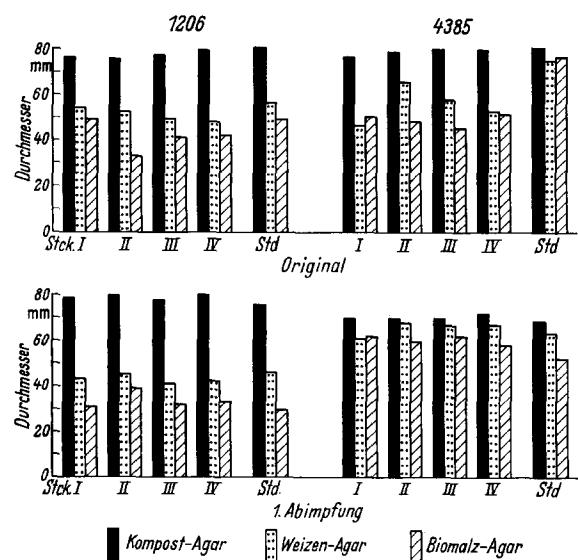


Abb. 1. Vergleich des Mycelwachstums von Gewebestücken verschiedener Größe auf verschiedenen Nährböden, durchgeführt mit zwei Einsporkulturen (1206 und 4385). — Säulen der oberen Reihe: Mycelwachstum in den mit den Gewebestücken beimpften Schalen (Original). — Säulen der unteren Reihe: Mycelwachstum in den vom Original abgeimpften Schalen. — Ordinaten-Werte: Myceldurchmesser in mm, bei den Säulen der oberen Reihe  $\bar{x}$  von 4–10 Schalen. — Abszissen-Werte: Größe der verwendeten Gewebestücke I: ca. 7 mm<sup>3</sup>; II: ca. 4 mm<sup>3</sup>; III: ca. 2 × 2 × 4 mm; IV: ca. 0,5 mm<sup>3</sup>; Std: durch Teilung vermehrtes Mycel der Einsporkulturen zur Kontrolle

### III. Ertragsprüfungen von Gewebekulturen verschiedener Fruchtkörper

#### a) Stämme

1. B: Vielsporkultur mit weißem Hut, bereits oben angeführt.
2. 867: Einsporkultur mit variierender Hutfarbe von fast weiß bis fast blond, bereits oben angeführt.
3. 1051: Einsporkultur mit ähnlichen Eigenschaften wie 867, 1959 von uns isoliert. Über die Einsporkultur wurde schon 1962 von uns berichtet (FRITSCHE und v. SENGBUSCH, 1962).

#### b) Eigenschaften der Fruchtkörper

Die zu den Gewebekulturen benutzten Fruchtkörper unterschieden sich durch den Erntezeitpunkt (früh = 2.–9. Tag, spät = 56.–64. Tag) und durch ihre Größe (klein = 2–6 g und groß = 11–18 g).

#### c) Versuchsdurchführung

Die Gewebestücke wurden zunächst auf Weizen-Agar-Nährboden geimpft. Zum Spicken des Aktivmycels (HUHNKE und v. SENGBUSCH, 1959) wurde Körnerbrut bzw. bei Versuch 136 Mistbrut hergestellt.

Die Prüfungen wurden in oberirdisch gelegenen Spezialhäusern für Champignonkultur durchgeführt. Der Anbau erfolgte in Kisten von  $\frac{1}{2}$  qm Grundfläche (ca. 30 kg Substrat/Kiste). Eine kompostierte Mischung von  $\frac{1}{2}$  Pferdemist und  $\frac{1}{2}$  Stroh wurde als Substrat benutzt. Es wurde das Aktivmycel-Anbauverfahren angewendet (HUHNKE und v. SENGBUSCH, 1959).

Zunächst wurden nur Gewebekulturen der Vielsporkultur B untersucht. Die Prüfung wurde zweimal wiederholt. Jedes Versuchsglied wurde in 12 Wiederholungen (12 Kisten – 6 qm Erntefläche) kultiviert. In den ersten beiden Prüfungen wurden die Versuchsglieder nach dem Muster des Lateinischen Quadrates im Kulturräum verteilt. Geerntet wurde sieben Wochen lang. Aus arbeitstechnischen Gründen wurden nur von vier der 12 Wiederholungen die Pilze gezählt und damit Anzahl und Einzelgewicht bestimmt.

In einem weiteren Versuch wurden die Gewebekulturen früh und spät geernteter Fruchtkörper der Einsporkultur 867 und 1051 im Ertrag verglichen. Die Prüfung wurde einmal wiederholt. Jedes Versuchsglied wurde

beim ersten Mal in 10 Kisten (= 5 qm) und bei der Wiederholung in 7 Kisten (= 3,5 qm Erntefläche) angebaut.

Geerntet wurde sieben Wochen lang.

### C. Ergebnisse

#### I. Ergebnisse der Prüfung des Einflusses von Nährboden und Stückgröße auf das Mycelwachstum

Während sich der Einfluß des Nährbodens auf das Mycelwachstum des Gewebestückes als außerordentlich groß erwies, war eine Beeinflussung durch die Größe des Gewebestückes nicht festzustellen. Allerdings ist die Infektionsgefahr bei Verwendung sehr großer Stücke erhöht. Bei den Schalen mit den größten Gewebestücken hatten wir fast doppelt so viel Ausfälle wie bei den Schalen mit den kleinsten Gewebestücken.

In Abb. 1 sind die Ergebnisse der Wachstumsteste graphisch dargestellt. Durch die Höhe der Säulen wird der Durchmesser der in Petrischalen herangezogenen Mycelkulturen veranschaulicht. Die obere Säulenreihe bezieht sich auf Messungen in den Originalschalen, d. h. den Schalen, die das Gewebestück enthielten. Die Säulen der unteren Reihe zeigen die Wachsschnelligkeit der von den Originalschalen abgeimpften Kulturen an.

Die vier Stückgrößen wurden jeweils mit dem durch Teilung vermehrten Mycel desselben Stammes verglichen (Std.). Für jeden der drei Nährböden wurde ein anderes Säulenmuster gewählt.

Die Zeichnung zeigt, daß das Mycelwachstum nicht von der Größe des Gewebestückes abhängig ist. Die Höhe der Säulen schwankt zwar, jedoch nicht systematisch in Richtung großes oder kleines Gewebestück. Die erste der drei nebeneinander gezeichneten Säulen (schwarz) ist jedoch immer höher als die beiden anderen, was besagt, daß die Kulturen auf Kompost-Agar in allen Fällen schneller wuchsen als auf den beiden anderen Nährböden.

Der Unterschied zwischen den Nährböden ist bei 1206 in allen Fällen sehr groß. Bei 4385 ist er nur in den Schalen, die direkt mit dem Gewebestück beimpft wurden, genausogroß wie bei 1206, während er in den Schalen der Abimpfungen nur noch gering ist. In der parallel zu den Originalschalen beimpften Kontrolle (Std.) mit durch Teilung vermehrtem Mycel ist der Unterschied zwischen dem auf Kompost-Agar und dem auf den beiden anderen Nährböden wachsenden Mycel bei 4385 ebenfalls nur gering.

Auf Weizen-Agar ist das Mycel bis auf Ausnahmen etwas schneller gewachsen als auf Biomalz-Agar.

Das Aussehen des Mycels veranschaulicht Abb. 2.

