

Versuche zum Problem der Flauschbildung beim Kulturchampignon

GERDA FRITSCHÉ

Max-Planck-Institut für Kulturpflanzenzüchtung, Hamburg (BRD)

Investigations of the Problem of Development of Fluffy Mycelium in Cultivated Mushrooms

Summary. The study deals with the question of the influence of the nutrient medium upon appearance of a certain type of mycelium, namely the undesirable strongly fluffy type, which leads to decreased yields. The experiments were carried out with two strains of different color (each with fluffy and normal mycelium respectively). Six different nutrient media were tested. A lasting favorable influence of compost-agar was found, but only in the fluffy type of the white strain. The experiments also showed that it is possible to maintain fluffy and normal stringy types separately to some extent, by propagating only the desired type at each mycelium transfer.

A. Einleitung

Eine den Champignonanbauern wohlbekannte Erscheinung ist das sogenannte „schwimmende Mycel“ (Kligman 1950, Kindt 1960, Hunte 1966). Darunter versteht man ein starkes Mycelwachstum auf der Deckerde. Das Mycel bildet einen dichten, pelzigen Belag, in dessen Bereich die Fruchtkörperbildung weitgehend gehemmt wird. „Schwimmendes Mycel“ entsteht bei mangelhafter Belüftung der Kulturräume und zu feuchter Deckerde während der ersten Kulturstage. Es kann aber auch genetische Ursachen haben. Oft konnte nachgewiesen werden, daß ein Kulturbeet, das „schwimmendes Mycel“ enthielt, mit flauschiger Körnerbrut gespickt worden war (Kligman 1943, zitiert nach Lambert 1959). Während das Mycel die Körner normalerweise belagartig umspinnt, bildet sich bei flauschiger Körnerbrut viel Luftmycel. Es füllt watteartig den Raum zwischen den Körnern aus, so daß die Körner oft nicht mehr zu sehen sind. Das flauschige Mycel tritt meist nur in Sektoren in den Brutflaschen auf.

Auch auf Agar-Nährböden kann sich das watteartige Mycel bilden. Sigel und Sinden (1953) berichten von einem Sektor flauschigen Mycels, der in einer Kultur normalen Mycels auftrat. Auf Körner übertragen, zeigte das Mycel auch hier seinen flauschigen Wuchs. In dem mit der Körnerbrut gespickten Kulturbeet bildete sich „schwimmendes Mycel“.

Für die Erhaltung der Stämme ist die Frage wichtig, wie man die Bildung flauschiger Sektoren verhindern kann. Die folgende Arbeit befaßt sich mit diesem Problem.

B. Material und Methoden

1. *Stämme.* Für die Versuche wurden zwei eigene Einsporkulturen verwendet, deren Mycel flauschige Sektoren gebildet hatte. Der flauschige (*f*) sowie der normale Myceltyp (*n*) wurden getrennt gehalten. Bei den beiden Einsporkulturen handelt es sich um den weißen Stamm 4387 und den Stamm 1206, der Pilze mit blondem (hellbraunem) Hut hervorbringt.

2. *Nährböden.* Auf folgenden Nährböden wurden sowohl der flauschige als auch der normale Myceltyp fortlaufend kultiviert:

a) Biomalz-Agar (BM-A.) Rezept 1,5% Biomalz (Maltzin/Diamalt-AG, München) 2% Agar, Aqua dest. $\frac{1}{2}$ Std. sterilisieren. Der Nährboden wurde gewählt, da der Flauschtyp bei Massenanzucht des Mycels auf diesem Nährboden aufgetreten war

b) Kompost-Agar (Ko-A.) Rezept. 500 g gefrorenen Pferdemist-Kompost mit 2 l Aqua dest. im Starmix zerkleinern und danach mit 1,5% Agar verfestigen. Sterilisation an zwei aufeinanderfolgenden Tagen je 2 Std. Kompost-Agar wurde gewählt, da er im Gegensatz zu Biomalz-Agar dem Champignonmycel die gleichen Nährstoffe bietet wie das Ertragsbeet.

