

**Genetische Untersuchungen zur Fruchtkörper- und
Artbildung bei Basidiomyceten: Genetische Kontrolle
der Fruchtkörperbildung bei *Polyporus ciliatus***

Von

H. Prillinger und W. Six, Regensburg¹

(Eingegangen am 14. Juli 1981, in endgültiger Form am 19. Juli 1982)

**Genetic Analysis of Fruiting and Speciation of *Basidiomycetes*: Genetic Control
of Fruiting in *Polyporus ciliatus***

Key Words: *Basidiomycetes*, *Polyporus ciliatus*.—Fruiting, Genetic control, Breeding, Sexuality, Apomixis, Speciation.

Abstract: Using mainly the basidiomycete *Polyporus ciliatus*, we were able to produce fully developed fruitbodies not only in the normal meiotic cycle (teleomorphic = perfect) but in some stocks also in the mitotic cycle (anamorphic = imperfect) of exclusively haploid mycelia. These haploid and mitotic fruitbodies can be distinguished from dikaryotic ones only by microscopic examination, i.e. by their lack of clamp connections, karyogamy and meiosis, the production of two-spored basidia with few, but larger basidiospores. Using three other stocks of isogenic mycelial strains that did not form any fruiting structures from either haploid or dikaryotic mycelia with clamp connections, we could not find any evidence for a “fruiting initiation gene” as was postulated by ESSER & al. (1977). No fruitbodies occurred in compatible combinations within one isogenic stock, but normal fruitbodies are produced abundantly in crossings of different isogenic stocks. We were able to confirm these results with the help of the non-fruiting strains originally used by STAHL & ESSER (1976).—Our experimental results are compatible with the hypothesis suggested by KNIEP (1930): The genetic control of the sexual cycle by the mating type factors A and B on the one hand, and of the fruitbody formation on the other, are essentially independent. For the latter, a multitude of different genes has been proposed. Fruitbody formation thus is a typical polygenic character. The results of experiments on two other morphological characters i.e. primordia and coralloid structures, also correspond with this genetic concept.

¹ Die vorliegende Arbeit enthält Teile (Teil B) einer an der Universität Regensburg abgefaßten Habilitationsschrift. Ein Teil der Isogenisierungs-experimente wurde von Herrn W. SIX im Rahmen einer Staatsexamensarbeit durchgeführt. Weitere Teile dieser Habilitationsschrift finden sich in Z. Mykol. 48 (Teil A sowie Teil CIV) und Plant Syst. Evol. 142 (Teil CI—III).

Seit den Untersuchungen von KNIEP (1911 etc.), BENSAUDE (1918), LEHFELDT (1923), VANDENDRIES (1923 etc.), QUINTANILHA (1933, 1935), PAPAIZIAN (1949, 1950, 1951, 1958) und RAPER (1953 etc.) liegen für heterothallische Basidiomyceten sehr detaillierte Kenntnisse vor über die genetische Kontrolle der Dikaryenbildung und damit korrelierter morphologischer, cytologischer und physiologischer Veränderungen bis hin zu Karyogamie und Meiose in den Basidien reifer Fruchtkörper. Obwohl nach PAPAIZIAN (1950, 1951), OLIVE (1958), RAPER & FLEXER (1970), FINCHAM & DAY (1971), KOLTIN & al. (1972), RAPER & RAPER (1973), die Fruchtkörperbildung an die Dikaryophase gebunden ist, finden sich über die Wirkung genetischer Faktoren auf den eigentlichen Prozeß der Fruchtkörpermorphogenese nur wenige fragmentarische Daten. In gleicher Weise ist die Frage weitgehend unbeantwortet, ob die den sexuellen Vorgang der Dikaryenbildung steuernden Inkompatibilitäts-Faktoren A und B auch regulierend in die Fruchtkörper-Entwicklung eingreifen.

Literaturrückblick. WAKEFIELD (1909) war die erste, die für *Schizophyllum commune* und *Stereum purpureum* in Einsporkulturen eine erbliche, individuell verschiedene Bereitschaft zur Fruchtkörperbildung wahrscheinlich machte. Sie vermutete, daß es sich dabei um „physiologische Rassen“ handele. Ihre Untersuchungsergebnisse standen damit der seit KLEBS (1898, 1899, 1900) und auch heute noch in vielen Lehrbüchern vertretenen Auffassung entgegen, daß nach erfolgter Dikaryenbildung im wesentlichen Umweltfaktoren (vor allem Sauerstoff, Licht und die Zusammensetzung des Nährmediums — im besonderen die Art der Stickstoffquelle — sowie Temperatur, Luftfeuchte und CO₂; zusammenfassende Darstellungen bei LOHWAG 1952, PLUNKETT 1956, EGER 1968, MANACHÈRE 1977) über den Verlauf der Fruchtkörperentwicklung entscheiden. Der erste experimentelle Nachweis von haploider² Fruchtkörperbildung wurde von KNIEP 1919 an *S. commune* erbracht. 1922 wurden von KNIEP haploide Fruchtkörper auch bei *Coprinus fimentarius* (*C. lagopus* s. BULLER)³, *Collybia tuberosa*

² Für die Bezeichnung haploid werden in der Literatur noch häufig die Ausdrücke homokaryotisch und monokaryotisch synonym verwendet. Da in der Natur vorkommende haploide Stämme häufig als Heterokaryen vorliegen und andererseits eine größere Zahl von Pilzen mit mehrkernigen Einspormycelien bekannt sind (vgl. BOLDIN 1971, KÜHNER 1977), wird im folgenden stets der ältere und umfassendere Begriff „haploid“ (KNIEP 1919) gebraucht.

³ Artbezeichnungen: Die in dieser Arbeit aufgeführten Arten wurden, soweit dies möglich war, der jüngsten (4.) Auflage der Mykoflora von MOSER (1978) angeglichen, davon abweichende von den Autoren verwendete Synonyma wurden in Klammern nachgesetzt.

sa, *Oudemansiella mucida* und *Typhula erythropus* in Kultur gefunden und cytologische Parallelitäten zu den aus der Natur isolierten Fruchtkörpern von *Hygrocybe conica* erkannt. Daß auch in der Paarkernphase das Ausreten von Schnallen nicht immer mit einer Entwicklung von Fruchtkörpern verbunden ist, konnte KNIEP (1923) experimentell bei *Schizophyllum commune* nachweisen (vgl. RAPER & KRONGELB 1958). Ein erster Hinweis, daß Erbanlagen spezifisch in die Fruchtkörperbildung eingreifen, wurde unabhängig voneinander durch ZATTLER (1924) an *S. commune* und BRUNSWIK (1924) an *Coprinus congregatus* (*C. ephemerus*, vgl. LANGE 1952) vorgelegt. Zu große morphologische Heterogenitäten in der ersten Tochtergeneration ließen ZATTLER aber zu keiner klaren Aussage kommen. Die von BRUNSWIK untersuchte Art ist schnallenlos und wird in ihrem Kreuzungsverhalten durch zwei Allele eines Kreuzungsfaktors (unifaktoriell — bifaktoriell vgl. Diskussion in PRILLINGER 1982b) kontrolliert. Da cytologische Daten bei BRUNSWIK fehlen, ist ein Vergleich mit Ergebnissen von bifaktoriell kreuzenden, schnallenführenden Arten nur mit Vorbehalt möglich. In einer den Ergebnisstand seiner Zeit zusammenfassenden Darstellung kommt KNIEP (1930) zu dem Schluß, daß das Entstehen eines Fruchtkörpers das Zusammenwirken mehrerer, von den Kreuzungsfaktoren (A und B) unabhängiger Gene im Sinne einer additiven Polygenie zur Voraussetzung habe.

Schwieriger lassen sich Untersuchungen von GREIS (1942) an *Cyphellopsis* (*Solenia*) *anomala* interpretieren. In Anlehnung an HARTMANN (1930, 1931) bezweifelt GREIS die Existenz einer bifaktoriellen Sexualität. Er versucht, dieses Phänomen unter Zuhilfenahme von Sterilitätsgenen auf einen unifaktoriellen Mechanismus zurückzuführen. Eigene Untersuchungen (in AGERER & al. 1980) an *Cyphellopsis anomala* haben gezeigt, daß das Fortpflanzungsverhalten durch Homothallie in Zusammenhang mit Heterokaryose bestimmt wird. Da GREIS allein die Bildung fertiler Fruchtkörper als Zeichen eines Sexualaktes wertete, sind seine Befunde umstritten und heute meist in Vergessenheit geraten.

Während BARNETT & LILLY (1949) bei *Gloeophyllum* (*Lenzites*) *trabeum* einen Zusammenhang zwischen haploider und dikaryotischer Fruchtkörperbildung wahrscheinlich machen, wird ein solcher von RAPER & KRONGELB (1958) bei *Schizophyllum commune* entschieden zurückgewiesen. RAPER & KRONGELB kommen zu dem Schluß, daß das Auftreten von Fruchtkörpern und der Zeitpunkt ihres Erscheinens ganz wesentlich von der genetischen Ausstattung der Kreuzungspartner abhängig sind (vgl. dazu auch JÜRGENS 1958, bei *S. commune* KIMURA & FUJIO 1961 a, b; KIMURA & KADOYA 1962; TAKEMARU & KAMADA 1972 alle bei *Coprinus macrorhizus*; KOMATSU & KIMURA 1964 a, b, 1968 bei

Lentinus edodes; ESSER & al. 1974 bei *Agrocybe aegerita*). Da sich die Bereitschaft zur Fruchtkörperbildung („fruiting-competence“) in haploiden und dikaryotischen Stämmen nicht korrelieren ließ, forderten RAPER & KRONGELB eine genetisch verschiedene Basis für beide Phänomene. Die bei *S. commune* nur sehr selten auftretenden haploiden Fruchtkörperstrukturen wurden als abnorme Mißbildungen interpretiert. Die Hypothese einer genetisch verschiedenen Kontrolle von haploider und dikaryotischer Fruchtkörperbildung wurde in den folgenden Jahren durch eine größere Zahl von Arbeiten über eine Induktion von haploiden Fruchtkörpern weiter erhärtet (LEONARD & RAPER 1969; UNO & ISHIKAWA 1971, 1973); RUSMIN & LEONARD 1978). Verschieden von KNIEP (1930 a) führen WHITEHOUSE (1949), OLIVE (1958), RAPER (1960, 1966), unterstützt durch Vorstellungen über die Phylogenese der Ascomyceten von DE BARY (1884), die Heterothallie der Asco- und Basidiomyceten auf evolutiv ursprünglichere homothallische Vorfahren zurück, welche durch die schrittweise Entwicklung eines Inkompatibilitätssystems selbststeril geworden sind. Das gelegentliche Vorkommen von haploiden Fruchtkörpern („homokaryotic fruits“) in der Natur wurde von RAPER (1960) als ein genetischer Kurzschluß des Inkompatibilitätssystems interpretiert.