Sie zeigt die Schalen der 1. Abimpfung von Gewebekulturen des kleinsten Stückes. Neben den Umimpfungen auf gleichen Nährboden werden auch Umimpfungen auf einen anderen Nährboden gezeigt. Wie die Aufnahme veranschaulicht, wächst das Mycel entsprechend des augenblicklichen Nährstoffangebotes. Ein von Biomalz-Agar abgeimpftes Mycelstück wächst z. B. auf Kompost-Agar genausogut wie das Mycelstück, das von Kompost-Agar kommt. Allerdings wird der Einfluß des Nährbodens auf das Mycelwachstum nur bei 1206 deutlich. Bei 4385 ist der Myceldurchmesser der Kulturen auf allen Nähr-

böden fast gleich. Auf Kompost-Agar wächst 4385 langsamer als 1206, auf den anderen beiden Nährböden dagegen schneller.

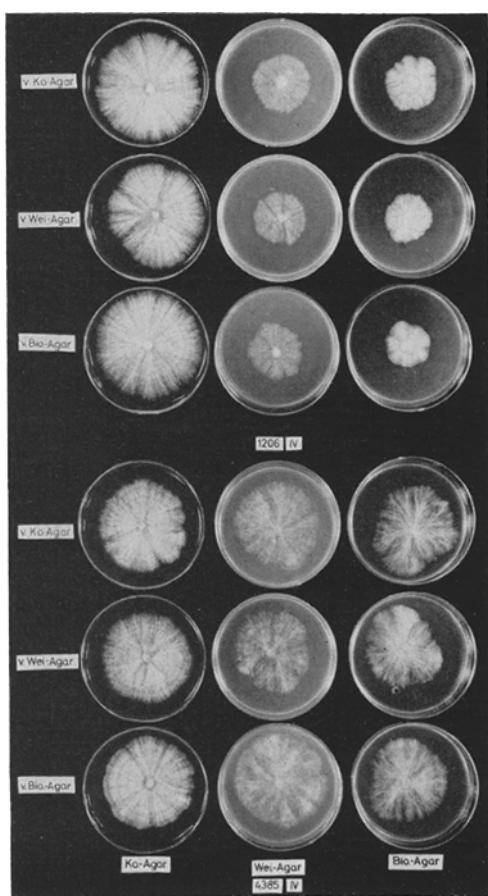


Abb. 2. Verhalten des Mycels von Gewebekulturen zweier Einsporkulturen bei Kultur auf verschiedenen Nährböden. Das Mycel war von Nährboden, auf den das Gewebestück übertragen wurde, abgeimpft worden. — Ko-Agar = Kompost-Agar; Wei-Agar = Weizen-Agar; Bio-Agar = Biomalz-Agar; 1206 IV = kleines Gewebestück der Einsporkultur 1206; 4385 IV = kleines Gewebestück der Einsporkultur 4385; v. = von dem entsprechenden Nährboden abgeimpft.

## II. Ergebnisse der Wachstumsteste mit Gewebekulturen verschiedener Fruchtkörper

Von den insgesamt 20 Gewebekulturen (4 je Stamm) wich eine im Mycelwachstum erheblich von der stammcharakteristischen Wuchsschnelligkeit ab. Es handelte sich um eine Gewebekultur der Einsporkultur 867, die einen Myceldurchmesser von 56 mm hatte gegenüber 72, 75 und 77 mm bei den Gewebekulturen aus den anderen Fruchtkörpern und 71 mm bei dem durch Teilung vermehrten Mycel.

Ein Unterschied im Wachstum der vom Hut stammenden und der aus dem Stiel geschnittenen Stücke war jedoch auch bei dieser langsam wachsenden Gewebekultur nicht festzustellen, wie es für die Mycelentwicklung auch gleichgültig war, ob die Hyphen von der Nähe des Gewebestückes abgeimpft worden waren oder weit ab von diesem. Das langsamere Mycelwachstum eines nahe am Gewebestück gelegenen Mycels einer Gewebekultur der Vielsporkultur Hu normalisierte sich in der weiteren Kultur.

Bei dem schlecht wachsenden Mycel von 867 handelte es sich um eine Gewebekultur aus einem frühen kleinen Fruchtkörper.

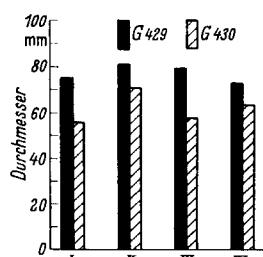


Abb. 3. Zwei Gewebekulturen der Einsporkultur 867 mit unterschiedlicher Wachstumsrate. — Ordinaten-Werte: Myceldurchmesser in mm.  $\bar{x}$  von 5 Schalen bei der I., zu Schalen bei der II. bis IV. Wiederholung. — Abszissen-Werte: einzelne Versuche (IV Wiederholungen).

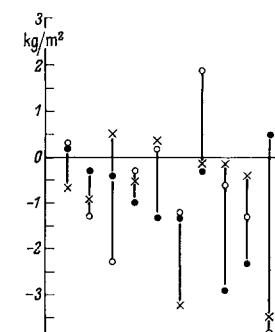
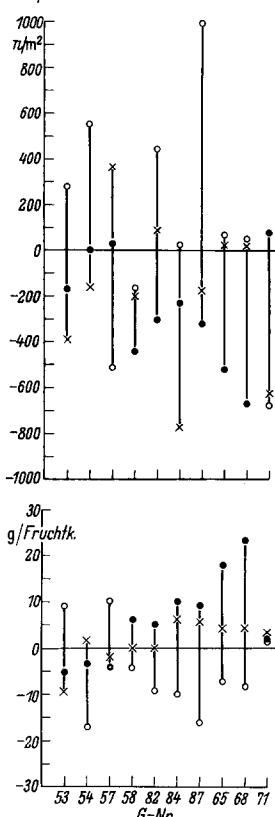


Abb. 4. Verhalten der Gewebekulturen der Vielsporkultur B gegenüber dem durch Teilung vermehrten Mycel hinsichtlich Ertrag (oben), Fruchtkörperzahl (Mitte) und -gewicht (unten). — Ordinaten-Werte: positive bzw. negative Abweichungen von der Leistung des durch Teilung vermehrten Mycels (Abszissen). — ○: Werte von Versuch 50; ✕: Werte von Versuch 64; ●: Werte von Versuch 136.



In Parallele mit einer dem normalen Wachstum entsprechenden Gewebekultur wurde das Mycelwachstum in drei weiteren Versuchen geprüft. In Abb. 3 ist das Ergebnis graphisch dargestellt. Die schwarzen Säulen veranschaulichen die Meßwerte der normalwachsenden Gewebekultur (G 429), die gestreiften Säulen diejenigen der langsam wachsenden Gewebekultur (G 430). Durch die Höhe der Säulen wird der  $\bar{x}$  des Durchmessers der Mycelkulturen in mm angegeben.

In allen vier Wiederholungen ist die schwarze Säule länger als die gestreifte. Die Abweichung im Mycelwachstum wurde also in allen Fällen bestätigt.

## III. Ergebnisse der Ertragsprüfungen von Gewebekulturen verschiedener Fruchtkörper

Die Ergebnisse der mit der Vielsporkultur B durchgeföhrten Prüfungen wurden in Abb. 4 graphisch dargestellt. Es wurden die Abweichungen vom Standard, d. h. von der Leistung des durch Teilung vermehrten Mycels eingezeichnet. Für jede der drei Prüfungen wurde ein anderes Zeichen verwendet und die drei Zeichen durch einen Strich miteinander verbunden.

