

Züchterische Arbeiten an „59c“, einem Champignonstamm mit neuer Fruchtkörperform*

I. Steigerung des Ertrages

GERDA FRITSCHÉ

Max-Planck-Institut für Kulturpflanzenzüchtung, Hamburg-Volksdorf

Breeding Experiments with „59c“, a Mushroom Strain with new Type of Fruit Body

I. Increase of Yield

Summary. 1. The paper deals with the cultivation and breeding of a mushroom strain which produces fruit bodies of an entirely new type. The fruit bodies have neither stalk, nor cap, nor gills but are in the form of a clump which can weigh up to 1,8 kg. They possess an excellent aroma and can be sliced and fried like cutlets or be used by the soup industry. In addition to this, they do not require picking as frequently as the strains with normal fruit bodies.

2. One of the negative characteristics of this strain, known as 59c, is its small total yield. The first attempts at breeding were mainly concerned with raising the yield because a certain yield is essential if a strain is to be commercially viable.

3. By continuous propagation using tissue cultures and selection (i. e. propagation were made with fruit bodies from tissue-cultures with the best yields), the yield was increased from 35% of normal strains in the 1st tissue culture propagation to 105% in the 4th tissue culture propagation.

4. However, as a rule, the tissue cultures decreased in yield and formed fruit bodies similar to those of a poor-yielding prototype, Type 59b.

5. The decline in yield and the appearance of the prototype can be explained by concentration of the hereditary factors of Type 59b in the mycelium of the 59c type. The first fruit body of the c-type, formed spontaneously in a cultivation bed spawned with 59b, was propagated by tissue culture and presumably still contained nuclei with hereditary factors of the type 59b. They propagated themselves in the course of the mycelium growth.

6. Fruit bodies which could be classified as between types 59b and 59c produced both 59c forms, and 59b forms, as well as intermediate ones after tissue culture propagation. It is probable that they received their form by a certain numerical proportion of the nuclei with the hereditary factors for 59b and 59c.

7. Attempts to maintain the high yield of 59c at a constant level (elimination of the 59b-nuclei) and to improve the quality of the fruit bodies are initiated.

A. Einleitung

Im Jahre 1963 wurde erstmalig über „59c“ berichtet (FRITSCHÉ und v. SENGBUSCH, 1963). Bei 59c handelt es sich um einen Stamm des Kulturchampignons, *Agaricus bisporus*, der in der Form seiner Fruchtkörper völlig vom Normalen abweicht. Die Fruchtkörper besitzen weder einen Stiel, noch einen Hut, noch Lamellen. Es sind klumpenartige Gebilde mit ungleichmäßiger Oberfläche. Sie haben ein sehr gutes Aroma und können Gewichte bis 1,8 kg erreichen.

Stamm 59c hat gegenüber den Stämmen mit normaler Fruchtkörperform einige Vorteile. Die Kulturbeete brauchen nur etwa ein bis zweimal in der Woche abgeerntet zu werden, während die Kulturbeete normaler Champignonstämme wegen der Gefahr sogenannter „offener Pilze“, d. h. Fruchtkörper, bei denen die Lamellen zu sehen sind, täglich durchgepflückt werden müssen. Die großen Klumpen lassen sich schnell abernten. Sie können in Scheiben geschnitten wie Schnitzel gebraten werden. Wegen des starken Aromas sind die Fruchtkörper auch geeignet zur Herstellung von Suppenpulver, wozu vor allem kleinere, für „vegetarische Schnitzel“ weniger brauchbare Exemplare verwendet werden können.

Den genannten positiven Eigenschaften von 59c stehen einige negative Eigenschaften gegenüber. Es

sind dies ein geringer Gesamtertrag, ein hoher Prozentsatz an kleinen Fruchtkörpern, langsames Mycelwachstum und häufiges Vorkommen von stark zerklüfteten Fruchtkörpern, weichen Fruchtkörpern und Fruchtkörpern, die innen braune Stellen aufweisen.

An dem Stamm 59c muß also noch viel gearbeitet werden, sowohl züchterisch als auch hinsichtlich der Erforschung der für ihn günstigsten Umweltbedingungen. Unser erstes Zuchtziel war die Steigerung des Ertrages, da eine gewisse Ertragshöhe Voraussetzung für die praktische Nutzung eines Stammes ist.

B. Ertragssteigerung durch Vermehrung über „Gewebekultur“ und Selektion

I. Methode

Eine Anzahl Fruchtkörper des Stammes 59c wurden durch die sogenannte „Gewebekulturmethode“ vermehrt. Es handelt sich hierbei um eine Vermehrung von Plektenchym. Da der Ausdruck „Gewebekultur“ jedoch für die Champignonzüchter ein fester Begriff ist, soll er auch hier angewendet werden, obgleich er botanisch falsch ist.

Die Fruchtkörper wurden sauber abgeputzt und danach zur Desinfektion kurze Zeit in eine 1%ige Zephierollösung (Bayer/Leverkusen) getaucht. Unter sterilen Bedingungen wurden sie aufgebrochen und mit der Impfnadel Stücke aus dem Inneren der Fruchtkörper abgeimpft.

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

* Herrn Professor Dr. R. v. SENGBUSCH zum 70. Geburtstag in Dankbarkeit und Verehrung gewidmet.

Zur Prüfung auf Ertrag wurde zunächst die sogenannte „Körnerbrut“ hergestellt. Das sind gekochte und mit 1,7% Schlammkreide und Gips (im Verhältnis 1:4) vermischte Weizenkörner, die vom Champignonmycel umspinnen sind. Zur Beimpfung der Körner wurde ein Stück des vom Champignonmycel überwachsenen Weizen-Agar-Nährbodens verwendet.

Als Kultursubstrat für die Ertragsprüfungen wurde bis Dezember 1964 eine kompostierte Mischung von $\frac{1}{2}$ Pferdemist und $\frac{1}{2}$ Stroh benutzt, in die die Körnerbrut eingemischt wurde. Es wurde das Aktivmycel-Anbauverfahren angewendet (HUHNKE und v. SENGBUSCH, 1959).

Ab 1965 wurden die gesamten Kulturen auf das TILL-Verfahren umgestellt, das im hiesigen Institut entwickelt wurde (TILL, 1961). Beim TILL-Verfahren wird der Kompost durch ein mit Eiweiß angereichertes strohhaltiges Substrat ersetzt, das sterilisiert wird. Das Substrat wird unter sterilen Bedingungen mit dem Champignonmycel beimpft und so lange keimfrei gehalten, bis es vom Champignonmycel durchgewachsen ist. Dann wird das durchspinnene Substrat mit eiweißreichen Zusätzen vermischt (LEMKE, 1963). Die anschließende Behandlung entspricht der bei der Verwendung von Kompost üblichen Methode.

Das neue Verfahren wurde 1965 und 1966 von Laborbedingungen auf Praxisbedingungen übertragen (HUHNKE, LEMKE und v. SENGBUSCH, im Druck). Da dabei naturgemäß Anfangsschwierigkeiten zu überwinden waren, war es technisch nicht möglich, auch die Versuche mit dem Stamm 59c im großen Maßstab durchzuführen. Es mußte unter Laborbedingungen gearbeitet werden. Der Umfang der Versuche mußte deshalb auf das technisch Mögliche beschränkt bleiben.