STAHL (1976) und STAHL & ESSER (1976) fanden in *Polyporus ciliatus* einen Pilz, dessen Einsporkulturen verschiedene haploide Fruchtkörperstrukturen mit größerer Häufigkeit als bei *Schizophyllum commune* bilden. Seiner genetischen Interpretation des Phänomens der haploiden Fruchtkörperbildung legt STAHL Kreuzungsdaten verschiedener Haplo-Fruchtertypen mit einem Standard-Nichtfruchterstamm zugrunde. Er postuliert ein Gen (fi = fruiting initiation; fi^+ = aktive Form, fi = inaktive Form), welches den genetischen Block der Inkompatibilitätsfaktoren (A, B; Kreuzungsfaktoren im Sinne KNIEPS) aufhebt und sich auch stets phänotypisch in Form von „Stielen“ (clavarioide Fruchtkörperstrukturen) zu erkennen gibt. Da haploide, nach den Kriterien von STAHL & ESSER (1976) definierte, Nichtfruchterstämmen in kompatiblen Kreuzungen teilweise noch dikaryotische Fruchtkörper hervorbrachten, wurde für *Polyporus ciliatus* kein genetischer Zusammenhang zwischen haploidem und dikaryotischem Fruchten gefunden, sondern beide Möglichkeiten als getrennte Wege dargestellt. Das Phänomen der haploiden Fruchtkörperbildung wird von STAHL (1976) als eine Sackgasse in der Evolution interpretiert. In einer nachfolgenden Arbeit über die genetische Kontrolle der Fruchtkörperbildung bei *Agrocybe aegerita* kommen ESSER & MEINHARDT (1977) zu dem Schluß, daß fi^+ -Gene sowohl für die haploide

wie auch für die dikaryotische Fruchtkörperbildung maßgeblich sind. Auch hier beschreiben die Autoren ein phänotypisch erkennbares fi^+ -Gen, welches im Unterschied zu den Stielchenstrukturen bei *Polyporus ciliatus* nur die Ausbildung von Fruchtkörper-Initialen (Primordien) bewirkt. Unmittelbar vor der Fertigstellung unserer Arbeit erschienen drei weitere Arbeiten (LESLIE & LEONARD 1979 a, b; ESSER & al. 1979), welche bei *Schizophyllum commune* zu einem unterschiedlichen Ergebnis kommen. Während ESSER & al. seine bereits oben diskutierte Startergen-Hypothese geringfügig modifiziert und die Existenz von zwei Startergenen (fi_1 , fi_2) postuliert, schließen LESLIE & LEONARD auf eine polygene genetische Kontrolle für die Fruchtkörperinitiationsphase. Letztere Autoren konnten bei haploiden Stämmen zeigen, daß Fruchtkörper entweder spontan oder nach Zugabe chemischer Extrakte („FIS“ aus *Cladosporium cladosporioides*) oder auch aufgrund einer mechanischen Verletzung des Mycels gebildet werden. Die drei Möglichkeiten unterliegen einer genetisch verschiedenen Kontrolle. Eine ausführliche Diskussion, vor allem der in diesem Abschnitt zitierten älteren Literatur zur Genetik der Fruchtkörperbildung, findet sich bei PRILLINGER (1983a).

In der Absicht, die genetische Variabilität verschiedener ökologischer Rassen von *Polyporus ciliatus* zu studieren, stießen wir auf eine Vielzahl haploid fruktifizierender Stämme, deren Fruchtkörperstrukturen, ausgehend von Primordien, alle Übergänge bis hin zu gut sporulierenden Haplo-Fruchtkörpern zeigten. Diese Beobachtung ließ uns nach einer einfacheren Erklärung für die genetische Kontrolle der Fruchtkörperbildung suchen. In Anlehnung an KNIPE (1919, 1929, 1930 a) postulieren wir eine polygene Kontrolle („additive Polygenie“) der Fruchtkörper-Morphogenese sowie eine primäre genetische Unabhängigkeit der Fruchtkörperbildung von den das Sexualverhalten bestimmenden Kreuzungsfaktoren.

Material und Methoden

Es wurden folgende Stämme von *Polyporus ciliatus* (Fr.) ex Fr. f. *lepidus* (Fr.) KREISEL verwendet: Stamm 1: auf *Fagus sylvatica*; BRD, Bayern, NSG. Zwieslerwaldhaus bei Zwiesel; 2. VI. 1976, leg. et det. I. NUSS (1131 b); — Stamm 2: a) auf *Populus tremula*, toter Ast; Fundort wie Stamm 1; 20. IV. 1977, leg. et det. I. NUSS (1228); — b) wie a, benachbarter Fund; leg. et det. I. NUSS (1231); — Stamm 3: auf *Betula pendula*, borkenloser Ast; BRD, Bayern, Mintrachinger Holz bei Mintraching; 2. V. 1977, leg. et det. I. NUSS (1249); — Stamm 4: auf *Prunus spec.*, toter Stamm; Fundort wie bei Stamm 3; 24. IV. 1978, leg. et det. I. NUSS (1427); — Stamm 5: totes Laubholz; Fundort wie bei Stamm 3; 25. IV. 1977, leg. et det. I. NUSS (1246); — Stamm 6: totes Laubholz; Fundort wie bei Stamm 3; 1. VIII. 1977, leg. et det. I. NUSS (1313). — Bei den Stämmen 1 bis 5 handelt es sich um den gewöhnlichen „Maiporling“,

bei Stamm 6 um die kleinere Sommerform (vgl. JAHN 1969). Von den einzelnen Funden finden sich Belege im Herbar von I. NUSS (vgl. Nummern in Klammer) am Lehrstuhl f. Botanik der Universität Regensburg; D-8400 Regensburg.

Von jeder Aufsammlung wurde eine Stammkultur mit 2 verschiedenen Methoden angelegt:

1. Explantatmethode: Aus der Huttrama wurden mit einer sterilen Pinzette kleinere Hyphenstücke entnommen und auf Moser-b-Medium kultiviert.

2. Vielsporisolation: Ein Fruchtkörper wurde mit Vaseline auf den Deckel einer mit einer dünnen Schicht Moser-b-Agar gefüllten Petrischale geklebt und mehrere Stunden zum Sporulieren stehengelassen. Danach wurde der Deckel durch einen zweiten sterilen ersetzt und die Schale wie oben 4–6 Tage kultiviert. Nach Keimung der Sporen und Anwachsen des Mycels wurden Stammkulturen in Schrägagarröhrchen auf Moser-b-Medium angelegt.

Isolation haploider Einspormycelien. Kleinkolonien-Methode (PRILLINGER 1976): Die in sterilen Kunststoffpetrischalen nach dem Sporulieren erhaltenen Basidiosporen wurden in 3–5 ml $\frac{1}{4}$ starker Ringerlösung aufgenommen und in einer Thoma-Zählkammer ausgezählt. Die Suspension wurde so verdünnt, daß pro Petrischale nach Plattieren auf Sorbose-Hefeextract-Agar 30–300 Kleinkolonien anwachsen. — Kulturbedingungen: Dunkelraum, 23 °C, 70 % r. L. F.

Nach 3 Tagen wurden unter dem Stereomikroskop mit einer Impfnadel homogen gewachsene Einspormycelien steril isoliert und auf Moser-b-Medium übertragen. Zur Bestimmung der Keimfähigkeit der Basidiosporen wurden die Sorbose-Hefeextrakt Platten weitere 4 Tage bei Zimmertemperatur bebrütet und anschließend die Kleinkolonien makroskopisch ausgezählt.

Nährmedien: Moser-b-Medium (MOSER 1958, modif.). *Lösung A:* Hefeextrakt 0,2 g, Pepton 2,0 g, KH_2PO_4 0,5 g, $\text{ZnSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$ 1,0 mg, $\text{FeCl}_3 \times 6 \text{H}_2\text{O}$ 10,0 mg, $\text{MnSO}_4 \times 1 \text{H}_2\text{O}$ 5,0 mg, Agar-Agar 20,0 g, dest. H_2O 700 ml; *Lösung B:* Maltose 20,0 g, Glucose 10,0 g, $\text{MgSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$ 0,5 g, Inosit 50,0 mg, Thiamin-HCL 50,0 mg, Biotin 1,9 mg, dest. H_2O 300 ml.

Lösung A 15 Min. bei 121 °C (1 atü) autoklavieren, *Lösung B* 45 Min. im Dampftopf bei 100 °C, danach beide Lösungen steril vereint. Sorbose-Hefeextrakt-Agar: PRILLINGER & ESSER (1977).

Kulturbedingungen: Alle haploiden Kulturen und davon hergestellte Kreuzungen wurden in Kunststoff-Petrischalen (\varnothing 5,5 cm) auf Moser-b-Medium 6 Tage im Dunkelraum bei konstant bleibenden 23 °C und 70 % r. L. F. angezogen. Anschließend wurde bis zur Ausbildung von Fruchtkörperstrukturen (haploide Mycelien) oder sporulierenden Fruchtkörpern (dikaryotische Mycelien) bei 27 °C, 60 % r. L. F. und 300 Lux Dauerlicht (Neonröhren 65 W, weiß) kultiviert. Eine morphologische Charakterisierung haploider Fruchtkörperstrukturen erfolgte nach 15 und 29 Tagen.

Bestimmung der Kreuzungstypen. Die zu testenden haploiden Stämme wurden mit den für die jeweilige ökologische Herkunft festgelegten 4 Kreuzungstyp-Testerstämmen in Kunststoffpetrischalen (\varnothing 9 cm) mit dünner Moser-b-Agarschicht (ca. 8 ml) gekreuzt. Die beiden Impfstücke wurden in einem Abstand von 0,5 cm aufgesetzt und 4 Tage bei 27 °C im Brutschrank bebrütet. Danach wurde ein Deckgläschen aufgelegt und auf Schnallenbildung mikroskopiert. War das Ergebnis nicht eindeutig, wurde aus der Kontaktzone ein Impfstück auf eine weitere Schale übertragen und nach 3 Tagen erneut mikroskopiert. In allen 3956 Fällen wurde auf diese Weise ein eindeutiges Ergebnis erzielt.

Genetische Methoden. Einzelstranganalyse (vgl. ESSER & KUENEN 1965). Ausgewertet wurden jeweils 30—100 Nachkommen pro Kreuzung.

Die Bezeichnung der Generation erfolgt in Anlehnung an KNIEP (1922, 1929): (Großbuchstaben für dikaryotische Mycelgeneration; Kleinbuchstaben für haploide Folgegeneration)

P-Generation = dikaryotische Elterngeneration;

p-Generation = die aus Sporen von P-Fruchtkörpern hervorgegangenen haploiden Mycelien;

F₁-Generation = erste dikaryotische Tochtergeneration, entstanden durch Kopulation zweier haploider Mycelien;

f₁-Generation = haploide Nachkommenschaft aus Sporen von F₁ usw.

Genetische Untersuchungen wurden bei Nachkommen von 3 der 6 verschiedenen ökologischen Aufsammlungen durchgeführt. Da sich für beide Kreuzungsfaktoren multiple Allelie nachweisen ließ, wurde für die Kreuzungsfaktoren der einzelnen Stämme die folgende Symbolik verwendet:

Polyporus ciliatus 1: A₁, A₂ und B₁, B₂;

Polyporus ciliatus 3: A₃, A₄ und B₃, B₄;

Polyporus ciliatus 6: A₅, A₆ und B₅, B₆.

Ergebnisse

1) Auftreten haploider Fruchtkörper bei verschiedenen ökologischen Stämmen von *Polyporus ciliatus*. Die von der heterothallischen Art *P. ciliatus* gebildeten Basidiosporen sind in der Regel einkernig (STAHL 1976), aus diesen hervorgehende Mycelien und Fruchtkörperstrukturen daher schnallenlos und haploid. KNIEP (1919), BRUNSWIK (1924) und ZATTLER (1924) haben bereits gezeigt, daß bei Basidiomyceten die Fähigkeit haploide Fruchtkörper zu bilden von Stamm zu Stamm stark variieren kann. Von uns wurden deshalb Einspormycelien von 6 ökologisch verschiedenen Aufsammlungen von *P. ciliatus* auf die Fähigkeit zur Bildung haploider Fruchtkörper untersucht.

Als Kriterien für haploide Mycelien wurden das Fehlen von Schnallen (KNIEP 1919) und bei fruktifizierenden Stämmen das Auftreten zweisporiger Basidien (STAHL 1976) mit genetisch identischen Nachkommen (KNIEP 1919) verwendet.

