

Aus dem Max Planck-Institut für Kulturpflanzenzüchtung Hamburg-Volksdorf

## Untersuchungen über die Bildung und Regeneration von Fruchtkörpern bei Hutpilzen

### I. *Pleurotus Florida*

Von

GERLIND EGER

Mit 4 Textabbildungen

(Eingegangen am 10. Dezember 1964)

In der älteren Literatur gibt es Beispiele für ein Regenerationsvermögen bei Hutpilzen, welches aus einer mehr oder weniger starken Ergänzung herausgeschnittener Sektoren aus Hut und Stiel besteht (MAGNUS 1901). Diese Art von Regeneration ist durch eine Verschiebung der Wachstumszonen und -intensitäten bereits differenzierter Fruchtkörperpartien erklärbar. Sie ist zu unterscheiden von einer Regeneration neuer, vollständiger Fruchtkörper aus differenzierten Fruchtkörperstücken, wie sie BEVAN u. KEMP 1958 für *Flammulina (Collybia) velutipes* Curt. ex. Fr. wohl erstmals beschrieben haben. 1961 berichtete auch KARPIŃSKI über die Regeneration neuer Fruchtkörper aus größeren Stielstücken von *Boletus edulis* Bull. ex. Fr. Unter gewissen Bedingungen wurde auch bei *Agaricus bisporus* (Lge.) Sing. eine Regeneration neuer Fruchtkörper beobachtet (EGER 1963). Demnach scheint diese Fähigkeit zur Regeneration bei Hutpilzen verbreitet zu sein. Wie sie zustande kommt, ist von großem Interesse; läßt doch die äußere Übereinstimmung in der Ausbildung der Fruchtkörper bei Mycelkulturen und bei der Regeneration auch eine Ähnlichkeit der physiologischen Voraussetzungen für die Fruchtkörperbildung erwarten. Die Regenerationsfähigkeit näher zu untersuchen und für das Studium der Morphogenese auszunutzen, ist der Zweck dieser und weiterer Arbeiten.

### A. Methodik

#### 1. Material

a) *Pleurotus Florida*. Dieser Stamm wurde von BLOCK (Gainesville/Florida) als *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex. Fr.) Quél. isoliert. Die Fruchtkörper unterscheiden sich unter Kulturbedingungen aber von denen eines *Pleurotus ostreatus*-Stammes aus Deutschland. SMITH (Ann Arbor/Michigan) fand Ähnlichkeit mit *Pleurotus cornucopiae* Paul ex. Fr.<sup>1</sup>. Bis zur genauen Feststellung der Artzugehörigkeit sei daher nur von „*Pleurotus Florida*“ die Rede.

<sup>1</sup> Herrn Dr. ALEXANDER H. SMITH danke ich für sein Fachurteil.

b) *Agaricus bisporus* (Lge.) Sing. Es wurden Fruchtkörper von Handelssorten und vom Stamm 59c mit *Calvatia*-förmigen Fruchtkörpern (FRITSCH 1963) verwendet.

c) *Flammulina velutipes* (Curt. ex. Fr.) Sing. Ein Dikaryon ( $L_1 \times L_2$ ) stammt von ASCHAN-ÅBERG (Uppsala), das andere von K. MORI (Tokio).

## 2. Versuchsbedingungen

Die Mycelien wurden auf 15–17 ml Nährboden mit 2,5% Biomalz (Malzin/München) und 1,5% Marokkanischem Agar-Agar in Petrischalen aus Polystyrol bei 24°C im Dunkeln herangezogen. Zum Schutz vor Austrocknung wurden sie in Beuteln aus Polyäthylen gehalten, bis der Nährboden durchwachsen war. Das dauerte 7–10 Tage. Dann kamen die Kulturen zur Fruchtkörperbildung ohne Beutel in einen Raum mit 18–20°C, Tageslicht, Luftzirkulation und Luftbefeuchtung (dreimal täglich auf 95% durch Zerstäuben von Wasser mit einem Aerosolgerät. Minimum 60%). Fruchtkörperstücke, die sich regenerieren sollten, wurden nur den für die Fruchtkörperbildung günstigen Bedingungen ausgesetzt.

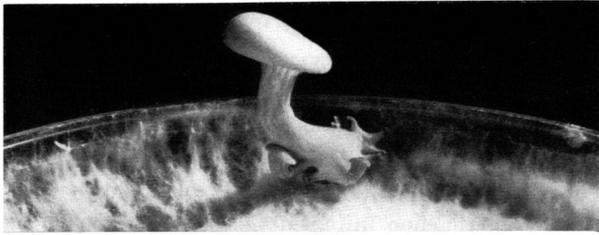
Die Fruchtkörper von *Pleurotus* und *Flammulina* wuchsen unter aseptischen Bedingungen heran und wurden auch aseptisch geerntet und zerschnitten. Ein Teil der *Pleurotus*-Fruchtkörper stammte jedoch nicht von dem oben beschriebenen Agar-Nährboden, sondern von einem sterilisierten Substrat aus Stroh mit Torf, Soja- und Baumwollsaatmehl (TYLL 1962) oder geschrotetem Hafer (BLOCK 1958). Alle Fruchtkörper von *Agaricus* waren unter kommerziellen Bedingungen entstanden. Die Versuche mit 10–15 Petrischalen je Behandlungsart und Kontrolle wurden mindestens dreimal von verschiedenen Personen wiederholt. Alle Schalen eines Versuches wurden entsprechend dem „Lateinischen Quadrat“ gemischt gestapelt, um den Einfluß eventueller Positionsunterschiede (in bezug auf Licht und Ventilation) auszugleichen.

