

Karyologische Untersuchungen an Pilzen mittels Fluoreszenzmikroskopie

A. BRESINSKY, B. WITTMANN-MEIXNER, E. WEBER und M. FISCHER

Institut f. Botanik, Universität Regensburg
Postfach 397, D-8400 Regensburg

Eingegangen am 12. Mai 1987

A. Bresinsky, B. Wittmann-Meixner, E. Weber und M. Fischer (1987) – Karyological investigations in fungi by means of fluorescence microscopy. *Z. Mykol.* 53(2): 303–318.

Key Words: Fluorescence microspectrophotometry – relative DNA content – ploidy levels.

Abstract: The fluorescence microspectrophotometric examination of various fungi (Ascomycetes, Basidiomycetes) shows stability of the relative DNA content of nuclei within different strains and varieties; there are, however, significant differences between species of a genus and genera of an order. The applied method apparently is appropriate for the determination of karyological differences between species. Ploidy levels are discussed.

Zusammenfassung: Bei der fluoreszenzmikrospektrophotometrischen Untersuchung von verschiedenen Pilzen (Ascomyceten, Basidiomyceten) zeigt sich eine Konstanz der relativen Kern-DNA-Gehalte bei verschiedenen Stämmen und Varietäten der gleichen Art, jedoch deutliche Unterschiede bei verschiedenen Arten einer Gattung und verschiedenen Gattungen einer Ordnung. Die angewendete Methode ist offenkundig geeignet, karyologische Unterschiede zwischen den Arten zu erfassen. Es werden Ploidiestufen diskutiert.

In der Systematik und Taxonomie spielt die Kenntnis der Chromosomenzahlen eine bedeutende Rolle. Im Bereich der höheren Pflanzen haben karyologische Analysen unsere Kenntnis über Differenzierung und Evolution der Sippen ergänzt (Davis & Heywood, 1963). Bei den Pilzen sind Chromosomenzahlen nur vereinzelt ermittelt worden, da sich hier Chromosomen im Verlaufe der Kernteilung wenig scharf individualisieren und mit den üblichen Färbeverfahren bzw. mikroskopischen Techniken schlecht darstellen lassen. Als Beispiele für Chromosomenzählungen bei Pilzen sind zu nennen: *Achlya* (Win & Dick, 1975), *Agaricus campestris* (Evans, 1956; Hughes, 1961), *Allomyces* (Wilson, 1952), *Coniophora puteana* und *C. arida* (Kemper, 1937), *Cyathus* (Lu & Brodie, 1962), *Morchella deliciosa* (Wakayama, 1930), *Neurospora* (McClintock, 1945; Fincham, 1949; Singleton, 1953; Raju, 1986), *Physarum polycephalum* (Mohberg & al., 1973), *Pleurotus eryngii* (Slézec, 1984), *Pythium* (Win & Dick, 1975), *Saccharomyces cerevisiae* (Schwartz & Cantor, 1984), *Schizosaccharomyces pombe* (Robinson, 1977; Kohli & al., 1977), weitere Ascomyceten (Heim, 1952), weitere Basidiomyceten (Olive, 1953; Wakayama, 1930, 1932; Heim, 1954). Die Chromosomenzählungen erfolgten von wenigen Ausnahmen abgesehen [Schwartz & Cantor, 1984: mittels Gelelektrophorese ("pulsed field gel electrophoresis"), Slézec, 1984: elektronenmikroskopisch bzw. Kohli & al., 1977: genetisch durch

Kopplungsgruppen abgesichert] ausschließlich lichtmikroskopisch nach vorausgehender Haematoxylin- bzw. Feulgenfärbung, letztere in den verschiedensten Varianten. Sie sind daher oftmals mit großer Vorsicht zu betrachten.

Für eine routinemäßige Feststellung der Chromosomenzahl bei Pilzen kommen diese Verfahren aus verschiedenen Gründen jedoch nicht in Betracht. Es mußte daher nach einer anderen Methode gesucht werden, um karyologische Unterschiede wenigstens indirekt zu erfassen. Als solche kommt vor allem die quantitative Bestimmung des DNA-Gehaltes der Zellkerne als Hilfsmittel für die Feststellung der Ploidiestufe in Betracht. Ausgehend von einem Referenzorganismus naher Verwandtschaft, bei dem die tatsächliche Chromosomenzahl und die DNA-Menge bekannt waren, konnte aufgrund der relativen DNA-Menge eine mögliche Chromosomenzahl für die übrigen Arten errechnet werden.

In der Vergangenheit hat sich hierbei u. a. die Methode der Feulgen-Absorptionsmikrospektrophotometrie auch für Untersuchungen an Pilzen als nützlich erwiesen. Peabody & al. (1978, 1984) verglichen damit die relativen Kern-DNA-Gehalte verschiedener Stadien im Lebenszyklus von *Armillaria mellea*. Motta (1985) fand aufgrund der Unterschiede im Kern-DNA-Gehalt zwischen zwei geographisch isolierten Stämmen von *Armillaria mellea* weitere Anhaltspunkte dafür, daß der *Armillaria mellea*-Komplex eine Gruppe eng verwandter, aber genetisch verschiedener Arten darstellt. Williams & Menden (1975) beobachteten in den Uredosporen von monokaryotischen Stämmen von *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* diploide, in denen des dikaryotischen Elternstammes haploide Kerne. Besondere Aufmerksamkeit wurde auch den Kern-DNA-Gehalten verschiedener Stadien der Myxomyceten *Didymium iridis* und *D. nigripes*, sowie *Echinostelium minutum* geschenkt (Therrien, 1966; Yemma & Therrien, 1972; Therrien & Yemma, 1974; Collins & Therrien, 1976; Haskins & Therrien, 1978). Valla (1984) beobachtete einen Wechsel im Kern-DNA-Gehalt in apikalen und interkalaren Abschnitten des wachsenden Mycel von *Polyporus arcularius*.

Neuerdings wird diese zeitaufwendige, konventionelle Feulgen-Kernfärbemethode mehr und mehr durch fluorometrische Methoden abgelöst. Neue Farbstoffe mit hoher DNA-Spezifität wurden entwickelt. Unter diesen sind zwei Fluorochrome, 4',6-Diamidino-2-phenylindol (DAPI) und Mithramycin, die hohe DNA-Spezifität mit intensiver Fluoreszenz vereinen. Peabody & Peabody (1986) nutzten die DAPI-Färbung mit anschließender Fluoreszenzmikrospektrophotometrie, um anhand von drei Stadien im Lebenszyklus von *Armillaria bulbosa* zu überprüfen, ob ein Zusammenhang zwischen Kernvolumen und relativem Kern-DNA-Gehalt besteht. Motta & al. (1986) verglichen mit dieser Methode die relativen Kern-DNA-Gehalte von verschiedenen Arten von *Armillaria* (*A. mellea* und *A. bulbosa*) und diskutierten Ploidiestufen innerhalb der Gattung. Franklin & al. (1983) gelang es, mit Hilfe von Mithramycin die angenommene vegetative Diploidie in *Armillaria mellea* zu bestätigen. Anderson & al. (1985) verglichen auf diese Weise Mutanten diploider Stämme von *Armillaria mellea* bezüglich ihres relativen Kern-DNA-Gehaltes.

Als Beispiele für die Anwendung dieser Methode auch im Bereich der höheren Pflanzen sind die Arbeiten von Geber & Hasibeder (1980) und Berlyn & al. (1987) zu nennen.

