

## **Neue Färbungen und Farbreaktionen an frischen Blätterpilzen und Röhrlingen**

(II. Teil)

Von Rudolf S a n d o r

### **Mikrochemische Färbungen**

C e r e s s c h w a r z dürfte mit dem Sudanschwarz, einem der bekannten Fettfärbemittel, ziemlich identisch sein. Ich habe absichtlich C e r e s s c h w a r z (bzw. Sudan-schwarz) gewählt und nicht Sudanrot, wegen einer möglichen Gegenfärbung mit einem anderen roten Farbstoff, wovon später einmal die Rede sein soll.

Inwieweit die Substanzen, die hier gefärbt werden, mit den anderen pflanzlichen oder tierischen Fetten vergleichbar sind, muß wohl der genauen Analyse eines Chemikers vorbehalten bleiben. Vorerst könnte man noch mit Sudanrot oder Chlorophyll, das ebenfalls Fett färbt, nachprüfen, doch soll hier vor allem die Bedeutung der Färbung für die Systematik hervorgehoben werden. Sie ist in der Hauptsache physikalischer (nicht chemischer) Art, da dadurch auf alle Fälle die Beschaffenheit der jeweiligen Zellmembran angezeigt wird, d. h. ihre Festigkeit bzw. Durchlässigkeit (für diese Farblösung) – Eigenschaften, die wohl relativ am wenigsten Schwankungen unterworfen sind.

Ich habe hier eine Methode gefunden, die schärfere und deutlichere Bilder liefert als die bisher übliche, für andere Organismen angewendete. Es ist jedoch nötig, daß man sich genau an die Farbvorschrift hält. Taucht man nämlich den (unfixierten) Schnitt wie bisher nur eine bestimmte Zeit in 70%-Alkohol (bzw. tropft man diesen auf das Sporenpräparat auf, so quellen die (gefärbten) »Öl«-tropfen viel zu leicht aus der Zelle heraus; außerdem wird die Färbung schwächer und blasser. Ich verwende deshalb eine Mischung aus gleichen Teilen 96%-Alkohol und Eisessig (die optimale Mischung ist damit erst einigermaßen gegeben!). Diese Beize wird auf das Objekt auf dem Trägerglas aufgetropft. Sodann wartet man ein wenig, bis sie einigermaßen verdunstet ist (z. B. bevor sich der Schnitt wirft und wellt) und tropft dann die Farblösung (in 70%-Alkohol!) auf das Objekt auf dem Trägerglas. Es entsteht nach 3–15 Minuten ein sehr differenziertes und scharfes Bild. In der Mehrzahl der Fälle wird nur der Basidieninhalt gefärbt, der bei schwächerer Vergrößerung oft nahezu schwarz erscheint, während alle übrigen Teile – wenigstens längere Zeit – fast ungefärbt bleiben. Oft wird auch der Sporenhalt (rasch) gefärbt; derjenige der unreifen Sporen sogar meistens, was sicher mit deren dünnerer Membran zusammenhängt. In der Lamellentrama werden nur sehr selten stark gefärbte intrazelluläre Tropfen beobachtet, noch seltener in der übrigen Trama. Sehr blaß angefärbte, undeutliche Tropfen sind zwar auch hier oft zu erkennen,

doch kommt für die Systematik nur eine klare, scharfe und dunkle Färbung in Betracht. Es muß betont werden, daß es sich vielleicht um keine exakte Fettfärbung handelt, sondern um eine besonders für die Systematik geeignete Methode!

Sind also derartige Tropfen z. B. in den Lamellentramahyphen eindeutig nachzuweisen, so ist das für die Systematik zweifellos von großer Bedeutung. Man kann sich allerdings sehr leicht täuschen: Es werden nämlich durch das Schneiden des Präparates meist zahlreiche Basidien und auch unreife Sporen (deren Membran noch kaum kenntlich ist) mit in das Hyphengeflecht hineingerissen bzw. hineingedrückt. Überdies wird leider auch durch diese Methode das Herausquellen der (gefärbten) Tropfen nicht verhindert, sondern nur stärker unterdrückt, so daß es oft ganz so aussieht, als enthielten die Tramahyphen »Öl«tropfen, was aber – wie gesagt – nur sehr selten tatsächlich der Fall ist. Man muß schon sehr genau hinschauen!