Die Ertragsprüfungen erfolgten in oberirdisch gelegenen Spezialräumen für Champignonkultur.

Zunächst wurden von 28 Fruchtkörpern des Stammes 59c Gewebekulturen hergestellt. Es wurden dazu vorwiegend größere Fruchtkörper von mehr als 200 g Gewicht ausgewählt. Die 28 Gewebekulturen wurden in ein oder zwei Versuchen auf Ertrag geprüft. Schnitten sie in den Versuchen gut ab, wurden die Prüfungen mehrmals

Tabelle 1. Übersicht über die Erträge von 59c und der daraus hervorgegangenen Gewebekulturen

Anzahl der Ver- mehrungen über Gewebe- kulturen	Stamm und Anzahl der Prüfungen	Ertrag in % von 59c		Ertrag in % von normal		Anteil der Fruchtkörpergewichte in % des Gesamtertrages				Schwerster Frucht- körper in g																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																	
		Spanne	\bar{x}	s%	Spanne	\bar{x}	s%	Fruchtkörper < 10 g			Fruchtkörper > 200 g																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																
								Spanne	s%		Spanne	s%																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																															
1	59c in der 1. Prü- fung																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																										

wiederholt. Als Substrat wurde bis auf die letzten Prüfungen der ertragreichsten Gewebekultur Kompost verwendet. In den einzelnen Versuchen wurden die Gewebekulturen in der Regel in vier Kulturkisten à 0,5 qm Fläche und 25 kg Substrat geprüft, in Ausnahmefällen in weniger Kisten.

Von 41 ausgesuchten Fruchtkörpern ertragreicher Gewebekulturen wurden wieder Gewebekulturen hergestellt. Ihre Ertragsprüfungen fielen teilweise noch in die Zeit der Kultur auf Kompost, teilweise schon in die Zeit der Umstellung auf das TILL-Verfahren. Es wurden noch nicht alle 41 Gewebekulturen geprüft.

Von einigen der bisher geprüften Gewebekulturen, die gute Erträge brachten, wurden bereits wieder Gewebekulturen hergestellt und teilweise schon auf Ertrag geprüft.

II. Ergebnisse

Tab. 1 gibt einen Überblick über die Ergebnisse der Ertragsprüfungen. Die Erträge wurden nicht in dem üblichen Ausdruck kg/qm angegeben, weil dieser Wert bei der Verschiedenheit der Substrate (teils kompostiert und dabei von sehr unterschiedlicher Qualität, teils nach dem TILL-Verfahren hergestellt) wenig Aussagekraft hätte. Statt dessen wurden die Erträge in Prozent ausgedrückt, bezogen auf 59c und normale Stämme. Als Ertragswert der normalen Stämme wurde der Mittelwert des jeweils parallel laufenden Versuches genommen. Da es für die Bewertung des Ertrages von 59c wichtig ist, wie hoch der Prozentsatz an sehr kleinen und besonders großen Fruchtkörpern ist, wurden auch diese Werte berücksichtigt. Die Grenze wurde bei weniger als 10 g und mehr als 200 g Einzelpilzgewicht gezogen. Außerdem wurde angegeben, wieviel der schwerste Fruchtkörper wog. In jeder Bewertungsgruppe wurden der niedrigste und höchste Einzelwert, der dazu gehörige Mittelwert sowie die Streuung der Einzelwerte aufgeführt.

Die Zahlen der ersten Spalte von links geben an, wie oft die Vermehrung über Gewebekultur vorgenommen wurde. Bei Stamm 59c ist hier die Zahl „1“ zu finden. Stamm 59c ist nämlich selbst eine Gewebekultur. Ein Fruchtkörper dieses Types entstand spontan in einem Kulturbeet, das mit Mycel des Stammes 59b gespickt* worden war. 59b bildet keine normalen, sondern bovistartig deformierte

* Spicken = Einbringen des Mycels in das Kulturbeet.

Fruchtkörper sowie länglich verformte und zu mehreren zusammengewachsene Fruchtkörperanlagen aus. Die Form 59c blieb durch die Vermehrung des Fruchtkörpers über Gewebekultur erhalten (FRITSCHÉ und VON SENGBUSCH, 1963).

Von jeder Gewebekulturvermehrung bis auf die vierte sind in Tabelle 1 zwei Spalten mit Ertragswerten angeführt. Wie die zweite Spalte von links zeigt, wurden die Ergebnisse der ersten Prüfung jeder Gewebekultur von der Gesamtheit der Versuchsergebnisse getrennt. Es stellte sich nämlich heraus, daß bei mehreren nacheinander durchgeführten Ertragsprüfungen viele Gewebekulturen in der ersten Prüfung höhere Erträge brachten als in den später angelegten Kulturen.

Die wichtigsten Werte der Tab. 1 wurden durch Darstellungen in Form von Kurven veranschaulicht (Abb. 1). Auf der Ordinate wurden hier die Werte in Prozent aufgetragen, während die Abszisse die Anzahl der Vermehrungen über Gewebekultur anzeigt. Es wurden die Mittelwerte der jeweils ersten Prüfungen eingezeichnet. Die durchgehende Linie,

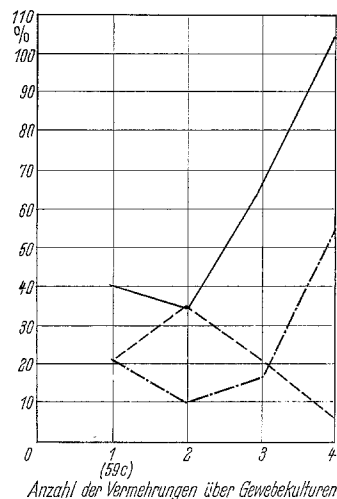


Abb. 1. Mittlere Erträge von 59c und der davon abstammenden Gewebekulturen in Beziehung zur Gewebekulturfolge.

Ertrag im Verhältnis zu normal in %: ———
 Anteil an Fruchtkörpern < 10 g in %: - - - -
 Anteil an Fruchtkörpern > 200 g in %:

Tabelle 2. Übersicht über die Erträge von G₃₀₄ (Gewebekultur von 59c). Prüfung in Kisten von 0,5 qm Fläche und 25 kg Substrat

Versuch Nr.	Substrat	Anzahl der Kisten	\bar{x} Ertrag in				Anteil der Frucht- körpergewichte in % des Gesamtertrages		Schwer- ster Frucht- körper in g
			kg/qm	% vom Substrat- gewicht	% von 59c	% von normal	Frucht- körper < 10 g	Frucht- körper > 200 g	
199	Kompost	4	4,140	8,3	215,7	61,0	13,2	23,1	302
210	Kompost	4	1,846	3,7	159,4	47,3	18,0	0,0	180
212	Kompost	4	4,180	8,4	170,8	81,8	23,0	33,2	212
223	TILL-Substrat	3	7,830	15,7	248,5	54,6	8,9	58,4	872
226	TILL-Substrat	2	12,184	24,4	325,9	92,8	7,6	29,0	520
237	TILL-Substrat	2,5	1,425	2,9	42,4	22,9	95,5	0,0	41
238	TILL-Substrat	2	1,276	2,6	143,8	10,8	15,0	27,1	305
246	TILL-Substrat	1	1,832	4,6**	206,3	14,5	10,6	72,3	323
247	TILL-Substrat	1	9,246	18,5	1449,2	78,1	20,0	63,7	1510