## B. Versuche und Ergebnisse

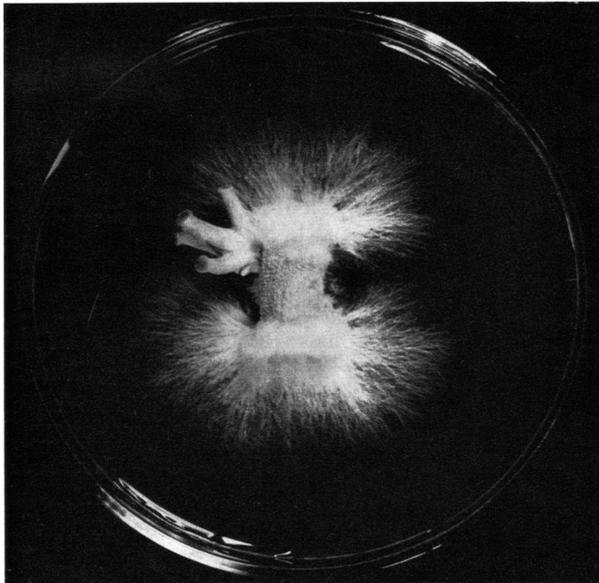
### 1. Fruchtkörperbildung von *Pleurotus* auf Malzagar

Die Fruchtkörperbildung war sehr unregelmäßig. Frühestens 20 Tage nach dem Aufstellen der Kulturen im hellen Raum wurden die ersten Fruchtkörperanlagen beobachtet. Oft gab es innerhalb des Beobachtungszeitraumes von 40–50 Tagen gar keine Fruchtkörper. Im günstigsten Versuch waren 84% der Mycelien fertil. Je Schale gab es 1–2, in sehr seltenen Fällen 4–5 Fruchtkörperanlagen, und zwar bevorzugt am Rand. Die meisten Anlagen blieben kümmerlich und vertrockneten. Nur wenige wuchsen zu horn- oder geweihartigen Gebilden von 3–5 cm Länge heran. Zuweilen gab es rudimentäre Hüte. Voll entwickelte Fruchtkörper mit reifen Sporen (Abb. 1 a) wurden nur erhalten, wenn Schalen mit Anlagen offen in eine feuchte Kammer gestellt und mit feuchter Luft umspült wurden. Bei den meisten Versuchen wurde auf die Ausbildung vollständiger Fruchtkörper verzichtet.

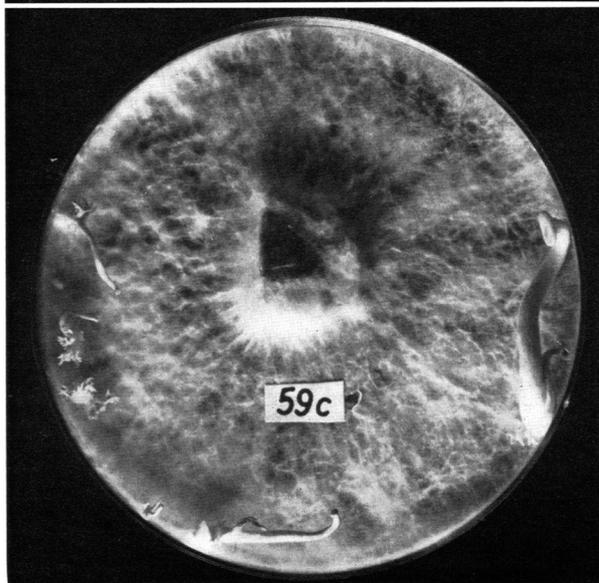
Abb. 1. a Fruchtkörper von *Pleurotus Florida* mit reifen Sporen am Rand einer Mycelkultur. b Stück eines Fruchtkörperstieles, seit 7 Tagen auf Biomalzagar. Aus den Schnittflächen wächst Mycel heraus, aus der unverletzten Oberfläche werden unzählige Fruchtkörperanlagen regeneriert. In unmittelbarer Nähe des Agars wachsen einige zu jungen Fruchtkörpern heran. c Mycel von *Pleurotus*, auf welches vor 18 Tagen ein Fruchtkörperstück von *Agaricus bisporus* 59c gelegt worden ist. Am Rand der Schale Fruchtkörperanlagen und Fruchtkörper von *Pleurotus*



a



b



c

Abb. 1 (Legende siehe S. 344)

## 2. *Regeneration von Pleurotus*

40 Stielstücke (1 cm  $\varnothing$ , etwa 1,5 cm lang) von wohlentwickelten Fruchtkörpern und 30 kümmerliche, ganze Fruchtkörper mit rudimentären Hüten ( $\varnothing$  des Stiels 3—4 mm) wurden, entsprechend den Versuchen von BEVAN u. KEMP (1958) auf frischen Malzagar gelegt. Aus ersteren wuchs aus den Schnittflächen üppig Mycel heraus. Gleichzeitig regenerierte die unverletzte Oberfläche unzählige Fruchtkörperanlagen. Besonders in unmittelbarer Nähe des Agars wuchsen sie kräftig. Bereits nach 7 Tagen gab es auf allen Stücken neue Fruchtkörper von etwa 1 cm Länge (Abb. 1 b). Von den kümmerlichen Fruchtkörpern regenerierte einer nicht. Er bedeckte sich ganz mit dichtem, flauschigem Mycel. Auch auf den anderen, kümmerlichen Exemplaren war auf der Oberfläche mehr oder weniger, kurzes oder flauschiges Mycel zu beobachten. In allen Fällen war bei Versuchsende die regenerierte Fruchtkörpersubstanz ein Mehrfaches der Ausgangssubstanz.