Bei mehreren Arten tritt durch die Vorbeizung in Alkohol-Eisessig eine Art »Schmelzen« (gallertiges Ineinanderfließen, Verkleben durch Erweichen der Zellwände) der Hymenialelemente ein, die dadurch als einzelne unkenntlich werden; doch bleibt der sich färbende Inhalt unverändert, nur die Färbezeit wird etwas länger.

Allein schon die Färbbarkeit des Basidieninhaltes dürfte für die Systematik Bedeutung erlangen, da sie recht verschieden sein kann. So zeigen sich z. B. die Basidien sehr vieler Arten angefüllt mit großen blaugrauen, schwarzblauen etc., oft ineinanderfließenden Tropfen. Bei vielen Arten kommen mehr kleine Körnchen in solchen Farben zum Vorschein, bei wieder anderen Arten sind nur ganz wenige dunkle Pünktchen zu entdecken (so z. B. bei vielen kleinen *Lepiotes* und auch bei anderen Gattungen). Ob diese Färbung für die verschiedenen Arten bzw. Gattungen konstant oder schwankend ist, kann vorerst nur teilweise beurteilt werden. Einige Gesetzmäßigkeiten stellen sich aber schon jetzt heraus:

Entgegen den Vermutungen zeigen sich bei den meisten *Psalliotes* nur spärliche gefärbte Tropfen. Nur bei einer – leider nicht identifizierten – Art der *Flavescentes* sowie bei *Ps. Langei* Moell. war ein reicherer, stärker gefärbter Tropfeninhalt der Basidien zu beobachten, was vielleicht als Specificum gelten kann.

Bei der (in einem volkstümlichen Pilzbuch) als besonders fettreich bezeichneten *Lepiota (Macrolepiota) procera* Fr. ex Scop. wurde nur der reiche Tropfeninhalt der Basidien kräftig gefärbt. Da die Lamellen sehr zahlreich und beim ausgewachsenen Pilz auch breit sind, würde das recht gut zu dieser Regel passen.

Ganz deutlich (wenn auch nicht so stark wie in den Basidien) gefärbte Tropfen in der gesamten Trama konnte ich bisher nur eindeutig bei *Rhodopaxillus personatus* Fr. (*saevus* Bull.) feststellen (neben reichem, stark gefärbtem Basidieninhalt!), so daß dieser vielleicht einer unserer fettreichsten Speisepilze ist, der sich auch züchten läßt. Bei allen anderen *Rhodopaxillus*-Arten fand ich keine richtig gefärbten Tropfen in der Trama.

Ganz eindeutig für die Systematik auswertbar ist die (rasche) Färbbarkeit des Sporeninhaltes, der in der Regel stark ölig ist. So z. B. fand ich, daß sich von allen bisher untersuchten *Russula*-Sporen mit der angegebenen Methode (Verdunstenlassen der Beize; Untersuchung nur in einigen Tropfen der Farblösung, die nicht erneuert werden!) nur die von *R. cyanoxantha* Fr. ex Schff. kräftig färbten. Sie scheinen also die dünnste oder (für diesen Farbstoff) durchlässigste Membran aller *Russulas*sporen zu haben. Hierdurch dürfte es möglich sein, diese Art in allen ihren Formen und Varietäten leicht zu erkennen. Entsprechend verhält es sich bei vielen anderen *Agaricales*-Gattungen. In der Mehrzahl der Fälle ist jedoch der Sporenhalt nicht rasch färbbar. Nur die oft herausquellenden Tropfen werden immer sofort gefärbt, ebenso wie der Inhalt von Sporen mit beschädigter Membran.

