

ZUR FRAGE DER TAXONOMISCHEN RELEVANZ CHEMISCHER MERKMALE BEI HOEHEREN PILZEN

von Andreas BRESINSKY

Summary. (A contribution to a taxonomic evaluation of chemical characters in higher fungi). — The presented paper deals with observations on the correlation of morphological and ecological characters on one side and chemical features on the other hand. In *Suillus* there is a far-reaching conformity between the morphological-ecological features of the sections and the pigmental characters. The section *Larigni* is characterized by grevillin B, whereas in the carpophores of the section *Suillus* this pigment is replaced by an other component, so far unknown in its structure, however having in common with grevillin B the change of color to lilac in concentrated sulphuric acid. Further work has been done to compare within single species the pigmental production of carpophores with that of the mycelia, kept in testtube cultures. Mycelial cultures may often produce pigments, which are different from — however related biogenetically to — the coloring matters in the fruiting bodies. In mycelial cultures of *Suillus tridentinus* and *Suillus grevillei* the grevillin C, occurring in the carpophores, has been found to be replaced by xerocomic acid. The possibility of finding pigmental characters — to be expected in carpophores from the predictable viewpoint of taxonomy, however blocked apparently — is given by testing mycelial cultures. This has been demonstrated by GAYLORD, HATFIELD and BRADY for *Paxillus*, has been confirmed and extended on other genera (*Hygrophoropsis*, *Leccinum*) in this paper as well as in former contributions of the author. Summarizing published results and own investigations the *Paxillaceae*, *Gomphidiaceae*, *Rhizopogonaceae* and perhaps the *Coniophoraceae* are considered to be linked with the *Boletaceae*. From 29 species, belonging to these families, 21 have been found to produce typical derivatives of pulvinic acids in cultures (from the remaining 8, 5 species did not grow as cultures). On the other hand 53 species, apart the taxonomic range of the above cited families, did not secrete any of these compounds into the culture medium. The case of *Omphalotus olearius* with pigments in the culture medium, equalling those of *Leccinum aurantiacum*, needs further studies for a reasonable interpretation. Finally a survey of striking chemical characters, mostly pigments, is given in a table. These are regarded to be important, however mostly neglected characters for the identification of mycelia of higher fungi.

Von den chemischen Merkmalen sind es besonders die Pigmente, welche bei Höheren Pilzen für die Bestimmung wie für eine verwandtschaftsgerechte Gliederung berücksichtigt werden. Eine tiefere Kenntnis von Pigmentmerkmalen in der genannten Organismengruppe wurde ganz wesentlich durch die Initiative Robert KÜHNERS und durch die Arbeiten seiner Schüler, Mitarbeiter und Kollegen in Lyon auch unter dem Blick-

winkel systematischer Fragestellungen gefördert. Die eigenen, hier darzustellenden Untersuchungen — sie galten vornehmlich der Frage der systematischen Spezifität von Pulvinsäurederivaten — gründen sich damit auf die Anfänge und ersten Grundlagen, welche uns durch die Schule KÜHNERS vermittelt wurden.

1. *Korrelation der morphologischen, ökologischen
und chemischen Variation in der Gattung Suillus (Boletaceae)*

Die Gattung liefert ein gutes Beispiel für die weitgehend parallel zur Sippendifferenzierung verlaufende Abwandlung des Grundtyps und der Mengenrelationen von Pulvinsäurederivaten. Das Vorkommen von mit $K_3[Fe(CN)_6]$ blau verfärbenden Verbindungen vom Typ der Variegat- und Xerocomsäure einerseits und der mit ihnen verwandten, in H_2SO_4 sich lila verfärbenden, teils schon als Grevilline (STEGLICH 1972) in ihrer Struktur aufgeklärten Pigmente andererseits deckt sich in den Fruchtkörpern von *Suillus* mit dem Muster der morphologisch-ökologischen Sektions- und Subsektionsmerkmale (vgl. auch BRESINSKY und RENNSCHMID 1971). Diese Aussage gründet sich auf 13 bisher untersuchte Sippen (*S. piperatus*, *bovinus*, *variegatus*, *plorans*, *sibiricus*, *flavidus*, *granulatus*, *collinitus*, *luteus*, *placidus*, *grevillei*, *aeruginascens*, *tridentinus*) von den 28, nach SINGER 1962 anzuerkennenden Arten der Weltflora. In der Sektion *Piperati* finden wir in den Fruchtkörpern alle Verbindungen vom Typ der Variegatsäure, also ausser dieser auch Variegatorubin, sowie Xerocom- und Atromentinsäure, nicht dagegen die Farbstoffe vom Typ E, worunter hier alle in H_2SO_4 lila verfärbenden Pigmente der Gattung *Suillus* zusammengefasst seien. Die *Piperati* setzen sich durch ihre weite Mykorrhizaamplitude, welche sowohl Laub- als auch Nadelbäume umfasst, durch charakteristische makroskopisch feststellbare Farben von den übrigen Sektionen der Gattung deutlich ab; wir haben hier eine Kombination und z. T. auch Vielfalt von Merkmalen, wie sie in dieser Weise nicht mehr auftreten. In ihrer Pigmentausrüstung gleicht am ehesten noch die Sektion *Fungosi* mit ihren Subsektionen *Euryporini* und *Stenoporini* der erstgenannten Gruppe, aber im Unterschied zu den *Piperati* fehlt den *Fungosi* Xerocomsäure im Fruchtkörper (jedenfalls in nachweisbaren Mengen) und die Mykorrhizabindung ist auf Kiefern (verschiedene Vertreter der Gattung *Pinus*) eingeschränkt. Sieht man in der zunehmenden Spezialisierung auf bestimmte Mykorrhizapartner einen höheren Grad der stammesgeschichtlichen Ableitung, dann sind die *Piperati* als ursprünglich zu betrachten. Ihre weitere Mykorrhizaamplitude würde dafür sprechen, wie vielleicht auch die noch recht reichhaltige Palette verschiedener Pigmentkomponenten im Fruchtkörper, die sich noch nicht

