

Makrochemische Farbreaktionen bei Großpilzen

I. Voraussetzungen für eine systematische Untersuchung

H. M. FRANK

Amthorstraße 5, DDR-6500 Gera

Eingegangen am 1.6.1986

Frank, Harald M. (1987) – Macrochemical colour reactions of macromycetes I. Prerequisites for a systematic research. *Z. Mykol.* 53 (1): 93–98.

Key Words: macrochemical colour reagents, reaction time, colour definition.

Abstract: The actual knowledge about macrochemical colour reactions is in contradiction with their potential significance. This can only be overcome by an extended systematic research and by a reproducible description of the resulting colours using a colour atlas (Küppers, DIN). To reduce the expense 14 appropriate reagents were selected which are sensitive for a multitude of natural occurring substances. After 10 min. reaction time only the colour changes in the fleshy parts should be estimated.

Zusammenfassung: Der Widerspruch zwischen dem gegenwärtigen Kenntnisstand und dem potentiellen Wert makrochemischer Farbreaktionen kann nur durch umfassende systematische Untersuchungen bei Beschränkung auf sinnvolle Reagenzien und einheitlicher, reproduzierbarer Beschreibung der sich ergebenden Verfärbungen gelöst werden. Zu diesem Zweck werden 14 aussagekräftige Chemikalien ausgewählt, die ein breites Spektrum möglicher Reaktionen abdecken. Es wird vorgeschlagen, bevorzugt Stiel- oder Hutfleisch zu untersuchen und die Ergebnisse nach in der Regel 10 min. durch Vergleich mit einem gängigen Farbtafelwerk (Küppers, DIN) zu beschreiben.

Gegen bestehende Vorurteile bezüglich der Anwendung makrochemischer Farbreaktionen wurde schon häufig und von berufener Seite argumentiert (Watling 1971, Singer 1975, Bresinsky 1977), wobei die wesentlichen unterstützenden Fakten angeführt sind. Grundtenor aller Äußerungen zu diesem Thema ist der Verweis auf die (noch) sehr schmale Basis experimenteller Befunde. Befürworter der Heranziehung chemischer Merkmale bedauern dies und fordern Mykologen und Chemiker auf, gemeinsam ausreichend Ergebnisse für eine wissenschaftlich fundierte Diskussion und Interpretation zu erbringen (Watling 1971, Bresinsky 1977). Bisher wurde nach Kenntnisstand des Autors kein Versuch unternommen, Durchführung und Bewertung makrochemischer Farbreaktionen zu vereinheitlichen, was aber unbedingt notwendig ist, um gefundene Merkmale auf ihre Verallgemeinerungswürdigkeit prüfen zu können.

Bevor in nachfolgenden Publikationen erste Ergebnisse einer systematischen Untersuchung aufgelistet und diskutiert werden, sollen hier die zugrunde liegenden Voraussetzungen vorgestellt werden.

Beschränkung auf einige Pilzteile

Systematische Untersuchungen des anzustrebenden Umfangs (nach Kreisel 1983 gibt es in Europa ca. 5300 Arten Großpilze) erfordern hinsichtlich Experiment und Auswertung zwangsläufig eine Optimierung zwischen Aufwand und zu erwartendem Ergebnis; deshalb

die Beschränkung auf die Untersuchung weniger, aber aussagekräftiger Pilzteile. Voraussetzung ist, daß die Chemikalie in das jeweilige Pilzgewebe eindringen kann. Ablaufende Farbreaktionen lassen sich aber nur schwer erkennen und beurteilen, wenn das Pilzgewebe sich durch Einwirkung der Luft farblich stark verändert oder wenn es eine \pm intensive Eigenfärbung aufweist. Da oft die äußeren Schichten besonders pigmentreich und schwerer „aufzuschließen“ sind, wurden Hut- und Stielhaut nicht in die systematischen Untersuchungen einbezogen, sondern meist Hut- oder Stielfleisch geprüft. Bei sehr dünnfleischigen Arten wurde alternativ das Hymenophor untersucht (sinngemäß bei den Nicht-Hutpilzen).

