

Zeitschrift: Schweizerische Zeitschrift für Pilzkunde = Bulletin suisse de mycologie
Herausgeber: Verband Schweizerischer Vereine für Pilzkunde
Band: 46 (1968)
Heft: 4

Artikel: Bemerkungen zum Nachweis der siderophilen Granulation der Lyophyllum-Basidie
Autor: Clémenton, Heinz
DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-937097>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 01.04.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

Pilát, A. (1955): *Leucopaxillus alboalutaceus* (Möller) Möller in Bohemia. *Čes. Mykol.* 19 (2): 100–101.

Quélet, L. (1888): *Flore mycologique de la France et des pays limitrophes.* Paris, O. Doin.

Singer, R. (1943): Das System der Agaricales III. *Ann. mycol.* 41: 1–189.

Singer, R. (1962): The «Agaricales» in modern taxonomy. 2. Aufl., Cramer J., Weinheim.

Bemerkungen zum Nachweis der siderophilen Granulation der *Lyophyllum*-Basidie

Von Heinz Clémenton, Urbana, Illinois (USA)

Es herrschen leider in weiten Kreisen deutschsprachiger Mykologen, besonders unter den nebenberuflichen, beträchtliche Verwirrung und Unsicherheit über die Technik der Färbung der «karminophilen» Granulation in den Basidien der Gattungen *Lyophyllum*, *Calocybe* und *Tephrocybe*. Dies ist wohl auf die allzu knappen Angaben in den sonst ausgezeichneten und weit verbreiteten Bestimmungsbüchern von Moser (1955, 1967) und auf die geradezu irreleitenden Darstellungen von Hennig (1964, S. 100, 101) zurückzuführen. Insbesondere herrscht Unsicherheit über die Verwendung von Eisen in der Reaktion und über das zu beobachtende Resultat.

In der vorliegenden Arbeit sollen deshalb Theorie und Praxis des Nachweises der «karminophilen» Granulation, wie sie sich aus meinen cytochemischen Untersuchungen ergeben haben, dargestellt werden.

1. Theorie

a) Die Färbung mit Karminessigsäure (KES)

Die Gegenwart von Eisen in der KES während der Färbung ist von ausschlaggebender Bedeutung. Dreiwertige Eisenionen bilden mit den Karminmolekülen in heißer Essigsäure einen purpurschwarzen Komplex. Es ist dieser Komplex, und nicht das einfache Karmin, welches die Granulation färbt. Um aber eine Färbung erzielen zu können, muß der Komplex gelöst bleiben und darf nicht auskristallisieren. Er ist aber nur in heißer, nicht aber in kalter Essigsäure löslich, was bedingt, daß während der Färbung die Temperatur über längere Zeit, als zur Bildung des Komplexes notwendig ist, hochgehalten werden sollte. Der Färbevorgang selbst ist eine Reaktion des Eisen-Karmin-Komplexes mit dem basischen Protein der Granulation, wobei sich der Komplex mit dem Eisenatom an eine Aminogruppe des Proteins anheftet (Clémenton, 1968). Das Eisen spielt also eine sehr wichtige Rolle, indem es als Brücke zwischen dem Protein und dem Karmin dient.

Davon kann man sich leicht überzeugen, indem man die Färbung mit und ohne Eisenzufuhr durchführt. Im letzteren Falle wird die Granulation nicht gefärbt.

Dies führt geradewegs zur Erkenntnis, daß die Granulation nicht «karminophil» (= «karminliebend») ist, sondern daß eine Affinität zum Eisen besteht und sie deshalb mit «siderophil» (= «eisenliebend») bezeichnet werden muß.

