Zeitschr. f. Pilzkunde	38	Lehre	1972	J. Cramer

METHODE ZUR FESTSTELLUNG DER VIRULENZ BEI DEN ZUCHTSTÄMMEN HOLZBEWOHNENDER SPEISEPILZE

Von

G. Gramß

1. Pilzkulturen auf Holz

Die richtungsweisenden Arbeiten von W. Luthardt (Steinach/Thür.) auf dem Gebiet der Holzmykologie führten bereits in verschiedenen mitteleuropäischen Ländern zur Anlage größerer Speisepilzkulturen auf Laubholzsubstraten im Freiland. Für den Anbau auf Stammabschnitten von nahezu allen einheimischen Laubholzarten erwiesen sich dabei als besonders geeignet der Austernseitling *(Pleurotus ostreatus)* und das Stockschwämmchen *(Kuehneromyces mutabilis).*

Das Myzel dieser Pilzarten wird mit Hilfe von Pilzbrut in einem sterilen Zwischensubstrat auf die Stirnflächen der noch saftfrischen Stammabschnitte übertragen. Wenn das Pilzmyzel aus der Brut in das Holz eingewachsen ist, werden die Hölzer zu 3/4 auf Freiland in ungedüngte Gartenerde gesetzt. In den folgenden 2–3 Monaten wächst zunächst das Pilzgeflecht aus dem Holz in die umgebende Beeterde vor. Nach der Ausbildung des Erdmyzels tragen die Fruchthölzer 4–7 Jahre lang ohne Nachimpfung.

Die heute bekannten Zuchtstämme des Austernseitlings haben eine nahezu einheitliche Ertragsleistung. Auf einer Laubholzmenge mit 1 000 kg Trockengewicht können in 3–5 Ertragsjahren 200–230 kg Frischpilze geerntet werden.

Das Stockschwämmchen kommt in einer Vielzahl von morphologisch und physiologisch verschiedenen Biotypen vor. Es gibt daher Zuchtstämme, die auf einer Laubholzmenge mit 1 000 kg Trockengewicht 300–350 kg, aber auch Rekorderträge bis zu 520 kg an Frischpilzen in 5–7 Ertragsjahren hervorbrachten.

Für die Selektierung neuer und die Erhaltung erprobter Zuchtstämme besteht daher ein erhöhtes Interesse.

2. Forderungen an den neu selektierten Zuchtstamm

Neue Zuchtstämme von Stockschwämmchen und Austernseitling werden in der Regel aus Plektenchym- oder Mehrsporkulturen gewonnen. Hierbei zeigt es sich, daß Plektenchymkulturen von Pilzkörpern des gleichen Fruchtholzes und insbesondere auch verschiedene Mehrsporkulturen des gleichen Pilzkörpers in der Praxis ein sehr unterschiedliches Verhalten aufweisen: ihre Fähigkeit, in ein unsteriles Holzsubstrat einzuwachsen und sich dabei gegen konkurrierende Organismen durchzusetzen, ist sehr verschieden. Diese für den jeweiligen Zuchtstamm spezifische Fähigkeit wurde als Virulenz bezeichnet und in der Gradskala erfaßt.

Der neu selektierte Zuchtstamm braucht einen Mindestvirulenzgrad, um in Holzsubstrate verschiedener Form einzuwachsen. Mit der Angabe des Virulenzgrades wird gleichzeitig garantiert, daß das vom Pilzmyzel durchwachsene Holz nach seinem Einsetzen in die Beeterde das erforderliche Erdmyzel bildet und damit mehrjährig hohe Erträge bringt.

Der Virulenzgrad läßt keine Aussage zu über die in den folgenden 4–7 Jahren zu erwartende absolute Ertragsmenge, wohl aber über die Neigung zur Fruchtbildung und die Form der Fruchtkörper.

Nur Zuchtstämme mit der erforderlichen Virulenz garantieren dem Anbauer den normalen 95–100%igen Impferfolg.