Tabelle 1. Übersicht über Ertrag, Pilzanzahl und Pilzgewicht des Gewebekulturrversuches mit der Vielstorkultur. B. Ergebnisse von 3 Prüfungen nach jeweils 7 Erntewochen.

Gr-Nr.	Fruchtkörper Größe	Ertrag in kg/m <sup>2</sup>			Anzahl/m <sup>2</sup>			Vers. 50			Vers. 64			Vers. 136			Vers. 136			Vers. 64			Vers. 136					
		Vers. 50	Diff. z. St.	kg/m <sup>2</sup>	S	kg/m <sup>2</sup>	Diff. z. St.	S	kg/m <sup>2</sup>	Diff. z. St.	S	n/m <sup>2</sup>	Diff. z. St.	S	n/m <sup>2</sup>	Diff. z. St.	S	n/m <sup>2</sup>	Diff. z. St.	S	g/Pilz	Diff. z. St.	S	g/Pilz	Diff. z. St.	S		
53	Standard	7,4		8,6		7,5		7,7	+0,2	-	1333	+285	-	1876	+392	-	1196	+171	-	5,4	-0,9	-	4,7	+0,9	+	6,5	-0,5	-
53	früh klein	7,7	+0,3	-	7,9	-0,7	-	7,7	+0,2	-	1618	+285	-	1484	-392	-	1025	-171	-	4,5	-0,9	-	5,6	+0,9	+	6,0	-0,5	-
54	früh groß	6,1	-1,3	0	7,7	-0,9	0	7,2	-0,3	-	1888	+554	-	1711	-165	-	1197	+1	-	3,7	-1,7	00	4,8	+0,1	+	6,2	-0,3	-
57	mittel mittel	5,1	-2,3	000	9,1	+0,5	-	7,1	-0,4	-	2237	+361	-	1227	+31	-	6,5	+1,1	+	4,5	-0,4	-	4,6	+0,6	+	6,1	-0,4	-
58	mittel groß	7,1	-0,3	-	8,1	-0,5	-	6,5	-1,0	000	1169	-164	-	1675	-201	-	757	-439	00	5,0	-0,4	-	4,6	+0,8	-	7,1	+0,5	-
82	spät spät	7,6	+0,2	-	8,9	+0,3	-	6,2	-1,3	000	1773	+440	-	1964	+88	-	892	-304	0	4,6	-0,8	-	4,6	+0,8	+	7,0	+0,5	-
84	spät klein	6,2	-1,2	-	5,4	-3,2	000	6,5	-1,3	000	1356	+23	-	1100	-776	000	963	-233	-	4,4	-1,0	0	5,4	+0,6	+	7,5	+1,0	-
87	spät spät	9,3	+1,9	+	8,5	-0,1	-	7,2	-0,3	-	2350	+1017	+	1696	-180	-	876	-320	0	3,8	-1,6	00	5,3	+0,6	+	7,4	+1,8	+
65	spät mittel	6,8	-0,6	-	8,5	-0,1	-	7,6	-2,9	000	1480	+167	-	1892	+16	-	679	-517	000	4,7	-0,7	-	5,1	+0,4	-	8,3	+2,4	+
68	spät spät	6,1	-1,3	0	8,2	-0,4	-	5,3	-2,3	000	1378	+45	-	1892	+16	-	525	-671	000	4,6	-0,8	-	5,1	+0,4	-	8,9	+2,4	+
71	spät mittel	3,6	-3,8	000	5,1	-3,5	000	8,0	+0,5	-	655	-678	0	1142	-734	00	1273	+77	-	5,6	+0,2	-	6,7	+0,3	-	5,0	+0,2	-

X von 12 Wiederholungen à 0,5 qm beim Ertrag, von 4 Wiederholungen bei Pilzanzahl und Pilzgewicht

G-Nr. = Nummer der Gewebekultur

St. = Standard (durch Teilung vermehrtes Mycel)

S = Sicherung der Differenz zwischen G-Nr. und Standard

unterlegen +  
unterlegen o  
unterlegen ++  
unterlegen oo  
unterlegen ooo

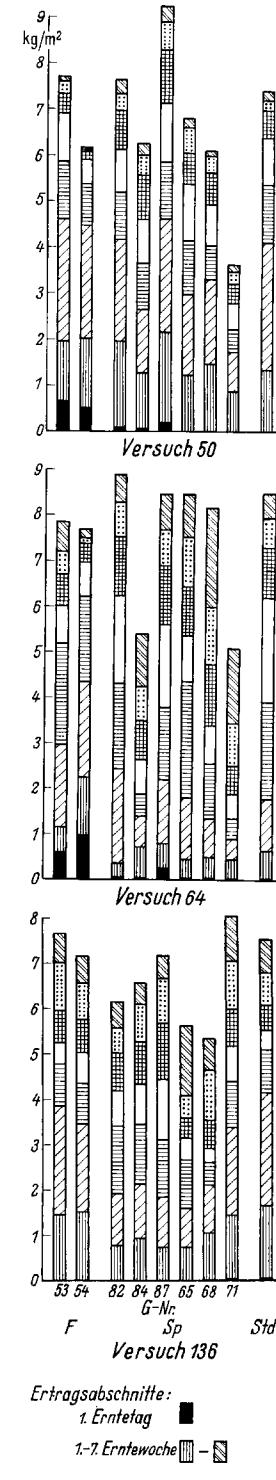
Abb. 5. Ernteverlauf der Gewebekulturen aus B. Erträge durch Säulen wiedergegeben, in denen von unten nach oben die Ernteperioden durch verschiedenartige Zeichnungen veranschaulicht wurden. — Obere Säulen: Versuch 50; mittlere Säulen: Versuch 64; untere Säulen: Versuch 136; F: Gewebekulturen von frühen Fruchtkörpern; Sp: Gewebekulturen von späten Fruchtkörpern; Std: Standard (durch Teilung vermehrtes Mycel).

Über die in kg/qm bzw. n/qm und g/Fruchtkörper ausgedrückten Einzelwerte gibt Tabelle 1 Auskunft. In dieser Tabelle ist auch verzeichnet, ob die Abweichungen vom Standard statistisch gesichert sind.

Die Abweichungen vom Standard im Ertrag (kg/qm) wurden im obersten Koordinatensystem der Abb. 4 eingetragen. Die Zeichnung veranschaulicht, daß fünf der zehn Gewebekulturen, also die Hälfte aller Kulturen, in allen drei Prüfungen unter dem Standard lagen, während keine einzige Gewebekultur in allen drei Prüfungen über dem Standard war. Nur in einer Prüfung wurde ein um mehr als 0,5 kg/qm vom Standard abweichender höherer Ertrag erzielt. Es ist dies der einzige gesichert bessere Ertragswert, der erreicht wurde, wie aus Tabelle 1 zu entnehmen ist. Eine Sicherung der negativen Differenz wurde dagegen zwölfmal festgestellt, jedoch war keine Gewebekultur in allen drei Versuchen gesichert schlechter als der Standard. Vier der zehn Gewebekulturen lagen in zwei der drei Prüfungen gesichert unter dem Standard.

Hinsichtlich der Fruchtkörperanzahl (n/qm) schwanken die Werte weit um den Standard (Abb. 4 mittleres Koordinatensystem). Nur G 58 hat in allen Prüfungen weniger Fruchtkörper gebracht als der Standard, jedoch ist die Abweichung nur in einer Prüfung statistisch gesichert (Tab. 1). Keine der Gewebekulturen brachte in allen Prüfungen mehr Fruchtkörper als der Standard.