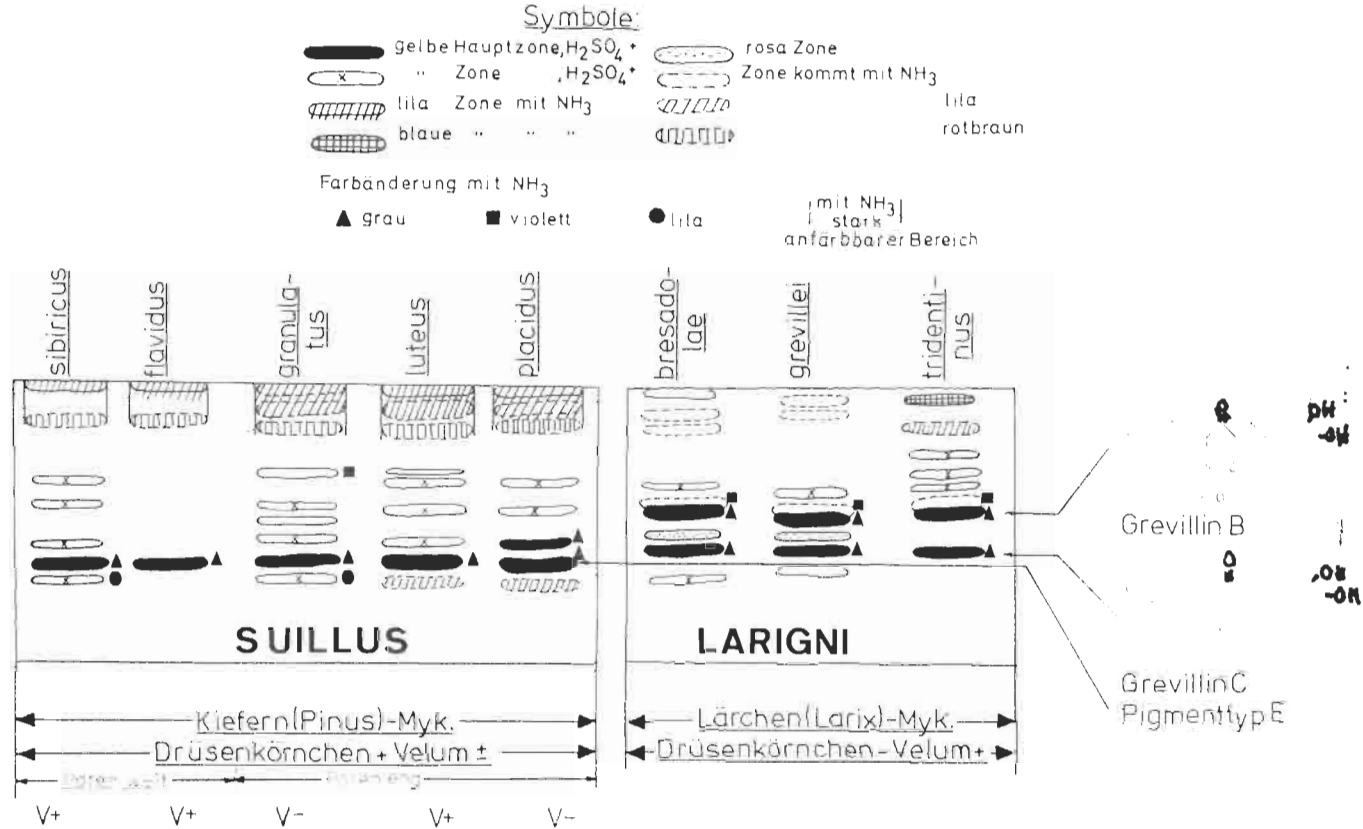


Abb. 1: Chromatographie von Extrakten aus Fruchtkörpern der Gattung *Suillus*, Sect. *Suillus* und Sect. *Larigni*.

wesentlich von der Pigmentzusammensetzung bei den übrigen Boletaceen unterscheidet. Auch die Tatsache, dass die bei den anderen Sektionen der Gattung *Suillus* zusammen mit der ökologischen Spezialisierung auftretenden morphologischen Sonderbildungen wie Velum oder Drüsenkörnchen am Stiele oder starke Schleimigkeit der Hutoberfläche bei den *Piperati* fehlen, steht im Einklang mit dieser Annahme. Die Merkmalausstattung der schon erwähnten *Fungosi* erscheint gegenüber der der *Piperati* nur teilweise abgeleitet; es finden sich in ihren Fruchtkörpern immer noch Pulvinsäuren vom Typ der Variiegatsäure, andererseits fehlen wie bei den *Piperati* gröbere Drüsenkörnchen oder auch nur Velumreste am Stiel, sowie eine stärkere Verschleimung der Hutoberfläche. Die Sektionen *Larigni* und *Suillus* sind demgegenüber — von der bisher einzigen Ausnahme des *S. plorans* abgesehen — durch den Pigmenttyp E ausgezeichnet. Dieses chemische Merkmal ist korreliert mit der starken Verschleimung der Hutoberfläche, mit speziellen Oberflächenstrukturen des Stieles (Velum und/oder Drüsenkörnchen), mit der Tendenz der Exsudatbildung an den Röhrenmündungen sowie mit der Einengung auf bestimmte Mykorrhizapartner. Die Abbildung 1 weist nach, dass die morphologisch-ökologisch begründete Unterscheidung der beiden zuletztgenannten Sektionen in der Pigmentausrüstung der Fruchtkörper eine weitere Bestätigung erfährt. In der Sektion *Suillus* wird das Grevillin B der *Larigni* durch eine in ihrer chemischen Struktur noch unbekannte Komponente der Pigmenttyps E ersetzt. Auch Grevillin C tritt hier nicht in nachweisbaren Mengen auf (Ausnahme: *Suillus placidus*). Eine direkte Beeinflussung durch den Mykorrhizapartner kann ausgeschlossen werden: in *Boletinus cavipes* haben wir einen Symbionten der Lärche (*Larix*), der ebenso wie *Suillus piperatus* in seinen Fruchtkörpern Variiegatsäure, Xerocomsäure und Atromentinsäure, aber nicht Pigmente des Typs E ausscheidet. Es verbietet überhaupt der enge biogenetische Zusammenhang der beiden Verbindungsgruppen weiterreichende Schlussfolgerungen. Dies wurde u.a. durch die Untersuchung junger Fruchtkörper von *Suillus aeruginascens* bestätigt, in denen neben den Farbstoffen vom Typ E auch Variiegatsäure anzutreffen war.

