

# Die Seite für den Pilzmikroskopiker

## 7. Folge: Sporenmikroskopie bei Blätter- und Röhrenpilzen

von Hans-Dieter Zehfuß, Pirmasens

Nachdem die fünf vorausgehenden Folgen die Mikroskopie von Schlauch- und Nichtblätterpilzen zum Thema hatten, sollen nun mikroskopische Praktiken bei „Richtigen Pilzen“ zur Sprache gebracht werden, also von weichfleischigen Pilzen, die sich aus einem radiären Hut und darunter  $\pm$  zentral angehefteten Stiel zusammensetzen.

Zunächst geht es um Lamellen- und Röhrenpilze, bei denen sich die Methoden weitgehend gleichen. Sprödblätterpilze (Milchlinge und Täublinge) werden nachfolgend besonders behandelt.

Eingangs sollen praktikable Methoden für das Mikroskopieren von Sporen angesprochen werden. Gründe für Sporenenuntersuchungen sind u.a. festzustellen, ob und wie die Sporen gefärbt sind (die Sporenfarbe ist oft nicht gleich der Sporenpulverfarbe), ob die Sporen-Außenwand glatt oder ornamentiert ist. Weiter, um die Sporen in ihrer Kontur gut gegenüber dem Untersuchungsmedium zu differenzieren, damit ihre Größe einwandfrei ermittelt werden kann.

Hierfür ist zunächst von Bedeutung, ob es sich um von Natur aus gefärbte oder ungefärbte Sporen handelt, ob die Sporenwand ein- oder mehrschichtig aufgebaut ist und wie die einzelnen Schichten auf Chemikalien und Färbemittel, wie z.B. Jod, Baumwollblau oder Brillantkresylblau reagieren. Bei einer Reaktion auf Jod (Lugolsche Lösung, Melzers-Reagens) spricht man je nach deren Ausfällen von Amyloidität bzw. Pseudo-Amyloidität (Dextrinoidität), bei dem Ansprechen auf Baumwollblau, von Cyanophilie und bei Reaktion auf Kresylblau, von einer Metachromasie.

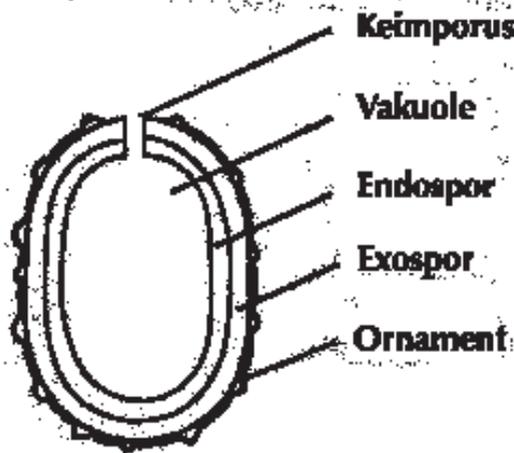
Von Natur aus dunkel gefärbte Sporen können in hyalinen Medien, wie Wasser, Chloralhydrat-Lösung oder L4 untersucht werden. Bei Arten aus der Familie Cortinariaceae, die ornamentierte Sporen aufweisen, wird als Untersuchungsmedium allgemein 5 %-ige Kaliumhydratlösung empfohlen.

