

Untersuchungen zur Stimulation der Fruchtkörperbildung bei einem *Pleurotus* aus Florida**

GERLIND EGER**

Institut für Allgemeine Botanik der Ruhr-Universität, Bochum

Investigations on the Stimulation of Fruit Body Formation in a *Pleurotus* from Florida

Summary. Extracts from fruit bodies of *Pleurotus* or *Agaricus* promoted fructification of *Pleurotus* mycelium. This was visible in regular primordia formation 7—10 days after application of extract to the mycelium and in higher sporophore weights.

After fractionating the extracts by ultra- and gel-filtration a marked stimulation of sporophore weights was detectable only in fractions of lower molecular weight. The number of primordia, however, was also increased by compounds of high molecular weight, but not by protein alone.

With increasing dilution of the extracts the weight of fruit bodies decreased more rapidly than the number of primordia.

40 mg of L-asparagine or equimolar amounts of urea showed an effect similar to that of the extract from 1 g fruit body. Sugars gave no reaction.

Sporophore initiation and fruit body growth are supposed to be two different processes in *Pleurotus* as well as in *Agaricus bisporus*.

Methods for detecting a hypothetical sporophore inducer and an inhibitor are discussed.

Gibt man auf *Pleurotus*-Mycel, das auf filtriertem Malzin-Agar gewachsen ist, Stückchen von Fruchtkörpern derselben oder einer anderen Art (*Agaricus bisporus* (Lge.) Sing., *Flammulina velutipes* Curt. ex Fr.), so wird die Fruktifikation gegenüber Kontrollen stark gefördert (EGER 1965a). Zur Erklärung dieses Phänomens sind zwei Annahmen möglich:

1. Das Fruchtkörpermaterial enthält einen Induktionsstoff.

2. Mit den Fruchtkörperstückchen werden wichtige Nährstoffe zugeführt, die im Malzin nicht ausreichend vorhanden sind.

Die vorliegende Untersuchung prüft beide Hypothesen.

Methodik

1. Material und Kulturbedingungen

Der *Pleurotus*-Stamm und die Kulturbedingungen sind bereits beschrieben (EGER 1965a, b). Als einzige Abweichung wurde die relative Luftfeuchtigkeit auf dauernd 70—90% erhöht.

2. Durchführung und Auswertung der Tests

Die Extrakte aus Fruchtkörpern und die zu prüfenden Nährstoff-Lösungen waren angesetzt in 0,05 M Na-Phosphat-Puffer von pH 6,4 (= pH des Preßsaftes aus gefrorenen *Pleurotus*-Basidiokarprien). Nur die Nährstoff-Lösungen wurden durch Seitz-EK-Filter steril filtriert. Je 2 ml Flüssigkeit wurden auf das in Petrischalen herangezogene Mycel pipettiert.

10 und 20 Tage nachdem das Testmaterial auf das Mycel gegeben worden war, zählten wir die Fruchtkörperanlagen in jeder Petrischale. Die doppelte Zählung war notwendig, weil einerseits neue Primordien entstanden, andererseits bereits vorhandene durch rasch wachsende Fruchtkörper und Mycel verdeckt werden konnten. Nach 20 Tagen wurden alle Fruchtkörper von mehr als 50 mg abgeerntet und für jede Schale das Gesamtgewicht der Basidiokarprien bestimmt (Wägefehler ± 10 mg). Aus den Einzelwerten für jede Behandlungsreihe (10 Schalen) wurden die durchschnittliche Anlagenzahl und das durch-

schnittliche Fruchtkörpergewicht berechnet. Die Sicherung der Differenzen zwischen den Mittelwerten zweier Behandlungsreihen eines Versuches erfolgte mit dem t-Test für $P = 5\%$.

3. Herstellung der Extrakte

Die Fruchtkörper von *Pleurotus* stammten von eigenen Kulturen, diejenigen von *Agaricus bisporus* aus einem Champignonbetrieb. Die Basidiokarprien von *Pleurotus* wurden bei -20°C eingefroren, aus *Agaricus*-Fruchtkörpern dagegen nur Stücke aus dem Innern, um die Gefahr einer Infektion durch Bodenorganismen herabzusetzen. In einer HUGHES-Presse zerstörten wir die Zellen des gefrorenen Materials. Je 10 g wurden mit 25 ml Puffer 14 h im Eisbad gerührt, 30 min bei $34800 \times g$ in der Kühlzentrifuge zentrifugiert und der überstehende Rohextrakt dekantiert. 1 g Fruchtkörper entsprachen 3,2 ml (*Pleurotus*-) bzw. 3 ml (*Agaricus*-) Extrakt. Dieser wurde im Vakuum-Rotationsverdampfer bei etwa 25°C so weit eingeeengt, daß das Äquivalent von 1 g Fruchtkörper in 2 ml enthalten war. Zum Vergleich der Wirkung von Fraktionen des Extraktes wurden ebenfalls Mengen entsprechend 1 g Fruchtkörper getestet.