2. Vergleich der Pigmentanhäufung in Fruchtkörpern und Myzelkulturen gleicher Arten von *Suillus*

Die erwähnten biogenetischen Beziehungen zwischen den Verbindungen vom Typ der Variiegatsäure einerseits und der Grevilline andererseits sind von STEGLICH 1972 angenommen und chemisch begründet worden. Nach seiner Ansicht sind die Grevilline Vorläufer der Pulvinsäurederivate, ein Umstand, der im Hinblick auf mögliche Blockierungen des Stoffwechsels

	Fruchtkörper					Myzelkulturen				
	Variegatsäure	Variegatorubin	Xerocomsäure	Atromentinsäure	Pigmenttyp E (incl. Grevilline)	Variegatsäure	Variegatorubin	Xerocomsäure	Atromentinsäure	Pigmenttyp E (incl. Grevilline)
SECT. PIPERATI										
<i>S. piperatus</i>	+	+	+	+					+	
SECT. FUNGOSI										
SUBSECT. EURYPORINI										
<i>S. bovinus</i>	+	+				+	+	+		
SUBSECT. STENOPORINI										
<i>S. variegatus</i>	+	+						+		
SECT. SUILLUS										
SUBSECT. HIRTELLINI										
<i>S. plorans</i>	+	+						+	+	
SUBSECT. LATIPORINI										
<i>S. sibiricus</i>					+					
<i>S. flavidus</i>					+			+	+	
SUBSECT. AUGUSTIPORINI										
<i>S. granulatus</i>					+			+	+	+
<i>S. collinitus</i>					+					
<i>S. luteus</i>					+			+		+
<i>S. placidus</i>					+			+	+	
SECT. LARIGNI										
SUBSECT. LEPTOPORINI										
<i>S. grevillei</i>					+			+		
SUBSECT. LEPTOPORINI										
<i>S. grevillei</i>										
<i>var. aeruginascens</i>	(+)				+			+		
<i>var. bresadolae</i>					+					
<i>S. tridentinus</i>					+	+		+		

Abb. 2: Vergleich der aus Fruchtkörpern und Myzelkulturen nachweisbaren Pigmente in der Gattung *Suillus*.

nicht zwangsläufig im Gegensatz zu der vorhin geäußerten Ursprünglichkeit des Merkmals « Pulvinsäurederivate » steht. Einen Hinweis auf derartige Zusammenhänge erbrachten Beobachtungen an Myzelkulturen, die aus Fruchtkörperexplanaten gewonnen waren. Myzelkulturen der Arten *Suillus tridentinus*, *S. grevillei*, *S. placidus* und *S. flavidus* scheiden ins Nährmedium nicht die im Fruchtkörper nachgewiesenen und daher auch hier zu erwartenden Pigmente des Typs E aus; diese Pigmente werden vielmehr durch Xerocomsäure ersetzt (siehe Abb. 2). Bei *Suillus tridentinus* und *S. grevillei* ist es das Grevillin C, welches in Myzelkulturen nicht mehr angeliefert wird und durch reichlich nachweisbare Xerocomsäure ausgetauscht zu sein scheint. Bei anderen Arten der Gattung *Suillus* wird in Myzelkulturen Xerocomsäure, die hier im Gegensatz zu den Fruchtkörpern weithin bevorzugt auftritt, anstelle von Variiegatsäure gebildet, so bei *S. plovans* und *S. variegatus*. Wir wissen von diesen bemerkenswerten Umstimmungen in der Pigmentanhäufung nicht, ob sie lediglich je nach Umstellung äußerer Faktoren beliebig variierbar sind, oder ob sie endogenen Entwicklungsdifferenzierungen, wie sie in der fortschreitenden Entwicklung des Myzels zum Fruchtkörper durchlaufen werden, entsprechen. Einen Hinweis für das Zutreffen der letzteren Annahme liefert *Suillus piperatus* mit seinem auch unter natürlichen Bedingungen tiefgelb gefärbten Myzel, dessen Pigmentierung sich noch auf die Stielbasis, aber nicht mehr in dieser Masse auf den übrigen Fruchtkörper erstreckt. Eine genauere Untersuchung der kultivierten Myzelien hat aber gezeigt, dass diese im Gegensatz zu natürlich gewachsenen Fruchtkörpern weitgehend nicht mehr Pulvinsäurederivate zu synthetisieren vermögen; lediglich Xerocomsäure konnte in Spuren festgestellt werden. Die Gattungen *Chroogomphus* und *Leccinum* mögen daher bessere Beispiele für eine organisationsbedingte Umstimmung in der Ausscheidung bestimmter Stoffe während der ontogenetischen und wohl auch phylogenetischen Entwicklung abgeben. Bei *Chroogomphus* ist die positive Amyloidreaktion des Myzeliums nur noch an der Stielbasis des Fruchtkörpers feststellbar. In der Gattung *Leccinum* kennen wir völlig oder nur in der Stielbasis gelb gefärbte (amerikanische) Arten, während andere (auch in der europäischen Flora beheimatete) Vertreter lediglich in das Kulturmedium gelbe Farbstoffe ausscheiden (*Leccinum aurantiacum* CBS 125.50 (isoliert von KÜHNER) und Eigenisolat gibt ins Medium Atromentinsäure und andere gelbe Pigmente ab!).

Nicht alle *Suillus*-Arten liessen in Myzelkulturen die oben beschriebenen Umstimmungen in der Pigmentbildung erkennen. Die Chromatographie von Extrakten, die von *Suillus bovinus* gewonnen wurden, lieferte

ein in Einzelheiten übereinstimmendes Bild, gleichgültig ob diese von Fruchtkörpern oder Myzelkulturen gewonnen worden waren. Ein Unterschied bestand lediglich im zusätzlichen Auftreten von Xerocomsäure, die in Fruchtkörpern wohl unter der Nachweisgrenze der Methode bleibt. Bei den beiden nahverwandten Arten *Suillus granulatus* und *luteus* wird in frischen, nicht überalterten Kulturen ein in H_2SO_4 lila verfärbendes Pigment E ausgeschieden, welches auch das Hauptpigment unserer Extrakte aus den Fruchtkörpern der genannten Arten war. In degenerierenden Kulturen derselben Arten schwindet allerdings diese Fähigkeit zunehmend. In 6 Wochen alten und wohl auch schon überalterten Kulturen wurde folgende Uebergangssituation angetroffen: der lila Farbumschlag mit H_2SO_4 ist schwach geworden, dafür lassen sich die für Xerocomsäure typischen Farbreaktionen mit $K_3[Fe(CN)_6]$ und HNO_3 beobachten. Mit zunehmendem Alter des Explanates (nicht unbedingt der individuellen Myzelkultur) wird der Pigmenttyp E laufend weniger, Xerocomsäure zunehmend mehr ins Medium