c) Kompost-Extrakt-Agar (Ko-E-A.) Rezept: 250 g pasteurisierten Pferdemist-Kompost mit 1 l Aqua dest. 2 Std. lang kochen. 24 Std. später die Flüssigkeit abgießen und mit 1,5% Agar verfestigen. 2 Std. sterilisieren. Ko-E-A. basiert wie Ko-A. auf Kompost, enthält jedoch nicht mehr die groben Bestandteile des Kompostes und ist darum leichter zu handhaben.

d) Weizen-Agar (Wei-A.) Rezept: 125 g Weizenkörner mit 4 l Aqua dest. 2 Std. lang kochen. 24 Std. später die Flüssigkeit abgießen und mit 2% Agar verfestigen. $\frac{1}{2}$ Std. sterilisieren. Der Nährboden wird viel bei uns verwendet.

e) Hafermehl-Agar (Ha-A.) Rezept nach Stoller (1962): 2,5% Hafermehl, 2% Agar, Aqua dest. $\frac{1}{2}$ Std. sterilisieren. Nach Stoller (1962) fördert dieser Nährboden die Flauschbildung.

f) Kartoffel-Dextrose-Hefe-Agar (Kt.-A.) Rezept nach Kneebone (pers. Mitteilung): 250 g gewaschene und in Scheiben geschnittene Kartoffeln in Aqua dest. weichkochen. Das Kochwasser abgießen, mit Aqua dest. auf 1 l auffüllen, zum Kochen bringen und 1% Dextrose, 0,15% Hefe-Extrakt und 1,5% Agar zufügen. $\frac{1}{2}$ Std. sterilisieren (das Rezept gibt $\frac{1}{4}$ Std. an). Der Nährboden wird in USA viel verwendet (Kneebone 1965, Bretzloff, Robbins and Curme 1962).

Alle Nährböden wurden bei 121 °C autoklaviert.

3. *Methoden.* Das Mycel wurde auf den Agar-Nährböden in Einmal-Petrischalen aus Polystyrol (\varnothing 85 mm) in je 5 Wiederholungen kultiviert. Jeweils zwei Wochen nach Beimpfung der Schalen wurde der Myceldurchmesser an der schmalsten und breitesten Stelle gemessen und das Aussehen des Mycels bonitiert. Zur Mycelvermehrung wurde die typischste Schale ausgewählt. Umgeimpft

wurde mit einem Korkbohrer von 4 mm Durchmesser, wobei das Mycel vom Rand der Kultur abgeimpft wurde. Die einzelnen Überimpfungen wurden als Teststufen bezeichnet. Die Ertragsprüfungen erfolgten nach dem Till-Verfahren (Huhnke, Lemke und v. Sengbusch 1965) in Plastikgefäßen mit je 2 kg Substrat. Zur Brutherstellung wurde das Mycel der typischsten 1–2 Schalen verwendet. Geerntet wurde 6–7 Wochen lang.

C. Ergebnisse bei fortlaufender Kultur auf Biomalz- bzw. Kompost-Agar

In Abb. 1 sind Schalen der 43. Teststufe zu sehen. Die Aufnahme zeigt nicht nur Kulturen, die 43 × auf Ko-A. bzw. BM-A. wuchsen, sondern auch Kulturen, die nach 42maliger Vorkultur auf BM-A. auf Ko-A. übergeimpft wurden und umgekehrt. Bei dem Flauschtyp von 4387 ist zwischen dem ständig auf BM-A. kultivierten Mycel und dem, das zuvor 42 × auf Ko-A. wuchs, ein großer Unterschied zu sehen (Abb. 1 rechts unten). Durchweg flauschig ist das Mycel nur in der ständig auf BM-A. gehaltenen Kultur. Dieser Unterschied trat auch in niedrigeren Teststufen auf, wie eine Abbildung der 23. Teststufe in einer früheren Veröffentlichung zeigt (Fritsche 1969). Daß das fädige Mycel nicht auf den Einfluß des Ko-Agars des Impfstückes zurückzuführen ist, wurde nachgewiesen. Das Mycel war auch dann teilweise fädig, wenn das Impfstück von BM-Agar stammte, die Kultur aber zuvor mehrmals nur auf Ko-A. gehalten worden war (Fritsche 1969). Auch in den Brutflaschen zeigte sich noch der Einfluß des Nährbodens. Die unteren Brutflaschen in Abb. 2 sind dicht flauschig durchsponnen. Das Mycel war 32 × bzw. 33 × auf BM-Agar kultiviert worden. Nur flauschige Sektoren zeigen die oberen Flaschen, deren Mycel lange Zeit auf Ko-Agar gewachsen war.