Pilzmycelien lassen sich ohne zu starke Einbuße der Lebensfähigkeit durch Aufbewahren bei  $-20^{\circ}\text{C}$  konservieren (CARMICHAEL 1962; RAPER, J. R., persönliche Mitteilung). Es wurde geprüft, ob sich auch Fruchtkörperstücke und ihre Regenerationsfähigkeit auf diese Weise haltbar machen lassen. 36 Stücke von Stielen kräftiger bis kümmerlicher Fruchtkörper wurden einige Tage bis Wochen bei  $-20^{\circ}\text{C}$  eingefroren. Nach dem Auftauen war die Permeabilität gestört. Die Stücke sahen mehr oder weniger glasig aus, und der Zellsaft ließ sich leicht herausdrücken. Auf Agar gelegt, entwickelten sie trotzdem ein kräftiges Mycel und 23 regenerierten wie frisches Material. Diejenigen Stücke, die nicht regenerierten, zeigten weder eine Beziehung zur Größe noch zur Herkunft der Fruchtkörper. Von mehreren Stücken desselben Stieles zeigten ein oder zwei keine, die Nachbarstücke aber kräftige Regeneration.

Bei *Pleurotus* kann man also wie bei *Flammulina velutipes* (BEVAN u. KEMP 1958) unter Ausnutzung der Regenerationsfähigkeit relativ schnell neue Fruchtkörper erhalten. Da die Regenerationsfähigkeit nach dem Tiefgefrieren noch erhalten ist, kann man bei Bedarf auf Gefrierkonserven zurückgreifen.

### 3. *Hat vorkultiviertes Mycel einen Einfluß auf die Regeneration?*

Zum Unterschied zu den vorangegangenen Versuchen wurden frische Stielstücke auf vorkultiviertes Mycel gelegt, welches den Agarnährboden ganz durchwachsen hatte. Die Regeneration setzte, wie in den vorausgegangenen Versuchen, sofort ein und hatte augenscheinlich dasselbe Ausmaß. Ein Einfluß des Mycels ließ sich auf diese Weise nicht feststellen.

#### 4. Beeinflussen regenerierende Fruchtkörperstücke die Fruchtkörperbildung am Mycel?

1—1,5 cm lange, gefrorene Stielstücke kümmerlicher bis sehr kräftiger Fruchtkörper wurden, wie in den Versuchen unter 3., auf vorkultiviertes Mycel gelegt und die Fruchtkörperbildung an diesem verglichen mit gleichaltrigen Kontrollkulturen ohne Stielstücke. Die unterschiedlichen Ergebnisse dieser Versuche sind in Tab.1 zusammengefaßt. In zwei Versuchen (1 und 2, Tab.1) setzte die Regeneration auf allen Stielstücken sofort ein. Nur im Versuch 1 gab es in einer von zehn Schalen (10%) einen Fruchtkörper am Mycelrand. Bei den Kontrollen war die Fruchtkörperbildung mit 30% geringfügig besser. In zwei weiteren Versuchen (3 und 4, Tabelle 1) regenerierte nur ein Teil der Fruchtkörperstücke. Die Fruchtkörperbildung am Mycel war aber ganz erheblich in den Schalen mit Stielstücken, dagegen Null bei den Kontrollen. Sie begann bereits nach 10 bzw. 18 Tagen und im Versuch 3 unabhängig davon, ob die Stielstücke regenerierten oder nicht. In den Versuchen 5 und 6 der Tab.1 blieb die Regeneration aus. Die Fruchtkörperbildung am Mycel war deutlich besser als bei den Kontrollen. Sie begann früher, und der Anteil der Kulturen mit Fruchtkörpern war größer. Es gab im Versuchsmittel je Schale mehr und auch größere Fruchtkörper (doch sind die letzten beiden Unterschiede nicht bei allen Wiederholungen signifikant). In allen Versuchen, außer 1 der Tab.1, wuchs auf den Stielstücken mehr oder weniger Mycel, und zwar um so dichter, je schwächer die Regeneration war. Die Neubildung von Fruchtkörpern fand nicht in der Nähe der Stielstücke, sondern — wie bei den Kontrollen — bevorzugt am äußeren Rand des Mycels statt.

Diese Versuche zeigten mit abnehmender Regenerationsfähigkeit der Stielstücke eine Zunahme der Fruchtkörperbildung am Mycel. Unklar ist, warum die Stielstücke nicht in allen Versuchen der Tab.1 regenerierten. Die zweite Spalte der Tab.1 enthält Angaben über den Zustand des jeweils verwendeten Fruchtkörpermaterials. Daraus ist ersichtlich, daß es von Versuch zu Versuch variiert war. Eine Korrelation zwischen der Größe der Fruchtkörper oder dem Ausbildungsgrad der Hüte und dem Regenerationsvermögen ist nicht zu erkennen.

Wie kommt die Förderung der Fruchtkörperbildung am Mycel zustande? In vergleichbaren Versuchen mit nicht gefrorenen Stielstücken auf vorkultiviertem Mycel (S. 346) hatte das Mycel keine Fruchtkörper gebildet. Auch in den Regenerationsversuchen mit frischem Material auf Agar (S. 346) gab es keine Fruchtkörper. Dagegen fruktifizierte das Mycel mehrerer Kulturen aus tiefgefrorenen Fruchtkörperstücken, an denen die Regeneration unterblieben war. Es muß die Förderung der Fruchtkörperbildung daher irgendwie durch das Gefrieren der Fruchtkörperstücke ermöglicht worden sein. Man kann annehmen, daß durch das

Tabelle 1. Übersicht über die Regeneration und die Neubildung von Fruchtkörpern bei *Pleurotus*-Kulturen, welche mit gefrorenen Fruchtkörperstücken belegt worden waren