4. Ultrafiltration

Sie erfolgte bei $+4^\circ\text{C}$ durch Dialysierschlauch 6300 A der LKB-Produkter AB, Stockholm; Ausschlußgrenze MG ca. 30000. Die Extrakte wurden in etwa 24 h auf $\frac{1}{4}$ des Ausgangsvolumens eingeeengt.

5. Gelfiltration

Unveränderter oder durch LKB-Filter eingeeengter Rohextrakt wurde 6—9 Tage bei $+4^\circ\text{C}$ und pH 6,4 über Säulen mit Sephadex G 200 (Pharmacia, Uppsala) geschickt.

6. Abtrennung der Proteine

Zunächst wurden die Nukleinsäuren mit Protaminsulfat gefällt und abzentrifugiert, dann die Proteine mit Ammoniumsulfat ausgesalzen, der Niederschlag abzentrifugiert, in Puffer gelöst und über 12—15 h entsalzt. Einzelheiten siehe ESSER 1963.

Versuche und Ergebnisse

1. Die Wirkung von Extrakten aus Fruchtkörpern

Rohextrakt aus 1 g *Agaricus* oder *Pleurotus* förderte in gleicher Weise wie 1 g nicht extrahiertes Material sowohl das Fruchtkörper-(=FK-)Gewicht

* Herrn Prof. Dr. REINHOLD VON SENGBUSCH zum 70. Geburtstag in Dankbarkeit und Verehrung gewidmet.

** Jetzt: Institut für Physiologische Chemie der Universität Marburg

als auch die Anlagenzahl (7 Versuche). Das wirksame Prinzip mußte daher im Extrakt sein. Verringerung der zugesetzten FK-Substanz auf $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{4}$ und $\frac{1}{8}$ g oder entsprechende Verdünnung der Rohextrakte hatten einen steilen, fast proportionalen Abfall der FK-Gewichte zur Folge (6 Versuche). Eine signifikante Verminderung der Anlagenzahl konnte dagegen erst ab $\frac{1}{4}$ erreicht werden (Abb. 1).

Das FK-Gewicht und die Anlagenzahl reagierten unterschiedlich auf die Aufteilung der Rohextrakte durch Ultrafiltration. Das FK-Gewicht nahm signifikant ab, wenn nur eine der beiden Fraktionen geboten wurde. Die Wirkung der zurückgehaltenen Verbindungen war geringer als diejenige des Filtrats (Abb. 2). Die Anlagenzahl sank mit beiden Fraktionen, wenn Extrakte aus *Pleurotus* verwendet wurden (2 Wiederholungen). Dagegen entsprach in 3 Versuchen mit Auszügen aus *Agaricus* die Wirkung der zurückgehaltenen Fraktion derjenigen des Rohextrakts. Die des Filtrats war teils ebenso gut, teils schlechter (Abb. 2). Verdünnung auf halbe Konzentration hatte bei beiden Fraktionen wie bei Rohextrakt nur auf das FK-Gewicht signifikanten Einfluß (Abb. 2).

Durch Gelfiltration versuchten wir, den Rohextrakt bzw. die vom Ultrafilter zurückgehaltene Fraktion weiter nach Molekülgrößen zu zerlegen. Die bei 280 nm aufgenommene zweigipflige Absorptionskurve des Eluats gab in erster Linie die Verteilung der durch Phenoloxidasen bedingten Farbstoffe wieder. Das Eluat wurde daher ziemlich willkürlich in Fraktionen aufgeteilt. 1 Versuch mit *Pleurotus*- und 2 Versuche mit *Agaricus*-Auszügen zeigten übereinstimmend eine Förderung der Anlagenzahl fast über die ganze Breite der Absorptionskurve, während eine Zunahme der FK-Gewichte nur durch 1–2 Fraktionen in der Mitte oder in der 2. Hälfte des Hauptgipfels hervorgerufen wurde, d.h. durch Verbindungen von niedrigerem Molekulargewicht (Abb. 3).

Aus Extrakten von *Agaricus* ausgesalzene Protein förderte die Fruktifikation nicht. Nur in einem von 2 Versuchen mit Protein aus *Pleurotus* war die Anlagenzahl signifikant höher als bei den Kontrollen mit Puffer, aber viel geringer als mit der zurückgehaltenen Fraktion von der Ultrafiltration. Eine sichere Wirkung auf das FK-Gewicht war nicht festzustellen (Abb. 4).

