

Aus dem Max-Planck-Institut für Kulturpflanzenzüchtung in Hamburg-Volksdorf  
in Verbindung mit dem Institut für Vererbungs- und Züchtungsforschung der Technischen Universität Berlin

Versuche zur Frage der Merkmalsübertragung beim Kulturchampignon  
*Agaricus (Psalliota) bisporus* (Lge.) Sing.

Von GERDA FRITSCHÉ

Mit 20 Abbildungen

### A. Einleitung

Die züchterische Bearbeitung des Kulturchampignons erfordert andere Methoden als die höherer Pflanzen, denn seine cytologische Struktur, seine Entwicklung und seine Fortpflanzungsprozesse haben ihre eigenen Gesetzmäßigkeiten. So sind die Kerne seiner vegetativen Hyphen haploid; aber seine Zellen können eine unterschiedliche Anzahl von Kernen enthalten (KLIGMAN, 1943). Zudem gibt es gewöhnlich zwei Sorten von Kernen in einem Mycel, die aus einer Basidie stammen, also durch die vorangegangene Meiosis rekombiniertes Erbgut erhalten haben. Wachsen verschiedene Hyphensysteme in einem gemeinsamen Substrat durcheinander, kann es darüberhinaus auch noch zu Fusionen zwischen genetisch verschiedenen Individuen kommen (P. v. SENGBUSCH, unveröffentlicht), so daß am Ende ein recht kompliziert aufgebautes Kerngemisch entsteht. Als Folgen einer solchen Konstitution sind Kernaustausch, Kernentmischung sowie auch Interaktionen zwischen den einzelnen Kernsorten anzunehmen.

Die meisten Champignonzüchter arbeiten mit Vielsporkulturen, d. h. sie säen viele Sporen gemeinsam aus und ziehen das Mycel gemeinsam heran. Auf diese Weise ist es möglich, ein passendes Gemisch günstiger Komponenten herzustellen und vegetativ zu vermehren. Die Qualität dieses Gemisches hängt aber genauso von Zufälligkeiten ab wie die Qualität eines Saatgutes, das von frei abgeblühten Pflanzen eines Fremdbefruchters, z. B. Roggen, gewonnen wurde. Vielsporkulturen haben außerdem noch den

Nachteil, daß besonders wertvolle Typen leicht durch weniger wertvolle, aber schneller wachsende Typen verdrängt werden können.

Deshalb beginnen manche Champignonzüchter ihre Arbeit mit der getrennten Aussaat einzelner Sporen. Da die Sporen von *Agaricus bisporus* aus der Basidie zwei Kerne mitbekommen, bringen auch Einsporkulturen normale Fruchtkörper hervor (LAMBERT, 1929). Die brauchbarsten Einsporkulturen werden ausgelesen und vegetativ vermehrt.

Aber auch der züchterische Erfolg der Einsporkulturmethode ist begrenzt. Eine Einsporkultur entspricht etwa einer Inzuchtlinie bei höheren Pflanzen. Bei dieser Methode geht demnach genetisches Material verloren, und es fehlt der stimulierende Effekt, der durch die Kombination verschiedener Stämme erzeugt wird. Außerdem enthält eine Inzuchtlinie nur selten alle erwünschten Eigenschaften zugleich, so daß es erstrebenswert erscheint, auch beim Champignon Kombinationszüchtung zu betreiben.

Bisher ist aber nicht bekannt, ob man Stämme von *Agaricus bisporus* untereinander kreuzen kann, denn der Sexualprozeß findet schon in der Basidie statt, unmittelbar nach Beendigung der Reduktionsteilung, und die zweikernigen Basidiosporen sind sein Produkt. Die Hyphen der vegetativen Mycelien haben jedoch eine starke Neigung zur Fusion. Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es also, festzustellen, ob man mit Hilfe von Mischkulturen Kerne verschiedener Qualität aus verschiedenen Mycelien zusammenbringen kann, die auch gemeinsam in eine Basidie ein-

gehen, fusionieren und nach den bekannten Gesetzmäßigkeiten spalten.

Genetische Untersuchungen an Agaricaceen sind bisher vor allem mit *Coprinus lagopus* und *Schizophyllum commune* durchgeführt worden, die jedoch ganz andere Voraussetzungen bieten. Sie bilden vor der Kopulation monokaryotische, geschlechtlich unterscheidbare Hyphen, die, entsprechend ihrem Anteil an Geschlechtsfaktoren, paarweise fusionieren und dadurch erst ein dikaryotisches Mycel bilden. Sie sind also schwerlich mit dem Kulturchampignon zu vergleichen.

Cytogenetische Untersuchungen an *Agaricus bisporus* wurden von mehreren Forschern durchgeführt. EVANS (1959) studierte das Verhalten der Kerne sowohl in den somatischen Zellen als auch in der Basidie und stellte Gesetzmäßigkeiten hinsichtlich der Verteilung der Kerne auf die Sporen fest. Untersuchungen über die Verteilung der Kerne innerhalb der Hyphen wurden von HIRMER (1920), COLSON (1935) und KLIGMAN (1943) [zitiert nach EVANS (1959)] durchgeführt, während MAIRE (1902), SASS (1928, 1936), COLSON (1935) und SARAZIN (1938, 1939) [zitiert nach EVANS (1959)] sowie KLIGMAN (1943) besondere Aufmerksamkeit dem meiotischen Prozeß und dem Verhalten der resultierenden haploiden Kerne in der Basidie und in den Sporen schenkten. Wie schwierig diese Studien bei *Agaricus bisporus* sind, zeigen die verschiedenen Angaben der Chromosomenzahlen: KLIGMAN (1943) gibt  $n = 9$ , SARAZIN (1955)  $n = 4$  und EVANS (1959)  $n = 12$  an.

Die bisher umfassendste Arbeit über die genetischen Probleme beim Kulturchampignon wurde von KLIGMAN (1943) veröffentlicht. Er führte als einziger bisher „Kreuzungsversuche“ durch, wozu ihm jedoch nur Stämme mit verschiedenfarbigen Hüten (braun und weiß) zur Verfügung standen. KLIGMAN konnte keine Fruchtkörper mit Bastardbasidien nachweisen, da in der Nachkommenschaft der braunen Fruchtkörper keine weißen Fruchtkörper auftraten und umgekehrt. KLIGMAN folgert jedoch aus diesem Ergebnis nicht, daß keine Bastardbasidien auftreten können, sondern weist auf die Schwierigkeit hin, die entsprechenden Fruchtkörper zu erkennen.

Wenn es intermediäre Formen zwischen braunen und weißen Champignonstämmen<sup>1</sup> geben sollte, so würden diese wahrscheinlich an bräunlich verfärbten Hüten zu erkennen sein. Sehr aufgehellte Hüte kommen jedoch gelegentlich auch bei braunen Stämmen vor. Ebenso können sich die Hüte weißer Stämme bräunlich verfärben. Kann das Farbmerkmal jedoch mit einem Formmerkmal kombiniert werden, dann sind Neukombinationen möglich. Sie können einwandfrei erkannt werden. Da uns entsprechendes Versuchsmaterial zur Verfügung stand, konnten wir die Frage der Merkmalsübertragung beim Kulturchampignon erneut in Angriff nehmen.

## B. Material und Methoden

### I. Beschreibung der Stämme

Die beiden für die Versuche verwendeten Stämme unterscheiden sich in Farbe und Form der Fruchtkörper. Stamm „Hu“ ist eine Handelssorte, die nor-

<sup>1</sup> Stämme mit braunem bzw. weißem Hut

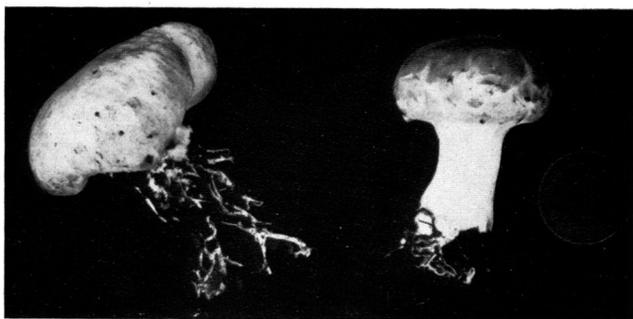


Abb. 1. links: deformierter weißer Fruchtkörper von Stamm „59“; rechts: normaler blonder Fruchtkörper von Stamm „Hu“.

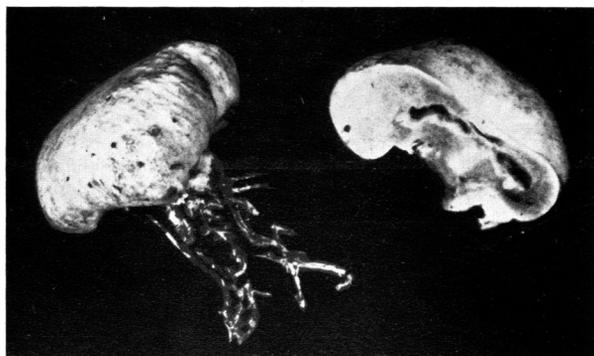


Abb. 2. Deformierte weiße Fruchtkörper von Stamm „59“; links: ungeschnitten, rechts: im Querschnitt.

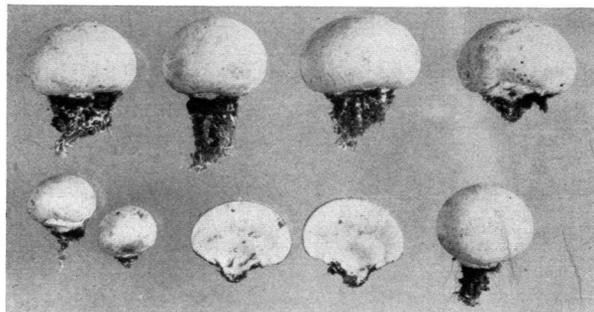


Abb. 3. Deformierte weiße Fruchtkörper von Stamm „59“, nach fortgesetzter Mycelvermehrung aufgetretene Form. In der unteren Reihe teilweise im Querschnitt.

mal geformte Fruchtkörper mit blondem<sup>1</sup> Hut hervorbringt. Stamm „59“ ist eine von uns gewonnene Einsporkultur. Sie stammt von einer weißen Handelsorte ab und bildet bovistartig deformierte Fruchtkörper von weißer Farbe. In Abb. 1 sind die Fruchtkörper der beiden verwendeten Stämme einander gegenübergestellt, links „59“, rechts „Hu“. Nach mehrmaliger Vermehrung des Mycels veränderten sich die Fruchtkörper von „59“ etwas. Bei unseren ersten Kulturversuchen hatten sie, wie Abb. 1 und 2 zeigen, eine ungleichmäßig ausgebuchtete Oberfläche. Der Stiel fehlte. Bei den zuletzt durchgeführten Kulturversuchen dagegen bildeten sich nur glattwandige Fruchtkörper (Abb. 3). In verschiedenen Fällen war ein wenige Millimeter langer Stielansatz vorhanden. Stamm 59 bildet keine Sporen aus, wie die Querschnitte in Abb. 2 und 3 erkennen lassen. Häufig ist an Stelle der Lamellen ein Hohlraum zu sehen. Auch in der Form der Fruchtkörperanlagen weicht Stamm 59 vom Normalen ab. Es werden zahlreiche Anlagen gebildet, von denen jedoch nur wenige zu Fruchtkörpern heranwachsen. Viele der anderen Anlagen vergrößern sich langsam bis zu etwa 1 cm Durch-

<sup>1</sup> blond = Bezeichnung für ein helles Braun

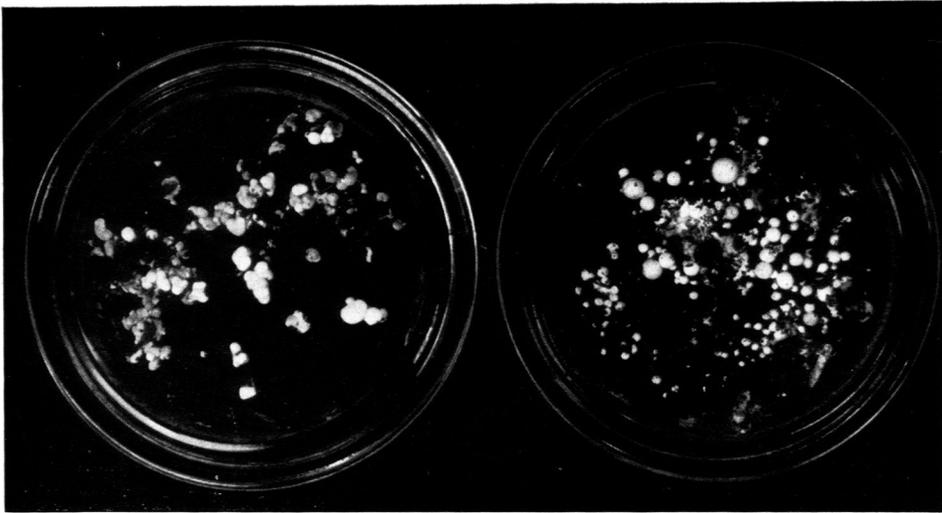


Abb. 4. Deformierte Fruchtkörperanlagen des Stammes „59“ (linkes Glas) im Vergleich zu normalen Anlagen (rechtes Glas).

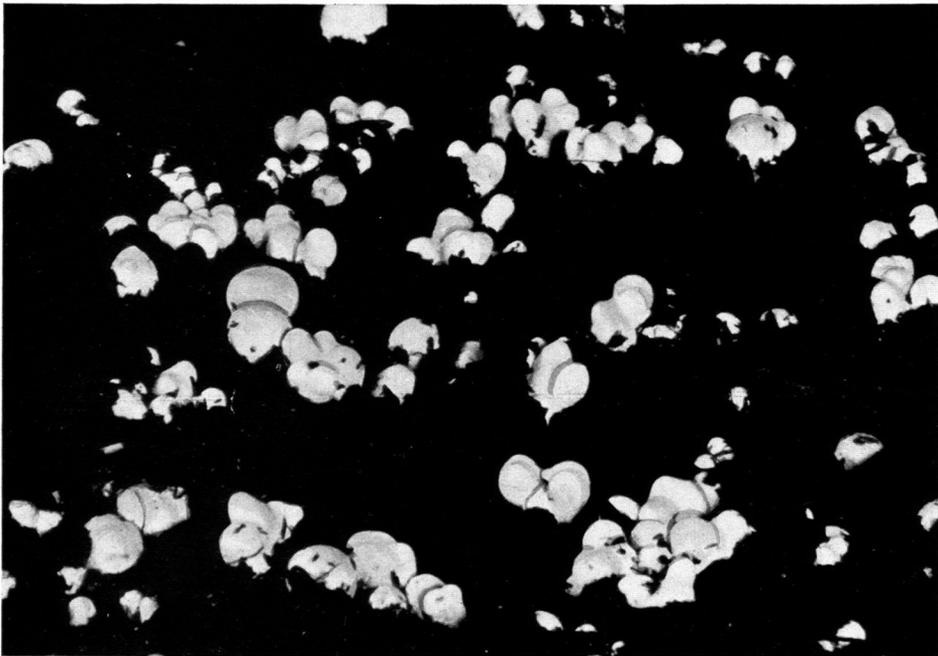


Abb. 5. Deformierte Fruchtkörperanlagen des Stammes „59“, 2× vergr.

messer, wobei sie häufig ungleichmäßig ausgebuchtete ovale Formen annehmen. Oft sind mehrere Anlagen zusammengewachsen (Abb. 4 und 5).

Auf den Champignonkulturbeeten normaler Stämme kann man bovistähnliche Fruchtkörper finden, wenn ein Befall durch *Verticillium* oder *Mycogone* vorliegt (HUNTE, 1958). Dann sind jedoch nicht alle Fruchtkörper bovistartig deformiert, sondern es treten sehr verschiedene Verformungen auf. Viele der Fruchtkörper haben einen normalen Stiel, der jedoch häufig dick und unförmig ist. Die Hüte sind klein und sitzen schief auf dem Stiel. Je stärker der Befall ist, um so mißgestalteter sehen die Fruchtkörper aus. Ein weiteres Krankheitssymptom ist ein weicher weißer Belag, der die Fruchtkörper ganz überzieht und nach zwei bis drei Tagen dunkelbraune Tropfen bildet. Gleichzeitig entwickelt sich ein penetranter, fauliger Geruch (HUNTE, 1958). Bis auf die bovistartige Fruchtkörperform trifft aber keines der genannten Symptome für Stamm 59 zu.

durch Parasiten hervorgerufene Erscheinungen handelt, zeigt auch das Ergebnis eines Infektionsversuches. *Verticillium* sowie *Mycogone* werden durch die Deckerde übertragen (HUNTE, 1958). Es wurden daher Deckerdeklumpen, die dicht neben bovistartig deformierten Fruchtkörpern des Stammes 59 lagen, für Infektionszwecke benutzt. Ein Teil der Erde wurde in Leitungswasser aufgeschwemmt. Die Suspension (eine Messerspitze Erdkrumen — ca. 1 g — in 60 ccm Wasser) wurde auf ein 400 qcm großes Stück Beetfläche mit 50 Fruchtkörperanlagen gegossen. Eine weitere Messerspitze voll Erde wurde auf die Anlagen gestreut. In den folgenden sieben Wochen wurden von dem infizierten Stück und der angrenzenden Beetfläche (insgesamt 0,5 qm) 388 normal geformte Fruchtkörper geerntet. Die für *Mycogone* oder *Verticillium*-Befall typischen Deformierungen wurden nicht beobachtet.

<sup>1</sup> Spicken = Einbringen des Mycels in das Kulturbeet

*Verticillium* und *Mycogone* sind wegen ihrer schnellen Verbreitung von den Champignonanbauern besonders gefürchtet. Wir haben Stamm 59 jedoch zwanzigmal in unseren Kulturräumen geprüft und niemals in den mit anderen Stämmen gespickten<sup>1</sup> benachbarten Beeten von den genannten

Parasiten befallene Fruchtkörper gefunden. Bovistartig deformierte Fruchtkörper traten jedoch spontan in anderen Kulturräumen auf. Eine mikroskopische Kontrolle kleiner Stücke des Plektenchymis zeigte, daß diese Deformierungen durch *Verticillium* hervorgerufen worden waren. Die wirtelartigen Sporangienträger des Schadpilzes waren deutlich zu erkennen (Abb. 6). Im Plektenchym der deformierten Fruchtkörper von Stamm 59 waren dagegen keine Sporangienträger zu finden (Abb. 7). Abb. 7 zeigt lediglich einige hochstehende Champignonhyphen. Auch konnten bei Stamm 59 keine Sporen von *Mycogone perniciososa* nachgewiesen werden.

Daß es sich bei den Deformierungen von Stamm 59 um keine

Aus den angeführten Gründen darf angenommen werden, daß die Fruchtkörperdeformierungen von 59 nicht durch Krankheitserreger hervorgerufen werden. Sie sind vielmehr genetisch bedingt.

Eine Nachkommenschaftsprüfung von Stamm 59 ist nicht möglich, da keine Sporen gebildet werden. Trotzdem wurde der Stamm für die Versuche verwendet, denn seine Fruchtkörperform ist als Unterscheidungsmerkmal besonders wertvoll. Uns ist kein weiterer Fall dieser Art der Deformierung bekannt. Von den 4800 bisher von uns bearbeiteten Einsporkulturen brachte keine, außer Stamm 59, bovist-ähnliche Fruchtkörper hervor.

Die Stämme „Hu“ und „59“ unterscheiden sich also in zwei Merkmalen. Falls durch Hyphenfusion eine Vermischung der Kerne des normalen blonden Stammes Hu mit denen des deformierten weißen Stammes 59 stattfände, könnten unter den Nachkommen Stämme auftreten, die das Merkmal „normale Fruchtkörperform“ von Hu und das Merkmal „weiße Fruchtkörperfarbe“ von 59 auf sich vereinigen. Ebenso könnten die Eigenschaften „deformierte Fruchtkörperform“ und „blonde Hutfarbe“ in einem Stamm als Neukombinationen auftreten.

Da Stamm 59 keine Sporen bildet, konnten nur die Nachkommen der normalen blonden Fruchtkörper einer Mischkultur von 59 und Hu auf Spaltung hin untersucht werden. Zur Kontrolle war zu prüfen, ob unter den Nachkommen der in Reinkultur gehaltenen Pilze von Hu auch normale weiße Fruchtkörper auftreten können, ob der Stamm also nicht etwa heterozygot für das Farbmerkmal ist.

Zu Züchtungszwecken sind am Institut viele Einsporkulturen von der Handelssorte „Hu“ herangezogen worden. Nur bei 2 von 661 in je drei 1-l-Gläsern vorselektierten Stämmen wurden weiße Fruchtkörper vermerkt. Dieser geringe Anteil von nur 0,3% ist möglicherweise auf Versuchs- oder Beobachtungsfehler zurückzuführen, denn diese Massenuntersuchungen, die ursprünglich anderen Zwecken dienen sollten, wurden zum Teil von unerfahrenen Kräften durchgeführt. Es darf daher angenommen werden, daß ein höherer Prozentsatz an normalen weißen Fruchtkörpern in der Nachkommenschaft der normalen blonden Fruchtkörper einer Mischkultur 59 × Hu durch Einwanderung von Kernen des Stammes 59 zustande gekommen ist.

Die Vorgänge der Hyphenfusion und des Kernübertritts können mikroskopisch beobachtet werden. Die Frage, ob die Kerne in den Hyphen des Partners bis zur Basidie gelangen, wo dann zwei fremde Kerne miteinander verschmelzen und Neukombinationen der Gene stattfinden, kann jedoch nur durch eine Nachkommenschaftsprüfung beantwortet werden.

Eine solche Prüfung wurde daher durchgeführt. Parallel dazu wurde das Verhalten der Hyphen und der Kerne mikroskopisch beobachtet.

## II. Methode zur Beobachtung der Fusionen

Ein gutes mikroskopisches Bild fusionierender Hyphen erhält man nur, wenn diese in einer Ebene liegen. Das ist bei Kultur auf den üblichen Agarnährböden kaum zu erreichen. Es wurde darum folgende, von Peter v. SENGBUSCH (unveröffentlicht) ausgearbeitete Methode angewendet: Ein in eine Petrischale gelegter Objektträger wird mit einem ver-

flüssigten Agarnährboden übergossen. Anschließend wird ein Streifen des erstarrten Agarnährbodens vom Objektträger abgehoben, so daß die Glasfläche zu sehen ist. Die beiden zu prüfenden Stämme werden je an eine Seite der Glasfläche auf den Agarnährboden geimpft. Das Mycel wächst von dort aus über das Glas. Haben sich die Hyphen der beiden Stämme getroffen, was bei kleiner Vergrößerung durch den Boden der Petrischale mikroskopisch kontrolliert werden kann, wird der Objektträger aus dem ihn umgebenden Agarnährboden herausgenommen. Jetzt können weitere mikroskopische Beobachtungen vorgenommen werden. Ferner kann das fest auf dem Glas haftende Mycel mit Fixier- und Färbemitteln behandelt werden.

Zum Fixieren wurde eine von NAVASHIN ausgearbeitete Mischung benutzt. Sie enthält 10 Teile 2%ige Chromsäure, 10 Teile 20%ige Essigsäure, 8 Teile 40%igen Formaldehyd und 2 Teile Aqua dest. (DAR-



Abb. 6. Stück des Plektenchyms aus einem von *Verticillium malthousei* befallenen Fruchtkörper. 400× vergr. Die wirtelartigen Sporangienträger des Schadpilzes sind deutlich zu erkennen.

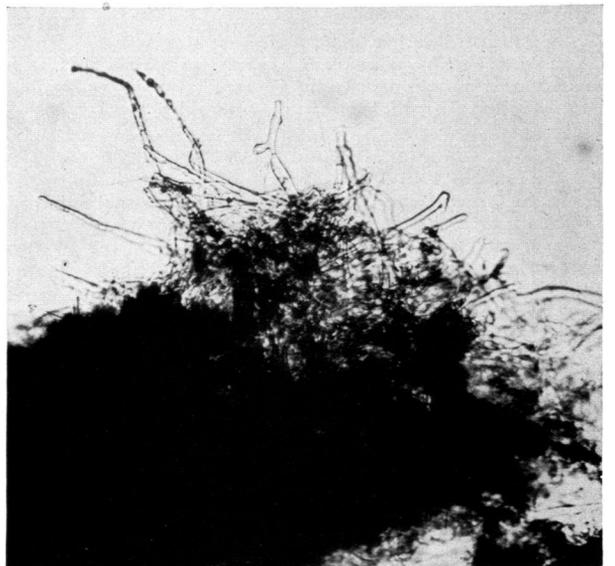


Abb. 7. Stück des Plektenchyms aus einem Fruchtkörper von Stamm „59“. 400× vergr.

LINGTON and LA COUR, 1947). Vor dem Anfärben wurde das Mycel eine Minute lang in eine Mischung von 1 Teil konz. Salzsäure und 2 Teilen abs. Alkohol gelegt. Diese Mischung wird von v. ROSEN (1949) zum Mazerieren von Wurzelspitzen bei Rüben empfohlen. Zur Färbung der Kerne wurde eine 0,5%ige Kristallviolett-Lösung verwendet. Die Objektträger mit den fest am Glas haftenden Hyphen wurden mehrere Stunden lang in die Farblösung gestellt.

### III. Methode der Nachkommenschaftsprüfung

Das Mycel der Stämme Hu und 59 wurde getrennt auf pasteurisiertem Pferdemistkompost herangezogen. Der gut durchspannene Kompost wurde nach dem von HÜHNKE und v. SENGBUSCH 1959 entwickelten Verfahren als sogenanntes „Aktivmycel“ zum Spicken der Beete benutzt. Das Aktivmycel beider Stämme wurde vor dem Spicken gründlich miteinander vermischt, indem eine Person abwechselnd von jedem Stamm eine Handvoll Aktivmycel (ca. 100 g) in einen Eimer füllte, während eine zweite Person das eingefüllte Aktivmycel locker vermengte. Ein Teil dieser Mischung wurde unter Benutzung einer Spickmaschine unter zwölf Teile pasteurisierten Pferdemistkompost (25 kg) verteilt und das Ganze in Kulturkisten von  $\frac{1}{2}$  qm Grundfläche gefüllt. Die Kisten wurden sofort mit einer etwa 3 cm hohen Deckerde-schicht versehen und im Kulturraum aufgestellt. Etwa zwei Wochen später begann die Ernte. Es wurde dabei besonders auf Form und Farbe der Fruchtkörper geachtet. Ferner wurde vermerkt, ob normale und deformierte Fruchtkörper dicht nebeneinander standen. Von zwölf normalen blonden Fruchtkörpern, die sich in der Nähe deformierter Fruchtkörper oder Anlagen bildeten, wurden Sporen gewonnen und Einsporkulturen herangezogen.<sup>1</sup>

Die Aussaat der Sporen erfolgte in Petrischalen von 9 cm Ø. Unterschiedlich große Mengen einer Sporenaufschwemmung (ein Tropfen bis etwa 1 ccm) wurden zwischen einen verflüssigten Weizenagar-Nährboden gemischt. Rezept des Weizenagarnährbodens: 125 g Weizenkörner werden mit 4 l Aqua dest. ca. 2 Std. lang gekocht. 24 Std. später wird die Lösung abgeseigt und mit 2% Agar verfestigt. Da nach KLIGMAN (1950) wachsendes Mycel die Keimung der Champignonsporen fördert, wurde etwa fünf Tage nach der Aussaat an den Rand der Schalen Mycel geimpft. Etwa sieben Tage später wurden in der Regel die ersten gekeimten Hyphen beobachtet. Sie wurden mit möglichst wenig Agarnährboden zusammen ausgestochen, um nicht bisher ungekeimte Sporen mit zu übertragen.

Die angewendete Methode garantiert nicht die Isolierung einzelner Sporen. Sie ermöglicht es jedoch, mit wenig Arbeitsaufwand viele Kulturen zu gewinnen und damit ein großes Material nach neuen Typen abzutasten.

Insgesamt wurden 284 Einsporkulturen in der zweiten Generation herangezogen. Sie wurden zunächst in Schrägröhrchen auf dem genannten Weizenagarnährboden kultiviert. Später wurden sie auf gekochte Weizenkörner übertragen. Mit den umspannenen Weizenkörnern, der sogenannten „Körnerbrut“, wurden mit pasteurisiertem Kompost gefüllte Litergläser (400 g Kompost/Glas) ge-

<sup>1</sup> Bei der in „Mushroom Science V“ gedruckten Veröffentlichung wurden die Fruchtkörper der Mischkultur als P-Generation und die folgenden beiden Generationen entsprechend als 1. und 2. Generation bezeichnet. Da jedoch beim Champignon bereits vor der Fruchtkörperbildung eine Vereinigung der elterlichen Kerne in einer Zelle erfolgen kann, erscheint es richtiger, die Fruchtkörper der Mischkultur als 1. Generation zu bezeichnen, wie es in der vorliegenden Arbeit geschah.

spickt. Ein Teelöffel voll Brutkörner (ca. 5 g) wurde auf die Kompostoberfläche gegeben. Die Körner wurden mit Gabeln bis etwa 5 cm Tiefe eingearbeitet. Bei 24 °C gehalten, hatte das Mycel die Kompostgläser in zwei Wochen fast ganz durchspannen. Sie wurden mit einer Deckerde-schicht versehen und im Kulturraum aufgestellt. Jede Einsporkultur wurde zunächst in zwei Gläsern geprüft. Auf dem Etikett wurden Zahl und Aussehen der geernteten Pilze vermerkt. Die Gläser wurden ferner auf Zahl und Form der Anlagen bonitiert und bei ertraglosen Gläsern notiert, ob der Kompost von Mycel durchspannen war.