Die Ergebnisse sind in Tab. 1 zusammengestellt und erlauben die folgenden Aussagen:

i) Einspormycelien eines dikaryotischen Fruchtkörpers von *Polyporus ciliatus* zeigen in bezug auf die von ihnen unter gleichen Anzuchtbedingungen morphologisch ausgebildeten haploiden Fruchtkörperstrukturen eine sehr hohe genetische Variabilität. Zur morphologischen Charakterisierung erwies sich die folgende Grobgliederung als sinnvoll (vgl. auch Abb. 1): strukturlos: Mycelien ohne jegliche Fruchtkörperstrukturen (Nichtfruchter; Abb. 1 a, b); primordienartig: knollenartige, plektenchymatische Fruchtkörperanlagen

Tabelle 1. Auftreten haploider Fruchtkörperstrukturen bei verschiedenen ökologischen Stämmen von *Polyporus ciliatus*. 1—5 Frühjahrsform; 6 Sommerform; Basidiosporen von Naturisolaten. * Basidiosporen von Kulturfruchtkörper (auf Moser b; 1: Kulturalter 1 Jahr, 2: Kulturalter 2 Jahre); a und b Fruchtkörper von verschiedenen Standorten aus gleichem Biotop. V = Variationskoeffizient. Weitere Angaben s. Text und „Material und Methoden“

Stamm-Nr. und nat. Substrat	Keimfähigkeit der Sporen		Isolierte Ein- spormycelien		Haploide Fruchtkörperstrukturen in %					
	%	V	Σ	ausge- wertet	struk- tur- los	primor- dienartig	clavarioid/ ramarioid	normale Fruchtkörper		
1. (<i>Fagus</i>) * 1	46,2	16	100	99	6	20	20	44	9	
* 2	59,5	3	50	50	0	20	22	46	12	
	35,9	7	50	50	6	24	30	34	6	
2. (<i>Populus</i>) a	50,0	7	33	33	27	45	28		0	
b	47,0	12	33	19	18	12	27		0	
3. (<i>Betula</i>)	98,6	12	33	33	0	3	79		18	
4. (<i>Prunus</i>) *	83,6	3	50	49	0	8	74		16	
	75,9	4	50	50	0	8	80		12	
5. (Laubholz, unbestimmt)	87,0	11	33	33	6	33	61		0	
6. (Laubholz, unbestimmt) (Sommerform)	39,3	7	50	50	0	2	30	64	4	

(Abb. 1c—f); clavarioid: unverzweigte, stielchenartige Strukturen, einzeln oder in Büscheln (Abb. 1g); ramarioid: korallenartig verzweigte Strukturen, gelegentlich mit Hutansatz (Abb. 1h); bei den bisher genannten 4 Typen wurde keine Sporulation beobachtet; normale Fruchtkörper: deutlich in Stiel und Hut mit Hymenium gegliederte, sporulierende Fruchtkörper (Abb. 1i).

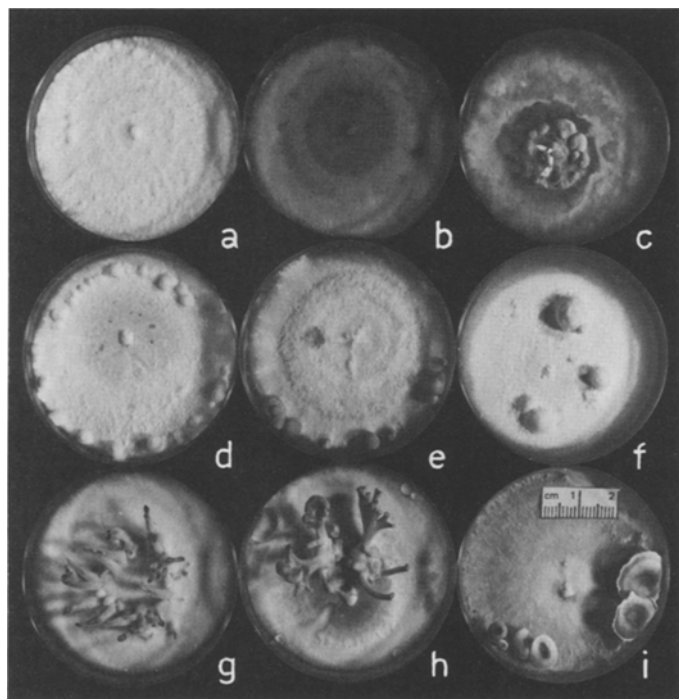


Abb. 1. Verschiedene haploide Fruchtkörperstrukturen auf Einsporkulturen von *Polyporus ciliatus* Stamm 1. Weitere Erklärungen im Text

Gleitende Übergänge zwischen diesen Typen ließen sich bei nicht isogenisierten Stämmen stets feststellen.

ii) Die prozentuale Verteilung dieser haploiden Fruchtkörperstrukturen zeigt deutliche Unterschiede zwischen den ökologisch verschiedenen Stämmen. Vollständig ausgebildete haploide Fruchtkörper traten in größerer Zahl besonders bei von *Betula* und *Prunus* isolierten Stämmen auf.

iii) Innerhalb der Stämme 1 und 4 wurde die prozentuale Verteilung der haploiden Fruchtkörperstrukturen bei Einspormycelien von

Fruchtkörpern aus der Natur und solchen, welche unter Laborbedingungen auf Moser b-Medium kultiviert wurden, verglichen. Die Unterschiede waren nur geringfügig. Bei Stamm 1 wurden diese Untersuchungen 1 und 2 Jahre nach Inkulturnahme wiederholt; Abweichungen von den Daten des Naturisolats waren ebenfalls geringfügig. Für die in Kultur genommenen Dikaryen verschiedener ökologischer Herkunft war ein unterschiedliches Kulturverhalten charakteristisch. Während die Naturisolate 1, 4 und 6 regelmäßig zur Fruchtkörperbildung kamen, blieb bei Stamm 5 und den beiden von *Populus* isolierten Stämmen die Bildung von Schnallenmycel aus. Die sich entwickelnden schnallenlosen Mycelien bildeten keine oder nur mehrminder große clavarioide Strukturen aus.

2) Wachstum und Beginn der Fruchtkörperbildung bei Einspormycelien von *Polyporus ciliatus*. Im Unterschied zu *Schizophyllum commune* (KNIEP 1919) ist die zeitliche Abfolge der Fruchtkörperbildung bei *P. ciliatus* wie bei *Coprinus ephemerus* (BRUNSWIK 1924) bei haploiden und dikaryotischen Fruchtkörpern sehr ähnlich. Die folgenden Untersuchungen sollten zeigen, ob sich zwischen den verschiedenen Typen von haploiden Fruchterstämmen mit dem Mycelwachstum einerseits, andererseits mit dem Beginn der Fruchtkörperbildung Korrelationen beobachten lassen. Für die Untersuchungen wurden 148 Einsporkulturen von Stamm 1 ausgewählt, das Ergebnis ist in Tab. 2 zusammengestellt. Es zeigt eindeutig, daß zwischen der Geschwindigkeit des vegetativen Mycelwachstums und der Fähigkeit haploide Fruchtkörperstrukturen auszubilden, kein direkter Zusammenhang besteht. Es finden sich für die drei festgelegten Wachstumsgeschwindigkeitsklassen (schnell: Kunststoffpetrischalen mit Moser b-Medium Ø 5,5 cm innerhalb von 8—9 Tagen mit Mycel vollständig bedeckt; mittel: 10—11 Tage; langsam: 12 Tage und darüber) sowohl Vertreter von Nichtfruchterstämmen als auch alle Typen von Fruchterstämmen. Ein ähnliches Bild zeigt der Beginn der Fruchtkörperbildung (früh: Eintreten der Primordienbildung innerhalb von 8 Tagen; mittel: 10—11 Tage; langsam: 12 Tage und darüber). Sie ist in keiner Weise an die im folgenden ausgebildete haploide Fruchtkörperstruktur gebunden. Der Prozentsatz an früh mit der Fruktifikation beginnenden Stämmen ist für die drei gewählten Fruchterklassen „primordienartig“, „clavarioid“ und „ramarioid“ etwa gleich niedrig. Daß hierbei für die Klasse mit normal ausgebildeten Fruchtkörpern keine rasch fruktifizierenden Stämme gefunden wurden, ist wohl lediglich ein Problem der statistischen Signifikanz und auf die geringe Gesamtzahl von Vertretern (8%), mit der diese Klasse in der Untersuchung vertreten war, zurückzuführen.

Tabelle 2. Wachstumsgeschwindigkeit und Beginn der Fruchtkörperbildung von haploiden Einsporkulturen bei *Polyporus ciliatus*. Der Beginn der Fruchtkörperbildung wurde mit dem Auftreten erster makroskopisch erkennbarer Primordienanlagen festgelegt. Weitere Erläuterungen im Text und in „Material und Methoden“

Fruchtkörperstrukturen haploider Einspormycelien von <i>P. ciliatus</i> Stamm 1 (<i>Fagus</i>) (Angaben in % der 148 Isolate)							
		Struktur- los	Primordien- artig	Clavarioid	Ramarioid	Normale Fruchtkörper	
Mycelwachstum	langsam	schnell	1	7	18	7	3
		mittel	3	10	10	10	3
		langsam	3	5	3	7	3
	Gesamt		8	22	30	34	8
Beginn der Fruchtkörperbildung	früh	—	1	2	3	0	
	mittel	—	12	17	20	3	
	spät	—	9	12	11	5	

3) Isogenisierung haploider Fruchter- und Nichtfruchterstämme. Zu der im folgenden durch fortlaufende Inzucht vorgenommenen Isogenisierung wurden vier verschiedene Typen von Haplomycelien ausgewählt: a) Haplo-Fruchtkörper (Abb. 1*i*), b) clavarioiden Strukturen (Abb. 1*g*), c) primordienartige Strukturen (Abb. 1*f*) und d) Nichtfruchterstämme (Abb. 1*a*). Als Kriterium für die Isogenität bezüglich der genannten morphologischen Merkmale wurde das Auftreten gleicher oder zumindest sehr ähnlicher Strukturen in schnallenlosen Haplomycelien und schnallenbildenden dikaryotischen Kreuzungsmycelien festgelegt. Bei Haplomycelien mit normaler Fruchtkörperbildung kam als zusätzliches Kriterium das Auftreten einer morphologisch identischen Nachkommenschaft aus haploiden Fruchtkörpern mit mitotischen Basidiosporen zur Anwendung.

Das Fortpflanzungsverhalten von *Polyporus ciliatus* wird durch zwei Faktoren mit jeweils multiplen Allelen gesteuert (VANDENDRIES 1936, STAHL 1976). Ob die beiden Kreuzungsfaktoren A und B jeweils aus genetisch gekoppelten Untereinheiten aufgebaut sind, wie dies inzwischen für einige Basidiomyceten nachgewiesen wurde, ist nicht bekannt (*Schizophyllum commune*: KNIEP 1923, PAPAZIAN 1951; *Flammulina velutipes*: ZÄTZLER 1924, TAKEMARU 1957, 1961; zusammenfassende Darstellung bei RAPER 1966). Das Auftreten eines neuen Kreuzungsfaktoralleles innerhalb der Nachkommenschaft eines Fruchtkörpers aufgrund eines Rekombinationsereignisses zwischen den beiden genetischen Untereinheiten wurde von STAHL (1976) nicht beobachtet.

a) Haplo-Fruchtkörper: Da normal ausgebildete haploide Fruchtkörper bei Einspormycelien der sechs ökologischen Herkünfte nur in relativ geringer Zahl auftraten (s. Tab. 1), wurde das Vorliegen von multipler Allelie für die beiden Kreuzungsfaktoren und damit eine uneingeschränkte Kreuzbarkeit von Haplomycelien aus verschiedenen ökologischen Stämmen für die Isogenisierung ausgenutzt. Als p-Generation wurden zwei Nachkommen von Stamm 3 und ein Nachkomme von Stamm 6 (vgl. Tab. 1) ausgewählt. Alle drei Stämme sind durch regelmäßig ausgebildete gut sporulierende Haplo-Fruchtkörper charakterisiert.

Junge Basidien dieser Fruchtkörper sind einkernig und bilden nach einer mitotischen Kernteilung im Verlauf ihrer weiteren Entwicklung zwei und häufig auch eine Basidiospore aus. Sie sind von den viersporigen Basidien dikaryotischer Fruchtkörper mikroskopisch gut zu unterscheiden (Abb. 4). Diese nach Differential-Interferenzkontrast und Phasenkontrast-Mikroskopie gewonnenen Daten stimmen mit den cytologischen Befunden von STAHL (1976) gut überein. Alle Nachkommen von jeweils 20 solcher mitotischer Basidiosporen waren morphologisch und in ihrem Kreuzungstyp mit dem Elternstamm identisch. Die Keimfähigkeit dieser Basidiosporen der beiden Nachkommen von Stamm 3 lag zunächst bei 44–46 % (dikaryotisches Naturisolat 98,6 %, vgl. Tab. 1) und sank nach einer weiteren mitotischen Generation auf 10–11 %; sie änderte sich danach aber nur mehr unwesentlich. Dieser stufenweise Abfall der Keimfähigkeit mitotischer Basidiosporen wurde bei keinem der aus den folgenden Isogenisierungskreuzungen erhaltenen Haplo-Fruchtkörpern mehr gefunden. Die ermittelten Keimungsraten lagen stets zwischen 10 und 20 % und ließen keine signifikanten Unterschiede erkennen.