In allen Versuchen mit FK-Auszügen oder FK-Stückchen wurden die ersten Primordien (von Versuch zu Versuch etwas schwankend) 7–10 Tage nach dem Aufbringen der Extrakte angelegt. Sie wurden bevorzugt am Rand der Petrischalen gebildet (vgl. EGER 1965 a, Abb. 1).

Zusammenfassend kann man sagen, daß das FK-Gewicht auf eine Verdünnung der Extrakte empfindlicher reagiert als die Anlagenzahl. Es wird durch niedermolekulare Verbindungen stärker gefördert als durch hochmolekulare, während die Anlagenzahl auch durch letztere stark stimuliert wird.

2. Die Wirkung von Nährstoffen

Nach RANDOIN u. BILLAUD (1956) sowie HUGHES u. RHODES (1959) enthalten die Fruchtkörper des Kultur-Champignons maximal 10% Trockensubstanz. Davon sind (RANDOIN u. BILLAUD 1956)

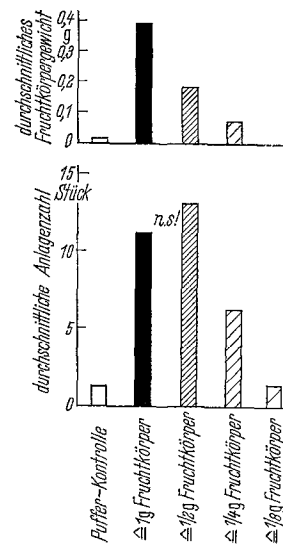


Abb. 1. Wirkung eines Rohextrakts aus *Pleurotus* bei zunehmender Verdünnung auf das Fruchtkörpergewicht (oben) und auf die Anlagenzahl (unten). n. s. = Differenz nicht signifikant

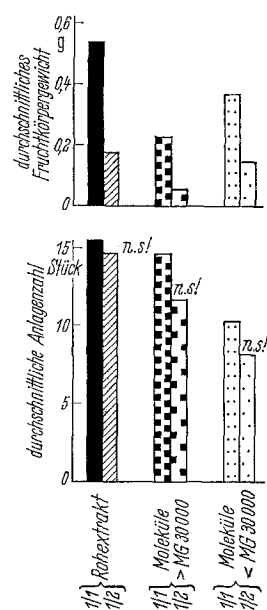


Abb. 2.

Abb. 2. Wirkung eines Rohextrakts aus *Agaricus* und seiner Fraktionen bei Verdünnung auf die Hälfte: auf das Fruchtkörpergewicht (oben) und auf die Anlagenzahl (unten). n. s. = Differenz nicht signifikant

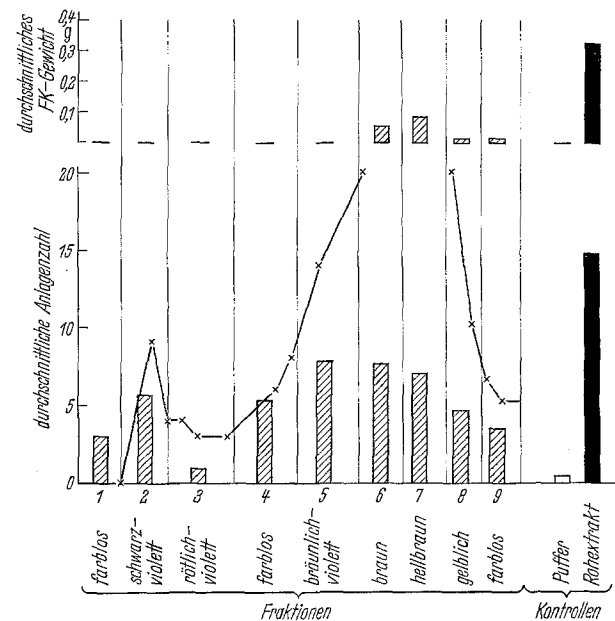


Abb. 3. Wirkung von 9 Fraktionen eines Rohextrakts aus *Pleurotus*, die durch Gelfiltration über Sephadex G 200 gewonnen wurden, im Vergleich zu Rohextrakt und reinem Puffer. Kurve = Absorption bei 280 nm

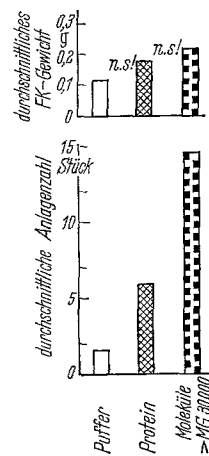


Abb. 4 (rechts). Wirkung von Protein aus *Pleurotus* im Vergleich zur Molekülfraction von $M_g > 30\,000$ und zu Puffer. n. s. = Differenz nicht signifikant