Von 42 normalen blonden oder weißen Fruchtkörpern dieser zweiten Generation wurden Sporen gewonnen. Bei der Wahl der Sporenpilze<sup>1</sup> wurde deren Abstammung berücksichtigt. Somit konnte von jedem der zwölf Ausgangspilze (erste Generation) eine zweite und eine dritte Generation untersucht werden. Von jedem Sporenmuster<sup>2</sup> der zweiten Generation sollten 15 Einsporkulturen herangezogen werden. Sechs Muster keimten nicht, und von einigen Mustern konnten nur wenige Einsporkulturen isoliert werden. Insgesamt umfaßte die dritte Generation 534 Einsporkulturen. Um möglichst verschiedene Genotypen zu erfassen, wurden neben den zur normalen Zeit gekeimten auch die spät gekeimten Einspormycele isoliert, denn vielleicht sind gerade sie genetisch interessant.

Die erste Prüfung der Einsporkulturen der dritten Generation erfolgte wie bei der zweiten Generation in je zwei 1-l-Gläsern. Kulturen, bei denen in der ersten Prüfung deformierte Anlagen oder normale weiße Fruchtkörper auftraten, wurden ein zweites Mal in Gläsern kultiviert. In beschränktem Umfang erfolgten dann auch Prüfungen in Kulturkisten von  $\frac{1}{2}$  qm Anbaufläche.

Von einem Sporenmuster, aus dem eine Einsporkultur vom Typ 59 isoliert werden konnte, wurden weitere Einsporkulturen gewonnen und in 1-l-Gläsern geprüft. Die zur Aussaat benutzten Sporen wurden verschiedenen Stellen des Musters entnommen.

## C. Ergebnisse

### I. Ergebnisse der mikroskopischen Beobachtungen

Die Hyphen der beiden Stämme fusionieren, wie Abb. 8 erkennen läßt. Aufnahme 8a zeigt drei Fusionsstellen zwischen 59 (oberes Mycel) und Hu (unteres Mycel). Eine Hyphe von 59 stößt auf eine Hyphe von Hu (linke Seite der Aufnahme, siehe Pfeil). Ferner haben sich zwischen Hu und 59 zwei Fusionsbrücken gebildet (Bildmitte, siehe Pfeil). Die Vergrößerung dieses Ausschnittes (Abb. 8b) läßt die Fusionsstelle in der unteren Brücke erkennen. Sie ist in einer weiteren Vergrößerung (Abb. 8c) noch deutlicher zu sehen, während man auch bei dieser Vergrößerung in der oberen Brücke die Fusionsstelle von Hu und 59 nicht entdecken kann.

EVANS (1959) weist in den zwischen den Hyphen des von ihm verwendeten Stammes gebildeten Fusionsbrücken Kerne nach.

Auch in den Fusionsstellen von Hu und 59 scheinen Kerne überzuwandern, denn dicht neben Fusions-

<sup>1</sup> Sporenpilz = zur Sporengewinnung benutzter Fruchtkörper.

<sup>2</sup> Sporenmuster = die aus einem Fruchtkörper stammenden Sporen, die beim Herausfallen ein scheibenförmiges Muster bilden.

stellen konnten Kerne sichtbar gemacht werden (Abb. 9).

## II. Ergebnisse der Nachkommenschaftsprüfungen

In den mit einer Mycelmischung von Hu und 59 gespickten Kulturkisten erschienen blonde normale und weiße deformierte Fruchtkörper, die den Elternkulturen entsprechen, außerdem aber auch vereinzelt weiße normale sowie blonde deformierte Fruchtkörper. Den Anteil der einzelnen Typen an der Gesamternte zeigt Tabelle 1. Es fällt auf, daß sehr viel mehr normale als deformierte Fruchtkörper gebildet wurden. Der Grund hierfür liegt in der Natur der Einsporkultur 59 selbst. Sie bringt nur wenige Fruchtkörper hervor. In der parallel zu den Mischkulturengeprüften Reinkultur bildete sie nur 7 Fruchtkörper, während Hu in Reinkultur 879 Fruchtkörper brachte. Beide Stämme wurden in je einer Kulturkiste geprüft.

Von den sieben Fruchtkörpern der Reinkulturkiste von 59 waren fünf normal und weiß. Es muß betont werden, daß bisher bei 20 Prüfungen der Einsporkultur 59 nur zweimal normale Fruchtkörper gefunden wurden, nämlich im vorliegenden und einem weiteren Fall. Von den normalen weißen Fruchtkörpern der Einsporkultur 59 konnten nur wenige Sporen gewonnen werden, obgleich die Fruchtkörper im günstigsten Reifestadium zur Sporengewinnung aufgestellt wurden. Von den wenigen erhaltenen Sporen wurden Einsporkulturen herangezogen; sie brachten nur normale Fruchtkörper. Die in Tabelle 1 aufgeführten weißen normalen Fruchtkörper könnten eventuell ohne Einfluß von Hu von Einsporkultur 59 gebildet worden sein. Ob es sich bei diesen Fruchtkörpern um reinweiße Exemplare oder stark aufgehellte blonde Fruchtkörper handelte, ist nicht mehr genau zu ermitteln. Es

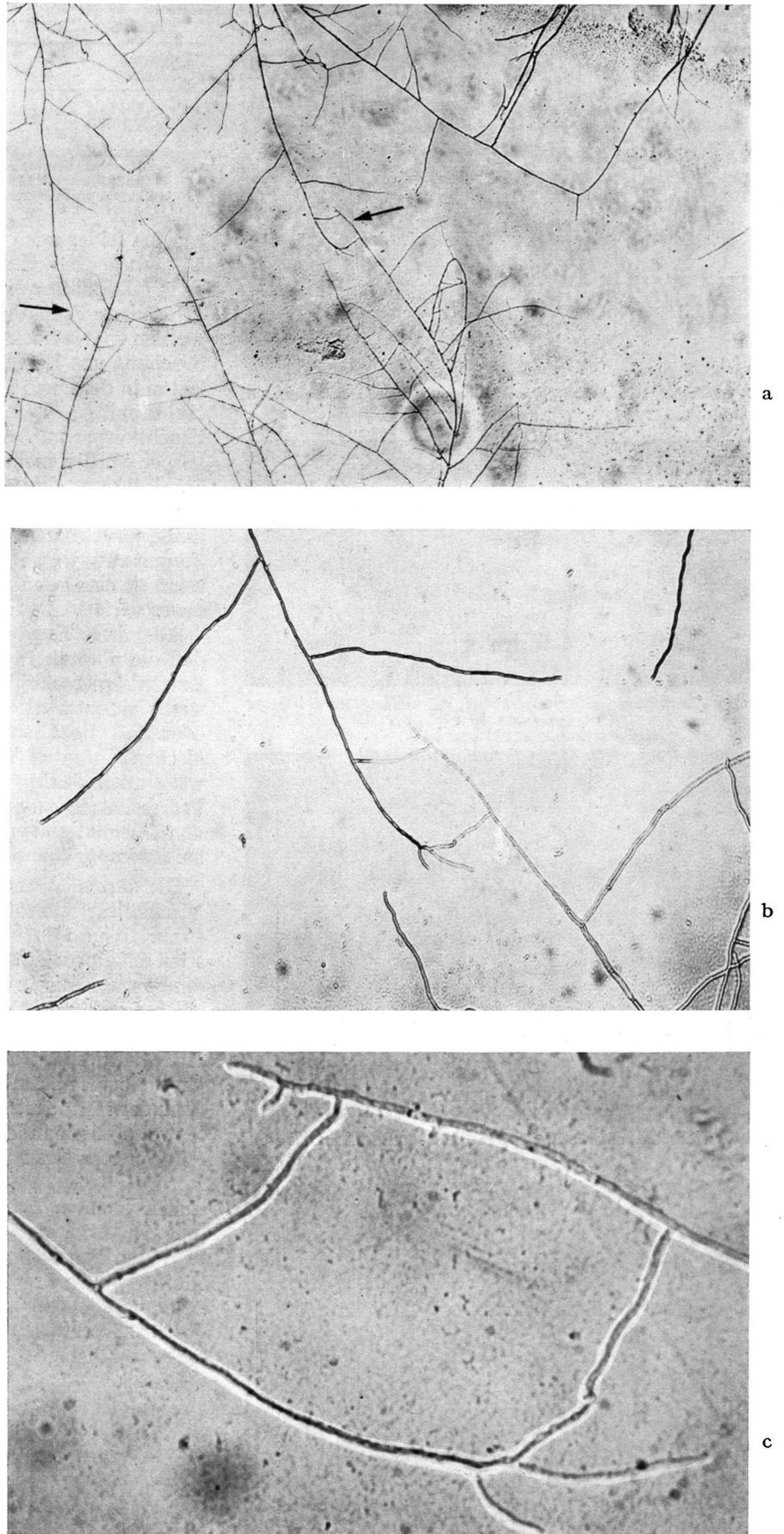


Abb. 8. Fusionen zwischen den Hyphen der Stämme „59“ (von oben kommend) und „Hu“ (von unten kommend).

a) 96 × vergr. (Fusionsstellen durch Pfeile markiert)  
 b) 320 × vergr. } Ausschnitt aus Abb. 8 a  
 c) 1176 × vergr. }

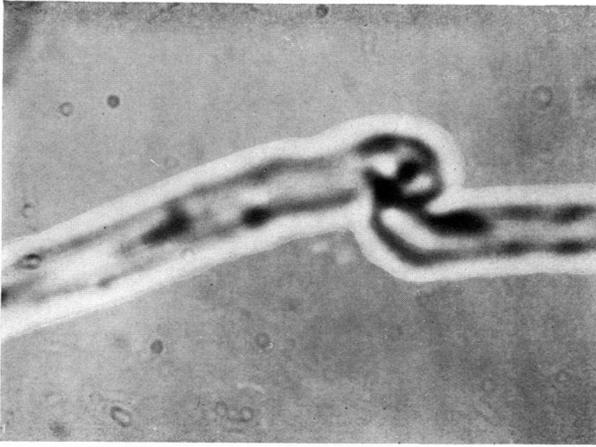


Abb. 9. Fusion zwischen den Hyphen der Stämme „59“ und „Hu“. Kerne mit 0,5%igem Kristallviolett gefärbt. 4800× vergr.



Abb. 10. Fruchtkörper der Stämme „59“ und „Hu“ in Mischkultur dicht nebeneinander stehend.

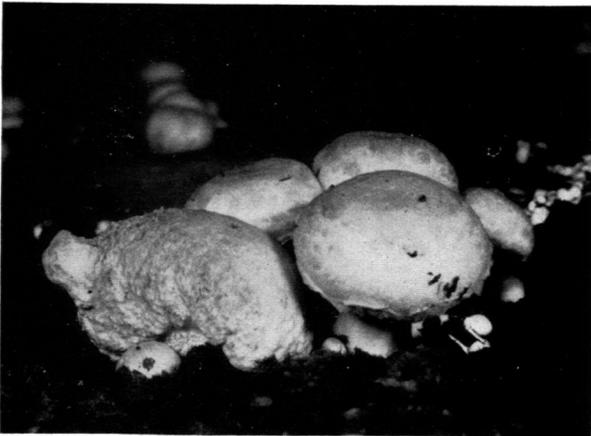


Abb. 11. Fruchtkörper der Stämme „59“ und „Hu“ in Mischkultur dicht nebeneinander stehend.



Abb. 12. Deformierter weißer Fruchtkörper des Stammes „59“ mit normalem blondem Fruchtkörper des Stammes „Hu“ zusammengewachsen.

Tabelle 1. Ertrag der beiden, mit einer Mycelmischung von „59“ und „Hu“ gespickten Kulturkisten.

Kisten Nr.	no. b. n	no. w. n	def. b. n	def. w. n
1	203	1	3	27
2	441	2	—	11

no. = normalgeformte Fruchtkörper  
def. = deformierte Fruchtkörper  
b. = Fruchtkörper mit blondem Hut  
w. = Fruchtkörper mit weißem Hut

wurden leider auch keine Sporen von diesen Fruchtkörpern gewonnen. Um jedoch auf die Frage: „Gibt es in Mischkultur  $Hu \times 59$  weiße normale und blonde deformierte Fruchtkörper?“ eine Antwort zu erhalten, wurden später noch elf Kulturkisten mit einer Mycelmischung von  $Hu$  und  $59$  gespickt, sowie drei Kulturkisten in der einen Hälfte mit  $Hu$  und in der anderen Hälfte mit  $59$ . In keinem Falle traten weiße normale Fruchtkörper auf. Auch blonde deformierte Fruchtkörper wurden nicht gefunden. Bei den in Tabelle 1 aufgeführten drei blonden deformierten Fruchtkörpern kann es sich um verfärbte ursprünglich weiße Fruchtkörper gehandelt haben. Die Fruchtkörper von  $59$  wachsen sehr langsam, so daß sie, wenn sie eine gewisse Größe erreicht haben, mitunter etwas verfärbt sind.

Alle diese Ergebnisse machen es wahrscheinlich, daß die normalen weißen und deformierten blonden Fruchtkörper der ersten Mischkultur  $Hu \times 59$  entweder eine umweltbedingte Modifikation darstellten oder daß die Farbe dieser Fruchtkörper aus technischen Gründen falsch beurteilt worden ist. Es wäre auch denkbar, daß gelegentlich parasexuelle Prozesse stattfinden, in deren Gefolge auch Austausch von Kernmaterial vorkommt, wie es von CROWE (1960) bei *Schizophyllum commune* beobachtet worden ist.

Die normalen und deformierten Fruchtkörper der Mischkultur standen oft so dicht nebeneinander (Abb. 10 und 11), daß man annehmen könnte, sie seien aus einem Fusionsmycel hervorgegangen. Allerdings waren die in den Abbildungen 10 und 11 gezeigten deformierten Fruchtkörper älter als die benachbarten normalen. In später durchgeführten Mischkulturen wurden aber auch gleichaltrige Fruchtkörper beider Stämme beobachtet, die dicht nebeneinander standen. Einige von ihnen waren sogar stellenweise miteinander verwachsen. In Abb. 12 ist ein deformierter Fruchtkörper der in Abb. 3 gezeigten Form zu sehen, dessen Hut mit dem Stiel eines normalen blonden Fruchtkörpers von  $Hu$  verwachsen ist. In Abb. 13 sind drei Fruchtkörper von  $Hu$  am Stiel mit einem Fruchtkörper von  $59$  zusammengewachsen.

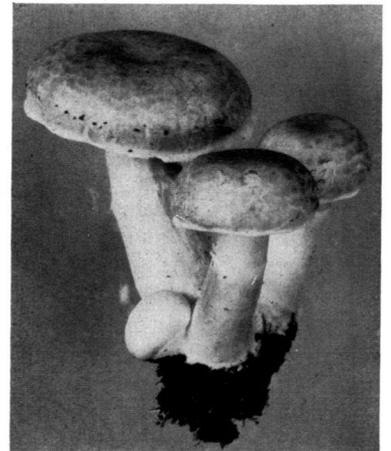


Abb. 13. Deformierter weißer Fruchtkörper des Stammes „59“ mit normalen blonden Fruchtkörpern des Stammes „Hu“ zusammengewachsen.

Tabelle 2. Übersicht über die Einsporkultur-Klassen der 2. Generation.

Mischkultur (1. Gener.)	2. Generation															
	Sporen- muster	Σ d. gepr. Einsp.	davon brachten n Einsporkulturen												keinen Ertrag	
			nur no. b.		no. b. + w.		nur no. w.		no. b. + def.		no. b. + w. + def.		nur def.		n	%
n	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%		
A	17	17	100,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
B	87	78	89,7	6	6,9	—	—	—	2	2,3	—	—	—	—	1	1,1
C	13	13	100,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
D	14	8	57,1	—	—	—	—	—	3	21,4	1	7,1	—	—	2	14,3
E	6	6	100,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
F	9	8	88,9	1	11,1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
G	29	27	93,1	1	3,4	—	—	—	1	3,4	—	—	—	—	—	—
H	16	15	93,8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	6,3	—
J	4	4	100,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
K	12	12	100,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
L	22	21	95,5	1	4,5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
M	53	52	98,1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	1,9	—
Σ	282	261	92,5	9	3,2	—	—	—	6	2,1	1	0,4	—	—	5	1,8

Einsp. = Einsporkulturen  
no. = normalgeformte Fruchtkörper

def. = deformierte Fruchtkörperanlagen  
b. = Fruchtkörper mit blondem Hut

w. = Fruchtkörper mit weißem Hut

Von zwölf solchen blonden normalen Fruchtkörpern, die dicht neben deformierten Fruchtkörpern oder Anlagen standen, wurden Sporen gewonnen und Einsporkulturen herangezogen. Eine Übersicht über die in der Nachkommenschaft der zwölf blonden normalen Fruchtkörper aufgetretenen Klassen gibt Abb. 14.

Die große Zahl der Einsporkulturen konnte aus technischen Gründen nur in Liter-Gläsern geprüft werden. Der deformierte Stamm, der auch in Kistenkultur nur wenige Fruchtkörper bringt, bildet in Gläsern nur Fruchtkörperanlagen. Die in Abb. 14 gezeichneten deformierten Gebilde beziehen sich daher auf Anlagen.

Neben blonden und weißen Fruchtkörpern traten häufig farbliche Zwischentypen auf. Da sich die Fruchtkörper weißer wie auch blonder Stämme gelegentlich verfärben, wird in dieser Arbeit auf die farblichen Zwischentypen nicht eingegangen. Sie sind lediglich in Tabelle 3 in der Spalte „verfärbt“ extra aufgeführt. In allen anderen Tabellen und Abbildungen erscheinen sie mit bei der jeweils am häufigsten vertretenen Fruchtkörperfarbe.

Wie Abb. 14 veranschaulicht, gab es in der zweiten Generation in bezug auf die Fruchtkörperbildung fünf verschiedene Klassen von Einsporkulturen:

1. nur normale blonde Fruchtkörper,
2. normale blonde und normale weiße Fruchtkörper,
3. normale blonde und deformierte Fruchtkörper (Farbe unbestimmbar),
4. normale blonde, normale weiße und deformierte Fruchtkörper (Farbe unbestimmbar),
5. keine Fruchtkörper.

Am häufigsten trat die erste Klasse auf; alle anderen kamen dagegen selten vor, wie die eingezeichneten Prozentzahlen in Abb. 14 sowie Tabelle 2 zeigen. Tabelle 2 gibt eine Übersicht über die Sporenmuster der zwölf aus der Mischkultur gewonnenen Fruchtkörper (Muster A—M) und über das Aussehen der aus den Mustern hervorgegangenen Einsporkulturen. Aus allen Sporenmustern wurden vorwiegend Einsporkulturen mit normalen blonden Fruchtkörpern gewonnen. Fünf der zwölf Muster lieferten nur solche Einsporkulturen. Von den aus vier weiteren

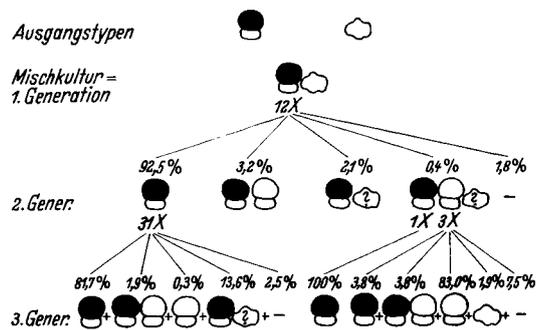


Abb. 14. Übersicht über die in der Nachkommenschaftsprüfung aufgetretenen Einsporkultur-Klassen. Die Zahlen über den Fruchtkörpern geben den prozentualen Anteil der einzelnen Klassen an der vom gleichen Typ abstammenden Population an. Die Zahlen am Fuß der Fruchtkörper nennen die verwendete Anzahl von Sporenmustern. Das in die deformierten Fruchtkörper eingezeichnete Fragezeichen besagt, daß die Fruchtkörperfarbe unbekannt ist. Es wurden in diesen Fällen nur deformierte Fruchtkörperanlagen gebildet.

Sporenmustern stammenden Einsporkulturen trug ein geringer Prozentsatz normale weiße und blonde Fruchtkörper. Die weißen Fruchtkörper traten allerdings, wie Tabelle 3 zeigt, nur vereinzelt auf. In Tabelle 3 fallen die beiden Einsporkulturen E 353 und E 539 auf, da sie in beiden Prüfgefäßen weiße Fruchtkörper sowie insgesamt mehr weiße als blonde Fruchtkörper brachten.

Keine der 282 geprüften Einsporkulturen der zweiten Generation bildete nur deformierte Anlagen oder anders ausgedrückt, gleich genau Stamm 59 (Tab. 2). Von drei der zwölf untersuchten Sporenmuster stammten dagegen Einsporkulturen ab, bei denen neben normalen Fruchtkörpern deformierte Anlagen gefunden wurden. Sie wurden häufig in beiden Kulturgläsern beobachtet.

Vier der zwölf Sporenmuster lieferten neben fertilen auch ertraglose Einsporkulturen.

Wie Abb. 14 veranschaulicht, wurden von 31 Fruchtkörpern aus Einsporkulturen der zweiten Generation, die nur normale blonde Fruchtkörper trugen, Sporen gewonnen. Die Abbildung zeigt, welche Klassen an Einsporkulturen aus diesen Sporenmustern hervorgingen und in welchem Prozentsatz die einzelnen Klassen vertreten waren. Bis auf Klasse vier (normale blonde und weiße Fruchtkörper und deformierte Anlagen) sind alle Klassen der zweiten Generation auch in der dritten Generation vertreten. Hinzu

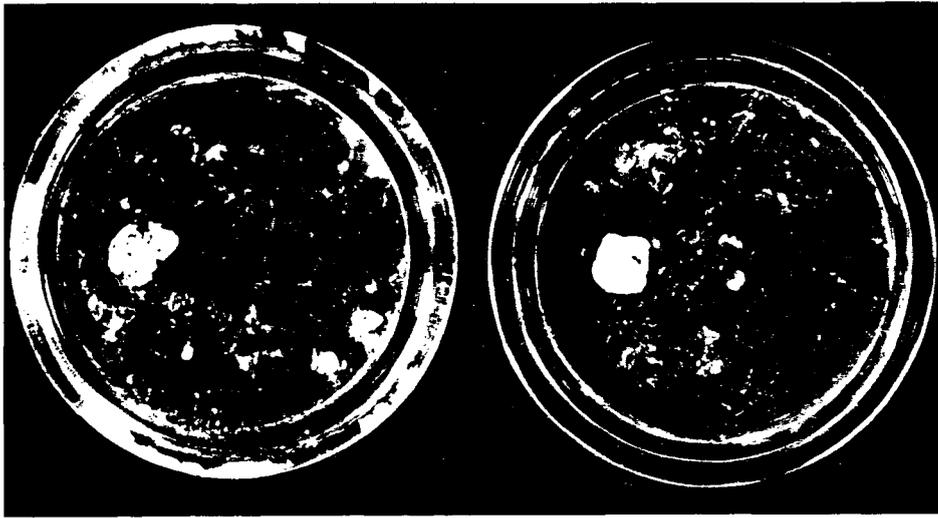


Abb. 15. Deformierte Fruchtkörperanlagen vom Typ „59“, nach zweimaliger Vermehrung der aus der Mischkultur 59 × Hu hervorgegangenen normalen blonden Fruchtkörper über Sporen in Glaskultur aufgetreten.

kommt die Klasse „weiße normale Fruchtkörper“. Sie trat nur einmal unter 316 Einsporkulturen auf. Der entsprechende Stamm war fast steril. Er brachte nur einen weißen Fruchtkörper.

Tabelle 3. Übersicht über die Einsporkulturen, die blonde und weiße normale Fruchtkörper brachten (2. Generation).

Sporen- muster	Einspor- kultur Nr.	Glas 1			Anzahl Glas 2			ξ		
		b	v	w	b	v	w	b	v	w
B	E 215	11	1	1	13	-	-	24	1	1
	E 218	-	-	2	16	-	-	16	-	2
	E 296	8	-	1	10	-	-	18	-	1
	E 301	16	-	-	11	-	1	27	-	1
	E 466	9	-	2	11	-	-	20	-	2
	E 542	-	-	2	6	-	-	6	-	2
D	E 539	2	-	4	-	-	1	2	-	5
F	E 515	10	2	1	8	3	-	18	5	1
G	E 353	2	-	1	3	-	5	5	-	6
L	E 391	16	-	-	8	1	2	24	1	2

b = Fruchtkörper mit blondem Hut  
v = Fruchtkörper mit bräunlich verfärbtem Hut  
w = Fruchtkörper mit weißem Hut

Der Anteil der verschiedenen Klassen von Einsporkulturen an der Gesamtzahl ist in der zweiten und dritten Generation ähnlich. Deformierte Anlagen in Gemeinschaft mit normalen blonden Fruchtkörpern wurden in der dritten Generation allerdings häufiger beobachtet (13,6% gegenüber 2,1% in der zweiten Generation). Der Unterschied läßt sich erklären. Die Pilze der zweiten Generation wurden, wie es am hiesigen Institut üblich ist, sieben Wochen lang geerntet. Die Gläser wurden danach gemeinsam mit den im Kulturraum stehenden Kisten entfernt und der Raum mit neuen Kulturen belegt. Die Prüfgefäße der dritten Generation wurden jedoch nach sieben Erntewochen nicht ausgeleert, sondern in einen anderen Kulturraum umgeräumt. Dadurch konnten sehr spät erscheinende deformierte Anlagen mit erfaßt werden. Von der elften Erntewoche ab wurden in vielen Prüfgefäßen große ovale Anlagen beobachtet, die den deformierten Fruchtkörpern von 59 sehr ähnelten (Abb. 15 und 16). Sie erreichten Längen von 1,5 cm und waren alle mehr oder weniger stark

bräunlich verfärbt. Alle Einsporkulturen, bei denen diese ovalen stiellosen Gebilde beobachtet wurden, hatten vorher normale blonde Fruchtkörper geliefert. Bei den meisten Stämmen wurde nur in einem der beiden Prüfgefäße eine große deformierte Anlage gefunden. Selten gab es mehrere solche Gebilde in einem Gefäß. Die Gläser waren in zwei Räume umgesetzt worden. In beiden Räumen traten die beschriebenen Deformierungen auf.

Um die Echtheit der Deformierungen zu prüfen, wurden von fünf großen deformierten Anlagen sogenannte „Gewebeulturen“ geschnitten. Unter Gewebeulturen versteht der Champignonzüchter eine Vermehrung des Plektenchyms. Von den inneren keimfreien Teilen eines Fruchtkörpers werden unter sterilen Bedingungen kleine Stücke entnommen. Sie werden auf einen Agarnährboden übertragen, wo sie bald Mycel entfalten. Die aus den deformierten Anlagen gewonnenen Gewebeulturen brachten später in Glas- sowie Kistenkultur alle normale blonde Fruchtkörper.

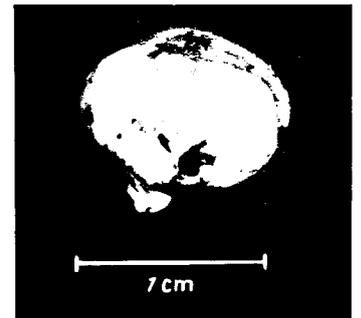


Abb. 16. Eine der deformierten Fruchtkörperanlagen von Abb. 15 in Seitenansicht. 2,5 × vergr.

Außer aus 31 blonden Fruchtkörpern der verschiedensten Einsporkulturen wurden aus zur gleichen Einsporkultur gehörenden blonden und weißen Fruchtkörpern der zweiten Generation Sporen gewonnen (Abb. 14). Dabei trat unter den von den weißen Fruchtkörpern abstammenden Einsporkulturen der deformierte Phaenotyp wieder rein auf. In der ersten Prüfung in Litergläsern wurde er einmal unter 19 vom selben Sporenpilz gewonnenen Einsporkulturen gefunden. Der entsprechende Stamm wurde seitdem wiederholt in Kistenkultur geprüft. In allen Prüfungen glich er vollkommen Stamm 59. Ein hoher Prozentsatz der aus den drei weißen Sporenpilzen hervorgegangenen Einsporkulturen trug nur weiße Fruchtkörper. Von einzelnen Einsporkulturen wurden neben weißen auch blonde Fruchtkörper oder sogar nur blonde Fruchtkörper geerntet. Alle diese Einsporkulturen stammten von demselben Sporenpilz ab. Ein relativ hoher Prozentsatz der Stämme (7,5%) blieb ohne Ertrag.