Es muß nun aber gleich gesagt werden, daß noch eine Anzahl weiterer Metalle die Rolle des Eisens übernehmen können: Kupfer, Blei, Thorium, Zirkonium und Titanium. Alle bilden dunkle Komplexe mit Karmin und besitzen eine Affinität

zum Protein der siderophilen Granulation. Die Resultate einer Reihe von Untersuchungen deuten darauf hin, daß zwar bei allen diesen Metallen im wesentlichen die gleiche Reaktion mit den Proteinen abläuft, diese aber an verschiedenen Stellen des Proteins stattfinden. Dies bedeutet in der Praxis, daß bei Verwendung mehrerer Metalle die Färbung der siderophilen Granulation dunkler wird, da mehr Karmin gebunden wird als bei der Verwendung nur eines der Metalle.

Es hat sich gezeigt, daß es zur Verhütung einer übermäßigen Produktion des Metall-Karmin-Komplexes von Vorteil ist, die zwei Reaktionen der Metalle zu trennen. Zuerst sättigt man die Proteine der siderophilen Granulation mit den Metallen, und dann erhitzt man die Basidien in reiner KES, wo nun das Karmin an diejenigen Stellen der Basidie gebunden wird, welche die Metalle während der Beizung aufnahmen.

Es könnte nun erwartet werden, daß die anderen Proteine der Basidie auch gefärbt werden. Dies trifft tatsächlich zu, aber der Unterschied im Grade der Färbung ist sehr groß. Das beruht auf dem großen Unterschied im Gehalt an reaktionsfähigen Aminogruppen zwischen den Proteinen der Granulation und den übrigen Zellproteinen. Dies gestattet auch eine weitgehende Extraktion des Farbstoffes aus den üblichen Zellproteinen mit Essigsäure, während die siderophile Granulation sehr dunkel, fast schwarz gefärbt bleibt.

Für die praktische Anwendung ergeben sich aus diesen Tatsachen folgende Richtlinien:

1. Es muß mindestens eines der geeigneten Metalle während der Reaktion vorhanden sein. Es empfiehlt sich dringend, gleichzeitig mehrere Metalle anwesend zu haben, da dadurch die Intensität der Färbung stark gesteigert wird.
2. Zur Herstellung des färbenden Komplexes muß die Lösung aufgeköcht werden, und zur völligen Färbung der Granulation muß die Lösung während einiger Zeit kochend gehalten werden.
3. Es ist vorteilhaft, nach der Färbung den überschüssigen oder an unerwünschte Proteine gebundenen Farbstoff so weit als möglich zu entfernen, was mit Essigsäure leicht zu bewerkstelligen ist.

b) Die Beobachtung

Die siderophilen Grana sind recht klein: 0,2–0,5 μ im Durchmesser. Zum sicheren Erkennen müssen daher sehr gute optische Verhältnisse herrschen. Dies bedeutet, daß der optische Brechungsindex des Einschlußmittels recht hoch sein muß und daß mit Ölimmersionsobjektiven gearbeitet werden muß.

Es ist zwar leicht, bei mittlerer Vergrößerung eine positive Reaktion von einer negativen zu unterscheiden. Im ersten Fall ist die Basidie fast ganz oder doch teilweise mit purpurschwarzem Inhalt angefüllt, im letzteren Fall ist sie nur zart rosa. Es ist nun aber möglich, daß sich andere Zellbestandteile als die siderophilen Grana intensiv mit Eisen-KES färben. So zum Beispiel die Zellkerne und auch der Inhalt der Chrysocystiden. Um sicherzugehen, daß wirklich siderophile Grana vorliegen und nicht etwa andere Grana, muß mit größtem Auflösungsvermögen und mit hohen Vergrößerungen gearbeitet werden.

Woran erkennt man nun die siderophilen Grana?