Für die beiden zunächst ausgewählten Haplo-Fruchter von Stamm 3 war neben deutlichen morphologischen Unterschieden auch eine ausgeprägte Differenz im Beginn der Fruchtkörperbildung charakteristisch. Während bei einem Stamm die Fruchtkörpermorphogenese bereits nach 9 Tagen einsetzte und meist nach insgesamt 11 Tagen abgeschlossen war, trat diese bei dem zweiten Stamm erst nach 14–18

Tagen auf. Da sich dieses Merkmal ebenso bei der Bildung dikaryotischer Fruchtkörper (P-Generation) als auch in der folgenden haploiden f_1 -Generation nach Kreuzung mit dem Haplo-Fruchter von Stamm 6 ausprägte, wurde für die weitere Isogenisierung nur die rascher fruktifizierende Linie verfolgt (vgl. ESSER & al. 1974). Diese war zusätzlich durch einen höheren Prozentsatz an normal ausgebildeten Haplo-Fruchtkörpern (Tab. 3: 36 gegenüber 31 in der f_1 -Generation) gekennzeichnet. Unter den 11 ausgewählten Haplo-Fruchtern der f_1 -Generation

Tabelle 3. Verlauf der Isogenisierung über 7 Generationen bei Haplomycelien mit normal ausgebildeten Fruchtkörpern von *Polyporus ciliatus*

Generation	Einspor- mycelien isoliert	Haploide Fruchtkörperstrukturen in %			
		struktur- los	primordien- artig	clavarioid/ ramarioid	normale Fruchtkörper
p_1 -Gen. (Stamm 6)	50	0	2	94	4
p_2 -Gen. (Stamm 3)	33	0	3	79	18
f_1 -Gen.	49	4	20	45	31
	50	0	10	54	36
f_2 -Gen.	25	0	12	40	48
	25	0	0	40	60
f_3 -Gen.	25	0	8	16	72
	25	0	0	24	76
f_4 -Gen.	31	0	0	20	80
	31	0	0	13	87
f_5 -Gen.	28	0	0	0	100
	28	0	0	0	100
f_6 -Gen.	30	0	0	0	100
	30	0	0	0	100

waren bereits alle vier Kreuzungstypen (vgl. Abb. 2) vertreten, vier davon dienten als Testerstämme zur Festlegung der Kreuzungstypen für alle folgenden Generationen. Zur weiteren Isogenisierung wurden aus jeder haploiden Tochtergeneration (f_1 — f_6) je zwei voneinander unabhängige dikaryotische F-Generationen zur Bildung von Fruchtkörpern angesetzt. Der Verlauf dieser Isogenisierung ist in Tab. 3 festgehalten. Nach den oben festgelegten Kriterien waren die Nachkommen der 7. Generation morphologisch isogen. Abb. 6a zeigt die Fruchtkörper der haploiden p-Generation und des dikaryotischen

Kreuzungs- typen	Einspor- kultur	$A_3 B_3$				$A_3 B_5$	$A_5 B_3$	$A_5 B_5$				
		M_6	M_7	M_{24}	M_{39}	M_{12}	M_2	M_{14}	M_8	M_{30}	M_{35}	M_{40}
$A_3 B_3$	M_6							SB	SB	SB	SB	SB
	M_7							SB	SB	SB	SB	SB
	M_{24}							SB	SB	SB	SB	SB
	M_{39}							SB	SB	SB	SB	SB
$A_3 B_5$	M_{12}						SB					
$A_5 B_3$	M_2						SB					
$A_5 B_5$	M_{14}	SB	SB	SB	SB							
	M_8	SB	SB	SB	SB							
	M_{30}	SB	SB	SB	SB							
	M_{35}	SB	SB	SB	SB							
	M_{40}	SB	SB	SB	SB							

Abb. 2. Ermittlung der 4 Kreuzungsfaktoren in der haploiden Nachkommen-
schaft eines Hybridfruchtkörpers von Stamm 3 und 4 von *Polyporus ciliatus*. —
SB = Schnallenbildung

Kreuzungsproduktes (P-Generation). In Abb. 6b sind die Fruchtkörper der isogenen dikaryotischen F_7 im Vergleich zu denen der beiden haploiden Kreuzungspartner aus der f_6 -Generation dargestellt. In Abb. 7a und 7c sind jeweils neun Nachkommen aus mitotischen Basidiosporen der beiden haploiden Elternstämme aus Abb. 6b wiedergegeben. Die Nachkommen aus den meiotischen Basidiosporen des Kreuzungsproduktes sind in Abb. 7b gezeigt. Während alle mitotischen Haplo-Fruchtkörperstämme genetisch durch den Kreuzungstyp des Elternstammes ($A_5 B_3$ oder $A_3 B_5$) charakterisiert waren, traten bei den meiotischen Nachkommen die vier möglichen Kreuzungstypkombinationen in etwa gleichem Verhältnis auf. Von 36 untersuchten Stämmen waren 12 vom Typ $A_3 B_3$, 7 vom Typ $A_3 B_5$, 8 vom Typ $A_5 B_3$ und 9 vom Typ $A_5 B_5$.

Abb. 7 zeigt sehr deutlich, daß die Größe und Zahl der pro Petrischale gebildeten Fruchtkörper sich zueinander annähernd umgekehrt proportional verhalten. Treten große Fruchtkörper auf, so ist ihre Zahl



Abb. 3. Isogenisierung von clavarioiden-ramarioiden Fruchtkörperstrukturen mit haploiden Mycelien bei *Polyporus ciliatus*. F_{12} - und f_{12} -Generation: links und rechts unten: haploide Kreuzungspartner; Mitte oben: dikaryotischer Kreuzungsfruchtkörper. Weitere Erklärungen im Text

stets klein, werden hingegen zahlreiche Fruchtkörper gebildet, so sind diese immer von deutlich kleinerem Habitus. Dieser, auf ein Aufbrauchen eines während der vegetativen Mycelphase gebildeten Reservedepots hinweisende Effekt, ließ sich stets mit genetisch identischen mitotischen Haplo-Fruchterstämmen reproduzieren (vgl. ROBERT 1977 a, b).

b) Clavarioide Strukturen: Clavarioide bis ramarioide haploide Fruchtkörperstrukturen traten in Einsporkulturen als Nachkommen der sechs ökologischen Rassen mit großer Häufigkeit auf (Tab. 1). Ein in analoger Weise zu den Haplo-Fruchtkörperstämmen durchgeführter Isogenisierungsversuch brachte bei clavarioiden Haplomycelien von Stamm 1 (Abb. 1g) nach zehn vorgenommenen Isogenisierungsschritten noch nicht das erwartete Ergebnis. Obwohl sich alle Nachkommen der dikaryotischen F_8 — F_{10} -Generationen bereits morphologisch weitgehend glichen, bildeten sie in kompatiblen Kombinationen stets noch fertile, normal ausgebildete Fruchtkörper aus (vgl. STAHL 1976, „fi“-

Stämme). Wir haben daraufhin von drei verschiedenen Kreuzungsfruchtkörpern 150 Nachkommen auf weitere, weniger deutlich erkennbare Merkmale untersucht. Wir stießen dabei auf zwei morphologisch faßbare Merkmale. Bei ersterem ließ sich nach genauerer Beobachtung zeigen, daß die clavarioiden Strukturen bei etwa der Hälfte der Nachkommen (f_{10}) auf einem schmalen, dicht verwobenen Mycelfilz standen, während dieser bei der anderen Hälfte fehlte. Für das Merkmal ließ sich eine eindeutige Kopplung mit dem A-Faktor nachweisen. Von 145 haploiden Mycelien hatten 63 mit diesem Merkmal das Allel A_1 gemeinsam, während 75 Mycelien ohne dieses Merkmal das Allel A_2 aufweisen. Ein Rekombinationsereignis („crossing over“) zwischen dem neuen Merkmal und dem Allel A_1 ließ sich in 6 Fällen, eines ohne dieses Merkmal und dem Allel A_2 in einem Fall nachweisen. Das zweite, zunächst stets übersehene, Merkmal fiel erst nach wiederholter Anzucht der haploiden f_{10} -Generation auf. Während ein Teil auch nach mehrmaliger Anzucht stets clavarioide Strukturen ausbildete, traten bei einem anderen Teil nur mehr kräftigere primordienartige Gebilde auf.

Berücksichtigt man die beiden neu gewonnenen Merkmale, kommt man zu dem in Abb. 3 dargestellten Ergebnis. In drei voneinander unabhängigen Kreuzungen bildeten die entstandenen Dikaryen nur mehr letzte Rudimente von Hüten aus. Da sehr ähnliche Strukturen bereits innerhalb der Variationsbreite der haploiden Stämme liegen, ist die Frage, ob es sich bei den im Dikaryon etwas deutlicher ausgebildeten Hutstrukturen nur um einen Gen-Dosis-Effekt zweier isogener, vermutlich pleiotroper natürlicher Fruchtkörperdefektmutationen oder um eine koordinierte Transkription zweier eng gekoppelter Gene handelt, nicht eindeutig geklärt.

Abb. 4. Basidien aus dikaryotischen und haploiden Fruchtkörpern von *Polyporus ciliatus*. — a) 4sporige Basidie aus dikaryotischem Fruchtkörper im Stadium der Sporenbildung (Hymeniumquetschpräparat, Durchlicht). — b) 2sporige Basidie aus haploidem Hymenium (Quetschpräparat in 10 % KOH; Differential-Interferenzkontrast)

Abb. 5. Morphologisch isogene haploide Primordienstämme von *Polyporus ciliatus*. a) Haploide Mycelien der 4 Kreuzungstypen. b) Kreuzung isogener haploider Stämme: links und rechts unten: haploide Kreuzungspartner; Mitte oben: resultierendes Dikaryon

Abb. 6. Isogenisierung von haploiden Mycelien mit normal ausgebildeten Fruchtkörpern von *Polyporus ciliatus*. — a) p- und P-Generation; links unten Haplofruchtkörper Stamm 3; rechts unten Haplofruchtkörper Stamm 6; Mitte oben: dikaryotischer Hybridfruchtkörper. — b) isogene f_6 - und F_6 -Generation; links und rechts unten die beiden isogenen Kreuzungspartner; Mitte oben: dikaryotischer Kreuzungsfruchtkörper