Die von dem blonden Fruchtkörper abstammenden Einsporkulturen brachten alle nur blonde normale Fruchtkörper.

Während Abb. 14 veranschaulicht, welche Einsporkultur-Klassen insgesamt aus den Sporenpilzen der zweiten Generation hervorgingen, gibt Tabelle 4 eine Übersicht über die einzelnen Sporenmuster und das Aussehen der daraus gewonnenen Einsporkulturen. Die Sporenmuster sind entsprechend ihrer Abstammung und nach Farbe der Sporenpilze getrennt aufgeführt. Von den Einsporkulturen werden die absolute Zahl sowie der prozentuale Anteil der einzelnen Klassen an der Gesamtzahl angegeben.

Eine Übersicht über sämtliche Einsporkulturen unter Berücksichtigung ihrer Abstammung und ihrer

Hutfarben und Formen gibt die graphische Darstellung in Abb. 17. In der ersten Spalte von links sind die zur ersten Sporengewinnung benutzten normalen blonden Fruchtkörper (erste Generation) aufgeführt (mit schwarzem Hut gezeichnet). Man kann der Spalte entnehmen, ob die Sporenpilze neben oder zwischen deformierten Fruchtkörpern oder Anlagen gestanden hatten. Bei den in Dreiergruppen gezeichneten Sporenpilzen (Muster B—F) wurde jeweils einer der Fruchtkörper zur Sporengewinnung benutzt.

Die zweite Spalte von links zeigt, wie die Fruchtkörper der Einsporkulturen der zweiten Generation aussahen. Die in Tabelle 2 aufgeführten Einsporkultur-Klassen werden hier bildlich dargestellt. Durch die Höhe der Säulen wird der prozentuale Anteil der

Tabelle 4. Übersicht über die Einsporkultur-Klassen der 3. Generation.

Mischkultur (1. Gener.) Sporenmuster	2. Gener. Sporenmuster		Σ der ge- prüft. Einsp.	3. Generation											
				davon brachten n Einsporkulturen											
				nur no. b.		no. b. + w.		nur no. w.		no. b. + def.		nur def.		keinen Ertrag	
b.	w.	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%		
A	a		12	11	91,7	—	—	—	—	1	8,3	—	—	—	—
	b		14	13	92,9	—	—	—	—	1	7,1	—	—	—	—
B	a		9	8	88,9	—	—	—	—	—	—	—	—	1	11,1
	b		3	3	100,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	c		15	14	93,3	—	—	—	—	—	—	—	—	1	6,7
C	a		11	11	100,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	b		4	4	100,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
D	a		13	12	92,3	—	—	—	—	1	7,7	—	—	—	—
		b	18	2	11,1	2	11,1	13	72,2	—	—	—	—	1	5,6
		c	25	25	100,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		d	19	—	—	—	—	17	89,5	—	—	1	5,3	1	5,3
		e	16	—	—	—	—	14	87,5	—	—	—	—	2	12,5
E	a		12	11	91,7	—	—	—	—	1	8,3	—	—	—	—
	b		7	7	100,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
F	a		8	8	100,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	b		9	9	100,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	c		15	11	73,3	—	—	—	—	4	26,7	—	—	—	—
G	a		13	10	76,9	1	7,7	—	—	2	15,4	—	—	—	—
	b		11	9	81,8	—	—	—	—	1	9,1	—	—	1	9,1
	c		3	3	100,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
H	a		7	6	85,7	1	14,3	—	—	—	—	—	—	—	—
	b		10	7	70,0	—	—	—	—	3	30,0	—	—	—	—
J	a		10	3	30,0	—	—	—	—	7	70,0	—	—	—	—
	b		4	4	100,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
K	a		14	12	85,7	—	—	—	—	2	14,3	—	—	—	—
	b		6	3	50,0	—	—	—	—	1	16,7	—	—	2	33,3
L	a		13	4	30,8	1	7,7	1	7,7	6	46,2	—	—	1	7,7
	b		11	8	72,7	—	—	—	—	3	27,3	—	—	—	—
	c		12	10	83,3	—	—	—	—	2	16,7	—	—	—	—
M	a		13	11	84,6	1	7,7	—	—	1	7,7	—	—	—	—
	b		12	8	66,7	2	16,7	—	—	1	8,3	—	—	1	8,3
	c		13	12	92,3	—	—	—	—	1	7,7	—	—	—	—
	d		15	10	66,7	—	—	—	—	5	33,3	—	—	—	—
	e		10	10	100,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	f		7	6	85,7	—	—	—	—	—	—	—	—	1	14,3
Muster Aa—Da + Ea—Mf b. Sporenpilze			Σ 316	258	81,7	6	1,9	1	0,3	43	13,6	—	—	8	2,5
Muster Db—De b. Sporenpilz			Σ 25	25	100,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
w. Sporenpilze			Σ 53	2	3,8	2	3,8	44	83,0	—	—	1	1,9	4	7,5

Einsp. = Einsporkulturen  
no. = normalgeformte Fruchtkörper  
def. = deformierte Fruchtkörperanlagen

b. = Fruchtkörper mit blondem Hut  
w. = Fruchtkörper mit weißem Hut

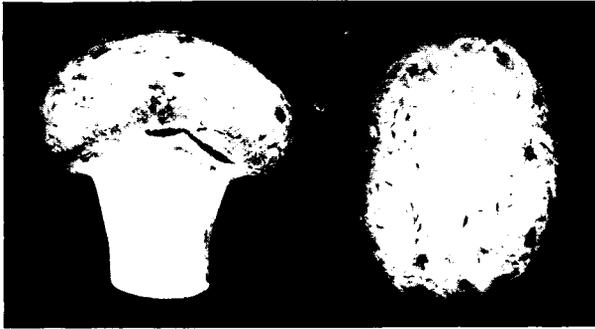


Abb. 19. Ovale blonde Fruchtkörper.

ein drittes Mal erneut in Gläsern angebaut. Es zeigten sich hier nur kleine Differenzen zu den ersten Kulturen. Zum Beispiel trugen in der ersten Kultur ertraglose Einsporkulturen bei der zweiten Kultur vereinzelt Fruchtkörper, oder es traten deformierte Anlagen sowie in der Farbe abweichende Fruchtkörper nur in einer der Prüfungen auf.

Einige Einsporkulturen konnten nur in der zweiten Glaskultur geprüft werden, da sie aus technischen Gründen (Infektion, langsame Entwicklung) zum Zeitpunkt der ersten Kultur nicht verfügbar waren. Eine dieser Einsporkulturen brachte bei zweimaliger Prüfung keinen Fruchtkörper, in der achten Erntewoche jedoch in einem der vier Gläser zwei deformierte Anlagen. Die Anlagen in einem weiteren Glas zeigten normale Formen, entwickelten sich jedoch nicht weiter. Die betreffende Einsporkultur wurde aus Muster E 539 b gewonnen, geht also auf die selbe Einsporkultur zurück wie der einzige rein deformierte Stamm der ersten Prüfungsreihe.

Einige Einsporkulturen, die im Glas deformierte Anlagen gezeigt hatten, wurden in Kistenkultur geprüft. Es wurde angenommen, daß es hier gegebenenfalls zur Bildung deformierter Fruchtkörper kommen würde. Sie traten jedoch nur in einem Falle, nämlich bei dem rein deformierten Stamm EE 495 auf.

Vereinzelt wurden dagegen länglich verformte blonde Fruchtkörper beobachtet (Abb. 19). Bei diesen könnte es sich um eine Zwischenform zwischen 59 und Hu handeln. Die Fruchtkörper von 59 sind stiellos und haben einen ovalen Hut, die Fruchtkörper von Hu haben einen Stiel und einen runden Hut (vgl. Abb. 1). Da derartig verformte Fruchtkörper jedoch auch in den nur mit Hu gespickten Kontrollkisten auftraten, kann ihnen keine besondere Bedeutung beigemessen werden.

#### D. Erklärung der Versuchsergebnisse

Für das Verständnis der vorliegenden Versuchsergebnisse ist die Kenntnis der Entwicklung und des Kernverhaltens von *Agaricus bisporus* notwendig. Entsprechende Untersuchungen wurden von KLIGMAN (1943), SARAZIN (1955), EVANS (1959) und anderen Forschern durchgeführt. Die Ergebnisse seien hier kurz erwähnt.

In der Basidie von *Agaricus bisporus* verschmelzen zwei haploide Kerne zu einem diploiden Kern. Es ist das einzige diploide Stadium im Lebenszyklus des Pilzes. Nach kurzer Ruhezeit erfolgt eine meiotische Kernteilung, so daß die Basidie vier haploide Kerne enthält. Es werden zwei Sporen gebildet. Die beiden den Sterigmen am nächsten gelegenen Kerne wandern

je in eine Spore ein. Die beiden anderen Kerne folgen wenig später. EVANS (1959) stellte fest, daß die Entfernung der einzelnen Kerne von den Sterigmen von der Lage der Spindeln bei der zweiten meiotischen Teilung abhängt. Bei dem von ihm untersuchten Material erhielten nur 20% der Sporen „Geschwisterkerne“ der zweiten meiotischen Teilung.

Die beiden in die Spore eingewanderten Kerne teilen sich meist sehr bald, so daß die reife Basidiospore vier haploide Kerne enthält. Sie wandern in den sich bildenden Keimschlauch aus und teilen sich erneut. In den Hyphen nimmt die Zahl der Kerne schnell zu. Die einzelnen Zellen enthalten unterschiedlich viel Kerne, da sich die Kerne in der Regel unabhängig voneinander teilen. SARAZIN (1955) zählte z. B. in drei aufeinanderfolgenden Zellen 27, 8 und 13 Kerne.

KLIGMAN (1943) und SARAZIN (1955) beobachteten nur sich unabhängig voneinander teilende Kerne. HIRMER (1920), zitiert nach KLIGMAN (1943), stellte im Gegensatz dazu eine konjugierte Kernteilung fest. EVANS (1959) beobachtete, daß die Mitosen gewöhnlich in der Zelle verteilt stattfinden. Er sah jedoch einige Zellen, in denen sich Gruppen von Kernen, die zusammengehören schienen, gleichzeitig teilten. Neuerdings fand von ZALAY (persönliche Mitteilung) Kerne, die bei der Teilung mit ihren Längsseiten nebeneinander lagen. Sie traten nur vereinzelt auf und waren auffallend größer als die anderen in der selben Zelle liegenden und sich unabhängig voneinander teilenden Kerne.

Die Hyphen des Kulturchampignons bilden keine Schnallen. Einsporkulturen sind fertil (LAMBERT 1929, SINDEN 1935/1936, SARAZIN 1939). Die Zahl der Kerne pro Zelle nimmt in den Fruchtkörpern allmählich ab. Die Basidie enthält schließlich nur noch zwei haploide Kerne. Wie EVANS (1959) feststellte, finden vom Stadium der etwa knopfgroßen Fruchtkörperanlage an nur noch wenige Kernteilungen statt. Es werden jedoch viele Zellquerwände gebildet. Die Abnahme der Kerne in den Fruchtkörpern läßt sich auf diese Weise erklären.

Ein Schema der Versuchsanordnung ist in Abb. 20 dargestellt, in der zugleich auch eine Deutung unserer Ergebnisse unter der Annahme von vegetativer Hyphenverschmelzung mit nachfolgender meiotischer Rekombination in den Basidien sowie weiterer Entmischungsprozesse in den Einsporkulturen zu finden ist.

#### I. Die Mischkultur (erste Generation).

In Abb. 20 oben sind die beiden Elterntypen gezeichnet worden, links der normale blonde Elter, rechts der deformierte weiße Elter. Die Hyphen der beiden Stämme hatten Gelegenheit zu fusionieren. Von den beiden dargestellten normalen blonden Fruchtkörpern der ersten Generation wurde der rechte von Hyphen mit genetisch verschiedenen Kernen aufgebaut, während der linke nur aus Mycel des normalen blonden Elters hervorging.

Insgesamt traten im Versuch vier verschiedene Arten von Fruchtkörpern in der Mischkultur auf, nämlich die Ausgangstypen „normal blond“ und „deformiert weiß“ und außerdem die Neukombinationen „normal weiß“ und „deformiert blond“. Erwartet wurden jedoch nur die Elterntypen, da

ein Verschmelzen der genetisch verschiedenen Kerne und eine Umkombination der Gene in der anschließenden Meiosis normalerweise erst in der Basidie erfolgt. Wenn dennoch Neukombinationen von Genen auftraten, so sind eventuell parasexuelle Prozesse dafür verantwortlich zu machen.

Unter parasexuellen Prozessen werden genetische Rekombinationen in der Mitose mit anschließender Haploidisierung verstanden. Nach PONTECORVO (1958) wurde der parasexuelle Zyklus bei Pilzen bisher bei *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*, *Fusarium oxysporum* f. *Pisi* und *Aspergillus sojae* nachgewiesen. CROWE (1960) stellte auch bei *Schizophyllum commune* parasexuelle Prozesse fest. Er bewies mit Hilfe von Markierungsgenen, daß aus der Rekombination zwischen den beiden zueinander gehörenden Kernen des Dikaryons ohne Bildung von Fruchtkörpern und Basidiosporen nicht elterliche Paarungstypen entstehen können. Es ist nicht ausgeschlossen, daß auch beim Kulturchampignon genetische Neukombinationen außerhalb der Basidie möglich sind. Daß die Hyphen von 59 und Hu fusionieren und wahrscheinlich Kerne überwandern können, zeigte bereits das mikroskopische Bild. Parasexuelle Kernverschmelzung und Haploidisierung lassen sich jedoch kaum mikroskopisch nachweisen.

Es gibt aber auch noch eine andere Erklärung für das Auftreten normaler weißer Fruchtkörper in der Mischkultur 59×Hu. Die deformierten weißen Fruchtkörper von 59 könnten hinsichtlich der Form heterozygot sein, d. h. das Gen für normale Fruchtkörperform rezessiv enthalten. Dann müßten jedoch auch in den Kulturen der reinen Mutante Entmischungen häufig sein. Das ist jedoch nicht der Fall. Es ist also anzunehmen, daß dieser Stamm genetisch einheitlich ist. Die Spaltungsergebnisse der zweiten und dritten Generation sprechen eher dafür, daß

normal über deformiert dominiert. Schließlich darf auch die Möglichkeit von Neu- oder Rückmutationen oder, wie bereits erwähnt, einer Fehlbonitur nicht ausgeschlossen werden.

II. Die zweite und dritte Generation

Wie die Abb. 20 zeigt, können in der ersten Generation normale blonde Fruchtkörper gebildet werden, die aus einem Mischmycel aufgebaut sind, in dem blond über weiß und normal über deformiert dominieren. Bei einem so entstandenen Fruchtkörper können in den Basidien die beiden Kernsorten vereinigt werden, verschmelzen und aus den diploiden Kernen können durch die Meiosis die verschiedensten Tetraden rekombiniert werden. Bei einer freien Spaltung der Merkmale würden nach erfolgter Meiosis in der Basidie drei verschiedene Tetraden-Typen entstehen:

1. Der elterliche parentale Dityp = P-Typ,
2. der nichtelterliche Dityp = NP-Typ,
3. der Tetratyp = T-Typ.

Die Bezeichnungen P-Typ, NP-Typ und T-Typ entsprechen der in Tetradenanalysen üblichen Nomenklatur (REIMANN-PHILIPP, 1955).

Der P-Typ enthält von jedem Elterntyp zwei Kerne. Er kann bei Prae- sowie Postreduktion beider Loci entstehen. Der NP-Typ enthält je zwei Kerne mit nicht elterlichen, also neuen Kombinationen. In unserem Falle sind es die Kombinationen normal und weiß sowie deformiert und blond. Der NP-Typ kann wie der P-Typ bei Prae- sowie Postreduktion beider Loci entstehen. Bei Praereduktion des einen Locus und Postreduktion des anderen tritt nur der T-Typ auf. Hier besitzt jeder der vier Kerne einen anderen Genotyp. Auch bei Postreduktion beider Loci kann der T-Typ entstehen. In Abb. 20 wurden die drei möglichen Tetradentypen nebeneinander aufgezeichnet.

Auf die Tetradenbildung folgt unmittelbar die Vereinigung zweier haploider Kerne in einer Basidiospore. Dieser Vorgang entspricht der Kopulation. Es werden also je zwei Abkömmlinge aus einer Tetrade miteinander vereinigt, so daß jeder Tetradentyp ganz bestimmte Kernkombinationen hervorbringt. Die Möglichkeiten der Kernverteilung sind in der Abb. 20 unter den Tetradentypen aufgeführt. Beim P- sowie NP-Typ werden je drei genetisch verschiedene Sporen gebildet, beim T-Typ deren sechs. Zwei davon waren schon im P- bzw. NP-Typ vertreten, so daß sich insgesamt zehn verschiedene Kernkonstellationen ergeben (2.—11. Spore von links in Abb. 20). Nach den Versuchsergebnissen darf angenommen werden, daß normal über deformiert sowie blond über weiß dominiert. Von den zehn genetisch verschiedenen Sporen müßten dann fünf normale blonde Fruchtkörper liefern,

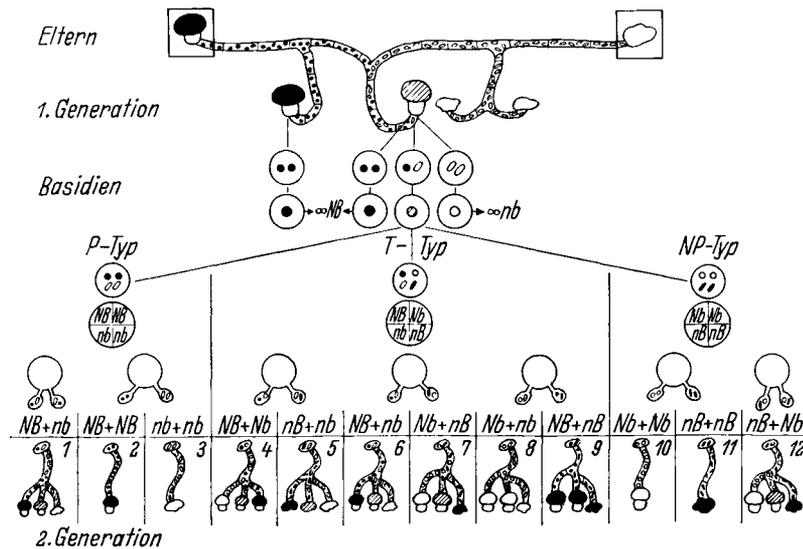


Abb. 20. Schema für die Fusions- und Entmischungsvorgänge in der Mischkultur (1. Generation) und der folgenden Generation.

Von oben nach unten gezeichnet: Eltern — Stämme; Sporenpilze (1. Generation); Basidien mit zwei haploiden Kernen; Basidien mit diploidem Kern; Basidien mit aus dem diploiden Kern hervorgegangenen haploiden Kernen; dabei bedeutet: P = elterlicher Dityp; T = Tetratyp; NP = nicht elterlicher Dityp; Verteilung der Kerne auf die Sporen; Sporen mit Mycel und Fruchtkörpern (2. Generation)

Kernzeichen	Bezeichnung:	Fruchtkörper:
●	NB	normal, blond
○	Nb	normal, weiß
◐	nB	deformiert, blond
◑	nb	deformiert, weiß

Bei den heterokaryotisch blonden Fruchtkörpern wurde der Hut gestreift gezeichnet, bei den homokaryotisch blonden Fruchtkörpern schwarz.

zwei normale weiße, zwei deformierte blonde und eine deformierte weiße Fruchtkörper.

In allen Mycelien, die aus zwei genetisch verschiedenen Kernsorten aufgebaut werden, sind nun auch wieder Entmischungen möglich, denn es besteht keine Koordination zwischen der Kernteilung und der Bildung von Zellquerwänden, wie von KLIGMAN (1943), SARAZIN (1955) und EVANS (1959) berichtet wurde. Zum Beispiel könnten in einem Mycel, das die Kerne Nb + nB<sup>1</sup> enthält, Kerne von der Konstitution Nb in einen Seitenast des Mycels wandern und darauf durch eine Querwand von den anderen Kernen getrennt werden. Der Seitenast würde sich weiter entwickeln und schließlich normale weiße Fruchtkörper liefern. Ebenso könnten Kerne von der Konstitution nB von den anderen Kernen abgetrennt werden. Solches Mycel würde deformierte blonde Fruchtkörper hervorbringen. Mycel mit beiden Kernarten würde normale blonde Fruchtkörper bilden (Abb. 20, 7.+12. Spore von links). Einsporkulturen mit normalen blonden und weißen sowie deformierten Fruchtkörpern traten in der zweiten Generation tatsächlich auf (Abb. 14). Da die deformierten Fruchtkörper jedoch über das Anlagenstadium nicht hinaus kamen, kann über ihre Farbe nichts ausgesagt werden.

In der zweiten Generation gab es ferner Einsporkulturen, die nur normale blonde Fruchtkörper bildeten. Vermutlich sind auch manche dieser Einsporkulturen heterokaryotisch, da zur Ausbildung normaler blonder Fruchtkörper nur jeweils ein dominantes Allel für Form und Farbe notwendig ist. Unterbleibt eine Kernentmischung, so tritt das rezessive Merkmal nicht in Erscheinung.

Zu den heterokaryotischen Einsporkulturen mit normalen blonden Fruchtkörpern kommen die homokaryotisch normalen blonden Einsporkulturen. Sie können aus einer Tetrade vom P-Typ hervorgegangen sein oder aus einer Basidie, die nur Kerne der Konstitution NB enthielt. Solche Basidien stammen entweder von genetisch reinen, normalen blonden Fruchtkörpern der ersten Generation ab oder von Mischfruchtkörpern, bei denen jedoch nur Kerne der Konstitution NB in eine Basidie gelangten (Abb. 20). Der hohe Prozentsatz an Einsporkulturen mit allein normalen blonden Fruchtkörpern (92,5%) läßt sich auf diese Weise erklären.

In der zweiten Generation traten ferner Einsporkulturen auf, die neben normalen blonden Fruchtkörpern einzelne normale weiße Fruchtkörper lieferten. Die Sporentypen, aus denen diese Einsporkulturen hervorgegangen sein könnten, sind an 4. und 7. bzw. 12. Stelle von links in der Abbildung 20 aufgeführt. Davon kann der zuletzt genannte Sporentyp außer blonden normalen und weißen normalen auch deformierte Fruchtkörper oder blonde normale und deformierte Fruchtkörper bringen, je nachdem, in welcher Weise eine Kernentmischung stattfindet. Deformierte Fruchtkörper neben normalen blonden Fruchtkörpern können auch die in Abb. 20 an 1. bzw. 6. und 9. Stelle von links gezeichneten Sporentypen bringen. Im Versuch traten in der zweiten Generation tatsächlich mehrere Einsporkulturen auf, die neben

normalen blonden Fruchtkörpern deformierte Fruchtkörperanlagen bildeten.

Nicht gefunden wurden in der zweiten Generation dagegen Einsporkulturen, die nur normale weiße Fruchtkörper, normale weiße und deformierte Fruchtkörper oder nur deformierte Fruchtkörper brachten. Nach Abb. 20 waren auch diese Typen zu erwarten. Da die Zahl der Einsporkulturen relativ klein war, kann es Zufall sein, daß einige der theoretisch möglichen Klassen nicht aufgetreten sind. Daß die rein deformierten Typen in den Kulturen nicht zu finden waren, könnte auch eventuell an einer Benachteiligung des deformierten Typs gegenüber dem normalen Typ liegen. Möglicherweise keimen die Sporen, die nur das Gen n enthalten, schwer aus. Es ist nichts darüber bekannt, doch zeigt sich schon an der sehr geringen Fertilität von 59, daß der deformierte Stamm gegenüber dem normalen geschwächt ist.

Einige Einsporkulturen der zweiten Generation brachten weder Fruchtkörper noch Fruchtkörperanlagen. Solche „sterilen Einsporkulturen“ treten jedoch auch auf, wenn Viel- oder Einsporkulturen über Einsporkulturen vermehrt werden. Von den von SINDEN (1937, zitiert nach KLIGMAN, 1943) und von KLIGMAN (1943) herangezogenen Einsporkulturen waren jedesmal 20–30% steril. EVANS (1959) studierte den Zusammenhang zwischen Spindellage bei der zweiten meiotischen Teilung und Verteilung der Kerne in die Basidiosporen. Die den Sterigmen am nächsten gelegenen Kerne wandern zuerst in die Sporen. In dem von EVANS berechneten Fall enthielten nur 20% der Sporen Kerne, die in der zweiten meiotischen Teilung aus demselben Dyadenkern hervorgegangen waren. EVANS vermutet, daß ein Zusammenhang zwischen diesen Sporen und sterilen Einsporkulturen besteht, denn bei vorwiegender Praereduktion eines für den Paarungsmodus verantwortlichen Locus sind die „Geschwisterkerne“ der zweiten meiotischen Teilung „gleichgeschlechtlich“.

Der Anteil der sterilen Einsporkulturen an der Gesamtzahl beträgt im vorliegenden Versuch in der zweiten Generation nur 1,8%. Der Prozentsatz ist also sehr viel niedriger als der von SINDEN bzw. KLIGMAN gefundene.

In der dritten Generation traten, wie zu erwarten, die selben Einsporkulturklassen wie in der zweiten Generation auf (Abb. 14). Hinzu kamen die Klassen „nur normale weiße Fruchtkörper“ und „nur deformierte Fruchtkörper“, die in der zweiten Generation zufällig nicht aufgetreten waren. Die Klasse „nur normale weiße Fruchtkörper“ trat in der Nachkommenschaft der blonden Sporenpilze der dritten Generation nur einmal auf. Die betreffende Einsporkultur trug nur einen Fruchtkörper. Die Klasse „rein deformiert“ trat hierbei nicht auf, während der Prozentsatz der ertraglosen Einsporkulturen etwas höher war als in der zweiten Generation.

Die drei weißen Sporenpilze aus der zweiten Generation stammen alle aus der selben Einsporkultur. Diese hatte zwei normale blonde und fünf normale weiße Fruchtkörper sowie einige deformierte Fruchtkörperanlagen hervorgebracht. Sie könnte demnach dem 7. bzw. 12. Sporentyp von links in Abb. 20 entsprochen haben.

<sup>1</sup> N = normal (dominant), n = deformiert (rezessiv); B = blond (dominant), b = weiß (rezessiv).

Die drei weißen Sporenpilze lieferten verschiedene Arten von Einsporkulturen. Aus dem Sporenmuster D e gingen nur normale weiße und ertraglose Einsporkulturen hervor (Tab. 4). Bei Muster D d trat außerdem der deformierte weiße Typ rein wieder auf, während von Sporenmuster D b neben normalen weißen und ertraglosen Einsporkulturen auch Einsporkulturen abstammten, die neben normalen weißen noch normale blonde Fruchtkörper oder sogar nur normale blonde Fruchtkörper brachten. Am Aufbau der beiden zuletzt genannten Sporenpilze waren demnach nicht allein Hyphen mit den Kernen für normale weiße Fruchtkörper beteiligt, wie man nach Abb. 20 annehmen müßte.

BÉKÉSY (1956) konnte bei dem Ascomyceten *Claviceps purpurea* nachweisen, daß sich die Sklerotien aus genetisch verschiedenen Hyphen aufbauen können. Er mischte das Impfmateriale von schwarzen Sklerotien mit Impfmateriale von weißen Sklerotien und infizierte mit der Mischung Roggen. Es bildeten sich neben schwarzen und weißen in geringer Zahl gestreifte Sklerotien. Außerdem gab es, wie weitere Versuche zeigten, auch periklinale Formen. Als BÉKÉSY von einem weißen Sklerotium Stücke aus dem inneren Teil abimpfte, wurden von diesen Stücken statt der erwarteten weißen Sklerotien überwiegend schwarze Mutterkörner gebildet. BÉKÉSY bezeichnete die aus genetisch verschiedenen Teilen zusammengesetzten Sklerotien als Pseudo-Chimären.

Es ist denkbar, daß sich auch unter den Fruchtkörpern von *Agaricus bisporus* Pseudo-Chimären befinden. Wir fanden allerdings keine Pilze mit blond-weiß gestreiften Hüten. Stellenweise verfärbte Pilze kamen dagegen vor. Sie werden aber auch, wie erwähnt, in Reinkultur beobachtet.