Material und Methoden

Herkunft der Kulturstämme

Basidiomyceten: Fam. *Contiophoraceae* (*Boletales*) (Herkunft siehe Besl & al., 1986): *Contiophora arida* (Fr.) Karst. var. *arida* – *Contiophora arida* var. *suffocata* (Peck) Ginns – *Contiophora marmorata* Desm. – *Contiophora puteana* (Fr.) Karst. – *Contiophora olivacea* (Pers.) Karst. – *Jaapia argillacea* Bres. – *Leucogyrophana arizonica* Ginns – *Leucogyrophana mollusca* (Fr.) Pouz. – *Leucogyrophana olivascens* (Berk. & Curtis) Ginns & Weresub – *Leucogyrophana pinastri* (Fr.) Ginns & Weresub – *Leucogyrophana romellii* Ginns – *Serpula himantoides* (Fr.) Karst. – *Serpula incrassata* (Berk. & Curtis) Donk – *Serpula lacrymans* (Wulf.: Fr.) Karst.;

Gattung *Pleurotus* (Herkunft siehe Bresinsky & al., 1987): *Pleurotus calypttratus* (Lindbl. ap. Fr.) Sacc. – *Pleurotus cornucopiae* (Paul: Pers.) Roll. – *Pleurotus cystidiosus* O. K. Miller – *Pleurotus dryinus* (Pers.: Fr.) Kummer – *Pleurotus eryngii* var. *eryngii* (DC: Fr.) Quéf. – *Pleurotus eryngii* var. *ferulae* Lanzì – *Pleurotus eryngii* var. *nebrodensis* (Inzengo) Sacc. – *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kummer – *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quéf. – *Pleurotus salmoneostramineus* Vas.;

Gattung *Phellinus* (Herkunft siehe Fischer, 1987): *Phellinus chrysoloma* (Fr.) Donk – *Phellinus conchatus* (Fr.) Quéf. – *Phellinus ferruginosus* (Schrad.: Fr.) Pat. – *Phellinus hartigii* (Allesch. & Schnabl) Bond. – *Phellinus hippophaecola* Jahn – *Phellinus igniarius* (L.) Quéf. – *Phellinus laevigatus* (Fr.) Bourd. & Galz. – *Phellinus nigrolimitatus* (Romell) Bourd. & Galz – *Phellinus pini* (Brot.: Fr.) Ames – *Phellinus ossatus* Fischer – *Phellinus pomaceus* (Pers.) Maire – *Phellinus populicola* Niemelä – *Phellinus punctatus* (Fr.) Pilát – *Phellinus robustus* (P. Karst.) Bourd. & Galz. – *Phellinus torulosus* (Pers.: Pers.) Bourd. & Galz. – *Phellinus tremulae* (Bond.) Bond. & Borisov. – *Phellinus viticola* (Schw.: Fr.) Donk; Gattung *Inonotus* (Herkunft siehe Fischer, 1987): *Inonotus hastifer* Pouz. – *Inonotus nodulosus* (Fr.) P. Karst. – *Inonotus obliquus* (Pers.: Fr.) Pilát – *Inonotus radiatus* (Sow.: Fr.) P. Karst.

Ascomyceten: *Morchella esculenta* Pers.: St. Amans, II, Burggriesbach, 1985; I2, Burggriesbach, 1985; I3, Augsburg, 1986; I4, Maisach, 1986; I5, Landshut, 1986. – *Morchella conica* Pers., III, Augsburg, 1980; II2, Augsburg, 1983; II3, Augsburg, 1979; II5, Augsburg, 1986; II6, Augsburg, 1986; II7, Pettendorf, 1986. – *Mitrophora semilibera* (DC: Fr.) Lév., M1, Burgweinting, 1985; M2, Augsburg, 1986; M3, Burgweinting, 1986. – *Verpa conica* Swartz: Pers. Augsburg 1986. – *Ptychoverpa bohemica* (Krombholz) Boud. Augsburg, 1986. – *Sarcoscypha austriaca* (Beck: Sacc.) Boud., S1, Apfeldorf, 1986; S2, NP Berchtesgaden, 1986. – *Galiella rufa* (Schw.) Nannf. & Korf., USA, North Carolina, 1986.

Herkunft der Pilzfruchtkörper

Basidiomyceten: *Gomphidius roseus* (L.) Fr., Abensberg, 1985. – *Amanita citrina* (Schff.) S. F. Gray, Bergmatting 1984; USA, North Carolina, 1986. – *Amanita muscaria* (L.) Pers., Rothenbügel, 1984; USA, North Carolina, 1986. – *Albatrellus cristatus* (Schaeff.: Fr.), Puppling 1985; USA, North Carolina, 1986. – *Clitocybe clavipes* (Pers.: Fr.) Kummer, Oberwarmersteinach, 1985; USA, North Carolina, 1986. – *Dermocybe semisanguinea* (Fr.) Mos., Rothenbügel, 1984; USA, North Carolina, 1986. – *Rozites caperatus* (Pers.: Fr.) Karst., Bergmatting, 1984; USA, North Carolina, 1986. Das nordamerikanische Material befindet sich im Herbarium München.

Ascomyceten: *Morchella esculenta* Pers.: St. Amans, Burggriesbach, 1985. – *Morchella conica* Pers., Pettendorf, 1986. – *Mitrophora semilibera* (DC: Fr.) Lév., Burgweinting 1986. – *Verpa conica* Swartz: Pers., Augsburg, 1986. – *Ptychoverpa bohemica* (Krombholz) Boud., Augsburg, 1986. – *Gyromitra esculenta* (Pers.) Fr., Abensberg, 1985. – *Gyromitra infula* (Schaeff.: Pers.) Quéf., NP Bayerischer Wald, 1986. – *Helvella crispa* Fr., Regensburg, 1986. – *Helvella lacunosa* Afz.: Fr., Regensburg, 1986. – *Leptopodia elastica* (Bull.: St. Amans) Boud., Frauenberg, 1986. – *Peziza avernensis* Boud., Greifenberg, 1986. – *Peziza badia* Pers.: Mérat, NP Bayerischer Wald, 1986. – *Otidea onotica* (Pers.) Fuckel, Hirschau, 1986. – *Otidea cf. umbrina* (Pers.) Bres., Hirschau, 1986. – *Tarzetta catinus* (Holmsk.: Fr.) Korf & J. K. Rogers, Mooshof, 1986. – *Scutellinia scutellata* (L.: St. Amans) Lambotte, NP Berchtesgaden, 1986. – *Aleuria aurantia* (Fr.) Fuckel, Hirschau, 1986. – *Sarcoscypha austriaca* (Beck: Sacc.) Boud., NP Berchtesgaden, 1986. – *Dasyscyphus virgineus* S. F. Gray, NP Berchtesgaden, 1986. – *Dasyscyphus controversus* (Cooke) Rehm, NP Berchtesgaden, 1986. – *Dasyscyphus clandestinus* (Bull.: Mérat) Fuckel, NP Berchtesgaden, 1986. – *Dasyscyphus bicolor* (Bull.: Mérat) Fuckel, NP Berchtesgaden, 1986. – *Lachnellula suecica* (de Bary: Fuckel) Nannf., NP Berchtesgaden, 1986. – *Lachnellula calyciformis* (Willd.: Fr.) Dharne, NP Berchtesgaden, 1986.

Die aus dem NP Berchtesgaden stammenden Funde wurden von Dr. Schmid-Heckel bestimmt; das Belegmaterial befindet sich im Herbarium München.

Zur Messung der relativen Kern-DNA-Gehalte wurden die Fluorochrome DAPI und Mithramycin (letzteres nur bei den Gattungen *Gomphidius*, *Phellinus* und *Inonotus*) verwendet. DAPI bindet bevorzugt an AT-reiche Sequenzen von doppelsträngiger DNA (Coleman & al., 1981), Mithramycin hingegen besitzt eine ausgesprochene Basenspezifität für Guanin (Ward & al., 1965; Johannisson & Thorell, 1977). Unter bestimmten Voraussetzungen ist die Fluoreszenz der fluorochromgefärbten DNA proportional zur DNA-Menge. Es muß die Vergleichbarkeit der GC-Werte (Storck & Alexopoulos, 1970; Jahnke & Bahnweg, 1986) sowie des Gehaltes an repetitiver DNA (Dutta, 1974) gewährleistet sein. Durch Verwendung eines internen Standards werden Schwankungen im Färbeprozess ausgeglichen (Sukhraj & al., 1977).