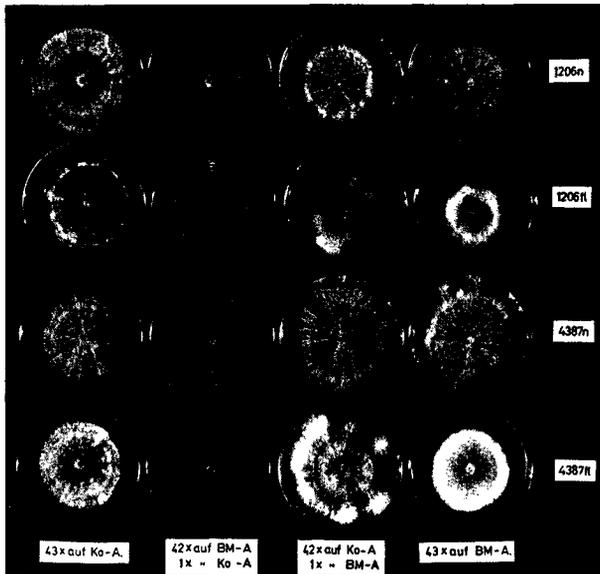


Abb. 1. Schalen der 43. Teststufe. Bei Angabe von zwei Nährböden, Mycel z. Z. auf dem an zweiter Stelle genannten Nährboden

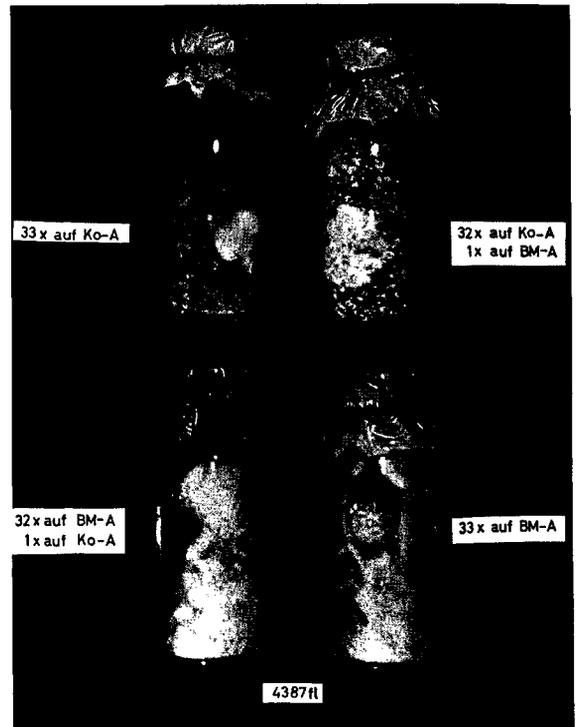


Abb. 2. Körnerbrutflaschen der 33. Teststufe. Auf den angegebenen Nährböden wuchs das Mycel vor der Brutherstellung