Die obengenannten Fruchtkörper waren reinweiß. Es ist jedoch möglich, daß in Parallele zu den beim Mutterkorn festgestellten Fällen einzelne Hyphen eines anderen Genotyps sich im inneren Teil des den Fruchtkörper bildenden Plektenchym befunden haben. Ein solcher Fall kann für die weißen Sporenpilze, unter deren Nachkommen auch blonde und deformierte Fruchtkörper auftraten, angenommen werden. Der weiße Fruchtkörper, dessen Sporen außer normalen weißen auch Kulturen mit weißen und blonden Fruchtkörpern hervorbrachten, stammte aus einer Einsporkultur, die dem 7. bzw. 12. Sporentyp in Abb. 20 entsprochen haben mußte. Nach der Entmischung der beiden Kernkomponenten ist die Hauptmasse der Fruchtkörper aus b-hältigen Kernen aufgebaut worden, während im Inneren auch Hyphen mit B-hältigen Kernen eingeschlossen waren. So konnten sich außer b/b-Basidien auch einige B/b-Basidien bilden.

Als Ursache für das Auftreten unerwarteter Merkmale nimmt SWIEZINSKY (1961 a) Kernwanderungen an. Nach dieser Hypothese kann nach Hyphenfusion ein Kern ( $A_1$ ) in einem fremden Mycel dadurch weiterwandern, daß er zuerst von dem nächstgelegenen Kern des fremden Mycels ( $B_1$ ) angezogen wird. Liegen beide Kerne dicht nebeneinander, verliert der Kern  $B_1$  seine Anziehungskraft, während ein anderer Kern des fremden Mycels ( $B_2$ ) den Kern  $A_1$  anzieht. Liegen die Kerne  $A_1$  und  $B_2$  dicht nebeneinander, verliert auch  $B_2$  seine Anziehungskraft und  $A_1$  wird von einem dritten fremden Kern ( $B_3$ ) ange-

zogen. Auf diese Weise wandert der in ein fremdes Mycel eingewanderte Kern in diesem von Kern zu Kern weiter. In unserem Falle könnte auf diese Weise ein B-haltiger Kern in Hyphen mit b-hältigen Kernen bis zur Basidie vorgedrungen sein.

Im Sporenmuster D d trat auch der deformierte Typ wieder rein auf. In Kulturkisten bildete die entsprechende Einsporkultur nur weiße deformierte Fruchtkörper. Andere Einsporkulturen brachten in späteren Prüfungen neben normalen weißen Fruchtkörpern deformierte Anlagen (Abb. 18, vgl. mit Abb. 5). Diese Einsporkulturen enthielten demnach die Kerne Nb + nb (8. Sporentyp von links in Abb. 20).

Schließlich wäre noch zu fragen, warum die Gewebekulturen von großen deformierten Fruchtkörperanlagen der dritten Generation (Abb. 15 und 16) normale blonde Fruchtkörper lieferten. Es könnte sich bei diesen Gebilden um keine genetisch bedingten Deformierungen, sondern um durch Umwelteinflüsse hervorgerufene Veränderungen handeln. Beim Kulturchampignon gibt es eine Reihe von Deformierungen, z. B. Rosenkammkrankheit, Lamellenlosigkeit (KLIGMAN 1950), die durch Umwelteinflüsse entstehen und genetisch nicht fixiert sind. Wahrscheinlicher ist es jedoch, daß auch diese deformierten Fruchtkörperanlagen Chimärencharakter besessen haben. An ihrem Aufbau könnten Hyphen mit den Kernen (NB + NB,) (NB + nb) und (nb + nb) beteiligt gewesen sein. Möglicherweise entfalteten sich die Hyphen mit den Kernen (NB + NB) und (NB + nb) schneller als die (nb + nb)-Hyphen. Diese wurden daher bei der Übertragung des Mycels auf frischen Nährboden nicht mit erfaßt.

## E. Diskussion

### I. Die Kreuzbarkeit von *Agaricus bisporus*

Die wichtigste Voraussetzung für die Kreuzung verschiedener Stämme ist die kontrollierbare Kopulation zwischen bestimmten haploiden Organen. Deshalb ist es ohne weiteres möglich, *Neurospora*-, *Sordaria*-, *Glomerella*-Arten usw. miteinander zu kreuzen, denn bei diesen Pilzen sind die Basidiosporen einkernig und liefern zunächst ein monokaryotisches Mycel. Man kann die Sporen isolieren und die verschiedenen Mycelien nach Belieben miteinander kombinieren. Beim Champignon liegen die Verhältnisse ganz anders. Die Kopulation erfolgt schon in der Basidie vor der Bildung der Basidiosporen, und man hat keine Gelegenheit hier einzugreifen. So bleibt lediglich die Möglichkeit, dikaryotische Mycelien zur Fusion zu bringen und auf die Bildung von Basidien mit verschiedenen Kernen zu hoffen.

Viele Fragen nach den Gesetzen der Hyphenfusion und dem Verhalten der vermischten Kerne sind bisher offen geblieben. So ist die Frage gestellt worden, ob in der Basidie tatsächlich Kernfusion und Meiosis stattfinden, oder ob es sich lediglich um Mitosen handelt. In diesem Fall wären die beiden Kerne einer Basidiospore genetisch identisch. EVANS (1959) konnte diese Vorstellung widerlegen, denn er fand Chromosomenbrücken und -fragmente in ca. 5% der Anaphasen von Basidien. Dies deutet auf Chiasma-bildung zwischen invertierten Segmenten hin und zeigt somit, daß die Teilung eine meiotische sein

muß und außerdem daß die beiden beteiligten Genome mindestens für eine Inversion heterozygot gewesen sein müssen. Karyogamie mit anschließender Meiosis wurde außerdem von KLIGMAN (1943) und SARAZIN (1955) nachgewiesen.

Daraus folgt also, daß durch Hyphenfusion dikaryotischer Mycelien jeweils vier verschiedene Kerne in einem Mycel zusammengebracht werden, denn auch die Abkömmlinge einer Tetrade sind als Folge der meiotischen Chromatiden- und Chromosomenrekombinationen niemals genetisch identisch.

Der Fusionsvorgang als solcher ist von LAMBERT (1959), EVANS (1959) und anderen beobachtet worden. EVANS konnte sogar in den kurzen Brücken, die sich zwischen dicht nebeneinanderliegenden Hyphen gebildet hatten, Kerne nachweisen, die offenbar im Begriff standen, überzutreten. Es handelte sich hierbei um Hyphen eines Stammes, die fusionierten. EVANS diskutiert daraufhin die Frage, ob ein durch ungleiche Verteilung der beiden Kernsorten des Dikaryons hervorgerufenen genetisches Ungleichgewicht die Ursache dieser Fusion sei, wobei durch den Übertritt der verlorengegangenen Kernsorte ein Ausgleich hergestellt wird. Das ist durchaus möglich. Weitere Untersuchungen über die Stabilität seiner Kulturstämme lassen den Autor jedoch vermuten, daß es beim Kulturchampignon kein vollkommenes genetisches Gleichgewicht gibt. In der Tat besteht kein Mechanismus, der dafür sorgt, daß Zahl und Art der beiden Kernsorten eines Dikaryons in allen Zellen gleichmäßig ist. Koordinierte Kernteilung und Schnallenbildung, die bei Basidiomyceten die Regel sind, gibt es bei *Agaricus bisporus* nicht. Vielmehr teilen sich die Kerne unabhängig voneinander und ihre Zahl schwankt von Zelle zu Zelle. Lediglich in der Basidie sind immer zwei Kerne enthalten. Aber auch dort kommen Unregelmäßigkeiten vor. So können gelegentlich drei, vier, sechs, acht oder auch nur eine einzige Basidiospore an einer Basidie angelegt werden (SARAZIN 1955). Die Inkonstanz der Hyphenkonstitutionen muß dazu führen, daß Zellen und Hyphenabschnitte nur noch die eine oder andere Kernsorte allein enthalten oder daß diese in verschiedenen Verhältnissen gemischt sind. Mit cytologischen Methoden allein kann man diese Dinge nicht beweisen. Deshalb fehlte es nicht an Versuchen, einen genetischen Nachweis sowohl für die Entmischung wie für den Kernübertritt zu erbringen.

KLIGMAN (1943) versuchte, Fusionen auszulösen und dadurch ein Merkmal von einem Stamm auf die Nachkommen eines anderen Stammes zu übertragen. Er verwendete drei sterile Einsporkulturen, eine, die von braunen und zwei, die von weißen Fruchtkörpern abstammten, ließ paarweise die Hyphen aufeinander zuwachsen und entnahm Mycel aus der Berührungsstelle. Bei der einen Kombination gingen aus den Hyphen der Verbindungsstelle braune, bei der anderen weiße Fruchtkörper hervor. Einsporkulturen, die aus ihnen gewonnen wurden, trugen einheitlich braune bzw. weiße Fruchtkörper. Hier spricht also nichts für einen Kernaustausch zwischen den verschiedenen Mycelien. Zwar brachten die für sich alleinwachsenden sterilen Stämme in Kombination Fruchtkörper hervor. Allein das braucht nicht zu bedeuten, daß die Ausgangsstämme Kerne gleichen Geschlechts enthalten haben, die nach Vereinigung

mit einem anderen Geschlecht Fruchtkörper bilden. Es ist auch denkbar, daß beide Stämme unfähig sind, einen bestimmten, zur Bildung von Fruchtkörpern notwendigen Stoff zu produzieren. Durch die Hyphenfusion wurden aber die fehlenden Stoffe ausgetauscht, so daß nun die Fruchtkörper entstanden. Das wäre zu vergleichen mit dem Befund von SWIEZYNSKI (1961 b), der bei *Coprinus lagopus* feststellte, daß gemeinsam wachsende auxotrophe Zweikernmycele fähig sind, sich gegenseitig zu ernähren.

MOESSNER (1962) vermischte das Mycel einiger Champignonstämme, die besonders charakteristische Fruchtkörperformen zeigten. Er beobachtete im Kulturbeet Fruchtkörper, die die Merkmale beider Partner auf sich vereinigten.

In den vorliegenden Untersuchungen wurden zwei Stämme mit zwei gut definierten Merkmalspaaren zusammengebracht, um Hyphenfusion zu ermöglichen. Es besteht kein Zweifel daran, daß tatsächlich Kerne ausgetauscht worden sind, denn es traten nicht nur in der Mischkultur zusammengewachsene Fruchtkörper auf, die verschiedene Merkmale trugen, sondern die Einsporkulturen derartiger Fruchtkörper zeigten auch Merkmalskombinationen aus beiden Ausgangsformen. Entmischungen von Merkmalen fanden sich sogar in den Einsporkulturen der zweiten und dritten Generation. Das sind eindeutige Beweise für Kernübertritt in der Mischkultur und für Kernentmischungen in den Einsporkulturen. Außerdem konnte durch die Untersuchungen nachgewiesen werden, daß die vegetativ vereinigten Kerne auch gemeinsam in eine Basidie eingehen und dort fusionieren können. Das beweisen die Rekombinationen der Merkmalspaare und das Auftreten aller zu erwartenden Spaltungstypen.

Ob die Kerne von *Agaricus bisporus* sexuell differenziert sind, läßt sich nach diesen Untersuchungen nicht feststellen. Es ist möglich, daß etwas derartiges existiert. EVANS (1959) beobachtete nämlich, daß in die Basidiosporen vorwiegend „Nichtgeschwisterkerne“ der zweiten meiotischen Teilung eingehen. Er selbst nimmt an, daß allein die zufällige Lage der Kernspindeln darüber entscheidet, welche Gonen miteinander kombiniert werden; daß jedoch ein Mechanismus, der dafür sorgt, daß die Teilungsebene der zweiten meiotischen Teilung bevorzugt parallel zur Oberfläche verläuft, zugleich die Heterozygotie solcher Loci fördert, die vorzugsweise praereduziert werden. Unsere Versuche sagen nichts aus über eine geschlechtliche Differenzierung der Kerne. Die beiden verwendeten Stämme dürften homokaryotisch für die beiden untersuchten Merkmalspaare gewesen sein. Ob sie aber zugleich heterokaryotisch in einem Geschlechtstypus sind, ist nicht bekannt.

## II. Dominanzphänomene im Dikaryon

In der Erklärung der vorliegenden Versuchsergebnisse wurde angenommen, daß normal über deformiert und blond über weiß „dominiert“. Dieser Ausdruck ist nicht ganz gerechtfertigt, denn im Dikaryon sind die haploiden Kerne selbständig und nicht paarweise verschmolzen wie bei einem diploiden Organismus. Es besteht im Falle von *Agaricus bisporus* auch keine Garantie dafür, daß wenigstens für ein stabiles Verhältnis der Gene zueinander

gesorgt ist. Die Frage ist also, welches Gen das Aussehen der Fruchtkörper bestimmt. Wird es vielleicht von der Kernart, die in der Überzahl ist, festgelegt? Setzt sich der Fruchtkörper aus Hyphen verschiedener Genotypen zusammen, dann bestimmt vielleicht die vorwiegend vorhandene Hyphenart Form und Farbe der Fruchtkörper? Oder spielt auch das Plasma eine Rolle bei der Merkmalsausprägung oder sogar bei der Vererbung der Anlagen selbst? Das sind Fragen über Fragen, die alle vorläufig unbeantwortet bleiben müssen.

### F. Schlußfolgerungen

Die Merkmale „weiße Fruchtkörperfarbe“, „deformierte Fruchtkörperform“ und „deformierte Anlagen“ wurden erfolgreich auf die Nachkommen eines Stammes mit blonden normalgeformten Fruchtkörpern und normalen Anlagen übertragen. Es bildeten sich in der Nachkommenschaft dieses Stammes zu einem geringen Prozentsatz normale weiße Fruchtkörper, deformierte Anlagen und in einem Falle deformierte weiße Fruchtkörper. Die meisten der von den normalen weißen Fruchtkörpern der zweiten Generation abstammenden Einsporkulturen trugen einheitlich normale weiße Fruchtkörper. Die Neukombination ließ sich demnach rein erhalten.

Für die praktische Züchtung kann daraus gefolgert werden, daß eine Kombinationszüchtung auch beim Kulturchampignon möglich ist. Da Neukombinationen jedoch nur in einem sehr geringen Prozentsatz auftreten, ist es fraglich, ob diese Methode praktische Bedeutung erlangen wird. Es wird in erster Linie von der Entwicklung geeigneter Methoden abhängen. Dazu gehören Maßnahmen, eine maximale Hyphenverschmelzung und Kernwanderung zu ermöglichen und die erwünschten Neukombinationen frühzeitig und sicher zu erkennen.

### G. Zusammenfassung

Ein Champignonstamm, der normal geformte Fruchtkörper mit blondem Hut hervorbringt, wurde in Mischkultur mit einem Stamm, der deformierte weiße Fruchtkörper und deformierte Anlagen bildet, angebaut. Im Kulturbeet erschienen die Fruchtkörper beider Stämme oft sehr dicht nebeneinander. Mitunter waren sie sogar zusammengewachsen.

Von zwölf normalen blonden Fruchtkörpern, die dicht neben deformierten weißen Fruchtkörpern oder deformierten Anlagen standen (erste Generation), wurden Sporen gewonnen und Einsporkulturen herangezogen. Die einzelnen Sporen wurden nicht unter dem Mikroskop isoliert. Es wurden vielmehr dünne Sporenaussaaten gemacht und die vereinzelt erscheinenden Mycelien ausgestochen. Nur so war es technisch möglich, die notwendige große Zahl an Einsporkulturen zu gewinnen. Diese wurden zunächst auf Weizenkörnern angezogen und anschließend auf Pferdemistkompost in Litergläsern auf Art der Fruchtkörperbildung geprüft. Von 282 Stämmen dieser zweiten Generation glichen 92,5% dem normalen blonden Elter, d. h. sie trugen nur normale blonde Fruchtkörper. 3,2% der Stämme bildeten neben normalen blonden auch normale weiße Fruchtkörper aus; 0,4% der Stämme zeigten außerdem deformierte Fruchtkörperanlagen, während 2,1%

neben normalen blonden Fruchtkörpern deformierte Anlagen bildeten. 1,8% der Stämme waren unfruchtbar.

Von 32 normalen blonden Fruchtkörpern der zweiten Generation wurden ebenfalls Sporen gewonnen und je 10–20 Einsporkulturen herangezogen. Auch sie wurden in Litergläsern auf ihre Art der Fruchtkörperbildung geprüft. Es traten die selben Einsporkultur-Klassen auf wie in der zweiten Generation. Hinzu kam ein Stamm, der nur einen einzigen weißen Fruchtkörper ausbildete. In mehreren Kulturgefäßen erschienen ferner neben blonden normalen Fruchtkörpern bis zu 1,5 cm lange ovale Gebilde, die Stamm 59 sehr ähnelten. Sie waren mehr oder weniger bräunlich verfärbt. Die von ihnen gewonnenen Gewebekulturen trugen aber normale Fruchtkörper.

Drei weiße Fruchtkörper, die neben blonden Fruchtkörpern und deformierten Anlagen in der zweiten Generation aufgetreten waren, wurden ebenfalls über Sporen vermehrt. Je Fruchtkörper wurden 20–30 Einsporkulturen herangezogen und in Glaskulturen auf Art der Fruchtkörperbildung untersucht. Sie trugen vorwiegend normale weiße Fruchtkörper. Bei einem der drei Sporenpilze brachten jedoch einige der Einsporkulturen normale blonde Fruchtkörper oder normale blonde und weiße Fruchtkörper. Eine von einem anderen der drei weißen Sporenpilze abstammende Einsporkultur brachte nur deformierte Fruchtkörper. Dieser Stamm war in allen Prüfungen von dem deformierten Elter, Stamm 59, nicht zu unterscheiden. Einige Einsporkulturen blieben ohne Ertrag.

Von dem Sporenmuster, aus dem der rein deformierte Typ hervorgegangen war, wurden weitere 71 Einsporkulturen gewonnen. Sie brachten vorwiegend weiße normale Fruchtkörper. Bei einigen Stämmen bildeten sich außerdem deformierte Anlagen. Von zwei Einsporkulturen wurden neben normalen weißen normale blonde Fruchtkörper geerntet. Acht Stämme blieben ohne Ertrag. Von diesen bildeten zwei Fruchtkörperanlagen, die aber nicht weiterwachsen und teilweise deformiert waren.

Die Versuchsergebnisse werden anhand einer Zeichnung erklärt. Dazu wird angenommen, daß nach erfolgter Fusion zwischen fremden Hyphen Kerne überwandern und sich im fremden Mycel vermehren. In der Basidie können zwei fremde haploide Kerne miteinander zu einem diploiden Kern verschmelzen. Je nachdem, ob Prae- oder Postreduktion eines oder beider Loci vorliegt, geht aus der Meiosis der P-, NP- oder T-Tetradentyp hervor. Von den vier Kernen werden je zwei auf eine Spore verteilt. Insgesamt können zehn verschiedene Sporenarten aus dieser Verteilung resultieren. Die entsprechenden Einsporkulturen können, wenn die Spore zwei genetisch verschiedene Kerne besaß, zwei oder drei Fruchtkörperarten hervorbringen. Beim Kulturchampignon besteht nämlich keine Koordinierung zwischen Kernteilung und Zellwandbildung. Die verschiedenen Kerne können demnach vegetativ voneinander getrennt werden.

Von den nach der Hypothese erwarteten Einsporkultur-Klassen wurden in der dritten Generation alle gefunden, wenn man bei den deformierten Typen die Farbe außer acht läßt. Der deformierte Stamm bringt nämlich oft nur Fruchtkörperanlagen hervor,

bei denen die Farbe nicht zu bestimmen ist. In der zweiten Generation fehlten zwei der erwarteten Einsporkultur-Klassen.

Parallel zu den Kulturversuchen wurden die Hyphen der beiden verwendeten Stämme mikroskopisch beobachtet. Das Mycel wurde auf Glas gezogen, wodurch die Hyphen in einer Ebene lagen. Zwischen den beiden Stämmen zeigten sich deutliche Fusionsbrücken. Die Kerne wurden mit 0,5% igem Kristallviolett angefärbt. In der Nähe der Fusionsstellen konnten Kerne sichtbar gemacht werden.

In der Diskussion wird auf die bisherigen Ergebnisse der genetischen Forschungen am Kulturchampignon eingegangen. Auf die noch ungeklärten Phänomene der Dominanz im Dikaryon des Kulturchampignons wird besonders hingewiesen.

Die Versuchsergebnisse zeigen, daß eine Kombinationszüchtung auch beim Kulturchampignon möglich ist. Da die Neukombinationen sehr selten auftraten, wird es von der Entwicklung geeigneter Arbeitsmethoden abhängen, ob die Kombinationszüchtung praktische Bedeutung erlangt.

Herrn Professor Dr. R. VON SENGBUSCH danke ich herzlich für die Möglichkeit, diese Untersuchungen an seinem Institut durchführen zu können, sowie für die ständige Förderung, die mir während dieser Zeit zuteil wurde.

Ebenfalls sehr dankbar bin ich Herrn Professor Dr. W. HOFFMANN und Frau Professor Dr. G. LINNERT für vielfältige Anregungen und Unterstützungen.

Darüber hinaus danke ich auch Herrn Professor Dr. Dr. h. c. H. KAPPERT für wertvolle Hinweise.

Schließlich möchte ich noch allen danken, die mir bei der technischen Durchführung der Arbeit geholfen haben.

#### Literatur

1. BÉKÉSY, N.: Über die vegetative und generative Übertragung von Mutterkorneigenschaften. *Z. Pflanzenzüchtg.* **35**, 461–496 (1956). — 2. CROWE, L. K.: The exchange of genes between nuclei of a Dikaryon. *Heredity* **15**, 397–405 (1960). — 3. DARLINGTON, C. D., and

L. F. LA COUR: The handling of chromosomes. London: Allen & Unwin Ltd. 1947. — 4. DODGE, B. O.: Crossing hermaphroditic races of *Neurospora*. *Mycologia* **24**, 7–13 (1932). — 5. EVANS, H. J.: Nuclear behaviour in the cultivated mushroom. *Chromosoma (Berl.)* **10**, 115–135 (1959). — 6. HUHNE, W., und R. v. SENGBUSCH: Aktivmycelspickung von Champignonkulturen. Die deutsche Gartenbauwirtschaft **7**, 238–239 (1959). — 7. HUNTE, W.: Champignonanbau im Haupt- und Nebenerwerb. Berlin: Verlag Paul Parey 1958. — 8. KAPPERT, H.: Die vererbungswissenschaftlichen Grundlagen der Züchtung. Berlin: Verlag Paul Parey 1953. — 9. KLIGMAN, A. M.: Some cultural and genetic problems in the cultivation of the mushroom „*Agaricus campestris*“. *American Journal of Botany* **30**, 745–762 (1943). — 10. KLIGMAN, A. M.: Handbook of mushroom culture. Lancaster, Pennsylvania: Business Press Inc. 1950. — 11. LAMBERT, E. B.: The production of normal sporophores in monosporous cultures of *Agaricus campestris*. *Mycologia* **XXI**, 333–335 (1929). — 12. LAMBERT, E. B.: Improving spawn cultures of cultivated mushrooms. *Mushroom Science* **IV**, 33–51 (1959). — 13. MOESSNER, E. J.: Preliminary studies of the possibility of obtaining improved cultures through mycelial fusion (Anastomoses). *Mushroom Science* **V**, 197–203 (1962). — 14. OLIVE, L. S.: On the evolution of Heterothallism in fungi. *Amer. Naturalist* **92**, 233–251 (1958). — 15. PONTECORVO, G.: Trends in genetical analysis. *Columbia Biological Series* **18** (1958). — 16. REIMANN-PHILIPP, R.: Genetische Untersuchungen an den Tetraden einer höheren Pflanze (*Salpiglossis variabilis*). *Zeitschrift für indukt. Abstammungs- und Vererbungslehre* **87**, 187–207 (1955). — 17. v. ROSEN, G.: Problems and methods in the production of tetraploids with the genus *Beta*. *Socker* **10**, 197–217 (1949). — 18. SARAZIN, A.: Cultures monospermes d'*Agaricus campestris*. *C.R.Ac. Sc., Paris*, **208**, 2015–2017 (1939). — 19. SARAZIN, A.: The cultivated mushroom. Übersetzung aus dem Französischen von Dr. C. J. Touche (1955). — 20. v. SENGBUSCH, P.: persönliche Mitteilung. — 21. SINDEN, J. W.: New methods of mushroom culture. *Ann. Rep. Veg. Grow. Ass. Amm.* **37**, 181–188 (1935–36). — 22. SWIEZYNSKI, K. M.: Migration of nuclei in tetrapolar Basidiomycetes. *Acta societatis botanicorum poloniae* **XXX**, 529–534 (1961a). — 23. SWIEZYNSKI, K. M.: Exchange of nuclei between dikaryons in *Coprinus lagopus*. *Acta societatis botanicorum poloniae* **XXX**, 535–551 (1961b). — 24. v. ZALAY, A.: persönliche Mitteilung.

Aus dem Max-Planck-Institut für Kulturpflanzenzüchtung in Hamburg-Volksdorf  
in Verbindung mit dem Institut für Vererbungs- und Züchtungsforschung der Technischen Universität Berlin

Versuche zur Frage der Merkmalsübertragung beim Kulturchampignon  
*Agaricus (Psalliota) bisporus* (Lge.) Sing.

Von GERDA FRITSCHÉ

Mit 20 Abbildungen

### A. Einleitung

Die züchterische Bearbeitung des Kulturchampignons erfordert andere Methoden als die höherer Pflanzen, denn seine cytologische Struktur, seine Entwicklung und seine Fortpflanzungsprozesse haben ihre eigenen Gesetzmäßigkeiten. So sind die Kerne seiner vegetativen Hyphen haploid; aber seine Zellen können eine unterschiedliche Anzahl von Kernen enthalten (Kligman, 1943). Zudem gibt es gewöhnlich zwei Sorten von Kernen in einem Mycel, die aus einer Basidie stammen, also durch die vorangegangene Meiosis rekombiniertes Erbgut erhalten haben. Wachsen verschiedene Hyphensysteme in einem gemeinsamen Substrat durcheinander, kann es darüberhinaus auch noch zu Fusionen zwischen genetisch verschiedenen Individuen kommen (P. v. Sengbusch, unveröffentlicht), so daß am Ende ein recht kompliziert aufgebautes Kerngemisch entsteht. Als Folgen einer solchen Konstitution sind Kernaustausch, Kernmischung sowie auch Interaktionen zwischen den einzelnen Kernsorten anzunehmen.

Die meisten Champignonzüchter arbeiten mit Vielsporkulturen, d. h. sie säen viele Sporen gemeinsam aus und ziehen das Mycel gemeinsam heran. Auf diese Weise ist es möglich, ein passendes Gemisch günstiger Komponenten herzustellen und vegetativ zu vermehren. Die Qualität dieses Gemisches hängt aber genauso von Zufälligkeiten ab wie die Qualität eines Saatgutes, das von frei abgeblühten Pflanzen eines Fremdbefruchters, z. B. Roggen, gewonnen wurde. Vielsporkulturen haben außerdem noch den

Nachteil, daß besonders wertvolle Typen leicht durch weniger wertvolle, aber schneller wachsende Typen verdrängt werden können.

Deshalb beginnen manche Champignonzüchter ihre Arbeit mit der getrennten Aussaat einzelner Sporen. Da die Sporen von *Agaricus bisporus* aus der Basidie zwei Kerne mitbekommen, bringen auch Einsporkulturen normale Fruchtkörper hervor (Lambert, 1929). Die brauchbarsten Einsporkulturen werden ausgelesen und vegetativ vermehrt.

Aber auch der züchterische Erfolg der Einsporkulturmethode ist begrenzt. Eine Einsporkultur entspricht etwa einer Inzuchtlinie bei höheren Pflanzen. Bei dieser Methode geht demnach genetisches Material verloren, und es fehlt der stimulierende Effekt, der durch die Kombination verschiedener Stämme erzeugt wird. Außerdem enthält eine Inzuchtlinie nur selten alle erwünschten Eigenschaften zugleich, so daß es erstrebenswert erscheint, auch beim Champignon Kombinationszüchtung zu betreiben.

Bisher ist aber nicht bekannt, ob man Stämme von *Agaricus bisporus* untereinander kreuzen kann, denn der Sexualprozeß findet schon in der Basidie statt, unmittelbar nach Beendigung der Reduktionsteilung, und die zweikernigen Basidiosporen sind sein Produkt. Die Hyphen der vegetativen Mycelien haben jedoch eine starke Neigung zur Fusion. Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es also, festzustellen, ob man mit Hilfe von Mischkulturen Kerne verschiedener Qualität aus verschiedenen Mycelien zusammenbringen kann, die auch gemeinsam in eine Basidie ein-

gehen, fusionieren und nach den bekannten Gesetzmäßigkeiten spalten.

