Makrochemische Farbreaktionen – Erwartungen und Methoden

HARALD M. FRANK

Es ist erfreulich festzustellen, daß makrochemische Farbreaktionen zunehmend in das Interesse der wissenschaftlichen Mykologie rücken und sie dadurch aus ihrem Dasein zwischen unbegründeter Ablehnung und unkritischer Überbewertung herausgeführt werden. Hier soll versucht werden, anhand dreier jüngst erschienener Artikel (ANTONIO 1983, DAGRON 1985 und MARR & al. 1986) sehr unterschiedlicher Qualität und Zielstellung die Thematik anzureißen.

Makrochemische Farbreaktionen sollen entweder laufende Bestimmungen unterstützen oder ermöglichen, erfolgte Bestimmungen absichern oder Aussagen über verwandtschaftliche, also auch phylogenetische Verhältnisse liefern. Voraussetzung hierzu ist in jedem Fall, daß die herangezogenen Reaktionen im in Frage kommenden Taxon für alle eingeschlossenen, niederen Taxa bekannt sein müssen.

Diese notwendige Vollständigkeit kann einmal versucht werden zu erreichen durch eine umfassende Literaturrecherche bisher publizierter Ergebnisse (wie dies lückenhaft und manchmal unzuverlässig im einzigen „Standardwerk“ von MEIXNER 1975 praktiziert wurde) oder durch umfangreiche experimentelle Untersuchungen. Ersteren Weg beschritt ANTONIO durch die Zusammenstellung der in den *Russula*-Monographien von SCHÄFFER und ROMAGNESI enthaltenen Farbreaktionen. Es werden nur die Abweichungen vom Normalfall angeführt, und die mögliche Schlußfolgerung des Lesers bzw. Anwenders, daß alle nicht genannten Reaktionen normal ablaufen, ist sicher falsch, da nirgends gesagt wird, ob tatsächlich alle Arten mit den erwähnten Reagenzien (Eisensulfat, Guajak-Lösung, Phenol, Formalin, Anilinwasser, Sulfovanillin und Kalilauge) geprüft worden sind. Damit ist dieses „Weglassen normaler Reaktionen“ keine Erleichterung, sondern verwirrt nur.

Dagegen versucht DAGRON durch systematische Anwendung eines modifizierten Reagenses (R 56 genannt), die Gattung *Russula* möglichst umfassend zu charakterisieren (92 Arten). Zusammensetzung von R 56: 1,15 g Amidopyrin (= Aminophenazon), 0,2 g N,N-diethylanilin (von mir ersetzt durch N,N-dimethylanilin), 0,25 g Benzoesäure und 10 ml Ethanol (95 %ig).

Die Bewertung der Reaktivität erfolgt nach einem originellen Ansatz: während bisher (wenn überhaupt) die zeitliche Abfolge der Verfärbungen oder die nach einer bestimmten Zeit erreichte Färbung angegeben wird, wird hier die zur Einstellung einer definierten Endfärbung (violett wie *Viola odorata*) benötigte Zeit als Kriterium betrachtet. Eigene erste Versuche haben gezeigt, daß tatsächlich keine anderen als zur Violett-Reihe gehörende Verfärbungen auftreten. DAGRON unterscheidet 4 Gruppen:

1. Arten mit sehr rascher Reaktion (weniger als 2 min), z. B. *Russula adusta*, *atro-rubens*, *delica*, *ochroleuca*;
2. Arten mit rascher Reaktion (2 bis 6 min), z. B. *R. cyanoxantha*, *foetens*, *heterophylla*;

3. Arten mit langsamer Reaktion (6 bis 10 min), z. B. *R. amoenolens*, *farinipes*, *virescens*;
4. Arten mit sehr langsamer oder fehlender Reaktion (länger als 10 min), z. B. *R. albonigra*, *fellea*, *ionochlora*.