Versuch	Aussehen der verwendeten FK	Behandelte Kulturen										Kontrollen				
		% Kulturen mit regenerierten FK					% Kulturen mit FK am Mycel					% Kulturen mit FK am Mycel				
		I	II	III	IV	V	I	II	III	IV	V	I	II	III	IV	V
1	wohntwickelte Hüte, Stiel — $\varnothing$ um 10 mm	100	100	100	100	100	—	—	—	—	10	—	—	—	—	30
2*	} rudimentäre Hüte, Stiel — $\varnothing$ um 3 mm	100	100	100	100	100	—	—	—	—	—	—	—	—	11	33
3		20	20	40	60	—	40	50	70	70	—	—	—	—	—	—
4		—	12	12	—	—	—	88	88	—	—	—	—	—	—	—
5	kleine Hüte, Stiel — $\varnothing$ um 3 mm	—	—	—	—	—	—	10	80	100	100	—	—	10	68	84
6	wohntwickelte Hüte, Stiel — $\varnothing$ um 6 mm, 1 mal aufgetaut	—	—	—	—	—	—	53	84	84	—	—	14	36	—	—
7	rudimentäre Hüte, Stiel — $\varnothing$ um 3 mm, zerrieben	—	—	—	—	—	—	54	80	100	100	—	—	10	68	84

Erläuterung: FK = Fruchtkörper; \* = FK bei  $-8^{\circ}\text{C}$  eingefroren; — = es wurden keine FK und auch keine FK-Anlagen gebildet; I—V = Termine, an denen die FK-Bildung kontrolliert wurde; I = 10 Tage nach der Behandlung; II—V = darauffolgend im Abstand von 7—8 Tagen.

Tiefgefrieren und Auftauen ein Teil der Zellen geschädigt oder sogar zerstört wird. Nach dem Auftauen könnte aus diesen Zellen ein unbekannter Faktor in das Mycel gelangen und die Fruchtkörperbildung induzieren. Die Abgabe dieses Faktors an das Mycel könnte durch die erhöhte Permeabilität des Plasmas oder durch den ausgelaufenen Zellsaft gefördert werden. Eine solche Annahme könnte auch verstehen helfen, warum in Versuch 1 und 2 der Tab. 1 eine Stimulation der Fruchtkörperbildung am Mycel ausgeblieben ist. Die Fruchtkörperstücke von Versuch 1 waren dicker und tauten daher langsamer auf als die Stücke in den anderen Versuchen (vgl. Tab. 1). Der fragile Faktor könnte bei den größten Stücken während des langsameren Auftauvorgangs wieder resorbiert worden sein. In Versuch 2 wurden Stücke verwendet, welche nur bei  $-8^{\circ}\text{C}$  eingefroren waren. Hier könnte die zur Freisetzung des Faktors notwendige Schädigung von Zellen unzureichend gewesen sein. Zu einer Erklärung für die ungleichmäßige Regeneration in Tab. 1 verhilft eine solche Annahme aber nicht.

Sollte tatsächlich ein Induktionsfaktor aus zerstörten Zellen in das Mycel gelangen können, so müßte sich mit frischem, aber zerriebenem Stielmaterial ebenfalls eine Förderung der Fruchtkörperbildung am Mycel erreichen lassen. Tab. 2 zeigt das Ergebnis von vier Versuchen. Es wurden 1—2 kümmerliche Fruchtkörper mit rudimentären Hüten in sterilisierten Reibschalen zerrieben und der Fruchtkörperbrei auf einer engbegrenzten Stelle auf das Mycel aufgetragen (Versuch 1—3). In Versuch 4 wurde die dreifache Menge verwendet. In allen Versuchen gab es eine Förderung der Fruchtkörperbildung

Tabelle 2. Übersicht über Regeneration und Fruchtkörperbildung bei Kulturen, auf welche zerriebenes Material von frischen Fruchtkörpern gegeben worden war (Erklärung siehe Tab. 1)

Versuch	Art des Materials	behandelte Kulturen						Kontrollen												
		% Schalen mit FK auf dem Brei			% Schalen mit FK am Mycel			% Schalen mit FK am Mycel			% Schalen mit FK am Mycel									
		I	II	III	IV	V	VI	I	II	III	IV	V	VI	I	II	III	IV	V	VI	
1	} 1—2 kümmerliche FK von Kulturen in Petrischalen	—	36	46	46	46	36	—	—	9	36	73	—	—	—	—	—	—	—	
2		—	—	8	23	23	31	8	31	54	77	93	100	—	—	—	—	—	—	
3		—	—	—	7	7	—	—	85	85	93	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4	3 mal soviel Substanz wie 1—3	36	64	73	82	82	91	—	27	46	82	82	82	91	—	—	—	—	—	—

am Mycel gegenüber den Kontrollen. In den Versuchen 2—4 machte sie sich auch an den größeren Mittelwerten für die Fruchtkörperzahl je Schale und die Fruchtkörperlänge deutlich (diese Differenzen sind jedoch nur bei Versuch 2 und 3 signifikant). In allen Versuchen traten früher oder später auch auf dem Fruchtkörperbrei Fruchtkörper auf, besonders frühzeitig und häufig bei Versuch 4. Diese auf dem Brei entstandenen Fruchtkörper muß man wohl als Regenerate ansehen, nicht als echte Neubildung, wie am Mycel: Die Zerstörung der zähen Fruchtkörper war nur unvollkommen, und es blieben stets kleine, faserige Stückchen erhalten. Ein Versuch wurde auch mit gefrorenen, zerriebenen Fruchtkörpern durchgeführt (Tab.1/7). Er zeigte jedoch gegenüber den Versuchen 5 und 6 der Tab.1 keine weitere Förderung.

Das wichtigste Ergebnis sei nochmals hervorgehoben: Stielstücke von *Pleurotus* enthalten einen Induktionsfaktor. Dieser kann über die Zerstörung von Zellen in das Mycel gelangen und dort die Fruchtkörperbildung auslösen. Ob die aus Stielstücken hervorwachsenden Regenerate die Fruchtkörperbildung am Mycel irgendwie beeinflussen können, läßt sich jedoch aufgrund der bisherigen Versuche nicht entscheiden.