3. Das Verhalten der Zuchtstämme auf Malzagar

Bei den Zuchststämmen des Violetten Ritterlings *(Lepista nuda)* läßt sich der zu erwartende Virulenzgrad mit großer Sicherheit aus dem Myzelbild voraussagen, das auf 5%igen Malzagarplatten entsteht. Die wichtigsten Kennzeichen sind Form, Länge, Dichte und Pigmentgehalt der Hyphen. Die Zuchtstämme von Stockschwämmchen und Austernseitling haben auf Malzagar in der Regel ein für die Pilzart typisches und einheitliches Myzelbild. Häufig zeigen sogar Zuchststämme mit geringer Virulenz ein größeres tägliches Streckenwachstum (Vorstoßradius) und eine größere Dichte der Hyphen (Flaumdichte). Selbst solche Zuchtstämme, deren Virulenz durch langzeitige Lagerung auf sterilem Feinsubstrat nachzulassen beginnt, wachsen auf Malzagar oder Laborbrutsubstrat zunehmend besser. Auch pathogene Veränderungen von Zuchtstämmen waren zwar später an Form und Menge der Fruchtkörper, nicht aber am Myzelbild auf Malzagar festzustellen.

Bei Stockschwämmchen und Austernseitling ist es deshalb nicht möglich, aus dem Myzelbild des Zuchtstammes auf Feinsubstraten Rückschlüsse zu ziehen auf den Virulenzgrad.

4. Die Bedeutung des Flaumbilds für die Eignung eines Zuchtstammes

Wenn man aus einem Glas mit Laborbrut die oberste Brutschicht entnimmt, überzieht sich sowohl die im Glas verbleibende wie auch die entnommene Brut bei 100 % relativer Luftfeuchte mit Myzelflaum.

In den meisten Fällen zeigen frisch selektierte Zuchtstämme von Stockschwämmchen und Austernseitling eine lebhafte Flaumbildung. Während der Austernseitling immer ein gutes Flaumbild hat, kann es beim Stockschwämmchen sehr unterschiedlich sein. Deshalb wird in der Regel nur das Flaumbild des Stockschwämmchens ständig überwacht.

Für die Vermehrung werden nur solche Zuchtstämme verwendet, die zum Zeitpunkt der Selektierung ein gutes Flaumbild hatten. Dabei können Zuchtstämme mit einem guten Flaumbild in der Virulenzprüfung völlig versagen, ebensogut aber können Zuchtstämme mit einem schlechten Flaumbild einen hohen Virulenzgrad aufweisen. Das Flaumbild läßt also nur einen sehr begrenzten Schluß auf den zu erwartenden Virulenzgrad zu. Dessen ungeachtet wird das Flaumbild ständig zur routinemäßigen Überprüfung eines langzeitig gelagerten Zuchtstammes herangezogen. Es hat sich nämlich herausgestellt, daß die Virulenz eines Stammes in dem gleichen Maß nachläßt, in dem sich auch das Flaumbild verschlechtert.

Bei Zuchtstämmen mit einem gut erhaltenen Flaumbild und hoher Anfangsvirulenz erübrigt sich demzufolge die Überprüfung des Virulenzgrades. Zuchtstämme mit gutem Anfangsflaumbild, die durch langzeitige Lagerung auf Feinsubstrat nur noch wenig Flaum entwickeln, müssen unbedingt einer Virulenzprüfung unterzogen werden. Die Virulenzprüfung kann dabei trotzdem noch befriedigend ausfallen.

Zur Ermittlung der Kenngrößen des Flaumbilds werden aus der Serie 5 Brutgläser, in der Regel 2L-Rillengläser, mit durchschnittlicher Myzeldichte ausgewählt, deren Laborbrutsubstrat noch nicht vollständig durchwachsen ist. Von der Oberfläche der für diesen Zweck besonders festgelegten Substratmischung wird etwa 1 cm Brut entfernt.

Nach Auflegen des Rillenglasdeckels sind die 5 Proben 7 Tage bei 20±2 °C aufzubewahren. Das verbleibende Brutsubstrat überzieht sich unter diesen Bedingungen mit senkrecht von der Oberfläche abstehenden Hyphen. Die *Flaumlänge* wird mit Zollstock oder Meßlupe auf etwa 0,5 bis 1 mm genau gemessen. Sie ist das Maß der längsten, senkrecht von der Oberfläche abstehenden Hyphen und wird aus den Werten der 5 Gläser arithmetisch gemittelt. Die Hyphen sind durch die Wände der Brutgläser gut zu erkennen.

Die *Flaumdichte* ist ein Schätzwert, dessen reproduzierbare Bestimmung einige Übung erfordert. Die 3 Eckziffern der Flaumdichte sind auf folgende Weise beschrieben:

Flaumdichte 1	Vereinzelte, deutlich getrennt stehende Hyphen. Das Substrat ist voll sichtbar.
Flaumdichte 2	Dichtstehende Hyphen färben die Substratoberfläche mit hyphenfarbigem Hauch.
Flaumdichte 3	Die Hyphen sind einzeln erkennbar, bedecken das Substrat aber völlig mit dichtem, lückenlosem Mantel. Das Substrat ist nicht mehr zu sehen.