Mycelkulturen sind nach der Methode von Van Uden (1951) auf Objektträgern herangezogen worden. Fruchtkörperstücke wurden auf Objektträgern gut gequetscht. Die Objektträger wurden für 30 min bei 60° C auf einer Trockenbank getrocknet und anschließend in Ethanol/Eisessig (3:1) 15 min lang fixiert. Vor und nach der Färbung (Färbelösung: 0.5 µg/ml DAPI (SERVA), gelöst in McIlvaines Puffer 0.1 M Citrat (C₆H₈O₇ · x H₂O)/0.2 M Na₂HPO₄ · x 2 H₂O (1:5.66) (pH 7.0), 15 min, bei 37° C) wurden sie in McIlvaines Puffer (pH 7.0) 15 bzw. 7 min lang gewaschen. Bei der Mithramycin-Färbung wurden die hitzefixierten Objektträger 10 min in Carnoy (Ethanol/Eisessig/Chloroform, 6:1:3) fixiert und anschließend in H₂O bidest. (1x) bzw. Sörensen 0.66 M KH₂PO₄/0.66 M Na₂HPO₄ (1:1.56) Puffer (pH 7.0) (2x) je 5 min gewaschen. Die Färbung (Färbelösung: 62 µg Mithramycin (SERVA) + 3 mg MgCl₂/ml Sörensen) erfolgte 1h bei Raumtemperatur.

Für die DNA-Messungen wurde ein ZEISS Forschungsmikroskop Universal, ergänzt durch den Fluoreszenzauflichtkondensator III RS und ein ZEISS Mikroskopphotometer 03 benutzt. Verwendete Filtersätze a) 487701 für DAPI: Erregerfilter BP 365/11, Farbteiler FT 395, Sperrfilter LP 397 und zusätzlich Kurzpaßfilter KP 500; b) 487707 für Mithramycin: Erregerfilter G 436, Farbteiler FT 510 und Sperrfilter LP 520.

Außer der Fluoreszenz des Fluorochrom-DNA-Komplexes wurde bisweilen eine Eigenfluoreszenz von Zellinhalt und Zellwänden festgestellt. Diese störende Hintergrundfluoreszenz dürfte besonders durch Ergosterin hervorgerufen werden und kann mitunter die Kern-DNA-Messungen beeinträchtigen. Als Referenz (interner Standard) bei vergleichenden Messungen wurde *Pleurotus pulmonarius*-Mycel unseres Kulturstammes S2, bzw. Teststämme des jeweiligen Verwandtschaftskreises verwendet (Ascomyceten: *Morchella esculenta*; Boletales: *Contiophora olivacea*), die wiederum auf *Pleurotus pulmonarius* S2 durch vergleichende Messung bezogen werden können. Da der DNA-Gehalt während des mitotischen Zyklusses den doppelten Betrag eines zuzuordnenden Grundwertes erreicht, müssen für vergleichende Messungen vorzugsweise Bereiche des Pilzmycels verwendet werden, deren Kernteilungsaktivität sehr gering ist.

Ergebnisse und ihre Diskussion

A) Untersuchungen von Zellkernen innerhalb eines gegebenen Pilzmycels

Bei dem Ascomyceten *Morchella esculenta* I1 wurden Einspormycelien mit vielkernigen Hyphenabschnitten über einen Zeitraum von bis zu 34 Tagen nach Auskeimen aus der Spore untersucht. Der relative DNA-Gehalt der Zellkerne blieb vom ersten bis zum 34. Tag konstant. Ebenso hatte ein gegebener Fruchtkörper dieser Art denselben Kern-DNA-Gehalt.

In der Computerauswertung einer Meßreihe ergibt sich sehr häufig eine Verteilungskurve mit zwei Gipfeln, wobei der zweite stets sehr viel kleiner als der erste ist (siehe Abb. 1).

1C-Kerne (haploide Interphasekerne) machen den überwiegenden Anteil aller gemessenen Kerne aus (erster Gipfel). Dem stehen die 2C-Kerne gegenüber, die sich offenbar kurz vor oder in Teilung befinden (G₂-Phase bzw. M-Phase) und dadurch den doppelten relativen DNA-Gehalt aufweisen (zweiter Gipfel). Sie liegen hauptsächlich in den Hyphenspitzen und werden für vergleichende DNA-Messungen vernachlässigt. (4C-Kerne wurden nicht gefunden, was darauf schließen läßt, daß bei *Morchella* unter den gewählten Kulturbedingungen sich mitotisch teilende endodiploide Kerne nicht vorkommen).

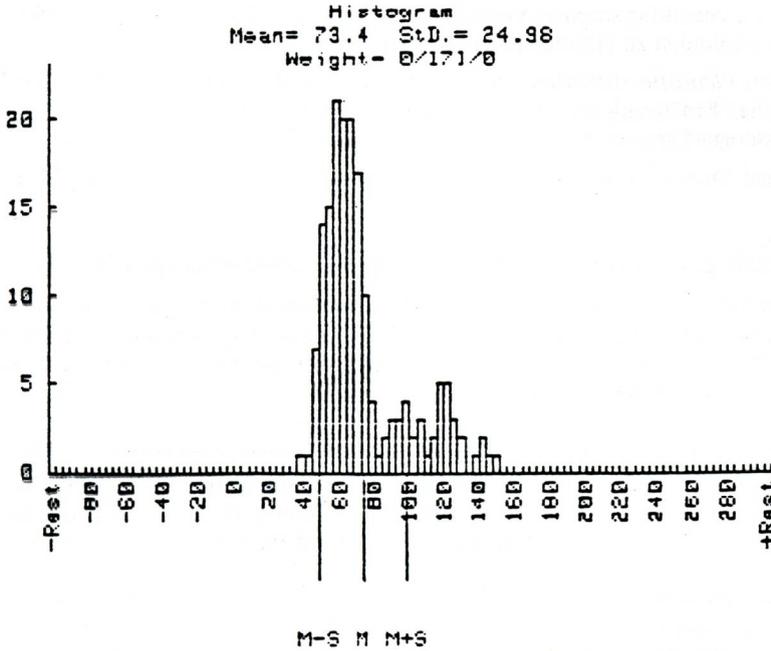


Abb. 1: Statistische Auswertung der Meßergebnisse (*Morchella esculenta*)
Fig. 1: Statistical interpretation of the results of measurement (*Morchella esculenta*)

Für vergleichende Untersuchungen ist es also sehr wichtig, haploide Interphasekerne einerseits von Mitose vollziehenden Kernen, andererseits von endodi(poly)ploiden Kernen, und diese wiederum von Fusionskernen zu unterscheiden. Um diesem Ziel näher zu kommen, wurden in einzelnen dikaryotischen Mycelien (Basidiomyceten) die relativen DNA-Werte der Kerne ganzer Hyphenabschnitte mit ihren Seitenzweigen gemessen. Das Ziel solcher Untersuchungen war, festzustellen, in welchen Bereichen die größte Kernteilungsaktivität vorhanden ist bzw. in welchen Teilen des Hyphensystems Endopolyloidie vorkommt. So zeigten die dikaryotischen Mycelien aller untersuchten Vertreter der Gattungen *Serpula* und *Leucogyrophana* in den zentralen Stammhyphen (je Zelle zwei) Kerne mit doppeltem DNA-Wert, während die Zellen junger Hyphenäste zwei Kerne mit einfachem DNA-Wert besaßen. In einem gegebenen Zellabschnitt war die Kernphase der beiden Kerne eines Kernpaares stets gleich (vgl. Meixner & Bresinsky, 1987). Im Übergangsbereich zwischen haploiden und diploiden Kernen wurden Kerne im „Zwillingsstadium“ beobachtet. Diese lassen sich nach Thielke (1973) als Telophasenkerne deuten. Anstatt sich zu teilen, verschmelzen die Teile des Zwillingsstadiums zu einem endodiploiden Kern.*

* Endoploidie entsteht definitionsgemäß (Geitler, 1953) durch wiederholte DNA-Synthese ohne nachfolgende mitotische Chromosomensegregation. Es muß einstweilen als fraglich erscheinen, ob der Begriff Endoploidie hier in diesem Sinne angewendet werden darf.

Aufgrund des charakteristischen Verhaltens der gepaarten haploiden Kerne ließ sich eine Fusion von haploiden zu diploiden Kernen ausschließen.

Im Falle von *Pleurotus ostreatus* konnte die erwartete Konstanz des DNA-Wertes bei unterschiedlicher Ernährung des Mycels [Moser b (M o s e r , 1958), Malzagar (A e b i , 1972), Wasseragar] gezeigt werden.

Verschiedene Monokaryen eines Pilzstammes (*Pleurotus ostreatus*) wiesen gleiche DNA-Werte auf.

