Theoretical and Applied Genetics 40, 169—172 (1970)
© by Springer-Verlag 1970

Prüfung eines physiologischen Unterscheidungsmerkmales zweier Champignonstämme hinsichtlich seiner Eignung zur Frühselektion bei Kreuzungen*

GERDA FRITSCHE

Max-Planck-Institut für Kulturpflanzenzüchtung Hamburg (BRD)

Investigation of a Genetically Determined Physiological Characteristic of two Strains of Cultivated Mushrooms for its Suitability as a Basis for Early Selection Following Cross-Breeding

Summary. The different growth response of two strains of cultivated mushrooms (a cream-colored and a white one), on malt agar was tested to determine its suitability for selection following cross-breeding. While the white strain always grew faster on malt agar than did the cream-colored one, the progeny of each strain no longer showed this dependence on the nutrient medium. Progeny of several white mushrooms which had originated by mutation in a cream-colored strain were tested also. These mushrooms have a white cap but retain the more robust growth habit characteristic of the cream-colored strain. On malt agar they grow no faster than does the cream-colored strain. The characteristic described cannot be used as a basis for selection following crosses of cream-colored × white varieties, since cap color and mycelial growth habit are determined by different genes.

A. Einleitung

Im Jahre 1964 (Fritsche, 1964) wurden unsere Versuche abgeschlossen, die Kreuzbarkeit des Kulturchampignons *Agaricus bisporus* nachzuweisen. Sie hatten zu dem Ergebnis geführt, daß es auch beim Kulturchampignon Hybriden gibt, diese aber in sehr geringer Zahl auftreten. Für die züchterische Arbeit wäre es deshalb besonders zu begrüßen, wenn man die gesuchten Neukombinationen schon in einem sehr frühen Entwicklungsstadium erkennen könnte. Mycelmerkmale sind bereits wenige Tage oder wenige Wochen nach der Sporenkeimung zu sehen, je nachdem, nach welchen Eigenschaften gesucht wird. Bis zur Bildung der Fruchtkörper vergehen dagegen mindestens 10 Wochen. Außerdem sind mehrere zusätzliche Arbeitsgänge notwendig.

Eine günstige Kombination wäre z. B. „weiße Hutfarbe" und „kräftige Fruchtkörper" bzw. „hoher Ertrag". Die beiden letztgenannten Eigenschaften sind vorwiegend bei Stämmen mit blondem (hellbraunem) Hut zu finden. Die blonden Pilze sind jedoch beim Käufer nicht beliebt. Wenn schon am Verhalten des Mycels zu erkennen wäre, ob die Fruchtkörper einen blonden oder weißen Hut haben werden, würde die Selektionsarbeit außerordentlich erleichtert. Man würde von den blonden Fruchtkörpern einer Mischkultur eine große Anzahl Einsporkulturen gewinnen. Bis zur Fruchtkörperbildung brauchten nur diejenigen kultiviert zu werden, deren „Mycelverhalten" auf eine weiße Hutfarbe schließen läßt. In der folgenden Ertragsprüfung könnte geklärt werden, ob sie auch die positiven Eigenschaften des blonden Elternteiles besitzen.

*) Herrn Professor Dr. Dr. h. c. Hans Kappert zum 80. Geburtstag in Dankbarkeit und Verehrung gewidmet.

B. Material

Stämme

1206 = Eine eigene Einsporkultur mit blondem Hut, am 27. IV. 1959 gewonnen.

4385 = Eine eigene Einsporkultur mit weißem Hut, am 28. XI. 1961 gewonnen.

Beide Einsporkulturen wurden durch Abimpfung einzeln stehender Kulturen aus Aussaatschalen dünner Sporenaufschwemmungen isoliert. Sie wurden für Versuche verschiedenster Art häufig verwendet.