Genetische Untersuchungen an Agaricaceen sind bisher vor allem mit *Coprinus lagopus* und *Schizophyllum commune* durchgeführt worden, die jedoch ganz andere Voraussetzungen bieten. Sie bilden vor der Kopulation monokaryotische, geschlechtlich unterscheidbare Hyphen, die, entsprechend ihrem Anteil an Geschlechtsfaktoren, paarweise fusionieren und dadurch erst ein dikaryotisches Mycel bilden. Sie sind also schwerlich mit dem Kulturchampignon zu vergleichen.

Cytogenetische Untersuchungen an *Agaricus bisporus* wurden von mehreren Forschern durchgeführt. EVANS (1959) studierte das Verhalten der Kerne sowohl in den somatischen Zellen als auch in der Basidie und stellte Gesetzmäßigkeiten hinsichtlich der Verteilung der Kerne auf die Sporen fest. Untersuchungen über die Verteilung der Kerne innerhalb der Hyphen wurden von HIRMER (1920), COLSON (1935) und KLIGMAN (1943) [zitiert nach EVANS (1959)] durchgeführt, während MAIRE (1902), SASS (1928, 1936), COLSON (1935) und SARAZIN (1938, 1939) [zitiert nach EVANS (1959)] sowie KLIGMAN (1943) besondere Aufmerksamkeit dem meiotischen Prozeß und dem Verhalten der resultierenden haploiden Kerne in der Basidie und in den Sporen schenkten. Wie schwierig diese Studien bei *Agaricus bisporus* sind, zeigen die verschiedenen Angaben der Chromosomenzahlen: KLIGMAN (1943) gibt  $n = 9$ , SARAZIN (1955)  $n = 4$  und EVANS (1959)  $n = 12$  an.

Die bisher umfassendste Arbeit über die genetischen Probleme beim Kulturchampignon wurde von KLIGMAN (1943) veröffentlicht. Er führte als einziger bisher „Kreuzungsversuche“ durch, wozu ihm jedoch nur Stämme mit verschiedenfarbigen Hüten (braun und weiß) zur Verfügung standen. KLIGMAN konnte keine Fruchtkörper mit Bastardbasidien nachweisen, da in der Nachkommenschaft der braunen Fruchtkörper keine weißen Fruchtkörper auftraten und umgekehrt. KLIGMAN folgert jedoch aus diesem Ergebnis nicht, daß keine Bastardbasidien auftreten können, sondern weist auf die Schwierigkeit hin, die entsprechenden Fruchtkörper zu erkennen.

Wenn es intermediäre Formen zwischen braunen und weißen Champignonstämmen<sup>1</sup> geben sollte, so würden diese wahrscheinlich an bräunlich verfärbten Hüten zu erkennen sein. Sehr aufgehellte Hüte kommen jedoch gelegentlich auch bei braunen Stämmen vor. Ebenso können sich die Hüte weißer Stämme bräunlich verfärben. Kann das Farbmerkmal jedoch mit einem Formmerkmal kombiniert werden, dann sind Neukombinationen möglich. Sie können einwandfrei erkannt werden. Da uns entsprechendes Versuchsmaterial zur Verfügung stand, konnten wir die Frage der Merkmalsübertragung beim Kulturchampignon erneut in Angriff nehmen.

## B. Material und Methoden

### I. Beschreibung der Stämme

Die beiden für die Versuche verwendeten Stämme unterscheiden sich in Farbe und Form der Fruchtkörper. Stamm „Hu“ ist eine Handelssorte, die nor-

<sup>1</sup> Stämme mit braunem bzw. weißem Hut

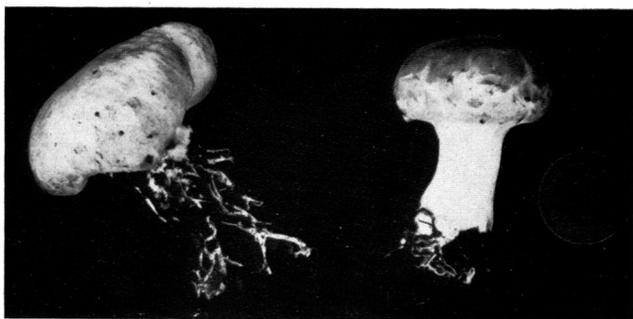


Abb. 1. links: deformierter weißer Fruchtkörper von Stamm „59“; rechts: normaler blonder Fruchtkörper von Stamm „Hu“.

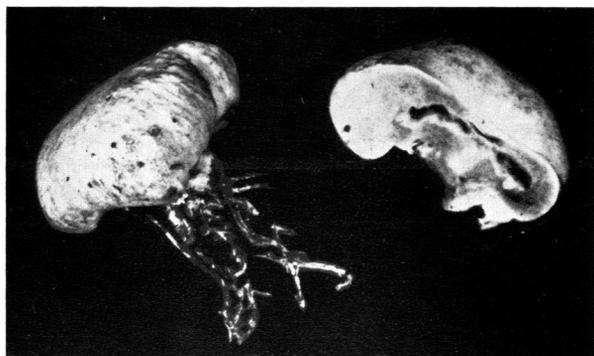


Abb. 2. Deformierte weiße Fruchtkörper von Stamm „59“; links: ungeschnitten, rechts: im Querschnitt.

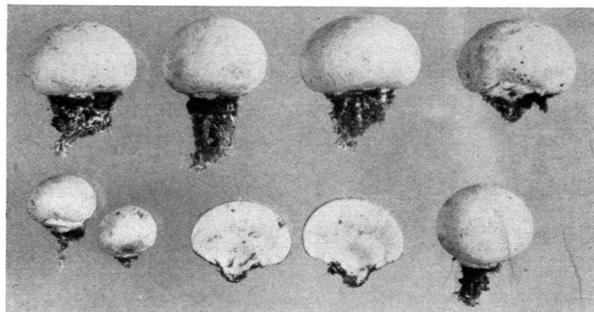


Abb. 3. Deformierte weiße Fruchtkörper von Stamm „59“, nach fortgesetzter Mycelvermehrung aufgetretene Form. In der unteren Reihe teilweise im Querschnitt.

mal geformte Fruchtkörper mit blondem<sup>1</sup> Hut hervorbringt. Stamm „59“ ist eine von uns gewonnene Einsporkultur. Sie stammt von einer weißen Handelsorte ab und bildet bovistartig deformierte Fruchtkörper von weißer Farbe. In Abb. 1 sind die Fruchtkörper der beiden verwendeten Stämme einander gegenübergestellt, links „59“, rechts „Hu“. Nach mehrmaliger Vermehrung des Mycels veränderten sich die Fruchtkörper von „59“ etwas. Bei unseren ersten Kulturversuchen hatten sie, wie Abb. 1 und 2 zeigen, eine ungleichmäßig ausgebuchtete Oberfläche. Der Stiel fehlte. Bei den zuletzt durchgeführten Kulturversuchen dagegen bildeten sich nur glattwandige Fruchtkörper (Abb. 3). In verschiedenen Fällen war ein wenige Millimeter langer Stielansatz vorhanden. Stamm 59 bildet keine Sporen aus, wie die Querschnitte in Abb. 2 und 3 erkennen lassen. Häufig ist an Stelle der Lamellen ein Hohlraum zu sehen. Auch in der Form der Fruchtkörperanlagen weicht Stamm 59 vom Normalen ab. Es werden zahlreiche Anlagen gebildet, von denen jedoch nur wenige zu Fruchtkörpern heranwachsen. Viele der anderen Anlagen vergrößern sich langsam bis zu etwa 1 cm Durch-

<sup>1</sup> blond = Bezeichnung für ein helles Braun

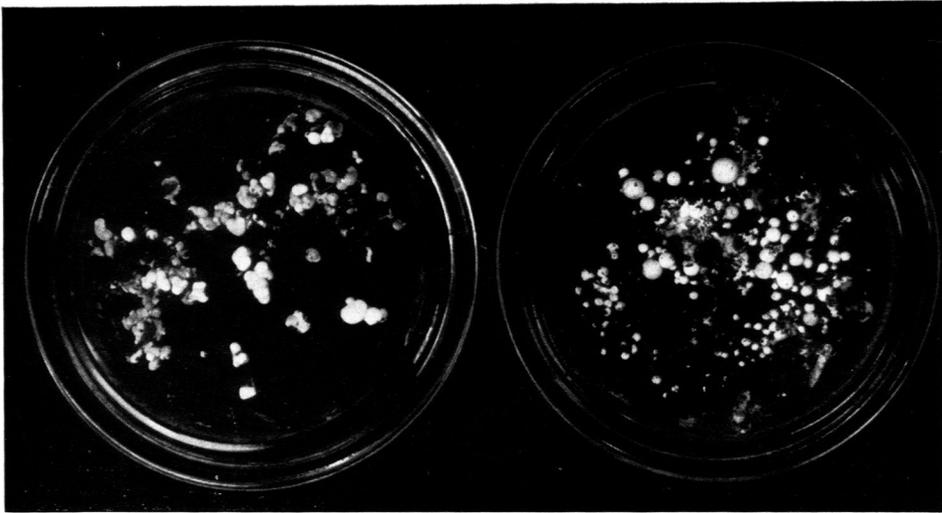


Abb. 4. Deformierte Fruchtkörperanlagen des Stammes „59“ (linkes Glas) im Vergleich zu normalen Anlagen (rechtes Glas).

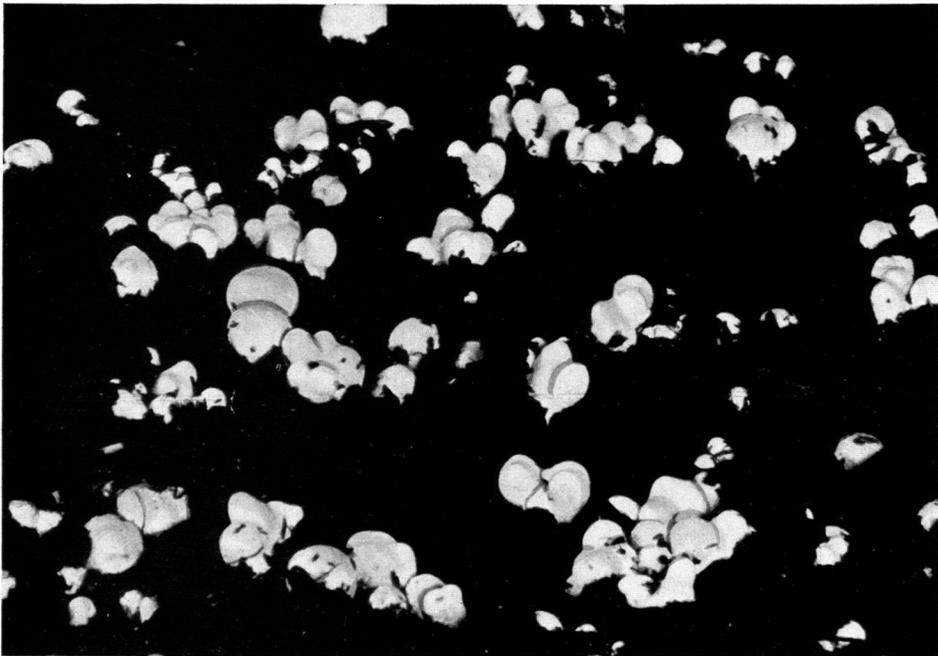


Abb. 5. Deformierte Fruchtkörperanlagen des Stammes „59“, 2× vergr.

messer, wobei sie häufig ungleichmäßig ausgebuchtete ovale Formen annehmen. Oft sind mehrere Anlagen zusammengewachsen (Abb. 4 und 5).

Auf den Champignonkulturbeeten normaler Stämme kann man bovistähnliche Fruchtkörper finden, wenn ein Befall durch *Verticillium* oder *Mycogone* vorliegt (HUNTE, 1958). Dann sind jedoch nicht alle Fruchtkörper bovistartig deformiert, sondern es treten sehr verschiedene Verformungen auf. Viele der Fruchtkörper haben einen normalen Stiel, der jedoch häufig dick und unförmig ist. Die Hüte sind klein und sitzen schief auf dem Stiel. Je stärker der Befall ist, um so mißgestalteter sehen die Fruchtkörper aus. Ein weiteres Krankheitssymptom ist ein weicher weißer Belag, der die Fruchtkörper ganz überzieht und nach zwei bis drei Tagen dunkelbraune Tropfen bildet. Gleichzeitig entwickelt sich ein penetranter, fauliger Geruch (HUNTE, 1958). Bis auf die bovistartige Fruchtkörperform trifft aber keines der genannten Symptome für Stamm 59 zu.

durch Parasiten hervorgerufene Erscheinungen handelt, zeigt auch das Ergebnis eines Infektionsversuches. *Verticillium* sowie *Mycogone* werden durch die Deckerde übertragen (HUNTE, 1958). Es wurden daher Deckerdeklumpen, die dicht neben bovistartig deformierten Fruchtkörpern des Stammes 59 lagen, für Infektionszwecke benutzt. Ein Teil der Erde wurde in Leitungswasser aufgeschwemmt. Die Suspension (eine Messerspitze Erdkrumen — ca. 1 g — in 60 ccm Wasser) wurde auf ein 400 qcm großes Stück Beetfläche mit 50 Fruchtkörperanlagen gegossen. Eine weitere Messerspitze voll Erde wurde auf die Anlagen gestreut. In den folgenden sieben Wochen wurden von dem infizierten Stück und der angrenzenden Beetfläche (insgesamt 0,5 qm) 388 normal geformte Fruchtkörper geerntet. Die für *Mycogone* oder *Verticillium*-Befall typischen Deformierungen wurden nicht beobachtet.

<sup>1</sup> Spicken = Einbringen des Mycels in das Kulturbeet

*Verticillium* und *Mycogone* sind wegen ihrer schnellen Verbreitung von den Champignonanbauern besonders gefürchtet. Wir haben Stamm 59 jedoch zwanzigmal in unseren Kulturräumen geprüft und niemals in den mit anderen Stämmen gespickten<sup>1</sup> benachbarten Beeten von den genannten

Parasiten befallene Fruchtkörper gefunden. Bovistartig deformierte Fruchtkörper traten jedoch spontan in anderen Kulturräumen auf. Eine mikroskopische Kontrolle kleiner Stücke des Plektenchymis zeigte, daß diese Deformierungen durch *Verticillium* hervorgerufen worden waren. Die wirtelartigen Sporangienträger des Schadpilzes waren deutlich zu erkennen (Abb. 6). Im Plektenchym der deformierten Fruchtkörper von Stamm 59 waren dagegen keine Sporangienträger zu finden (Abb. 7). Abb. 7 zeigt lediglich einige hochstehende Champignonhyphen. Auch konnten bei Stamm 59 keine Sporen von *Mycogone perniciososa* nachgewiesen werden.

Daß es sich bei den Deformierungen von Stamm 59 um keine

Aus den angeführten Gründen darf angenommen werden, daß die Fruchtkörperdeformierungen von 59 nicht durch Krankheitserreger hervorgerufen werden. Sie sind vielmehr genetisch bedingt.

Eine Nachkommenschaftsprüfung von Stamm 59 ist nicht möglich, da keine Sporen gebildet werden. Trotzdem wurde der Stamm für die Versuche verwendet, denn seine Fruchtkörperform ist als Unterscheidungsmerkmal besonders wertvoll. Uns ist kein weiterer Fall dieser Art der Deformierung bekannt. Von den 4800 bisher von uns bearbeiteten Einsporkulturen brachte keine, außer Stamm 59, bovist-ähnliche Fruchtkörper hervor.

Die Stämme „Hu“ und „59“ unterscheiden sich also in zwei Merkmalen. Falls durch Hyphenfusion eine Vermischung der Kerne des normalen blonden Stammes Hu mit denen des deformierten weißen Stammes 59 stattfände, könnten unter den Nachkommen Stämme auftreten, die das Merkmal „normale Fruchtkörperform“ von Hu und das Merkmal „weiße Fruchtkörperfarbe“ von 59 auf sich vereinigen. Ebenso könnten die Eigenschaften „deformierte Fruchtkörperform“ und „blonde Hutfarbe“ in einem Stamm als Neukombinationen auftreten.

Da Stamm 59 keine Sporen bildet, konnten nur die Nachkommen der normalen blonden Fruchtkörper einer Mischkultur von 59 und Hu auf Spaltung hin untersucht werden. Zur Kontrolle war zu prüfen, ob unter den Nachkommen der in Reinkultur gehaltenen Pilze von Hu auch normale weiße Fruchtkörper auftreten können, ob der Stamm also nicht etwa heterozygot für das Farbmerkmal ist.

Zu Züchtungszwecken sind am Institut viele Einsporkulturen von der Handelssorte „Hu“ herangezogen worden. Nur bei 2 von 661 in je drei 1-l-Gläsern vorselektierten Stämmen wurden weiße Fruchtkörper vermerkt. Dieser geringe Anteil von nur 0,3% ist möglicherweise auf Versuchs- oder Beobachtungsfehler zurückzuführen, denn diese Massenuntersuchungen, die ursprünglich anderen Zwecken dienen sollten, wurden zum Teil von unerfahrenen Kräften durchgeführt. Es darf daher angenommen werden, daß ein höherer Prozentsatz an normalen weißen Fruchtkörpern in der Nachkommenschaft der normalen blonden Fruchtkörper einer Mischkultur 59 × Hu durch Einwanderung von Kernen des Stammes 59 zustande gekommen ist.

Die Vorgänge der Hyphenfusion und des Kernübertritts können mikroskopisch beobachtet werden. Die Frage, ob die Kerne in den Hyphen des Partners bis zur Basidie gelangen, wo dann zwei fremde Kerne miteinander verschmelzen und Neukombinationen der Gene stattfinden, kann jedoch nur durch eine Nachkommenschaftsprüfung beantwortet werden.

Eine solche Prüfung wurde daher durchgeführt. Parallel dazu wurde das Verhalten der Hyphen und der Kerne mikroskopisch beobachtet.

## II. Methode zur Beobachtung der Fusionen

Ein gutes mikroskopisches Bild fusionierender Hyphen erhält man nur, wenn diese in einer Ebene liegen. Das ist bei Kultur auf den üblichen Agarnährböden kaum zu erreichen. Es wurde darum folgende, von Peter v. SENGBUSCH (unveröffentlicht) ausgearbeitete Methode angewendet: Ein in eine Petrischale gelegter Objektträger wird mit einem ver-

flüssigten Agarnährboden übergossen. Anschließend wird ein Streifen des erstarrten Agarnährbodens vom Objektträger abgehoben, so daß die Glasfläche zu sehen ist. Die beiden zu prüfenden Stämme werden je an eine Seite der Glasfläche auf den Agarnährboden geimpft. Das Mycel wächst von dort aus über das Glas. Haben sich die Hyphen der beiden Stämme getroffen, was bei kleiner Vergrößerung durch den Boden der Petrischale mikroskopisch kontrolliert werden kann, wird der Objektträger aus dem ihn umgebenden Agarnährboden herausgenommen. Jetzt können weitere mikroskopische Beobachtungen vorgenommen werden. Ferner kann das fest auf dem Glas haftende Mycel mit Fixier- und Färbemitteln behandelt werden.

Zum Fixieren wurde eine von NAVASHIN ausgearbeitete Mischung benutzt. Sie enthält 10 Teile 2%ige Chromsäure, 10 Teile 20%ige Essigsäure, 8 Teile 40%igen Formaldehyd und 2 Teile Aqua dest. (DAR-

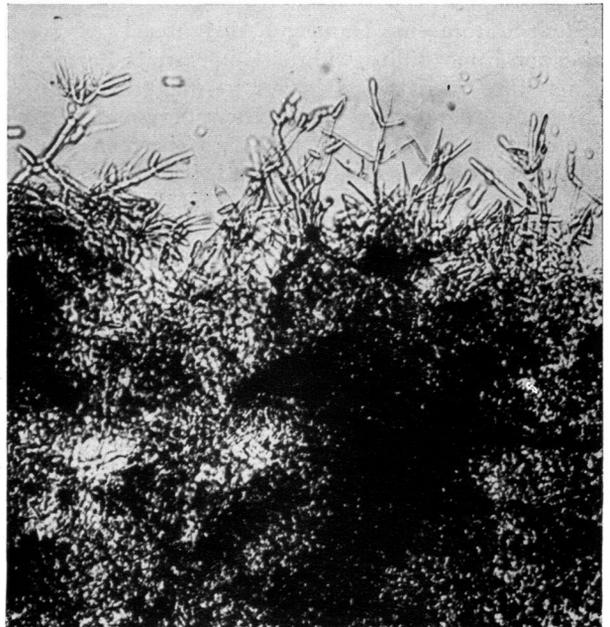


Abb. 6. Stück des Plektenchyms aus einem von *Verticillium malthousei* befallenen Fruchtkörper. 400× vergr. Die wirtelartigen Sporangienträger des Schadpilzes sind deutlich zu erkennen.

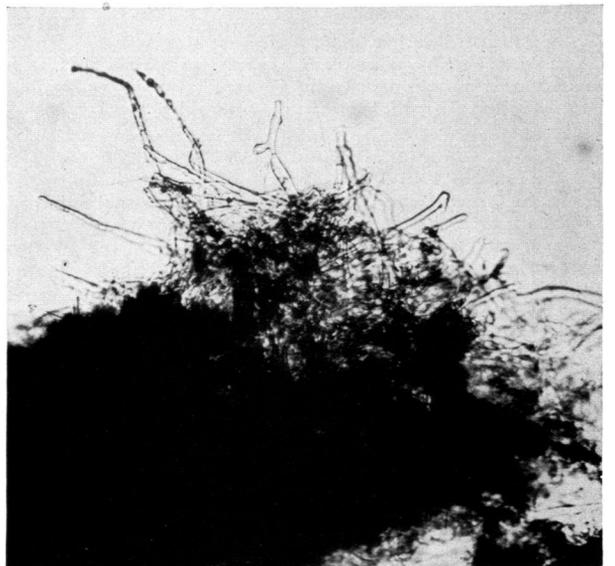


Abb. 7. Stück des Plektenchyms aus einem Fruchtkörper von Stamm „59“. 400× vergr.

LINGTON and LA COUR, 1947). Vor dem Anfärben wurde das Mycel eine Minute lang in eine Mischung von 1 Teil konz. Salzsäure und 2 Teilen abs. Alkohol gelegt. Diese Mischung wird von v. ROSEN (1949) zum Mazerieren von Wurzelspitzen bei Rüben empfohlen. Zur Färbung der Kerne wurde eine 0,5%ige Kristallviolett-Lösung verwendet. Die Objektträger mit den fest am Glas haftenden Hyphen wurden mehrere Stunden lang in die Farblösung gestellt.

### III. Methode der Nachkommenschaftsprüfung

Das Mycel der Stämme Hu und 59 wurde getrennt auf pasteurisiertem Pferdemistkompost herangezogen. Der gut durchspinnene Kompost wurde nach dem von HÜHNKE und v. SENGEBUSCH 1959 entwickelten Verfahren als sogenanntes „Aktivmycel“ zum Spicken der Beete benutzt. Das Aktivmycel beider Stämme wurde vor dem Spicken gründlich miteinander vermischt, indem eine Person abwechselnd von jedem Stamm eine Handvoll Aktivmycel (ca. 100 g) in einen Eimer füllte, während eine zweite Person das eingefüllte Aktivmycel locker vermengte. Ein Teil dieser Mischung wurde unter Benutzung einer Spickmaschine unter zwölf Teile pasteurisierten Pferdemistkompost (25 kg) verteilt und das Ganze in Kulturkisten von  $\frac{1}{2}$  qm Grundfläche gefüllt. Die Kisten wurden sofort mit einer etwa 3 cm hohen Deckerde-schicht versehen und im Kulturraum aufgestellt. Etwa zwei Wochen später begann die Ernte. Es wurde dabei besonders auf Form und Farbe der Fruchtkörper geachtet. Ferner wurde vermerkt, ob normale und deformierte Fruchtkörper dicht nebeneinander standen. Von zwölf normalen blonden Fruchtkörpern, die sich in der Nähe deformierter Fruchtkörper oder Anlagen bildeten, wurden Sporen gewonnen und Einsporkulturen herangezogen.<sup>1</sup>

Die Aussaat der Sporen erfolgte in Petrischalen von 9 cm Ø. Unterschiedlich große Mengen einer Sporenaufschwemmung (ein Tropfen bis etwa 1 ccm) wurden zwischen einen verflüssigten Weizenagar-Nährboden gemischt. Rezept des Weizenagarnährbodens: 125 g Weizenkörner werden mit 4 l Aqua dest. ca. 2 Std. lang gekocht. 24 Std. später wird die Lösung abgeseigt und mit 2% Agar verfestigt. Da nach KLIGMAN (1950) wachsendes Mycel die Keimung der Champignonsporen fördert, wurde etwa fünf Tage nach der Aussaat an den Rand der Schalen Mycel geimpft. Etwa sieben Tage später wurden in der Regel die ersten gekeimten Hyphen beobachtet. Sie wurden mit möglichst wenig Agarnährboden zusammen ausgestochen, um nicht bisher ungekeimte Sporen mit zu übertragen.

Die angewendete Methode garantiert nicht die Isolierung einzelner Sporen. Sie ermöglicht es jedoch, mit wenig Arbeitsaufwand viele Kulturen zu gewinnen und damit ein großes Material nach neuen Typen abzutasten.

Insgesamt wurden 284 Einsporkulturen in der zweiten Generation herangezogen. Sie wurden zunächst in Schrägröhrchen auf dem genannten Weizenagarnährboden kultiviert. Später wurden sie auf gekochte Weizenkörner übertragen. Mit den umspinnenen Weizenkörnern, der sogenannten „Körnerbrut“, wurden mit pasteurisiertem Kompost gefüllte Litergläser (400 g Kompost/Glas) ge-

<sup>1</sup> Bei der in „Mushroom Science V“ gedruckten Veröffentlichung wurden die Fruchtkörper der Mischkultur als P-Generation und die folgenden beiden Generationen entsprechend als 1. und 2. Generation bezeichnet. Da jedoch beim Champignon bereits vor der Fruchtkörperbildung eine Vereinigung der elterlichen Kerne in einer Zelle erfolgen kann, erscheint es richtiger, die Fruchtkörper der Mischkultur als 1. Generation zu bezeichnen, wie es in der vorliegenden Arbeit geschah.

spickt. Ein Teelöffel voll Brutkörner (ca. 5 g) wurde auf die Kompostoberfläche gegeben. Die Körner wurden mit Gabeln bis etwa 5 cm Tiefe eingearbeitet. Bei 24 °C gehalten, hatte das Mycel die Kompostgläser in zwei Wochen fast ganz durchspinnen. Sie wurden mit einer Deckerde-schicht versehen und im Kulturraum aufgestellt. Jede Einsporkultur wurde zunächst in zwei Gläsern geprüft. Auf dem Etikett wurden Zahl und Aussehen der geernteten Pilze vermerkt. Die Gläser wurden ferner auf Zahl und Form der Anlagen bonitiert und bei ertraglosen Gläsern notiert, ob der Kompost von Mycel durchspinnen war.

Von 42 normalen blonden oder weißen Fruchtkörpern dieser zweiten Generation wurden Sporen gewonnen. Bei der Wahl der Sporenpilze<sup>1</sup> wurde deren Abstammung berücksichtigt. Somit konnte von jedem der zwölf Ausgangspilze (erste Generation) eine zweite und eine dritte Generation untersucht werden. Von jedem Sporenmuster<sup>2</sup> der zweiten Generation sollten 15 Einsporkulturen herangezogen werden. Sechs Muster keimten nicht, und von einigen Mustern konnten nur wenige Einsporkulturen isoliert werden. Insgesamt umfaßte die dritte Generation 534 Einsporkulturen. Um möglichst verschiedene Genotypen zu erfassen, wurden neben den zur normalen Zeit gekeimten auch die spät gekeimten Einspormycele isoliert, denn vielleicht sind gerade sie genetisch interessant.

Die erste Prüfung der Einsporkulturen der dritten Generation erfolgte wie bei der zweiten Generation in je zwei 1-l-Gläsern. Kulturen, bei denen in der ersten Prüfung deformierte Anlagen oder normale weiße Fruchtkörper auftraten, wurden ein zweites Mal in Gläsern kultiviert. In beschränktem Umfang erfolgten dann auch Prüfungen in Kulturkisten von  $\frac{1}{2}$  qm Anbaufläche.

Von einem Sporenmuster, aus dem eine Einsporkultur vom Typ 59 isoliert werden konnte, wurden weitere Einsporkulturen gewonnen und in 1-l-Gläsern geprüft. Die zur Aussaat benutzten Sporen wurden verschiedenen Stellen des Musters entnommen.