##### 5. Beeinflußt artfremdes Fruchtkörpermaterial die Fruchtkörperbildung?

In der Einleitung wurde erwähnt, daß die Regeneration neuer Fruchtkörper aus Stielstücken eine bei Basidiomyceten verbreitete Fähigkeit zu sein scheint. Nachdem bei *Pleurotus* ein Induktionsfaktor nachgewiesen worden ist, der von Fruchtkörperzellen losgelöst werden kann, ist ein entsprechender Faktor auch bei anderen Hutpilzen zu erwarten. Die nächsten Versuche sollten zeigen, ob dieser auch in anderen Arten vermutete Faktor auf *Pleurotus*-Mycel wirkt.

Fruchtkörpermaterial von *Flammulina velutipes* und *Agaricus bisporus* wurde, entsprechend den vorherigen Versuchen, auf vorkultiviertes Mycel von *Pleurotus* gelegt. In den Versuchen mit *Flammulina* waren es nur Stiele oder Stücke davon. Verglichen selbst mit kümmerlichen *Pleurotus*-Fruchtkörpern handelte es sich um wenig Substanz. Für die Versuche mit *Agaricus* wurden teilweise junge Fruchtkörper verwendet, sogenannte „buttons“ der angelsächsischen Literatur. Der Hut hatte sich bereits deutlich vom Stiel abgesetzt, der aber noch nicht gestreckt war. Die frisch geernteten Fruchtkörper wurden sauber abgeputzt und der Stiel in halber Höhe abgeschnitten. In Parallelversuchen wurden aseptisch herausgenommene Stücke großer Fruchtkörper (besonders von Stamm 59c) verwendet. Die Substanzmenge entsprach etwa derjenigen in den Versuchen mit Stielstücken von *Pleurotus*. Das Fruchtkörpermaterial wurde tiefgefroren oder zerrieben, zuletzt auch frisch und unzerkleinert verwendet.

In allen Versuchen mit *Flammulina* gab es eine Förderung der Fruchtkörperbildung gegenüber den Kontrollen. Besonders deutlich war sie in einem Versuch mit frischen, nicht zerriebenen Stielstücken, in welchem die Kontrollkulturen keine Fruchtkörper gebildet hatten (Abb.2). In allen Fällen wurde die Fruchtkörpersubstanz von dem *Pleurotus*-Mycel

schnell und dicht überwachsen. Auch mit *Agaricus* gab es stets eine deutliche Förderung der Fruchtkörperbildung. Sie war höher, wenn frisches Material verwendet wurde, vor allem ganze „buttons“, die mit

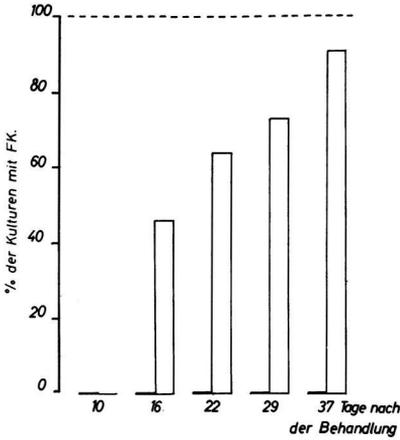


Abb. 2

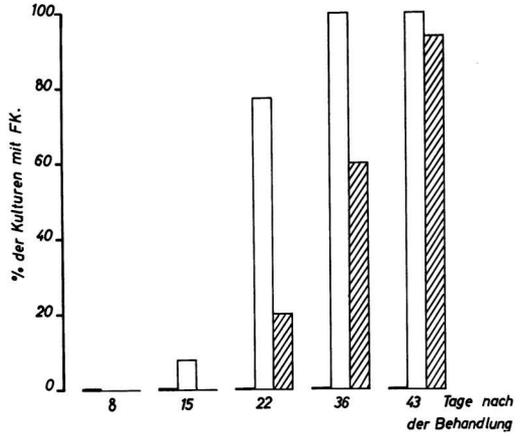


Abb. 3

Abb. 2. Förderung der Fruchtkörperbildung von *Pleurotus* durch Fruchtkörperstücke von *Flammulina velutipes*. Auf vorkultiviertes *Pleurotus*-Mycel wurden Stücke frischer *Flammulina*-Stiele gelegt. Die senkrechten Säulen zeigen die Anzahl Kulturen in Prozent, die zu den jeweiligen Beobachtungsterminen Fruchtkörper gebildet hatten: — Kontrollen ohne *Flammulina*-Stücke; □ mit *Flammulina*

Abb. 3. Förderung der Fruchtkörperbildung von *Pleurotus* durch *Agaricus*-Fruchtkörper. Auf vorkultiviertes Mycel von *Pleurotus* wurden frische und gefrorene Fruchtkörper von *Agaricus bisporus* gelegt (vgl. Abb. 4). Die senkrechten Säulen zeigen die Anzahl Kulturen in Prozent, die zu den jeweiligen Beobachtungsterminen Fruchtkörper gebildet hatten: — Kontrollen ohne Fruchtkörperstücke; □ *Agaricus* frisch; ▨ *Agaricus* gefroren

