

Die Seite für den Pilzmikroskopiker

Folge 3: Das Mikroskopieren von Schlauchpilzen

von Hans-Dieter Zehfuß, Pirmasens

Nachdem ich in den zwei voraus gehenden Folgen von **Der Tintling** auf das Mikroskopierbecken und geeignete Hilfsmittel für das Mikroskopieren eingegangen bin, soll es nun in medias res gehen, das heißt ich will mich nun konkret dem Mikroskopieren von Pilzen zuwenden. Für den Anfang habe ich weichfleischige Ascomyceten, wie z.B. Helvellen oder Discomyceten ausgewählt.

Am Aufbau dieses Beitrages soll deutlich werden, wie ich zunächst grundsätzlich vorgehen denke.

Nach einer kurzen Einführung in die besondere Problematik des Mikroskopierens der behandelten Pilzgruppe, werden die notwendigen Techniken beschrieben und die dazu notwendigen Chemikalien in ihrer Zusammensetzung vorgestellt; eventuell Bezugsquellen genannt. Dabei sollen auch die persönlichen Erfahrungen im Umgang damit, nicht unter der Decke gehalten werden. Dies alles soll in der knappen

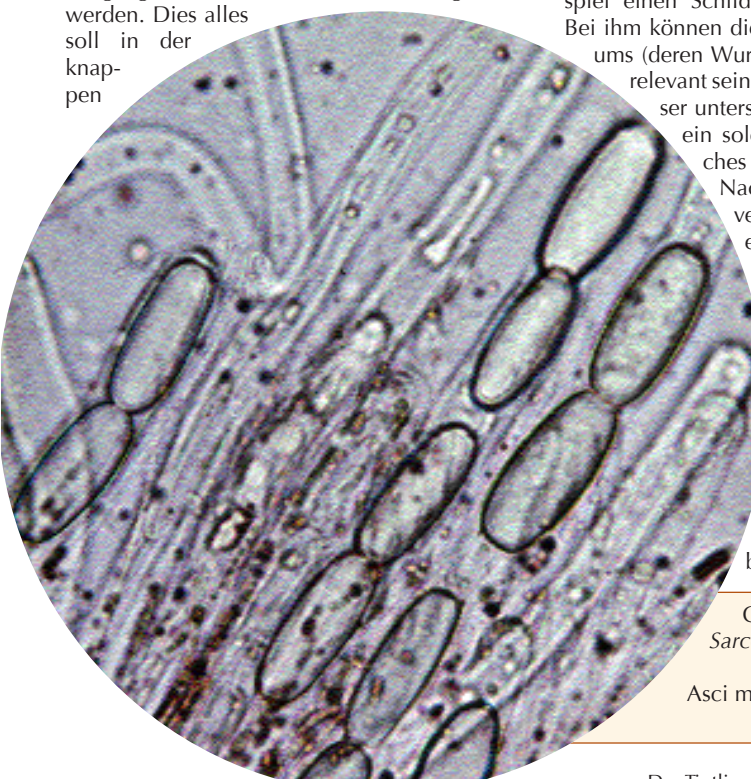
Form einer Gebrauchsanweisung geschehen, damit im Bedarfsfalle rasch auf die benötigten Informationen zu gegriffen werden kann.

Diese Methode hat gegenüber der, die zur Pilzmikroskopie insgesamt (eventuell) notwendigen Chemikalien in einer besonderen Artikelfolge abzuhandeln, den Vorteil, dass die benötigten Agens in direktem Zusammenhang vorgestellt werden und auch spätere Einsteiger gleich „voll mitspielen“ können. Ich tue dies im Bewusstsein der Tatsache, dass ich mich deshalb hin und da wiederholen muss. Bei der steigenden Nachfrage nach **Der Tintling** kann nämlich nicht sichergestellt sein, dass Neu-Abonnenten die dann benötigten früheren Ausgaben noch problemlos werden nachbeziehen können.