Die sog. »Ölhyphen« (»Oleiferen«) wurden in keinem Falle gefärbt – ein neuerlicher Beweis dafür, daß sie tatsächlich so gut wie kein Öl enthalten!

Auch in den Cystiden, Hymenialhaaren etc. kann man sehr oft gefärbte Tropfen oder Körnchen beobachten. Ob dies für die Arten spezifisch ist, wird sich ebenfalls noch herausstellen.

Herstellung der Farblösung: Man übergießt ca. 0,1 g Ceresschwarz mit 50 ccm heißen Alkohols und läßt einige Stunden im heißen Wasserbad unter mehrmaligem Umschütteln stehen. Nach dem Erkalten wird filtriert.

Neutra l r o t ist ein für Untersuchungen an höheren Pilzen bereits angewendeter Farbstoff, der besonders zur Vitalfärbung und zur Färbung von »Vacuolen«, »Vacuomen« etc. dient. Er wird meistens in »physiologischen«, d. h. in sehr stark verdünnten Lösungen bestimmter Salze (dem Salzgehalt des betreffenden Organismus angeglichen) gelöst angewendet. Ich habe probeweise mit einer stark verdünnten Lösung in einfachem destillierten Wasser untersucht und dabei einige Färbungen gefunden, die auch für die Systematik eine gewisse Bedeutung erlangen könnten.

Am zweckmäßigsten ist hier die Untersuchung des Lamellenschnittes – es sei denn, man sucht Oleiferen, die manchmal sehr stark, sogar metachromatisch gefärbt werden. Der Schnitt wird am besten gleich auf den Objektträger gebracht, die Farblösung aufgetropft und das Objekt durch Hin- und Herbewegen möglichst gleichmäßig gefärbt; sodann beginnt gleich die Untersuchung.

Es entwickelt sich ein sehr differenziertes und stark metachromatisches Bild. Am auffallendsten ist das Zum-Vorschein-Kommen mehr oder weniger zahlreicher bis massenhafter, winziger bis großer, bläschenähnlicher, rundlicher Korpuskel in den Tramahyphen und in den Hymenialzellen. Dabei sind meistens ständige Bewegungen und Veränderungen zu beobachten. Die Bläschen scheinen langsam in die Basidien »hinaufzusteigen«. Neben diesen Bläschen zeigen sich überdies sehr oft nicht-blasenartige Vacuolen in ähnlichen oder anderen Farben, z. B. in den Basidien oder Cystiden, die sie oft nahezu »ausfüllen« können. Die »Bläschen« zeigen sich in mannigfachen Farben von Hellrot, Sattrot, Dunkelrot bis Schwarzrot, Purpurviolett, Purpurschwarz etc. Die »Vacuolen« können auch orangegelb, honiggelb oder kupferbraun sein. Gewisse Gesetzmäßigkeiten bestehen zweifellos, doch spielen auch die Reife, der Feuchtigkeitsgrad und die Frische des Pilzes eine Rolle. Es wird wohl noch geraume Zeit dauern, bis diese Untersuchungen abgeschlossen sind. Viele ganz besonders auffallende Färbungen, die vielleicht konstant sind, stellen sich aber bereits jetzt heraus: So kann z. B. ganz allgemein gesagt werden, daß das reichliche Auftreten von stark gefärbten »Bläschen« im umgekehrten Verhältnis zum Auftreten (Vorhandensein) von (stark färbbaren) Oleiferen steht. Je mehr (gefärbte) Bläschen, desto seltener sind (gefärbte) Oleiferen zu beobachten und umgekehrt. (Das Gleiche gilt auch für Färbungen mit vielen anderen Farbstoffen!).

Bei vielen Arten sind z. B. in den Basidien keine gefärbten Bläschen zu sehen (nach einer normalen Färbezeit von 3–20 Min.), bei anderen viele rote, bei wieder anderen z. B. purpurschwarze Bläschen, woraus man für die Systematik Nutzen ziehen könnte, falls sich Derartiges als konstant erweisen sollte.