Auch hinsichtlich des durchschnittlichen Gewichtes der einzelnen Fruchtkörper schwanken die Werte um den Standard (Abb. 4 unteres Koordinatensystem). Nur G 71 hat in allen Untersuchungen schwerer Fruchtkörper als der Standard. Die Abweichungen sind jedoch gering und nicht statistisch gesichert.



Ein Einfluß des Gewichtes des Fruchtkörpers, aus dem die Gewebekultur geschnitten wurde, auf das Gewicht der daraus hervorgehenden Pilze konnte nicht festgestellt werden. G 53, 84 und 87 lieferten keine leichteren Fruchtkörper als G 54 und 82 (Abb. 4, unten).

Den Ertragsverlauf der Gewebekulturen von B veranschaulicht die graphische Darstellung in Abb. 5. Es wurden, um einen eventuellen Einfluß des Erntetermins des zur Gewebekultur verwendeten Fruchtkörpers auf den Ertragsverlauf besser studieren zu können, nur die Gewebekulturen der frühen und späten Fruchtkörper einander gegenübergestellt. Zum Vergleich wurde noch die Leistung des durch Teilung vermehrten Mycels in die Darstellung aufgenommen. Der Ertrag wurde durch Säulen veranschaulicht, die durch verschiedenartige Ausfüllungen in die Ernteperioden unterteilt wurden. Als Ertragsabschnitte wurden die Ernte nach dem 1. Tag sowie nach der 1.-7. Woche gewählt.

Die Ergebnisse der drei Prüfungen wurden untereinander gezeichnet, von oben nach unten folgend Versuch 50, 64 und 136.

Nach dem ersten Tag (schwarzer Abschnitt) haben die beiden frühen Gewebekulturen in Versuch 50 (oben) einen deutlich höheren Ertrag gebracht als die sechs späten und der Standard. Auch in Versuch 64 (Mitte) ist der Unterschied unübersehbar, während in Versuch 136 am ersten Erntetag nur der Standard und die späte Gewebekultur G 71 schon einige Fruchtkörper gebracht haben. G 71 hat in Vers. 136 insgesamt den höchsten Ertrag und verhält sich damit genau umgekehrt wie in den beiden vorangegangenen Prüfungen. Ein Blick auf das Erntergebnis in Versuch 136 nach einer Woche (längsgestreifter Abschnitt) zeigt den nach den vorhergehenden Prüfungen erwarteten Vorsprung der frühen Gewebekulturen vor den späten. Auch in Versuch 64 ist dieser Vorsprung nach einer Woche noch deutlich erkennbar, während in Versuch 50 zwei der sechs späten Gewebekulturen die frühen G-Nr. im Ertrag nach einer Woche eingeholt bzw. überholt haben. In Versuch 64 übertrifft erst nach vier Erntewochen (weißer Abschnitt) eine der späten Gewebekulturen eine der beiden frühen im Ertrag. Nach fünf Wochen (karierter Abschnitt) sind es zwei und nach sechs Wochen (gepunkteter Abschnitt) drei. Am Ende der Ernte liegen schließlich vier der sechs späten Gewebekulturen in Versuch 64 höher im Ertrag als die frühen.

In Versuch 136 bleiben bis einschließlich fünfter Erntewoche fünf der sechs späten Gewebekulturen unter den frühen. Erst dann überholt eine zweite der späten Gewebekulturen eine der beiden frühen. Alle anderen späten Gewebekulturen bleiben bis zum Ende der Ernteperiode im Ertrag unter den frühen Gewebekulturen.

Die Ergebnisse des Gewebekulturversuches mit B deuten darauf hin, daß Gewebekulturen, die von Pilzen der ersten Erntewelle gemacht werden, einen höheren Ertrag in den ersten Erntetagen liefern können als von Fruchtkörpern der letzten Erntetage geschnittene Gewebekulturen. Um diese An-

nahme erneut zu prüfen, wurden von weiteren Stämmen Gewebekulturen aus frühen und späten Pilzen in ihrem Ertragsverlauf verglichen. Es wurden die beiden Einsporkulturen 867 und 1051 für diese Versuche gewählt.

Abb. 6 zeigt die Abweichungen der Gewebekulturen vom jeweiligen Standard (durch Teilung vermehrtem Mycel) im Gesamtertrag. Jeweils zwei nebeneinander gezeichnete Gewebekulturen wurden aus demselben Fruchtkörper geschnitten. Wie in Abb. 4 wurden auch hier die Ergebnisse der verschie-

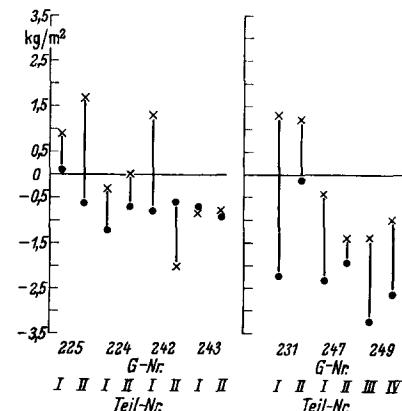


Abb. 6. Verhalten der Gewebekulturen der Einsporkulturen 867 und 1051 gegenüber dem durch Teilung vermehrten Mycel hinsichtlich des Ertrages. — Ordinatenwerte: positive bzw. negative Abweichungen von der Leistung des durch Teilung vermehrten Mycels (Abszisse). — x: Werte von Versuch 112; ●: Werte von Versuch 121.

denen Prüfungen (in diesem Falle nur zwei) durch unterschiedliche Zeichen markiert, die durch einen Strich miteinander verbunden wurden.

Auch in diesem Versuch liegen wie im vorigen im Ertrag mehr Gewebekulturen unter dem Standard als darüber. 8 von insgesamt 14 Gewebekulturen brachten in beiden Prüfungen einen geringeren Ertrag als der Standard. Das sind wie bei dem Versuch mit B etwa die Hälfte aller Gewebekulturen. Und wieder

Tabelle 2. Übersicht über den Ertrag der Gewebekulturen von frühen und späten Fruchtkörpern der Einsporkulturen 867 und 1051. Ergebnisse von zwei Prüfungen nach jeweils sieben Erntewochen

G-Nr.	Sorte	Fruchtk. Ernte	Versuch 112			Versuch 121		
			kg/m²	Diff. z. St.	S	kg/m²	Diff. z. St.	S
—	867	Standard	12,7			10,9		
225'	867	früh	13,6	+ 0,9	—	11,0	+ 0,1	—
225''	867	früh	14,4	+ 1,7	++	10,3	- 0,6	—
224'	867	früh	12,4	- 0,3	—	9,7	- 1,2	—
224''	867	früh	12,7	± 0,0	—	10,2	- 0,7	—
242'	867	spät	14,0	+ 1,3	+	10,1	- 0,8	—
242''	867	spät	10,7	- 2,0	000	10,3	- 0,6	—
243'	867	spät	11,9	- 0,8	—	10,2	- 0,7	—
243''	867	spät	11,9	- 0,8	—	10,0	- 0,9	—
—	1051	Standard	11,4			11,4		
231'	1051	früh	12,7	+ 1,3	+++	9,2	- 2,2	000
231''	1051	früh	12,6	+ 1,2	++	11,3	- 0,1	—
247'	1051	spät	11,0	- 0,4	—	9,1	- 2,3	000
247''	1051	spät	10,0	- 1,4	000	9,5	- 1,9	000
249'''	1051	spät	10,0	- 1,4	000	8,2	- 3,2	000
249 <sup>IV</sup>	1051	spät	10,4	- 1,0	00	8,8	- 2,6	000

x von 10 Wiederholungen à 0,5 qm in Versuch 112 und  
7 Wiederholungen à 0,5 qm in Versuch 121.