Demonstration der siderophilen Granula

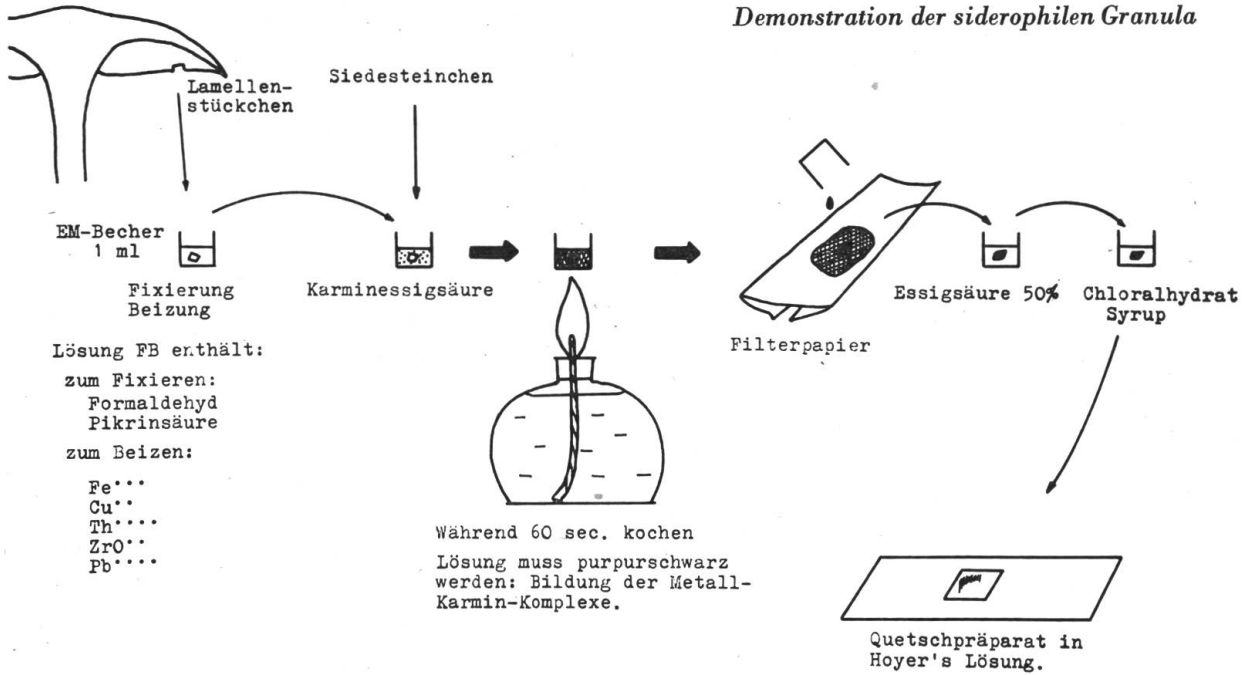


Abb. 1. Nachweis der siderophilen Granulation.