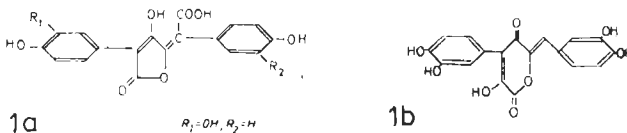
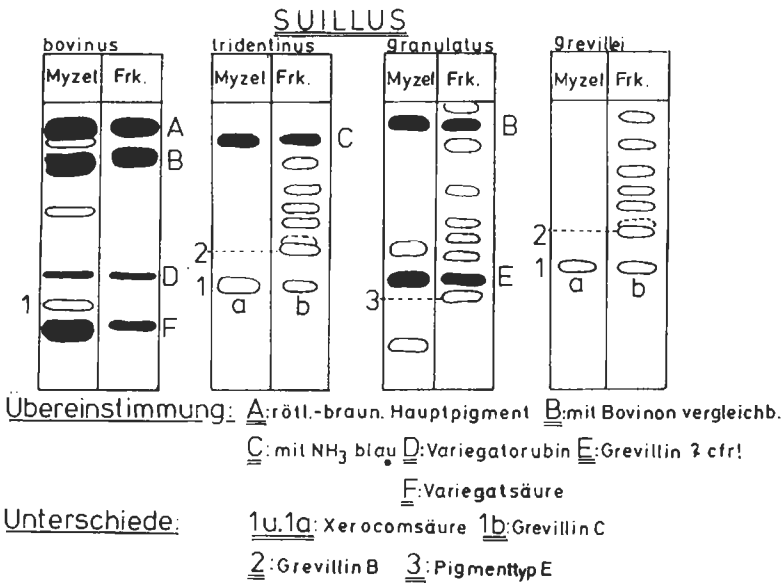


Abb. 3: Vergleichende Chromatographie von Extrakten aus Fruchtkörpern und Myzelkulturen der Arten *Suillus bovinus*, *S. tridentinus*, *S. granulatus*, *S. grevillei*.

abgeschieden. Unsere ältesten Kulturen haben — offensichtlich irreversibel — die Fähigkeit zur Bildung des Pigmentes E völlig verloren. Unter dem Gesichtspunkt der eingangs erwähnten Vorstellungen über die biogenetischen Zusammenhänge können die beobachteten Phänomene als eine Aufhebung einer Blockierung verstanden werden; dadurch wird der Stoffwechsel der Myzelkulturen nicht mehr mit der Anhäufung von Pigmenttyp E beendet, sondern darüber hinaus bis zur Bildung der Xerocomsäure geführt. Eingehende Untersuchungen werden allerdings nicht nur diese Möglichkeit zu überprüfen haben.

Bei der Chromatographie von Fruchtkörper-Extrakten der Gattung *Suillus* treten in Höhe von $R_f = 0.90$ Zonen auf, die in NH_3 eine charakteristische rötlichbraune bis blaue Verfärbung durchmachen. Es handelt sich dabei teils um das aus *Suillus bovinus* erstmals bekanntgewordene Bovinon (BEAUMONT u. EDWARDS 1969), sowie um vergleichbare Benzochinone (vgl. auch STEGLICH, ESSER u. PILS 1971). Das in *Suillus bovinus*-Fruchtkörpern gebildete Bovinon findet sich auch in Myzelkulturen wieder. Im allgemeinen liessen sich aber die genannten und chromatographisch sich ähnlich verhaltenden Verbindungen der Fruchtkörper nicht mehr in Myzelkulturen nachweisen. Die erwähnte Blauverfärbung in NH_3 ist kennzeichnend für einen Stoff, der sowohl in Fruchtkörpern als auch in Myzelkulturen von *Suillus tridentinus* vorkommt; die diese Farbreaktion gebende Verbindung wurde im Labor von STEGLICH entdeckt und auf ihre Struktur untersucht.

3. Beobachtungen zur Abhängigkeit der Pigmentbildung von Zuwachsraten, Nährböden und geographischen Herkünften der Explanate.

Meist war die Pigmentausscheidung nur dann intensiver, wenn auch das Myzelwachstum in den Kulturröhrchen günstig verlief. In einigen wenigen Fällen war aber keine Beziehung zwischen Myzelwachstum und Pigmentausscheidung zu beobachten. *Suillus piperatus* sowie in noch höherem Masse *Boletus satanoides* und *B. luridus* sind Beispiele für unter unseren Kulturbedingungen kaum wachsende, aber dabei ins Nährmedium reichlich Pigmente absondernde Arten. Im allgemeinen lässt die Bereitschaft zur Pigmentbildung merklich nach, wenn die Myzelkulturen längere Zeit nicht mehr durch Ueberimpfung auf neue Nährböden aufgefrischt worden waren. Ueberalterte Kulturen müssen in kürzeren Zeitabständen wiederholt abgeimpft werden, ehe sie sich in der Intensität der Pigmentbildung frischen Kulturen angleichen. Ueber Aenderungen in der Zusammensetzung der Pigmentkomponenten bei der Alterung von Kulturen war schon im vorigen Abschnitt die Rede. Die Abhängigkeit der Pigmentausscheidung vom individuellen Alter der Kulturen wurde bei *Hygrophoropsis aurantiaca* verfolgt.

Nach 7 Tagen Kulturdauer ist zunächst Variegatorubin neben Spuren von Variegatsäure vorhanden. Bereits nach 14 Tagen kommen Xerocom- und Atromentinsäure hinzu; alle Komponenten (einschliesslich der schon vorher vorhandenen Variegatsäure und des Variegatorubins) geben auf dem Chromatogramm gleichstarke Banden. Bis zum 38. Tag ändert sich dieses Bild, von geringfügigen Schwankungen abgesehen, nicht wesentlich. Vom 49. bis 56. Tag bleibt die Intensität der Xerocomsäurebande hinter der der anderen Pigmente wieder zurück. Im Zeitbereich von 4 bis 6 Wochen ist also die grösste Vielfalt der Komponenten zu erwarten. Im Gegensatz zu *Hygrophoropsis aurantiaca* war bei *Boletus satanoides* der Nachweis von Xerocomsäure nur in alten überständigen Kulturen unter besonderen Bedingungen möglich.

Bei *Leccinum aurantiacum* wurde die Pigmentausscheidung in ihrer Abhängigkeit von Aussenbedingungen verfolgt. Farbstoffbildung war ausschliesslich auf Mb-Nährböden, nicht auf Mb IV- und Wright-Nährböden festzustellen. Dagegen spielte es keine Rolle, ob der Pilz im völligen Dunkel, bei Kunstlicht, Tageslicht oder gedämpftem Licht gezogen wurde. Bei Ansätzen mit grossen Impfstücken begann die Ausscheidung von Farbstoffen ins hyaline Medium schon nach 8 Tagen, mit kleineren Impfstücken musste man länger warten. Das Temperaturoptimum lag bei 30° C. Zum Einfluss bestimmter Zusätze zum Nährböden, wie Gallussäure, Asparaginsäure, Dopa siehe Abschnitt « Methoden ».