30–40% N-haltige Verbindungen. Nach FITZPATRICK, ESSELEN u. WEIR (1946) entfallen 63% des Gesamtstickstoffs auf Protein. Der restliche Stickstoff verteilt sich hauptsächlich auf Harnstoff, Aminosäuren und Chitin (IVANOFF 1923, REINBOHE u. TSCHIRSCH 1962, KISSMEYER-NIELSEN, MCCLEDON u. WOODMANSEE 1966). Mit einem FK-Stückchen von 1 g können dem *Pleurotus*-Mycel demnach maximal 100 mg Nährstoffe zugeführt werden. Etwa 30–40 mg müßten N-Verbindungen sein.

keinen signifikanten Einfluß auf die Fruktifikation. Wurde dagegen bei konstantem Glucose-Spiegel (5%) die Asparagin-Menge variiert, so zeigte sich eine deutliche Abhängigkeit von der Asparagin-Zufuhr (Abb. 5). Das Optimum für die Anlagenzahl lag bei etwa 20 mg/Schale, während die FK-Gewichte noch bis 40, zum Teil sogar noch bis 80 mg anstiegen.

Harnstoff an Stelle von Asparagin stimulierte die FK-Bildung ebenfalls. Abb. 6 zeigt im Vergleich zu 5, 20, 40 und 80 mg L-Asparagin die Wirkung äqui-

Tabelle 1. Wirkung von 40 mg L-Asparagin und 100 mg D-Glucose auf die Anlagenzahl und das Fruchtkörpergewicht im Vergleich zu Puffer und Extrakten aus Fruchtkörpern

Versuch	Anlagenzahl			FK-Gewicht in g		
Lfd. Nr.	Puffer	Asparagin	Extrakt	Puffer	Asparagin	Extrakt
1	2,4	4,2	P 13,8	0,01	0,39	P 0,38
2	0,2	6,8	P 14,8	0	0,21	P 0,32
3	1,4	3,2	A 7,8	0	0,36	A 0,42
4	0,7	8,9	A 8,1	0	0,48	A 0,45
5	2,6	9,5	A 8,0	0,01	0,45	A 0,44
6	5,9	14,1	A 15,3	0,12	0,51	A 0,53

Erläuterungen: P = *Pleurotus*

A = *Agaricus*

fette Zahlen = von Werten für L-Asparagin signifikant verschieden

Auf Grund dieser Literaturangaben verabreichten wir je Petrischale jeweils 100 mg D-Glucose, Fructose, Mannose oder Saccharose in 2 ml Puffer gelöst (= 5%). Die Zucker stimulierten die Fruchtkörperbildung nicht. Wurden jedoch zur Glucose-Lösung 40 mg L-Asparagin* zugesetzt, so war eine beträchtliche Förderung gegenüber Kontrollen ohne Asparagin festzustellen. In 5 von 6 Versuchen wurde mit dem Asparagin ebensoviel an Fruchtkörpergewicht geerntet wie mit Rohextrakt aus 1 g Fruchtkörper. Die Zahl der FK-Anlagen war dagegen nur in 3 Fällen so hoch wie mit Rohextrakt, in den übrigen viel geringer (Tab. 1). Die positive Wirkung ist ganz dem Asparagin zuzuschreiben. Senkung der Glucose-Konzentration von 5% stufenweise auf 0% hatte

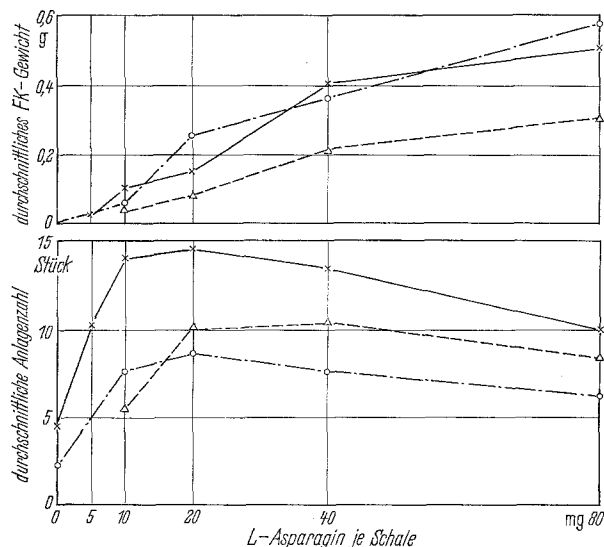


Abb. 5. Wirkung steigender Asparagin-Mengen auf das Fruchtkörpergewicht und die Anlagenzahl (3 Versuche)

* Bei Verwendung von 40 mg DL-Asparagin war das produzierte FK-Gewicht etwa $\frac{1}{2}$ so groß wie mit 40 mg L-Asparagin, die Anlagenzahl dagegen war nur wenig verschieden.