G-Nr. = Nummer der Gewebekultur

St = Standard (durch Teilung vermehrtes Mycel)

S = Sicherung der Differenz zwischen G-Nr. und Standard

G-Nr. dem Standard mit P < 5% gesichert      überlegen +      unterlegen o  
P < 1% gut gesichert      überlegen ++      unterlegen oo  
P < 0,1% sehr gut gesichert      überlegen +++      unterlegen ooo  
Differenz nicht gesichert      —

ist keine Gewebekultur in beiden Prüfungen besser als der Standard, es sei denn, man rechnet G 225' dazu, die in der ersten Prüfung deutlich, in der zweiten Prüfung aber nur mit 0,1 kg/qm über dem Standard lag.

In Tabelle 2 wurden die einzelnen Erträge und die statistischen Sicherungen gegenüber dem Standard aufgeführt. In 9 Fällen wurden gesichert niedrigere Erträge erzielt, davon dreimal in beiden Prüfungen. Gesichert höhere Erträge wurden nur in 4 Fällen erzielt, und zwar niemals in beiden Untersuchungen.

Der in Abb. 6 aufgeführte Gewebekulturversuch unterscheidet sich von dem der Abb. 4 dadurch, daß nicht ein, sondern zwei Gewebestücke aus einem Fruchtkörper geschnitten wurden. Immer zwei in Abb. 6 nebeneinander gezeichnete Gewebekulturen

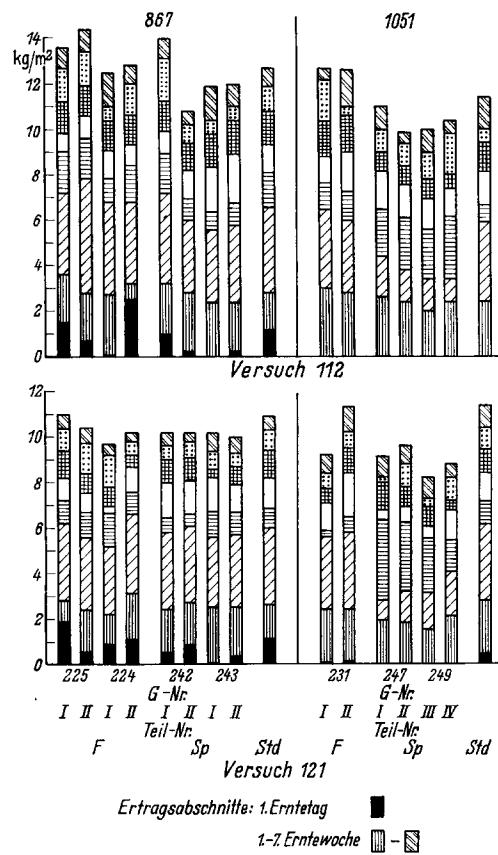


Abb. 7. Erntezeitverlauf der Gewebekulturen aus 867 und 1051. Erträge durch Säulen wiedergegeben, in denen von unten nach oben die Ernteperioden durch verschiedenartige Zeichnungen veranschaulicht wurden. Obere Säulen = Versuch 112; untere Säulen = Versuch 121; F = Gewebekulturen von frühen Fruchtkörpern; Sp = Gewebekulturen von späten Fruchtkörpern; Std = Standard (durch Teilung vermehrtes Mycel).

gehören zu einem Fruchtkörper. Trotz der großen Schwankungen der Werte ist ein ähnliches Verhalten der zu einem Fruchtkörper gehörenden Gewebestücke festzustellen. Der erste Fruchtkörper von links in Abb. 6 (Einsp. 867) lieferte ertragreichere Gewebekulturen als der zweite und vierte, während der dritte sehr schwankt. Der fünfte Fruchtkörper von links (Einsp. 1051) lieferte wiederum bessere Gewebekulturen als der sechste und siebente. Der erste, zweite und fünfte Fruchtkörper stammen von einem frühen Erntetermin, die anderen Fruchtkörper von einem späteren.

Der Ertragsverlauf wurde wie beim Versuch mit B durch Säulen veranschaulicht, die durch verschiedenartige Ausfüllungen in die Ernteperioden unterteilt

wurden (Abb. 7). Als Ertragsabschnitte wurden wieder die Ernte nach dem 1. Tag sowie nach der 1.-7. Woche gewählt. Die Ergebnisse der beiden Prüfungen wurden untereinander gezeichnet, oben Versuch 112, darunter Versuch 121.

Bei 867 sind zwar in beiden Prüfungen von den frühen Gewebekulturen am 1. Erntetag mehr Fruchtkörper geerntet worden als von den späten, doch ist das Bild uneinheitlich (Abb. 7). Auch unter den späten Gewebekulturen gibt es einzelne mit relativ hohem Ertrag nach einem Tag, während umgekehrt von einer frühen Gewebekultur am 1. Erntetag fast nichts geerntet wurde. Nach einer Erntewoche sieht man praktisch keinen Unterschied mehr, der mit dem Erntetermin des Gewebekultur-Fruchtkörpers in Zusammenhang zu bringen ist.

Bei 1051 besteht ein deutlicher Unterschied im Ertragsverlauf zwischen den Gewebekulturen des früh geernteten Fruchtkörpers einerseits und denjenigen der beiden spät geernteten Fruchtkörper andererseits.

Am 1. Erntetag wurde lediglich in Versuch 121 eine Ernte von den frühen Gewebekulturen erzielt, allerdings eine geringe. Nach einer Woche haben die frühen Gewebekulturen einen geringen Ertragsvorsprung vor den späten, der nach zwei Wochen erheblich ist. In der dritten Erntewoche holen die späten Gewebekulturen relativ weit auf, sie können aber bis zu Ertragsende die frühen Gewebekulturen nicht einholen. Eine Ausnahme bildet in Versuch 121 Teil I der frühen Gewebekultur, der im Endertrag nicht mehr über allen späten Gewebekulturen liegt.

#### D. Erklärung und Diskussion der Ergebnisse

Auf den Champignon-Kulturbetten kann man, 10 Tage nachdem sie mit einer ca. 3 cm hohen Erdschicht bedeckt wurden, ein feines Gespinst wahrnehmen. Die feinen Fäden entwickeln sich zu Strängen, die Stränge an verschiedenen Stellen zu Knötchen, die schließlich zum Fruchtkörper heranwachsen. Bei entsprechender Vergrößerung ist zu sehen, daß die Knötchen aus sehr vielen Hyphen bestehen. Ob diese aus einer oder mehreren Zellen hervorgegangen sind, ist unbekannt (LAMBERT, 1959). Fest steht, daß die Zellen heterocaryotisch sind und eine unterschiedliche Zahl von Kernen besitzen (SARAZIN, 1955, EVANS, 1959). Die Zahl der Kerne je Zelle nimmt in Richtung Hymenium allmählich von durchschnittlich 6-7 auf 2 ab. Die Basidie enthält nur noch 2 Kerne.