Schliesslich wurden orientierende Voruntersuchungen zur Frage durchgeführt, ob verschiedene Herkünfte von Myzelien einer Art eine für viele Flechten bekanntgewordene geographische Varianz zeigen.

Von *Hygrophoropsis aurantiaca* wurde die Kulturnummer 52 in Finnland, die Kulturnummer 149 in Bayern abgeimpft. In beiden Kulturen wurde Variegatsäure, Variegatorubin, eine darüberliegende rosafarbene Bande unbekannter Identität sowie eine knapp über dem R_f - Wert von Xerocomsäure liegende Bande, ebenfalls unbekannter chemischer Natur, mit den Farbreaktionen der Xerocomsäure ($K_3[Fe(CN)_6]$: blau; HNO_3 : rot) festgestellt. Xerocomsäure wurde nur in der Kultur 52 aus Finnland gebildet, eine gelbe Bande zwischen den beiden rosafarbenen war nur vom Stamm 149 aus Bayern zu erhalten. Der Stamm aus Finnland lieferte fast immer Atromentinsäure, die ebenso wie die Xerocomsäure beim Stamm aus Bayern nie beobachtet werden konnte.

Eine weitgehende Uebereinstimmung verschiedener Abimpfungen einer Art konnte dagegen in folgenden Fällen festgestellt werden: *Boletinus cavipes*: Nr. 160, Prov. Trient, Val di Non; Nr. 161 Oetzthal oberhalb von

Sölden. — *Suillus grevillei*: Nr. 118 = CBS 114-31; Nr. 152 Prov. Trient, Val di Non. — *Suillus luteus*: Nr. 150 u. 151 von verschiedenen Fruchtkörpern aus dem Oetztal oberhalb von Sölden. — *Suillus piperatus*: Nr. 148 Bayern, Dürnbucher Forst bei Abensberg; Nr. 171 Ebersberger Forst bei München. — *Suillus tridentinus*: Nr. 79 Savoyer Alpen; Nr. 165 Prov. Trient, Val di Non. — *Suillus variegatus*: Nr. 158 Prov. Trient, Val di Non; Nr. 159 Oetztal oberhalb von Sölden.

4. *Pulvinsäurederivate in Myzelkulturen ausserhalb der Boletaceae?*

Erste Untersuchungen von GAYLORD, BENEDICT, HATFIELD und BRADY sowie von BRESINSKY und BACHMANN mit positiven Nachweisen von Pulvinsäurederivaten in Myzelkulturen von *Paxillus atrotomentosus* und *Hygrophoropsis aurantiaca* haben die Möglichkeit aufgetan, aus systematischen Gründen zu erwartende, aber in Fruchtkörpern offensichtlich durch Blockierung nicht ausgebildete Pigmentmerkmale, doch noch in Myzelkulturen nachzuweisen. Die Paxillaceen stehen den Boletaceen zweifelsohne verwandtschaftlich nahe und die für Myzelkulturen erbrachten Nachweise von Pulvinsäurederivaten passen sehr gut in dieses systematische Konzept.

Uebersicht der in Myzelkulturen von Paxillaceen gefundenen Pulvinsäurederivate und Benzochinone

	Variegatsre.	Variegatorubin	Xerocomsre.	Atromentinsre.	Atromentin
<i>Paxillus</i> :					
<i>atrotomentosus</i>			++ ^{1,2}	+ ¹	
<i>panuoides</i>			++ ^{1,2}	+ ¹	
<i>involutus</i>					+ ²
<i>Hygrophoropsis</i> :					
<i>aurantiaca</i>	++ ²	++ ²	++ ²	++ ²	

1. GAYLORD, BENEDICT, HATFIELD und BRADY 1970, sowie GAYLORD und BRADY 1971.
2. Eigene Untersuchungen.

Aehnlich wie für die Paxillaceen sind auch für die Gomphidiaceen chemische Merkmale gefunden worden, welche für eine nähere Verwandtschaft dieser Familien mit Lamellenhymenophor zu den Boletaceen sprechen. STEGLICH und Mitarbeitern (1969) gelang die Strukturaufklärung der Gomphidsäure, die sich von der Variegatsäure lediglich durch andere Anordnung der Hydroxylgruppen unterscheidet, die in Gomphidiaceen zusammen mit Xerocomsäure vorkommt und die in anderen Familien bisher nicht nachgewiesen werden konnte. Leider war es nicht möglich, irgendeine Art der Gomphidiaceen erfolgreich in Kultur zu nehmen und hierbei die Pigmentbildung zu studieren.

Die wiederholt vermuteten verwandtschaftlichen Beziehungen der gastroiden Rhizopogonaceen zu den Boletaceen haben durch gemeinsame Pulvinsäurederivate in Fruchtkörpern eine Bestätigung gefunden (STEGLICH, PILS und BRESINSKY). Diese Ergebnisse stehen in Uebereinstimmung mit Beobachtungen über die Pigmentausscheidung von Myzelkulturen.

Uebersicht der in Myzelkulturen von Rhizopogonaceen gefundenen Pulvinsäurederivate und Benzochinone

	Variegatsre.	Variegatorubin	Xerocomsre.	Atromentinsre.	Atromentin	mit Bovinon/Helveticon zu vergleichende Bande
<i>Rhizopogon roseolus</i>						
Kulturnr. 56 (153)		+		+	+	+
Kulturnr. 57 (144)		+				+
Kulturnr. 58 (143)						
<i>Rhizopogon vulgaris</i>						
Kulturnr. 59 (130)		+				+
Kulturnr. 60 (149)		+				+

Die Nummern in den Klammern beziehen sich auf die Kulturnummern, die mir von Herrn DEMOULIN mitgeteilt wurden. Die Kulturen wurden uns von ihm lebenswürdigerweise zur Verfügung gestellt.

Die angesprochenen verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen Rhizopogonaceen und Boletaceen werden auch nahegelegt durch Farbbanden, die in R_f -Wert und Farbreaktion in NH_3 -Dämpfen auf Verbindungen vom Typ des Bovinons hinweisen. Derartige Benzochinone dürften für Boletaceen und weitere Verwandte charakteristisch sein. Ihr zweifelsfreier Nachweis bei den Rhizopogonaceen wird noch zu führen sein!

Zunächst überraschend war die Entdeckung von Pulvinsäurederivaten in Myzelkulturen von *Coniophora* und in *Omphalotus olearius*. Die Frage, ob den hydroxylierten Pulvinsäuren eine grössere systematische Spezifität zukommt, stellte sich damit erneut. In Abb. 4 wird eine Uebersicht der Pulvinsäurederivate und weiterer charakteristischer Pigmente von diesen Pilzen nach chromatographischer Auftrennung der Extrakte aus Myzelkulturen gegeben. Wegen auffallender Uebereinstimmungen ist in den Vergleich *Leccinum aurantiacum* (Boletaceae) eingeschlossen worden.