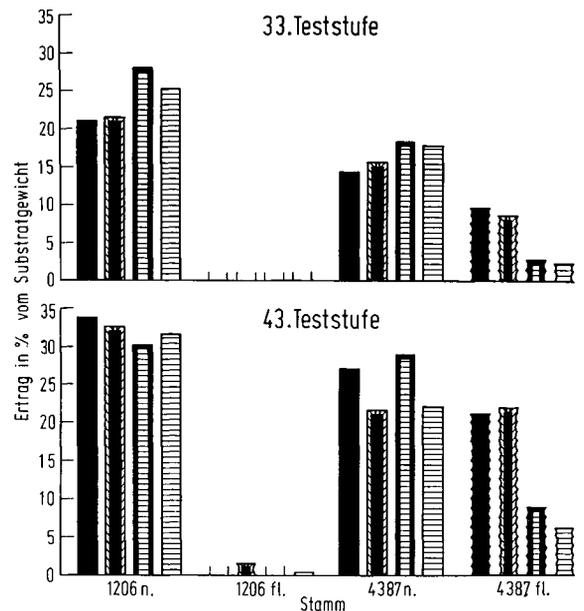


Abb. 3. Durchschnittliche Erträge der 33. und 43. Teststufe nach 6 Erntewochen. Prüfung in je 8 Gefäßen à 2 kg Substrat. gerade Säulen = normal fädiger Typ; gewellte Säulen = flauschiger Typ; schwarz = Kultur auf Kompost-Agar; gestreift = Kultur auf Biomalz-Agar.

Wenn ein Nährboden als Rand gezeichnet wurde, diente er nur unmittelbar vor der Brutherstellung zur Kultur

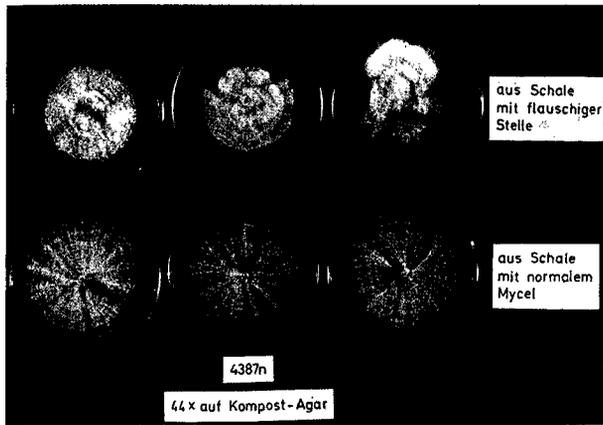


Abb. 4. Abimpfungen aus Schalen unterschiedlichen Myceltyps der 43. Teststufe

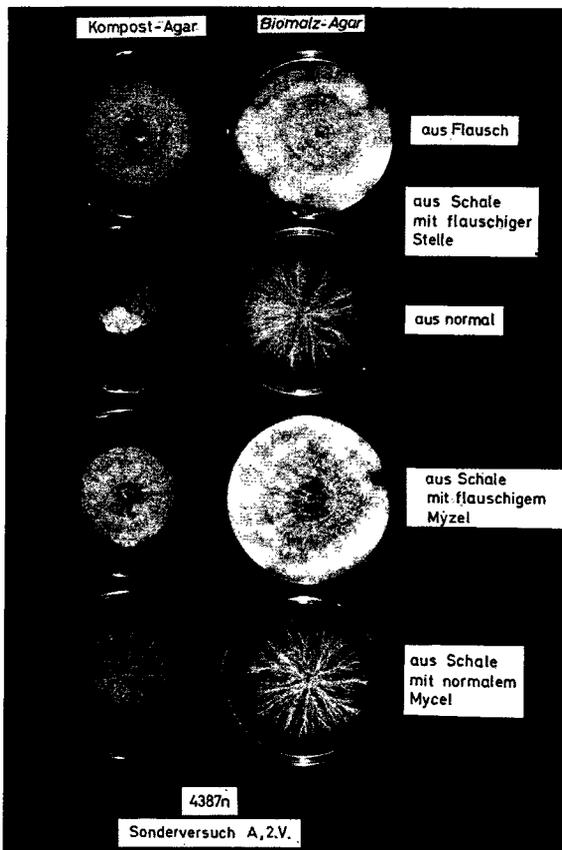


Abb. 5. Abimpfungen aus Schalen der Abb. 4. Die Mycele der obersten zwei Reihen stammen aus der Schale oben rechts in Abb. 4, die der Schalen darunter aus der Schale oben links in Abb. 4 und die der untersten Reihe aus einer der unteren Schalen der Abb. 4

Die verschiedenen Myceltypen wirkten sich im Ertrag aus. Abb. 3 zeigt in einer graphischen Darstellung die Erträge der 33. und 43. Teststufe. Es sind Mittelwerte von je 8 Gefäßen à 2 kg Substrat. Bei der blonden Einsporkultur 1206 hat der Flauschtyp fast keinen Ertrag gebracht. Bei der weißen