B) Untersuchungen von verschiedenen Stämmen und Varietäten der gleichen Art

Der relative DNA-Gehalt vergleichbarer Zellkerne erwies sich bei unterschiedlichen Stämmen und verschiedenen geographischen Herkünften einer Art im Rahmen der untersuchten Beispiele als sehr konstant. Diese Schlußfolgerung ergab sich aus Untersuchungen verschiedener Verwandtschaftskreise.

Stamm		Anzahl der gemessenen Kerne	Fluoreszenzintensität (Mittelwert)	Variationskoeffizient (%)
<i>Morchella esculenta</i>	I1	60	70	9,6
<i>Morchella esculenta</i>	I2	60	71	10,7
<i>Morchella esculenta</i>	I3	60	66	12,1
<i>Morchella esculenta</i>	I4	40	72	7,4
<i>Morchella esculenta</i>	I5	40	64	11,7
<i>Morchella conica</i>	II1	60	67	11,9
<i>Morchella conica</i>	II2	40	66	10,8
<i>Morchella conica</i>	II3	40	67	11,5
<i>Morchella conica</i>	II5	60	75	9,9
<i>Morchella conica</i>	II6	60	73	8,9
<i>Morchella conica</i>	II7	40	72	9,2
<i>Mitrophora semilibera</i>	M1	60	71	10,7
<i>Mitrophora semilibera</i>	M2	140	70	11,0
<i>Mitrophora semilibera</i>	M3	40	67	8,5
<i>Sarcoscypha austriaca</i>	S2	120	49	10,4
<i>Sarcoscypha austriaca</i>	S2	80	49	7,6

Tabelle 1: Fluoreszenzintensitäten (= relativer DNA-Gehalt; in relativen Einheiten) bei verschiedenen Stämmen einiger Ascomycetenarten. Variationskoeffizient = (Standardabweichung x 100 %): Mittelwert. Verwendetes Fluorochrom: DAPI. Interner Standard: *Morchella esculenta* I1.

Table 1: Fluorescence intensities (= relative DNA content; in arbitrary units) in various strains of some species of Ascomycetes. Coefficient of variation = (standard deviation x 100 %): mean. Fluorochrome, used: DAPI. Internal standard: *Morchella esculenta* I1.

Ascomyceten (Mycelien): Von *Morchella esculenta*, *Morchella conica*, *Mitrophora semilibera* und *Sarcoscypha austriaca* wurden je Art bis zu sechs verschiedene Stämme unterschiedlicher Herkunft untersucht. Die Mittelwerte des relativen DNA-Gehaltes sind innerhalb der Arten sehr konstant, wie Tab. 1 zeigt. Auch die von kultivierten Mycelien* und eingelegten Fruchtkörpern der gleichen Art erhaltenen Werte waren übereinstimmend.

Basidiomyceten-Mycelien:

Pleurotus: Von dieser Basidiomyceten-Gattung standen uns viele Stämme von gegebenen Arten zur Verfügung, mit denen auch genetisch gearbeitet worden war. *Pleurotus ostreatus* 1s (Westfalen) und *Pleurotus ostreatus* 1w (Japan) unterscheiden sich hinsichtlich ihrer Zymogramme, der durchschnittlichen Sporengröße, der Temperatursprüche für die Fruchtkörperbildung sowie in einigen makroskopischen Merkmalen (vgl. u. a. Bresinsky & al., 1987). Die Stämme sind dabei vollständig interkompatibel und interfertil. Der Stamm 1w aus Japan hatte gegenüber dem Stamm 1s aus Westfalen einen etwas geringeren durchschnittlichen relativen DNA-Gehalt der Zellkerne (siehe Tab. 2). Die gemessenen Werte spiegeln jedoch keinen gravierenden Unterschied im Genom wider. Im Falle von *Pleurotus eryngii* standen uns Stämme von verschiedenen Wirten zur Verfügung, die als verschiedene Varietäten einer Art bewertet werden und die in Kreuzungen untereinander Kompatibilitätseinbußen und Fertilitätsstörungen zeigen. Auch in diesen Fällen waren die Meßwerte des relativen DNA-Gehaltes der Zellkerne übereinstimmend; die geringfügigen Unterschiede der Mittelwerte dürften hinsichtlich des tatsächlichen DNA-Gehaltes statistisch irrelevant sein. Eine ähnliche Feststellung gilt für die verschiedenen Stämme von *Pleurotus pulmonarius* (Japan – Nordamerika – Europa).

Boletales: Verschiedene Stämme jeweils von *Coniophora arida*, *Coniophora puteana*, *Jaapia argillacea*, *Leucogyrophana arizonica*, *L. mollusca*, *L. olivascens* und *L. pinastri* zeigten intraspezifische Konstanz der gemessenen relativen DNA-Werte bei zum Teil beträchtlichen interspezifischen Unterschieden (siehe Tab. 7).

Basidiomyceten (Fruchtkörper): Ebenso wurden Basidiomyceten-Fruchtkörper aus den USA mit den entsprechenden Arten aus Europa verglichen. Auch in diesem Fall waren – soweit die Eigenfluoreszenz Messungen zuließ – die relativen DNA-Gehalte von Herkunft aus Nordamerika und Europa innerhalb der gleichen Pilzart übereinstimmend: z. B. *Amanita citrina*, *A. muscaria* (im Falle von *A. muscaria* aus den USA handelt es sich aufgrund der äußeren Merkmale möglicherweise um eine eigenständige Sippe), *Albatrellus cristatus*, *Clitocybe clavipes*, *Dermocybe semisanguinea*, *Rozites caperatus*.

C) Chromosomale und karyologische Unterschiede bei verschiedenen Arten einer Gattung

Unsere Untersuchungen bestätigen, daß Polyploidie innerhalb engerer Verwandtschaftsgruppen von Pilzen ein offenbar weit verbreitetes Phänomen ist (Rogers, 1973). Polyploidie ist neben frühzeitiger, genetisch fixierter Intersterilität Ausdruck für divergente Evolution.

Ascomyceten (Helotiales): Es konnte festgestellt werden, daß *Dasyscyphus virgineus* gegenüber *D. controversus*, *D. clandestinus* und *D. bicolor*, sowie *Lachnellula suecica* gegenüber *L. calyciformis* jeweils den doppelten relativen DNA-Gehalt (möglicherweise doppelte Zahl von Chromosomen) besitzen (siehe Tab. 3). (Messung jeweils an eingelegtem Fruchtkörpermaterial).

Stamm		Anzahl der gemessenen Kerne	Fluoreszenz- intensität (Mittelwert)	Variations- koeffizient (%)
1x<= 3b>: 6 Chromosomen (e)				
<i>Pleurotus cystidiosus</i>	4q	600	44,7	13,3
2x<= 4(-5)b>: 8-10 Chromosomen (e) (aneuploid)				
<i>Pleurotus calyptratus</i>	9c	600	60,4	14,0
<i>Pleurotus cornucopiae</i>	4r	480	60,8	11,8
<i>Pleurotus dryinus</i>		600	74,8	12,4
<i>Pleurotus ostreatus</i>	1w	600	67,7	14,2
<i>Pleurotus ostreatus</i>	1s	600	73,1	14,2
<i>Pleurotus ostreatus</i>	9h	600	69,7	11,3
<i>Pleurotus pulmonarius</i>	J3	600	70,7	14,5
<i>Pleurotus pulmonarius</i>	6v	600	65,8	14,7
<i>Pleurotus pulmonarius</i>	S2	600	74,9	12,0
<i>Pleurotus pulmonarius</i>	4y	600	73,1	13,1
<i>Pleurotus pulmonarius</i>	4b	600	73,3	11,2
2x<= (6-7)b>: 12-14 Chromosomen (e, g)				
<i>Pleurotus eryngii</i> var. <i>nebrodensis</i>	30	480	105,4	13,1
<i>Pleurotus eryngii</i> var. <i>nebrodensis</i>	3q	480	107,2	13,2
<i>Pleurotus eryngii</i> var. <i>eryngii</i>	3p	600	102,3	12,4
<i>Pleurotus eryngii</i> var. <i>eryngii</i>	3c	600	103,7	12,4
<i>Pleurotus eryngii</i> var. <i>eryngii</i>	3d	420	96,8	15,1
<i>Pleurotus eryngii</i> var. <i>ferulae</i>	8n	600	99,8	12,9
3x<= 9b>: 18 Chromosomen (e)				
<i>Pleurotus salmoneo- stramineus</i>	J5	480	136,6	14,9

Tabelle 2: Fluoreszenzintensitäten (= relativer DNA-Gehalt; in relativen Einheiten) und vermutliche Ploidiestufen in der Gattung *Pleurotus* (g= Chromosomen gezählt; e= Chromosomen errechnet). Variationskoeffizient = (Standardabweichung x 100 %) : Mittelwert. Verwendetes Fluorochrom: DAPI. Interner Standard: *Pleurotus pulmonarius* S2.