Nährböden

a) 1,5% Maltzin, 2% Agar (marokkanischer Agar-Agar, pulverisiert) Aqua dest., 1 Stunde autoklavieren (1 Atü, 121 °C), pH 5,6

b) wie a, doch zusätzlich 0,6% 1,5 n Na_2CO_3, pH 6,3

c) wie a, doch 2 Stunden autoklavieren, pH 5,6

d) wie a, doch 1,5% Agar. pH 5,6

k) 25% pasteurisierter Pferdemistkompost, 1,5% Agar, Aqua dest. Der Kompost wird im gefrorenen Zustand in Aqua dest. im Starmix zerkleinert und danach mit 1,5% Agar verfestigt. Autoklaviert wird an zwei aufeinander folgenden Tagen je 2 Stunden. pH 6,3

C. Verhalten der beiden Einsporkulturen

Bei der Bonitur eines Versuches, der einer anderen Fragestellung als der „Frühselektion" diente, war aufgefallen, daß sich die beiden Einsporkulturen 1206 und 4385 auf den unter a und k aufgeführten Nährböden unterschiedlich verhielten. Während auf Nährboden a (Biomalz-Agar) der blonde Stamm deutlich langsamer wuchs als der weiße, war auf Nährboden k

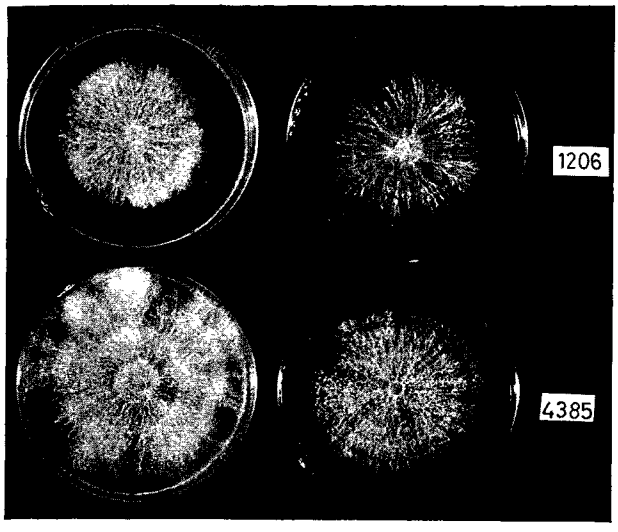

Abb. 1. Unterschiedliches Mycelwachstum der Stämme 1206 (blond) und 4385 (weiß) auf Biomalz-Agar (links) und Kompost-Agar (rechts)

(Kompost-Agar) das Mycelwachstum beider Stämme etwa gleich schnell (Abb. 1). Auch die folgenden Prüfungen ergaben dasselbe Bild.

Zur varianzanalytischen Auswertung der Beobachtungen und zur Beantwortung der Frage, an wieviel Schalen man bereits den Wuchsunterschied beider Stämme sicher genug erkennen kann, wurde ein größerer Versuch angelegt. Da das Mycelwachstum auf Nährboden „a" nicht immer befriedigte, wurden Nährböden mit in den Versuch einbezogen, die sich von „a" durch den pH-Wert, die Sterilisationsdauer oder die Festigkeit unterschieden (Nährböden b—d).

Von den Nährböden a—k wurden je 21 Schalen mit dem Korkbohrer beimpft. Das Mycel wurde aus 3 Weizen-Agar-Schalen je Stamm abgeimpft (Weizen-Agar = Kochwasser von Weizenkörnern, das nach dem Kochen noch einen Tag über den Körnern gestanden hat und dann mit 2% Agar verdickt wurde). Um eventuelle Unterschiede der Ausgangsschalen auszugleichen, wurde aus jeder Schale die gleiche Anzahl Schalen jedes Nährbodens beimpft. Beim Abimpfen wurde darauf geachtet, daß das Mycel nur aus der Peripherie entnommen wurde. Weiter innen liegendes und damit älteres Mycel ist nicht ganz so wüchsig wie junges Mycel. Die beimpften Schalen wurden in einem keimfreien Raum bei +24 °C aufbewahrt. Das Mycelwachstum wurde 14 Tage nach dem Beimpfen an der schmalsten und breitesten Stelle gemessen.