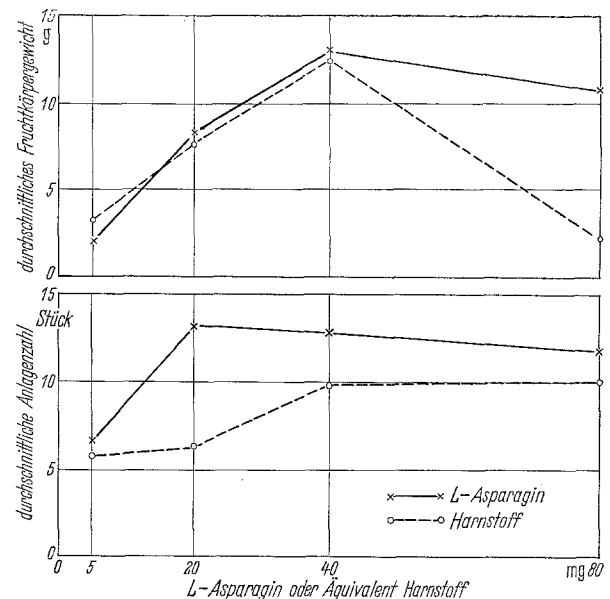


Abb. 6. Wirkung von Harnstoff auf Fruchtkörpergewicht und Anlagenzahl im Vergleich zu L-Asparagin

molarer Mengen Harnstoff. Harnstoff entsprechend 80 mg Asparagin war in allen Versuchen schädlich. Das Mycel und die Fruchtkörper verfärbten sich bräunlich und letztere erreichten nur geringes Gewicht. Bei geringeren Harnstoffgaben war die Anlagenzahl in allen 6 Versuchen etwas niedriger als mit Asparagin, die FK-Gewichte etwas niedriger oder gleich.

Für die Primordienbildung betrug die Latenzzeit mit Asparagin oder Harnstoff ebenfalls 7–10 Tage. Die Anlagen entstanden aber abweichend von den Versuchen mit FK-Extrakten bevorzugt in oder unmittelbar neben den Lösungen.

L-Asparagin- oder Harnstofflösungen können ähnlich wie FK-Extrakte die Fruktifikation stimulieren. Auf die Zugabe steigender Mengen N-Nährstoffe reagieren das FK-Gewicht und die Anlagenzahl unterschiedlich.

Diskussion

Die Begriffe Induktion und Induktionsstoff werden hier nicht in dem strengen Sinn der Entwicklungsphysiologie angewandt (vgl. HOLZER 1963). Es ist von Induktion die Rede, wenn die FK-Bildung als Folge einer bestimmten Behandlung eintritt, und von einem Induktionsstoff, wenn die Behandlung in der Zugabe einer Substanz besteht. Diese muß aber im Gegensatz zu Nährstoffen in sehr geringen Konzentrationen wirken (vgl. ZILLIKEN 1963, TIEDEMANN u. TIEDEMANN 1964), wie Vitamine, Hormone, Wachstumsstoffe (s. BOMSKOV 1935, 1937, KARLSON 1963, AUDUS 1963). In unseren Versuchen können wir auf Grund dieses Kennzeichens nicht zugunsten einer Nährstoff- oder Induktionswirkung entscheiden, da die Zusammensetzung der Extrakte unbekannt ist.

Bei *Agaricus bisporus* sind die Primordienbildung und das FK-Wachstum zwei grundverschiedene Vorgänge, die sich voneinander trennen lassen (SINDEN, TSCHIERPE u. HAUSER 1962). Die Anlagenbildung ist die Folge einer Induktion, die sich vorläufig befriedigend nur erreichen läßt, indem man „geeignete“ Erde, Extrakte daraus oder aus den Extrakten gewonnene Bakterienkulturen zu dem Mycel dazu gibt (EGER 1961, 1962, 1965b). Unter sonst gleichen Bedingungen wird die Zahl der Primordien außer durch die Qualität der Kulturen von der Organismendichte bestimmt. Mit zunehmender Verdünnung in 10er Potenzen sinkt die Zahl der Anlagen (EGER unveröffentlicht). Wieviele der Primordien sich zu Basidiokarpium weiterentwickeln und wie schwer diese werden, hängt dagegen vom Nährstoffvorrat ab. Sind die Bedingungen bis auf die Nährbodenmenge identisch, so ist das Gesamtgewicht der erzeugten Fruchtkörper demjenigen des Nährbodens proportional (EDWARDS 1950, TILL u. EGER unveröffentlicht).