Die aus einem Fruchtkörper geschnittenen Gewebestücke wuchsen unabhängig von ihrer Größe etwa gleich schnell. Der Versuch mit unterschiedlich großen Plektenchymstücken war angelegt worden, um die Wirkung eventuell vorhandener toxischer Stoffe des Fruchtkörperstückes auf das Mycelwachstum zu erkennen. Größere Stücke müßten mehr von diesem Stoff enthalten als kleine und deshalb schlechter wachsen. Das war aber im vorliegenden Versuch nicht der Fall. Das oft zu beobachtende schlechtere Aussehen (dünner Belag) des in unmittelbarer Nähe des Gewebestückes liegenden Mycels gegenüber dem weiter entfernten (fädig) verschwand, wenn man das Mycel umimpfte. Die Mycete wuchsen gleich schnell, unabhängig davon, ob sie aus unmittelbarer

Nähe des Plektenchymstückes abgeimpft worden waren oder aus relativ weiter Entfernung von diesem.

Der Einfluß des Nährbodens auf das Mycelwachstum war erheblich. In den Schalen, die das Gewebestück enthielten, war bei beiden Stämmen das Wachstum auf Kompost-Agar sehr viel schneller als auf Weizen- und Biomalz-Agar. Nach Abimpfungen glich sich der Unterschied bei der Einsporkultur 4385 fast aus, während er bei der Einsporkultur 1206 bestehen blieb. Derselbe Einfluß des Nährbodens auf das Mycelwachstum war auch in unserem ersten Beitrag zu den Fragen der Erhaltungszüchtung beobachtet worden (FRITSCHE, 1966). Es war mit denselben Nährböden wie in der vorliegenden Veröffentlichung gearbeitet worden.

Das Mycel kann sich entsprechend dem Nährstoffangebot entwickeln. Auf dem nährstoffreichen Kompost-Agar ist deshalb das Wachstum am besten. Bei der Umstellung des Mycels von der generativen Phase (Stück des Plektenchym) auf die vegetative (Wachsen auf einem Agar-Nährboden) ist bei beiden Stämmen ein großer Nährbodeneinfluß zu erkennen. Vielleicht ist das Mycelwachstum auf Kompost-Agar auch deshalb so gut, weil dieser Nährboden dem Kompost des Kulturbeetes am ähnlichsten ist. Später entwickelt sich das Mycel von 4385 auch auf den anderen Nährböden verhältnismäßig gut, während 1206 im gleichen Maße wie bei der frischen Gewebekultur durch die Nährböden beeinflußt bleibt. Die Ergebnisse zeigen, daß Champignonstämme sehr unterschiedlich auf Nährstoffangebote reagieren können.

Das anfangs auf Biomalz- bzw. Weizen-Agar gezogene Mycel wuchs auf Kompost-Agar umgeimpft genau so schnell wie das gleich auf Kompost-Agar kultivierte Mycel. Bei einer kurzen Kultur auf dem ungünstigeren Substrat war also auch bei 1206 noch kein nachhaltiger Einfluß auf die Wuchsfreudigkeit des Mycels festzustellen.

Ein Wachstumsvergleich von 20 Gewebekulturen verschiedener Herkunft zeigte in einem Falle ein Abweichen von der stammcharakteristischen Wuchsschnelligkeit. Diese langsamer als der Standard wachsende Gewebekultur bestätigte ihren langsameren Wuchs in vier Prüfungen. Das Mycel sah gesund aus, und es war kein Befall nachzuweisen [Bakterientest mit 0,3%iger Beef-Extraktlösung (L 30 von Oxoid)].

Dieses Beispiel zeigt, daß man bei Vermehrung über Gewebekulturen Gefahr läuft, vom Typ abweichendes Mycel zu erhalten.

Auf die gleiche Gefahr weisen die Ergebnisse der Ertragsprüfungen hin. Die Schwankungen der Einzelerträge waren hier allerdings groß. Jedoch lagen in beiden Versuchen etwa die Hälfte der Gewebekulturen in allen Prüfungen unter dem Standard, während kaum eine Gewebekultur immer darüber lag. Das Ergebnis stimmt mit der Feststellung von SARAZIN (1952) überein, daß das durch Gewebekultur vermehrte Mycel unsicher in seiner Leistung ist.

Wie läßt sich aber ein Abweichen der Gewebekulturen von der Ausgangssorte erklären?

Wie schon eingangs erwähnt, ist der Ausdruck „Gewebekultur“ beim Champignon angewendet botanisch falsch. Es handelt sich hier nicht um Gewebe, wie es bei höheren Pflanzen zu finden ist, sondern um

Plektenchym. Kulturen von Geweben entsprechen dem Ausgangstyp, da jede Zelle einen diploiden Kern gleicher genetischer Konstitution besitzt. Darum ist die vegetative Vermehrung bei höheren Pflanzen eine sichere Methode der Erhaltungszüchtung. Beim Champignon haben wir es jedoch nicht mit Gewebe, sondern mit Plektenchym zu tun, d. h. mit einer festen Verflechtung von Hyphen, die in den einzelnen Zellen eine unterschiedliche Anzahl haploider Kerne enthalten können. Es können genetisch verschiedene Kerne im unterschiedlichen Verhältnis vorhanden sein. Evtl. können außerdem noch genetisch verschiedene Hyphen zusammen einen Fruchtkörper aufbauen.

Diese Feststellungen erklären die Unsicherheit der Gewebekulturmethode. Sie wird um so unsicherer sein, je genetisch uneinheitlicher der Stamm ist, sich also für Vielsporkulturen noch weniger eignen als für Einsporkulturen. Die angeführten botanischen Zusammenhänge erklären jedoch nur die Unsicherheit, nicht ein Nachlassen der Leistung. Sowohl in den Versuchen mit der Vielsporkultur als auch in den Versuchen mit den Einsporkulturen zeigten aber im Durchschnitt die Gewebekulturen einen Ertragsabfall gegenüber dem durch Teilung vermehrten Mycel. Wie ist dieser Ertragsabfall zu erklären? Sind die Zellen, die den Fruchtkörper aufbauen, nicht so leistungsfähig hinsichtlich Fruchtkörperbildung wie die Zellen des vegetativen Mycels? Und falls es so ist, aus welchem Grunde?

In vor allem zwei Eigenschaften unterscheiden sich beide Mycete. Erstens enthalten die Zellen der Fruchtkörper weniger Kerne als die des vegetativen Mycels, vor allem in Nähe der Lamellen (SARAZIN, 1955). Zweitens dienen die Zellen der Fruchtkörper der generativen Fortpflanzung. Dies wirkt sich vielleicht nachteilig aus, wenn sie wieder zur Entwicklung vegetativen Mycels gezwungen werden. Als Parallele dazu könnte man die Totipotenz höherer Pflanzen anführen. Je differenzierter das Gewebe ist, um so mehr hat es von der Fähigkeit verloren, sich vollständig zu regenerieren (STRASBURGER, 1962). Alles das sind jedoch offene Fragen, um deren Beantwortung wir uns in späteren Versuchen bemühen wollen.

Bei den mit 20 Gewebekulturen durchgeführten Wachstums-Testen lag nur eine Gewebekultur in ihrer Wuchsleistung unter der Kontrolle. Es ist anzunehmen, daß bei genügend großem Material auch eine schneller als normal wachsende Gewebekultur hätte gefunden werden können.

Die Eigenschaft „Wachstumsgeschwindigkeit“ ist nach unseren bisherigen Erfahrungen mit größerer Sicherheit zu prüfen als die „Ertragsfähigkeit“. Schon LAMBERT (zitiert nach KINTZ, 1963), der 1934 als einer der ersten und wenigen Autoren exakte Anbauversuche durchführte, stellte fest, daß man normalerweise größere Unterschiede in den Champignonkulturbeeten findet als auf den Anbauflächen des Feldes. Der Grund hierfür dürfte sein, daß die Qualität eines Kompostes von der Art und Verteilung der Mikroflora und -fauna abhängt und dadurch naturgemäß großen Schwankungen unterliegt. Ein von Mikroorganismen unabhängiges Substrat zu entwickeln wurde aus diesem Grunde am Max-Planck-Institut für Kulturpflanzenzüchtung in Ham-

burg angestrebt. TILL (1961) ersetzte die Kompostierung durch Sterilisation eines aus Stroh und eiweißreichen Zusätzen bestehenden Gemisches.