** = nur 20 kg Substrat/0,5 qm

welche den Ertrag im Verhältnis zu normalen Stämmen markiert, fällt von der ersten zur zweiten Gewebekulturvermehrung etwas ab, um danach zur dritten und vierten Gewebekulturvermehrung steil anzusteigen. Der Ertrag von 59c entspricht nach vier Vermehrungen über Gewebekultur dem der Stämme mit normalen Fruchtkörpern. Der Verlauf der durch — — — gekennzeichneten Kurve, die den Anteil der Fruchtkörper von mehr als 200 g Gewicht veranschaulicht, verläuft ähnlich wie die Kurve von normal. Die Entwicklung war auch hier günstig. Der Anteil an großen Fruchtkörpern stieg mit der Anzahl der Vermehrungen über Gewebekulturen. Demgegenüber sank der Anteil an kleinen Fruchtkörpern von weniger als 10 g Gewicht (gestrichelte Linie), was ebenfalls sehr positiv zu bewerten ist. Nicht in Abb. 1 aufgenommen wurde eine Kurve für den Ertrag in Prozent von 59c. Dieser stieg, wie aus Tabelle 1 zu entnehmen ist, derart steil an, daß die Werte nicht in dem gewählten Koordinatensystem unterzubringen waren. Der Ertragsanstieg von 600% im Verhältnis zu 59c findet eine Erklärung in einem starken Ertragsabfall der 59c.

Vergleicht man in Tab. 1 bzw. Abb. 1 die Ertragswerte der ersten (59c) und zweiten Vermehrung über Gewebekultur miteinander, so erkennt man noch keinerlei Ertragssteigerung, eher einen geringen Ertragsabfall in Richtung zweiter Vermehrung. Eine Erklärung hierfür ist die noch fehlende Selektion. Die Gewebekulturen wurden alle aus Fruchtkörpern der 59c entnommen, während die Gewebekulturen der dritten Vermehrung von den besten Gewebekulturen der zweiten Vermehrung stammen und die Gewebekulturen der vierten Vermehrung wiederum von den besten Gewebekulturen der dritten Vermehrung.

Drei der 28 Gewebekulturen von 59c brachten einen relativ hohen Ertrag und wurden daraufhin mehrmals geprüft. Von der Gewebekultur, die in diesen Prüfungen den besten Ertrag hatte, G_{364} *, wurden die Einzelerträge in Tab. 2 aufgeführt. Die Ertragswerte wurden einmal in der Art angegeben, wie es schon an Hand der Tabelle 1 erläutert wurde. Ferner wurde der in der Champignonkultur übliche Begriff „kg/qm“ angeführt, und es wurde die geerntete Menge Pilzgewicht in % des Substratgewichtes ausgedrückt, eine im hiesigen Institut übliche Beziehung. Da die Champignonanbauer unterschiedlich große Substratmengen pro qm Beetfläche verwenden, höhere Mengen Substrat aber höhere Erträge zur Folge haben, gibt der Ausdruck „kg/qm“ allein kein objektives Bild.

Wie die Tab. 2 zeigt, schwankt der Ertrag von G_{364} in den ersten fünf Versuchen von 47—93% im Verhältnis zu dem der normalen Stämme. Dann allerdings geht der Ertrag in den nächsten drei Versuchen hinunter auf 11—23% im Verhältnis zu Normal. Der letzte Versuch bringt dagegen wieder einen relativ hohen Ertrag.

Bis auf Versuch 237 liegt G_{364} in allen Versuchen im Ertrag über 59c.

Von den 13 Gewebekulturen, die aus G_{364} gewonnen wurden, brachten drei einen besonders hohen Ertrag.

* Der Buchstabe G vor der Zahl kennzeichnet die Kultur als Gewebekultur.

Die Ertragswerte dieses Versuches (Vers. 238) wie auch die der folgenden beiden Versuche wurden in Tabelle 3 aufnotiert. Es wurden vier Gewebekulturen gleichzeitig geprüft. Während drei der Gewebekulturen in Versuch 238 einen sehr hohen Ertrag von 14,1—15,5 kg/qm bzw. 28—31% vom Substratgewicht brachten und damit um 19—30% über den gleichzeitig geprüften normalen Stämmen lagen, zeigte die vierte Gewebekultur, G_{482} , nicht ganz so hohe Werte. Sie erreichte 86% vom Ertrag der normalen Stämme.

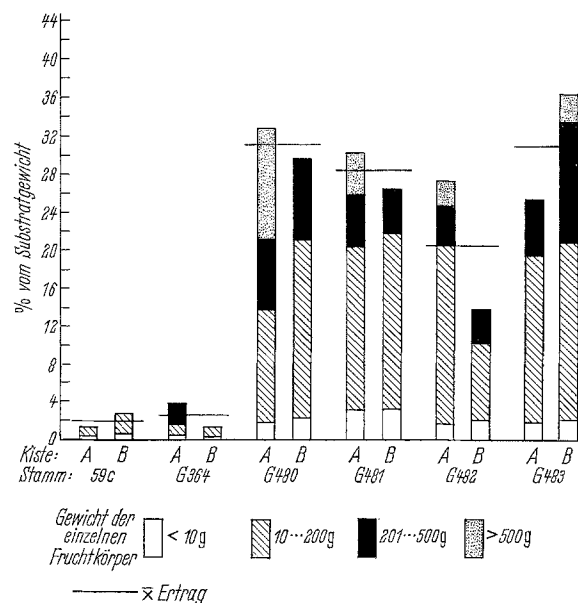


Abb. 2. Ergebnisse von Versuch 238. Erträge in Säulen wiedergegeben. Die unterschiedlichen Ausfüllungen der Säulen veranschaulichen den Anteil von vier Fruchtkörpergrößen am Gesamtertrag

In Abb. 2 wurden die Einzelkistenerträge dieses Versuches, in Prozent vom Substratgewicht ausgedrückt, in Form von Säulen dargestellt. Die Säulen wurden unterteilt in den Anteil der einzelnen Fruchtkörpergrößen am Gesamtertrag. Es wurden folgende vier Größengruppen durch verschiedenartige Abschnitte von unten nach oben verlaufend angeführt: < 10 g, 10—200 g, 201—500 g, > 500 g. In der Zeichnung wurden nicht nur die Einzelerträge der vier neuen Gewebekulturen dargestellt, sondern auch die der Ausgangsgewebekulturen. Aus vier verschiedenen Fruchtkörpern von G_{364} wurden die Gewebekulturen $G_{480-483}$ gewonnen, und G_{364} entstammt wiederum einem Fruchtkörper von 59c.