Sollten Anlagenbildung und FK-Entwicklung bei *Pleurotus* ähnliche Voraussetzungen haben wie bei *Agaricus*, so müßte sich der relative Nährstoffgehalt der Extrakte in den FK-Gewichten widerspiegeln. Ein Induktionsstoff könnte sich dadurch verraten, daß zahlreiche Primordien entstehen, aber nicht zu Fruchtkörpern heranwachsen. Als weiteres Unterscheidungsmittel kämen eventuell auch Dosis-Wirkungskurven in Betracht, die sich durch Verdünnung der Extrakte aus Relativwerten gewinnen lassen. Ein Induktionsstoff, der in Fruchtkörpern vorhanden und für den vom Mycelstatus abweichenden Zustand verantwortlich ist, sollte im Rohextrakt mindestens in optimalen Mengen enthalten sein. Verdünnung der Extrakte würde dann nicht sofort zu einer Abnahme der Wirkung führen, vorausgesetzt, daß sich der Induktionsstoff wie Hormone, Vitamine oder Wachstumsstoffe verhielte (vgl. Dosis-Wirkungskurven in BOMSKOV 1937, 1935, KARLSON u. NACHTIGALL 1961, AUDUS 1963). Betrachten wir daraufhin die Versuchsergebnisse.

Während ein Mycel ohne Zusatz von FK-Substanz innerhalb von 20 Tagen gelegentlich 50–100 mg Basidiokarpium erzeugte, bildete es mit Rohextrakt im gleichen Zeitraum regelmäßig mindestens 300 mg (Abb. 1, 3, Tab. 1). Mit der Verdünnung der Rohextrakte sanken die FK-Gewichte annähernd proportional. Rohextrakt dürfte demnach beträchtliche Mengen Nährstoff enthalten. Als solche wirkten in erster Linie Verbindungen von Molekulargewichten < 30000 . Zwar verursachte auch die Fraktion mit größeren Molekülen eine Erhöhung gegenüber Kontrollen nur mit Puffer (Abb. 4), doch enthielt sie als Verunreinigung noch etwa $\frac{1}{4}$ der niedermolekularen

Verbindungen (vgl. Ultrafiltration). Der Nährstoffwert der hochmolekularen Verbindungen kann daher nur sehr gering sein. Praktisch keine Förderung der FK-Gewichte zeigten auch die Fraktionen 1–5 von der Gelfiltration (Abb. 3) und aus Rohextrakten gefälltes Protein (Abb. 4). Alle diese hochmolekularen Fraktionen mit Ausnahme von Protein stimulierten aber die Anlagenbildung ähnlich gut wie die Fraktionen mit deutlicher Nährstoffwirkung. Auf Verdünnung reagierte die Anlagenzahl in jedem Fall weniger empfindlich als das FK-Gewicht. Diese Resultate sprechen für die Hypothese, daß auch bei *Pleurotus* Anlagenbildung und FK-Entwicklung zwei verschiedene Prozesse sind und daß Fruchtkörper einen Induktionsstoff enthalten. Die Kriterien, die wir angewandt haben, bedürfen jedoch noch einer direkten Überprüfung.

In den Versuchen mit Nährstoffen stiegen die FK-Gewichte bis 40 mg L-Asparagin oder äquimolare Mengen Harnstoff etwa proportional (Abb. 5 u. 6). 40 mg L-Asparagin hatte die gleiche Wirkung auf das Fruchtkörpergewicht wie Rohextrakt (Tab. 1). Letzteres ist darum wirklich ein Maß für die Zufuhr von Nährstoffen, allerdings nur N-haltiger. Die Stickstoff-Verbindungen förderten auch die Anlagenbildung. Bei „Verdünnung“ von 40 mg Asparagin (Kurven in Abb. 5 u. 6 von rechts nach links gelesen) verhielten sich die Anlagenzahlen ganz wie bei Verdünnung von Extrakten. — Mit 5 mg Asparagin war gegenüber Kontrollen nur mit Puffer die Anlagenzahl noch deutlich erhöht, während ein Unterschied in den FK-Gewichten kaum mehr zu erkennen war. 5 mg Asparagin je Mycel sind eine beträchtliche Menge Substanz verglichen mit 420 mg Malz-Trockenpulver (Malzin) im Nährboden. Asparagin selbst ist kein Induktionsstoff. Bei Förderung der Anlagenzahl durch einen Extrakt ohne erkennbare Nährstoffwirkung darf nicht auf die Existenz einer Induktionssubstanz geschlossen werden, solange nicht nachgewiesen ist, daß sich der Gehalt an N-Verbindungen im Bereich von Wirkstoffen bewegt.