Das Vorkommen von Xerocomsäure in Kulturen von *Coniophora* steht im Einklang mit einigen Merkmalen — so die Cyanophilie und die braune Pigmentierung der Sporen —, welche Beziehungen dieser Familie zu den Boletaceen erkennen lassen; OBERWINKLER hat die Veröffentlichung morphologischer Befunde zur Stützung dieser Ansicht angekündigt.

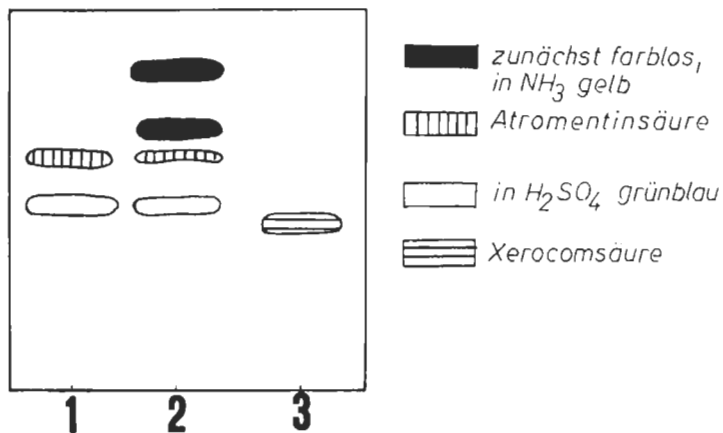


Abb. 4: Vergleichende Chromatographie von Extrakten aus Myzelkulturen von (1) *Leccinum aurantiacum*, (2) *Omphalotus olearius* und (3) *Coniophora puteana*.

Aus der Sicht unserer augenblicklichen Kenntnisse bleiben allerdings die Befunde für *Omphalotus olearius* unklar. In Kulturen dieser Art wurde schon von SINGH und ANCHEL (1971) Atromentinsäure entdeckt (in *Clitocybe illudens* = *Omphalotus olearius*). Diesen Befund konnten wir an eigenen Kulturen bestätigen und darüber hinaus eine merkwürdige Uebereinstimmung zu *Leccinum aurantiacum*-Kulturen feststellen. In beiden Fällen wird Atromentinsäure ins Nährmedium ausgeschieden; daneben treten aber charakteristische, gelb gefärbte Banden auf, die sich in H₂SO₄ tief grünblau verfärben. Die Untersuchung ihrer chemischen Struktur wird im Labor von STEGLICH durchgeführt; nach den bisher vorliegenden, noch nicht veröffentlichten Ergebnissen handelt es sich um Abkömmlinge des Atromentins, die u. a. in *Gyroporus cyanescens* für die Blauverfärbung des Fleisches verantwortlich sind. Was hat aber nun *Omphalotus olearius*, heute zu den Tricholomataceen gestellt, mit den Boletaceen zu tun? Die Möglichkeit unterschiedlicher Biogenese der übereinstimmenden Pigmente wird ebenso wie eine gar nicht unwahrscheinliche Parallelentwicklung in verschiedenen Verwandtschaftsgruppen zu diskutieren sein. Auch werden die morphologischen Kriterien für die bisherige Unterbringung des Pilzes bei den Tricholomataceen zu überprüfen sein.

Von diesen noch unsicheren Fällen abgesehen, haben unsere Untersuchungen eine grosse Spezifität des Merkmals hydroxylierte Pulvinsäuren bestätigt. In der folgenden Liste sind alle weiteren untersuchten Arten (also excl. Boletaceen, Paxillaceen, Gomphidiaceen, Rhizopogonaceen, Coniophoraceen, *Omphalotus olearius*) aufgezählt, in deren Myzelkulturen kein Nachweis von Pulvinsäurederivaten möglich war.

*Aufzählung der untersuchten Arten (excl. Boletaceen etc.),
in deren Myzelkulturen keine Pulvinsäurederivate nachzuweisen waren*

hy = Nährboden bleibt hyalin

Vfg = Nährboden wird durch das Myzel verfärbt

AGARICALES :

Agaricaceae :

Agaricus augustus hy

Amanitaceae :

Amanita muscaria hy

Tricholomataceae :

Armillariella mellea Vfg

Calocybe gambosa Vfg

Collybia dryophila Vfg

Clitocybe geotropa Vfg

<i>Flammulina velutipes</i> ..	hy	<i>Amylostereum areolatum</i>	Vfg
<i>Oudemansiella radicata</i> ..	hy	<i>Amylostereum chailletii</i>	Vfg
<i>Strobilurus tenacellus</i> ..	hy	<i>Hirschioporus abietinus</i> ..	hy
Cortinariaceae :		<i>Fomes marginatus</i>	hy
<i>Galerina beinrothii</i>	hy	<i>Fomitopsis annosus</i>	hy
Strophariaceae :		<i>Gloeophyllum abietinum</i>	hy
<i>Hypholoma fasciculare</i> ..	hy	<i>Phaeolus schweinitzii</i> ..	Vfg
<i>Kuehneromyces mutabilis</i>	hy	<i>Phellinus pini</i>	Vfg
<i>Stropharia rugosoannulata</i>	hy	<i>Coriolus versicolor</i>	hy
<i>Psilocybe montana</i>	hy	<i>Corticium laeve</i>	hy
<i>Psilocybe spec.</i>		<i>Aleurodiscus amorphus</i> ..	hy
(<i>schoeneti ad int.</i>)	hy	<i>Odontia bicolor</i>	hy
<i>Pholiota carbonaria</i>	(Vfg)	ASCOMYCETES :	
Bolbitiaceae :		Helvellaceae :	
<i>Agrocybe semiorbicularis</i> .	hy	<i>Gyromitra esculenta</i>	hy
Coprinaceae :		Morchellaceae :	
<i>Anellaria semiovata</i>	hy	<i>Morchella conica</i>	
<i>Panaeolina foenisecii</i>	hy	(incl. <i>elata</i>)	Vfg
<i>Coprinus radiatus</i>	Vfg	<i>Morchella esculenta</i>	Vfg
POLYPORALES :		<i>Morchella semilibera</i>	Vfg
<i>Lentinus adhaerens</i>	hy	<i>Verpa digitaliformis</i>	Vfg
<i>Polyporus ciliatus</i>	hy	Pezizaceae :	
<i>Polyporus brumalis</i>	hy	<i>Peziza repanda</i>	hy
<i>Polyporus forquignonii</i> ..	hy	Eurotiaceae :	
PORIALES :		<i>Eurotium repens</i>	Vfg
<i>Grifola sulphurea</i>	Vfg	DEUTEROMYCETES :	
<i>Gloeoporus adustus</i>	hy	<i>Fusarium culmorum</i>	Vfg
<i>Osmoporus odoratus</i>	Vfg	<i>Alternaria tenuis</i>	hy
<i>Stereum sanguinolentum</i>	Vfg	<i>Aureobasidium pullulans</i>	hy
		<i>Phialophora fastigiata</i> ..	hy
		<i>Scitalidium lignicolum</i> ..	hy
		<i>Stemphylium dentriticum</i>	hy