Bemerkenswert an der Arbeit sind die Angaben zur Reproduzierbarkeit der Ergebnisse. Stets wird die Anzahl der untersuchten Fruchtkörper vermerkt (bis zu 65), und Arten mit nicht konstanter Reaktion sind gesondert genannt (*R. nigricans*, *knauthii*, *cessans*, *velenovskii*, *aurata*). Die Abhängigkeit der Farbreaktionen von den äußeren Bedingungen zeigte sich bei *R. rosea*, bei der bei warmer und feuchter Witterung die Reaktivität größer ist (violett in weniger als 30 min) als bei trockenem Wetter (violett erst nach mehr als 1 Std). Insgesamt ergibt sich aber wie bei MARR & al., daß die auf dem Nachweis von Phenoloxidasen beruhenden Reaktionen ein ziemlich konstantes Merkmal darstellen, zumal sich auch im Falle *R. rosea* die Zuordnung des Pilzes zu einer Reaktivitäts- (und damit auch taxonomischen) Gruppe nicht ändert.

Die Bezeichnung des Reagenses als R 56 erlaubt den Schluß, daß die vorgeschlagene Zusammensetzung Ergebnis langwieriger Versuche ist. Leider fehlt in der Arbeit eine Begründung der Vorteile von R 56 gegenüber der einfachen ethanolschen Lösung von Aminophenazon ebenso wie eine Erklärung der möglichen Reaktionswege und der enzymatischen Empfindlichkeit als auch ein Literaturverzeichnis, wodurch der falsche Eindruck einer beziehungslos dastehenden Neuigkeit erweckt werden kann. Die bekannte Abhängigkeit der Reaktivität der Phenoloxidasen vom pH-Wert (MARR 1979) führte bei mir zu der Vermutung, daß die bessere Wirksamkeit von R 56 auf den durch die Zusätze erreichten enzymoptimalen pH-Bereich zurückzuführen ist. Tatsächlich zeigten die Messungen mit einer auf wäßrige Systeme eingestellten Glaselektrode für reines Ethanol einen pH-Wert von 8,7, für die ethanolsche Lösung von Aminophenazon 8,4, für R 56 jedoch 5,7. Dieser pH-Wert liegt nach MARR (1979) eindeutig im optimalen Bereich der Enzymaktivität, ein pH-Wert von 8,4 hingegen nicht.

Während sowohl für ANTONIO als auch für DAGRON der taxonomische Aspekt, nämlich die Bestimmung einer Art, zielstellend war, sind die Untersuchungen von MARR & al. mehr von systematisierender, also anordnender und Beziehungen suchender Natur. Ausgangspunkt ist die Möglichkeit, durch gezielt ausgewählte Reagenzien spezielle Phenoloxidasen selektiv nachzuweisen: Tyrosinase mit L-Tyrosin bzw. p-Kresol und Laccase mit Syringaldazin. Einer früheren Literaturübersicht bei MARR (1979) ist zu entnehmen, daß auch andere, „gängige“ Makroreagenzien eine mehr oder weniger ausgeprägte Selektivität besitzen: Guajakol und I-Naphthol gegenüber Laccase und Phenol gegenüber Tyrosinase. Das häufig verwendete Guajak und auch Pyrogallol reagieren hingegen unspezifisch. Damit sind die von MARR & al. verwendeten Chemikalien die Ausnahmen zum häufig erhobenen Vorwurf, daß bei makrochemischen Farbreaktionen ob ihrer Unspezifität nichts über die beteiligten Pilzinhaltsstoffe ausgesagt werden kann.

Das Konzept von MARR & al., Tyrosinase und Laccase spezifisch nachzuweisen, führt zu folgender Einteilung in 4 Gruppen:

1. weder Tyrosinase noch Laccase nachweisbar;
2. überwiegend Tyrosinase nachweisbar;
3. überwiegend Laccase nachweisbar;
4. Laccase und Tyrosinase in ähnlicher Menge nachweisbar.