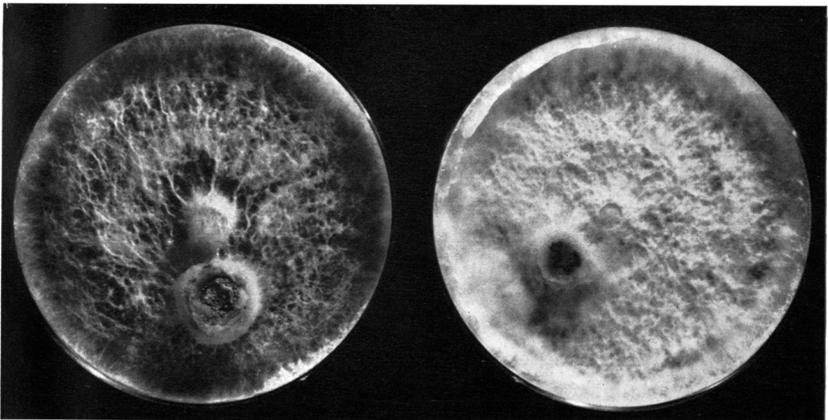


Abb. 4. Förderung des Mycelwachstums von *Pleurotus* durch gefrorene Fruchtkörper von *Agaricus bisporus*. Auf gleichaltriges *Pleurotus*-Mycel wurden 8 Tage vor Aufnahme des Fotos junge *Agaricus*-Fruchtkörper, „buttons“, gelegt. Das oberste Hutstück wurde abgeschnitten, damit die Petrischalen geschlossen werden konnten. Linke Schale mit frischem, rechte mit 24 Std bei  $-20^{\circ}\text{C}$  eingefrorenem Fruchtkörper

der breiten Schnittfläche auf das *Pleurotus*-Mycel aufgesetzt worden waren (siehe Abb. 3). Auch das *Agaricus*-Material wurde von *Pleurotus*-Mycel schnell und dicht flauschig überwachsen, besonders tiefgefrorene Stücke. Letztere verursachten außerdem eine schnelle und starke Wachstumsförderung des Mycels auf der gesamten Agaroberfläche (Abb. 4). Die Fruchtkörper entstanden wieder bevorzugt am Rand der Kulturen (Abb. 1 c).

Es ist ganz offensichtlich, daß auch in den Fruchtkörpern von *Flammulina* und *Agaricus* etwas enthalten ist, was die Fruchtkörperbildung am *Pleurotus*-Mycel stimuliert.

### C. Diskussion

Bei Mycelkulturen ist die Fruchtkörperbildung ein Ereignis, welches nicht immer gleich gut stattfindet. Hinzu kommt, daß geraume Zeit erforderlich ist, bis das Mycel den für die Fruchtkörperbildung notwendigen Zustand erreicht hat. Die Regeneration bei *Pleurotus Florida* gestattet nicht nur, Zeit zu sparen, sondern auch von den Mycelkulturen unabhängig zu werden, zumal sich auch durch Gefrierung konserviertes Material verwenden läßt. Allerdings tritt auch die Regeneration nicht mit absoluter Sicherheit ein. Wie schon BEVAN u. KEMP (1958) für *Flammulina velutipes* berichtet haben, gibt es immer wieder einzelne Stielstücke, welche sich statt mit Regeneraten mit dichtem Mycel bedecken. Eine Erklärung wurde dafür noch nicht gefunden. Bei bisherigen Untersuchungen wurde aber auch noch nicht auf einen eventuellen Einfluß des Alters oder des Entwicklungszustandes der Fruchtkörper geachtet. Es könnte auch sein, daß die Regenerationsfähigkeit verschiedener Fruchtkörperteile unterschiedlich ist. Sorgfältig angelegte Regenerationsversuche, die alle diese Möglichkeiten berücksichtigen, stehen noch aus.

BEVAN u. KEMP (1958) machten keine Angaben darüber, ob bei den *Flammulina*-Kulturen, die aus Fruchtkörperstücken hervorgegangen sind, neben der Regeneration von Fruchtkörpern auch Fruchtkörperbildung am Mycel auftrat. SINDEN, TSCHIERPFE u. HAUSER (1962) berichteten, daß bei *Agaricus bisporus* transplantierte, wachsende Fruchtkörper die Bildung von Fruchtkörperanlagen in ihrer Umgebung unterdrückten. Diese Unterdrückung dauerte so lange an, bis die Fruchtkörper geerntet wurden oder Sporenreife erlangt hatten. — Einige Versuche mit *Pleurotus* sollten prüfen, ob Fruchtkörperstücke oder daraus regenerierte Fruchtkörper eventuell die Fruktifikation am Mycel hemmen. Auch eine Beschleunigung oder Hemmung der Regeneration durch ein vorgebildetes Mycel wurde erwogen und experimentell geprüft. Die Versuche ermöglichen jedoch noch keine Entscheidung dieser Fragen, weil sie nicht genügend differenziert angelegt waren und weil zum Teil

gefrorenes Fruchtkörpermaterial verwendet wurde. Letzteres verhielt sich in seiner Wirkung auf das Mycel aber anders als Stücke frischer Fruchtkörper.

Nachdem bei niederen Pilzen der Nachweis von Stoffen gelungen war, welche die Reproduktion beeinflussen (Zusammenfassung siehe COCHRANE 1958), wurde auch bei Basidiomyceten eine stoffliche, vielleicht hormonartige Grundlage der Fruchtkörperbildung erwartet. Es war wiederholt festgestellt worden (BAVENDAMM 1936), daß holzzerstörende Pilze früher Fruchtkörper bildeten, wenn als Ausgangsmaterial für die Kulturen nicht Mycel, sondern ein Fruchtkörperstück genommen wurde. BEVAN u. KEMP (1958) zeigten, daß Kulturen von *Flammulina velutipes*, die mit einem Homogenat aus Fruchtkörpern angelegt waren, früher fruktifizierten als Vergleichskulturen mit homogenisiertem Mycel. Kulturen, für welche altes Mycel zum Beimpfen verwendet wurde, fruktifizierten bevorzugt auf oder dicht neben dem Impfmateriel (FALCK 1902, zitiert bei BAVENDAMM 1936; BEVAN u. KEMP 1958). Nun wurde angenommen, daß im Mycel mit zunehmendem Alter ein die Fruchtkörperbildung auslösender Stoff gebildet würde und daß dieser Stoff in Fruchtkörpern leichter entstünde als im Mycel. Deshalb versuchten BEVAN u. KEMP (1958) sowie HANDKE (1962) einen wirksamen Stoff aus Fruchtkörpern zu isolieren — ergebnislos.