Einsporkultur 4387 haben dagegen von 4387 fl die $43 \times$ auf Ko-A. bzw. $42 \times$ auf Ko-A. und nur $1 \times$ auf BM-A. vorkultivierten Kulturen fast den selben Ertrag gebracht wie 4387 n. Die auf BM-A. vorkultivierten Kulturen fallen dagegen ab. Die Differenzen sind mit GD 0,1% sehr gut statistisch gesichert. Auch bei der 33. Teststufe besteht ein statistisch gesicherter Unterschied zwischen der Ertragsleistung von 4387 fl, je nachdem, ob es auf BM-A. oder Ko-A. vorkultiviert wurde. Allerdings wird hier von 4387 fl noch in keinem Fall die Ertragsleistung von 4387 n erreicht.

Die Ergebnisse deuten darauf hin, daß ständige Kultur auf Ko-A. den fädigen Myceltyp begünstigt und den flauschigen Myceltyp in der Entwicklung hemmt. Allerdings kann man diesen Einfluß nur bei 4387 erkennen.

Ständige Kultur auf Kompost-Agar gibt jedoch keine Gewähr, daß die Bildung flauschiger Sektoren unterbleibt. In einer von 5 Schalen der 4387 n, deren Mycel $43 \times$ auf Kompost-Agar kultiviert worden war, bildete sich in der Mitte flauschiges Mycel. Mycelvermehrungen aus dieser Schale zeigten wieder flauschige Sektoren (Abb. 4). Neben den flauschigen Stellen gab es Ringbildungen. Das ringförmig erscheinende Mycel auf Ko-A. ist aber ein typisches Merkmal des Flauschtyps (vgl. Abb. 1). Abimpfungen aus dem ringförmigen Mycel (Abb. 4 links oben) zeigten wieder konzentrische Ringe auf Ko-A. bzw. flauschiges Mycel auf BM-A. (Abb. 5, vorletzte Reihe). Die Abimpfungen aus der Schale, die eine große flauschige Stelle, aber sonst fädiges Mycel enthielt (Abb. 4 rechts oben), wuchsen je nach dem Ort der Entnahme flauschig oder normal (Abb. 5, die beiden obersten Reihen). Allerdings trat ein Flauschplacken auch dort auf, wo aus dem normal wachsenden Mycelteil der Schale abgeimpft wurde. Das aus den Schalen mit normalem Mycelwuchs entnommene Mycel wuchs durchweg normal (Abb. 5, untere Reihe). Das flauschige Mycel brachte einen geringeren Ertrag als das normale. Die Erträge der in Abb. 5 gezeigten Mycele betragen im \bar{x} von 8 Gefäßen (von oben nach unten reihenweise angegeben): 4,1, 26,5, 16,1 und 24,7% vom Substratfeuchtgewicht.

D. Ergebnisse bei fortlaufender Kultur auf vier anderen Nährböden

Wie sich das Mycel auf den vier Nährböden Ko-E-A., Wei-A., Ha-A. und Kt-A. verhält, veranschaulicht Abb. 6. Das Mycel war $38 \times$ auf Ko-A. bzw. BM-A. kultiviert worden und wächst bereits zum dritten Mal auf dem Nährboden, auf dem es sich z. Z. befindet. Trotzdem ist bei 4387 fl noch der Einfluß des Nährbodens der Vorkultur bei Kultur auf Ko-E-A., Wei-A. und Ha-A. zu erkennen. Dies wirkt sich auch im Ertrag aus, wie die graphische Darstellung der Abb. 7 zeigt. Es fällt auf, daß bei 4387 fl die auf Ko-A. vorkultivierten Mycele einen viel höheren Ertrag ge-