Die Myzelkulturen der genannten 53 Arten scheiden keine Pulvinsäurederivate ins Nährmedium aus. Von 29 untersuchten Vertretern der Boletaceen, Paxillaceen, Gomphidiaceen und Rhizopogonaceen sonderten 21 Arten Pulvinsäurederivate in irgendeiner Form ins Medium ab, 5 Arten liessen sich nicht kultivieren, bei 3 Arten nur war kein Nachweis von Pulvinsäurederivaten möglich. Angesichts dieser Zahlen wird die Klärung der verwandtschaftlichen Stellung der Coniophoraceen und von *Omphalotus olearius* besonders interessant werden.

5. Möglichkeiten der Identifizierung von Myzelien Höherer Pilze mit chemischen Merkmalen

Die weitgehende Spezifität der Pulvinsäurederivate ermöglicht es, Myzelkulturen mit einem positiven Nachweis als vermutliche Vertreter der Boletaceen, Paxillaceen, Rhizopogonaceen oder Coniophoraceen anzusprechen. Die Auswertung der verschiedenen Chromatogramme zeigte immer wieder, dass sich die einzelnen Gattungen, und oft auch die Arten mit Hilfe der Pigmentmuster wiedererkennen lassen. Bei der Verwendung solcher Merkmale zur Bestimmung ist die meist auf 6 Wochen festgesetzte Länge der Kultur weniger störend als die Tatsache, dass kleinste Abweichungen der Kulturbedingungen Unterschiede verursachen können. Bei der Erstellung von Bestimmungshilfen für Myzelkulturen nach Pigmentmerkmalen kommt es darauf an, die Kulturbedingungen möglichst genau zu definieren und die Varianz der Merkmale an einem ausreichenden Material zu studieren. Diese recht aufwendigen Voruntersuchungen werden wohl nur bei einem unmittelbaren praktischen Bedarf lohnend sein, etwa für die Bestimmung von Mykorrhizapilzen, von Schädlingen, von Allergien verursachenden Pilzen, eventuell auch bei der Zuordnung von Nebenfrucht- zu Hauptfruchtformen. Da, wie auch schon die vorhin gegebene Zusammenstellung erkennen lässt, vielfach überhaupt keine Pigmente in das Kulturmedium ausgeschieden werden, müssen auch farblose wasserlösliche Stoffwechselprodukte einbezogen werden.

Die folgende Uebersicht möge als ein erster Versuch für Myzelkulturen von Boletales (incl. aller bekannter Produzenten von Pulvinsäurederivaten) gewertet werden. Die Anordnung der Merkmale erfolgt in Anlehnung an M.K. NOBLES (1971) in Tabellenform. Ueber Code-Ziffern kann die Bestimmung der Myzelkulturen versucht werden. Ein Bestimmungsschlüssel nach Alternativmerkmalen müsste wegen der Variabilität des Merkmale unzulänglich bleiben.

Uebersicht der Merkmale

o *Kulturmöglichkeiten :*

o = Fruchtkörperexplanat des Pilzes liess sich nicht weiterkultivieren

1 - 5 *Variegatsäure und Variegatorubin :*

1 = intensive Variegatsäurebande vorhanden

2 = nur schwache Bande von Variegatsäure nachweisbar

3 = Variegatsäure vermutlich vorhanden, aber auf dem Chromatogramm so schwach, dass die Nachweisreaktionen negativ waren

4 = Variegatorubin vorhanden

5 = Variegatorubin bildet die stärkste und auffallendste Bande

6-9 *Xerocomsäure :*

6 = intensive Xerocomsäurebande vorhanden

7 = die Bande von Xerocomsäure ist schwach

8 = eine Bande auf der Höhe von Xerocomsäure gibt keine deutlichen Nachweisreaktionen auf Xerocomsäure

9 = eine Bande auf der Höhe von Xerocomsäure zeigt folgende Nachweisreaktionen: $K_3[Fe(CN)_6]$ = grünlichblau; HNO_3 = rötlich; NH_3 -Bedampfung = rötlich; KOH = rötlich

10 - 11 *Mit konz. Schwefelsäure intensiv verfärbende Banden :*

10 = eine gelbliche/grüngelbe Bande auf der Höhe von Xerocomsäure zeigt folgende Reaktionen: H_2SO_4 = intensiv grünblau; $K_3[Fe(CN)_6]$ = grünlichblau; HNO_3 = schmutzig rot.

11 = Nachweis von Grevillin B bei frischen Myzelkulturen (Abimpfung als Fruchtkörperexplanat liegt nicht länger als drei Monate zurück!) mit H_2SO_4 positiv (lila Verfärbung); bei älteren Kulturen zunehmend durch 7 bis 6 überdeckt!

12-16 *Atromentinsäure und Atromentin :*

12 = intensive Atromentinsäure-Bande vorhanden

13 = schwache Atromentinsäure-Bande vorhanden

14 = eine gelbliche Bande auf der Höhe von Atromentinsäure zeigt die charakteristische Farbreaktion mit HNO_3 nicht

15 = Atromentin deutlich nachweisbar

16 = eine schwache Atromentinbande vorhanden

17 - 19 *Mit NH_3 violett, bräunlichviolett bis blau oder rosa verfärbende Zonen im Bereich von $R_f = 0.80$ bis 0.95*

17 = eine Bande mit den Eigenschaften von Bovinon und Helveticon vorhanden und deutlich