Farbreaktionen sollten unbedingt am **Frischpilz** geprüft und angewendet werden, weil beim gegenwärtig geringen Kenntnisstand mögliche lagerzeitabhängige Veränderungen des chemischen Verhaltens nur verwirren und bekanntermaßen viele wertvolle Farbreaktionen auf dem Vorhandensein zersetz- und abbaubarer Enzyme beruhen (L y r 1961, M a r r 1979).

Zur Auswahl der chemischen Reagenzien

Auch hier gilt die Regel: So wenig wie möglich, aber so viel wie nötig. Bisher wurde meist nur jeweils ein Reagens auf viele Arten einer oder mehrerer Gattungen angewendet (z. B. Iod durch H e n r y 1954, Benzidin durch M i c k a & K l a n 1980, der Amanitintest durch S e e g e r 1984). Ansonsten sind bisher publizierte Auflistungen chemischer Farbreaktionen (z. B. B a t a i l l e 1948, M e i x n e r 1975) als taxonomische Hilfstafeln nicht ausreichend (J a h n 1975), da Art und Anzahl der verwendeten Chemikalien von Taxon zu Taxon je nach Bearbeiter und zugemessener Wichtigkeit sehr stark streut. Damit ist im Zweifelsfall eine eindeutige Unterscheidung von Arten oft nicht möglich, weil der komplementäre Befund fehlt. (Immerhin sind derartige Auflistungen nützlich hinsichtlich der Überprüfung der Konstanz der Merkmale und für Negativ-Bestimmungen: z. B. kann ein mit Benzidin im Hutfleisch blau werdender Täubling nicht *Russula fellea* Fr. sein.) Erste Ansätze für eine zielgerichtet multidimensionale Anwendung chemischer Farbreaktionen bringt M a r r (1979).

Unter chemischen Gesichtspunkten lassen sich folgende großen Gruppen der Reaktionen unterscheiden und einige der sie hervorrufenden Chemikalien zuordnen.

1. Enzymatische Reaktionen, Nachweis von Oxidasen
 - Phenol, Guajak, Guajakol, 1-Naphthol, p-Kresol, Benzidin, dazu kommen noch viele andere phenolische Körper
2. Komplexierungsreaktionen
 - Eisen-, Kupfer-, Thallium- und Quecksilbersalze
3. Umwandlung von Pilzfarbstoffen durch pH-Änderung (oft umkehrbar)
 - alle Laugen (KOH, NaOH, Ammoniak, Soda, auch Anilin reagiert basisch), alle Säuren (H_2SO_4 , HCl, HNO_3 , Milchsäure)
4. Stoffgruppenspezifische Nachweisreaktionen
 - Ninhydrin auf Aminosäuren, Lugolsche Lösung und Melzers Reagens auf Polysaccharide, Eisensalze auf Phenole, Benzidin auf Aldehyde, Kalilauge auf Chinone, Test auf Amanitine, Test auf Blausäure

Bei der Auswahl eines geeigneten Satzes an Chemikalien gelten folgende Beschränkungen:

1. Die Chemikalien müssen möglichst kräftige Reaktionen mit differierenden Ergebnissen bringen.
2. Die Substanzen müssen sicher und möglichst leicht handhabbar und sollten nicht to-

- xisch sein. (Im Falle des Benzidins sei auf Clémenton (1969) verwiesen. Da aber die verwendeten Mengen sehr klein sind und schon viel Beobachtungsmaterial für dieses Reagens vorliegt, wird in der weiteren Arbeit an Benzidin festgehalten.)
3. Die Chemikalien sollen möglichst wenig Redundanz in die auszuwertenden Daten bringen, da einerseits der Aufwand (auch der experimentelle) enorm groß würde, andererseits auch eine zu starke Betonung eines identischen Merkmals erfolgen könnte.
 4. Die gebrauchsfertigen Lösungen sollen möglichst lange haltbar sein.

Eine sehr umfangreiche Auflistung bisher verwendeter Chemikalien gibt Watling (1971). Angaben zur Herstellung und Haltbarkeit der Lösungen finden sich bei Mathies (1972) und Meixner (1975).