Die vorliegende Arbeit mit *Pleurotus* demonstriert erstmalig, daß aus Fruchtkörperstücken mit geschädigten oder zerstörten Zellen (gefroren, zerrieben) ein Faktor in ein bereits entwickeltes Mycel übergehen und dort die Fruchtkörperbildung stimulieren kann. Die neuen Fruchtkörper entstehen in größerem, mehrere Zentimeter betragendem Abstand vom zugesetzten Fruchtkörpermaterial. Dabei muß entweder der Faktor selbst oder ein von ihm ausgehender Reiz in dem Mycel weitergeleitet werden. Ferner demonstriert diese Arbeit, daß eine gleiche Stimulation durch artfremdes Material hervorgerufen werden kann; im Gegensatz zu arteigenem auch dann, wenn es weder gefroren noch zerrieben ist. Doch ist auch in diesen Fällen mit einer Schädigung oder Abtötung der Hyphen in den Fruchtkörperstücken zu rechnen, da *Pleurotus*-Mycel die *Agaricus*- und *Flammulina*-Stücke sehr schnell und dicht überwächst. Der Beweis fehlt allerdings noch.

Es wäre voreilig, in diesen Versuchen mit *Pleurotus* den Nachweis eines artunsspezifischen Fruchtkörper-Bildungshormons zu sehen. Zwar haben neueste Arbeiten bereits die Existenz eines Streckungshormons oder Wuchsstoffes in Fruchtkörpern von *Agaricus bisporus* sehr wahrscheinlich gemacht, welcher in den Lamellen gebildet wird (HAGIMOTO 1963; GRUEN 1963), und SINDEN, TSCHIERPE u. HAUSER (1962) haben zur Erklärung einer Hemmung der Anlagenbildung durch wachsende, transplantierte Fruchtkörper von *Agaricus bisporus* die Wirkung eines

Hormons erwogen. Allein die spärlichen Informationen, die wir aus der vorliegenden Arbeit schöpfen, schließen andere Hypothesen nicht aus. So könnte z. B. im Biomalz Mangel an einer niedrigmolekularen Verbindung herrschen, welche zur Fruchtkörperbildung notwendig ist und von *Pleurotus* nicht synthetisiert werden kann. Eine solche Verbindung könnte der Cofaktor eines Enzyms sein, das zur Fruchtkörperbildung nötig ist und in Fruchtkörperzellen in relativ großer Menge in lebenden Strukturen eingeschlossen ist. Das Enzym wäre nicht beliebig in das Mycel verfrachtbar. Nach der Zerstörung der Zellen könnte aber der Cofaktor von vegetativen Hyphen aufgenommen werden und die Fruchtkörperbildung an einer günstigen Stelle des Mycels ermöglichen. Eine solche Annahme würde auch die Wirkung artfremden Fruchtkörpermaterials verständlich machen.

Die Förderung der Fruchtkörperbildung am Mycel durch Übertragung lebender Bestandteile aus Fruchtkörperzellen kann mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden. Es müßten sonst gerade unzerstörte Fruchtkörperstücke der eigenen Art die Fruktifikation besonders stark beeinflussen und nicht zerriebene Zellen! Auch die Stimulierung durch frische, ganze *Agaricus*-Fruchtkörper spricht eher gegen die Wirkung von Kernen oder Plasmaelementen. Wenn zwischen artfremden Pilzhyphen auch Anastomosen beobachtet wurden (BULLER 1931), so gibt es bis heute nicht den geringsten Anhaltspunkt für einen Kern- oder Plasmaaustausch in solchen Fällen.

Welche Hypothese auch immer zur Deutung der Ergebnisse herangezogen wird; immer ist die Schwierigkeit groß, wenn man neben der Förderung der Fruktifikation des Mycels auch noch das Verhalten der Fruchtkörperstücke hinsichtlich der Regeneration berücksichtigen will. Es sind einfach noch zu wenig Tatsachen bekannt. Die Förderung des Wachstums von *Pleurotus*-Mycel durch gefrorene *Agaricus*-Fruchtkörper gibt weitere Rätsel auf. Ein Versuch zur Verknüpfung der Beobachtungen dieser Arbeit mit den Ergebnissen und Hypothesen der Veröffentlichungen über die Fruchtkörperbildung von *Psilocybe panaeoliiformis* (URAYAMA 1960) und *Agaricus bisporus* (EGER 1961)<sup>1</sup> erscheint zum gegenwärtigen Zeitpunkt noch aussichtslos. Es muß noch sehr viel Arbeit geleistet werden, um einem Verständnis des Problems der Fruchtkörperbildung bei Hutpilzen näherzukommen.

### Zusammenfassung

1. Mycelkulturen von *Pleurotus* auf Biomalz-Agar fruktifizierten nach 20—40 Tagen sehr unregelmäßig.

<sup>1</sup> Nach Abschluß des Manuskriptes wurde mir die Arbeit von TSCHIERPE u. SINDEN, Arch. Mikrobiol. 49, 403—425 (1964), bekannt. Ich werde sie an anderer Stelle ausführlich diskutieren.

2. Auf Biomalz-Agar gelegte Stielstücke frischer *Pleurotus*-Fruchtkörper regenerierten innerhalb von 10 Tagen neue Fruchtkörper. Durch Gefrieren bei  $-20^{\circ}\text{C}$  konservierte Stielstücke behielten ihre Regenerationsfähigkeit zum großen Teil bei.