Während der Gesamtertrag der Stämme durch die Höhe der einzelnen Säulen veranschaulicht wird, ist der Mittelwert durch den die beiden Säulen verbindenden Querstrich angedeutet. Kiste B von G_{364} enthielt nur 6 kg Substrat bei einer Fläche von 38×56 cm (0,2 qm) (Verlust durch schlechtes Wachstum des Mycels und Unsterilität), während alle anderen Kisten 25 kg Substrat auf einer Fläche von 57×87 cm (0,5 qm) enthielten.

Wie die Ertragswerte der Einzelkisten zeigen, schnitt G_{482} im Mittel so schlecht ab, weil Kiste B einen relativ niedrigen Ertrag brachte (Abb. 2). Von dieser Kiste wurden auch keine Fruchtkörper geerntet, die mehr als 500 g wogen und der Anteil an

Tabelle 3. Übersicht über die Erträge der vier besten Gewebekulturen von G₃₆₄. Prüfung im TILL-Verfahren in Kisten à 0,5 qm Fläche

G-Nr.	Versuch Nr.	Prüfung in		\bar{x} Ertrag in		Anteil der Fruchtkörpergewichte in % des Gesamtertrages			Schwerster Fruchtkörper in g	Bemerkungen	
		Anzahl der Kisten	kg Substrat pro Kiste	kg/qm	% vom Substratgewicht	% von 59c	% von normal	Fruchtkörper < 10 g			Fruchtkörper > 200 g
480	238	2	25	15,458	30,9	1736,9	130,3	6,8	44,0	1136	viele 59b-Typen
„	246	1	20	4,988	12,5	561,7	39,4	12,7	71,4	470	
„	247	1	25	14,306	28,6	4459,7	120,8	5,7	56,9	885	
„	238	2	25	14,076	28,2	1582,0	118,5	11,3	25,8	549	viele 59b-Typen viele 59b-Typen
„	246	1	20	0,330	0,8	37,2	2,6	58,0	0,0	60	
„	247	1	25	2,018	4,0	316,3	17,0	3,5	46,8	472	
482	238	2	25	10,172	20,3	1143,8	85,5	10,0	25,4	635	viele 59b-Typen viele 59b-Typen
„	246	1	20	2,232	5,6	251,4	17,6	27,5	0,0	175	
„	247	1	22	4,532	10,3	710,3	38,3	24,5	29,1	580	
„	238	2	25	15,317	30,6	1721,3	128,7	6,2	32,8	708	viele 59b-Typen viele 59b-Typen
„	246	1	20	0,170	0,4	19,1	1,3	9,3	0,0	49	
„	247	1	25	0,284	0,6	44,5	2,4	12,3	0,0	40*	

* = Typ 59 b



Abb. 3. Linke Kiste: In Typ 59b degenerierte Gewebekultur von 59c, mittlere Kiste: Gewebekultur vom Typ 59c, rechte Kiste: Stamm mit normalen Fruchtkörpern

Fruchtkörpern von 201–500 g war gering. Aber auch in Kiste A brachte G₄₈₂ keinen sehr hohen Ertrag. Die Zahl der Wiederholungen ist mit zwei sehr gering. Sie konnte aus den bereits erwähnten technischen Gründen nicht höher gehalten werden.

Die Erträge der Ausgangsgewebekulturen 59c und G₃₆₄ sind auffallend niedrig. Fruchtkörper von über 200 g Gewicht kommen nur in Kiste A von G₃₆₄, dort aber auch nur in geringer Menge vor. In den Kulturkisten wurden wenig Fruchtkörper vom Typ 59c gefunden, dafür aber Fruchtkörper sowie Fruchtkörperanlagen vom Typ 59b. Abb. 3 zeigt auf der linken Seite eine solche Kiste. Man sieht, daß sie mit vielen kleinen Fruchtkörpern bzw. -anlagen bedeckt ist, während die Kiste rechts daneben (eine der neuen Gewebekulturen) nur große Klumpen vom Typ 59c enthält. Ganz rechts zeigt die Aufnahme eine Kulturkiste mit normal geformten Fruchtkörpern zum Vergleich.

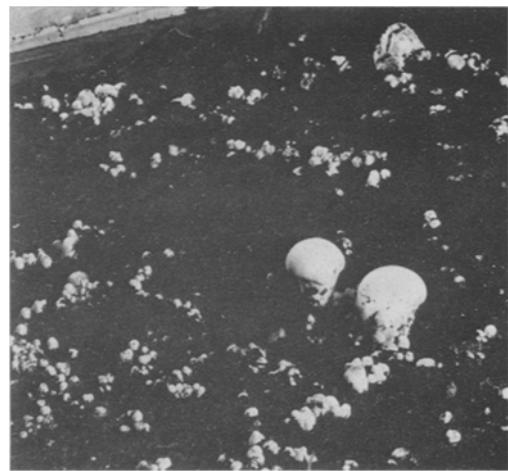


Abb. 4. Im Hintergrund ein Fruchtkörper vom Typ 59c, vorn zwei Fruchtkörper, die dem Typ 59b ähneln, verteilt Fruchtkörperanlagen vom Typ 59b

Die Abbauerscheinungen, die bei 59c und G₃₆₄ beobachtet wurden, sind in Abb. 4 im Ausschnitt einer Kiste deutlicher zu erkennen. Vorne rechts sind zwei dem 59b-Typ ähnliche Fruchtkörper zu sehen. Sie haben einen ovalen Hut, im Gegensatz zu der fast stiellosen 59b-Form aber einen kurzen breiten Stiel. Auf diese Form wird später noch eingegangen werden. Die Kulturfläche enthält ferner

viele ungleichmäßig verformte Fruchtkörperanlagen. Vor den beiden beschriebenen Fruchtkörpern sind einige zusammengewachsene Anlagen zu erkennen. Rechts hinten in Abb. 4 sieht man einen Klumpen vom 59c-Typ.

neuen Gewebekulturen werden laufend durchgeführt. Die Ergebnisse des ersten abgeschlossenen Versuches sind in Tab. 4 aufnotiert. Es handelt sich um Gewebekulturen, die aus fünf verschiedenen Fruchtkörpern der G_{483} gewonnen wurden. Die Erträge

Tabelle 4. Übersicht über die Erträge der fünf bisher geprüften Gewebekulturen aus G_{483} . Prüfung im TILL-Verfahren in je 2 Kisten à 25 kg Substrat und 0,5 qm Fläche. Versuch 251

G-Nr.	\bar{x} Ertrag in				Anteil der Fruchtkörpergewichte in % des Gesamtertrages		Schwerster Fruchtkörper in g
	kg/qm	% vom Substratgewicht	% von G_{483}	% von normal	Fruchtkörper < 10 g	Fruchtkörper > 200 g	
515	17,721	35,4	1887,2	120,7	4,0	51,8	825
518	15,622	31,2	1663,7	106,4	7,0	77,4	860
521	15,533	31,1	1654,2	105,8	5,4	61,2	1500
522	14,140	28,3	1505,9	96,3	8,3	59,6	1800
523	14,084	28,2	1499,9	95,9	5,0	30,8	1265

Die bei 59c und G_{364} veranschaulichten Abbauerscheinungen zeigten sich später auch bei den in Versuch 238 so ertragreichen Gewebekulturen $G_{480-483}$ (Tab. 3). Allerdings verhielten sich die Gewebekulturen unterschiedlich. Wie aus den Ertragswerten der Versuche 246 und 247 in Tab. 3 zu entnehmen ist, ging G_{480} am wenigsten im Ertrag zurück. Sie brachte in Versuch 246 noch 13% vom Substratgewicht, während die anderen drei Gewebekulturen nur noch 0,4–5,6% lieferten. In Versuch 247 erreichte G_{480} mit 28,6% vom Substratgewicht sogar fast den Ertrag des Versuches 238, während die anderen drei Gewebekulturen nur geringe Erträge von 0,6–10,3% vom Substratgewicht brachten.