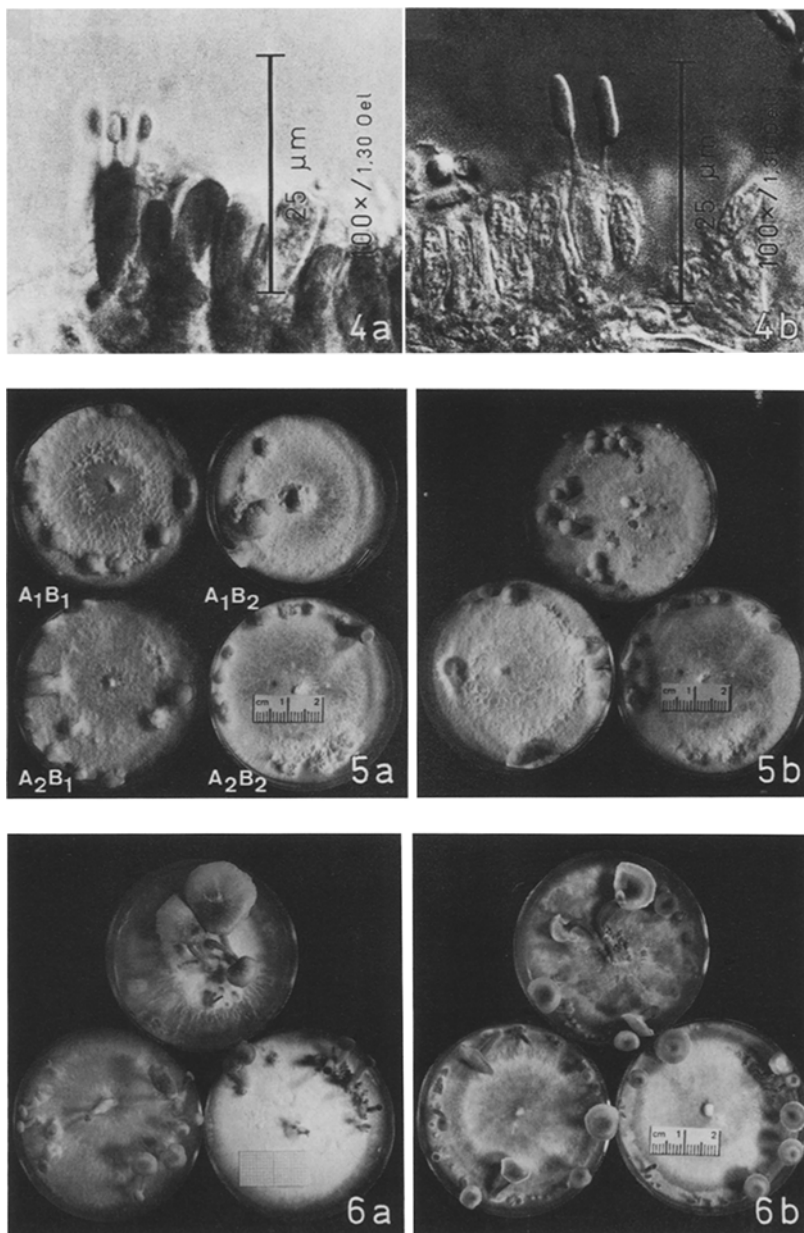


Abb. 4—6

c) Primordienartige Strukturen: Die Gruppe mit primordienartigen Strukturen ist besonders bei Stamm 1 (Tab. 1, Abb. 1 c—f) in konstant hohem Prozentsatz vertreten. Eine Zuordnung zu dieser Gruppe erwies sich in den folgenden Untersuchungen aber oft als schwierig, da einige Stämme nach wiederholter Anzucht nicht die geforderte morphologische Konstanz des Merkmals erkennen ließen, andere dagegen in der Nachkommenschaft von Kreuzungs-Fruchtkörpern nicht mehr auftraten. Um die aufgrund dieser Ergebnisse vermutete größere Gruppe von mehr oder weniger unspezifischen Defektmutanten auszuschalten, haben wir verschiedene „Primordien“-Stämme mit Nichtfruchter-Stämmen 2—3mal gekreuzt. Eine unter dieser Nachkommenschaft mit großer Regelmäßigkeit auftretende Gruppe von „Primordien“-Stämmen mit deutlich knollenartigen, weißen plektenchymatischen Strukturen (Abb. 1 d und f) wurde einer weiteren Isogenisierung unterzogen. Die Stämme erwiesen sich nach drei Inzuchtgenerationen sowohl im schnallenbildenden Dikaryon als auch in den haploiden Monokaryen als morphologisch isogen (Abb. 5).

d) Nichtfruchter-Stämme: Der von STAHL (1976) gewählte Begriff „Nichtfruchterstämme“ wurde auch in dieser Arbeit beibehalten, um dem Leser einen einfacheren Vergleich mit der von ESSER und Mitarbeitern vertretenen „fi-Gen-Hypothese“ zu ermöglichen. Dieser Begriff ist aus phylogenetischer Sicht ungenau, da er sich nur auf das Merkmal der Fruchtkörperbildung und nicht auf das Vorhandensein sporulierender Basidien bezieht. Daß auch „Nichtfruchter-Stämme“ trotzdem fertile Basidien auf ihrem Mycel bilden können, wurde von KNIPE bei *Armillariella* (*Armillaria*) *mellea* bereits 1911 gezeigt. Die für diese Arbeit ausgewählten Nichtfruchter-Stämme sind durch das Fehlen jeglicher makroskopisch erkennbarer Fruchtkörperstrukturen in der Haplophase charakterisiert (Abb. 1 a, b). Sie waren bei den verschiedenen ökologischen Herkünften mit Ausnahme eines Stammes von *Populus* (vgl. Tab. 1) meist nur in sehr geringer Zahl vertreten. Einsporkulturen dieses Stammes zeigten aber häufig nach mehrmaliger Anzucht ein Ausbleiben der Schnallenbildung in ursprünglich kompatiblen Kombinationen und wurden deshalb für die weiteren Untersuchungen nicht berücksichtigt.

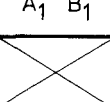


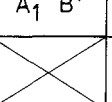




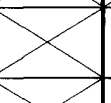












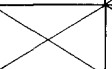
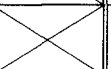


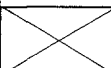
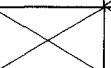
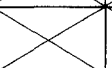
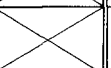







Isogenisiert wurden zwei unabhängige Linien von Nichtfruchter-Stämmen aus der Nachkommenschaft von Stamm 1 sowie einige weitere Stämme, welche im Verlauf der Isogenisierungskreuzungen der oben genannten Strukturen anfielen. Von den beiden isogenisierten Linien von Stamm 1 wurde die erste direkt nach fortlaufender Inzucht aus Nichtfruchter-Stämmen der f_1 -Generation gewonnen. Die zweite Linie stammt aus der Gruppe von Nichtfruchter-Stämmen, welche bei

der Isogenisierung der primordienartigen Strukturen anfiel. Schon nach vier bzw. fünf Inzuchtgenerationen konnte eine größere Zahl von Stämmen gewonnen werden, welche nur schnallenbildende Dikaryen, aber keine Fruchtkörperstrukturen erkennen ließen (Abb. 8 a). Daß in unseren Untersuchungen das Kriterium der Isogenität ausschließlich auf die Ausprägung gleicher oder morphologisch sehr ähnlicher Strukturen in Mono- und Dikaryen zu beziehen ist, wurde in Kreuzungen der isogenen Nichtfruchter-Stämme mit Primordien-Stämmen augenscheinlich. In einer derartigen Nachkommenschaft traten 3 verschiedenen pigmentierte Nichtfruchter-Stämme auf. Diese erwiesen sich alle als morphologisch isogen und bildeten in Rückkreuzungen mit dem Nichtfruchter-Elternstamm zwar Dikaryen mit Schnallen, aber keine Fruchtkörper aus.

Im Unterschied zu allen übrigen vom Naturisolat des Stammes 1 gewonnenen Einspormycelien und auch zu allen folgenden Kreuzungsanalysen (bisher ca. 4500) ließ sich in der erstgenannten Nichtfruchter-Linie ein vermutlich durch Rekombination genetisch veränderter B-Faktor (B* in Tab. 4) nachweisen. Nachkommen mit einem rekombinierten B-Faktor bildeten stets mit 2 der 4 für den Stamm 1 festgelegten Kreuzungstyp-Testerstämmen Schnallen aus. Daß es sich bei dem Stamm mit dem B*-Faktor um eine Rekombinante und keine Mutante handelt, konnte in Kreuzungen mit der zweiten von Stamm 1 gewonnenen Nichtfruchter-Linie sichergestellt werden: Bei der Auswertung von 30 Nachkommen der Kreuzung $A_1B^* \times A_2B_2$ ließ sich in 5 Einspormycelien wieder der Faktor B_1 nachweisen.

4) Die Frage nach „fi“- und „fb“-Genen. Das Auftreten von verschiedenen isogenen Nichtfruchter-Stämmen, welche innerhalb einer Linie schnallenbildende, fruchtkörperlose Dikaryen, zwischen getrennten Linien dagegen Dikaryen mit normaler Fruchtkörperbildung ausbilden (Tab. 4), steht im Widerspruch zu der von ESSER & MEINHARDT (1977) und ESSER & al. (1977) gegebenen Erklärung für die genetische Kontrolle der Fruchtkörperbildung oder macht zumindest eine Annahme zusätzlicher, supprimierender oder modifizierender Gene nötig. Da STAHL & ESSER (1976) bei ihren Untersuchungen nicht von dem von uns geforderten Isogenitätskriterium ausgingen, sondern ihrer Interpretation Kreuzungsdaten von Nichtfruchter-Stämmen mit verschiedenen „monokaryotischen Fruchttypen“ zugrunde legten, wurde uns eine weitere Abklärung der Fragestellung durch das freundliche Überlassen ihrer Nichtfruchter-Stämme ermöglicht. Die Kreuzungsexperimente ließen sich aufgrund des Vorliegens von multipler Allelie in beiden Kreuzungsfaktoren zunächst einfach durchführen. Alle von uns isogenisierten Nichtfruchter-Stämme bildeten mit den vier Kreuzungs-

Tabelle 4. Drei verschiedene isogene Nichtfruchter-Linien von *Polyporus ciliatus*. Weitere Erläuterungen im Text und Material und Methoden. Linie 1: Kreuzungsfaktoren A_1B_1 , A_2B_2 , A_2B_1 ; Linie 2: Kreuzungsfaktoren A_1B^* , A_2B^* ; Linie 3: Kreuzungsfaktoren A_3B_3

	Kreuzungs- typen	$A_1 B_1$	$A_2 B_2$	$A_2 B_1$	$A_1 B^*$	$A_2 B^*$	$A_3 B_3$
Fagus	$A_1 B_1$						
	$A_2 B_2$						
	$A_2 B_1$						
	$A_1 B^*$						
	$A_2 B^*$						
Betula	$A_3 B_3$						

typen der fi- und fb-Stämme (Nichtfruchter) gut ausgebildete dikaryotische Fruchtkörper aus. Da die von STAHL (1976) isolierten Nichtfruchter-Stämme das von uns gestellte Isogenitätskriterium noch nicht erfüllten und in einem geringen Prozentsatz in kompatiblen Kreuzungen selbst Fruchtkörper ausbildeten (STAHL, pers. Mitteilung), haben wir aus den STAHL'schen *Polyporus*-Stämmen nach unseren Kriterien isogene Nichtfruchter-Stämme hergestellt und das Experiment wiederholt. Das Ergebnis ist in Abb. 8 dargestellt und bestätigt die bereits mit eigenen Isolaten in Tab. 4 gefundenen und zusammengefaßten Daten.

Abb. 7. Isogene Haplofruchterstämme von *Polyporus ciliatus*. Nachkommen von mitotischen (a, c) und meiotischen (b) Basidiosporen. Nachkommen aus der isogenen f_6 - (mitotisch) und F_6 - (meiotisch) Generation (vgl. Abb. 6b). Links und rechts: mitotische Nachkommen der beiden haploiden Elternstämme (f_6); Mitte: meiotische Nachkommen des aus den beiden Elternstämmen hergestellten Dikaryons (F_6). Weitere Erklärungen im Text

Abb. 8. Kreuzungen innerhalb und zwischen verschiedenen morphologisch isogenen Nichtfruchter-Linien von *Polyporus ciliatus*. a) isogene *Fagus*-Linie: links und rechts unten: haploide Kreuzungspartner, Mitte oben: Dikaryon (vgl. Tab. 4; inneres Feld). b) fertile Dikaryen der 4 Kreuzungstypen des isogenisierten fi- und fb-Stammes (Bochum) mit einem haploiden Nichtfruchterstamm aus 8a. Die reziproken Kreuzungen erbrachten dasselbe Ergebnis. c) isogene fi- und fb-Linie (*P. ciliatus*; Bochum). Anordnung wie 8a