Zielstellung dieser Arbeit war, nicht durch Benutzung spezieller, für andere Mykologen nicht beschaffbarer Chemikalien Artdifferenzierung zu erzwingen, sondern sich als günstig erweisende Reagenzien systematisch anzuwenden. Bei Berücksichtigung dieser Überlegungen wurde folgender Satz an Chemikalien zusammengestellt:

Kalilauge	5%ig in Wasser
Schwefelsäure	60%ig in Wasser
Eisen (II)-sulfat	10%ig in Wasser
Silbernitrat	2%ig in Wasser
Phenol	2%ig in Wasser
1-Naphthol	1,5%ig in 60%igem Ethanol
Benzidin	1%ig in Ethanol
Guajak	5%ig in Ethanol
Guajakol	5%ig in Ethanol
Ninhydrin	1%ig in Wasser
Formalin	5%ig in Wasser
Anilin	reine Flüssigkeit
Lugolsche Lösung	2 g Iod + 4 g Kaliumiodid in 300 ml Wasser
Sulfovanillin	einige Kristalle Vanillin + 1 Tropfen Schwefelsäure auf zu untersuchendes Teil

Lugolsche Lösung wurde aus Gründen der besseren Haltbarkeit dem Reagens nach Melzer vorgezogen; bei vergleichenden Untersuchungen ergaben sich keine unterschiedlichen Reaktionen. Die Verwendung der oxydationsanfälligen Eisen (II)-Lösungen wurde beibehalten, weil bei sauberem Arbeiten (dunkle Flasche, möglichst lange verschlossen halten, keine Verunreinigungen eintragen) die mit wenigen Tropfen Schwefelsäure stabilisierte Lösung eine Saison übersteht und durch Luftoxydation bei der Tüpfelreaktion sich die unter Umständen notwendigen Eisen (III)-Ionen ohnehin bilden (Blaufärbung bei *Lyophyllum conmatum* (Schum. ex Fr.) Sing. nach Fugmann und Steglich, 1984). Aus der Vielzahl phenolischer Körper erfolgte die Beschränkung auf Phenol, Guajak, Guajakol und 1-Naphthol, weil für diese Chemikalien bereits ein umfangreiches Beobachtungsmaterial existiert und weitere ähnliche Substanzen (z. B. Resorcin, Pyrogallol, Brenzkatechin) redundant sind. Zur trübungsfreien Lösung von 1-Naphthol wurde ein etwas höherer Ethanolgehalt von 60 % als günstiger gefunden, 5%ige Guajakharzextrakte haben keine so intensiv braune Eigenfärbung bei gleicher Wirksamkeit und eine 5%ige Guajakolösung bringt die gleichen Effekte wie die bei Mathies (1972) entsprechend dazu angegebenen Konzentrationen. Formalin und Anilin wurden aus „historischen“ Gründen aufgenommen, obwohl sich abzeichnet, daß interessante Reaktionen bei diesen Chemi-

kalien fehlen oder selten sind (z. B. Reaktionen mit Formalin bei *Leccinum* S. F. Gray und *Russula* Pers. ex S. F. Gray). Endgültige Aussagen sind erst nach Auswertung eines umfangreichen Datenmaterials möglich.

Reaktionszeit

Die Geschwindigkeit chemischer Reaktionen und die nach einer bestimmten Zeit erreichte Färbung ist abhängig von der Art der chemischen Umsetzung und der Konzentration der Reaktionspartner. Viele Reaktionen verlaufen sehr rasch (z. B. die Blaufärbung von Stärke mit iodhaltigen Chemikalien), andere dagegen nur zögernd (z. B. mit Ninhydrin). Bei manchen Reaktionen entstehen flüchtig Zwischenprodukte (z. B. mit Sulfovanillin), während bei enzymatischen Reaktionen oft eine sehr rasch bis sofort eintretende Verfärbung zu beobachten ist, die über mehrere Stufen (mehr oder weniger kontinuierlich in der Zeit) bis hin zu Schwarz führen kann (z. B. mit Benzidin und Guajak). Bei anderen Reaktionen hingegen sind nach gewisser Zeit stabile Färbungen erreicht, weil im Gegensatz zu den enzymatischen Umsetzungen der Reaktionspartner im Pilz verbraucht ist (z. B. mit Metallsalzen).