Die Gewebekulturen $G_{480-483}$ wurden auf Grund ihrer guten Ertragswerte in Versuch 238 über Gewebekulturen vermehrt. Die Ertragsprüfungen der



Abb. 6. Dreijähriger Knabe mit einem 1750 g schweren Fruchtkörper vom Typ 59c



Abb. 5. Kulturkisten mit Gewebekulturen vom Typ 59c im vollen Ertrag

wurden in den gleichen Werten ausgedrückt wie in Tab. 3. Statt 59c wurde jedoch G_{483} zum Vergleich herangezogen, also die Gewebekultur, von der die fünf neuen Gewebekulturen abstammten.

Wie aus Tab. 4 zu entnehmen ist, brachten die fünf Gewebekulturen alle recht hohe Erträge. Abb. 5 zeigt eine Reihe der Kulturkisten im vollen Ertrag. Es wurden in diesem Versuch viele sehr große Fruchtkörper gebildet. Die schwersten Fruchtkörper der einzelnen Gewebekulturen hatten Gewichte von 825–1800 g (Tab. 4). Abb. 6 zeigt einen dreijährigen Knaben, der einen 1750 g schweren Fruchtkörper hochhebt.

Über die Ertragshöhe der einzelnen Kisten gibt die in Abb. 7 gezeigte graphische Darstellung Auskunft. Es wurde hier die gleiche Darstellungsart wie in Abb. 2 gewählt. Wie Abb. 7 veranschaulicht, haben alle Kulturkisten der neuen Gewebekulturen mit einer Ausnahme Fruchtkörper von mehr als 500 g gebracht. Der Anteil dieser Fruchtkörper wie auch der der über 200 g schweren am Gesamtertrag ist sehr groß. Beide zusammen betragen meist mehr als 50%. Dagegen ist der Anteil an Fruchtkörpern unter 10 g sehr gering.

G_{483} zeigt einen sehr niedrigen Ertrag. Die Gewebekultur ist fast völlig in den Vortyp 59b degeneriert. Das entspricht den Ergebnissen, die in den Versuchen 246 und 247 erhalten wurden (Tab. 3).

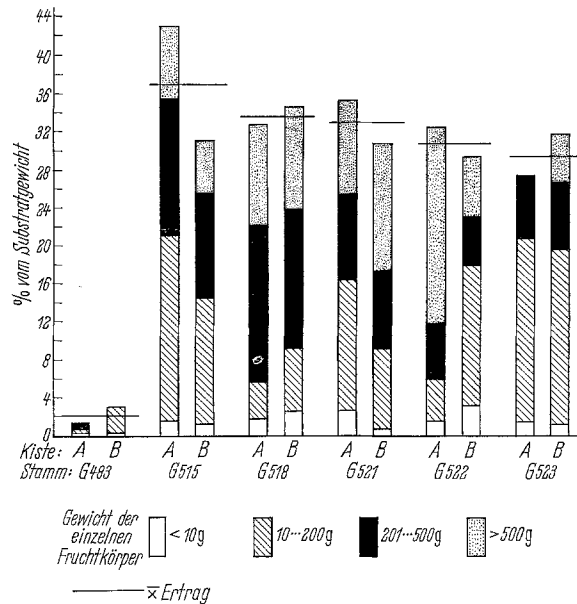


Abb. 7. Ergebnisse von Versuch 251. Erträge in Säulen wiedergegeben. Die unterschiedlichen Ausfüllungen der Säulen veranschaulichen den Anteil von vier Fruchtkörpergrößen am Gesamtertrag

Ergänzend zu den züchterischen Arbeiten der Ertragssteigerung sei erwähnt, daß mit Arbeiten begonnen wurde, von ertragreichen Gewebekulturen durch bestimmte Kulturmaßnahmen noch höhere Erträge zu gewinnen. Die ersten Versuche deuten darauf hin, daß in Parallele zu den Ergebnissen bei normalen Stämmen hohe Mengen Baumwollsaatmehl vor dem Decken gegeben eine Ertragssteigerung zur Folge haben.

C. Erklärung der Ergebnisse

Stamm 59c ist das dritte Glied einer Kette von Mutationen (FRITSCHÉ und VON SENGBUSCH, 1963). Das erste Glied war eine Einzelsporkultur, die stiellose Fruchtkörper mit ovalem, ungleichmäßig ausgebuchtetem Hut lieferte. Die Fruchtkörper besaßen keine Lamellen, enthielten aber einen Hohlraum an der entsprechenden Stelle. Es wurden sehr wenige Fruchtkörper gebildet. In großer Zahl waren jedoch die schon beschriebenen und in Abb. 4 gezeigten deformierten Fruchtkörperanlagen zu finden.

Nach etwa achtmaliger Vermehrung des auf Agar-Nährboden gehaltenen Mycel der Einzelsporkultur wurde eine geringe Veränderung der Fruchtkörperform beobachtet. Die Fruchtkörper waren jetzt nicht mehr ungleichmäßig ausgebuchtet, sondern glattwandig. Der Hohlraum im Inneren war verschwunden. Der neue Stamm wurde mit 59b bezeichnet, der erste mit 59a. Stamm 59b hatte einen genau so geringen Ertrag wie 59a und bildete die gleichen deformierten Fruchtkörperanlagen aus wie dieser.

Nach häufigem Anbau von 59b entstand spontan in einer der Kulturkisten ein Fruchtkörper vom Typ 59c. Durch Vermehrung des Fruchtkörpers über Gewebekultur blieb seine Form erhalten.

Der erste Fruchtkörper vom Typ 59c enthielt vermutlich nicht nur die Erbanlagen vom c-Typ, sondern auch noch jene vom b-Typ. Darauf weisen sowohl die Ertragssteigerungen nach fortlaufender Vermehrung über Gewebekulturen hin als auch der

Ertragsrückgang und das Auftreten der Fruchtkörper und -anlagen vom Typ 59b in den älteren und durch Mycelteilung vermehrten Gewebekulturen.