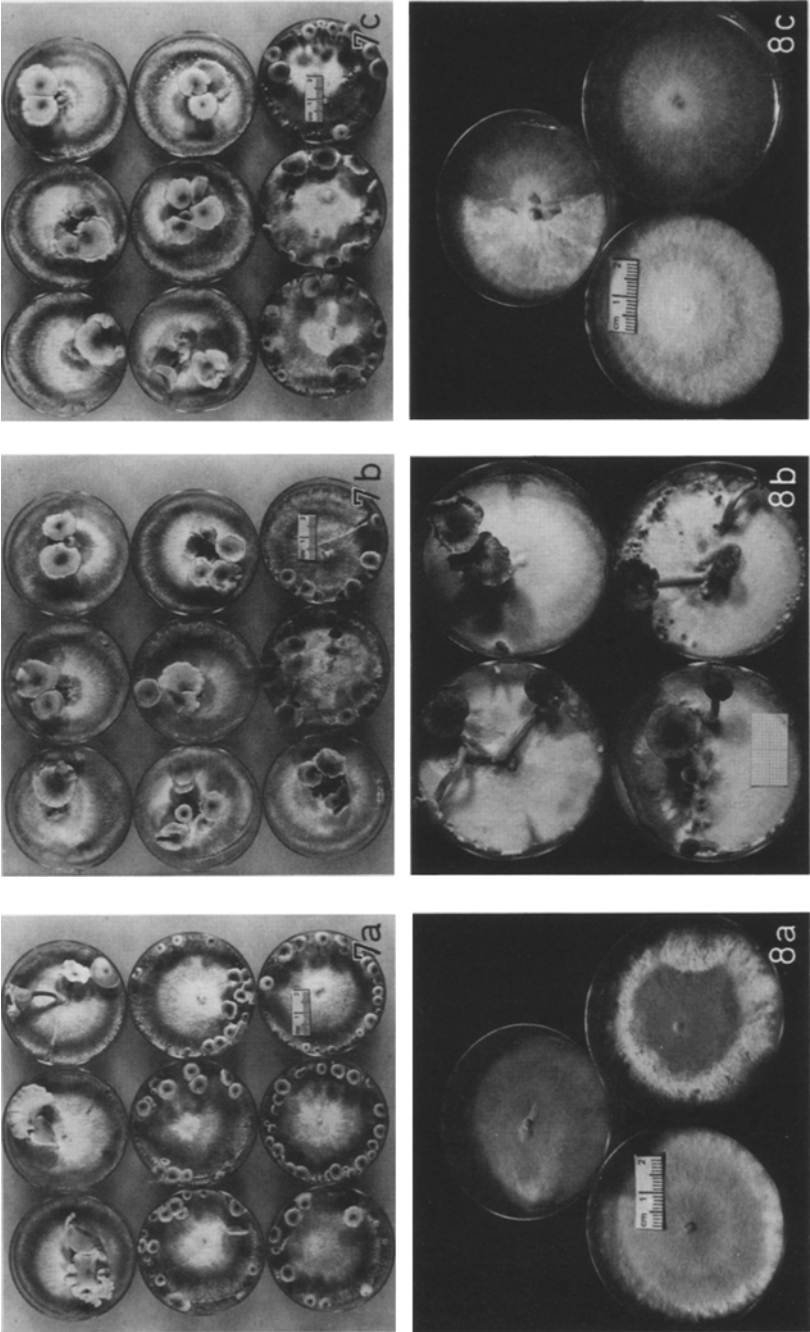


Abb. 7 und 8

Eine erste genetische Analyse der haploiden f_1 -Generation einer Kreuzung eines isogenen Nichtfruchter-Stammes (A_2B_2 ; Tab. 4) mit dem isogenen STAHL'schen Nichtfruchter-Stamm weist sehr deutlich auf 2 ungekoppelte Nichtfruchter-Gene hin. Von 30 ausgewerteten Einspormycelien entsprachen 15 den Elterntypen ($P_1:P_2 = 6:9$), 15 weitere waren als Rekombinationstypen keiner eindeutigen Klasse zuzuordnen (2 clavarioid, 8 ramarioid, 5 Stämme ließen deutliche Ansätze zur Hutbildung erkennen). Eine Analyse der Nachkommenschaft der beiden *Fagus*-Isolate ($A_2B_2 \times A_1B^*$; Tab. 4) weist hingegen auf eine Kopplung der beiden Nichtfruchter-Gene hin. 35 Elterntypen ($P_1:P_2 = 19:16$) stehen nur 12 Rekombinationstypen (5 primordienartig, 2 clavarioid und 5 clavarioid mit Hutansatz) gegenüber. Die morphologische Heterogenität unter den Rekombinanten weist darauf hin, daß sich die beiden isogenen Nichtfruchter-Linien noch in einer größeren Zahl von weiteren Genen unterscheiden. Eine genauere genetische Charakterisierung wird somit erst nach einer gegenwärtig noch laufenden Isogenisierung der beiden Nichtfruchter-Linien möglich.

Diskussion

Ziel der von uns ausgeführten Untersuchungen war es, die bereits von KNIEP (1919, 1922, 1929, 1930 a) geäußerten Vorstellungen über die genetische Kontrolle der sexuellen Fortpflanzung und Fruchtkörperbildung durch experimentelle Daten zu stützen. KNIEP (1922, 1930 a) weist in seinen Untersuchungen an verschiedenen Basidiomyceten das Phänomen der Selbststerilität bei Hymenomyceten (WHITEHOUSE 1949, PAPAZIAN 1951, OLIVE 1958, ESSER & KUENEN 1965, RAPER 1966) als einen, den höheren Pflanzen analogen „negativen Sexualmechanismus“ scharf zurück und bezeichnet die das Kreuzungsverhalten kontrollierenden Gene als „Kreuzungs-“ oder „kopulationsbedingende Faktoren“. Da die im experimentellen Teil dargelegten Untersuchungen weitgehend die Vorstellungen KNIEPs stützen, wurde auch von uns der Begriff „Kreuzungsfaktoren“ anstelle von „Inkompatibilitätsfaktoren“ und „bifaktorielle Sexualität“ anstelle von „homogener Inkompatibilität“ nach dem tetrapolaren Mechanismus (vgl. ESSER & KUENEN 1965) verwendet. Wird das Sexualverhalten hingegen nur von einem Faktor genetisch bestimmt, wird von „unfaktorieller Sexualität“ anstelle von „homogener Inkompatibilität“ nach dem bipolaren Mechanismus gesprochen. Das Vorgehen wird in zwei weiteren Arbeiten noch eingehender begründet (PRILLINGER 1982b, 1983b). Das von uns zur Erklärung der Fruchtkörperbildung verfolgte Arbeitskonzept einer additiven Polygenie unterscheidet sich von einer von ESSER und Mitarbeitern (STAHL 1976, STAHL & ESSER 1976, ESSER & MEINHARDT 1977, ESSER & al. 1977, 1979) ausgearbeiteten Arbeitshypothese, die von einem die Fruchtkörperbildung auslösenden Startergen (fi^+) ausgeht. Von ESSER und Mitarbeitern wird als Voraussetzung für die

Fruchtifikation von haploiden und dikaryotischen Stämmen aufgrund ihrer Untersuchungen die Existenz eines zentralen Startergens (fi^+) abgeleitet. Dieses Startergen ist in den bisher eingehender untersuchten Arten von *Polyporus ciliatus* (STAHL 1976, STAHL & ESSER 1976), *Agrocybe aegerita* (ESSER & MEINHARDT 1977) und *Schizophyllum commune* (ESSER & al. 1979) auch phänotypisch in Form von makroskopisch erkennbaren morphologischen Strukturen in haploiden (monokaryotischen) Stämmen ausgeprägt. Während für die beiden ersten Arten bisher nur ein Startergen postuliert wurde, werden für *S. commune* zwei verschiedene Gene gefordert. Morphologisch sind diese Gene bei *Polyporus ciliatus* durch stielchenförmige (clavarioide) Strukturen, bei *Agrocybe aegerita* durch stecknadelkopfgroße Fruchtkörperinitialen und bei *Schizophyllum commune* ebenfalls jeweils durch Fruchtkörperinitialen erkennbar. Für die beiden Startergene von *S. commune* wird ein synergistischer Effekt, welcher im gemeinsamen Dikaryon zu kräftiger ausgebildeten stielchenartigen Strukturen führt, wahrscheinlich gemacht. Für die große morphologische Mannigfaltigkeit von haploiden Fruchtkörperstrukturen wird von ESSER und Mitarbeitern eine größere Zahl von modifizierenden fb^+ -Genen postuliert. Letztere sollen aber nur im Gegenwart eines aktiven fi^+ -Gens zu ihrer morphologischen Ausprägung kommen.

Während es bei *Polyporus ciliatus* experimentell nicht gelang, haploide und dikaryotische Fruchtkörperbildung auf die gleiche genetische Information zurückzuführen (STAHL & ESSER 1976), wird dies von ESSER & MEINHARDT (1977) bei *Agrocybe aegerita* berichtet. In der von den beiden Autoren gegebenen genetischen Erklärung ist für eine normale dikaryotische Fruchtkörperbildung zumindest die Existenz eines fi^+ - und eines fb^+ -Gens im Dikaryon erforderlich.

Grundlage des von uns in dieser Arbeit verfolgten Untersuchungs-weges war die von KNIEP (1919, 1930) geäußerte Vermutung, daß die Fruchtkörperbildung und -gestaltung unabhängig von der Kern- und Chromosomenzahl im Mycel erfolgt. Zu einer weiteren Stützung dieser Arbeitshypothese sind wir dem Phänomen der haploiden Fruchtkörperbildung in der Natur nachgegangen (PRILLINGER 1982a). Die dort zusammengestellten Daten zeigen, daß das Phänomen der haploiden Fruchtkörperbildung in sehr verschiedenen Formenkreisen natürlich vorkommt. Haploide Sippen können, wie dies in der vorliegenden Arbeit für *Polyporus ciliatus* nachgewiesen wurde, häufig nur aufgrund mikroskopischer Merkmale (Zweisporigkeit, Fehlen von Schnallen) sicher von meist dikaryotischen Ausgangssippen abgetrennt werden. Die wenigen für solche zweisporigen Sippen bekannten genetischen Daten (LAMOUR 1960, PRILLINGER 1982a) machen deutlich, daß

eine haploide Fruchtkörperbildung in der Natur meist mit dem Auftreten von haploider Apomixis gekoppelt ist. Für die haploid apomiktischen Sippen läßt sich meist eine vollständige genetische Isolation von den dikaryotischen Sippen und ein Verlust der sexuellen Eigenschaften in Intra- und Interrassenkreuzungen nachweisen. Bei haploid apomiktischen Rassen von *Endophyllum euphorbiae-sylvaticae* und *Gymnoconia nitens* (SAPPIN-TROUFFY 1896; DODGE & GAISER 1926; BULLER 1950) unterbleibt allein eine Ausbildung der die Fremdzucht fördernden Pyknidien.

Aus den in der vorliegenden Arbeit dargelegten experimentellen Daten folgerten wir im Einklang mit KNIPE, daß es sich bei der überwiegenden Zahl haploid fruchtender Einspormycelien um ein breites genetisches Reservoir natürlicher morphologischer und physiologischer Mutanten handelt, welche sich in Dikaryen fast immer mit einem weiteren Allel zu komplementieren vermögen und diese damit zur normalen Fruchtkörperbildung befähigen. Im Unterschied zu STAHL (1976), welcher seiner genetischen Analyse der haploiden Fruchtkörperbildung Kreuzungsdaten verschiedener haploider Fruchterstämme mit einem Nichtfruchter-Stamm zugrunde legte, forderten wir das Auftreten gleicher morphologischer Strukturen in schnallenlosen Haplomycelien und schnallenbildenden Dikaryen als ein Kriterium für Isogenität. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen lassen sich wie folgt zusammenfassen:

1) Der Prozeß der Fruchtkörperbildung unterliegt nicht der unmittelbaren genetischen Kontrolle der Kreuzungsfaktoren A und B. Nach dem obigen Kriterium für isogenisierte Stämme bilden haploide Einspormycelien und schnallenbildende Kreuzungsmycelien (Dikaryen) die gleichen morphologischen Strukturen aus. Dies konnte für pileate Haplo-Fruchtkörper (Abb. 6 und 7), primordienartige Strukturen (Abb. 5) und Nichtfruchterstämme (Abb. 8) eindeutig nachgewiesen werden. Bei den untersuchten clavarioiden Fruchtkörperstrukturen gestaltete sich ein Nachweis zunächst schwieriger. Zwei Gründe waren dafür verantwortlich:

a) clavarioide-ramarioide haploide Fruchtkörperstrukturen traten bei allen untersuchten ökologischen Herkunft in sehr hohen Prozentsätzen auf (vgl. Tab. 1). Es war deshalb anzunehmen, daß diese Strukturen auch von einer größeren Zahl von Genen mit pleiotroper Wirkung verursacht oder beeinträchtigt werden. Die Frage inwieweit solche Gene in Mono- und Dikaryen einen Gen-Dosis-Effekt bewirken und damit auch das von uns festgelegte Isogenitätskriterium beeinflussen, konnte noch nicht eindeutig abgeklärt werden (vgl. Abb. 3).

b) Für zwei Gene aus dieser Gruppe, welche zunächst nicht phänotypisch unterschieden werden konnten, ließ sich eine enge Kopplung mit einem der beiden Kreuzungsfaktoren (A) nachweisen. Da Rekombinanten unter den zunächst ausgewerteten 30 Nachkommen mit großer Wahrscheinlichkeit meist nicht vorhanden waren, bildeten alle bis zur 10. Generation durchgeführten Inzuchtkreuzungen stets fertile Hüte aus. Die, nach Erkennen des Phänomens in der 12. Generation im Dikaryon, nur mehr rudimentär aufgetretenen Hüte, welche innerhalb der morphologischen Variationsbreite der haploiden Elternstämme liegen (Abb. 3), machen ein Zutreffen obiger Aussage auch für claviarioide Strukturen zumindest wahrscheinlich.