Zwischenwerte der Flaumdichte entstehen z. B., wenn die Zahl der Hyphen größer erscheint als die in der Eckziffer beschriebene. Sie entstehen auch, wenn die Brutfläche ungleichmäßig dicht mit Hyphen bewachsen ist: bei Flaumdichte 2 und 30 % Flächenanteil der Flaumdichte 3 wäre die Flaumdichte 2, 3.

In Tabelle 2 sind die Anfangsflaumbilder der gebräuchlichsten Zuchtstämme aufgeführt und ihrem Virulenzgrad gegenübergestellt.

5. Die Ermittlung des Virulenzgrades bei den Zuchtstämmen des Stockschwämmchens

Der Virulenzgrad wird unter weitestgehender Nachbildung der Anbauverhältnisse labormäßig ermittelt. Er ist die allein aussagefähige Kenngröße für das Verhalten eines Zuchtstammes auf Kompaktholz und wird auf folgende Weise geprüft:

a) Anwachsprüfung auf Rotbuchenbrettchen

Für die Anwachsprüfung auf Holz werden 24rindenfreie und 4–6 Tage gewässerte Rotbuchenbrettchen von etwa 5 x 5 x 1,5 cm benutzt, deren Holzfaserrichtung parallel zu den Breitseiten der Brettchen verläuft. Jeweils 2 der Hölzer werden unter Zwischenlage von 5 mm Reinkulturbrut des zu prüfenden Pilzstammes mit den Breitseiten aufeinandergelegt und in 2-L-Rillengläsern gestapelt. Die Entwicklung erfolgt bei 20±2 °C.

Mindestens 10 der 12 Doppelhölzer nach Abb. 1 müssen von dem Pilzmyzel vollständig überwachsen werden. Das Pilzmyzel darf nicht nach teilweisem

Überwachsen des Holzes stagnieren und unter Entwicklung von Köpfchenschimmel oder grünsporigen Pilzarten absterben. Der Zuchtstamm muß dazu in der Lage sein, die Hölzer in 3–5 Wochen völlig zu überwachsen. Langsamer wachsende Stämme werden nicht vermehrt.

Die Anwachsprüfung stellt für den Zuchtstamm insofern eine erhöhte Belastung dar, als das Pilzmyzel eine unsterile Holzfläche überwachsen und dazu größtenteils quer zur Faserrichtung des Holzes vorstoßen muß. Bei der Beimpfung der Stirnfläche eines Stammabschnittes wächst das Pilzmyzel in Faserrichtung ein und findet ein nahezu steriles Substrat vor. Das ist auch der Grund dafür, weshalb Zuchtstämme mit niedriger Virulenz auf Stammabschnitten noch gut einwachsen.

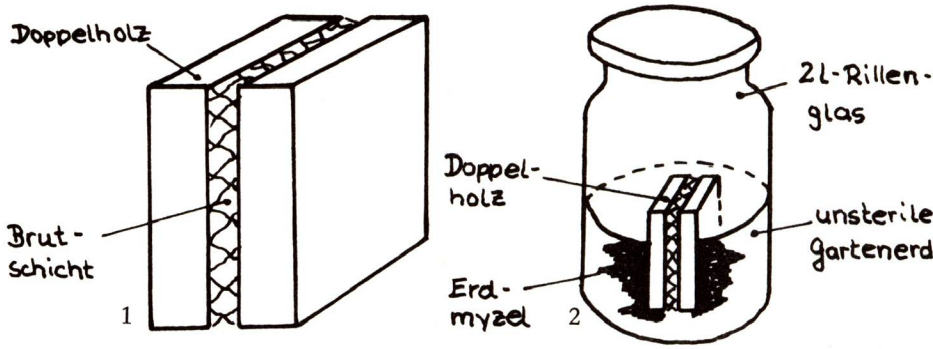
b) Erdung der Doppelhölzer

Es wurden Zuchtstämme beobachtet, die trotz bestandener Anwachsprüfung bei der Verimpfung für Anbauzwecke völlig versagten. Der Zuchtstamm wird deshalb einer weiteren Belastung unterworfen durch das Einsetzen von 10 überwachsenen Doppelhölzern in Erde.