In allen Fruchtkörpern, die die Form 59c zeigen, dürften die Kerne mit den Erbanlagen für die Form 59c überwiegen oder mindestens in einer bestimmten hohen Zahl vorhanden sein. Der Ertrag eines 59c-Stammes ist vermutlich um so höher, je mehr im Mycel die Zahl der Kerne vom Typ 59c gegenüber denen von dem ertragsarmen Typ 59b überwiegt. Durch fortlaufende Vermehrung der Fruchtkörper vom Typ 59c durch Abimpfung kleiner Stücke des Plektenchym wurde der Anteil der c-Kerne vermutlich erhöht, und es wurden die b-Kerne allmählich immer mehr zurückgedrängt. Möglicherweise erhöht sich bei weiterer Vermehrung über Gewebekultur der Ertrag weiterhin und erreicht sein Maximum, wenn alle b-Kerne verdrängt worden sind.

Die Annahme, daß die Erbanlagen im Kern liegen, basiert auf folgenden cytologischen Grundlagen. Der Kulturchampignon enthält in allen Zellen außer in der Basidie haploide Kerne sehr unterschiedlicher Zahl (KLIGMAN, 1943; SARAZIN, 1955; EVANS, 1959). Die Kerne teilen sich unabhängig voneinander, und es besteht kein Zusammenhang zwischen Kernteilung und Zellwandbildung. Die bei vielen Basidiomyceten zu beobachtende Schnallenbildung fehlt. Es erscheint demnach möglich, daß sich die Zahlenverhältnisse verschiedener Kerntypen zueinander im

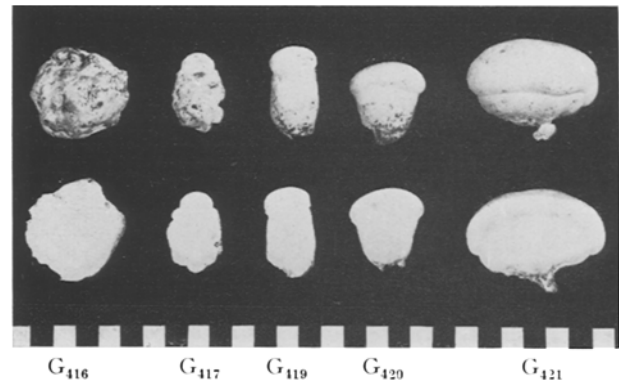


Abb. 8. Links außen: Fruchtkörper vom Typ 59c; rechts außen: Fruchtkörper vom Typ 59b; dazwischen: Übergangstypen; obere Reihe: Aufsicht; untere Reihe: Querschnitt; Maßstabeinteilung in cm

Verlaufe des Mycelwachstums fortwährend ändern können. Es ist die Frage, wann die c-Form und wann die b-Form ausgebildet wird und ob es bei annähernd gleicher Anzahl beider Kerntypen zur Ausbildung von Zwischenformen kommt.

Tatsächlich wurden verschiedentlich Fruchtkörper beobachtet, die weder der reinen c-Form noch der reinen b-Form entsprachen. In Abb. 8 sind solche Fruchtkörper abgebildet, in der oberen Reihe in Außenansicht, in der unteren Reihe im Querschnitt.

Von allen Fruchtkörpern wurden Gewebekulturen geschnitten, bei den Hutbildnern getrennt aus Hut und Stiel. Sie wurden hinsichtlich der Form ihrer Fruchtkörper geprüft. Die Prüfung erfolgte auf Kompost in je einer Kiste von 38×56 cm Fläche (0,2 qm) und etwa 8 kg Substrat.

Tab. 5 gibt eine Übersicht über die Ergebnisse. Die Gewebekultur aus dem c-Typ (G₄₁₆) brachte nur

Fruchtkörper der Form 59c. Der in Abb. 8 an zweiter Stelle von links liegende Fruchtkörper (G₄₁₇) lieferte ebenfalls nur Fruchtkörper der c-Form, wenn das Plektenchymstück dem c-förmigen Stielteil entnommen wurde. Das aus dem hutartigen Teil geschnittene Plektenchymstück brachte dagegen auch einen großen Prozentsatz an Übergangstypen hervor und einige Fruchtkörper vom b-Typ. In Richtung zum b-Typ (Abb. 8) nahm der Anteil der Übergangs- und b-Formen rasch zu. Die Plektenchymstücke des reinen b-Types lieferten schließlich nur noch b-förmige Fruchtkörper.

als c-Form in Erscheinung getreten. Die vorhandenen b-Kerne konnten sich bis zur Fruchtkörperbildung nicht genügend vermehren, um die c-Form zu verdrängen.

Wurde das Mycel jedoch vor der Brutherstellung einige Male geteilt, konnten sich die Kerne des b-Types entsprechend vermehren. Es hat den Anschein, als ob sie gegenüber den Kernen des c-Types begünstigt sind, doch müssen auf diesem Gebiete noch viele Versuche durchgeführt werden.

Allerdings ist unbekannt, ob die entsprechenden Erbanlagen wirklich im Kern liegen. Auf Grund

Tabelle 5. Übersicht über die Fruchtkörperformen von Gewebekulturen, die aus den in Abb. 8 gezeigten Fruchtkörpern geschnitten wurden

G-Nr.	Gewebekultur aus Typ	aus Stiel oder Hut	% Anteil an Fruchtkörpern vom		
			Typ 59c	Übergangstyp	Typ 59b
416	59c		100		
417	Übergangstyp, Stiel wie 59c, Hutandeutung	Stiel Hut	100 24	68	8
419	Übergangstyp, dicker, glatter Stiel, eng anliegender runder Hut	Stiel Hut	16	31 56	69 28
420	Übergangstyp, doch schon fast b-Form, nur Stiel etwas länger	Stiel Hut		71	29 100
421	59b	Stiel Hut			100 100

Ein zweiter Fruchtkörper der 59c-Form mit Hutandeutung (Abb. 8, zweiter Fruchtkörper von links) wurde gefunden und über Gewebekultur vermehrt. Hier brachte der 59c-gleichende Stiel nicht nur Fruchtkörper vom Typ 59c hervor, sondern in gleicher Anzahl auch Übergangstypen. Der Hut lieferte alle drei Formen.

Die Ergebnisse der Tab. 5 bestätigen die Annahme, daß die Kerne mit den Erbanlagen für die b- oder die c-Form in verschiedenen Mengenverhältnissen im Mycel und in den Fruchtkörpern vorkommen.

In diesem Zusammenhang sei noch ein Fruchtkörper von besonderer Form erwähnt (Abb. 9), der nur ein einziges Mal auftrat. Der untere Teil entsprach dem c-Typ. Aus diesem Teil erhob sich ein stielartiges, S-förmig gebogenes Gebilde, dessen Außenteile aufgeplatzt waren und das an seinem Ende einen rudimentären runden Hut trug. Von allen Teilen des Fruchtkörpers wurden Gewebekulturen geschnitten in der Hoffnung, die neue Fruchtkörperform zu erhalten. Dies gelang jedoch nicht. Die Gewebekulturen brachten aber einen hohen Prozentsatz an Fruchtkörpern vom Typ 59b, während die Kultur, in der der eigenartige Fruchtkörper wuchs, nur Fruchtkörper vom Typ 59c getragen hatte.