Diesen sehr unterschiedlichen Abläufen Rechnung tragend wurde folgendermaßen verfahren:

Alle Reaktionen wurden nach 10 min. beurteilt, bei Ninhydrin nach 20 min. Bei sehr rasch ablaufenden Reaktionen wurde die erste deutliche, intensive Farbe herangezogen, da nach 10 min. oftmals dunkelbraune oder schwarze „Einheitsfarben“ vorliegen, nach 1 min. (oder weniger) aber wohl zwischen Blau, Blaugrün und Grün unterschieden werden kann. Eine weitere Ausdehnung der Beobachtungszeit erwies sich als meist nicht sinnvoll, da viele der schwachen Reaktionen geringe Aussagekraft haben oder die Verfärbungen auf oxydative Veränderung der Chemikalien durch den Luftsauerstoff zurückzuführen sind (z. B. wird Guajak nach ca. 30 min. auch allein schmutzig braungrün).

Anforderungen an die Farbbezeichnung

Bei der noch häufig anzutreffenden Bewertung einer Reaktion mit lapidarem „positiv“ kann ein Großteil der möglichen Information verlorengehen oder es wird Kenntnis des Reaktionsweges und der -partner suggeriert (Singer, 1975). Akzeptabel ist diese Verfahrensweise in Fällen wie bei Marr (1979), wo auf das Vorhandensein bestimmter Inhaltsstoffe (in diesem Fall Phenoloxidasen) geprüft werden soll und es nur ein eindeutiges Reaktionsergebnis gibt. Da bei vielen Reagenzien mit mehreren unterschiedlichen Verfärbungen in Abhängigkeit von den Inhaltsstoffen zu rechnen ist (z. B. sind mit Benzidin gelbe, orange, rote oder blaue Verfärbungen möglich nach Micka und Klan, 1980), liegt der Ausweg nur in der verbalen und/oder zahlenmäßigen Farbbeschreibung.

Die Farben müssen hinreichend präzise (also unterscheidbar von anderen Nuancen), eindeutig und auch für andere **nachvollziehbar** bezeichnet werden, aber auch so „großzügig“, daß kleine Schwankungen in der Farbe nicht überbewertet werden können, sondern Ausdruck der Variabilität der Objekte und der Beobachter bleiben. Im Unterschied z. B. zur Sporenfarbe (Pfaf 1983) müssen Farben bei chemischen Reaktionen oft möglichst rasch beurteilt werden, da nur so ein Pilz mit vielen Chemikalien parallel geprüft werden kann. Außerdem laufen manche Farbreaktionen so schnell ab, daß das mühsame Herausuchen aus 1000 oder noch mehr Nuancen auf keinen Fall zu einer genaueren Beurteilung führt als das zielsichere, schnellere Zuordnen in eine Basis von ca. 100 bis 150 optimal ausgewählten Farben. Deshalb wurde eine Farbtafel mit 114 Abstufungen zusammengestellt, die auf einen Blick eine rasche und sichere Bewertung einer Farbe ermöglicht.

Um die unter praktischen Gesichtspunkten ausgewählten Farben eindeutig und reproduzierbar zu benennen, wurde durch visuellen Vergleich eine Zuordnung der entsprechenden Zahlenwerte des Farbsystems von K ü p p e r s (1984) und der DIN-Farbenkarte (1984) vorgenommen. Aus Gründen der besseren Anschaulichkeit und der einfacheren Verarbeitung wurden bei K ü p p e r s ausschließlich die Tafeln in Teil 4 (Dreifarbenaufbau) verwendet. Diese beiden farbmtrischen Systeme haben den Vorteil, daß Zwischenfarben relativ leicht einen eindeutigen Wert zugeordnet bekommen können (P f a f f 1983). Die Transformation der Farben in Zahlenwerte ermöglicht darüber hinaus eine leichtere Verarbeitung der Daten mit Computern. (Auf diese Probleme soll detailliert an anderer Stelle eingegangen werden.)

Es wurden grundsätzlich die tatsächlich vorliegenden Farben beurteilt, ohne in irgendeiner Weise die Ausgangsfarbe der Pilzteile, die mögliche oxydative Veränderung durch den Luftsauerstoff oder die Eigenfärbung des Reagenses (z. B. braune Farben bei Guajak und Lugolscher Lösung) zu berücksichtigen. Ergänzend wurde die Farbe des Pilzteiles vor der Reaktion und die allein durch Lufteinwirkung entstandene Färbung notiert.