Selten kommt es vor, daß auch die frisch ausgefallenen Sporen rote Bläschen zeigen, wie dies für gewisse *Lepioten* der Gruppe um *L. hystrix* Moell. et Lge., *acutesquamosa* Weinm., *echinacea* Lge. etc. spezifisch zu sein scheint.

Ganz besonders frappant ist die Färbung bei *Gymnopilus*-Arten der *Sapinei*-Gruppe (wahrscheinlich *G. hybridus* Fr. und *penetrans* Fr., jedenfalls bei zwei untersuchten Arten!). Hier entwickeln sich in den Tramahyphen unterm Mikroskop riesige runde, orangegelbe bis rote Blasen, die zudem noch auffallend Orangen ähneln. Sehr bald bilden sich innerhalb einer solchen »Blase« eine oder mehrere neue Blasen in etwas anderem Rot, die ständig wachsen und bald die ursprüngliche Blase mehr oder weniger ausfüllen. Dieser Vorgang v e r l a n g t direkt nach der Bezeichnung »Orangenreaktion«. Es ist jedoch möglich, daß sie stärker von der Frische und dem Feuchtigkeitsgrad des Pilzes abhängt.

Ganz gute Dienste leistet die Färbung bei der Untersuchung von *Psalliota*-Arten, die bekanntlich oft fast nicht exakt zu unterscheiden sind. Bei diesen färbt sich der Inhalt der Marginalzellen ziemlich unterschiedlich. So wird er z. B. bei der häufigen kleinen Form von *Ps. silvatica* Schff. durchweg homogen rot (ohne differenzierte Bläschen!). Für die

Marginalzellen der meisten *Flavescentes*-Arten dürfte die Bildung vieler stark und dunkel gefärbter Inhalts»bläschen« konstant sein, ebenso wie für die meisten Arten der *Rufescentes* eine schwächere Färbung spärlicherer Inhaltsbläschen konstant zu sein scheint. Einige Varietäten von *Ps. silvatica* Schff. zeigen dagegen keine (oder nur einige) Marginalzellen mit homogen-rottem Inhalt. Bei *Ps. rubella* Gill. (oder *amethystina* Qué!?) sind auf einer Lamellenschnaide homogen-rote Zellen und solche mit differenziert gefärbtem »Bläschen«inhalt zu beobachten. Bei *Ps. Langei* Moell. fand ich keine einzige homogen-rote Marginalzelle.

Damit sind die Möglichkeiten des Neutralrots noch bei weitem nicht erschöpft. Sein Wert liegt vor allem in seinen metachromatischen Wirkungen und in seiner Eigenschaft als Vitalfarbstoff. Es ist also hauptsächlich für rein biologische Untersuchungen bestimmt. Es nur für systematische Zwecke zu verwenden, dürfte überflüssig sein – es sei denn, es stellen sich bei den biologischen Untersuchungen nebenher, wie oben erwähnt, spezifische Merkmale heraus.

Ich verwendete zur Lösung eine Farbstoffmenge (»BAYER« st.), die etwa auf einem halben Normalstreichholz (keinem flachen!) halb gehäuft Platz hat, in 50 ccm reinsten destillierten Wassers. Die Lösung soll hellfarbig, nicht sattfarbig sein. Der Farbstoff ist außerordentlich empfindlich, so daß schon die minimalste Verunreinigung durch Chemikalien wie auch z. B. durch »hartes« Brunnenwasser die Farbe der Lösung verändern und ganz andere Wirkungen erzeugen kann.