Grundsätzlich können eigengefärbte Bestandteile von Basidiocarpium in einem hyalinen Medium untersucht werden. Nehmen wir zum Beispiel einen Schildborstling (*Scutellinia spec.*). Bei ihm können die Randborsten des Apothezioms (deren Wurzelbildung bestimmungsrelevant sein kann), ohne weiteres in Wasser untersucht werden. Wasser ist also

ein solches hyalines Medium, welches allerdings den unbequemen Nachteil besitzt, sehr rasch zu verdunsten. Besser ist deshalb,

ein verdunstungsträges hyalines Medium, wie L4 (= Glycerinpuffer)* oder Chloralhydrat-Lösung zu wählen. Darin können auch die Paraphysen untersucht werden. Die Randborsten erscheinen unter dem Mikroskop tief dunkelbraun und die Paraphysen hell orange-rot. Dabei sieht man dann gleich, dass die hübsche Färbung der Apothezien dieser

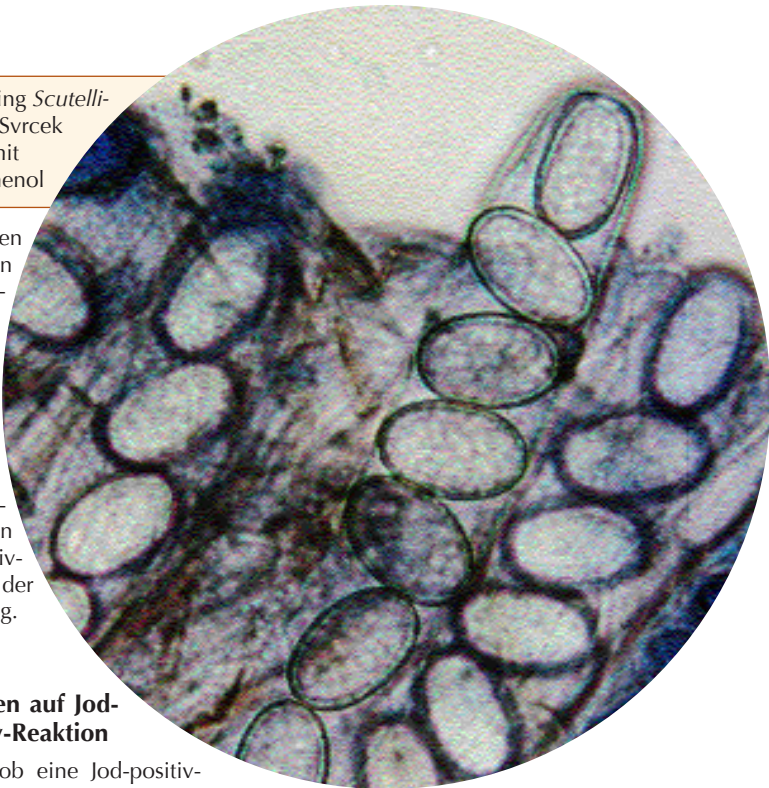


Gemeiner Kelchbecherling
Sarcoscypha austriaca (Beck ex,
Saccardo) Boudier
Asci mit Sporen und Paraphysen
in L4 präpariert

Sternhaariger Schildborstling *Scutellinia ceijpii* (Velenovsky) Svrcek
Hymenium, gefärbt mit
Baumwollblau in Lactophenol

Pilze von den Paraphysen kommt, Gewebeschichten seitlich und unter dem Apothezium, das Excipulum (Textura), wie auch hyaline Sporen (Ornamentation) müssen angefärbt werden. Asco-Freaks bevorzugen in diesen Fällen Baumwollblau.

Für die Zuordnung von Ascomyceten zu bestimmten Gruppen ist die Jod-positiv- oder Jod-negativ-Reaktion der Ascusspitzen von Bedeutung.



Technik a.

Prüfung von Ascusspitzen auf Jod-positiv- oder Jod-negativ-Reaktion

Eine eindeutige Aussage, ob eine Jod-positiv- oder Jod-negativ-Reaktion der Ascusspitzen vorliegt, ist nur auf diese Weise möglich.

1. Das Präparat in 3 bis 5 %iger Kali- oder Natronlauge über einer Spiritusflamme (zur Not tut es auch ein Gas-Feuerzeug) erwärmen bis Blasen kommen.
2. Die nicht verdunstete Lauge mit dem Filterpapierstreifen absaugen.
3. Destilliertes Wasser auftropfen und gleich wieder absaugen (= so genannte Präparatwäsche).
4. Melzers Reagens auftropfen, das Deckglas auflegen und das Präparat quetschen.