Nachsatz

Wenn die vorgeschlagenen 14 Chemikalien jeweils 3 verschiedene Verfärbungen (einschließlich des Negativbefundes) geben können, würde dies theoretisch immerhin $3^{14} = 4783020$ wohlunterscheidbare Variationen bedeuten. Ob alle Variationen überhaupt möglich sind oder ob nicht viele Pilze identische Reaktionsmuster zeigen, kann erst auf der Grundlage von vielfältigen Beobachtungen diskutiert werden.

Auf jeden Fall ist W a t l i n g (1971) uneingeschränkt zuzustimmen, wenn er schreibt: „At the moment the majority of agaricologists need to treat the subject of chemical reagents less flippantly and assist in the accumulation of a less chaotic set of data than present available.“

Literatur

- BATAILLE, F. (1948) – Les réactions macrochimiques chez les champignons. Bull. trim. Soc. Myc. Fr. 63 (Suppl.): 1–172. (Reprint 1969, Cramer Lehre)
- BRESINSKY, A. (1977) – Chemotaxonomie der Pilze, in: W. FREY, H. HURKA, F. OBERWINKLER (eds.): Beiträge zur Biologie der niederen Pflanzen. S. 25–42. Fischer Verlag Stuttgart, New York
- CLÉMENÇON, H. (1969) – Vorsicht mit Benzidin! Schweiz. Z. Pilzk. 47: 12–13.
- DIN-Farbenkarte (1984) – Übersicht zur DIN-Farbenkarte DIN 6164, 1001 Farbmuster. Beuth Verlag Berlin
- FUGMANN, B. & W. STEGLICH – Ungewöhnliche Inhaltsstoffe des Blätterpilzes *Lyophyllum connatum* (*Agaricales*). Angew. Chem. 96: 71–72.
- HENRY, R. (1954) – Réactions Chimiques Colorées en Mycologie, Action de l'Iode. Rev. Myc. 19: 178–187. In loser Folge ebenda bis (1961) 26, 366–379.
- JAHN, H. (1975) – Rezension des Buches von MEIXNER (1975). Westf. Pilzbriefe 9: 5–7.
- KREISEL, H. (1983) – in MICHAEL, HENNIG, KREISEL, Handbuch für Pilzfreunde, Bd. I. Fischer Verlag Jena
- KÜPPERS, H. (1984) – Du Mont's Farbenatlas. Du Mont Buchverlag Köln
- LYR, H. (1961) – Die Bedeutung biochemischer und physiologischer Merkmale für die Artifizierung. Z. Pilzk. 27: 78–82.
- MARR, C. D. (1979) – Laccase and tyrosinase oxidation of spot test reagents. Mycotaxon 9: 244–276.
- MATHEIS, W. (1972) – Chemische Reagenzien in der Hand des Mykologen. Z. Pilzk. 38: 33–47.
- MEIXNER, A. (1975) – Chemische Farbreaktionen von Pilzen. Cramer Vaduz
- MICKA, K. & J. KLAN (1980) – Chemical spot tests of macromycetes with benzidine. Česka Mykologie 34: 74–81.
- PFÄFF, K. H. (1983) – Einige Farbtafelwerke im praktischen Vergleich. Z. Mykol. 49: 237–242.
- SEEGER, R. (1984) – Zeitungspapierstest für Amanitine – falschpositive Ergebnisse. Z. Mykol. 50: 353–359.
- SINGER, R. (1975) – The *Agaricales* in modern taxonomy. Cramer Vaduz
- WATLING, R. (1971) – Chemical tests in agaricology; in: Methods in microbiology, S. 567–597. Academic press London, New York.



Deutsche Gesellschaft für Mykologie e.V.
German Mycological Society

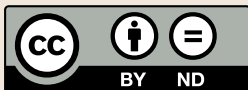
Dieses Werk stammt aus einer Publikation der DGfM.

www.dgfm-ev.de

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

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

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



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

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

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

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

Jahr/Year: 1987

Band/Volume: [53_1987](#)

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

Artikel/Article: [Makrochemische Farbreaktionen bei Großpilzen I. Voraussetzungen für eine systematische Untersuchung 93-98](#)