Ein Einfluß des Gewichtes der zur Gewebekultur benutzten Fruchtkörper auf das Einzelpilzgewicht der Gewebekulturen war nicht festzustellen. Die Größe der Fruchtkörper kann beim Kulturchampignon durch viele Faktoren beeinflußt werden. Wachsen z. B. viele Fruchtkörper gleichzeitig heran, werden sie aus Gründen der Nahrungskonkurrenz kleiner als einzeln stehende Fruchtkörper. Ferner sind im trockenen Kulturbett die Fruchtkörper leichter als im feuchten (KINDT, 1965). Es ist schwer, die durch die Umwelt bedingten Abweichungen in der Größe der Fruchtkörper von den evtl. auftretenden genetisch bedingten Abweichungen zu unterscheiden.

Etwas aussichtsreicher erscheint es, durch Verwendung der frühen Fruchtkörper zur Gewebekultur neue Kulturen mit höheren Erträgen zu Erntebeginn zu gewinnen. Bei einem Genotypengemisch, wie es bei Vielsporkultur vorliegt, ist es denkbar, daß die Hyphen mit den Genen für frühen Ertrag zuerst Fruchtkörper bilden. Tatsächlich wurden bei den Versuchen mit der Vielsporkultur B von den Gewebekulturen der frühen Fruchtkörper höhere Ernten zu Ertragsbeginn erzielt als von den Gewebekulturen der späten Fruchtkörper. Ein ähnliches Ergebnis brachten die Versuche mit der Einsporkultur 1051, während bei der Einsporkultur 867 kein Einfluß des Erntetermins der zur Gewebekultur benutzten Fruchtkörper auf den Ernteverlauf festzustellen war.

Spontan entstehende neue Fruchtkörperarten können durch Gewebekultur vermehrt werden. Wir gewannen auf diese Weise einen neuen Typ von wirtschaftlicher Bedeutung (FRITSCHE u. v. SENGBUSCH 1963). Es handelt sich um klumpenartige Fruchtkörper ohne Stiel, Hut und Lamellen. Sie können bis 1100 g schwer werden und in Scheiben geschnitten als „vegetarisches Schnitzel“ gebraten bzw. in kleineren Exemplaren zu Suppenpulver vermahlt werden. Der anfangs sehr niedrige Gesamtertrag konnte durch weitere Gewebekulturen erheblich verbessert werden.

### Zusammenfassung

1. In der Arbeit wird die Frage untersucht, ob die sogenannte „Gewebekultur-Methode“ zur Vermehrung und Erhaltung von Champignonstämmen geeignet ist. Als „Gewebekultur“ wird in der Champignonzüchtung die Vermehrung des Plektenchyms bezeichnet. Unter sterilen Bedingungen werden Stücke aus dem Inneren der Fruchtkörper geschnitten und auf einen Agar-Nährboden geimpft. Dort bildet sich bald neues Mycel.

2. Ein Einfluß der Stückgröße auf das Mycelwachstum konnte nicht festgestellt werden.

3. Dagegen zeigte sich eine große Abhängigkeit des Mycelwachstums vom Nährboden. Alle Gewebestücke der beiden verwendeten Einsporkulturen wuchsen auf Kompost-Agar wesentlich schneller als auf Weizen- und Biomalz-Agar. Nach Abimpfung aus den mit dem Gewebestück belegten Schalen glich sich der Wuchsunterschied auf den drei Nährböden bei der einen Einsporkultur fast aus, während er bei der anderen bestehen blieb.

Die Ergebnisse zeigen, daß Champignonstämme sehr unterschiedlich auf Nährstoffangebote reagieren können und daß sie bei der Umstellung von der generativen auf die vegetative Phase besonders empfindlich gegenüber Nährstoffmangel sind. Anfänglich wegen schlechter Ernährung langsamer gewachsene Gewebekulturen entwickelten sich nach Überimpfung auf einen nährstoffreicherem Nährboden genau so schnell wie gleich auf diesem Nährboden kultivierte Gewebekulturen.

4. Wachstumsteste wurden mit Gewebestücken aus unterschiedlich schweren und zu verschiedenen Terminen geernteten Fruchtkörpern zweier Viel- und dreier Einsporkulturen durchgeführt. Die Plektenchymstücke wurden aus Hut und Stiel geschnitten. Eine von 20 Gewebekulturen entsprach im Wuchs nicht dem Ausgangsstamm. Diese von einer Einsporkultur gewonnene Gewebekultur spann in vier hintereinander durchgeführten Prüfungen langsamer als normal. Eine Infektion der Gewebekultur war nicht nachzuweisen. Das nahe am Gewebestück liegende, oft belagartig aussehende Mycel aller Stämme wuchs nach Übertragung auf frischen Nährboden genau so schnell wie das Mycel, das weit entfernt vom Gewebestück abgeimpft wurde und von Anfang an fädig war.

5. Ertragsprüfungen wurden mit Gewebekulturen aus großen und kleinen sowie zu Ertragsbeginn und zu Ertragsende geernteten Fruchtkörpern einer Vielsporkultur durchgeführt. Die Hälfte der Gewebekulturen lag in allen drei Prüfungen im Ertrag unter dem durch Teilung vermehrten Mycel, während keine Gewebekultur immer darüber lag. Eine statistische Sicherung der negativen Abweichung war allerdings in keinem Falle in allen Untersuchungen möglich, jedoch bei vier der zehn Gewebekulturen in zwei der drei Prüfungen.

6. Ein Einfluß des Gewichtes des zur Gewebekultur benutzten Fruchtkörpers auf das durchschnittliche Gewicht der Fruchtkörper der Gewebekultur konnte nicht festgestellt werden. Da die Fruchtkörpergröße stark durch Umweltbedingungen beeinflußt wird, ist es schwer, evtl. auftretende genetisch bedingt vom normalen Gewicht abweichende Fruchtkörper zu finden.

7. Ein Einfluß des Erntezeitpunktes der für die Gewebekultur benutzten Fruchtkörper auf den Ernteverlauf der Gewebekultur war zu erkennen. Die früh geernteten Fruchtkörper ergaben Gewebekulturen mit höherem Anfangsertrag als die spät gewonnenen Fruchtkörper. Das Ergebnis läßt vermuten, daß von dem Genotypengemisch der Vielsporkultur B die Hyphen mit den Genen für frühen Ertrag die ersten Fruchtkörper lieferten.

8. Ertragsprüfungen wurden auch von Gewebekulturen früher und später Fruchtkörper zweier Einsporkulturen durchgeführt. Wieder lag fast die Hälfte der Gewebekulturen in beiden Prüfungen im Ertrag unter dem Standard und nur eine Gewebekultur in beiden Prüfungen darüber.

9. Bei einer der beiden Einsporkulturen brachten die Gewebekulturen aus dem frühen Fruchtkörper einen höheren Ertrag ab z. Erntewoche als die Gewebekulturen der spät geernteten Fruchtkörper. Bei der anderen Einsporkultur war kein Zusammenhang zwischen Erntezeitpunkt der zur Gewebekultur

verwendeten Fruchtkörper und Ertragsverlauf der daraus hervorgehenden Kulturen zu erkennen.