3. Wurden frische Stielstücke von *Pleurotus* auf vorkultiviertes *Pleurotus*-Mycel gelegt, so fand ebenfalls Regeneration statt. Fruchtkörperbildung am Mycel konnte nicht beobachtet werden. Dagegen verursachten zerriebene oder gefrorene Stielstücke auf vorkultiviertem Mycel eine Förderung der Fruktifikation.

4. Eine Förderung der Fruktifikation fand auch dann statt, wenn artfremde Fruchtkörperstücke (*Agaricus bisporus*, *Flammulina velutipes*) auf *Pleurotus*-Mycel gegeben wurden. Gefrorene Fruchtkörperstücke von *Agaricus* bewirkten außerdem noch eine Wachstumsförderung des Mycels.

5. Die neuen Fruchtkörper hatten mehrere Zentimeter Abstand von dem stimulierenden Fruchtkörpermaterial. Es muß ein Faktor aus letzterem in das Mycel übergetreten sein. Dieser Faktor oder ein durch ihn verursachter Reiz muß in dem Mycel weitergeleitet worden sein.

### Summary

1. Mycelium-cultures of *Pleurotus* on malt-agar fruited very irregularly after 20 to 40 days.

2. Pieces of fresh fruit bodies of *Pleurotus* on malt-agar regenerated new fruit bodies within 10 days. Stalk pieces which were kept frozen at  $-20^{\circ}\text{C}$  for longer periods maintained a great deal of their regenerative character.

3. Fresh stalk pieces of *Pleurotus* also showed regeneration on pre-cultivated *Pleurotus*-mycelium. Fruit body formation on the mycelium was not observed. However mazerated or frozen stalk pieces on pre-cultivated mycelium stimulated fructification.

4. Stimulation of fructification was also observed when pieces of fruit bodies of different species (*Agaricus bisporus*, *Flammulina velutipes*) were put on mycelium of *Pleurotus*. Frozen pieces of fruit bodies of *Agaricus* additionally stimulated the growth of the *Pleurotus* mycelium.

5. The new fruit bodies developed in some distance of the stimulating fruit body material. A factor must have been released from the fruit body material into the mycelium. This factor or a stimulus caused by it must have been transferred.

Fräulein LOTTE BAETGE und Frau MARIANNE SCHNEIDEREIT danke ich für zuverlässige Assistenz, Herrn KONRAD ENGELHARDT für die Herstellung der Fotos.

### Literatur

BAVENDAMM, W.: Erkennen, Nachweis und Kultur der holzverfärbenden und holzzerstörenden Pilze. Abderh. Handb. biol. Arbeitsmeth. Abt. XII/2, Heft 7 (1936).

- BEVAN, E. A., and R. F. O. KEMP: Stipe Regeneration and Fruit-body Production in *Collybia velutipes* (Curt.) Fr. Nature (Lond.) **181**, 1145—1146 (1958).
- BLOCK, S. S., G. TSAO, and L. HAN: Production of Mushrooms from Sawdust. Engineering Progress at the University of Florida. XIII, Nr. 1, Supplement. Jan. 1959 Technical Paper No. 158.
- BULLER, R.: Researches on fungi 4 u. 5 (1931/1933). London: Longmans, Green and Co.
- CARMICHAEL, J. W.: Viability of mold cultures stored at  $-20^{\circ}\text{C}$ . Mycologia (N.Y.) **54**, 432—436 (1962).
- COCHRANE, V. W.: Physiology of fungi. New York: John Wiley & Sons Inc. 1958.
- EGER, G.: Untersuchungen über die Funktion der Deckschicht bei der Fruchtkörperbildung des Kulturchampignons, *Psalliota bispora* Lge. Arch. Mikrobiol. **39**, 313—334 (1961).
- Über die Regeneration von Fruchtkörperanlagen aus Fruchtkörpern von Hutpilzen. Z. Pilzkunde **29**, 24—26 (1963).
- FRITSCHÉ, G., u. R. v. SENGBUSCH: Beispiel der spontanen Entwicklung neuer Fruchtkörperformen beim Kulturchampignon. Der Züchter **33**, 270—274 (1963).
- GRUEN, H. E.: Endogenous Growth Regulation in Carpophores of *Agaricus bisporus*. Plant Physiol. **38**, 652—666 (1963).
- HAGIMOTO, HIROSHI: Studies on the growth of fruit body of fungi IV. The growth of the fruit body of *Agaricus bisporus* and the economy of the mushroom growth hormone. Bot. Mag. **76**, 256—263 (1963).
- HANDKE, H. H.: Zur Fruchtkörperbildung holzbewohnender Basidiomyceten in Kultur. Holzerstörung durch Pilze, S. 43—49. Intern. Symposium Eberswalde. Berlin: Akademie-Verlag 1962.
- KARPIŃSKI, J. J.: Ergebnisse der ersten Etappe von Arbeiten über den Steinpilz (*Boletus edulis*). Prace institutu badawczego leśnictwa Nr. 245 (1961).
- MAGNUS, W.: Über die Formbildung der Hutpilze. Arch. Biontol. **1**, 85—161 (1901).
- SINDEN, J. W., H. J. TSCHIERPE, and E. HAUSER: Transplantation of sporophores as a new method for studying growth and nutritional factors of mushrooms. Mushroom Sci. **V**, 250—266 (1962).
- TILL, O.: Champignonkultur auf sterilisiertem Nährsubstrat und die Wiederverwendung von abgetragenen Kompost. Mushroom Sci. **V**, 127—133 (1962).
- URAYAMA, T.: Studies on fruit body formation of *Psilocybe panaeoliiformis* murrill in pure culture. Memoirs of the Faculty of Liberal Arts & Education, Miyazaki Univ. **9**, 393—461 (1960).

Dr. GERLIND EGER,  
 Institut für Allgemeine Botanik der Ruhruniversität,  
 463 Bochum-Querenburg, Im Lottental