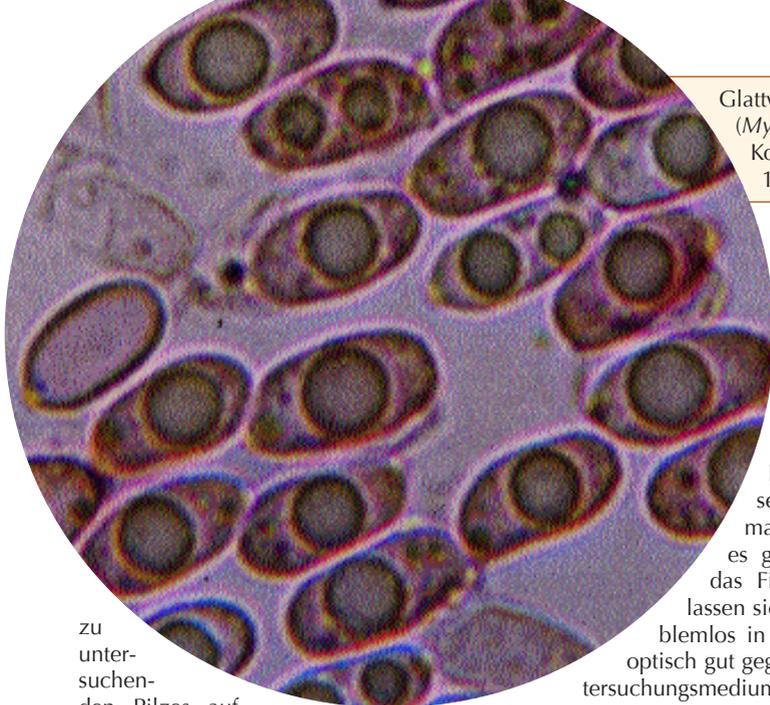
Auf eine Amyloidreaktion werden nur farblose (hyaline) Sporen untersucht. Eine Prüfung sollte tunlichst an Frischmaterial durchgeführt werden. Reagieren Sporen beim Kontakt mit Jod-Reagenzien mit einer Färbung nach violettblau, blauschwarz bis blau, hellblau, graublau bis bläulich-grau, so spricht man von Amyloidität. Der Grad der Färbung kann für bestimmte Arten typisch sein. Angefärbt werden können die Sporenmembran oder nur oben aufsitzende Partikel. Die Namensgebung kommt von lat. *amylum* = Stärke, da man derartige Reaktionen zunächst bei der Prüfung von Pflanzenstärke festgestellt hatte.

Eine kräftige Amyloidreaktion der Sporenwände kann unter dem Mikroskop einwandfrei festgestellt werden. Schwierig kann dies jedoch bei einer nur schwachen Amyloid-Reaktion bzw. beim Reagieren nur feiner anhaftender Ornamentationen

(z.B. bei *Melanoleuca*) werden. Da missdeutliche Lichtbrechungen an den Sporenwänden im Durchlicht leicht zu Fehlschlüssen führen können, bevorzuge ich zur Feststellung der Amyloidität mehrheitlich eine makroskopische Prüfung. Dazu verschaffe ich mir einen kräftigen Sporenabwurf des

### Morphologie der Pilzspore (schematisiert)





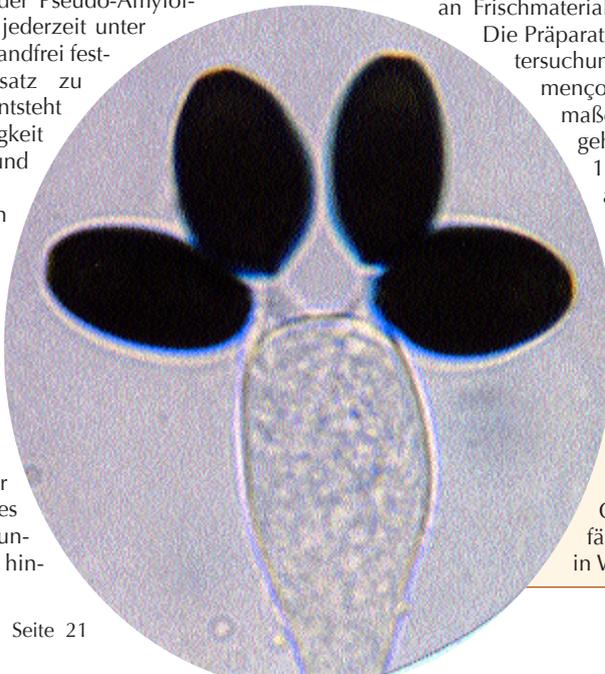
Glattwandige Helminthosporien (*Mycena* sp.), angefärbt mit Kongorot, präpariert in 10%igem Ammoniak.

zu untersuchen den Pilzes auf einem Objektträger, den ich mit einem Tropfen Lugolscher Lösung versetze. Das Ergebnis ist oft viel aussagekräftiger wie bei Proben unter dem Mikroskop.