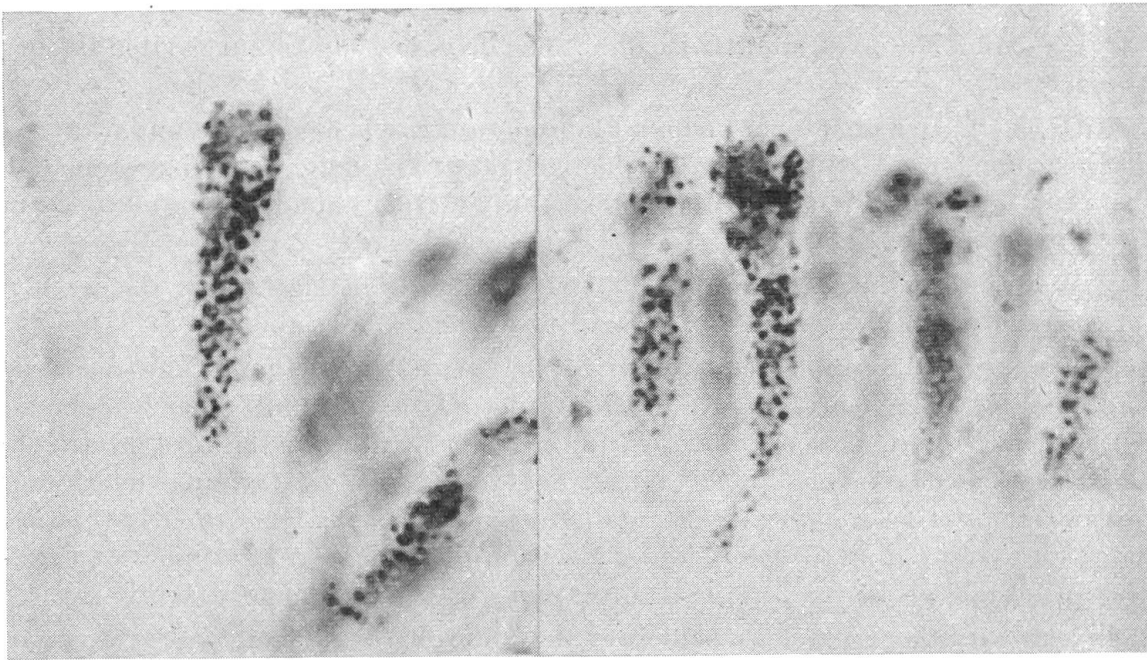


Abb. 2. Siderophile Granulation in der Basidie von *Tephroclybe carbonaria* (Vel.) Donk. Die paarige Anordnung der Grana ist vielfach deutlich erkennbar. Vergrößerung 1500 : 1.

Sie färben sich nicht nur intensiv mit Eisen-KES, sondern in allen bis jetzt von mir untersuchten Fällen hat sich gezeigt, daß sie paarweise genähert im Plasma auftreten. Worauf dies beruht und ob das für alle Arten gilt, weiß ich leider noch nicht, doch bin ich geneigt, nur die paarigen Grana als echte siderophile Grana anzuerkennen.

Solche Paare sind auch mit Leichtigkeit in Photographien anderer Autoren zu finden, ohne daß diese darauf aufmerksam machten und man somit annehmen kann, daß diese Tatsache ihnen entgangen ist (wie mir dies Kühner auch persönlich mitgeteilt hat). Eine solche Photographie ist zum Beispiel die Tafel 8 in Singers «Agaricales in Modern Taxonomy» (Weinheim 1962).

2. Praxis

Aus der Theorie der Färbung und Beobachtung ergibt sich folgendes Arbeitsschema (siehe Abb.1):

1. In kleine, 1 ml fassende Bechergläser werden folgende Lösungen, je etwa 0,5 ml, gegeben:

- a) Lösung FB (Zusammensetzung siehe unten)
- b) KES und 1–2 kleine Siedesteinchen
- c) Essigsäure 50 %
- d) Chloralhydratlösung

2. Ein Fragment der Lamelle, etwa $1-2 \times 1-2$ mm, wird für mindestens 1 Minute in den ersten Becher mit FB gebracht und untergetaucht. Diese Lösung fixiert und beizt. Man kann die Objekte auch tagelang darin aufbewahren. Frisches, fixiertes oder getrocknetes Material ist etwa gleich gut verwendbar.

3. Das Stücklein wird direkt, also ohne zu spülen, in die KES im zweiten Becher übertragen.

4. Die KES wird über einer kleinen Flamme zum Kochen gebracht und während 60 Sekunden (standardisiert) am Kochen gehalten. Vorsicht: ohne Siedesteinchen stößt die KES explosionsartig auf. Rühren mit einer Eisennadel ist unnötig, da in FB gebeizt wurde.

5. Während die heiße KES abkühlt, bringt man die Essigsäure in Becherchen Nr.3 zum Kochen. Dann stellt man das Becherchen wieder ab.

6. Nun wird der Inhalt des zweiten Becherchens auf ein Papier ausgeleert, so daß man das Lamellenfragment mühelos findet. Dieses wird mit einer Nadel oder feinen Pinzette aufgelesen und sofort in der noch warmen Essigsäure im dritten Becher geschwenkt. Vorsicht: zu langes Schwenken hat Entfärbung der siderophilen Granulation zur Folge. – Wem diese Differenzierung in warmer Essigsäure zu riskant ist, kann natürlich in kalter Säure spülen. Dies hat zwar nicht den gleichen Effekt, aber die siderophile Granulation wird sicher nicht entfärbt.