Die Durchschnittswerte der beiden Messungen je Schale sind in Tabelle 1 angeführt. Die Differenz zwischen dem blonden und weißen Stamm ist auf den Nährböden a—d in allen Fällen sehr gut gesichert. Auf dem Nährboden k ist sie in keinem Fall gesichert. Da die Differenz auf dem Nährboden b am größten war, wurde dieser für weitere Versuche bestimmt. Zur Festlegung der notwendigen Zahl der Wiederholungen wurde der Variationskoeffizient (s%) von 3, 4 und mehr Schalen errechnet. Während die Differenz der errechneten Werte zwischen 3 und 4 Wiederholungen noch 4,4 betrug, sank der Wert auf

Tabelle 1. *Prüfung der beiden Stämme 1206 (blond) und 4385 (weiß) auf fünf Nährböden in Petrischalen. Übersicht über die Meßwerte (Myceldurchmesser in mm). $\bar{x}$ von 7 Schalen*

Nährboden	a		b		c		d		k	
Stamm	1206	4385	1206	4385	1206	4385	1206	4385	1206	4385
Mycel aus Schale I	52,6±3,8	73,4±1,9	44,9±1,6	66,6±2,8	46,5±3,2	63,4±1,6	48,5±2,5	66,6±6,9	57,6±0,7	55,6±8,3
Differenz der Stämme	20,8***		21,7***		16,9***		18,1***		−2,0	
Mycel aus Schale II	51,1±3,6	71,5±7,4	44,4±2,8	66,8±1,7	45,1±4,0	61,3±4,2	50,6±4,1	68,0±5,7	56,1±1,8	58,8±2,5
Differenz der Stämme	20,4***		22,4***		16,2***		17,4***		2,7	
Mycel aus Schale III	49,6±4,6	71,6±4,3	42,8±2,1	65,1±2,5	41,7±2,6	65,4±2,2	47,3±2,5	69,4±4,7	56,7±2,5	58,4±1,9
Differenz der Stämme	22,0***		22,3***		23,7***		22,1***		1,7	
Gesamt $\bar{x}$	51,1	72,2	44,0	66,2	44,4	63,4	48,8	68,0	56,8	57,6
Differenz der Stämme	21,1***		22,2***		19,0***		19,2***		0,8	

*** Differenz mit $P < 0{,}1\%$ sehr gut gesichert.

0,8 zwischen 6 und 7 Wiederholungen. Er sank auch danach nur noch wenig. 7 Schalen dürften demnach als Wiederholungszahl in künftigen Prüfungen genügen.

D. Verhalten der Nachkommen beider Einsporkulturen

Der unterschiedliche Mycelwuchs der beiden Einsporkulturen auf Biomalz-Agar hatte sich bestätigt. Im nächsten Schritt war zu klären, ob auch die von den Einsporkulturen abstammenden Einsporkulturen sich wie ihre Mütter verhalten würden. Es wurden deshalb aus Sporen der Stämme 1206 und 4385 Einsporkulturen herangezogen und in je 7 Petrischalen mit Nährboden b geprüft.

Abb. 2 veranschaulicht das Verhalten einiger dieser Einsporkulturen. Das Kreuz gibt den Mittelwert von 7 Schalen an, während der Strich die errechnete Streuung zeigt. Die beiden Ausgangsstämme (links) verhalten sich wie erwartet. Das Mycel des weißen Stammes 4385 ist schneller gewachsen als das des blonden Stammes 1206. Ausschlaggebend für die Beurteilung der neuen Einsporkulturen waren die Meßwerte der Kontrolle. Alle Einsporkulturen, deren Myceldurchmesser nur 45 mm oder weniger betrug, kamen in die Rubrik „wie blond verhaltend" (in Abb. 2 unter dem unteren Querstrich). In die Rubrik „wie weiß verhaltend" kamen alle Einsporkulturen mit einem Myceldurchmesser von 50 mm und mehr (über dem obersten Strich in Abb. 2). Als „neutral" wurden alle Einsporkulturen bezeichnet, die zwischen beiden Werten lagen.

Wie Abb. 2 erkennen läßt, erfüllten die neu gewonnenen Einsporkulturen nicht die Erwartungen. Besonders häufig wichen die aus Stamm 4385 hervorgegangenen Einsporkulturen vom Verhalten des Ausgangsstammes ab. Nur 7 der 29 Einsporkulturen verhielten sich wie „weiß", während 16 sich wie „blond" verhielten und alle anderen „neutral" waren.

Daß die Fruchtkörperfarbe dem Ausgangsstamm entsprach, zeigten spätere Prüfungen in Kulturgläsern.

Besonders langsam wachsende Einsporkulturen waren nicht mit für den Wachstumstest verwendet worden, um nicht durch kranke oder mit dem Merkmal „Kümmerwuchs" behaftete Einsporkulturen das Ergebnis zu verfälschen. Die Beurteilung erfolgte auf Weizen-Agar-Nährboden in Petrischalen. Von diesen Schalen wurde das Mycel der normal aussehenden Einsporkulturen mit dem Korkbohrer auf die 7 Schalen Nährboden b je Einsporkultur abgeimpft.