Claviarioiden haploiden Fruchtkörperstrukturen von *Polyporus ciliatus* morphologisch sehr ähnliche haploide Fruchtkörper wurden von BRUNSWIK (1924) bei der unifaktoriellen, schnallenlosen Art *Coprinus congregatus* (*C. ephemerus*) gefunden. Haploide Mycelien mit diesem von BRUNSWIK als koralloid bezeichneten Fruchtkörpertyp bildeten bereits in der F_1 -Generation in einem hohen Prozentsatz dikaryotische koralloide Fruchtkörper aus. Das Merkmal zeigte eine vom Kreuzungstyp unabhängig mendelnde Vererbung.

2) Gegen die Annahme eines spezifischen Startergenes (fi^+), welches sich auch phänotypisch exprimiert, und zusätzlicher modifizierender Gene (fb^+), welche nur bei Gegenwart des fi^+ -Genes die Fruchtkörpermorphologie beeinflussen, sprechen die Ergebnisse von 3 voneinander unabhängig isogenisierten Nichtfruchter-Stämmen (Tab. 4 und Abb. 8). In allen Fällen traten bei der kompatiblen isogenen Kombination in den Kreuzungsmycelien zwar Schnallen, aber in keinem Fall Ansätze zur Fruchtkörperbildung auf. Die kompatiblen Kombinationen verschiedener isogener Nichtfruchter-Linien fruchteten hingegen stets reichlich. Dies ließ sich auch für die Originalstämme von STAHL (Abb. 8), welche das inaktive fi -Allel tragen, eindeutig demonstrieren.

Letzterer Befund ist mit der von ESSER und Mitarbeitern vorgeschlagenen „Startergen-Hypothese“ nicht erklärbar, findet hingegen mit einer von uns postulierten additiven Polygenie eine einfache Erklärung.

Eine polygene genetische Kontrolle der Fruchtkörperbildung wird auch durch Untersuchungen an *Schizophyllum commune* von LESLIE & LEONARD (1979 a, b) gestützt. Die Autoren finden, daß haploide Fruchtkörper bei *S. commune* sowohl spontan als auch nach Induktion mit verschiedenen chemischen Substanzen oder aber nach mechanischer Verletzung des Mycels auftreten können. Für die drei Möglichkeiten werden genetisch voneinander unabhängige Kontrollmechanismen nachgewiesen.

3) Die bisher an dem isogenisierten pileaten haploiden Fruchtersystem gewonnenen Daten zeigen:

a) Es bestehen keine signifikanten Unterschiede bei *Polyporus ciliatus* bezüglich Größe und Anzahl der gebildeten Fruchtkörper zwischen den haploiden und dikaryotischen Stämmen (Abb. 6b). Die in der nicht isogenen f_1 und F_1 aufgetretenen Unterschiede (Abb. 6a) sind daher lediglich auf einen Heterosiseffekt in dikaryotischen Heterokaryen zurückzuführen. Ganz ähnliche Daten ließen sich auch für die lineare Wachstumsgeschwindigkeit und den Zeitpunkt der Fruchtkörperbildung mit isogenen haploiden und dikaryotischen Stämmen ermitteln (PRILLINGER, unveröffentlicht).

b) Anzahl und Größe der pro Petrischale aus mitotischen Basidiosporen von isogenen pileaten Haplo-Fruchtkörpern sich entwickelnden Haplo-Fruchtkörpern sind annähernd umgekehrt proportional (Abb. 7). Dieser Effekt, welcher auf den Verbrauch eines in der vegetativen Mycelwachstumsphase angereicherten Reservestoffes hinweist, steht im guten Einklang mit biochemischen Daten von ROBERT (1977 a, b) an *Coprinus congregatus*. Die von STAHL (1976) gefundene Zweisporigkeit haploider Basidien mit der von uns getroffenen Einschränkung, daß auch einsporige Basidien stets in größerer Zahl auftreten, und gegenüber vergleichbaren dikaryotischen Fruchtkörpern die Sporenzahl geringer und die Keimfähigkeit dieser Basidiosporen schlechter ist, wurde auch an den von uns isolierten Stämmen beobachtet.

Für den geistigen Anstoß zu dieser Arbeit bin ich Herrn Prof. K. ESSER (Bochum) und im besonderen Herrn Prof. U. STAHL (Bochum) dankbar. Für die Förderung und bereitwillige Unterstützung sowie für die Durchsicht des Manuskriptes bin ich Herrn Prof. H. P. MOLITORIS (Regensburg) zu Dank verpflichtet. Für wertvolle Diskussionsbeiträge habe ich den Herren Prof. A. BRESINSKY (Regensburg), Prof. F. OBERWINKLER (Tübingen), Prof. J. POELT (Graz), Prof. F. SCHALLER (Wien), Prof. U. STAHL (Bochum) und Dr. I. NUSS (Regensburg) zu danken. Die Herren Prof. H. P. MOLITORIS und Dr. I. NUSS waren mir auch bei der Beschaffung von wichtiger Literatur behilflich. Bei den experimentellen Arbeiten war mir Frl. N. RUSIEKI eine wertvolle Stütze. Meiner Frau (Dr. L. PRILLINGER) verdanke ich wertvolle Hilfe bei der Abfassung von Tabellen und Schemata; die Herren W. COLMERS und P. WELSEN halfen mir bei der Überarbeitung der englischen Zusammenfassung. Für die mannigfaltige Hilfe bei der Endredaktion des Manuskripts bin ich Herrn Prof. F. EHRENDORFER zu großem Dank verpflichtet.

Literatur

- AGERER, R., PRILLINGER, H., NOLL, H., 1980: Zur Klärung der Sippenstruktur der Gattung *Cyphellopsis* — I. Darstellung zweier Ausgangssippen. — Z. Mykol. **46** (2), 177—207.
- BARNETT, H. L., LILLY, V. G., 1949: Production of haploid and diploid fruit bodies of *Lenzites trabea* in culture. — Proc. W. Va. Acad. Sci. **19**, 34—39.

- DE BARY, A., 1884: Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze, Myceto-
zoen und Bakterien. — Leipzig: Wilhelm Engelmann.
- BENSAUDE, M., 1918: Recherches sur le cycle évolutif et la sexualité des
Basidiomycètes. — Paris: Thèse.
- BOIDIN, J., 1971: Nuclear behavior in the mycelium and evolution of the
basidiomycetes. — In: PETERSEN, R. H., (Ed.): Evolution in the Higher
Basidiomycetes, 129—148. — Knoxville; University of Tennessee Press.
- BRUNSWIK, H., 1924: Untersuchungen über die Geschlechts- und Kernverhält-
nisse bei der Hymenomycetengattung *Coprinus*. — Bot. Abh. K. Goebels **5**,
1—152.
- BULLER, A. H. R., 1950: Modes of initiating the sexual process in the rust fungi.
— In: BULLER, A. H. R., (Ed.): Researches on Fungi, **7**, 264—296. —
Toronto, Univers. of Toronto Press.
- DODGE, B. O., GAISER, L. O., 1926: The question of nuclear fusions in the
blackberry rust, *Caeoma nitens*. — J. Agr. Res. **32**, 1008—1012, 1022—1023.
- EGER, G., 1968: Untersuchungen zum Problem der Primordienbildung bei
Hutpilzen (*Agaricales*). — Planta Med. **99**—**110** (Suppl.).
- ESSER, K., KUENEN, R., 1965: Genetik der Pilze. — Berlin, Heidelberg, New
York: Springer.
- SEMERDŽIEVA, M., STAHL, U., 1974: Genetische Untersuchungen an dem
Basidiomyceten *Agrocybe aegerita*. I. Eine Korrelation zwischen dem Zeit-
punkt der Fruchtkörperbildung und monokaryotischem Fruchten und ihre
Bedeutung für Züchtung und Morphogenese. — Theor. Appl. Genet. **45**,
77—85.
- MEINHARDT, F., 1977: A common genetic control of dikaryotic and mono-
karyotic fruiting in the Basidiomycete *Agrocybe aegerita*. — Mol. Gen.
Genet. **155**, 113—115.
- STAHL, U., MEINHARDT, F., 1977: Genetic aspects of differentiation in fungi.
— In: MEYRATH, J., BU'LOCK, J. D., (Eds.): Biotechnology and Fungal
Differentiation, 67—75. — London, New York, San Francisco: Academic
Press.
- SALEH, F., MEINHARDT, F., 1979: Genetics of fruit body production in higher
basidiomycetes. II. Monokaryotic and dikaryotic fruiting in *Schizophyllum*
commune. — Current Genetics **1**, 85—88.
- FINCHAM, J. R. S., DAY, P. R., 1971: Fungal Genetics. 3. ed. — Oxford:
Blackwell Scientific Publications.
- GREIS, H., 1942: Relative Sexualität und Sterilitätsfaktoren bei dem Hymeno-
myceten *Solenia*. — Biol. Zentralbl. **62**, 46—92.
- HARTMANN, M., 1930: Die Sexualität der Protisten und Thallophyten und ihre
Bedeutung für eine allgemeine Sexualitätstheorie. — Z. Indukt. Abst.
Vererb. **54**, 76—126.
- 1931: Relative Sexualität und ihre Bedeutung für eine allgemeine Sexuali-
täts- und eine allgemeine Befruchtungstheorie. — Naturwiss. **19**, 8—37.
- JAHN, H., 1969: Die Gattung *Polyporus* ss. str. in Mitteleuropa. — Schweiz.
Z. Pilzk. **47**, 218—227.
- JÜRGENS, C., 1958: Physiologische und genetische Untersuchungen über die
Fruchtkörperbildung bei *Schizophyllum commune*. — Arch. Mikrobiol. **31**,
388—421.