Table 2: Fluorescence intensities (= relative DNA content; in arbitrary units) and presumed levels of ploidy within the genus *Pleurotus* (g= chromosomes counted; e= chromosome figured out). Coefficient of variation = (standard deviation x 100 %): mean. Fluorochrome, used: DAPI. Internal standard: *Pleurotus pulmonarius* S2.

Stamm	Anzahl der gemessenen Kerne	Fluoreszenzintensität (Mittelwert)	Variationskoeffizient (%)
<i>Dasyscyphus bicolor</i>	80	44	14,5
<i>Dasyscyphus clandestinus</i>	60	41	14,1
<i>Dasyscyphus controversus</i>	80	45	13,1
<i>Dasyscyphus virgineus</i>	80	90	11,0
<i>Lachnellula calyciformis</i>	120	37	12,9
<i>Lachnellula suecica</i>	60	77	12,9

Tabelle 3: Fluoreszenzintensitäten (= relativer DNA-Gehalt; in relativen Einheiten) einiger Ascomyceten. Variationskoeffizient = (Standardabweichung x 100 %) : Mittelwert. Verwendetes Fluorochrom: DAPI. Interner Standard: *Morchella esculenta* II.

Table 3: Fluorescence intensities (= relative DNA content; in arbitrary units) of some Ascomycetes. Coefficient of variation = (standard deviation x 100 %) : mean. Fluorochrome, used: DAPI. Internal standard: *Morchella esculenta* II.

Gomphidius (Boletales): Kerne von *Gomphidius roseus* haben gegenüber *Gomphidius glutinosus* den dreifachen relativen DNA-Wert (3x/1x).

Pleurotus: Hier wurden bei *Pleurotus eryngii* durch Slé z e c (1984) Chromosomen gezählt. Je nach Varietät ermittelte diese Autorin 12–14 Chromosomen. Diese Zahl ist in Beziehung zu setzen mit den Meßwerten des relativen DNA-Gehaltes. Die Tabelle (Tab. 2) zeigt, daß die DNA-Werte ein Vielfaches eines Grundwertes b (= ca. 15 relative Einheiten) bilden. *Pleurotus eryngii* besitzt einen relativen DNA-Wert von (6–)7b, dem nach Slé z e c (1984) 12–14 Chromosomen entsprechen; daraus ergibt sich, daß b – gleichgroße Chromosomen vorausgesetzt – von etwa 2 Chromosomen beigesteuert wird (vgl. B r e s i n s k y & al., 1987).

Die untersuchten Arten von *Pleurotus* lassen sich danach drei Ploidiestufen zuordnen (siehe Tab. 2).

Es sei nochmals betont, daß nur im Falle von Zählungen (= g) die angegebenen Werte Chromosomenzahlen entsprechen. Die über relative DNA-Werte errechneten Chromosomenzahlen (= e) sind demnach als hypothetisch anzusehen. Diese Einschränkung dürfte die ermittelten Ploidiestufen weniger betreffen.

Die Ergebnisse legen, falls die Umsetzung relativer DNA-Werte in Chromosomen die tatsächliche Chromosomenzahl widerspiegelt, nahe, daß innerhalb von *Pleurotus* aufsteigende Dysploidie und Aneuploidie vorkommen. Bei *P. eryngii* ist die Dysploidie durch Zählungen (Slé z e c, 1984) wahrscheinlich; sie wird durch unsere Ergebnisse als aufsteigend (12 → 14) interpretiert. Die Zahlen für die Arten rund um *P. ostreatus* lassen Aneuploidie (12 → 10 → 8) vermuten.

Sofern die absolute DNA-Menge bei einem der Pilze bekannt ist, ist diese auch für die übrigen Arten dieser Gattung berechenbar, ähnlich wie es G e b e r & H a s i b e d e r (1980) bei höheren Pflanzen vollzogen haben (Voraussetzung ist wiederum die Vergleichbarkeit der GC-Werte). H o r g e n & al. (1984) geben für *Pleurotus ostreatus* eine Genomgröße von $2,1 \times 10^7$ NP (= Nucleotidpaare) an. Nach N a g l (1976) entspricht 1 pg $\approx 0,65 \times 10^{12}$ d $\approx 9,13 \times 10^8$ NP. Tabelle 4 gibt die aus dieser Information berechnete

vermutliche Genomgröße für sämtliche untersuchten Arten der Gattung *Pleurotus* wieder. Die durchschnittliche DNA-Menge pro Chromosom beträgt damit z. B. im Falle von *Pleurotus eryngii* var. *nebrodensis* $1,71 \times 10^9$ d, im Falle von *Pleurotus eryngii* var. *ferulae* $1,74 \times 10^9$ d.

Pilz	DNA/Zelle (NP)	DNA/Zelle (d) (d = Dalton)
<i>Pleurotus cystidiosus</i>	$1,34 \times 10^7$	$9,36 \times 10^9$
<i>Pleurotus calyptratus</i>	$1,81 \times 10^7$	$12,65 \times 10^9$
<i>Pleurotus cornucopiae</i>	$1,82 \times 10^7$	$12,72 \times 10^9$
<i>Pleurotus dryinus</i>	$2,24 \times 10^7$	$15,66 \times 10^9$
<i>Pleurotus ostreatus</i>	$2,10 \times 10^7$	$14,68 \times 10^9$
<i>Pleurotus pulmonarius</i>	$2,14 \times 10^7$	$14,97 \times 10^9$
<i>Pleurotus eryngii</i> var. <i>nebrodensis</i>	$3,18 \times 10^7$	$22,23 \times 10^9$
<i>Pleurotus eryngii</i> var. <i>eryngii</i>	$3,02 \times 10^7$	$21,11 \times 10^9$
<i>Pleurotus eryngii</i> var. <i>ferulae</i>	$2,99 \times 10^7$	$20,90 \times 10^9$
<i>Pleurotus salmoneostramineus</i>	$4,09 \times 10^7$	$28,59 \times 10^9$

Tabelle 4: Errechneter absoluter DNA-Gehalt pro Zelle innerhalb der Gattung *Pleurotus*.
Table 4: Calculated absolute DNA content per cell within the genus *Pleurotus*.

Bei den Gattungen *Phellinus* und *Inonotus* (Tab. 5) wurde die Ermittlung von Ploidiestufen kombiniert mit Untersuchungen zum Lebenszyklus. Während bei *Pleurotus* durchgehend Heterothallie (Somatogamie, mit tetrapolarem Mechanismus der Inkompatibilität) herrscht, sind einige Vertreter der Gattungen *Phellinus* und *Inonotus* homothallisch, andere heterothallisch (Somatogamie, mit bipolarem Mechanismus der Inkompatibilität).

Die Arten lassen sich folgenden Ploidiestufen und Fortpflanzungskategorien zuordnen (Fischer, 1987):

D) Karyologische (chromosomale) Unterschiede bei verschiedenen Gattungen einer Ordnung

Ascomyceten: Es wurden verschiedene Arten aus einigen Familien der Ordnungen *Pezizales* (und *Helotiales*; siehe Kapitel C, Tab. 3) untersucht. Von einigen Vertretern der *Pezizales* sind Chromosomenzahlen bekannt geworden, auf die sich die folgenden Angaben von Chromosomen (e) beziehen. Die Chromosomenzahl 6 (Heim, 1952) wird angegeben bei *Helvella crispa*, *Helvella lacunosa*, *Leptopodia elastica*, *Otidea onotica* und *Scutellinia scutellata* (relative DNA-Werte, siehe Tab. 6).