10. Durch Vermehrung eines spontan aufgetretenen Fruchtkörpers neuer Form über Gewebekulturen konnte in früheren Versuchen ein Stamm mit neuer wirtschaftlich zu nutzender Fruchtkörperform gewonnen werden. Der anfänglich sehr niedrige Gesamtertrag konnte durch weitere Gewebekulturen erheblich verbessert werden.

11. Nach den hier erzielten Versuchsergebnissen ist eine Erhaltung der Stämme durch Vermehrung über Gewebekulturen nicht zu empfehlen. Das Verfahren birgt Unsicherheiten, da es sich nicht um die Vermehrung von Gewebe, also von Zellen, die je einen diploiden Kern enthalten, handelt, sondern um Vermehrung von Plektenchym. Das Plektenchym stellt jedoch eine Verflechtung von Hyphen dar, die in ihren Zellen eine unterschiedliche Anzahl haploider und in vielen Fällen genetisch verschiedener Kerne enthalten.

Für die gute Assistenz bei der Durchführung der Versuche möchte ich Frau VON HOLST herzlich danken.

#### Literatur

1. EGER, GERLIND: Persönliche Mitteilung. — 2. EVANS, H. J.: Nuclear behaviour in the cultivated mushroom. Chromosoma (Berl.) **10**, 115—135 (1959). — 3. FRITSCHE, G., und R. v. SENGBUSCH: Die züchterische Bearbeitung

des Kulturchampignons (*Psalliota bispora* Lge.). Probleme und erste eigene Ergebnisse. Der Züchter **32**, 189—199 (1962). — 4. FRITSCHE, G., und R. v. SENGBUSCH: Beispiel der spontanen Entwicklung neuer Fruchtkörperarten beim Kulturchampignon. Der Züchter **33**, 270—274 (1963). — 5. FRITSCHE, GERDA: Versuche zur Frage der Merkmalsübertragung beim Kulturchampignon *Agaricus (Psalliota) bisporus* (Lge.) Sing. Der Züchter **34**, 76—93 (1964). — 6. FRITSCHE, GERDA: Versuche zur Frage der Erhaltungszüchtung beim Kulturchampignon. I. Vermehrung durch Teilung des Mycels. Der Züchter **36**, 66—79 (1966). — 7. HUHNKE, W., und R. v. SENGBUSCH: Aktivmycelspickung von Champignonkulturen. Die Deutsche Gartenbauwirtschaft **7**, 238—239 (1959). — 8. KINTD, V.: Ein Beitrag zur Problematik exakter Anbauversuche bei der Champignonkultur. Archiv für Gartenbau **2**, 135—150 (1963). — 9. KINTD, V.: Über den Einfluß der Bewässerungsmaßnahmen auf die Ertragsbildung im Champignonanbau. Archiv für Gartenbau **13/4**, 313—328 (1965). — 10. KLIGMAN, A. M.: Some cultural and genetic problems in the cultivation of the mushroom „*Agaricus campestris*“. American Journal of Botany **30**, 745—762 (1943). — 11. LAMBERT, E. B.: Improving Spawn Cultures of Cultivated Mushrooms. Mushroom Science **IV**, 33—51 (1959). — 12. SARAZIN, A.: The cultivated mushroom. 5. Germination of spores and development of mycelium. MGA Bull. **33**, 281—285 (1952). — 13. SARAZIN, A.: The cultivated mushroom. Übersetzung aus dem Französischen von Dr. C. J./Sa Touche (1955). — 14. STRASBURGER, E.: Lehrbuch der Botanik. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag 1962. — 15. TILL, O.: Champignonkultur auf sterilisiertem Nährsubstrat. Die Deutsche Gartenbauwirtschaft **9**, 215—216 (1961).

## Über Konstitution und Erbgang eines neuen Delphinidinelycosids „Floridorin“ aus der Garteniris-Sorte cv. ‘Floridor’ (Cayeux 1929)

(Studien über Anthozyane LI.)

PETER WERCKMEISTER, KÔZÔ HAYASHI und YOSHIKAZU YASAKI

Institut für Botanik, Gärungsphysiologie und Hefereinzucht der Lehr- und Forschungsanstalt für Wein-, Obst- und Gartenbau, Geisenheim a. Rh., und Botanisches Institut der Tokyo Kyoiku Universität, Ohtsuka, Tokyo

**On the constitution and inheritance of a new delphinidine glycoside “Floridorin” from the cultivated iris variety cv. ‘Floridor’ (Cayeux 1929)**  
(Studies on anthocyanins LI)

**Summary.** The diploid tall bearded garden Iris cv. ‘Floridor’ (Cayeux 1929) proved to be thus far the only variety with a different anthocyanine, called ‘Floridorin’. Its chemical structure has been found to be delphinidine-3-glucose-rhamnose-p-coumaric-acid. It occurs together with tulipanine already analyzed by us as delphinidine-3-glucose-rhamnose. The main anthocyanine of the *Pogoniris* garden varieties proved to be violanin the structure of which has been studied by us lately. The investigations were carried out by some newer methods, such as partial hydrolysis and oxidative degradation already published by us. The new ‘Floridorin’ gives a monohybrid recessive Mendelian ratio with other diploid varieties of *Pogoniris* colored by violanine. The varieties colored by ‘Floridorin’ show a characteristic greyish blue coloration which can be recognized with the naked eye.

#### Einleitung

In einer an dieser Stelle veröffentlichten Untersuchung über Anthozyane (WERCKMEISTER 1952, 1954), in der auch die Garteniris der Geisenheimer Iris-Sammlung behandelt worden waren, wurde mitgeteilt, daß sich unter den damals ca. 400 Namensorten der Iris nur eine einzige Sorte fand, die ein abweichendes Anthozyan aufwies. Es war dies die Sorte cv. ‘Floridor’

(Cayeux 1929). Diese Sorte wurde 1954 an Geisenheimer Material cytologisch von SIMONET untersucht und mit  $2n = 24$  Chromosomen als diploid erkannt (SIMONET, briefl. Mitt. v. 14. 9. 1954). In der Farbe weicht diese Sorte auffällig von anderen blauvioletten Sorten des Sortiments ab. Bei uns wird eine solche Farbe üblicherweise als „taubenblau“, in der französischen Sprache gelegentlich als „ardoise“ (= schieferfarben) bezeichnet, wobei diese Bezeichnung die tatsächliche Farbe weniger gut charakterisiert, da diese eher blau als grau ist. Der damalige Farbvergleich mit der britischen Horticultural Colour Chart ergab den Farbton 039 (= Dauphinviolett) für die äußeren Perigonblätter („Hängeblätter“) und 040/1 für die etwas blaueren inneren Perigonblätter („Domblätter“), ein Farbton, der jedoch in der HCC nicht vorliegt und nach 40/1 (= Hyacinthblau) interpoliert wurde. Der Farbton 039/1 HCC entspricht einigermaßen dem Farbton 14 K (14:4:3,5) auf dem Pflanzenfarbenatlas nach DIN 6164 von BIESALSKI (1957). Die anderen hierher gehörigen Farbtöne sind auf den beiden Atlanten schwer vergleichbar. Der gedeckte graublaue Farbton ist jedoch innerhalb des Iris-Sortiments einmalig und ohne Mühe aus den anderen blauen und graublauen Farbtönen der Gartensorten herauszukennen.