Aus den Versuchen mit Nährstoffen kann man folgern, daß Anlagenbildung und FK-Wachstum zwei Prozesse sind, die auf die Zufuhr N-haltiger Nährstoffe besonders angewiesen sind. Für die Anlagenbildung werden nur relativ geringe Mengen verbraucht. Auch bei hohen Stickstoff-Gaben kommt sie über eine gewisse Intensität nicht hinaus. An eine Nährstoffkonkurrenz zwischen beiden Prozessen ist bei hohen Asparagin-Mengen nicht zu denken. SINDEN, TSCHIERPE u. HAUSER (1962) haben gezeigt, daß wachsende *Agaricus*-Fruchtkörper die Anlagenbildung in ihrer Umgebung verhindern, und MANACHÈRE (1966), daß die Anlagenbildung bei *Coprinus congregatus* durch wachsende Basidiokarpium gehemmt, durch reife dagegen gefördert wird.* Wir möchten mit den genannten Autoren annehmen, daß wachsende Fruchtkörper einen Hemmstoff in das Mycel ausscheiden. Vielleicht ist die Tatsache, daß in unseren Versuchen mit Extrakten die Anlagen bevorzugt am Rand des Mycels, mit Asparagin aber in oder neben der Lösung entstehen, auch ein Hinweis auf einen solchen Stoff.

* INGOLD u. NAWAZ (An. Bot. 31, 791–802, 1967) berichten ebenfalls über eine Unterdrückung der Primordien durch wachsende Fruchtkörper bei *Sphaerobolus*.

Es ist die Frage, ob FK-Extrakte einen Induktionsstoff enthalten, vorläufig nicht zu beantworten. FK-Auszüge fördern die Anlagenbildung teilweise besser als Asparagin. Asparagin ist ein wichtiger Grundstoff für mehrere Stoffwechselwege (vgl. Lehrbücher der Biochemie). Unser *Pleurotus*-Stamm kann mit dieser Verbindung als alleiniger N-Quelle nicht nur Mycel, sondern auch Fruchtkörper produzieren. Bei Asparaginzufuhr zu einem fertigen Mycel, wie in unseren Versuchen, ist der Pilz bestimmt in der Lage, in kurzer Zeit all diejenigen Substanzen zu synthetisieren, die mit FK-Extrakt zugeführt werden können, auch einen eventuellen Induktionsstoff. Der Nachweis eines solchen könnte nur gelingen, wenn man die Stickstoff-Verbindungen aus Extrakten sorgfältig analysiert. Stoffe, die eine deutliche Nährstoffwirkung haben, könnten gleich verworfen werden. Alle anderen müßten in ihrer Wirkung gegen L-Asparagin getestet werden. Nur diejenige Substanz kann Induktionsstoff sein, die, verglichen mit einer gleich starken N-Dosis in Form von Asparagin, eine bessere Wirkung hat. Sie muß nach einer verkürzten Latenzzeit mehr Anlagen induzieren. Der hypothetische Hemmstoff (siehe oben) wäre dagegen in denjenigen Fraktionen zu suchen, die nach Zusatz von 20 mg Asparagin je Mycel die Fruktifikation bedeutend verzögern oder ganz verhindern.

Zusammenfassung

Extrakte aus Fruchtkörpern von *Pleurotus* oder *Agaricus* fördern die Fruktifikation von *Pleurotus*-Mycel. Das äußert sich in der regelmäßigen Primordienbildung 7–10 Tage nachdem die Extrakte auf das Mycel gegeben worden sind und in erhöhten Fruchtkörper-(= FK-) Gewichten.

Nach Fraktionierung der Extrakte durch Ultra- oder Gelfiltration wurde eine starke Förderung der FK-Gewichte nur noch durch die Fraktionen mit niedrigeren Molekulargewichten festgestellt. Die Zahl der Anlagen wurde dagegen auch durch die hochmolekularen Bestandteile erhöht, aber nicht durch Protein alleine.

Mit zunehmender Verdünnung der Extrakte nahmen die FK-Gewichte schneller ab als die Anlagenzahlen.

40 mg L-Asparagin oder die äquimolare Menge Harnstoff wirkten ähnlich wie Extrakt aus 1 g Fruchtkörper. Zucker hatten keinen Effekt.

Primordienbildung und FK-Wachstum dürften bei *Pleurotus* zwei verschiedene Prozesse sein, wie bei *Agaricus bisporus*.