Sieht man von der etwas aus der Reihe fallenden *Otidea onotica* ab, dann entsprechen hier 11–12 relative Fluoreszenzeinheiten einem Chromosom (gleiche Chromosomengröße vorausgesetzt).

1 x: heterothallich

Dikaryon:	<i>Phellinus torulosus</i>
Oligokaryon:	<i>Phellinus pini</i> <i>Phellinus chrysoloma</i> <i>Phellinus igniarius</i> <i>Phellinus ossatus</i> <i>Phellinus conchatus</i> <i>Phellinus laevigatus</i> <i>Phellinus pomaceus</i> <i>Phellinus tremulae</i> <i>Phellinus populicola</i> <i>Inonotus hastifer</i> <i>Inonotus nodulosus</i> <i>Inonotus radiatus</i>

1 x: homothallich

Dikaryon:	<i>Phellinus ferruginosus</i> <i>Phellinus nigrolimitatus</i> <i>Phellinus viticola</i>
Oligokaryon:	<i>Inonotus obliquus</i>

2 x: homothallich

Oligokaryon:	<i>Phellinus robustus</i> <i>Phellinus hartigii</i> <i>Phellinus hippophaecola</i> <i>Phellinus punctatus</i>
--------------	--

Tabelle 5: Vermutliche Ploidiestufen innerhalb der Gattungen *Phellinus* und *Inonotus*. Verwendetes Fluorochrom: Mithramycin. Interner Standard: *Phellinus igniarius*.

Table 5: Presumed levels of ploidy within the genera *Phellinus* and *Inonotus*. Fluorochrome, used: Mithramycin. Internal standard: *Phellinus igniarius*.

In einigen Fällen stimmen die (allerdings alten) Chromosomenzählungen (Heim, 1952) mit den errechneten Chromosomenzahlen nicht überein (e, g). Der Widerspruch ist in weiteren Untersuchungen aufzuklären, zumal die älteren Angaben der Literatur über Chromosomenzahlen mit Vorsicht zu bewerten sind. Im Falle von *Aleuria aurantia* (e=3; g=6) ist zu sagen, daß, falls die Chromosomenzahl 6 richtig ist, es unverständlich bleibt, daß sich innerhalb eines engeren Verwandtschaftskreises eine signifikant geringere DNA-Menge auf eine vergleichsweise hohe Zahl von Chromosomen verteilen sollte. Da der Anteil an repetitiver DNA (Dutta, 1974) und die GC-Werte in den hier erwähnten Verwandtschaftsgruppen recht fixiert sind (Storck & Alexopoulos, 1970), muß, unter Berücksichtigung der im übrigen guten Übereinstimmung von gezählten (= g) und errechneten (= e) Werten in der Ploidiestufe 2x die Chromosomenzahl von 6 für *Aleuria aurantia* (und *Otidea onotica*) angezweifelt werden.

Stamm	Anzahl der gemessenen Kerne	Fluoreszenzintensität (Mittelwert)	Variationskoeffizient (%)
1 x: 3 Chromosomen (e, g)			
<i>Aleuria aurantia</i> (g=6)	100	36	9,1
2 x: 4 Chromosomen (e, g) (aneuploid)			
<i>Gyromitra esculenta</i>	60	48	12,9
<i>Gyromitra infula</i>	160	42	13,7
<i>Otidea onotica</i> (g=6)	80	52	14,2
<i>Otidea</i> cf. <i>umbrina</i>	100	49	12,8
2 x: 6 Chromosomen (e, g)			
<i>Helvella crispa</i> (g=6)	60	74	12,7
<i>Helvella lacunosa</i> (g=6)	80	66	13,0
<i>Leptopodia elastica</i>	60	73	11,4
<i>Morchella esculenta</i> II	60	70	9,6
<i>Morchella conica</i> III	40	66	10,8
<i>Mitrophora semilibera</i>	260	69	10,7
<i>Verpa conica</i>	180	75	11,2
<i>Ptychoverpa bohemica</i>	160	72	12,6
<i>Peziza arvernensis</i>	80	73	11,4
<i>Peziza badia</i>	80	78	11,4
<i>Scutellinia scutellata</i> (g=6)	100	73	13,1
15 x: 45 Chromosomen (e)			
<i>Tarzetta catinus</i>	80	510	12,3

Tabelle 6: Fluoreszenzintensitäten (= relativer DNA-Gehalt; in relativen Einheiten) und vermutliche Ploidiestufen innerhalb der Ordnung *Pezizales* (g= Chromosomen gezählt; e= Chromosomen errechnet). Variationskoeffizient = (Standardabweichung x 100 %): Mittelwert. Verwendetes Fluorochrom: DAPI. Interner Standard: *Morchella esculenta* II.

Table 6: Fluorescence intensities (= relative DNA content; in arbitrary units) and presumed levels of ploidy within the order *Pezizales* (g= chromosomes counted; e= chromosomes figured out). Coefficient of variation = (standard deviation x 100 %): mean. Fluorochrome, used: DAPI. Internal standard: *Morchella esculenta* II.

Boletales (Coniophoraceae): Kulturen des Hausschwammes *Serpula lacrymans* lassen sich hinsichtlich des relativen DNA-Gehaltes der Kerne eindeutig unterscheiden von *Serpula himantioides* und *S. incrassata*, sowie von verschiedenen *Coniophora*-Arten. Dieser Befund hat für die Erkennung von Hausschwamminfektionen Bedeutung, und zwar in Fällen ohne Fruchtkörper.

K e m p e r (1937) gibt vier Chromosomen für *Coniophora puteana* und *C. arida* an. Diese Chromosomenzählung läßt sich in Beziehung zu den Meßwerten des relativen DNA-Gehaltes setzen. Die Tabelle (Tab. 7) zeigt, daß die DNA-Werte ein Vielfaches eines Grundwertes b (= ca. 17 relative Einheiten) bilden. *Coniophora puteana* und *C. arida* besitzen einen relativen DNA-Wert von $4b$, dem nach K e m p e r (1937) also vier Chromosomen entsprechen. Für diese Arten ergibt sich also, daß b – gleichgroße Chromosomen vorausgesetzt – von einem Chromosom beigesteuert wird.

Die untersuchten Arten der Coniophoraceen verteilen sich auf drei Ploidiestufen (siehe Tab. 7).

Stamm	Anzahl der gemessenen Kerne		Fluoreszenzintensität (Mittelwert)	Variationskoeffizient (%)
$1x \leq 3b$: 3 Chromosomen (e)				
<i>Coniophora marmorata</i>	411	325	45,4	8,8
<i>Leucogyrophana arizonica</i>	399	75	50,8	11,0
	404	125	56,9	10,6
<i>Leucogyrophana mollusca</i>	408	150	52,9	8,3
	447	100	57,6	11,7
<i>Leucogyrophana olivascens</i>	397	150	56,3	10,7
	409	175	56,0	10,6
$2x \leq 4b$: 4 Chromosomen (e; g) (aneuploid)				
<i>Coniophora arida</i> (g=4)				
var. <i>arida</i>	373	325	68,4	9,5
var. <i>suffocata</i>	422	275	64,6	8,9
<i>Coniophora olivacea</i>	405	225	65,9	9,6
	402	625	66,0	8,4
<i>Coniophora puteana</i> (g=4)				
	41	125	64,9	9,6
	350	200	67,0	10,0
	351	200	66,9	8,7
	410	100	67,0	9,2
$2x \leq 6b$: 6 Chromosomen (e)				
<i>Jaapia argillacea</i>	425	200	109,7	8,3
	564	150	106,6	9,2

<i>Leucogyrophana pinastrii</i>	403	250	103,4	8,9
	412	175	93,4	8,9
<i>Leucogyrophana romellii</i>	401	75	108,4	10,5
<i>Serpula lacrymans</i>	383	150	97,5	9,2
	521	75	103,7	11,5
3 x <= 9 b >: 9 Chromosomen (e)				
<i>Serpula himantioides</i>	555	325	142,5	9,8
<i>Serpula incrassata</i>	406	150	155,2	9,6

Tabelle 7: Fluoreszenzintensitäten (= relativer DNA-Gehalt; in relativen Einheiten) und vermutliche Ploidiestufen bei den *Coniophoraceae* (g= Chromosomen gezählt; e= Chromosomen errechnet). Variationskoeffizient = (Standardabweichung x 100 %): Mittelwert. Verwendetes Fluorochrom: DAPI. Interner Standard: *Coniophora olivacea* 402.