Farblösung Melzers Reagens

Originalrezept nach Melzer (1924)

In 20 ml destilliertem Wasser werden nacheinander (Reihenfolge wichtig) 1,5 gr. Kaliumjodid, 0,5 gr. Jod und 22 gr. Chloralhydrat aufgelöst. Die Lösung bleibt lange haltbar und gebrauchsfähig. Man kann aber auch beide Komponenten, Kaliumjodid und Chloralhydrat mit jeweils der Hälfte

*) Diese Untersuchungsflüssigkeiten bzw. Farblösungen können fertig bei Walter Pätzold Schwarzwälder Pilzlehrschau, Werderstraße 78132 Hornberg bezogen werden.

te der Wassermenge getrennt aufbewahren, diese erst auf dem Objektträger zusammenbringen und mit einem Glasstab verrühren. Die Chloralhydratlösung steht dann als verdunstungsträges Untersuchungsmedium für eigengefärbte Objekte zusätzlich zur Verfügung (s.o.).

Technik b.

Anfärben von Ascomyceten-Hymenien- und -Trama in Lactophenol-Baumwollblau

Einem Trama- bzw. Hymeniumsschnitt von einem Ascomyceten wird ein Tropfen der nachstehenden Farblösungen zugesetzt, mit Deckglas abgedeckt und über einer Spiritusflamme vorsichtig bis zum Aufkochen erwärmt. Quetschpräparate werden entsprechend behandelt.

Farblösung Baumwollblau in Lactophenol* bestehend aus:

- 20 gr. Phenol
- 20 gr. Milchsäure
- 40 gr. Glycerin
- 20 gr. Aqua destillata
- 0,05 gr. Baumwollblau (Cotton blue)

nach meinen Erfahrungen ergibt dies, trotz Erwärmung zumindest bei Quetschpräparaten, oft

eine nur unvollkommene und in der Intensität uneinheitliche Durchfärbung des Präparates (wie sie auch das beigegefügte Bild zeigt). Ich weiche deshalb gerne auf andere Färbemittel, wie z.B. die Sporenwand-Färbemittel Kongorot und Chlorazolschwarz* oder auch auf das, das Cytoplasma anfärbende Phloxin aus.

Siehe hierzu auch Erb/Matheis: Pilzmikroskopie. Bei Exsikkaten das Präparat vor der Färbung in 10%iger Ammoniaklösung aufquellen, dann Präparatwäsche durchführen und anschließend wie oben beschrieben behandeln. Die für das Aufquellen von Basidiomyceten-Exsikkaten übliche 3 -5%ige Kalilauge kann Skulpturen auf Ascosporen zum Verschwinden bringen.

Technik c.

Sichtbarmachung der Ornamentationen bei Ascomyceten-Sporen

Einem Sporen- Abwurfpräparat auf einem Objektträger wird 1 Tropfen der nachfolgend beschriebenen (oder der vorgenannten) Farblösung zugesetzt, das Deckglas aufgelegt und das ganze

über einer Spiritusflamme vorsichtig erwärmt. Die Ornamente auf den Sporen nehmen die Farbe gut an, während die Sporenmembran mehr oder weniger ungefärbt bleibt.

Baumwollblau-Farblösung nach Le Gal*

0,05 gr. Baumwollblau (C4B) in

30 gr. Milchsäure lösen.

Die Lösung mehrere Tage stehen lassen und dann abfiltrieren.

Anmerkung

Zum Umgang mit einem Spiritus-Brenner zum Erwärmen der Präparate muss noch folgendes angemerkt werden. Vor dem Aufsetzen der Kappe nach dem Gebrauch des Brenners muss die Flamme gelöscht werden. Wird die Kappe direkt aufgesetzt, kann es zur Explosion kommen.

Beim Erwärmen den Objektträger nicht mit den Fingern halten. Glas ist ein guter Wärmeleiter und so kann man sich leicht die Finger verbrennen. Ein gutes Halteinstrument für den Objektträger ist eine etwas größere hölzerne Wäscheklammer. Wird fortgesetzt