Insgesamt wurden 12 von 1206 abstammende und 42 von 4385 abstammende Einsporkulturen in zwei aufeinander folgenden Wachstumstesten untersucht. Die zur Kontrolle in den insgesamt vier Prüfungen dienenden Ausgangsstämme verhielten sich immer typisch. Die Differenz zwischen beiden variierte allerdings. Sie betrug 28, 25, 12 und 8 mm. Die Ein-

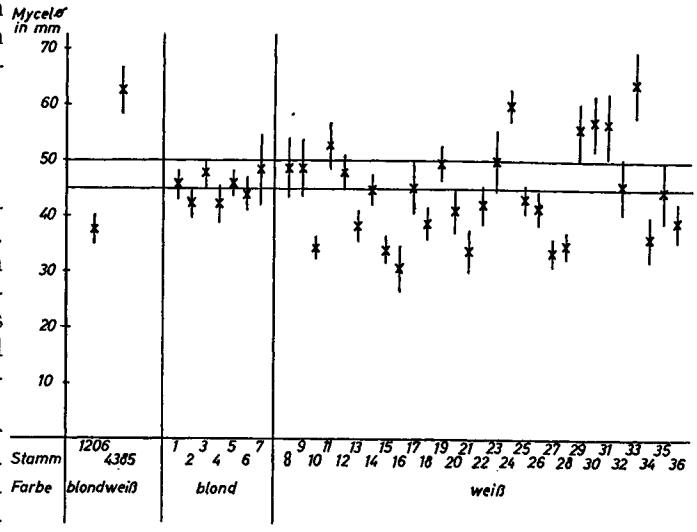

Abb. 2. Verhalten verschiedener blonder und weißer Einsporkulturen auf Nährboden b. 1—7 = von 1206 abstammend 8—36 = von 4385 abstammend.

⊥ = Mittelwert und Streuung des Myceldurchmessers von 7 Schalen; obere Horizontallinie = Abgrenzung nach unten für Verhalten wie weiß, untere Horizontallinie = Abgrenzung nach oben für Verhalten wie blond

gruppierung der Einsporkulturen in die verschiedenen Rubriken war weniger klar, wenn die Differenz zwischen 1206 und 4385 gering war.

Einen Überblick über das Ergebnis gibt Tabelle 2. Sie zeigt, daß sich von den blonden Einsporkulturen nur eine in einem Versuch „wie weiß" verhielt. Von den weißen Einsporkulturen verhielten sich dagegen viele „wie blond", sogar vorwiegend in beiden Prüfungen.

Tabelle 2. *Verhalten der von 1206 (blond) und 4385 (weiß) abstammenden Einporkulturen in 2 Wachstumstesten auf Nährboden b*

Verhalten	Einsporkulturen abstammend von blond		weiß	
	n	%	n	%
2 × wie blond	6	50	21	50
2 × wie weiß	0	0	4	10
1 × wie blond + 1 × wie weiß	0	0	1	2
1 × wie blond + 1 × neutral	3	25	9	21
1 × wie weiß + 1 × neutral	1	8	4	10
2 × neutral	2	17	3	7

E. Schlußfolgerungen und Diskussion

Die an den beiden Stämmen 1206 (blond) und 4385 (weiß) beobachteten Mycelunterschiede sind spezielle Eigenschaften der beiden Stämme. Selbst von den Nachkommen der Einsporkulturen zeigten nur wenige diese Mycelunterschiede. Das Merkmal „Mycelverhalten auf Nährboden b" kann also nicht zur Frühselektion nach Kreuzungen blond × weiß verwendet werden.

Vermutlich wird es schwer sein, ein zur Frühselektion geeignetes Merkmal zu finden. Absolut gekoppelte Gene sind selten (Kappert, 1953). Ein sehr geringer Austausch könnte allerdings in Kauf genommen werden. Wie groß die Chancen für Pleiotropie sind, ist unbekannt.