- KIMURA, K., FUJIO, M., 1961 a: Variation in the expansibility of pilei in *Coprinus macrorhizus* forma *microsporus*. — Bot. Mag. Tokyo **74**, 259—265.
- 1961 b: Studies on abnormal fruit-bodies of the hymenomycetous fungi. I. Undeveloped fruit-bodies of *Coprinus macrorhizus* f. *microsporus*. — Rep. Tottori Mycol. Inst. **1**, 19—28.
- KADOYA, K., 1962: Studies on abnormal fruit-bodies of the hymenomycetous fungi. II. Tripartite fruit-bodies of *Coprinus macrorhizus* f. *microsporus*. — Rep. Tottori Mycol. Inst. **2**, 11—22.
- KLEBS, G., 1898—1900: Zur Physiologie der Fortpflanzung einiger Pilze. I. Jahrb. Wiss. Bot. **32**, 1—70 (1898). — II. Jahrb. Wiss. Bot. **33**, 513—593 (1899). — III. Jahrb. Wiss. Bot. **35**, 80—203 (1900).
- KNIER, H., 1911: Über das Auftreten von Basidien im einkernigen Mycel von *Armillaria mellea* Fl. Dan. — Z. Bot. **3**, 529—553.
- 1915: Beiträge zur Kenntnis der Hymenomyceten. — III. Z. Bot. **7**, 369—397.
- 1916: Beiträge zur Kenntnis der Hymenomyceten. IV. Über den Ursprung und die ersten Entwicklungsstadien der Basidien. — Z. Bot. **8**, 353—356.
- 1918: Über die Bedingungen der Schnallenbildung bei den Basidiomyceten. — Flora **11**, 380—395.
- 1919: Über morphologische und physiologische Geschlechtsdifferenzierung (Untersuchungen an Basidiomyceten). — Verh. Phys.-Med. Ges. Würzburg **46**, 1—18.
- 1922: Über Geschlechtsbestimmung und Reduktionsteilung. — Verh. Phys.-Med. Ges. Würzburg **47**, 1—29.
- 1923: Über erbliche Änderungen von Geschlechtstaktoren bei Pilzen. — Z. Indukt. Abst. Vererb. **31**, 170—183.
- 1929: Vererbungserscheinungen bei Pilzen. — Bibliogr. Genet. **5**, 371—478.
- 1929/1930: Die „multipolare“ Sexualität der Hymenomyceten und deren Deutung durch M. Hartmann. — Z. Bot. **23**, 510—536.
- 1930: Über Selektionswirkungen in fortlaufenden Massenaussaaten von *Schizophyllum*. — Z. Bot. **23**, 510—536.
- KOLTIN, Y., STAMBERG, J., LEMKE, P. A., 1972: Genetic structure and evolution of the incompatibility factors in higher fungi. — Bacteriol. Rev. **36**, 156—171.
- KOMATSU, M., KIMURA, K., 1964 a: Studies on abnormal fruit-bodies of the hymenomycetous fungi. III. Fruit-bodies with brownish gills of *Lentinus edodes* (BERK.) SING. — Rep. Tottori Mycol. Inst. **4**, 21—28.
- 1964 b: Studies on abnormal fruit-bodies of the hymenomycetous fungi. IV. Sterile fruit-bodies of *Lentinus edodes* (BERK.) SING. — Rep. Tottori Mycol. Inst. **4**, 29—36.
- 1968: Studies on abnormal fruit-bodies of hymenomycetous fungi. V. Fruit-bodies with white pilei of *Lentinus edodes* (BERK.) SING. — Rep. Tottori Mycol. Inst. **6**, 9—17.
- KÜHNER, R., 1977: Variation of nuclear behaviour in the Homobasidiomycetes. — Trans. Br. Mycol. Soc. **68**, 1—16.
- LAMOUR, D., 1960: Recherches cytologiques et expérimentales sur l'amphithallie et la parthénogénèse chez les *Agaricales*. Évolution nucléaire dans la baside des formes bisporiques. — Thèse, Lyon.
- LANGE, M., 1952: Species concept in the genus *Coprinus*, a study of the significance of intersterility. — Dansk. Bot. Ark. **14**, 1—164.

- LEHFELDT, W., 1923: Über die Entstehung des Paarkernmycels bei heterothallischen Basidiomyceten. — *Hedwigia* **64**, 13—51.
- LEONARD, T. J., RAPER, J. R., 1969: *Schizophyllum commune*: gene controlling induced haploid fruiting. — *Science* **165**, 190.
- LESLIE, J. F., LEONARD, T. J., 1979 a: Three independent genetic systems that control initiation of a fungal fruiting body. — *Mol. Gen. Genet.* **171**, 257—260.
- 1979 b: Monokaryotic fruiting in *Schizophyllum commune*: Genetic control of the response to mechanical injury. — *Mol. Gen. Genet.* **175**, 5—12.
- LOHWAG, K., 1952: Zur Fruchtkörperbildung holzerstörender höherer Pilze in Reinkultur. — *Sydowia* **6**, 323—333.
- MANACHERE, G., 1977: Formation of basidiocarps. In: MEYRATH, J., BU'LOCK, J. D., (Eds.): *Biotechnology and Fungal Differentiation*, 43—65. — London, New York, San Francisco: Academic Press.
- MOSER, M., 1958: Die künstliche Mykorrhizainpfung an Forstpflanzen. — *Forstwiss. Centralbl. Wien* **77**, 32—40, 271—278.
- MOSER, M., 1978: *Die Röhrlinge und Blätterpilze*. 4. ed. — Stuttgart, New York: G. Fischer.
- OLIVE, L. S., 1958: On the evolution of heterothallism in fungi. — *Amer. Nat.* **92**, 233—251.
- PAPAZIAN, H. P., 1949: The incompatibility factors in *Schizophyllum commune*. — *Amer. J. Bot.* **39**, 813.
- 1950: Physiology of the incompatibility factors in *Schizophyllum commune*. — *Bot. Gaz.* **112**, 143—163.
- 1951: The incompatibility factors and a related gene in *Schizophyllum commune*. — *Genetics* **36**, 441—459.
- 1958: The genetics of *Basidiomycetes*. — *Adv. Genet.* **9**, 41—69.
- PLUNKETT, B. E., 1956: The influence of factors of the aeration complex and light upon fruit-body form in pure culture of an Agaric and a Polypore. — *Ann. Bot. N.S. London* **20**, 563—586.
- PRILLINGER, H., 1976: Genetische Kontrolle der Phenoloxidase „Laccase“ des Ascomyceten *Podospora anserina*. — *Bibliotheca Mycologica* **51**, 1—148. — Vaduz: Cramer.
- 1982 a: Untersuchungen zur Fruchtkörper- und Artbildung bei Basidiomyceten: Das Vorkommen von haploider Apomixis und Amphithallie in der Natur. — *Z. Mycol.* **48** (2), 275—296.
- 1982 b: Zur genetischen Kontrolle und Evolution der sexuellen Fortpflanzung und Heterothallie bei Chitinpilzen. — *Z. Mykol.* **48** (2), 297—324.
- 1983 a: Genetische Untersuchungen zur Fruchtkörper- und Artbildung bei Basidiomyceten: Die haploide Apomixis und ihre Bedeutung für die Evolution der Sexualität bei Chitinpilzen. — *Habilitationsschrift an der Universität Regensburg*.
- 1983 b: Zur Evolution von Mitose, Meiose und Kernphasenwechsel bei Chitinpilzen. — *Pl. Syst. Evol.* **142** (in press).
- ESSER, K., 1977: The phenoloxidases of the ascomycete *Podospora anserina*. XIII. Action and interaction of genes controlling formation of laccase. — *Mol. Gen. Genet.* **156**, 333—345.
- QUINTANILHA, A., 1933: Le problème de la sexualité chez les champignons. — *Bol. Soc. Broter. II* **8**, 3—99.
- 1935: Cytologie et génétique de la sexualité chez les Hyménomycètes. — *Bol. Soc. Broter. II* **10**, 289—332.

- RAPER, J. R., 1953: Tetrapolar sexuality. — *Quart. Rev. Biol.* **28**, 233—259.
- 1955: Heterokaryosis and sexuality in fungi. — *Trans. N. Y. Acad. Sci.* II **17**, 627—635.
- 1960: Control of sex in fungi. — *Amer. J. Bot.* **47**, 794—808.
- 1966: *Genetics of Sexuality in Higher Fungi*. — New York: Ronald Press.
- KRONGELB, G. S., 1958: Genetic and environmental aspects of fruiting in *Schizophyllum commune*. — *Mycologia* **50**, 707—740.
- FLEXER, A. S., 1970: The road to diploid with emphasis on a detour. — *Symp. Soc. Gen. Microbiol.* **20**, 401—432.
- RAPER, C. A., RAPER, J. R., 1973: Mutational analysis of a regulatory gene for morphogenesis in *Schizophyllum*. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **70**, 1427—1431.
- ROBERT, J. C., 1977 a: Fruiting of *Coprinus congregatus*: Biochemical changes in fruiting-bodies during morphogenesis. — *Trans. Brit. Mycol. Soc.* **68**, 201—304.
- 1977 b: Fruiting of *Coprinus congregatus*: Relationship to biochemical changes in the whole culture. — *Trans. Brit. Mycol. Soc.* **68**, 389—395.
- RUSMIN, S., LEONARD, T. J., 1978: Biochemical induction of fruiting in *Schizophyllum*: Isolation and preliminary purification of an inducing substance from *Agaricus bisporus* mushrooms. — *Plant Physiol.* **61**, 538—543.
- SAPPIN-TROUFFY, P., 1896: Recherches histologiques sur la famille des Urédinées. — *Le Botaniste* **5**, 184—187.
- STAHL, U., 1976: Genetische Regulation der Fruchtkörperbildung bei Höheren Basidiomyceten: Monokaryotisches Fruchten bei *Polyporus ciliatus*. — *Bibliotheca Mycologica* **50**, 1—105. — Vaduz: Cramer.
- ESSER, K., 1976: Genetics of fruit body production in Higher Basidiomycetes. I. Monokaryotic fruiting and its correlation with dikaryotic fruiting in *Polyporus ciliatus*. — *Mol. Gen. Genet.* **148**, 183—197.
- TAKEMARU, T., 1957: Genetics of *Collybia velutipes*, III. Growth rates of certain strains. — *Biol. Okayama Univ.* **3**, 182—186.
- 1961: Genetics studies on fungi. X. The mating system in Hymenomycetes and its genetical mechanism. — *Biol. J. Okayama Univ.* **7**, 133—211.
- KAMADA, T., 1972: Basidiocarp development in *Coprinus macrorhizus*. I. Induction of developmental variations. — *Bot. Mag. Tokyo* **85**, 51—57.
- UNO, I., ISHIKAWA, T., 1971: Chemical and genetical control of induction of monokaryotic fruiting bodies in *Coprinus macrorhizus*. — *Mol. Gen. Genet.* **113**, 228—239.
- 1973: Metabolism of adenosin 3', 5'-cyclic monophosphate and induction of fruiting bodies in *Coprinus macrorhizus*. — *J. Bacteriol.* **113**, 1249—1255.
- VANDENDRIES, R., 1923: Nouvelles recherches sur la sexualité des Basidiomycètes. — *Bull. Soc. Bot. Belg.* **56**, 73—97.
- 1932: La tétrapolarité sexuelle de *Pleurotus columbinus*. — *Cellule* **41**, 267—278.
- 1936: Les tendances sexuelles chez les Polyporés. — *Rev. Mycol.* **1**, 294—302.
- 1937 a: Nouveaux aperçus sur la sexualité des Basidiomycètes. — *C. R. Acad. Sci. Paris* **204**, 1084—1086.
- 1937 b: Les modalités sexuelles des Basidiomycètes. — *Bull. Soc. Bot. Belg.* **70**, 66—85.
- 1938: Les multiples aspects de la sexualité dans le monde des champignons. — *Bull. Acad. Belg. Cl. Sci.* **24**, 515—523.

- VANDENDRIES, R., BRODIE, H. J., 1933: Nouvelles investigations dans le domaine de la sexualité des Basidiomycètes et étude expérimentale des barrages sexuels. — *Cellule* **42**, 165—210.
- WAKEFIELD, E. M., 1909: Über die Bedingungen der Fruchtkörperbildung sowie das Auftreten fertiler und steriler Stämme bei Hymenomyceten. — *Naturw. Z. Forst- und Landwirtschaft* **7**, 521—551.
- WHITEHOUSE, H. L. K., 1949: Multiple-allelomorph heterothallism in the fungi. — *New Phytol.* **48**, 212—244.
- ZÄTTLER, F. R., 1924: Vererbungsstudien an Hutzpilzen (Basidiomyceten), *Z. Bot.* **16**, 433—499.

Anschriften der Verfasser: Dipl.-Ing. Dr. HANSJÖRG PRILLINGER, Lehrstuhl für Botanik II, Universität, D-8400 Regensburg, Bundesrepublik Deutschland. — WALDEMAR SIX, Scharnhorststr. 6, D-8400 Regensburg, Bundesrepublik Deutschland.

Verleger: Springer-Verlag, Mölkerbastei 5, A-1010 Wien. — Herausgeber: Prof. Dr. Friedrich Ehrendorfer, Vorstand des Instituts für Botanik und Direktor des Botanischen Gartens der Universität Wien, Rennweg 14, A-1030 Wien. — Redaktion: Rennweg 14, A-1030 Wien. — Hersteller: Adolf Holzhausens Nachfolger, Kandlgasse 19-21, A-1070 Wien. — Verlagsort: Wien. — Herstellungsort: Wien. — Printed in Austria.

Offenlegung gem. § 25 Abs. 1 bis 3 Mediengesetz: Unternehmensgegenstand: Verlag von wissenschaftlichen Büchern und Zeitschriften. An der Springer-Verlag GmbH & Co. KG sind beteiligt: Prof. Dr. Georg F. Springer als Kommanditist zu 39,8%, Dr. Konrad F. Springer als Kommanditist zu 39,8%, beide Mölkerbastei 5, A-1010 Wien, Geschäftsführer: Dr. Konrad F. Springer, Wolfram Joos und Dr. Wilhelm Schwabl, alle Mölkerbastei 5, A-1010 Wien.