**Nilblau.** Die üblichen Färbemethoden mit diesem Farbstoff scheinen für Untersuchungen an höheren Pilzen (wenigstens den *Agaricales*) weniger geeignet zu sein. Sehr auffallend, stark metachromatisch und differenziert ist sie dagegen bei nachfolgender Differenzierung in Ammoniak, wobei die Farbe in Rot umschlägt. Sie ist ganz ähnlich der Neutralrotfärbung (bei dessen Lösung in einfachem destillierten Wasser!), nur noch stärker, mit stärkeren und rascheren Veränderungen. Da sie also komplex ist, ist sie natürlich für die Systematik weniger wertvoll, kann jedoch in einigen Fällen als Hilfsmittel recht gute Dienste leisten. So werden z. B. die Oleiferen bei etlichen *Inocyben* wie auch bei anderen Gattungen sehr stark hervorgehoben (Farbe mindestens 15 Min. einwirken lassen, dann erst differenzieren!)

Die Sporen von *Collybia dryophila* Fr. ex Bull. zeigen dunkelpurpurrote Inhaltsbläschen, wodurch man vielleicht die Art in allen ihren Formen und Varietäten erkennen kann. Bei den Sporen von *Clitocybe clavipes* Fr. ex Pers. wird eine riesige Vacuole auffallend gefärbt: Gelb, goldkupfer, orangerot etc., was sich ständig verändert. (Bei den Sporen vor dem Differenzieren ca. 5–10 Min. färben!)

Schwächt man die Wirkung des Ammoniaks durch Beimischung einer geeigneten Menge z. B. einer wäßrigen (gesättigten) Ammoniummolybdatlösung ab, so kann man die Länge der Basidien, die die blaue Farbe zurückhalten, genauestens messen. (Bekanntlich ist dies manchmal recht schwer, z. B. wenn die Basidien alle klein und dünnwandig sind und das ganze Hymenium extrem dicht, fast verklebt, glasig-opalisierend und refringent ist.)

Herstellung der Farblösung: Ca. 0,1 oder auch mehr g Nilblau werden in 20 ccm aq. dest. gelöst, dann wird filtriert. Zur Differenzierung wird gewöhnlicher, kein konzentrierter Ammoniak verwendet.

### Mikrochemische Farbreaktionen

Die »Sulfo-Aldehyd«, die von mir im ersten Teil (Z. f. P. 1956, Heft 4) irrtümlich unter »Färbungen« aufgeführt wurden, gehören in diese Rubrik. Von Kühner wird hier besonders das »Sulfo-Anisaldehyd« gerühmt.

**Eine polychrome Amyloidfärbung:** Diese Methode ist zwar für die Systematik durchaus entbehrlich, doch schadet ihre Anwendung auch nichts. Sie ist nur für die Sporen zu gebrauchen, bei denen sie nahezu alle Farben erzeugen kann. Wenn man will, kann man z. B. die Sporen möglichst vieler verschiedener Gattungen zusammen

auf den Objektträger bringen. Man erhält ein überraschend buntes Bild, wie beim Blick in ein Kaleidoskop.

Viele Mykologen sind im Besitz von Methylblau (nicht Methylenblau!), das besonders zu Kernfärbungen verwendet wird. Man mischt also z. B. ca. 1,3 ccm aq. dest. mit 0,5 ccm Milchsäure und löst darin etwas Methylblau (etwa ein halbes, nicht flaches Normalstreichholz gehäuft voll Farbpulver) und gibt 8–9 Tropfen Melzerlösung (ohne Chloralhydrat) hinzu, vermischt alles gut und filtriert. Die Farblösung wird einfach dem Sporenstaub auf dem Objektträger aufgetropft. Die Sporen von *Macrolepiotes* werden purpurbraun bis schwärzlich etc.; die von *Tricholomen* blau, türkisblau etc.; die von *Clitocyben* türkisblau bis hellgrün etc.; *Marasmiensporen* grün; *Cortinariaceensporen* grünlich, bläulich, rotbraun, kupfer, lila, braun, honigbraun etc.; manche *Inocybensporen* werden nur honiggelb, andere Sporen grau etc. etc. Für die Systematik kann man allerdings meistens nur wenig Nutzen daraus ziehen, da die Färbung der Einzelspore wie auch des Staubes bei geringerer Sporenmenge oft anders ausfällt als bei größerer Menge. Eine Normung der Sporenmenge wäre viel zu kompliziert.