Reagieren Sporen auf Jodreagenzien mit einer Braunfärbung (bis purpurbraun), so spricht man von Dextrinoidität oder Pseudo-Amyloidität. Eine solche ist jederzeit unter dem Mikroskop einwandfrei feststellbar. Im Gegensatz zu Amyloidreaktionen entsteht hierbei ± Gleichfärbigkeit zwischen Sporen und Untersuchungsmedium. Es empfiehlt sich daher, nach der Zugabe der Jodreagenzien und nach einem kurzen Zeitraum des Einwirkens, ein Auswaschen des Präparates beispielsweise indem man einen Tropfen Wasser unter Zuhilfenahme eines Saugpapier-Streifens unter dem Deckglas hin-

durchsaugt. Amyloiditäts- bzw. Dextrinoiditäts-Reaktionen müssen häufig zur Festlegung von Gattungen hinterfragt werden. Wie wir gesehen haben, erfolgt in beiden Fällen eine Anfärbung der Sporen, so dass diese anschließend problemlos gemessen werden können. Benötigt man diese Prüfungen nicht und es geht beispielsweise nur um das Finden der Sporenmaße, so lassen sich hyaline Sporen auch problemlos in Kongorot anfärben, um sie optisch gut gegenüber einem hyalinen Untersuchungsmedium abzugrenzen.

Eine Besonderheit mancher Pilzsporen ist deren Cyanophilie. Cyanophil sind Pilzsporen, bei denen sich Außenwand oder Ornamentationen mit Baumwollblau blau bis blauviolett färben. Geprüft wird in einer Farblösung, bestehend aus 0,05 gr. Baumwollblau, gelöst in 30 ml. konzentrierter Milchsäure. Das Verfahren ist nur an Frischmaterial vorzunehmen.



Die Präparation und die Untersuchung hat nach Clemeçon folgendermaßen vor sich zu gehen:

1. Ein Fragment aus dem Hymenium des zu untersuchen-

Basidie mit 4 Sporen vom Ring-Düngerling *Anellaria fimiputris* (Bull.: Fr.) Quél.), ungefärbt, präpariert in Wasser

die Farblösung auf dem Objektträger bringen.  
Achtung!: Kein Sporenabwurf-Präparat nehmen, da zur Beurteilung auch unreife Sporen notwendig sind.

II. Das Präparat vorsichtig aufkochen lassen und dann das Deckglas auflegen.

III. Beurteilung unter dem Immersions-Objektiv.

Die Beurteilung ist manchmal schwierig, da sich auch der Inhalt der Sporen anfärben kann. Durch geschicktes Fokussieren ist festzustellen, ob:

- a. die Sporen Außenwand (Exospor) angefärbt ist,
- b. die Sporen-Innenwand (Endospor) angefärbt ist,
- c. der Sporen-Inhalt (Vakuole) angefärbt ist.

Bei der Anfärbung hyaliner Sporen mit Kongorot oder im Falle der Cyanophilie nimmt die Außenwand der Sporen die Farbe des jeweiligen Färbemittels an. Anders ist es bei der Metachromasie. Hierbei färbt sich die zu färbende Struktur anders, nämlich meistens rot bei blauem Färbemittel. Als Färbemittel kommen Brillantkresylblau oder Toluidinblau in Frage. Metachromatische Sporen findet man beispielsweise in der Gattung *Macrolepiota*, wo das hier Gesagte gut expliziert werden kann. Beim Kontakt mit den Blau-Farbstoffen färbt sich deren Endospor purpurrot.

## Farblösungen und Reagenzien

- a. Baumwollblau in Milchsäure \*  
0,05 gr. Farbpulver (Cotton Blue,- bleu coton; C.I. Nr. 42 755) in 30 ml. konzentrierte Milchsäure (80-85 %-ig) bringen und ca. 2 Std. rühren oder schütteln. Danach einige Tage stehen lassen (damit so viel des Farbpulvers wie möglich in Lösung geht) und anschließend abfiltrieren.
- b. Brillantkresylblau nach Clemençon (in ERB/MATHEIS)\*  
Eine 0,3 %-ige Lösung des Farbstoffes Kresylblau (Cresyl blue, bleu de crésyl; C.I. Nr. 51 010) in einem Gemisch aus 17 ml. Glycerin, 28 ml. 96 %-igem Ethylalkohol, 54,5 ml destilliertem Wasser und 0,5 ml. Invadin IFC conc. herstellen.
- c. Melzers Reagenz - wie in den Folgen 3 und 4 beschrieben
- d. Kongorot - wie in Folge 5 beschrieben.

\* Diese Untersuchungsflüssigkeiten bzw. Färbemittel können bei Walter Pätzold, Schwarzwälder Pilzleherschau, Werderstr. 17, 78132 Hornberg fertig bezogen werden.