## C. Ergebnisse

### I. Ergebnisse der mikroskopischen Beobachtungen

Die Hyphen der beiden Stämme fusionieren, wie Abb. 8 erkennen läßt. Aufnahme 8a zeigt drei Fusionsstellen zwischen 59 (oberes Mycel) und Hu (unteres Mycel). Eine Hyphe von 59 stößt auf eine Hyphe von Hu (linke Seite der Aufnahme, siehe Pfeil). Ferner haben sich zwischen Hu und 59 zwei Fusionsbrücken gebildet (Bildmitte, siehe Pfeil). Die Vergrößerung dieses Ausschnittes (Abb. 8b) läßt die Fusionsstelle in der unteren Brücke erkennen. Sie ist in einer weiteren Vergrößerung (Abb. 8c) noch deutlicher zu sehen, während man auch bei dieser Vergrößerung in der oberen Brücke die Fusionsstelle von Hu und 59 nicht entdecken kann.

EVANS (1959) weist in den zwischen den Hyphen des von ihm verwendeten Stammes gebildeten Fusionsbrücken Kerne nach.

Auch in den Fusionsstellen von Hu und 59 scheinen Kerne überzuwandern, denn dicht neben Fusions-

<sup>1</sup> Sporenpilz = zur Sporengewinnung benutzter Fruchtkörper.

<sup>2</sup> Sporenmuster = die aus einem Fruchtkörper stammenden Sporen, die beim Herausfallen ein scheibenförmiges Muster bilden.

stellen konnten Kerne sichtbar gemacht werden (Abb. 9).

## II. Ergebnisse der Nachkommenschaftsprüfungen

In den mit einer Mycelmischung von Hu und 59 gespickten Kulturkisten erschienen blonde normale und weiße deformierte Fruchtkörper, die den Elternkulturen entsprechen, außerdem aber auch vereinzelt weiße normale sowie blonde deformierte Fruchtkörper. Den Anteil der einzelnen Typen an der Gesamternte zeigt Tabelle 1. Es fällt auf, daß sehr viel mehr normale als deformierte Fruchtkörper gebildet wurden. Der Grund hierfür liegt in der Natur der Einsporkultur 59 selbst. Sie bringt nur wenige Fruchtkörper hervor. In der parallel zu den Mischkulturengeprüften Reinkultur bildete sie nur 7 Fruchtkörper, während Hu in Reinkultur 879 Fruchtkörper brachte. Beide Stämme wurden in je einer Kulturkiste geprüft.

Von den sieben Fruchtkörpern der Reinkulturkiste von 59 waren fünf normal und weiß. Es muß betont werden, daß bisher bei 20 Prüfungen der Einsporkultur 59 nur zweimal normale Fruchtkörper gefunden wurden, nämlich im vorliegenden und einem weiteren Fall. Von den normalen weißen Fruchtkörpern der Einsporkultur 59 konnten nur wenige Sporen gewonnen werden, obgleich die Fruchtkörper im günstigsten Reifestadium zur Sporengewinnung aufgestellt wurden. Von den wenigen erhaltenen Sporen wurden Einsporkulturen herangezogen; sie brachten nur normale Fruchtkörper. Die in Tabelle 1 aufgeführten weißen normalen Fruchtkörper könnten eventuell ohne Einfluß von Hu von Einsporkultur 59 gebildet worden sein. Ob es sich bei diesen Fruchtkörpern um reinweiße Exemplare oder stark aufgehellte blonde Fruchtkörper handelte, ist nicht mehr genau zu ermitteln. Es

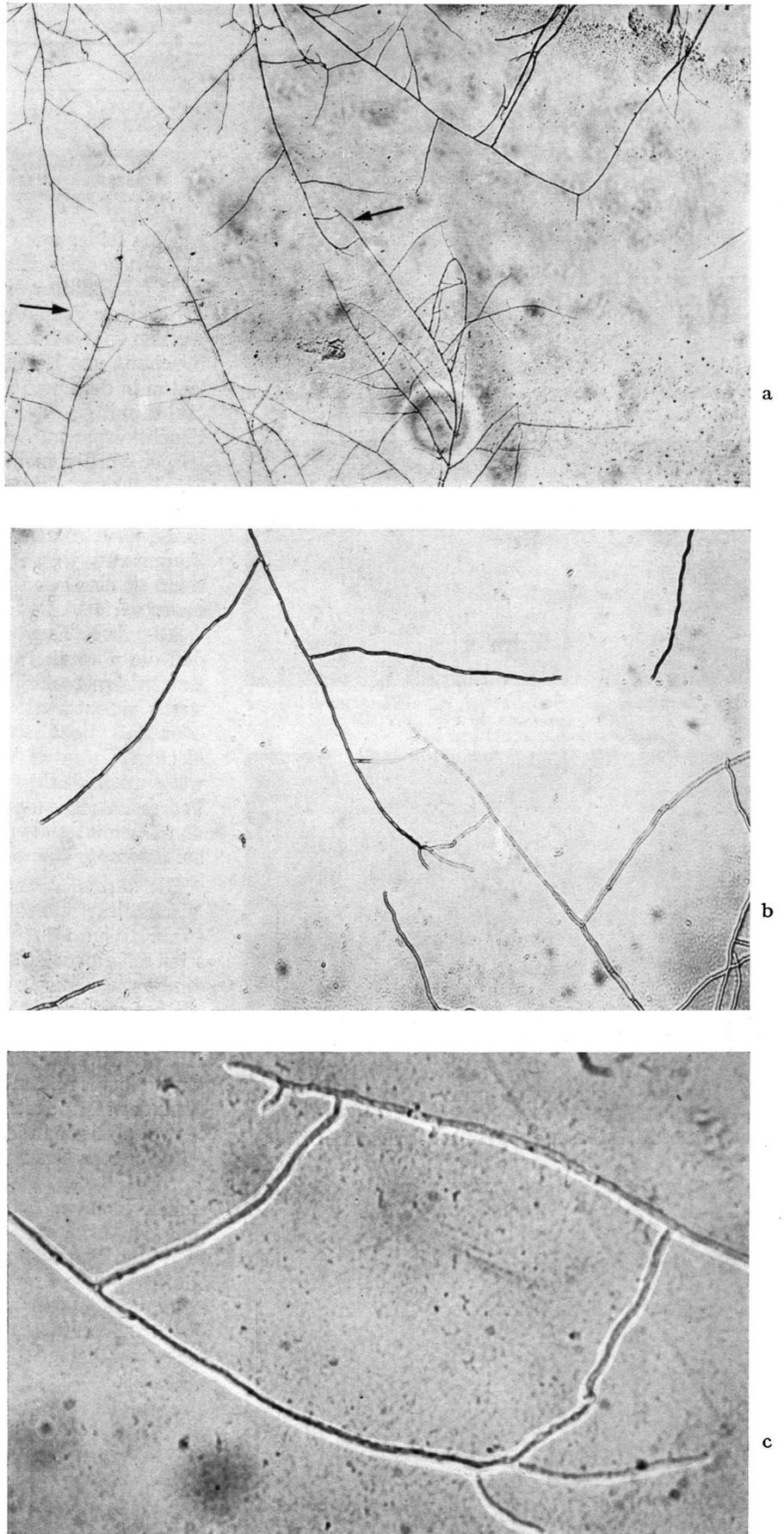


Abb. 8. Fusionen zwischen den Hyphen der Stämme „59“ (von oben kommend) und „Hu“ (von unten kommend).

a) 96 × vergr. (Fusionsstellen durch Pfeile markiert)  
 b) 320 × vergr. } Ausschnitt aus Abb. 8 a  
 c) 1176 × vergr. }

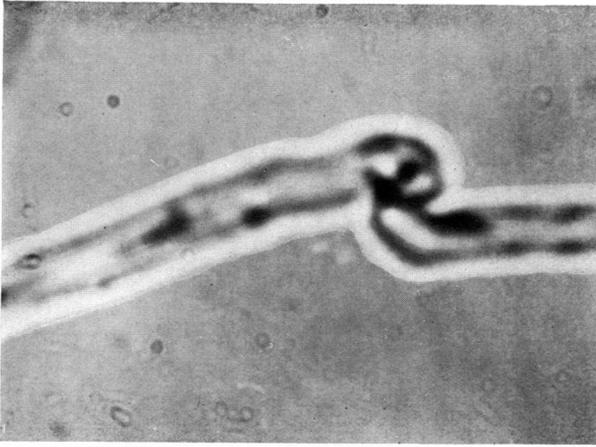


Abb. 9. Fusion zwischen den Hyphen der Stämme „59“ und „Hu“. Kerne mit 0,5%igem Kristallviolett gefärbt. 4800× vergr.



Abb. 10. Fruchtkörper der Stämme „59“ und „Hu“ in Mischkultur dicht nebeneinander stehend.

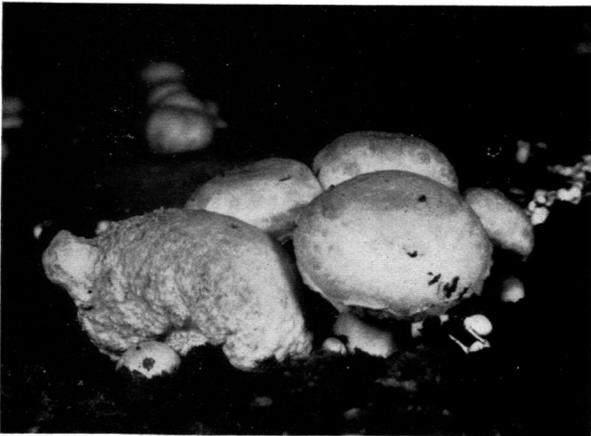


Abb. 11. Fruchtkörper der Stämme „59“ und „Hu“ in Mischkultur dicht nebeneinander stehend.



Abb. 12. Deformierter weißer Fruchtkörper des Stammes „59“ mit normalem blondem Fruchtkörper des Stammes „Hu“ zusammengewachsen.

Tabelle 1. Ertrag der beiden, mit einer Mycelmischung von „59“ und „Hu“ gespickten Kulturkisten.

Kisten Nr.	no. b. n	no. w. n	def. b. n	def. w. n
1	203	1	3	27
2	441	2	—	11

no. = normalgeformte Fruchtkörper  
def. = deformierte Fruchtkörper  
b. = Fruchtkörper mit blondem Hut  
w. = Fruchtkörper mit weißem Hut

wurden leider auch keine Sporen von diesen Fruchtkörpern gewonnen. Um jedoch auf die Frage: „Gibt es in Mischkultur  $Hu \times 59$  weiße normale und blonde deformierte Fruchtkörper?“ eine Antwort zu erhalten, wurden später noch elf Kulturkisten mit einer Mycelmischung von  $Hu$  und  $59$  gespickt, sowie drei Kulturkisten in der einen Hälfte mit  $Hu$  und in der anderen Hälfte mit  $59$ . In keinem Falle traten weiße normale Fruchtkörper auf. Auch blonde deformierte Fruchtkörper wurden nicht gefunden. Bei den in Tabelle 1 aufgeführten drei blonden deformierten Fruchtkörpern kann es sich um verfärbte ursprünglich weiße Fruchtkörper gehandelt haben. Die Fruchtkörper von  $59$  wachsen sehr langsam, so daß sie, wenn sie eine gewisse Größe erreicht haben, mitunter etwas verfärbt sind.

Alle diese Ergebnisse machen es wahrscheinlich, daß die normalen weißen und deformierten blonden Fruchtkörper der ersten Mischkultur  $Hu \times 59$  entweder eine umweltbedingte Modifikation darstellten oder daß die Farbe dieser Fruchtkörper aus technischen Gründen falsch beurteilt worden ist. Es wäre auch denkbar, daß gelegentlich parasexuelle Prozesse stattfinden, in deren Gefolge auch Austausch von Kernmaterial vorkommt, wie es von CROWE (1960) bei *Schizophyllum commune* beobachtet worden ist.

Die normalen und deformierten Fruchtkörper der Mischkultur standen oft so dicht nebeneinander (Abb. 10 und 11), daß man annehmen könnte, sie seien aus einem Fusionsmycel hervorgegangen. Allerdings waren die in den Abbildungen 10 und 11 gezeigten deformierten Fruchtkörper älter als die benachbarten normalen. In später durchgeführten Mischkulturen wurden aber auch gleichaltrige Fruchtkörper beider Stämme beobachtet, die dicht nebeneinander standen. Einige von ihnen waren sogar stellenweise miteinander verwachsen. In Abb. 12 ist ein deformierter Fruchtkörper der in Abb. 3 gezeigten Form zu sehen, dessen Hut mit dem Stiel eines normalen blonden Fruchtkörpers von  $Hu$  verwachsen ist. In Abb. 13 sind drei Fruchtkörper von  $Hu$  am Stiel mit einem Fruchtkörper von  $59$  zusammengewachsen.

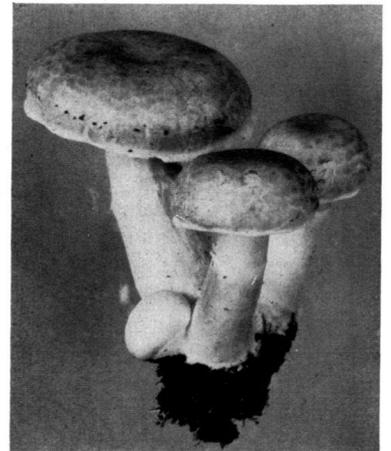


Abb. 13. Deformierter weißer Fruchtkörper des Stammes „59“ mit normalen blonden Fruchtkörpern des Stammes „Hu“ zusammengewachsen.

Tabelle 2. Übersicht über die Einsporkultur-Klassen der 2. Generation.

Mischkultur (1. Gener.)	2. Generation															
	Sporen- muster	Σ d. gepr. Einsp.	davon brachten n Einsporkulturen												keinen Ertrag	
			nur no. b.		no. b. + w.		nur no. w.		no. b. + def.		no. b. + w. + def.		nur def.		n	%
n	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%		
A	17	17	100,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
B	87	78	89,7	6	6,9	—	—	2	2,3	—	—	—	—	1	1,1	
C	13	13	100,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
D	14	8	57,1	—	—	—	—	3	21,4	1	7,1	—	—	2	14,3	
E	6	6	100,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
F	9	8	88,9	1	11,1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
G	29	27	93,1	1	3,4	—	—	1	3,4	—	—	—	—	—	—	
H	16	15	93,8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	6,3	
J	4	4	100,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
K	12	12	100,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
L	22	21	95,5	1	4,5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
M	53	52	98,1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	1,9	
Σ	282	261	92,5	9	3,2	—	—	6	2,1	1	0,4	—	—	5	1,8	

Einsp. = Einsporkulturen  
no. = normalgeformte Fruchtkörper

def. = deformierte Fruchtkörperanlagen  
b. = Fruchtkörper mit blondem Hut

w. = Fruchtkörper mit weißem Hut

Von zwölf solchen blonden normalen Fruchtkörpern, die dicht neben deformierten Fruchtkörpern oder Anlagen standen, wurden Sporen gewonnen und Einsporkulturen herangezogen. Eine Übersicht über die in der Nachkommenschaft der zwölf blonden normalen Fruchtkörper aufgetretenen Klassen gibt Abb. 14.

Die große Zahl der Einsporkulturen konnte aus technischen Gründen nur in Liter-Gläsern geprüft werden. Der deformierte Stamm, der auch in Kistenkultur nur wenige Fruchtkörper bringt, bildet in Gläsern nur Fruchtkörperanlagen. Die in Abb. 14 gezeichneten deformierten Gebilde beziehen sich daher auf Anlagen.

Neben blonden und weißen Fruchtkörpern traten häufig farbliche Zwischentypen auf. Da sich die Fruchtkörper weißer wie auch blonder Stämme gelegentlich verfärben, wird in dieser Arbeit auf die farblichen Zwischentypen nicht eingegangen. Sie sind lediglich in Tabelle 3 in der Spalte „verfärbt“ extra aufgeführt. In allen anderen Tabellen und Abbildungen erscheinen sie mit bei der jeweils am häufigsten vertretenen Fruchtkörperfarbe.

Wie Abb. 14 veranschaulicht, gab es in der zweiten Generation in bezug auf die Fruchtkörperbildung fünf verschiedene Klassen von Einsporkulturen:

1. nur normale blonde Fruchtkörper,
2. normale blonde und normale weiße Fruchtkörper,
3. normale blonde und deformierte Fruchtkörper (Farbe unbestimmbar),
4. normale blonde, normale weiße und deformierte Fruchtkörper (Farbe unbestimmbar),
5. keine Fruchtkörper.

Am häufigsten trat die erste Klasse auf; alle anderen kamen dagegen selten vor, wie die eingezeichneten Prozentzahlen in Abb. 14 sowie Tabelle 2 zeigen. Tabelle 2 gibt eine Übersicht über die Sporenmuster der zwölf aus der Mischkultur gewonnenen Fruchtkörper (Muster A—M) und über das Aussehen der aus den Mustern hervorgegangenen Einsporkulturen. Aus allen Sporenmustern wurden vorwiegend Einsporkulturen mit normalen blonden Fruchtkörpern gewonnen. Fünf der zwölf Muster lieferten nur solche Einsporkulturen. Von den aus vier weiteren

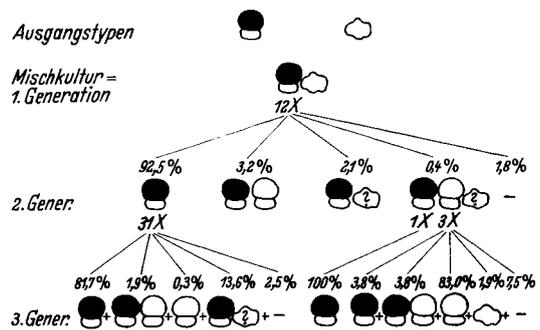


Abb. 14. Übersicht über die in der Nachkommenschaftsprüfung aufgetretenen Einsporkultur-Klassen. Die Zahlen über den Fruchtkörpern geben den prozentualen Anteil der einzelnen Klassen an der vom gleichen Typ abstammenden Population an. Die Zahlen am Fuß der Fruchtkörper nennen die verwendete Anzahl von Sporenmustern. Das in die deformierten Fruchtkörper eingezeichnete Fragezeichen besagt, daß die Fruchtkörperfarbe unbekannt ist. Es wurden in diesen Fällen nur deformierte Fruchtkörperanlagen gebildet.

Sporenmustern stammenden Einsporkulturen trug ein geringer Prozentsatz normale weiße und blonde Fruchtkörper. Die weißen Fruchtkörper traten allerdings, wie Tabelle 3 zeigt, nur vereinzelt auf. In Tabelle 3 fallen die beiden Einsporkulturen E 353 und E 539 auf, da sie in beiden Prüfgefäßen weiße Fruchtkörper sowie insgesamt mehr weiße als blonde Fruchtkörper brachten.

Keine der 282 geprüften Einsporkulturen der zweiten Generation bildete nur deformierte Anlagen oder anders ausgedrückt, gleich genau Stamm 59 (Tab. 2). Von drei der zwölf untersuchten Sporenmuster stammten dagegen Einsporkulturen ab, bei denen neben normalen Fruchtkörpern deformierte Anlagen gefunden wurden. Sie wurden häufig in beiden Kulturgläsern beobachtet.

Vier der zwölf Sporenmuster lieferten neben fertilen auch ertraglose Einsporkulturen.

Wie Abb. 14 veranschaulicht, wurden von 31 Fruchtkörpern aus Einsporkulturen der zweiten Generation, die nur normale blonde Fruchtkörper trugen, Sporen gewonnen. Die Abbildung zeigt, welche Klassen an Einsporkulturen aus diesen Sporenmustern hervorgingen und in welchem Prozentsatz die einzelnen Klassen vertreten waren. Bis auf Klasse vier (normale blonde und weiße Fruchtkörper und deformierte Anlagen) sind alle Klassen der zweiten Generation auch in der dritten Generation vertreten. Hinzu

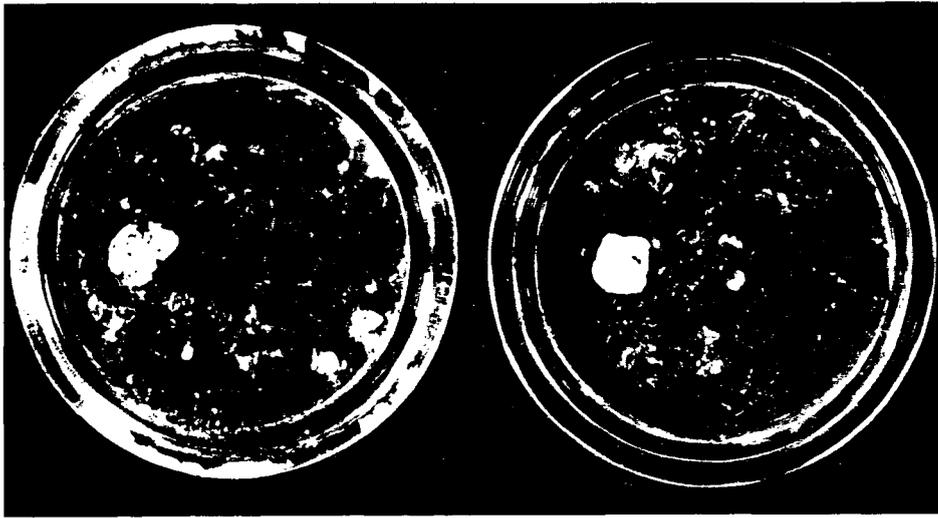


Abb. 15. Deformierte Fruchtkörperanlagen vom Typ „59“, nach zweimaliger Vermehrung der aus der Mischkultur 59 × Hu hervorgegangenen normalen blonden Fruchtkörper über Sporen in Glaskultur aufgetreten.

kommt die Klasse „weiße normale Fruchtkörper“. Sie trat nur einmal unter 316 Einsporkulturen auf. Der entsprechende Stamm war fast steril. Er brachte nur einen weißen Fruchtkörper.

Tabelle 3. Übersicht über die Einsporkulturen, die blonde und weiße normale Fruchtkörper brachten (2. Generation).

Sporen- muster	Einspor- kultur Nr.	Glas 1			Anzahl Glas 2			ξ		
		b	v	w	b	v	w	b	v	w
B	E 215	11	1	1	13	-	-	24	1	1
	E 218	-	-	2	16	-	-	16	-	2
	E 296	8	-	1	10	-	-	18	-	1
	E 301	16	-	-	11	-	1	27	-	1
	E 466	9	-	2	11	-	-	20	-	2
	E 542	-	-	2	6	-	-	6	-	2
D	E 539	2	-	4	-	-	1	2	-	5
F	E 515	10	2	1	8	3	-	18	5	1
G	E 353	2	-	1	3	-	5	5	-	6
L	E 391	16	-	-	8	1	2	24	1	2

b = Fruchtkörper mit blondem Hut  
v = Fruchtkörper mit bräunlich verfärbtem Hut  
w = Fruchtkörper mit weißem Hut

Der Anteil der verschiedenen Klassen von Einsporkulturen an der Gesamtzahl ist in der zweiten und dritten Generation ähnlich. Deformierte Anlagen in Gemeinschaft mit normalen blonden Fruchtkörpern wurden in der dritten Generation allerdings häufiger beobachtet (13,6% gegenüber 2,1% in der zweiten Generation). Der Unterschied läßt sich erklären. Die Pilze der zweiten Generation wurden, wie es am hiesigen Institut üblich ist, sieben Wochen lang geerntet. Die Gläser wurden danach gemeinsam mit den im Kulturraum stehenden Kisten entfernt und der Raum mit neuen Kulturen belegt. Die Prüfgefäße der dritten Generation wurden jedoch nach sieben Erntewochen nicht ausgeleert, sondern in einen anderen Kulturraum umgeräumt. Dadurch konnten sehr spät erscheinende deformierte Anlagen mit erfaßt werden. Von der elften Erntewoche ab wurden in vielen Prüfgefäßen große ovale Anlagen beobachtet, die den deformierten Fruchtkörpern von 59 sehr ähnelten (Abb. 15 und 16). Sie erreichten Längen von 1,5 cm und waren alle mehr oder weniger stark

bräunlich verfärbt. Alle Einsporkulturen, bei denen diese ovalen stiellosen Gebilde beobachtet wurden, hatten vorher normale blonde Fruchtkörper geliefert. Bei den meisten Stämmen wurde nur in einem der beiden Prüfgefäße eine große deformierte Anlage gefunden. Selten gab es mehrere solche Gebilde in einem Gefäß. Die Gläser waren in zwei Räume umgesetzt worden. In beiden Räumen traten die beschriebenen Deformierungen auf.

Um die Echtheit der Deformierungen zu prüfen, wurden von fünf großen deformierten Anlagen sogenannte „Gewebeulturen“ geschnitten. Unter Gewebeulturen versteht der Champignonzüchter eine Vermehrung des Plektenchyms. Von den inneren keimfreien Teilen eines Fruchtkörpers werden unter sterilen Bedingungen kleine Stücke entnommen. Sie werden auf einen Agarnährboden übertragen, wo sie bald Mycel entfalten. Die aus den deformierten Anlagen gewonnenen Gewebeulturen brachten später in Glas- sowie Kistenkultur alle normale blonde Fruchtkörper.

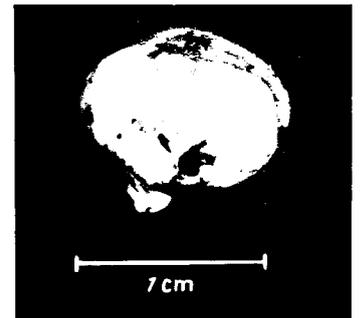


Abb. 16. Eine der deformierten Fruchtkörperanlagen von Abb. 15 in Seitenansicht. 2,5 × vergr.

Außer aus 31 blonden Fruchtkörpern der verschiedensten Einsporkulturen wurden aus zur gleichen Einsporkultur gehörenden blonden und weißen Fruchtkörpern der zweiten Generation Sporen gewonnen (Abb. 14). Dabei trat unter den von den weißen Fruchtkörpern abstammenden Einsporkulturen der deformierte Phaenotyp wieder rein auf. In der ersten Prüfung in Litergläsern wurde er einmal unter 19 vom selben Sporenpilz gewonnenen Einsporkulturen gefunden. Der entsprechende Stamm wurde seitdem wiederholt in Kistenkultur geprüft. In allen Prüfungen glich er vollkommen Stamm 59. Ein hoher Prozentsatz der aus den drei weißen Sporenpilzen hervorgegangenen Einsporkulturen trug nur weiße Fruchtkörper. Von einzelnen Einsporkulturen wurden neben weißen auch blonde Fruchtkörper oder sogar nur blonde Fruchtkörper geerntet. Alle diese Einsporkulturen stammten von demselben Sporenpilz ab. Ein relativ hoher Prozentsatz der Stämme (7,5%) blieb ohne Ertrag.

Die von dem blonden Fruchtkörper abstammenden Einsporkulturen brachten alle nur blonde normale Fruchtkörper.

Während Abb. 14 veranschaulicht, welche Einsporkultur-Klassen insgesamt aus den Sporenpilzen der zweiten Generation hervorgingen, gibt Tabelle 4 eine Übersicht über die einzelnen Sporenmuster und das Aussehen der daraus gewonnenen Einsporkulturen. Die Sporenmuster sind entsprechend ihrer Abstammung und nach Farbe der Sporenpilze getrennt aufgeführt. Von den Einsporkulturen werden die absolute Zahl sowie der prozentuale Anteil der einzelnen Klassen an der Gesamtzahl angegeben.

Eine Übersicht über sämtliche Einsporkulturen unter Berücksichtigung ihrer Abstammung und ihrer

Hutfarben und Formen gibt die graphische Darstellung in Abb. 17. In der ersten Spalte von links sind die zur ersten Sporengewinnung benutzten normalen blonden Fruchtkörper (erste Generation) aufgeführt (mit schwarzem Hut gezeichnet). Man kann der Spalte entnehmen, ob die Sporenpilze neben oder zwischen deformierten Fruchtkörpern oder Anlagen gestanden hatten. Bei den in Dreiergruppen gezeichneten Sporenpilzen (Muster B—F) wurde jeweils einer der Fruchtkörper zur Sporengewinnung benutzt.

Die zweite Spalte von links zeigt, wie die Fruchtkörper der Einsporkulturen der zweiten Generation aussahen. Die in Tabelle 2 aufgeführten Einsporkultur-Klassen werden hier bildlich dargestellt. Durch die Höhe der Säulen wird der prozentuale Anteil der

Tabelle 4. Übersicht über die Einsporkultur-Klassen der 3. Generation.