In abgedeckten 2L-Rillengläsern wird jeweils eines der Doppelhölzer mit einer Schmalseite an die Glasinnenwand angedrückt. Die Gläser werden ungefähr zur Hälfte mit unsteriler, humushaltiger Erde einer beliebigen Herkunft gefüllt. Die obenliegenden Schmalseiten des Doppelholzes ragen noch aus der Erde heraus. Nach Auflegen des Rillenglasdeckels werden die 10 Proben bei 20 °C aufbewahrt. Das Pilzmyzel wächst dann aus dem Holz in die Erde vor und ist durch die Glaswand gut zu sehen.

Die vom Pilzmyzel durchwachsene Erdfläche wird 6 Wochen nach dem Erden der Hölzer gemessen. Ein frisch isolierter Zuchtstamm muß mindestens 20 cm^2 Erdfläche mit hoher Myzeldichte durchwachsen. Dabei müssen alle Zuchtstämme als unbrauchbar bezeichnet werden, die kein Erdmyzel ausbilden oder deren Myzel auf den voll überwachsenen Hölzern nach dem Erden erlischt.

Nach weiterer Aufbewahrung der 10 Proben bei 15–25 °C und Taglicht erscheinen dem Pilztyp entsprechend die 1. Fruchtanlagen des Stockschwämmchens 50–120 Tage nach dem Erden der Hölzer. Die normale Pilzform entwickelt sich nur bei Taglicht und teilweise angehobenem Rillenglasdeckel. Ein brauchbarer Zuchtstamm muß in der Folge mindestens 3–5 Ertragswellen liefern. Ertragswellen müssen bei 20 °C in mindestens 5–7 Wochen aufeinanderfolgen.



c) Festlegung des Virulenzgrades eines frisch isolierten Zuchtstammes

Vorbedingung für die Erteilung eines Virulenzgrades ist die Erfüllung folgender Punkte durch einen Zuchtstamm des Stockschwämmchens:

- Anfangsflaumbild: Flaumlänge $\geqslant$ 3 mm, Flaumdichte $\geqslant$ 2,5
- Anwachsprobe: Von 12 Doppelhölzern müssen mindestens 10 vollständig überwachsen werden, und zwar bei 20 °C in 3–5 Wochen.
- Erdung von 10 Hölzern: Ausbildung von midenstens 20 cm^2 Erdmyzel pro Glas
- Fruchtbildung: Jedes Doppelholz muß bei Taglicht mindestens 3–5 Ertragswellen liefern.
- Pilzform: Bei Taglicht und teilweise angehobenem Glasdeckel muß eine normale Pilzform entstehen.
- Ertragsrhythmus: Der Abstand der Ertragswellen bei 20 °C muß $\leqslant$5–7 Wochen sein.

Die Virulenzgradskala umfaßt die 11 Ziffern 0 bis 10. Den Virulenzgrad 10 erhält ein Zuchtstamm, der die obigen Vorbedingungen erfüllt. Dazu müssen alle 10 geordneten Doppelhölzer Erdmyzel ausbilden und zur Fruchtbildung kommen (siehe Tab. 1).

Tabelle 1: Virulenzgradskala

Virulenz-	Zahl der Doppelhölzer in Erde, die Erdmyzel bilden und fruktifizieren	Bemerkungen über Eignung des Zuchtstammes für Hölzer verschiedener Form
10	10	für saftfrische bzw. gewässerte, ältere Stammabschnitte, für gewässerte Laubholzbrettchen jeder Form
9	9	
8	8	
7	7	für saftfrische bzw. gewässerte, ältere Stammabschnitte und für gewässerte Laubholzbrettchen, falls diese in Faserrichtung beimpft werden
6	6	
5	5	
4	4	für saftfrische bzw. gewässerte, ältere Stammabschnitte, Stirnflächenbeimpfung
3	3	
2	2	für saftfrische Stammabschnitte, Stirnflächenbeimpfung
1	1	
0	0	

Bei der Selektierung frisch isolierter Zuchtstämme werden ausschließlich solche mit dem Virulenzgrad 10 vermehrt. Der Virulenzgrad sollte aus der Beschriftung der Brutsendung ersichtlich sein.

Bei langzeitiger Lagerung auf Feinsubstrat sinkt der Virulenzgrad des Zuchtstammes. Die routinemäßige Überprüfung erfolgt im Abstand von 12 Monaten mit nur jeweils 5 Doppelhölzern, die nach dem Überwachsen alle geerdet werden, um lediglich noch die Fähigkeit zur Bildung von Erdmyzel zu kontrollieren.