7. Nun wird das Lamellenstücklein in die Chloralhydratlösung gebracht, wo es während etwa 1 Minute zur Durchtränkung bleiben muß. Dies ist notwendig, um die benötigten optischen Bedingungen zur Beobachtung zu schaffen.

8. Für vorübergehende Beobachtungen genügt es, ein Quetschpräparat in der Chloralhydratlösung herzustellen. Für Dauerpräparate sollte man in Hoyers Medium einbetten und nach ein paar Tagen mit farblosem Nagellack umranden.

9. Beobachtung mit der Ölimmersion und Suche nach den charakteristischen Paaren, welche in den meisten Fällen leicht zu finden sind. Abb.2 illustriert die Klarheit der Färbung.

Benötigte Lösungen

Lösung FB (FB steht für Fixierung und Beizung):

Ferrichlorid krist. 10 % in Essigsäure 50 %	5 ml
Kupferacetat krist. 10 % in dest. Wasser	5 ml
Thoriumnitrat krist. 1 % in Essigsäure 50 %	5 ml
Zirkonylchlorid krist. 1 % in Essigsäure 50 %	5 ml
Pikrinsäure, gesättigte Lösung in Wasser	5 ml
Formaldehyd, gesättigte Lösung in Wasser	5 ml
Bleiacetat krist. 1 % in Essigsäure 50 %	1 ml

Die Bleiacetatlösung wird zuletzt und unter stetem Rühren langsam zugegeben. Lösung FB ist sehr giftig!

Karminessigsäure

Heiß gesättigte Lösung von Karmin in 50%iger Essigsäure. Käufliche KES ist oft ungeeignet. Oft liest man auch über «ungeeignete» Marken von Karmin, doch ist nach meinen Erfahrungen jede Marke geeignet, wenn man die Lösung nicht nur während 15–20 Minuten unter Rückfluß, sondern 2 Stunden lang kocht.

Hoyers Medium

Destilliertes Wasser	50 ml	Chloralhydrat	200 g
Gummi arabicum	30 g	Glycerin	16 ml

Die Mischung benötigt mehrere Tage zum Auflösen und muß öfters gerührt werden. Durch Staub verunreinigter Gummi hat natürlich trübes Medium zur Folge. Es kann durch Druckfiltration gereinigt werden.

In Hoyers Medium hält sich die Färbung der siderophilen Granulation recht gut. Für weitere Information siehe Beeks (1955).

Chloralhydratlösung

Destilliertes Wasser 10 ml, Chloralhydrat 20 g

Literatur

- Beeks, R. M. (1955): *El Aliso* 3, 131–134.
Cléménçon, H. (1968): *Nova Hedwigia* 14, 127–142.
Hennig, B. (1964): *Handbuch für Pilzfreunde*, Band 3. Fischer, Jena.
Moser, M. (1955): Die Röhrlinge, Blätter- und Bauchpilze. 2. Aufl. In: H. Gams, *Kleine Kryptogamenflora*. Fischer, Stuttgart.
Moser, M. (1967): *ibid.*, 3. Auflage.

Benützt die Verbands-Diasammlung für jeden Lichtbildervortrag!

Auf Verlangen wird Ihnen sofort ein Dia-Bestellschein mit der Liste der erhältlichen Lichtbilder zugestellt. Die Leihgebühr setzt sich zusammen:

- Grundtaxe von Fr. 1.–
- Gebühr pro Einzelbild Fr. –.10 (Standort- oder Atelieraufnahme)
- Gebühr pro Doppelbild Fr. –.15 (Standort- und Atelieraufnahme)
- Portospesen.

Dia-Verwalter: Ernst Rahm, Grafiker, 7050 Arosa.