Während bisher bestimmte Teile der Fruchtkörper untersucht wurden (bei ANTONIO meist das Fleisch, bei DAGRON ausschließlich die Lamellen), lassen MARR & al. die Reagenzien 15 min lang auf die ganze Fläche eines Axialschnittes durch den Fruchtkörper einwirken und bewerten nach einer Skala von 0 (völlig negativ) bis 4 (vollständig

positiv) das flächenmäßige Erreichen einer für die Reagenzien charakteristischen Endfärbung, wobei noch zwischen hymenophorpositiv und -negativ unterschieden wird. Aus Wiederholungsmessungen kann man so leicht einen Mittelwert (der aber nichts über Schnelligkeit oder Intensität einer Reaktion, sondern über deren „Häufigkeit“ oder Verteilung im Pilzschnitt aussagt!) und eine Standardabweichung (die meist akzeptabel klein ist, um von reproduzierbaren Merkmalen sprechen zu können) berechnen. Es zeigte sich außerdem, daß die „reaktive Fläche“ bei jungen Fruchtkörpern im wesentlichen vergleichbar mit der reifer Fruchtkörper ist.

Diese Methode der Untersuchung ganzer Pilze liefert naturgemäß die sichersten Aussagen über Vorkommen oder Fehlen bestimmter Inhaltsstoffe, ist aber in vielen Fällen praktisch nicht realisierbar, da oft nicht ausreichend Material vorhanden ist oder der Experimentator hoffnungslos überfordert ist, bei prompten Reaktionen die durchlaufenen, nicht immer so schön eindeutigen und einheitlichen Färbungen in allen Pilzteilen zu notieren. Diese Notwendigkeiten ergeben sich aber meist erst beim Trennen von Arten, worin MARR & al. nicht ihre Zielstellung sahen. Auf 3 Vorzüge der Verfahrensweise dieser Autoren soll besonders hingewiesen werden:

1. Trotz der relativen Eindeutigkeit der Verfärbungen bei diesen Reagenzien wird das Ergebnis durch Vergleich mit einem allgemein zugänglichen Farbatlas objektiviert.
2. Es werden sowohl die Ausgangsfarbe der untersuchten Pilzschnitte als auch die durch Luftoxidation und durch Einwirkung der reinen Lösungsmittel (Wasser, Ethanol) entstehenden Verfärbungen (als Blindwerte) notiert.
3. Alle untersuchten Kollektionen sind durch Exsikkate belegt.

Zu einigen Ergebnissen:

Von 28 untersuchten Arten der *Russulaceae* gehören 27 zur Gruppe 4, allein *Lactarius volemus* besitzt überwiegend Tyrosinase. Dies unterstreicht die natürliche Einheit der Familie. Demgegenüber ist in sehr heterogenen Familien wie *Tricholomataceae* eine fast gleichmäßige Verteilung der untersuchten Arten auf alle 4 Gruppen festzustellen. Die als meist Weißfäuleerreger bekannten Vertreter der *Polyporaceae* gehören überwiegend zu Gruppe 3. Alle Familien der Freiblättlter gehören zu Gruppe 2. Die Ausgliederung der Gattungen *Hericium* und *Climacodon* aus den *Hydnaceae* ist auch biochemisch begründbar, da es sich um für die Familie untypische Weißfäuleerreger der Gruppe 3 handelt. Die Autoren begründen eine „Evolution der Phenoloxidase-Gruppen“, wobei das Vorkommen beider Enzyme einen primitiven, wenig spezialisierten, aber genetisch sehr variablen Zustand charakterisiert, während im Laufe der Verfeinerung über den Verlust eines Enzyms Gruppe 1 erreicht wird. Pilze dieser Familien sind meist hochentwickelt und spezialisiert (z. B. *Strophariaceae*, *Stereaceae*, *Paxillaceae*, *Dacryomycetaceae*).

Diese interessanten Erkenntnisse wurden bei der systematischen Untersuchung von 359 Kollektionen aus 222 Arten und 22 Familien der Basidiomyceten gewonnen und demonstrieren eindrucksvoll den wissenschaftlichen und praktischen Sinn makrochemischer Farbreaktionen, aber auch die Notwendigkeit der intensiveren Hinwendung.

Herrn Dr. M. EDER und Herrn F. GRÖGER danke ich ganz herzlich für die Bereitstellung der italienischen und französischen Arbeit.