Ergänzend zu Tab. 1 muß gesagt werden, daß ein Zuchtstamm mit der Anfangsvirulenz 10 selbst dann noch mit bestem Erfolg auf saftfrische Stammabschnitte verimpft werden kann, wenn das Pilzmyzel die Doppelhölzer nur noch zu 20–30 % ihrer Oberfläche überwächst und dann bereits abstirbt. Er hat dann die Mindestvirulenz.

Die Virulenzprüfung des Austernseitlings erfolgt analog mit 10 doppelten Rotbuchenbrettchen. Der Zuchtstamm muß in der Lage sein, alle 10 Doppelhölzer vollständig zu überwachsen und nach dem Einbetten in die Erde mindestens 50 cm^2 durchwachsener Erdfläche zu bilden. Die Fruchtanlagen des Austernseitlings erscheinen jedoch erst nach Licht- und Kältereiz.

6. Die Schüttsubstratvirulenz

Die Schüttsubstratvirulenz ist eine weitere spezifische Eigenschaft des Zuchtstammes. Sie bezeichnet seine Fähigkeit, in unsteriles Schüttsubstrat, also Holzmehl und Stroh, einzuwachsen.

Zur Ermittlung der Schüttsubstratvirulenz werden jeweils 5 2L-Rillengläser mit dem wassergesättigten, unsterilen Schüttsubstrat gefüllt. DieSubstratstirn wird mit einer 1 cm dicken Sterilbrutschicht des zu prüfenden Stammes belegt. Die Entwicklung der Proben erfolgt bei 15–25 °C.

Die 5 Proben müssen vollständig mit hoher Myzeldichte durchwachsen werden. Das Pilzmyzel darf nicht vor dem vollständigen Durchwachsen des Substrats stagnieren oder bei Entwicklung grünsporiger Pilzarten absterben.

Dem Verwendungszweck entsprechend wird das Schüttsubstrat auch mit geeigneten Mineralien angereichert.

Die Schüttsubstratvirulenz ist dann von Interesse, wenn der Zuchtstamm nicht allein in Reinkulturbrut, sondern auf unsteriler Blockbrut vermehrt werden soll. Zuchtstämme des Stockschwämmchens besitzen meist keine Schüttsubstratvirulenz. Die Zuchtstämme des Austernseitlings werden dagegen nur dann vermehrt, wenn sie diese Eigenschaft haben. Sie ist hier insofern von Interesse, als der Ertrag auf Schüttsubstrat dem Ertrag auf Kompaktholz teilweise überlegen sein kann.

7. Die Eigenschaften einiger gebräuchlicher Zuchtstämme

Die nachfolgende Tabelle 2 enthält Angaben über die Kenngrößen einiger Zuchtstämme, die zur Zeit vermehrt werden.

Tabelle 2:

Zuchtstamm	Anfangs-flaum-dichte	Anfangs-flaum-länge	Anfangs-virulenz-grad	Schütt-substrat-virulenz	Besondere Eignung
Stockschwämm-chen L1/68	3	7 mm	10	nicht vor-handen	Stammholz, Brettchen
Stockschwämm-chen Pm2/70	2,5	3 mm	10	vorhan-den	Stammholz, Brettchen
Stockschwämm-chen A10/68	2,7	3 mm	10	nicht vor-handen	Stammholz

8. Zusammenfassung

Bei den Zuchtstämmen von Stockschwämmchen und Austernseitling sind Flaumbild, Virulenzgrad und Schüttsubstratvirulenz drei voneinander unabhängige, das heißt einander nicht voraussetzende Eigenschaften.

Für den Anbau dieser Pilzarten auf Laubholz verschiedener Form ist die Kenntnis des Virulenzgrades von Interesse.

Für die Vermehrung des Stockschwämmchens auf unsteriler Blockbrut und den Anbau des Austernseitlings auf Schüttsubstrat ist die Prüfung der Schüttsubstratvirulenz Voraussetzung.

Literatur:

GRAMSS, G. - Anbauprotokolle und Prüfvorschriften (unveröffentlicht).

LUTHARDT, W. - Holzbewohnende Pilze. A. Ziemsen-Verlag Wittenberg 1969

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Zeitschrift für Pilzkunde

Jahr/Year: 1972

Band/Volume: 38_1972

Autor(en)/Author(s): Gramß G.

Artikel/Article: METHODE ZUR FESTSTELLUNG DER VIRULENZ BEI DEN ZUCHTSTÄMMEN HOLZBEWOHNENDER SPEISEPILZE 89-97