Methoden zum Nachweis zweier hypothetischer Wirkstoffe werden diskutiert.

Frau Margarete LANGNER danke ich herzlich für die zuverlässige Betreuung der Versuche.

Literatur

1. AUDUS, L. J.: Plant Growth Substances. New York: Interscience Publishers Inc. 1963. — 2. BOMSKOV, C.: Methodik der Vitaminforschung. Stuttgart: Georg Thieme 1935. — 3. BOMSKOV, C.: Methodik der Hormonforschung I. Stuttgart: Georg Thieme 1937. — 4. EDWARDS, R. L.: Some factors affecting fructification in the mushroom. *Mushroom Science* **I**, 37–42 (1950). — 5. EGER, G.: Untersuchungen über die Funktion der Deckschicht bei der Fruchtkörperbildung des Kulturchampignons, *Psalliota bispora* Lge. *Arch. Mikrobiol.* **39**, 313–334 (1961). — 6. EGER, G.: Untersuchungen zur Fruchtkörperbildung des Kulturchampignons. *Mushroom Science* **V**, 314–320 (1962). — 7. EGER, G.: Untersuchungen über die Bildung und Regeneration von Fruchtkörpern bei Hutzpilzen I. — *Pleurotus* Florida. *Arch. Mikrobiol.* **50**, 85–93 (1965a). — 8. EGER, G.: Untersuchungen über die Bildung und Regeneration von Fruchtkörpern bei Hutzpilzen III. — *Flammulina velutipes* Curt. ex Fr. und *Agaricus bisporus* (Lge.) Sing. *Arch. Mikrobiol.* **52**, 282–290 (1965b). — 9. ESSER, K.: Die Phenoloxidasen des Ascomyceten *Podospora anserina*. *Arch. Mikrobiol.* **45**, 217–226 (1963). — 10. FITZPATRICK, ESSELEN u. WEIR: zitiert in KISSMEYER-NIELSEN u. Mitarbeiter (1966). — 11. HOLZER, H.: Diskussionsbeitrag. 13. Colloquium der Ges. f. Phys. Chem. S. 171–172 (1963). — 12. HUGHES, H. and Y. E. RHODES Jr.: Changes in the amino acid composition of *Agaricus campestris* with respect to successive crops. *Mushroom Science* **IV**, 176–182 (1959). — 13. IVANOFF, N. N.: Über die Anhäufung des Harnstoffs in Champignons. *Biochem. Z.* **143**, 62–74 (1923). — 14. KARLSON, P.: Insect Hormones. In: Comprehensive Biochem. Vol. 11. Amsterdam: Elsevier Publishing Co. 1963. — 15. KARLSON, P. and M. NACHTIGALL: Ein biologischer Test zur quantitativen Bestimmung der Juvenilhormon-Aktivität von Insektenextrakten. *J. Ins. Physiol.* **7**, 210–215 (1961). — 16. KISSMEYER-NIELSEN, E., J. McCLEDON and C. W. WOODMANSEE: Changes in amino acids and urea in cultivated mushroom, *Agaricus bisporus* as influenced by nutrient supplementation of compost during growth cycle. *J. Agricul. Food Chem.* **14**, 633 (1966). — 17. MANACHÈRE, G.: Périodicité de la fructification de *Coprinus congregatus* Bull. ex Fr. en cultures éclairées. *C. R. Acad. Sc. Paris* **262**, 2711–2714 (1966). — 18. RANDOIN, L. et S. BILLAUD: Composition chimique et valeur nutritive du champignon de couche. *Mushroom Science* **III**, 59–79 (1956). — 19. REINBOUHE, H. und B. TSCHERSCH: Harnstoff-Metabolismus bei Basidiomyceten. I. Zur Harnstoffsynthese in *Agaricus bisporus* und *Lycoperdon perlatum* Pers. *Flora* **152**, 423–446 (1962). — 20. SINDEN, J. W., H. J. TSCHIERPE und E. HAUSER: Transplantation of Sporophores as a new method for studying growth and nutritional factors of mushrooms. *Mushroom Science* **V**, 250–265 (1962). — 21. TIEDEMANN, H. und H. TIEDEMANN: Das Induktionsvermögen gereinigter Induktionsfaktoren im Kombinationsversuch. *Rev. Suisse Zool.* **71**, 117–137 (1964). — 22. TILL, O.: Max-Planck-Institut für Kulturpflanzenzüchtung, Hamburg-Volksdorf, † 1962. — 23. ZILLIKEN, F.: Der chondrogene Faktor aus Hühnerembryonen. 13. Colloquium der Ges. f. Phys. Chem. S. 144–170 (1963).