Ein weiterer Beweis für das Vorhandensein der Erbanlagen vom b-Typ im Mycel der 59c-Kulturen ist deren Ertragsrückgang. Das Auftreten der Fruchtkörper vom Typ 59b macht sichtbar, worauf der Ertragsrückgang beruht. Frische Gewebekulturen aus Fruchtkörpern ertragreicher Gewebekulturen des 59c-Types lieferten bisher immer mehr oder weniger gute Erträge. Die zur Vermehrung verwendeten Fruchtkörper mußten vorwiegend die Kerne des c-Types enthalten, sonst wären sie nicht

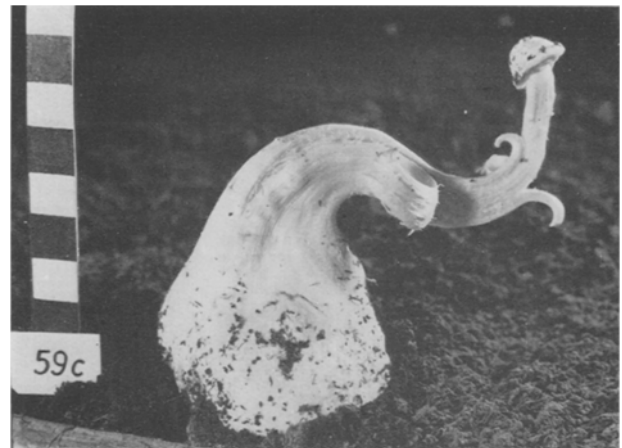


Abb. 9. Im Kulturbeet von Stamm 59c aufgetretener Fruchtkörper neuer Form. Maßstabeinteilung in cm

der bereits erwähnten Kernverhältnisse in *Agaricus bisporus* ist es denkbar. Das Mycel ist heterocaryotisch und variiert hinsichtlich Zahl und Verteilung der verschiedenen Kernarten. Bei anderen Pilzen, z. B. bei den Fungi imperfecti (HOFFMANN, 1964), wird die Heterocaryose als eine der wichtigsten Ursachen für die große Variabilität in dieser Klasse angesehen.

Die Möglichkeit, daß es sich bei 59b und 59c um Plasmon-Mutationen handelt, darf jedoch nicht ausgeschlossen werden. Bei dem wie der Kulturchampignon zu den Basidiomyceten gehörenden Pilz *Coprinus* wurden Plasmon-Mutationen nachgewiesen (QUINTANILHA und BALLE, 1940; DICKSON, 1936; KIMURA, 1954 nach ESSER und KUENEN, 1965).

Entmischungen sind auch möglich, wenn die Erbanlagen ihren Sitz im Plasma haben.

D. Diskussion

Stamm 59c weicht in vielen Eigenschaften so stark vom Kulturchampignon ab, daß man sagen kann, es ist eine neue Kulturpflanze entstanden. Diese neue Kulturpflanze gilt es sowohl züchterisch zu bearbeiten als auch hinsichtlich ihrer Ansprüche an die Umwelt zu erforschen.

Welche Ertragssteigerungen möglich sind, zeigen die in den Tab. 1, 3 und 4 aufgeführten Werte. Es fehlt jedoch noch die Ertragssicherheit, wie die in kurzer Zeit aufgetretenen Abbauerscheinungen zeigen (Tab. 3). Die Züchtung auf Konstanz ist deshalb eines der wichtigsten Zuchtziele. Einer der beschrittenen Wege ist folgender. Aus ausgesuchten Fruchtkörpern wird je ein kleines Plektenchymstück auf die Mitte einer mit Agar-Nährboden gefüllten Petrischale eingepft. Wenn sich das Mycel etwas entwickelt hat, werden unter dem Mikroskop einzelne Hyphenspitzen abgeimpft und auf frischen Nährboden übertragen. Nach wiederholter Teilung des Mycels der isolierten Hyphenspitzen soll eine Ertragsprüfung zeigen, ob der 59b-Typ wieder in Erscheinung tritt oder ob die Hyphenspitze nur Kerne des 59c-Typen enthielt. Natürlich sind weitere Mycelvermehrungen und Ertragsprüfungen nötig, um letzteres mit Sicherheit sagen zu können.

Auch der Weg der wiederholten Vermehrung über Gewebekultur wird fortgesetzt, um vielleicht auf diese Weise die Erbanlagen des 59b-Typen zu eliminieren.

Sehr variabel ist der Stamm 59c auch in der Qualität seiner Fruchtkörper. Das betrifft vor allem die Oberfläche, die Form, die Konsistenz und die Farbe des Querschnittes. Manche Fruchtkörper verfärben sich braun, wenn sie angeschnitten werden, während andere rein weiß bleiben. Vermutlich enthalten die sich braun färbenden Fruchtkörper L-Tyrosin und das Enzym Tyrosinase (HUGHES, LYNCH und SOMMER, 1958; HUGHES, 1961), während den weiß bleibenden Fruchtkörpern diese Stoffe oder einer von ihnen fehlen. Wenn die Annahme stimmt, dürfte eine Selektionszüchtung Erfolg bringen.

Manche Fruchtkörper haben innen braune Stellen, die nicht erst beim Anschneiden entstehen. Es ist ein Braun, das der Farbe der Sporen gleicht. Die Frage ist offen, ob hier irgendwelche stofflichen Parallelen zur Reife der Sporen bestehen. Das Alter der Fruchtkörper spielt bei dieser Braunfärbung eine Rolle. Es gibt aber auch Fruchtkörper, die die Braunfärbung auch im überreifen Zustand nicht zeigen. Vermehrungen dieser Fruchtkörper durch Gewebekulturen führen vielleicht zu Stämmen, die die wertmindernden Braunfärbungen nicht mehr aufweisen.

Hinsichtlich der Konsistenz der Fruchtkörper dürften genetische wie ökologische Ursachen gleichermaßen bedeutend sein. Wahrscheinlich treten weiche Fruchtkörper vor allem in Beeten mit zu hoher und zu feuchter Deckerdeschicht auf. Die Gewebekulturen reagieren möglicherweise verschieden auf die Umweltbedingungen.

Bei den züchterischen Arbeiten mit dem Stamm 59c führte eine fortlaufende Vermehrung über Ge-

webekulturen zum Erfolg. Die Gewebekulturmethode hat aber in anderen Fällen negative Ergebnisse gebracht (SARAZIN, 1952; LAMBERT, 1959; FRITSCHÉ, 1966).

Die mit dem Stamm 59c erzielten positiven Ergebnisse beruhen auf einem allmählichen Zurückdrängen des Anteiles negativer Erbanlagen durch wiederholte Vermehrung bestimmter Fruchtkörpertypen. Der Erfolg war dadurch möglich, daß man den Fruchtkörpern ansehen konnte, welche der beiden in Frage kommenden Kerntypen sie vorwiegend enthielten. In den meisten Fällen wird man jedoch den Fruchtkörpern nicht ansehen, ob sie die erwünschten oder unerwünschten Kerne in der Mehrzahl enthalten. Also wird die Gewebekulturmethode in diesen Fällen unsicher sein, das heißt nicht geeignet zur Erhaltungszüchtung.