Mischkultur (1. Gener.) Sporenmuster	2. Gener. Sporenmuster		Σ der geprüf. Einsp.	3. Generation davon brachten n Einsporkulturen											
				nur no. b.		no. b. + w.		nur no. w.		no. b. + def.		nur def.		keinen Ertrag	
				n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
A	a		12	11	91,7	—	—	—	—	1	8,3	—	—	—	—
	b		14	13	92,9	—	—	—	—	1	7,1	—	—	—	—
B	a		9	8	88,9	—	—	—	—	—	—	—	—	1	11,1
	b		3	3	100,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	c		15	14	93,3	—	—	—	—	—	—	—	—	1	6,7
C	a		11	11	100,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	b		4	4	100,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
D	a		13	12	92,3	—	—	—	—	1	7,7	—	—	—	—
		b	18	2	11,1	2	11,1	13	72,2	—	—	—	—	1	5,6
		c	25	25	100,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		d	19	—	—	—	—	17	89,5	—	—	1	5,3	1	5,3
		e	16	—	—	—	—	14	87,5	—	—	—	—	2	12,5
E	a		12	11	91,7	—	—	—	—	1	8,3	—	—	—	—
	b		7	7	100,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
F	a		8	8	100,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	b		9	9	100,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	c		15	11	73,3	—	—	—	—	4	26,7	—	—	—	—
G	a		13	10	76,9	1	7,7	—	—	2	15,4	—	—	—	—
	b		11	9	81,8	—	—	—	—	1	9,1	—	—	1	9,1
	c		3	3	100,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
H	a		7	6	85,7	1	14,3	—	—	—	—	—	—	—	—
	b		10	7	70,0	—	—	—	—	3	30,0	—	—	—	—
J	a		10	3	30,0	—	—	—	—	7	70,0	—	—	—	—
	b		4	4	100,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
K	a		14	12	85,7	—	—	—	—	2	14,3	—	—	—	—
	b		6	3	50,0	—	—	—	—	1	16,7	—	—	2	33,3
L	a		13	4	30,8	1	7,7	1	7,7	6	46,2	—	—	1	7,7
	b		11	8	72,7	—	—	—	—	3	27,3	—	—	—	—
	c		12	10	83,3	—	—	—	—	2	16,7	—	—	—	—
M	a		13	11	84,6	1	7,7	—	—	1	7,7	—	—	—	—
	b		12	8	66,7	2	16,7	—	—	1	8,3	—	—	1	8,3
	c		13	12	92,3	—	—	—	—	1	7,7	—	—	—	—
	d		15	10	66,7	—	—	—	—	5	33,3	—	—	—	—
	e		10	10	100,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	f		7	6	85,7	—	—	—	—	—	—	—	—	1	14,3
Muster Aa—Da + Ea—Mf b. Sporenpilze			Σ 316	258	81,7	6	1,9	1	0,3	43	13,6	—	—	8	2,5
Muster Db—De b. Sporenpilz			Σ 25	25	100,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
w. Sporenpilze			Σ 53	2	3,8	2	3,8	44	83,0	—	—	1	1,9	4	7,5

Einsp. = Einsporkulturen  
no. = normalgeformte Fruchtkörper  
def. = deformierte Fruchtkörperanlagen

b. = Fruchtkörper mit blondem Hut  
w. = Fruchtkörper mit weißem Hut

einzelnen Klassen an der Gesamtzahl der vom gleichen Muster abstammenden Einsporkulturen veranschaulicht.

In der dritten Spalte von links sind die zur Sporengewinnung benutzten Fruchtkörper der zweiten Generation bildlich aufgeführt. Ein Kreuz am Sporenpilz weist darauf hin, daß er aus einer Einsporkultur stammt, die blonde und weiße Fruchtkörper trug.

Ausg.-Pilze	2. Generation					3. Generation					
	Einsporkulturen					Einsporkulturen					
Sporenmuster	●	○	●○	○●	ster.	Sporenmuster	●	○	●○	○●	ster.
A	100%					100%					
B											
C											
D											
E											
F											
G											
H											
I											
K											
L											
M											

Abb. 17. Schematische Übersicht über die Ausgangspilze (erste Generation) und die in der zweiten und dritten Generation aufgetretenen Fruchtkörperformen und -farben. Die Zeichnungen in der Spalte „Ausgangspilze“ veranschaulichen, ob die zur Sporengewinnung benutzten Fruchtkörper zwischen oder neben deformierten Fruchtkörpern ♀ oder Fruchtkörperanlagen ♂ standen. Bei den in Dreiergruppen gezeichneten normalen Fruchtkörpern wurde das Sporenmuster jeweils von einem Pilz gewonnen.

Die Einsporkulturen der zweiten und dritten Generation sind durch folgende Zeichnungen charakterisiert:

- Einsporkultur brachte nur normale blonde Fruchtkörper
- Einsporkultur brachte nur normale weiße Fruchtkörper
- Einsporkultur brachte normale blonde und normale weiße Fruchtkörper
- Einsporkultur brachte normale blonde und normale weiße Fruchtkörper und deformierte Fruchtkörperanlagen
- ♂♀ Einsporkultur brachte normale blonde Fruchtkörper und deformierte Fruchtkörperanlagen
- ♂○ Einsporkultur brachte normale blonde Fruchtkörper und deformierte weiße Fruchtkörper
- ster. Einsporkultur brachte keine Fruchtkörper

Die Höhe der Säulen gibt an, welchen prozentualen Anteil die einzelnen Klassen an der von einem Sporenpilz gewonnenen Population hatten. Die Entfernung zwischen den einzelnen Markierungen am Rand bedeutet jeweils 25%. Bei der dritten Generation wurden mehrere Säulen nebeneinander gezeichnet, da von mehreren Fruchtkörpern der zweiten Generation Sporen gewonnen wurden. Ein Kreuz am Sporenpilz der zweiten Generation weist darauf hin, daß der Fruchtkörper aus einer Einsporkultur stammt, die blonde und weiße Fruchtkörper trug.

Die vierte Spalte von links zeigt, welche Einsporkultur-Klassen in der dritten Generation auftraten. Dieselben Klassen wurden in Tabelle 4 aufgeführt. Wie in Spalte 2 wird in Spalte 4 durch die Höhe der Säulen der prozentuale Anteil der einzelnen Klassen an der Gesamtzahl der vom selben Muster abstammenden Einsporkulturen veranschaulicht. Da jeweils von mehreren Fruchtkörpern Sporen gewonnen wurden, erscheinen mehrere Säulen dicht nebeneinander. Die jeweils erste Säule gehört zu dem ersten Sporenpilz, die zweite zu dem zweiten usw. Dabei geht die Reihenfolge der Fruchtkörper von links oben nach rechts unten.

Wie aus Abb. 17 hervorgeht, wurden nur in der Nachkommenschaft des Sporenpilzes C keine deformierten Anlagen beobachtet. Besonders viele deformierte Anlagen wurden dagegen in der Nachkommenschaft des Sporenpilzes L festgestellt.

Von Muster „D“ wurden fünf Fruchtkörper der zweiten Generation zur Sporengewinnung benutzt. Vier dieser Sporenmuster, in Tabelle 4 mit b, c, d und e bezeichnet, stammen aus der selben Einsporkultur (E 539). Die Muster b, d und e wurden aus weißen Fruchtkörpern, das Muster c aus einem blonden Fruchtkörper gewonnen. Unter 19 Einsporkulturen des Musters d befand sich, wie oben berichtet, ein rein deformierter (EE 495). In der ersten Glaskultur brachte dieser Stamm erst in der siebenten Erntewoche Anlagen. Sie wuchsen nicht weiter, sondern zeigten allmählich immer deutlicher die typischen Deformierungen. In späteren Prüfungen kam es, auch im Liter-Glas, schon nach kurzer Kulturzeit zur Bildung der deformierten Anlagen. Eine zweite Einsporkultur des Musters d brachte in der ersten Glasprüfung ebenfalls sehr spät, nämlich in der fünfzehnten Erntewoche, die ersten Anlagen. Auch sie wuchsen nicht weiter, zeigten aber nicht so deutliche Deformierungen wie der andere Stamm. Die Annahme, daß es sich dennoch um den rein deformierten Typ handele (nicht alle Anlagen von 59 sind deformiert), wurde in späteren Prüfungen nicht bestätigt. Die Einsporkultur brachte in den zwei folgenden Prüfungen zwar einzelne deformierte Anlagen, aber außerdem viele weiße normale Fruchtkörper.

In der Hoffnung, weitere rein deformierte Einsporkulturen zu finden, wurden erneut Aussaaten von Muster E 539 d gemacht. Es wurden 71 Einsporkulturen herangezogen und zweimal hintereinander in je 2 Liter-Gläsern geprüft. 47 dieser Einsporkulturen trugen nur weiße normale Fruchtkörper, 14 zeigten auch deformierte Anlagen (Abb. 18, vgl. mit Abb. 4 und 5). Zwei weitere Einsporkulturen trugen neben vielen weißen einzelne blonde normale Fruchtkörper, während acht Einsporkulturen in beiden Prüfungen ohne Ertrag blieben. Zwei dieser Kulturen bildeten in der zweiten Prüfung nach fünf Erntewochen Anlagen, die stecken blieben und teilweise deformiert erschienen.

Die Einsporkulturen, die von hinsichtlich ihrer Nachkommenschaft besonders interessanten Sporenpilzen abstammten, wurden ein zweites und teilweise

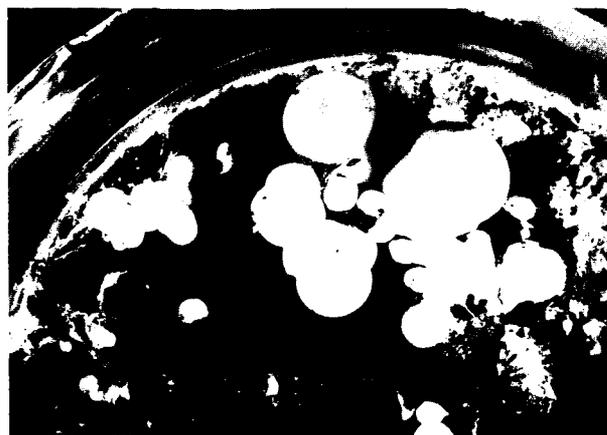


Abb. 18. Deformierte Fruchtkörperanlagen vom Typ „59“ neben normalen weißen Fruchtkörpern.

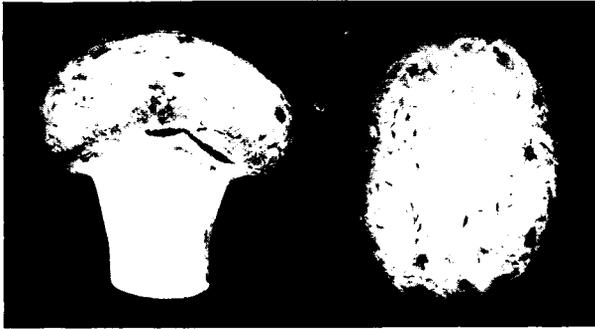


Abb. 19. Ovale blonde Fruchtkörper.

ein drittes Mal erneut in Gläsern angebaut. Es zeigten sich hier nur kleine Differenzen zu den ersten Kulturen. Zum Beispiel trugen in der ersten Kultur ertraglose Einsporkulturen bei der zweiten Kultur vereinzelt Fruchtkörper, oder es traten deformierte Anlagen sowie in der Farbe abweichende Fruchtkörper nur in einer der Prüfungen auf.

Einige Einsporkulturen konnten nur in der zweiten Glaskultur geprüft werden, da sie aus technischen Gründen (Infektion, langsame Entwicklung) zum Zeitpunkt der ersten Kultur nicht verfügbar waren. Eine dieser Einsporkulturen brachte bei zweimaliger Prüfung keinen Fruchtkörper, in der achten Erntewoche jedoch in einem der vier Gläser zwei deformierte Anlagen. Die Anlagen in einem weiteren Glas zeigten normale Formen, entwickelten sich jedoch nicht weiter. Die betreffende Einsporkultur wurde aus Muster E 539 b gewonnen, geht also auf die selbe Einsporkultur zurück wie der einzige rein deformierte Stamm der ersten Prüfungsreihe.

Einige Einsporkulturen, die im Glas deformierte Anlagen gezeigt hatten, wurden in Kistenkultur geprüft. Es wurde angenommen, daß es hier gegebenenfalls zur Bildung deformierter Fruchtkörper kommen würde. Sie traten jedoch nur in einem Falle, nämlich bei dem rein deformierten Stamm EE 495 auf.

Vereinzelt wurden dagegen länglich verformte blonde Fruchtkörper beobachtet (Abb. 19). Bei diesen könnte es sich um eine Zwischenform zwischen 59 und Hu handeln. Die Fruchtkörper von 59 sind stiellos und haben einen ovalen Hut, die Fruchtkörper von Hu haben einen Stiel und einen runden Hut (vgl. Abb. 1). Da derartig verformte Fruchtkörper jedoch auch in den nur mit Hu gespickten Kontrollkisten auftraten, kann ihnen keine besondere Bedeutung beigemessen werden.

#### D. Erklärung der Versuchsergebnisse

Für das Verständnis der vorliegenden Versuchsergebnisse ist die Kenntnis der Entwicklung und des Kernverhaltens von *Agaricus bisporus* notwendig. Entsprechende Untersuchungen wurden von KLIGMAN (1943), SARAZIN (1955), EVANS (1959) und anderen Forschern durchgeführt. Die Ergebnisse seien hier kurz erwähnt.

In der Basidie von *Agaricus bisporus* verschmelzen zwei haploide Kerne zu einem diploiden Kern. Es ist das einzige diploide Stadium im Lebenszyklus des Pilzes. Nach kurzer Ruhezeit erfolgt eine meiotische Kernteilung, so daß die Basidie vier haploide Kerne enthält. Es werden zwei Sporen gebildet. Die beiden den Sterigmen am nächsten gelegenen Kerne wandern

je in eine Spore ein. Die beiden anderen Kerne folgen wenig später. EVANS (1959) stellte fest, daß die Entfernung der einzelnen Kerne von den Sterigmen von der Lage der Spindeln bei der zweiten meiotischen Teilung abhängt. Bei dem von ihm untersuchten Material erhielten nur 20% der Sporen „Geschwisterkerne“ der zweiten meiotischen Teilung.

Die beiden in die Spore eingewanderten Kerne teilen sich meist sehr bald, so daß die reife Basidiospore vier haploide Kerne enthält. Sie wandern in den sich bildenden Keimschlauch aus und teilen sich erneut. In den Hyphen nimmt die Zahl der Kerne schnell zu. Die einzelnen Zellen enthalten unterschiedlich viel Kerne, da sich die Kerne in der Regel unabhängig voneinander teilen. SARAZIN (1955) zählte z. B. in drei aufeinanderfolgenden Zellen 27, 8 und 13 Kerne.

KLIGMAN (1943) und SARAZIN (1955) beobachteten nur sich unabhängig voneinander teilende Kerne. HIRMER (1920), zitiert nach KLIGMAN (1943), stellte im Gegensatz dazu eine konjugierte Kernteilung fest. EVANS (1959) beobachtete, daß die Mitosen gewöhnlich in der Zelle verteilt stattfinden. Er sah jedoch einige Zellen, in denen sich Gruppen von Kernen, die zusammengehören schienen, gleichzeitig teilten. Neuerdings fand von ZALAY (persönliche Mitteilung) Kerne, die bei der Teilung mit ihren Längsseiten nebeneinander lagen. Sie traten nur vereinzelt auf und waren auffallend größer als die anderen in der selben Zelle liegenden und sich unabhängig voneinander teilenden Kerne.

Die Hyphen des Kulturchampignons bilden keine Schnallen. Einsporkulturen sind fertil (LAMBERT 1929, SINDEN 1935/1936, SARAZIN 1939). Die Zahl der Kerne pro Zelle nimmt in den Fruchtkörpern allmählich ab. Die Basidie enthält schließlich nur noch zwei haploide Kerne. Wie EVANS (1959) feststellte, finden vom Stadium der etwa knopfgroßen Fruchtkörperanlage an nur noch wenige Kernteilungen statt. Es werden jedoch viele Zellquerwände gebildet. Die Abnahme der Kerne in den Fruchtkörpern läßt sich auf diese Weise erklären.

Ein Schema der Versuchsanordnung ist in Abb. 20 dargestellt, in der zugleich auch eine Deutung unserer Ergebnisse unter der Annahme von vegetativer Hyphenverschmelzung mit nachfolgender meiotischer Rekombination in den Basidien sowie weiterer Entmischungsprozesse in den Einsporkulturen zu finden ist.

#### I. Die Mischkultur (erste Generation).

In Abb. 20 oben sind die beiden Elterntypen gezeichnet worden, links der normale blonde Elter, rechts der deformierte weiße Elter. Die Hyphen der beiden Stämme hatten Gelegenheit zu fusionieren. Von den beiden dargestellten normalen blonden Fruchtkörpern der ersten Generation wurde der rechte von Hyphen mit genetisch verschiedenen Kernen aufgebaut, während der linke nur aus Mycel des normalen blonden Elters hervorging.

Insgesamt traten im Versuch vier verschiedene Arten von Fruchtkörpern in der Mischkultur auf, nämlich die Ausgangstypen „normal blond“ und „deformiert weiß“ und außerdem die Neukombinationen „normal weiß“ und „deformiert blond“. Erwartet wurden jedoch nur die Elterntypen, da

ein Verschmelzen der genetisch verschiedenen Kerne und eine Umkombination der Gene in der anschließenden Meiosis normalerweise erst in der Basidie erfolgt. Wenn dennoch Neukombinationen von Genen auftraten, so sind eventuell parasexuelle Prozesse dafür verantwortlich zu machen.

Unter parasexuellen Prozessen werden genetische Rekombinationen in der Mitose mit anschließender Haploidisierung verstanden. Nach PONTECORVO (1958) wurde der parasexuelle Zyklus bei Pilzen bisher bei *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*, *Fusarium oxysporum* f. *Pisi* und *Aspergillus sojae* nachgewiesen. CROWE (1960) stellte auch bei *Schizophyllum commune* parasexuelle Prozesse fest. Er bewies mit Hilfe von Markierungsgenen, daß aus der Rekombination zwischen den beiden zueinander gehörenden Kernen des Dikaryons ohne Bildung von Fruchtkörpern und Basidiosporen nicht elterliche Paarungstypen entstehen können. Es ist nicht ausgeschlossen, daß auch beim Kulturchampignon genetische Neukombinationen außerhalb der Basidie möglich sind. Daß die Hyphen von 59 und Hu fusionieren und wahrscheinlich Kerne überwandern können, zeigte bereits das mikroskopische Bild. Parasexuelle Kernverschmelzung und Haploidisierung lassen sich jedoch kaum mikroskopisch nachweisen.

Es gibt aber auch noch eine andere Erklärung für das Auftreten normaler weißer Fruchtkörper in der Mischkultur 59×Hu. Die deformierten weißen Fruchtkörper von 59 könnten hinsichtlich der Form heterozygot sein, d. h. das Gen für normale Fruchtkörperform rezessiv enthalten. Dann müßten jedoch auch in den Kulturen der reinen Mutante Entmischungen häufig sein. Das ist jedoch nicht der Fall. Es ist also anzunehmen, daß dieser Stamm genetisch einheitlich ist. Die Spaltungsergebnisse der zweiten und dritten Generation sprechen eher dafür, daß

normal über deformiert dominiert. Schließlich darf auch die Möglichkeit von Neu- oder Rückmutationen oder, wie bereits erwähnt, einer Fehlbonitur nicht ausgeschlossen werden.

II. Die zweite und dritte Generation

Wie die Abb. 20 zeigt, können in der ersten Generation normale blonde Fruchtkörper gebildet werden, die aus einem Mischmycel aufgebaut sind, in dem blond über weiß und normal über deformiert dominieren. Bei einem so entstandenen Fruchtkörper können in den Basidien die beiden Kernsorten vereinigt werden, verschmelzen und aus den diploiden Kernen können durch die Meiosis die verschiedensten Tetraden rekombiniert werden. Bei einer freien Spaltung der Merkmale würden nach erfolgter Meiosis in der Basidie drei verschiedene Tetraden-Typen entstehen:

1. Der elterliche parentale Dityp = P-Typ,
2. der nichtelterliche Dityp = NP-Typ,
3. der Tetratyp = T-Typ.

Die Bezeichnungen P-Typ, NP-Typ und T-Typ entsprechen der in Tetradenanalysen üblichen Nomenklatur (REIMANN-PHILIPP, 1955).

Der P-Typ enthält von jedem Elterntyp zwei Kerne. Er kann bei Prae- sowie Postreduktion beider Loci entstehen. Der NP-Typ enthält je zwei Kerne mit nicht elterlichen, also neuen Kombinationen. In unserem Falle sind es die Kombinationen normal und weiß sowie deformiert und blond. Der NP-Typ kann wie der P-Typ bei Prae- sowie Postreduktion beider Loci entstehen. Bei Praereduktion des einen Locus und Postreduktion des anderen tritt nur der T-Typ auf. Hier besitzt jeder der vier Kerne einen anderen Genotyp. Auch bei Postreduktion beider Loci kann der T-Typ entstehen. In Abb. 20 wurden die drei möglichen Tetradentypen nebeneinander aufgezeichnet.

Auf die Tetradenbildung folgt unmittelbar die Vereinigung zweier haploider Kerne in einer Basidiospore. Dieser Vorgang entspricht der Kopulation. Es werden also je zwei Abkömmlinge aus einer Tetrade miteinander vereinigt, so daß jeder Tetradentyp ganz bestimmte Kernkombinationen hervorbringt. Die Möglichkeiten der Kernverteilung sind in der Abb. 20 unter den Tetradentypen aufgeführt. Beim P- sowie NP-Typ werden je drei genetisch verschiedene Sporen gebildet, beim T-Typ deren sechs. Zwei davon waren schon im P- bzw. NP-Typ vertreten, so daß sich insgesamt zehn verschiedene Kernkonstellationen ergeben (2.—11. Spore von links in Abb. 20). Nach den Versuchsergebnissen darf angenommen werden, daß normal über deformiert sowie blond über weiß dominiert. Von den zehn genetisch verschiedenen Sporen müßten dann fünf normale blonde Fruchtkörper liefern,

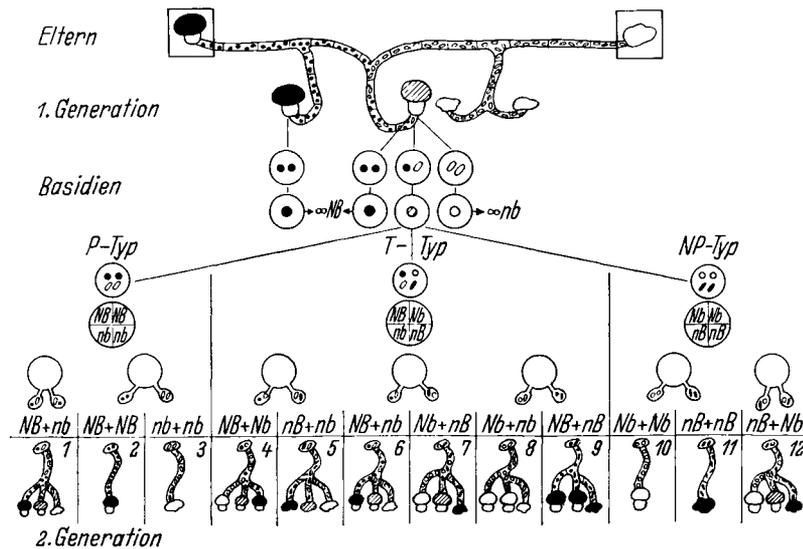


Abb. 20. Schema für die Fusions- und Entmischungsvorgänge in der Mischkultur (1. Generation) und der folgenden Generation.

Von oben nach unten gezeichnet: Eltern — Stämme; Sporenpilze (1. Generation); Basidien mit zwei haploiden Kernen; Basidien mit diploidem Kern; Basidien mit aus dem diploiden Kern hervorgegangenen haploiden Kernen; dabei bedeutet: P = elterlicher Dityp; T = Tetratyp; NP = nicht elterlicher Dityp; Verteilung der Kerne auf die Sporen; Sporen mit Mycel und Fruchtkörpern (2. Generation)

Kernzeichen	Bezeichnung:	Fruchtkörper:
●	NB	normal, blond
○	Nb	normal, weiß
◐	nB	deformiert, blond
◑	nb	deformiert, weiß

Bei den heterokaryotisch blonden Fruchtkörpern wurde der Hut gestreift gezeichnet, bei den homokaryotisch blonden Fruchtkörpern schwarz.

zwei normale weiße, zwei deformierte blonde und eine deformierte weiße Fruchtkörper.

In allen Mycelien, die aus zwei genetisch verschiedenen Kernsorten aufgebaut werden, sind nun auch wieder Entmischungen möglich, denn es besteht keine Koordination zwischen der Kernteilung und der Bildung von Zellquerwänden, wie von KLIGMAN (1943), SARAZIN (1955) und EVANS (1959) berichtet wurde. Zum Beispiel könnten in einem Mycel, das die Kerne Nb + nB<sup>1</sup> enthält, Kerne von der Konstitution Nb in einen Seitenast des Mycels wandern und darauf durch eine Querwand von den anderen Kernen getrennt werden. Der Seitenast würde sich weiter entwickeln und schließlich normale weiße Fruchtkörper liefern. Ebenso könnten Kerne von der Konstitution nB von den anderen Kernen abgetrennt werden. Solches Mycel würde deformierte blonde Fruchtkörper hervorbringen. Mycel mit beiden Kernarten würde normale blonde Fruchtkörper bilden (Abb. 20, 7.+12. Spore von links). Einsporkulturen mit normalen blonden und weißen sowie deformierten Fruchtkörpern traten in der zweiten Generation tatsächlich auf (Abb. 14). Da die deformierten Fruchtkörper jedoch über das Anlagenstadium nicht hinaus kamen, kann über ihre Farbe nichts ausgesagt werden.

In der zweiten Generation gab es ferner Einsporkulturen, die nur normale blonde Fruchtkörper bildeten. Vermutlich sind auch manche dieser Einsporkulturen heterokaryotisch, da zur Ausbildung normaler blonder Fruchtkörper nur jeweils ein dominantes Allel für Form und Farbe notwendig ist. Unterbleibt eine Kernentmischung, so tritt das rezessive Merkmal nicht in Erscheinung.

Zu den heterokaryotischen Einsporkulturen mit normalen blonden Fruchtkörpern kommen die homokaryotisch normalen blonden Einsporkulturen. Sie können aus einer Tetrade vom P-Typ hervorgegangen sein oder aus einer Basidie, die nur Kerne der Konstitution NB enthielt. Solche Basidien stammen entweder von genetisch reinen, normalen blonden Fruchtkörpern der ersten Generation ab oder von Mischfruchtkörpern, bei denen jedoch nur Kerne der Konstitution NB in eine Basidie gelangten (Abb. 20). Der hohe Prozentsatz an Einsporkulturen mit allein normalen blonden Fruchtkörpern (92,5%) läßt sich auf diese Weise erklären.

In der zweiten Generation traten ferner Einsporkulturen auf, die neben normalen blonden Fruchtkörpern einzelne normale weiße Fruchtkörper lieferten. Die Sporentypen, aus denen diese Einsporkulturen hervorgegangen sein könnten, sind an 4. und 7. bzw. 12. Stelle von links in der Abbildung 20 aufgeführt. Davon kann der zuletzt genannte Sporentyp außer blonden normalen und weißen normalen auch deformierte Fruchtkörper oder blonde normale und deformierte Fruchtkörper bringen, je nachdem, in welcher Weise eine Kernentmischung stattfindet. Deformierte Fruchtkörper neben normalen blonden Fruchtkörpern können auch die in Abb. 20 an 1. bzw. 6. und 9. Stelle von links gezeichneten Sporentypen bringen. Im Versuch traten in der zweiten Generation tatsächlich mehrere Einsporkulturen auf, die neben

normalen blonden Fruchtkörpern deformierte Fruchtkörperanlagen bildeten.

Nicht gefunden wurden in der zweiten Generation dagegen Einsporkulturen, die nur normale weiße Fruchtkörper, normale weiße und deformierte Fruchtkörper oder nur deformierte Fruchtkörper brachten. Nach Abb. 20 waren auch diese Typen zu erwarten. Da die Zahl der Einsporkulturen relativ klein war, kann es Zufall sein, daß einige der theoretisch möglichen Klassen nicht aufgetreten sind. Daß die rein deformierten Typen in den Kulturen nicht zu finden waren, könnte auch eventuell an einer Benachteiligung des deformierten Typs gegenüber dem normalen Typ liegen. Möglicherweise keimen die Sporen, die nur das Gen n enthalten, schwer aus. Es ist nichts darüber bekannt, doch zeigt sich schon an der sehr geringen Fertilität von 59, daß der deformierte Stamm gegenüber dem normalen geschwächt ist.

Einige Einsporkulturen der zweiten Generation brachten weder Fruchtkörper noch Fruchtkörperanlagen. Solche „sterilen Einsporkulturen“ treten jedoch auch auf, wenn Viel- oder Einsporkulturen über Einsporkulturen vermehrt werden. Von den von SINDEN (1937, zitiert nach KLIGMAN, 1943) und von KLIGMAN (1943) herangezogenen Einsporkulturen waren jedesmal 20–30% steril. EVANS (1959) studierte den Zusammenhang zwischen Spindellage bei der zweiten meiotischen Teilung und Verteilung der Kerne in die Basidiosporen. Die den Sterigmen am nächsten gelegenen Kerne wandern zuerst in die Sporen. In dem von EVANS berechneten Fall enthielten nur 20% der Sporen Kerne, die in der zweiten meiotischen Teilung aus demselben Dyadenkern hervorgegangen waren. EVANS vermutet, daß ein Zusammenhang zwischen diesen Sporen und sterilen Einsporkulturen besteht, denn bei vorwiegender Praereduktion eines für den Paarungsmodus verantwortlichen Locus sind die „Geschwisterkerne“ der zweiten meiotischen Teilung „gleichgeschlechtlich“.