Table 7: Fluorescence intensities (= relative DNA content; in arbitrary units) and presumed levels of ploidy within the *Coniophoraceae* (g= chromosomes counted; e= chromosome figured out). Coefficient of variation = (standard deviation x 100%): mean. Fluorochrome, used: DAPI. Internal standard: *Coniophora olivacea* 402.

Die von B e s l & al. (1986) aufgrund verschiedener Merkmale angenommene Progression von *Coniophora* über *Leucogyrophana* und *Serpula* zu den Paxillaceen und Bole-taceen gewinnt durch die karyologischen Untersuchungen eine gewisse Stütze: Die Hyphenabschnitte von *Coniophora*-Arten sind noch oligokaryotisch, die von *Jaapia*, *Leucogyrophana* und *Serpula* dikaryotisch; parallel zu dieser Progression geht die schrittweise Erhöhung der Ploidiestufe (vgl. M e i x n e r & B r e s i n s k y , 1987).

E) Interpretation der relativen DNA-Werte

Um bei verschiedenen Taxa den gemessenen relativen DNA-Gehalt der Zellkerne mit deren jeweiligen Chromosomenzahlen in Verbindung zu bringen, muß die Vergleichbarkeit der GC-Werte (S t o r c k & A l e x o p o u l o s , 1970; J a h n k e & B a h n - w e g , 1986) bzw. des Gehaltes an repetitiver DNA (D u t t a , 1974) gewährleistet sein. Man muß sich auch darüber im klaren sein, daß Chromosomen eines Kernes sowie der Kerne verschiedener Arten unterschiedlich groß sein und damit bei gleicher Chromosomenzahl über differierende DNA-Mengen verfügen können. Da das Fluorochrom DAPI nur an drei aufeinanderfolgenden AT-Basenpaaren bindet (K a p u ś c i Ń s k i & S z e r , 1979), kann auch der jeweilige Anteil an anfärbbarer DNA trotz gleicher Chromosomenzahl verschieden sein.

Für die Frage, ob die errechnete Chromosomenzahl identisch ist mit der tatsächlichen Chromosomenzahl, wird es bedeutungsvoll sein, innerhalb einer Gattung und innerhalb von Familien und Ordnungen verschiedene Ploidiestufen und Chromosomenzahlen [z. B. mittels konventioneller Methoden, Gelelektrophorese ("pulsed field gel electrophoresis") oder genetisch über Kopplungsgruppen etc.] zu ermitteln.

Danksagung

Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) unterstützt.

Für die freundliche Überlassung und Bestimmung von Fruchtkörpermaterial bzw. von Pilzkulturen sind wir zu Dank verpflichtet: Herrn J. Stangl (Augsburg), Herrn Dr. H. Schmid-Heckel und Herrn Dr. H. Besl (Regensburg) und Herrn Prof. Dr. J. H. Ginns (Ottawa). Unser Dank gilt weiterhin Herrn Priv. Doz. Dr. H. Prillinger (Regensburg) für zahlreiche Anregungen.

Literatur

- AEBI, B. (1972) – Untersuchungen über Discomyceten aus der Ordnung *Tapesia-Trichobolium*. Nova Hedwigia 23, 53.
- ANDERSON, J. B., D. M. PETSCHKE & A. L. FRANKLIN (1985) – Nuclear DNA content of beno-nyl-induced segregants of diploid strains of the phytopathogenic fungus *Armillaria mellea*. Can. J. Genet. Cytol. 27, 47–50.
- BERLYN, G. P., A. O. ANORUO, R. C. BECK & I. CHENG (1987) – DNA content polymorphism and tissue culture regeneration in Caribbean pine. Can. J. Bot. 65, 954–961.
- BESL, H., A. BRESINSKY & A. KÄMMERER (1986) – Chemosystematik der *Contiophoraceae*. Z. Mykol. 52(2), 277–286.
- BRESINSKY, A., M. FISCHER, B. MEIXNER & W. PAULUS (1987) – Speciation in *Pleurotus*. Mycologia 79(2), 234–245.
- COLEMAN, A. W., M. J. MAGUIRE & J. R. COLEMAN (1981) – Mithramycin- and 4'-6-Diamidino-2-Phenylindole (DAPI)-DNA staining for fluorescence microspectrophotometric measurement of DNA in nuclei, plastids, and virus particles. J. Histochem. Cytochem. 29(8), 959–968.
- COLLINS, O'NEIL R. & C. D. THERRIEN (1976) – Cytophotometric measurement of nuclear DNA in seven heterothallic isolates of *Didymium iridis*, a Myxomycete. Am. J. Bot. 63(4), 457–462.
- DAVIS, P. H. & V. H. HEYWOOD (1963) – Principles of Angiosperm taxonomy. D. Van Nostrand Company, Princeton, New Jersey, New York.
- DUTTA, S. K. (1974) – Repeated DNA sequences in fungi. Nucleic Acids Research 1, 1411–1419.
- EVANS, H. J. (1956) – Chromosomes of the cultivated mushroom. Nature (Lond.) 178, 1005–1006.
- FINCHAM, J. R. S. (1949) – Chromosome numbers in species of *Neurospora*. Ann. Bot. (Lond.) 13, 23–36.
- FISCHER, M. (1987) – Biosystematische Untersuchungen an den Porlingsgattungen *Phellinus* Qué. und *Inonotus* Karst. Bibl. Mycol. 107.
- FRANKLIN, A. L., W. G. FILION & J. B. ANDERSON (1983) – Determination of nuclear DNA content in fungi using mithramycin: vegetative diploidy in *Armillaria mellea* confirmed. Can. J. Microbiol. 29 (g), 1179–1183.
- GEBER, G. & G. HASIBEDER (1980) – Cytophotometrische Bestimmung von DNA-Mengen: Vergleich einer neuen DAPI-Fluoreszenzmethode mit Feulgen-Absorptionsphotometrie. Microscopica Acta Suppl. 4.
- GEITLER, L. (1953) – Endomitose und endomitotische Polyploidisierung. In: „Protoplasmatologia“ 6(C), 1–88, Handbuch der Protoplasmaforschung, Springer Verlag, Wien.
- HASKINS, E. F. & C. D. THERRIEN (1978) – The nuclear cycle of the Myxomycete *Echinostellum minutum* I. Cytophotometric analysis of the nuclear DNA content of the amoebal and plasmodial phases. Exp. Mycol. 2, 32–40.
- HEIM, P. (1952) – Observations sur le noyau des Ascomycètes. Rev. Mycol. (Paris) 17, 3–38.
– (1954) – Observations sur le noyau des Basidiomycètes. Rev. Mycol. (Paris) 19, 201–249.
- HORGEN, P. A., R. ARTHUR, O. DAVY, A. MOUN, F. HERR, N. STRAUS & J. ANDERSON (1984) – The nucleotide sequence homologies of unique DNA's of some cultivated and wild mushrooms. Can. J. Microbiol. 30, 587–593.
- HUGHES, D. T. (1961) – Chromosomes of the wild mushroom. Nature (Lond.) 190, 285–286.
- JAHNKE, K.-D. & G. BAHNWEIG (1986) – Assessing natural relationships in the Basidiomycetes by DNA analysis. Trans. Br. Mycol. Soc. 87(2), 175–191.
- JOHANNISSON, E. & B. THORELL (1977) – Mithramycin fluorescence for quantitative determination of deoxyribonucleic acid in single cells. J. Histochem. Cytochem. 25(2), 122–128.
- KAPUSCINSKI, J. & W. SZER (1979) – Interactions of 4',6-Diamidino-2-phenylindole with synthetic polynucleotides. Nucleic Acids Research 6, 3519–3534.
- KEMPER, W. (1937) – Zur Morphologie und Zytologie der Gattung *Contiophora*, insbesondere des sogenannten Kellerschwammes. Zentralbl. Bakteriol. Parasitenkd. Infektionskr., Abteilung II, 97, 100–124.
- KOHLI, J., H. HOTTINGER, P. MUNZ, A. STRAUSS & P. THURIAUX (1977) – Genetic mapping in *Schizosaccharomyces pombe* by mitotic and meiotic analysis and induced haploidization. Genetics 87, 471–489.