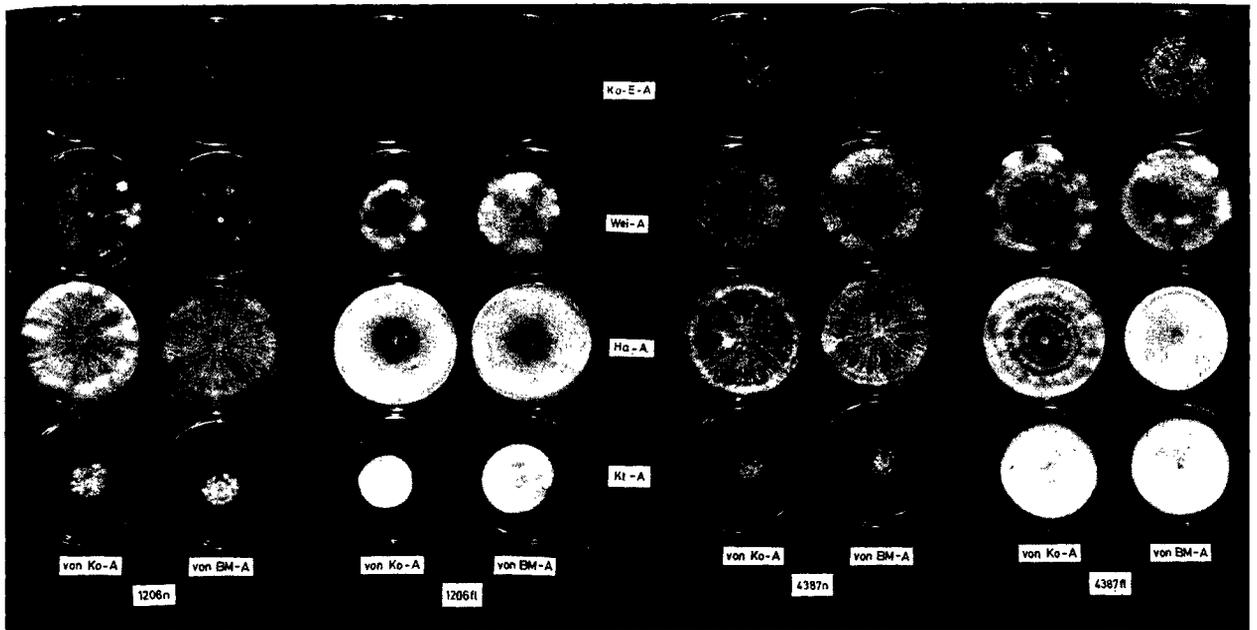


Abb. 6. Dreimalige Kultur auf den neben den Schalen angegebenen Nährböden. 38malige Vorkultur auf Kompost-Agar oder Biomalz-Agar (Angabe unter den Schalen)

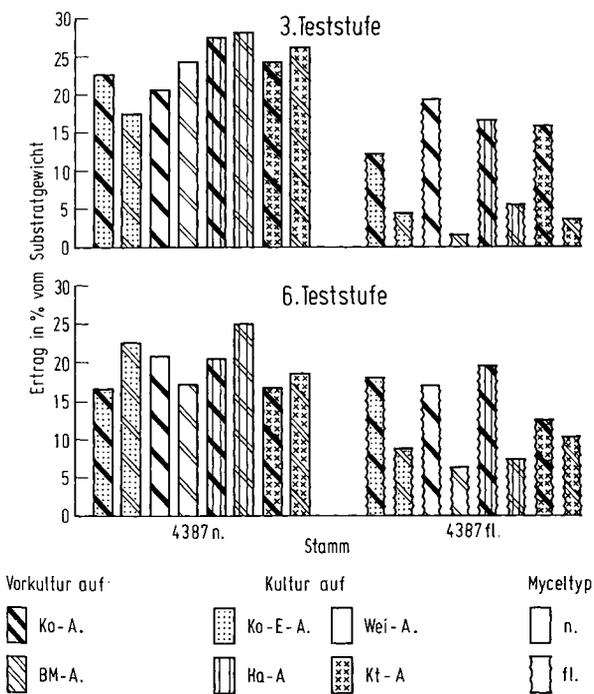


Abb. 7. Durchschnittliche Erträge der vor der Brutherstellung 3- bzw. 6 x auf den angegebenen Nährböden kultivierten Mycele. Die Vorkultur auf Ko-A. oder BM-A. umfaßte 38 Übertragungen. Prüfung in je 8 Gefäßen à 2 kg Substrat

bracht haben als die auf BM-A. vorkultivierten Mycele. Dies trifft nicht nur für Ko-E-A., Wei-A. und Ha-A. zu, sondern genauso für Kt-A. und zeigt sich nicht nur in der 3., sondern mit Ausnahme des Kt-A. sogar noch in der 6. Teststufe. Die Differenzen

sind sehr gut bzw. in einem Falle gut statistisch gesichert. Die einzige Ausnahme ist die Kultur auf Kt-A. in der 6. Teststufe.