Der Anteil der sterilen Einsporkulturen an der Gesamtzahl beträgt im vorliegenden Versuch in der zweiten Generation nur 1,8%. Der Prozentsatz ist also sehr viel niedriger als der von SINDEN bzw. KLIGMAN gefundene.

In der dritten Generation traten, wie zu erwarten, die selben Einsporkulturklassen wie in der zweiten Generation auf (Abb. 14). Hinzu kamen die Klassen „nur normale weiße Fruchtkörper“ und „nur deformierte Fruchtkörper“, die in der zweiten Generation zufällig nicht aufgetreten waren. Die Klasse „nur normale weiße Fruchtkörper“ trat in der Nachkommenschaft der blonden Sporenpilze der dritten Generation nur einmal auf. Die betreffende Einsporkultur trug nur einen Fruchtkörper. Die Klasse „rein deformiert“ trat hierbei nicht auf, während der Prozentsatz der ertraglosen Einsporkulturen etwas höher war als in der zweiten Generation.

Die drei weißen Sporenpilze aus der zweiten Generation stammen alle aus der selben Einsporkultur. Diese hatte zwei normale blonde und fünf normale weiße Fruchtkörper sowie einige deformierte Fruchtkörperanlagen hervorgebracht. Sie könnte demnach dem 7. bzw. 12. Sporentyp von links in Abb. 20 entsprochen haben.

<sup>1</sup> N = normal (dominant), n = deformiert (rezessiv); B = blond (dominant), b = weiß (rezessiv).

Die drei weißen Sporenpilze lieferten verschiedene Arten von Einsporkulturen. Aus dem Sporenmuster D e gingen nur normale weiße und ertraglose Einsporkulturen hervor (Tab. 4). Bei Muster D d trat außerdem der deformierte weiße Typ rein wieder auf, während von Sporenmuster D b neben normalen weißen und ertraglosen Einsporkulturen auch Einsporkulturen abstammten, die neben normalen weißen noch normale blonde Fruchtkörper oder sogar nur normale blonde Fruchtkörper brachten. Am Aufbau der beiden zuletzt genannten Sporenpilze waren demnach nicht allein Hyphen mit den Kernen für normale weiße Fruchtkörper beteiligt, wie man nach Abb. 20 annehmen müßte.

BÉKÉSY (1956) konnte bei dem Ascomyceten *Claviceps purpurea* nachweisen, daß sich die Sklerotien aus genetisch verschiedenen Hyphen aufbauen können. Er mischte das Impfmateriale von schwarzen Sklerotien mit Impfmateriale von weißen Sklerotien und infizierte mit der Mischung Roggen. Es bildeten sich neben schwarzen und weißen in geringer Zahl gestreifte Sklerotien. Außerdem gab es, wie weitere Versuche zeigten, auch periklinale Formen. Als BÉKÉSY von einem weißen Sklerotium Stücke aus dem inneren Teil abimpfte, wurden von diesen Stücken statt der erwarteten weißen Sklerotien überwiegend schwarze Mutterkörner gebildet. BÉKÉSY bezeichnete die aus genetisch verschiedenen Teilen zusammengesetzten Sklerotien als Pseudo-Chimären.

Es ist denkbar, daß sich auch unter den Fruchtkörpern von *Agaricus bisporus* Pseudo-Chimären befinden. Wir fanden allerdings keine Pilze mit blond-weiß gestreiften Hüten. Stellenweise verfärbte Pilze kamen dagegen vor. Sie werden aber auch, wie erwähnt, in Reinkultur beobachtet.

Die obengenannten Fruchtkörper waren reinweiß. Es ist jedoch möglich, daß in Parallele zu den beim Mutterkorn festgestellten Fällen einzelne Hyphen eines anderen Genotyps sich im inneren Teil des den Fruchtkörper bildenden Plektenchyms befunden haben. Ein solcher Fall kann für die weißen Sporenpilze, unter deren Nachkommen auch blonde und deformierte Fruchtkörper auftraten, angenommen werden. Der weiße Fruchtkörper, dessen Sporen außer normalen weißen auch Kulturen mit weißen und blonden Fruchtkörpern hervorbrachten, stammte aus einer Einsporkultur, die dem 7. bzw. 12. Sporentyp in Abb. 20 entsprochen haben mußte. Nach der Entmischung der beiden Kernkomponenten ist die Hauptmasse der Fruchtkörper aus b-hältigen Kernen aufgebaut worden, während im Inneren auch Hyphen mit B-hältigen Kernen eingeschlossen waren. So konnten sich außer b/b-Basidien auch einige B/b-Basidien bilden.

Als Ursache für das Auftreten unerwarteter Merkmale nimmt SWIEZINSKY (1961 a) Kernwanderungen an. Nach dieser Hypothese kann nach Hyphenfusion ein Kern ( $A_1$ ) in einem fremden Mycel dadurch weiterwandern, daß er zuerst von dem nächstgelegenen Kern des fremden Mycels ( $B_1$ ) angezogen wird. Liegen beide Kerne dicht nebeneinander, verliert der Kern  $B_1$  seine Anziehungskraft, während ein anderer Kern des fremden Mycels ( $B_2$ ) den Kern  $A_1$  anzieht. Liegen die Kerne  $A_1$  und  $B_2$  dicht nebeneinander, verliert auch  $B_2$  seine Anziehungskraft und  $A_1$  wird von einem dritten fremden Kern ( $B_3$ ) ange-

zogen. Auf diese Weise wandert der in ein fremdes Mycel eingewanderte Kern in diesem von Kern zu Kern weiter. In unserem Falle könnte auf diese Weise ein B-haltiger Kern in Hyphen mit b-hältigen Kernen bis zur Basidie vorgedrungen sein.

Im Sporenmuster D d trat auch der deformierte Typ wieder rein auf. In Kulturkisten bildete die entsprechende Einsporkultur nur weiße deformierte Fruchtkörper. Andere Einsporkulturen brachten in späteren Prüfungen neben normalen weißen Fruchtkörpern deformierte Anlagen (Abb. 18, vgl. mit Abb. 5). Diese Einsporkulturen enthielten demnach die Kerne Nb + nb (8. Sporentyp von links in Abb. 20).

Schließlich wäre noch zu fragen, warum die Gewebekulturen von großen deformierten Fruchtkörperanlagen der dritten Generation (Abb. 15 und 16) normale blonde Fruchtkörper lieferten. Es könnte sich bei diesen Gebilden um keine genetisch bedingten Deformierungen, sondern um durch Umwelteinflüsse hervorgerufene Veränderungen handeln. Beim Kulturchampignon gibt es eine Reihe von Deformierungen, z. B. Rosenkammkrankheit, Lamellenlosigkeit (KLIGMAN 1950), die durch Umwelteinflüsse entstehen und genetisch nicht fixiert sind. Wahrscheinlicher ist es jedoch, daß auch diese deformierten Fruchtkörperanlagen Chimärencharakter besessen haben. An ihrem Aufbau könnten Hyphen mit den Kernen (NB + NB,) (NB + nb) und (nb + nb) beteiligt gewesen sein. Möglicherweise entfalteten sich die Hyphen mit den Kernen (NB + NB) und (NB + nb) schneller als die (nb + nb)-Hyphen. Diese wurden daher bei der Übertragung des Mycels auf frischen Nährboden nicht mit erfaßt.

## E. Diskussion

### I. Die Kreuzbarkeit von *Agaricus bisporus*

Die wichtigste Voraussetzung für die Kreuzung verschiedener Stämme ist die kontrollierbare Kopulation zwischen bestimmten haploiden Organen. Deshalb ist es ohne weiteres möglich, *Neurospora*-, *Sordaria*-, *Glomerella*-Arten usw. miteinander zu kreuzen, denn bei diesen Pilzen sind die Basidiosporen einkernig und liefern zunächst ein monokaryotisches Mycel. Man kann die Sporen isolieren und die verschiedenen Mycelien nach Belieben miteinander kombinieren. Beim Champignon liegen die Verhältnisse ganz anders. Die Kopulation erfolgt schon in der Basidie vor der Bildung der Basidiosporen, und man hat keine Gelegenheit hier einzugreifen. So bleibt lediglich die Möglichkeit, dikaryotische Mycelien zur Fusion zu bringen und auf die Bildung von Basidien mit verschiedenen Kernen zu hoffen.

Viele Fragen nach den Gesetzen der Hyphenfusion und dem Verhalten der vermischten Kerne sind bisher offen geblieben. So ist die Frage gestellt worden, ob in der Basidie tatsächlich Kernfusion und Meiosis stattfinden, oder ob es sich lediglich um Mitosen handelt. In diesem Fall wären die beiden Kerne einer Basidiospore genetisch identisch. EVANS (1959) konnte diese Vorstellung widerlegen, denn er fand Chromosomenbrücken und -fragmente in ca. 5% der Anaphasen von Basidien. Dies deutet auf Chiasma-bildung zwischen invertierten Segmenten hin und zeigt somit, daß die Teilung eine meiotische sein

muß und außerdem daß die beiden beteiligten Genome mindestens für eine Inversion heterozygot gewesen sein müssen. Karyogamie mit anschließender Meiosis wurde außerdem von KLIGMAN (1943) und SARAZIN (1955) nachgewiesen.

Daraus folgt also, daß durch Hyphenfusion dikaryotischer Mycelien jeweils vier verschiedene Kerne in einem Mycel zusammengebracht werden, denn auch die Abkömmlinge einer Tetrade sind als Folge der meiotischen Chromatiden- und Chromosomenrekombinationen niemals genetisch identisch.

Der Fusionsvorgang als solcher ist von LAMBERT (1959), EVANS (1959) und anderen beobachtet worden. EVANS konnte sogar in den kurzen Brücken, die sich zwischen dicht nebeneinanderliegenden Hyphen gebildet hatten, Kerne nachweisen, die offenbar im Begriff standen, überzutreten. Es handelte sich hierbei um Hyphen eines Stammes, die fusionierten. EVANS diskutiert daraufhin die Frage, ob ein durch ungleiche Verteilung der beiden Kernsorten des Dikaryons hervorgerufenen genetisches Ungleichgewicht die Ursache dieser Fusion sei, wobei durch den Übertritt der verlorengegangenen Kernsorte ein Ausgleich hergestellt wird. Das ist durchaus möglich. Weitere Untersuchungen über die Stabilität seiner Kulturstämme lassen den Autor jedoch vermuten, daß es beim Kulturchampignon kein vollkommenes genetisches Gleichgewicht gibt. In der Tat besteht kein Mechanismus, der dafür sorgt, daß Zahl und Art der beiden Kernsorten eines Dikaryons in allen Zellen gleichmäßig ist. Koordinierte Kernteilung und Schnallenbildung, die bei Basidiomyceten die Regel sind, gibt es bei *Agaricus bisporus* nicht. Vielmehr teilen sich die Kerne unabhängig voneinander und ihre Zahl schwankt von Zelle zu Zelle. Lediglich in der Basidie sind immer zwei Kerne enthalten. Aber auch dort kommen Unregelmäßigkeiten vor. So können gelegentlich drei, vier, sechs, acht oder auch nur eine einzige Basidiospore an einer Basidie angelegt werden (SARAZIN 1955). Die Inkonstanz der Hyphenkonstitutionen muß dazu führen, daß Zellen und Hyphenabschnitte nur noch die eine oder andere Kernsorte allein enthalten oder daß diese in verschiedenen Verhältnissen gemischt sind. Mit cytologischen Methoden allein kann man diese Dinge nicht beweisen. Deshalb fehlte es nicht an Versuchen, einen genetischen Nachweis sowohl für die Entmischung wie für den Kernübertritt zu erbringen.

KLIGMAN (1943) versuchte, Fusionen auszulösen und dadurch ein Merkmal von einem Stamm auf die Nachkommen eines anderen Stammes zu übertragen. Er verwendete drei sterile Einsporkulturen, eine, die von braunen und zwei, die von weißen Fruchtkörpern abstammten, ließ paarweise die Hyphen aufeinander zuwachsen und entnahm Mycel aus der Berührungsstelle. Bei der einen Kombination gingen aus den Hyphen der Verbindungsstelle braune, bei der anderen weiße Fruchtkörper hervor. Einsporkulturen, die aus ihnen gewonnen wurden, trugen einheitlich braune bzw. weiße Fruchtkörper. Hier spricht also nichts für einen Kernaustausch zwischen den verschiedenen Mycelien. Zwar brachten die für sich alleinwachsenden sterilen Stämme in Kombination Fruchtkörper hervor. Allein das braucht nicht zu bedeuten, daß die Ausgangsstämme Kerne gleichen Geschlechts enthalten haben, die nach Vereinigung

mit einem anderen Geschlecht Fruchtkörper bilden. Es ist auch denkbar, daß beide Stämme unfähig sind, einen bestimmten, zur Bildung von Fruchtkörpern notwendigen Stoff zu produzieren. Durch die Hyphenfusion wurden aber die fehlenden Stoffe ausgetauscht, so daß nun die Fruchtkörper entstanden. Das wäre zu vergleichen mit dem Befund von SWIEZYNSKI (1961 b), der bei *Coprinus lagopus* feststellte, daß gemeinsam wachsende auxotrophe Zweikernmycele fähig sind, sich gegenseitig zu ernähren.

MOESSNER (1962) vermischte das Mycel einiger Champignonstämme, die besonders charakteristische Fruchtkörperformen zeigten. Er beobachtete im Kulturbeet Fruchtkörper, die die Merkmale beider Partner auf sich vereinigten.

In den vorliegenden Untersuchungen wurden zwei Stämme mit zwei gut definierten Merkmalspaaren zusammengebracht, um Hyphenfusion zu ermöglichen. Es besteht kein Zweifel daran, daß tatsächlich Kerne ausgetauscht worden sind, denn es traten nicht nur in der Mischkultur zusammengewachsene Fruchtkörper auf, die verschiedene Merkmale trugen, sondern die Einsporkulturen derartiger Fruchtkörper zeigten auch Merkmalskombinationen aus beiden Ausgangsformen. Entmischungen von Merkmalen fanden sich sogar in den Einsporkulturen der zweiten und dritten Generation. Das sind eindeutige Beweise für Kernübertritt in der Mischkultur und für Kernentmischungen in den Einsporkulturen. Außerdem konnte durch die Untersuchungen nachgewiesen werden, daß die vegetativ vereinigten Kerne auch gemeinsam in eine Basidie eingehen und dort fusionieren können. Das beweisen die Rekombinationen der Merkmalspaare und das Auftreten aller zu erwartenden Spaltungstypen.

Ob die Kerne von *Agaricus bisporus* sexuell differenziert sind, läßt sich nach diesen Untersuchungen nicht feststellen. Es ist möglich, daß etwas derartiges existiert. EVANS (1959) beobachtete nämlich, daß in die Basidiosporen vorwiegend „Nichtgeschwisterkerne“ der zweiten meiotischen Teilung eingehen. Er selbst nimmt an, daß allein die zufällige Lage der Kernspindeln darüber entscheidet, welche Gonen miteinander kombiniert werden; daß jedoch ein Mechanismus, der dafür sorgt, daß die Teilungsebene der zweiten meiotischen Teilung bevorzugt parallel zur Oberfläche verläuft, zugleich die Heterozygotie solcher Loci fördert, die vorzugsweise praereduziert werden. Unsere Versuche sagen nichts aus über eine geschlechtliche Differenzierung der Kerne. Die beiden verwendeten Stämme dürften homokaryotisch für die beiden untersuchten Merkmalspaare gewesen sein. Ob sie aber zugleich heterokaryotisch in einem Geschlechtsfaktor sind, ist nicht bekannt.

## II. Dominanzphaenomene im Dikaryon

In der Erklärung der vorliegenden Versuchsergebnisse wurde angenommen, daß normal über deformiert und blond über weiß „dominiert“. Dieser Ausdruck ist nicht ganz gerechtfertigt, denn im Dikaryon sind die haploiden Kerne selbständig und nicht paarweise verschmolzen wie bei einem diploiden Organismus. Es besteht im Falle von *Agaricus bisporus* auch keine Garantie dafür, daß wenigstens für ein stabiles Verhältnis der Gene zueinander

gesorgt ist. Die Frage ist also, welches Gen das Aussehen der Fruchtkörper bestimmt. Wird es vielleicht von der Kernart, die in der Überzahl ist, festgelegt? Setzt sich der Fruchtkörper aus Hyphen verschiedener Genotypen zusammen, dann bestimmt vielleicht die vorwiegend vorhandene Hyphenart Form und Farbe der Fruchtkörper? Oder spielt auch das Plasma eine Rolle bei der Merkmalsausprägung oder sogar bei der Vererbung der Anlagen selbst? Das sind Fragen über Fragen, die alle vorläufig unbeantwortet bleiben müssen.

### F. Schlußfolgerungen

Die Merkmale „weiße Fruchtkörperfarbe“, „deformierte Fruchtkörperform“ und „deformierte Anlagen“ wurden erfolgreich auf die Nachkommen eines Stammes mit blonden normalgeformten Fruchtkörpern und normalen Anlagen übertragen. Es bildeten sich in der Nachkommenschaft dieses Stammes zu einem geringen Prozentsatz normale weiße Fruchtkörper, deformierte Anlagen und in einem Falle deformierte weiße Fruchtkörper. Die meisten der von den normalen weißen Fruchtkörpern der zweiten Generation abstammenden Einsporkulturen trugen einheitlich normale weiße Fruchtkörper. Die Neukombination ließ sich demnach rein erhalten.

Für die praktische Züchtung kann daraus gefolgert werden, daß eine Kombinationszüchtung auch beim Kulturchampignon möglich ist. Da Neukombinationen jedoch nur in einem sehr geringen Prozentsatz auftreten, ist es fraglich, ob diese Methode praktische Bedeutung erlangen wird. Es wird in erster Linie von der Entwicklung geeigneter Methoden abhängen. Dazu gehören Maßnahmen, eine maximale Hyphenverschmelzung und Kernwanderung zu ermöglichen und die erwünschten Neukombinationen frühzeitig und sicher zu erkennen.

### G. Zusammenfassung

Ein Champignonstamm, der normal geformte Fruchtkörper mit blondem Hut hervorbringt, wurde in Mischkultur mit einem Stamm, der deformierte weiße Fruchtkörper und deformierte Anlagen bildet, angebaut. Im Kulturbeet erschienen die Fruchtkörper beider Stämme oft sehr dicht nebeneinander. Mitunter waren sie sogar zusammengewachsen.

Von zwölf normalen blonden Fruchtkörpern, die dicht neben deformierten weißen Fruchtkörpern oder deformierten Anlagen standen (erste Generation), wurden Sporen gewonnen und Einsporkulturen herangezogen. Die einzelnen Sporen wurden nicht unter dem Mikroskop isoliert. Es wurden vielmehr dünne Sporenaussaaten gemacht und die vereinzelt erscheinenden Mycelien ausgestochen. Nur so war es technisch möglich, die notwendige große Zahl an Einsporkulturen zu gewinnen. Diese wurden zunächst auf Weizenkörnern angezogen und anschließend auf Pferdemistkompost in Litergläsern auf Art der Fruchtkörperbildung geprüft. Von 282 Stämmen dieser zweiten Generation glichen 92,5% dem normalen blonden Elter, d. h. sie trugen nur normale blonde Fruchtkörper. 3,2% der Stämme bildeten neben normalen blonden auch normale weiße Fruchtkörper aus; 0,4% der Stämme zeigten außerdem deformierte Fruchtkörperanlagen, während 2,1%

neben normalen blonden Fruchtkörpern deformierte Anlagen bildeten. 1,8% der Stämme waren unfruchtbar.

Von 32 normalen blonden Fruchtkörpern der zweiten Generation wurden ebenfalls Sporen gewonnen und je 10–20 Einsporkulturen herangezogen. Auch sie wurden in Litergläsern auf ihre Art der Fruchtkörperbildung geprüft. Es traten die selben Einsporkultur-Klassen auf wie in der zweiten Generation. Hinzu kam ein Stamm, der nur einen einzigen weißen Fruchtkörper ausbildete. In mehreren Kulturgefäßen erschienen ferner neben blonden normalen Fruchtkörpern bis zu 1,5 cm lange ovale Gebilde, die Stamm 59 sehr ähnelten. Sie waren mehr oder weniger bräunlich verfärbt. Die von ihnen gewonnenen Gewebekulturen trugen aber normale Fruchtkörper.

Drei weiße Fruchtkörper, die neben blonden Fruchtkörpern und deformierten Anlagen in der zweiten Generation aufgetreten waren, wurden ebenfalls über Sporen vermehrt. Je Fruchtkörper wurden 20–30 Einsporkulturen herangezogen und in Glaskulturen auf Art der Fruchtkörperbildung untersucht. Sie trugen vorwiegend normale weiße Fruchtkörper. Bei einem der drei Sporenpilze brachten jedoch einige der Einsporkulturen normale blonde Fruchtkörper oder normale blonde und weiße Fruchtkörper. Eine von einem anderen der drei weißen Sporenpilze abstammende Einsporkultur brachte nur deformierte Fruchtkörper. Dieser Stamm war in allen Prüfungen von dem deformierten Elter, Stamm 59, nicht zu unterscheiden. Einige Einsporkulturen blieben ohne Ertrag.

Von dem Sporenmuster, aus dem der rein deformierte Typ hervorgegangen war, wurden weitere 71 Einsporkulturen gewonnen. Sie brachten vorwiegend weiße normale Fruchtkörper. Bei einigen Stämmen bildeten sich außerdem deformierte Anlagen. Von zwei Einsporkulturen wurden neben normalen weißen normale blonde Fruchtkörper geerntet. Acht Stämme blieben ohne Ertrag. Von diesen bildeten zwei Fruchtkörperanlagen, die aber nicht weiterwachsen und teilweise deformiert waren.

Die Versuchsergebnisse werden anhand einer Zeichnung erklärt. Dazu wird angenommen, daß nach erfolgter Fusion zwischen fremden Hyphen Kerne überwandern und sich im fremden Mycel vermehren. In der Basidie können zwei fremde haploide Kerne miteinander zu einem diploiden Kern verschmelzen. Je nachdem, ob Prae- oder Postreduktion eines oder beider Loci vorliegt, geht aus der Meiosis der P-, NP- oder T-Tetradentyp hervor. Von den vier Kernen werden je zwei auf eine Spore verteilt. Insgesamt können zehn verschiedene Sporenarten aus dieser Verteilung resultieren. Die entsprechenden Einsporkulturen können, wenn die Spore zwei genetisch verschiedene Kerne besaß, zwei oder drei Fruchtkörperarten hervorbringen. Beim Kulturchampignon besteht nämlich keine Koordinierung zwischen Kernteilung und Zellwandbildung. Die verschiedenen Kerne können demnach vegetativ voneinander getrennt werden.

Von den nach der Hypothese erwarteten Einsporkultur-Klassen wurden in der dritten Generation alle gefunden, wenn man bei den deformierten Typen die Farbe außer acht läßt. Der deformierte Stamm bringt nämlich oft nur Fruchtkörperanlagen hervor,

bei denen die Farbe nicht zu bestimmen ist. In der zweiten Generation fehlten zwei der erwarteten Einsporkultur-Klassen.

Parallel zu den Kulturversuchen wurden die Hyphen der beiden verwendeten Stämme mikroskopisch beobachtet. Das Mycel wurde auf Glas gezogen, wodurch die Hyphen in einer Ebene lagen. Zwischen den beiden Stämmen zeigten sich deutliche Fusionsbrücken. Die Kerne wurden mit 0,5% igem Kristallviolett angefärbt. In der Nähe der Fusionsstellen konnten Kerne sichtbar gemacht werden.

In der Diskussion wird auf die bisherigen Ergebnisse der genetischen Forschungen am Kulturchampignon eingegangen. Auf die noch ungeklärten Phänomene der Dominanz im Dikaryon des Kulturchampignons wird besonders hingewiesen.

Die Versuchsergebnisse zeigen, daß eine Kombinationszüchtung auch beim Kulturchampignon möglich ist. Da die Neukombinationen sehr selten auftraten, wird es von der Entwicklung geeigneter Arbeitsmethoden abhängen, ob die Kombinationszüchtung praktische Bedeutung erlangt.

Herrn Professor Dr. R. VON SENGBUSCH danke ich herzlich für die Möglichkeit, diese Untersuchungen an seinem Institut durchführen zu können, sowie für die ständige Förderung, die mir während dieser Zeit zuteil wurde.

Ebenfalls sehr dankbar bin ich Herrn Professor Dr. W. HOFFMANN und Frau Professor Dr. G. LINNERT für vielfältige Anregungen und Unterstützungen.

Darüber hinaus danke ich auch Herrn Professor Dr. Dr. h. c. H. KAPPERT für wertvolle Hinweise.

Schließlich möchte ich noch allen danken, die mir bei der technischen Durchführung der Arbeit geholfen haben.

#### Literatur

1. BÉKÉSY, N.: Über die vegetative und generative Übertragung von Mutterkorneigenschaften. *Z. Pflanzenzüchtg.* **35**, 461–496 (1956). — 2. CROWE, L. K.: The exchange of genes between nuclei of a Dikaryon. *Heredity* **15**, 397–405 (1960). — 3. DARLINGTON, C. D., and

L. F. LA COUR: The handling of chromosomes. London: Allen & Unwin Ltd. 1947. — 4. DODGE, B. O.: Crossing hermaphroditic races of *Neurospora*. *Mycologia* **24**, 7–13 (1932). — 5. EVANS, H. J.: Nuclear behaviour in the cultivated mushroom. *Chromosoma (Berl.)* **10**, 115–135 (1959). — 6. HUHNE, W., und R. v. SENGBUSCH: Aktivmycelspückung von Champignonkulturen. Die deutsche Gartenbauwirtschaft **7**, 238–239 (1959). — 7. HUNTE, W.: Champignonanbau im Haupt- und Nebenerwerb. Berlin: Verlag Paul Parey 1958. — 8. KAPPERT, H.: Die vererbungswissenschaftlichen Grundlagen der Züchtung. Berlin: Verlag Paul Parey 1953. — 9. KLIGMAN, A. M.: Some cultural and genetic problems in the cultivation of the mushroom „*Agaricus campestris*“. *American Journal of Botany* **30**, 745–762 (1943). — 10. KLIGMAN, A. M.: Handbook of mushroom culture. Lancaster, Pennsylvania: Business Press Inc. 1950. — 11. LAMBERT, E. B.: The production of normal sporophores in monosporous cultures of *Agaricus campestris*. *Mycologia* **XXI**, 333–335 (1929). — 12. LAMBERT, E. B.: Improving spawn cultures of cultivated mushrooms. *Mushroom Science* **IV**, 33–51 (1959). — 13. MOESSNER, E. J.: Preliminary studies of the possibility of obtaining improved cultures through mycelial fusion (Anastomoses). *Mushroom Science* **V**, 197–203 (1962). — 14. OLIVE, L. S.: On the evolution of Heterothallism in fungi. *Amer. Naturalist* **92**, 233–251 (1958). — 15. PONTECORVO, G.: Trends in genetical analysis. *Columbia Biological Series* **18** (1958). — 16. REIMANN-PHILIPP, R.: Genetische Untersuchungen an den Tetraden einer höheren Pflanze (*Salpiglossis variabilis*). *Zeitschrift für indukt. Abstammungs- und Vererbungslehre* **87**, 187–207 (1955). — 17. v. ROSEN, G.: Problems and methods in the production of tetraploids with the genus *Beta*. *Socker* **10**, 197–217 (1949). — 18. SARAZIN, A.: Cultures monospermes d'*Agaricus campestris*. *C.R.Ac. Sc., Paris*, **208**, 2015–2017 (1939). — 19. SARAZIN, A.: The cultivated mushroom. Übersetzung aus dem Französischen von Dr. C. J. Touche (1955). — 20. v. SENGBUSCH, P.: persönliche Mitteilung. — 21. SINDEN, J. W.: New methods of mushroom culture. *Ann. Rep. Veg. Grow. Ass. Amm.* **37**, 181–188 (1935–36). — 22. SWIEZYNSKI, K. M.: Migration of nuclei in tetrapolar Basidiomycetes. *Acta societatis botanicorum poloniae* **XXX**, 529–534 (1961a). — 23. SWIEZYNSKI, K. M.: Exchange of nuclei between dikaryons in *Coprinus lagopus*. *Acta societatis botanicorum poloniae* **XXX**, 535–551 (1961b). — 24. v. ZALAY, A.: persönliche Mitteilung.