- LU, B. C. & H. J. BRODIE (1962) – Chromosomes in *Cyathus*. *Nature* (Lond.) 194, 606.
- MC CLINTOCK, B. (1945) – *Neurospora* I. Preliminary observations of the chromosomes of *Neurospora*. *Am. J. Bot.* 32, 671–678.
- MEIXNER, B. & A. BRESINSKY (1987) – Cytofluorometric determination of relative DNA content in nuclei of *Coniophoraceae* (Boletales) using DAPI. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 89 (in Vorbereitung).
- MOHBERG, J., K. L. BABCOCK, F. B. HAUGLI & H. P. RUSCH (1973) – Nuclear DNA content in the Myxomycete *Physarum polycephalum*. *Dev. Biol.* 34, 228–245.
- MOSER, M. (1958) – Die künstliche Mykorrhizaimpfung an Forstpflanzen. *Forstwiss. Centralbl.* (Hamb.) 77, 32–40.
- MOTTA, J. J. (1985) – Evidence for significant differences in nuclear DNA content between two geographically isolated clones of *Armillaria mellea*. *Am. J. Bot.* 72(2), 1307–1310.
- D. C. PEABODY & R. B. PEABODY (1986) – Quantitative differences in nuclear DNA content between *Armillaria mellea* and *Armillaria bulbosa*. *Mycologia* 78(6), 963–965.
- NAGL, W. (1976) – Zellkern und Zellzyklen. Ulmer Verlag, Stuttgart.
- OLIVE, L. S. (1953) – The structure and behavior of fungus nuclei. *Bot. Rev.* 19, 439–586.
- PEABODY, D. C., J. J. MOTTA & C. D. THERRIEN (1978) – Cytophotometric evidence for heteroploidy in the life cycle of *Armillaria mellea*. *Mycologia* 70, 487–498.
- & R. B. PEABODY (1984) – Microspectrophotometric nuclear cycle analysis of *Armillaria mellea*. *Exp. Mycol.* 8, 161–169.
- & R. B. PEABODY (1986) – Nuclear volumes and DNA content of three stages in the life cycle of *Armillaria bulbosa*. *Mycologia* 78(6), 967–968.
- RAJU, N. B. (1986) – A simple fluorescent staining method for meiotic chromosomes of *Neurospora*. *Mycologia* 78(6), 901–906.
- ROBINOW, C. F. (1977) – The number of chromosomes in *Schizosaccharomyces pombe*: light microscopy of stained preparations. *Genetics* 87, 491–497.
- ROGERS, J. D. (1973) – Polyploidy in fungi. *Evolution* 27, 153–160.
- SCHWARTZ, D. C. & C. R. CANTOR (1984) – Separation of yeast chromosome-sized DNAs by pulsed field gradient gel electrophoresis. *Cell* 37, 67–75.
- SINGLETON, J. R. (1953) – Chromosome morphology and the chromosome cycle in the ascus of *Neurospora crassa*. *Am. J. Bot.* 40, 124–144.
- SLEZEC, A.-M. (1984) – Variabilité du nombre chromosomique chez les pleurotes des ombellifères. *Can. J. Bot.* 62, 2610–2617.
- STORCK, R. & C. J. ALEXOPOULOS (1970) – Deoxyribonucleic acid of fungi. *Bacteriol. Rev.* 34(2), 126–154.
- SUKHRAJ, S. P., P. B. GRAEME & J. P. MIKSCH (1977) – Requirement of an internal standard for microspectrophotometric measurements of DNA. *Am. J. Bot.* 64(1), 117–121.
- THERRIEN, C. D. (1966) – Microspectrophotometric measurement of nuclear deoxyribonucleic acid content in two Myxomycetes. *Can. J. Bot.* 44, 1667–1675.
- & J. J. YEMMA (1974) – Comparative measurements of nuclear DNA in a heterothallic and a self-fertile isolate of the Myxomycete, *Didymium iridis*. *Am. J. Bot.* 61(4), 400–404.
- THIELKE, C. (1973) – Intracelluläre Mitosen in homokaryotischen und dikaryotischen Mycelien der Basidiomyceten. *Arch. Mikrobiol.* 94, 341–350.
- UDEN, N. VAN (1951) – Eine einfache Methode zum Studium der Pilzmorphologie im allgemeinen und der vegetativen Anastomosen im besonderen. *Arch. Derm. Syph.* 193, 468–484.
- VALLA, G. (1984) – Changes in DNA content of nuclei in apical and intercalary compartments of *Polyporus arcularius* during hyphal growth. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 83(2), 265–273.
- WAKAYAMA, K. (1930a) – Contribution to the cytology of fungi. I. Chromosome number in *Agaricaceae*. *Cytologia* (Tokyo) 1, 369–388.
- (1930b) – Contributions to the cytology of fungi. II. Cytological studies in *Morchella deliciosa*. *Cytologia* (Tokyo) 2, 27–36.
- (1932) – Contributions to the cytology of fungi. IV. Chromosome number in *Autobasidiomycetes*. *Cytologia* (Tokyo) 3, 260–284.
- WARD, D. C., E. REICH & J. A. GOLDBERG (1965) – Base specificity in the interaction of polynucleotides with antibiotic drugs. *Science* (Wash. DC) 149, 1259–1263.
- WILLIAMS, P. G. & K. W. MENDGEN (1975) – Cytofluorometry of DNA in uredospores of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 64(1), 23–28.
- WILSON, C. M. (1952) – Meiosis in *Allomyces*. *Bull. Torrey Bot. Club* 79(2), 139–160.
- WIN, T. & M. W. DICK (1975) – Cytology of Oomycetes: Evidence for meiosis and multiple chromosome associations in *Saprolegniaceae* and *Pythiaceae* with an introduction to the cytotaxonomy of *Achlya* and *Pythium*. *Arch. Microbiol.* 105, 283–293.
- YEMMA, J. J. & C. D. THERRIEN (1972) – Quantitative microspectrophotometry of nuclear DNA in selfing strains of the Myxomycete *Didymium iridis*. *Am. J. Bot.* 59(8), 828–835.



Deutsche Gesellschaft für Mykologie e.V.
German Mycological Society

Dieses Werk stammt aus einer Publikation der DGfM.

www.dgfm-ev.de

Über [Zobodat](#) werden Artikel aus den Heften der pilzkundlichen Fachgesellschaft kostenfrei als PDF-Dateien zugänglich gemacht:

- **Zeitschrift für Mykologie**
Mykologische Fachartikel (2× jährlich)
- **Zeitschrift für Pilzkunde**
(Name der Hefreihe bis 1977)
- **DGfM-Mitteilungen**
Neues aus dem Vereinsleben (2× jährlich)
- **Beihefte der Zeitschrift für Mykologie**
Artikel zu Themenschwerpunkten (unregelmäßig)

Dieses Werk steht unter der [Creative Commons Namensnennung - Keine Bearbeitungen 4.0 International Lizenz](#) (CC BY-ND 4.0).



- **Teilen:** Sie dürfen das Werk bzw. den Inhalt vervielfältigen, verbreiten und öffentlich zugänglich machen, sogar kommerziell.
- **Namensnennung:** Sie müssen die Namen der Autor/innen bzw. Rechteinhaber/innen in der von ihnen festgelegten Weise nennen.
- **Keine Bearbeitungen:** Das Werk bzw. dieser Inhalt darf nicht bearbeitet, abgewandelt oder in anderer Weise verändert werden.

Es gelten die [vollständigen Lizenzbedingungen](#), wovon eine [offizielle deutsche Übersetzung](#) existiert. Freigebiger lizenzierte Teile eines Werks (z.B. CC BY-SA) bleiben hiervon unberührt.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Zeitschrift für Mykologie - Journal of the German Mycological Society](#)

Jahr/Year: 1987

Band/Volume: [53_1987](#)

Autor(en)/Author(s): Bresinsky Andreas, Wittmann-Meixner B., Weber E., Fischer M.

Artikel/Article: [Karyologische Untersuchungen an Pilzen mittels Fluoreszenzmikroskopie 303-318](#)