In diesem Zusammenhang ist das Mycelverhalten von Einsporkulturen interessant, die eine weiße Hutfarbe haben, aber von einer blonden Handelssorte abstammen. In einem Kulturbeet einer blonden Sorte war ein Klumpen weißer Pilze aufgetreten (Dohme, 1965). Die Einsporkulturen, die von diesen Fruchtkörpern abstammen, haben einen weißen Hut, aber den kräftigen Habitus des blonden Ausgangsstammes. Auf Nährboden b verhielten sie sich wie blond. Die Hutfarbe und das Mycelverhalten werden demnach von verschiedenen Genen bestimmt.

Bei einem mit 21 Stämmen (vorwiegend Handelssorten) durchgeführten Versuch fiel Stamm 1206 durch besonders langsames Mycelwachstum auf Nährboden b auf. Nach 2 Wochen betrug der Myceldurchmesser nur 28 mm, während er bei den anderen 8 blonden Stämmen von 35—45 mm schwankte, bei einem $\bar{x}$ von 40 mm. Die drei von blond abstammenden weißen Stämme zeigten ebenfalls einen Myceldurchmesser von 40 mm bei einer Streuung von 39,3 bis 40,4 mm. Dagegen betrug der $\bar{x}$ der 9 von weiß abstammenden weißen Stämme 49 mm. Dabei erreichten einzelne Einsporkulturen einen Myceldurchmesser von $\bar{x} = 54$ mm, während andere langsamer gewachsen waren als einzelne blonde Stämme.

Stoller (1962) stellte fest, daß Zusatz von Mercaptoäthanol zu Biomalz-Agar das Mycelwachstum blonder Stämme hemmte oder verzögerte, während er das Mycelwachstum weißer Stämme förderte oder keinerlei Einfluß zeigte. Wir prüften nach dem von ihm angegebenen Rezept (0,01 ml Mercaptoäthanol pro 1 l 2%igen Biomalz-Agar, 20 Min. Sterilisation bei 1 Atü, pH 5,4) einige Handelssorten sowie eigene Einsporkulturen, insbesondere 1206 und 4385 sowie deren Nachkommen. Alle blonden Stämme zeigten einen langsameren Mycelwuchs als die weißen Stämme, die von weiß abstammten und im Fruchtkörpertyp weiß entsprachen. Die von blond abstammenden weißen Stämme wuchsen jedoch genauso langsam wie die blonden Stämme. Man kann also auch den mit Mercaptoäthanolzusatz versehenen Biomalz-Agar-Nährboden nicht zur Frühselektion bei Kreuzungen blonder und weißer Stämme verwenden.

Zusammenfassung

Das unterschiedliche Verhalten eines blonden und eines weißen Champignonstammes auf Biomalz-Agar wurde auf Eignung zur Frühselektion bei Kreuzungen geprüft. Während der weiße Stamm auf Biomalz-Agar immer schneller wuchs als der blonde Stamm, zeigten die Nachkommen der beiden Stämme bereits nicht mehr diese Nährbodenabhängigkeit. Auch die Nachkommen einiger durch Mutation in einer blonden Handelssorte entstandenen weißen Fruchtkörper, die eine weiße Hutfarbe, aber den für den blonden Stamm charakteristischen kräftigen Habitus hatten, wuchsen nicht schneller auf Biomalz-Agar als der blonde Stamm. Das gefundene Merkmal eignet sich nicht zur Frühselektion nach Kreuzungen blond × weiß, da Hutfarbe und Mycelwuchs durch verschiedene Gene bestimmt werden.

Frau Marianne Schneidereit danke ich vielmals für ihre sorgfältige Assistenz.

Literatur

1. Dohme. F.: Persönliche Mitteilung (1965). — 2. Fritsche, Gerda: Versuche zur Frage der Merkmalsübertragung beim Kulturchampignon *Agaricus* (*Psalliota*) *bisporus* (Lge.) Sing. Der Züchter **34**, 76—93 (1964). — 3. Kappert, H.: Die vererbungswissenschaftlichen Grundlagen der Züchtung. Berlin: Verlag Paul Parey 1953. — 4. Stoller, B. B.: Some practical aspects of making mushroom spawn. Mushroom Science **V**, 170—184 (1962).

Eingegangen 3. März 1970

Angenommen durch W. Seyffert

Dr. Gerda Fritsche
jetzt: Forschungsvorhaben Champignon
Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung
Köln
Bornkampsweg
207 Ahrensburg/Holstein (BRD)

V/12/6 0,160
Printed in Germany