Literatur:

- ANTONIO, T. (1983): Reazioni macroscopiche nelle Russole. Boll. d. Gruppo micol. G. BRESADOLA Trento 26 (5/6), 1983. Trento.
- DAGRON, C. (1985): Sur une nouvelle utilisation de l'amidopyrin comme réactif des phénoloxydases. Bull. Soc. Myc. France 101 : 219—235. Paris.

- MARR, C. D. (1979): Laccase and tyrosinase oxidation of spot test reagents. *Mycotaxon* 9 : 244—276. Ithaca.
- MARR, C. D., D. W. GRUND & K. A. HARRISON (1986): The taxonomic potential of laccase and tyrosinase spot tests. *Mycologia* 78 : 169—184. New York.
- MEIXNER, A. (1975): Chemische Farbreaktionen von Pilzen. Lehre.

Dr. H. M. FRANK, Amthorstr. 5, Gera, DDR - 6500

MICHAEL, E.: Führer für Pilzfreunde, Band 1, 2 und 3. Reprintausgabe, herausgegeben und mit einem Nachwort versehen von HANNS KREISEL. Verlag Edition Leipzig, 1986. Preis 135,00 M.

Dem heutigen sechsbändigen „Handbuch für Pilzfreunde“, kurz „MICHAEL/HENNIG/KREISEL“ genannt, und dem einbändigen Taschenbuch für Pilzfreunde, beide derzeit herausgegeben von Prof. Dr. HANNS KREISEL, liegt inhaltlich und geschichtlich der „MICHAEL“ zugrunde. Dieser „Urmichael“ erfuhr nunmehr eine solide gestaltete und interessante Wiederauflage. Es handelt sich um einen Neudruck des 1897 erschienenen ersten, des 1901 erschienenen zweiten und des 1905 erschienenen dritten Bandes nach einem Exemplar der Hauptbibliothek der Franckeschen Stiftungen in Halle.

Der Leser hat ein Werk in der Hand, das vom Inhalt und von den Abbildungen her exakt der Ausgabe gleicht, die vor 90 Jahren bei Förster & Borries (Zwickau) erschien. Man ist freudig überrascht, die damals von A. SCHMALFUSS gemalten und photo-mechanisch im Dreifarbendruck naturgetreu reproduzierten Aquarelle auf hochwertigem Kunstdruckpapier in alter Pracht vor sich zu haben. Wie es eine Faksimileausgabe fordert, liegen den „häufigsten vorkommenden, eßbaren, verdächtigen und giftigen Pilzen“ auch die Originalbeschreibung im alten Schriftsatz und die um die Jahrhundertwende gebräuchliche Nomenklatur zugrunde.

Der Herausgeber hat einen guten Schritt getan, und dem Verlag gebührt Dank und Anerkennung für die ausgezeichnete Qualität. Der alte „MICHAEL“ hat unter der führenden deutschsprachigen Pilzliteratur echte Maßstäbe gesetzt. Es war an der Zeit, sich dieser Werte zu besinnen und sie uns erneut bewußt zu machen. Nicht zuletzt gelangt man zu dieser Erkenntnis, wenn man das sehr aufschlußreiche Nachwort aus der Feder KREISELS liest.

Die aufgrund unvollständiger Forschungsergebnisse im Reprint naturgemäß wiederholten Unklarheiten erscheinen heute eher interessant und lehrreich und nicht als Fehler oder Mängel. Schließlich ist das Faksimile auch nicht in erster Linie für den Pilzsammler gedacht, obgleich er es durchaus verwenden könnte.

Die Mykologen werden den Neudruck auf jeden Fall freudig aufnehmen, insbesondere die Taxonomen und Bibliophilen. Die olivgrüne Farbe des kartonierten Einbandes verleiht der Neuschöpfung eine antiquarische Note, und die Aufnahme als Buchkassette ist gefällig und praktisch zugleich. Für den Kenner eine Kostbarkeit in der Reihe seiner Pilzliteratur.

BRUNO DECKER

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Mykologisches Mitteilungsblatt](#)

Jahr/Year: 1986

Band/Volume: [29](#)

Autor(en)/Author(s): Frank Harald M.

Artikel/Article: [Makrochemische Farbreaktionen — Erwartungen und Methoden 71-74](#)