Anders liegt der Fall, wenn ausgesprochen rote Farben auftreten, was spezifisch sein dürfte. So z. B. färbten sich die Sporen einer *Cortinarius*-Art, die ich ärgerlicherweise nicht mehr identifizieren konnte, kräftig hellrot (etwa saturnrot), und die von *Hygrophorus virginens* Wulf. ex Fr. wurden türkis mit ausgesprochen roten, körnchenähnlichen Stellen in ihrem Innern. Da durch die Methode natürlich auch die Stärke angezeigt wird (z. B. durch prächtiges Braunviolett), so wird ihre Anwendung – dies sei wiederholt – bestimmt nichts schaden. Man muß sich eben im Falle einer Amyloidität die Mühe machen und eventuell nochmals mit der klassischen Melzermethode untersuchen.

Kaliumpermanganat (übermangansaures Kali) wirkt besonders stark auf *Laccaria*-Sporen, die samt Stacheln dunkelbraun werden. Dies dürfte besonders zur Erkennung von glattsporigen *Laccarien* von Nutzen sein, von denen zweifellos noch etliche der Entdeckung harren.

Man bereitet eine ziemlich kräftige, wäßrige Lösung, die man den Sporen auf dem Objektträger auftröpfelt; sodann wartet man, bis sie eingetrocknet ist, wonach die Sporen etwa schwärzlichbraun werden. Tropft man für die Untersuchung unterm Mikroskop neuerlich Farblösung auf, so werden sie wieder heller.

### Makrochemische Farbreaktionen

Leider gibt es bis heute noch keine Methode, mit deren Hilfe man giftige Pilze durch Farbreaktionen einwandfrei erkennen könnte, während man für die Gifte höherer Phanerogamen bereits viele Farbreaktionen kennt. Es ist jedoch möglich, sogar wahrscheinlich, daß die negative Ammoniak-Tyrosin-Reaktion für unsere gefährlichsten Giftpilze, die drei Knollenblätterpilze *Amanita phalloides*, *verna* und *virosa*, konstant ist, während diese Reaktion für die überwiegende Mehrzahl der anderen *Agaricaceen* (der giftigen wie der essbaren!) positiv ist.

Vom Anilin dürfte noch wenig bekannt sein, daß die Dämpfe (kalt!) ganz andere Reaktionen erzeugen können als das aufgetupfte Öl. So bewirken sie z. B. (aus einer Entfernung von ca. 5–25 cm) bei *Collybia* (*Rhodocollybia* Sing.) *distorta* Fr. auf Lamellen und Huthaut ein Graugrün, während das aufgetupfte Öl im Fleisch normal rötlich wirkt, ebenso wie es auch bei anderen Pilzen in der Regel ein Braunrot, Trübbrot etc. erzeugt.

Bei dieser Gelegenheit sei eine besonders schnelle und schöne Reaktion auf das aufgetupfte Öl erwähnt: Das Fleisch von *Rhodophyllus sepium* Noull. et Dass. wird kirschrot.

Molybdänsäure (oder Ammoniummolybdat) erzeugt, in Säuren (z. B. starker Salzsäure, Schwefelsäure) gelöst, ganz besonders schnelle, klare und starke Farbreaktionen. Die Färbung wird schließlich meistens blau. Daraus, ob ein Gelb oder Grün vorangegangen ist oder nicht, kann man für die Systematik Nutzen ziehen.

# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://www.zobodat.at)

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Zeitschrift für Pilzkunde](#)

Jahr/Year: 1957

Band/Volume: [23\\_1957](#)

Autor(en)/Author(s): Sandor Rudolf

Artikel/Article: [Neue Färbungen und Farbreaktionen an frischen Blätterpilzen und Röhrlingen 33-37](#)