Da bei Gewebekulturvermehrungen häufig nicht nur eine Ertragsunsicherheit, sondern auch ein Ertragsrückgang zu beobachten war, streben wir auch bei 59c eine Erhaltungszüchtung ohne Gewebekulturmethode an. Das heißt, wir wollen nicht mehr die Fruchtkörper durch Abimpfung von Plektenchymstücken vermehren, sondern das auf Agar-Nährboden gehaltene Mycel teilen. Eine solche Vermehrung wird aber erst möglich sein, wenn die Gene für 59b völlig aus dem Mycel des Stammes 59c eliminiert worden sind.

E. Zusammenfassung

1. Es wird über die züchterische Bearbeitung eines Champignonstammes berichtet, der Fruchtkörper neuer Form hervorbringt. Die Fruchtkörper besitzen weder einen Stiel, noch einen Hut, noch Lamellen, sondern sind klumpenförmige Gebilde, die bis 1,8 kg schwer werden können. Sie haben ein sehr gutes Aroma und können in Scheiben geschnitten wie Schnitzel gebraten werden oder in der Suppenindustrie Verwendung finden. Ferner brauchen sie nicht so häufig geerntet zu werden wie Stämme mit normalen Fruchtkörpern.

2. Eine der negativen Eigenschaften des mit „59c“ bezeichneten Stammes ist sein geringer Gesamtertrag. Die ersten züchterischen Arbeiten konzentrierten sich auf eine Erhöhung des Ertrages, weil ein bestimmter Ertrag Voraussetzung für die praktische Verwertbarkeit eines Stammes ist.

3. Durch fortlaufende Vermehrung über „Gewebekultur“ (Plektenchymvermehrung) und Selektion (d. h. es wurden ausgesuchte Fruchtkörper der ertragreichsten Gewebekulturen vermehrt) stieg der Ertrag im Vergleich zu normalen Stämmen von ca. 35% in der ersten Gewebekulturvermehrung auf 105% in der vierten Gewebekulturvermehrung an.

4. Die Gewebekulturen ließen jedoch in der Regel bald im Ertrag nach und bildeten Fruchtkörper vom Typ einer ertragsarmen Vorform aus, Typ 59b.

5. Der Ertragsrückgang und das Auftreten der Vorform werden durch Anreicherung der Erbanlagen des 59b-Typen im Mycel des 59c-Typen erklärt. Der erste Fruchtkörper vom c-Typ, der sich spontan in einem mit 59b gespickten Kulturbeet bildete und durch Gewebekultur vermehrt wurde, enthielt vermutlich noch Kerne mit den Erbanlagen der Form

59b, die sich im Verlaufe des Mycelwachstums vermehrten.

6. Fruchtkörper, die zwischen die Formen 59b und 59c eingeordnet werden konnten, brachten nach Gewebekulturvermehrung sowohl 59b- als 59c-Formen sowie Zwischenformen hervor. Sie erhielten ihre Gestalt vermutlich durch ein bestimmtes Zahlenverhältnis der Kerne mit den Erbanlagen für 59b und 59c.

7. Mit Arbeiten zur Konstanthaltung der hohen Ertragsleistung von 59c (Eliminierung der 59b-Kerne) und Verbesserung der Fruchtkörperqualität wurde begonnen.

Herrn Professor Dr. R. VON SENGBUSCH möchte ich herzlich für sein großes Interesse an den Arbeiten mit diesem Stamm und seine Ratschläge danken. Herrn Dr. habil. R. REIMANN-PHILIPP sei für die kritische Durchsicht des Manuskriptes gedankt. Fräulein Irmela CARBOW danke ich vielmals für die sorgfältige Betreuung der Versuche und Herrn Konrad ENGELHARDT für die Photographien. Auch allen anderen, die mich bei den Arbeiten unterstützten, möchte ich danken.

Literatur

1. DICKSON, H.: Observations of inheritance in *Coprinus macrorrhizus* (PERS) REA. Ann. Bot. **50**, 719–733 (1936). — 2. ESSER, K., und R. KUENEN: Genetik der Pilze. Berlin/Heidelberg/New York: Springer 1965. — 3. EVANS, H. J.: Nuclear behaviour in the cultivated mushroom. Chromosoma (Berl.) **10**, 115–135 (1959). — 4. FRITSCH, GERDA: Versuche zur Frage der Erhaltungszüchtung beim Kulturchampignon. II. Vermehrung durch Gewebekulturen. Der Züchter **36**, 224–233 (1966). — 5. FRITSCH, GERDA, und R. V. SENGBUSCH: Beispiel

der spontanen Entwicklung neuer Fruchtkörperformen beim Kulturchampignon. Der Züchter **33**, 270–274 (1963). — 6. HOFFMANN, G. M.: Untersuchungen über die Kernverhältnisse bei *Fusarium oxysporum* f. *cal-listephi*. Arch. Mikrobiol. **49**, 51–63 (1964). — 7. HUGHES, D. H.: A naturally occurring substrate of mushroom polyphenoloxidase. Dissertation Universität Delaware (1961). — 8. HUGHES, D. H., D. L. LYNCH and G. F. SOMMER: Mushroom analysis. Chromatographic Identification of the Amino Acids and Carbohydrates in the cultivated mushroom *Agaricus campestris* L. ex Fries. Jour. Agr. Food Chem. **6**, 850–853 (1958). — 9. HUHNKE, W., und R. V. SENGBUSCH: Aktivmycelspickung von Champignonkulturen. Deutsche Gartenbauwirtsch. **7**, 238–239 (1959). — 10. HUHNKE, W., GERTRAUD LEMKE und R. V. SENGBUSCH: Die III. Phase der Entwicklung des Champignonanbauverfahrens auf nicht kompostiertem sterilen Nährsubstrat. Gartenbauwissenschaft (im Druck). — 11. KIMURA, K.: On the diploidization by the double compatible diploid mycelium in the hymenomycetes. Bot. Mag. (Tokyo) **67**, 238–242 (1954). — 12. KLIGMAN, A. M.: Some cultural and genetic problems in the cultivation of the mushroom „*Agaricus campestris*“. Amer. J. of Bot. **30**, 745–762 (1943). — 13. LAMBERT, E. B.: Improving Spawn Cultures of Cultivated Mushrooms. Mushroom Science **IV**, 33–51 (1959). — 14. LEMKE, GERTRAUD: Champignonkultur auf nicht kompostiertem Strohs substrat mit „Startdüngung“. Deutsche Gartenbauwirtsch. **11**, 167–169 (1963). — 15. QUINTANILHA, A., et S. BALLE: Etude génétique des phénomènes de nanisme chez les hymenomycètes. Boll. Soc. Brot. **14**, 17–46 (1940). — 16. SARAZIN, A.: The cultivated Mushroom. 5. Germination of spores and development of mycelium. M G A Bull. **33**, 281–285 (1952). — 17. SARAZIN, A.: The cultivated mushroom. Übersetzung aus dem Französischen von Dr. C. J. La TOUCHE (1955). — 18. TILL, O.: Champignonkultur auf sterilisiertem Nährsubstrat. Deutsche Gartenbauwirtsch. **9**, 215–216 (1961).