Obwohl der Flauschtyp auf Ha-A. besonders typisch wächst, kann man keinen ertragssenkenden Einfluß dieses Nährbodens feststellen. Man kann auch nicht sagen, daß einer der vier Nährböden einen besonders günstigen oder ungünstigen Einfluß auf die Ertragshöhe hat. Dies gilt auch für die Einsporkultur 1206, bei der der Flauschtyp meist keinen Ertrag gebracht hat.

E. Schlußfolgerungen und Diskussion

Ein Einfluß des Nährbodens auf den Myceltyp ist unverkennbar, wenn auch auf keinem der verwendeten Nährböden die Bildung flauschigen Mycels mit Sicherheit unterblieb. Kompost-Agar hatte in allen Fällen einen positiven Einfluß auf 4387 fl, indem das Mycel bei fortlaufender Kultur auf diesem Nährboden vom dichtflauschigen zum fädigen Myceltyp wechselte und der Ertrag stieg (Abb. 1-3, 6+7). Selbst wenn das Mycel mehrmals auf einem anderen Nährboden kultiviert worden war, zeigte sich noch der positive Einfluß des zur Vorkultur benutzten Kompost-Agars. Eine mögliche Erklärung für diese Erscheinung ergibt sich aus den Kernverhältnissen beim Kulturchampignon. Die Zellen enthalten eine unterschiedliche Anzahl von haploiden Kernen, die sich unabhängig voneinander und von der Zellwandbildung teilen (Kligman 1943). Auf Kompost-Agar könnten die Kerne mit den Genen für „Flauschbildung“ in ihrer Teilungsrate gegenüber den anderen Kernen benachteiligt sein. In diesem Zusammenhang

ist interessant, daß viele Schädlinge an Virulenz einbüßen, wenn sie längere Zeit auf einem künstlichen Nährboden kultiviert werden. So sind Polyporaceen, die in den Stämmen lebender Bäume parasitieren, z. B. *Fomes igniarius* (L.) Gill., der Feuerschwamm auf Apfelbäumen usw., und *Fomes fomentarius* (L.) Gill., der Erreger einer Weißfäule auf Buchenstämmen, parasitisch erfolgreicher, wenn sie auf Holz der ihnen zusagenden Bäume vorkultiviert werden, statt auf Brot oder auf Agar (Gros Jean 1942, nach Gäumann 1954). Kompost-Agar ist für den Kulturchampignon der Nährboden, der dem zur Fruchtkörperbildung verwendeten Substrat am nächsten steht.

Aber auch Kompost-Agar ist kein Substrat, das die Bildung flauschiger Sektoren mit Sicherheit verhindert. Das zeigt das Auftreten eines flauschigen Sektors nach 43maliger Kultur auf Kompost-Agar. Eine ständige Kontrolle des Mycels und Ausmerzungen aller Kulturen mit flauschigen Sektoren ist darum unerlässlich. Die alleinige Vermehrung der fädigen Mycelteile ist ein gewisser Schutz vor Entartung in den Flauschtyp. In den vorliegenden Versuchen konnte der fädige Myceltyp über eine 43malige Vermehrung durch Teilung erhalten bleiben, obgleich er aus einer Kultur stammte, die flauschige Sektoren gebildet hatte. Ein die Flauschbildung hemmender Einfluß des Kompost-Agars war nur bei einem der beiden Stämme, nämlich dem weißen, zu finden. Der blonde Stamm 1206 blieb völlig unbeeinflusst. Obgleich demnach nicht alle Stämme positiv auf Kompost-Agar-Kultur reagieren, sollte man den möglichen positiven Einfluß dieses Nährbodens nutzen und bei der Erhaltungszüchtung ständig oder auch nur vorübergehend diesen Nährboden benutzen. Kompost-Agar läßt sich nur in Reagenzröhrchen füllen, wenn er noch sehr heiß ist. Wir füllten den Nährboden nach der ersten zweistündigen Sterilisation in Röhrchen von 180×20 mm Größe ab. Die eingefüllte Menge betrug je Röhrchen nur etwa 7 ml. Nach dem zweiten zweistündigen Autoklavieren am nächsten Tag müssen die Röhrchen gründlich geschüttelt werden, ehe sie zur Erzielung einer großen Oberfläche schräg gelegt werden. Andernfalls bleibt das Substrat am Grunde der Röhrchen und dem Mycel steht vorwiegend nur Wasser-Agar zur Verfügung. Um möglichst lange dasselbe Material verwenden zu können, sollte man den pasteurisierten Kompost in Polybeutel füllen und einfrieren. Bei Bedarf können

jederzeit kleine Mengen dieses Vorrates entnommen werden.

F. Zusammenfassung

In der Arbeit geht es um die Frage, ob der Nährboden die Entwicklung eines bestimmten Myceltyps beeinflusst. Es handelt sich dabei um den unerwünschten stark flauschigen Typ, der zu Ertragsdepressionen führt. Die Versuche wurden mit zwei verschiedenfarbigen Stämmen, von denen jeweils der Flauschtyp und der Normaltyp vorlagen, und sechs Nährböden durchgeführt. Es wurde ein nachhaltig günstiger Einfluß des Kompost-Agars beobachtet, der allerdings nur beim flauschigen Typ des weißen Stammes in Erscheinung trat. Auch zeigten die Versuche, daß man den flauschigen und den fädigen Typ bis zu einem gewissen Grad von einander getrennt halten kann, wenn man bei der Vermehrung des Mycels durch Teilung stets nur den gewünschten Typ vermehrt.

Für ihre gute Assistenz möchte ich Fräulein Christl Weiß und Fräulein Jutta Klinckmann vielmals danken. Herrn Konrad Engelhardt sei für die Aufnahmen gedankt.

Literatur

1. Bretzloff, C. W., Robbins, W. A., Curme, J. H.: Observations on multispore isolates from the cultivated mushroom *Agaricus bisporus* (Lange) Sing. Mushroom Science **V**, 188–196 (1962).
2. Fritsche, Gerda: Untersuchungen des Nährbodeneinflusses auf verschiedene Mycelformen des Kulturchampignons. Mushroom Science **VII**, 515–529 (1969).
3. Gäumann, E.: Pflanzliche Infektionslehre. Basel: Birkhäuser Verlag 1951.
4. Huhnke, W., Lemke, G., Sengbusch, R. v.: Die Weiterentwicklung des Tillschen Champignon-Kulturverfahrens auf nicht kompostiertem sterilem Nährsubstrat (Zweite Phase). Die Gartenbauwissenschaft **30**, 189–207 (1965).
5. Hunte, Wilhelm: Champignonanbau im Haupt- und Nebenerwerb. Berlin–Hamburg: Verlag Paul Parey 1966.
6. Kindt, V.: Praxis des Champignonanbaues. Berlin: VEB Deutscher Landwirtschaftsverlag 1960.
7. Kligman, A. M.: Some cultural and genetic problems in the cultivation of the mushroom *Agaricus campestris*. Am. J. Bot. **30**, 745–762 (1943).
8. Kligman, A. M.: Handbook of Mushroom Culture. Published by J. B. Swayne, Kennet Square, Pa., USA (1950).
9. Kneebone, L. R.: Spawn Research at the Pennsylvania State University. Mushroom Science **VI**, 265–281 (1965).
10. Kneebone, L. R.: Persönliche Mitteilung.
11. Lambert, E. B.: Improving Spawn Cultures of the Cultivated Mushroom. Mushroom Science **IV**, 33–51 (1959).
12. Sigel, Edith M., Sinden, James W.: Variations in cultures made from the strain of mushrooms used at the Butler County Mushroom Farm, Inc. Mushroom Science **II**, 65–68 (1953).
13. Stoller, B. B.: Some practical aspects of making mushroom spawn. Mushroom Science **V**, 170 to 184 (1962).

Eingegangen 29. Juni 1970

Angenommen durch W. Seyffert

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