- 18 = schwache Ausbildung von 17
19 = in NH_3 -Dämpfen blau verfärbende Bande
- 20-23 *Uebrige, in NH_3 -Dämpfen sich anfärbende oder intensivierende Banden :*
- 20 = in Ammoniakdämpfen erscheinen zwei rötliche Banden oberhalb von Xerocomsäure
21 = oberhalb vom R_f von Variigatorubin (vielfach, aber nicht immer damit assoziiert) eine weitere rosa Bande, die wie 20 nach Bedampfen mit NH_3 entsteht
22 = 1 bis 2 bräunlichrote Banden zwischen dem Start und dem R_f von Variiegatsäure, sie sich z. T. nach NH_3 -Bedampfung lila bis violettbraun verfärben
23 = nach NH_3 -Bedampfung entstehen im farblosen Feld oberhalb von 10 ein bis zwei leuchtend gelb gefärbte Banden
- 24-31 *Weitere gefärbte Zonen :*
- 24 = eine rasch verblässende rosa Bande oberhalb von Variigatorubin
25 = zwei schwache gelbe Banden; im R_f um 0.05 bis 0.2 über Atromentinsäure
26 = eine intensive gelbe bis orange Bande, im R_f zwischen denen von Test-Xerocomsäure und -Variiegatsäure schwankend, in den Nachweisreaktionen Variiegatsäure gleichend; $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ allerdings auch braunviolett.
27 = Hauptpigment ist eine unter dem R_f von Test-Variiegatsäure bleibende Bande, die mit $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ blau verfärbt
28 = wie 27, verfärbt aber mit $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ nicht blau (bleibt gelb)
29 = zwei intensiv gelbe Banden zwischen Variiegatorubin und U (= fluoreszierende Bande bei $R_f = 0.70-0.80$)
30 = ockerbraune Banden mit dem R_f von Variiegatsäure und knapp darunter
31 = schwach bis intensiv braun gefärbte Bande mit $R_f = 0.90$
- 32-34 *Rückstände :*
- 32 = Rückstand hellbraun bis dunkelbraun
33 = Rückstand braun mit unterschiedlich starkem Gelbanteil
34 = Rückstand violett
- 35 *Nitritakkumulation :*
- 35 = Test auf Nitritakkumulation positiv; chromatographisch trennbare gelbe Pigmente verfärben sich in H_2SO_4 lebhaft gelb.

Verteilung der Merkmale auf die Sippen

	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	
<i>Boletinus</i>																																					
cavipes							6								14																						
lakei							6																														
<i>Boletus :</i>																																					
edulis	0																																				
luridus										9																											
satanoides			2 ^a		4 ^a					9					14		16											26									
<i>Leccinum</i>																																					
aurantiacum											10		12														25										
pseudoscaber	0																																				
<i>Suillus</i>																																					
aeruginascens								7																													
bovinus		1 ^e			4 ^e		6								14		17					21															32
flavidus							6							13									22														32
granulatus								7					11 ^d	13						19			22														
grevillei							6																														32
luteus								7					11 ^d										22														
piperatus								7															22														32
placidus							6							13																							33
plorans							6						13																							30	
tridentinus			2				6														19														30		
variegatus							6														19																

Die besonders auffallende Merkmale symbolisierenden Ziffern sind fett gedruckt. Die Buchstaben weisen auf Sonderbedingungen hin, die im letzten, methodischen Abschnitt näher erläutert sind.

Einige Myzelkulturen von Arten, die weder zum weiteren Verwandtschaftsbereich der Boletales gehören, noch Pulvinsäurederivate ins Medium ausscheiden, fallen durch gut zu kennzeichnende Pigmente auf, die eine Bestimmung dieser Arten ermöglichen.

Myzelkulturen mit charakteristischer Pigmentausscheidung

AGARICALES :

Calocybe gambosa (= *C. georgii*): Trotz geringer Zuwachsrates des Myzels diffundiert in den Mb-Nährboden ein gelbes bis orange-ockerfarbenedes Pigment. Es lässt sich chromatographisch kaum zerlegen; das Hauptpigment hat einen R_f von 0.65, die stärkste Extinktion im sichtbaren Spektralbereich bei 385 nm; auf der Tüpfelplatte wurden Verfärbungen mit HNO_3 nach leuchtend Orange, mit H_2SO_4 nach Rotbraun erreicht. Die Art bildet bekanntlich fast rein weiss gefärbte Fruchtkörper, während das Myzel die genannten Farbeigenschaften entwickeln kann. Es lag nahe, dieses tief gelbe, vom Myzel ausgeschiedene Pigment mit den Farbstoffen der lebhaft gelb bis orange gefärbten Fruchtkörper anderer Arten zu vergleichen, z. B. mit *Calocybe naucoria*. Im Gegensatz zum Myzelfarbstoff der *C. gambosa* liess sich der Grossteil des Fruchtkörperpigmentes von *Calocybe naucoria* nicht von der Wasserphase in die Essigsäureäthylesterphase überführen und jenes orange Hauptpigment damit hier nicht nachweisen. Lediglich eine schwache, braun gefärbte Pigmentbande stimmte in den chromatographischen Eigenschaften in beiden Fällen überein.

ASCOMYCETES :

Verpa digitaliformis: Im Gegensatz zu *Morchella esculenta*, *M. conica* (incl. *elata*), *M. semilibera* und *Verpa bohémica* lässt sich aus Kulturen von *Verpa digitaliformis* ein leuchtendgelber Farbstoff mit Alkohol ausziehen. Er bleibt auch nach der Chromatographie als ein Hauptpigment mit dem R_f von 0.60 bis 0.70 erhalten. Ihm kommt die sehr auffallende Eigenschaft der tiefblauen Verfärbung mit konzentrierter Schwefelsäure zu (Tüpfelplatte !).

METHODEN :

Als geeigneter Nährboden für das Studium Höherer Pilze unter Kulturbedingungen hat sich der b-Nährboden nach MOSER (= Mb) empfohlen. Die

allermeisten Fruchtkörperexplanate wuchsen auf ihm am besten und Pigmentausscheidung wurde oft nur auf diesem Medium erreicht. Er wurde in fester Form nach folgendem Rezept hergestellt:

Aneurin	50 µg	Biotin	1 µg
Inosit	50 mg	KH ₂ PO ₄	0.5 g
MgSO ₄	0.5 g	ZnSO ₄ (1 : 500)	0.5 ml
FeCl ₃ (1 %)	1 ml	MnSO ₄ (1 %)	0.5 ml
Hefeextrakt	0.2 g	Maltose	20 g
Glucose	10 g	Pepton	2 g
Agar	20 g	aqua dest.	1 l

Der so zubereitete Nährboden wurde in Reagenzgläser abgefüllt, die mit Kapotest-Kappen verschlossen worden waren, und nach der Sterilisation (120° C/ 1 atm./ 30 min autoklaviert) als Schrägagar verfestigt.

Die anderen Nährböden wurden nach folgenden Anweisungen hergestellt:

Kirschagar: Kirschdekokt (Sauerkirschen)	200 ml
Agar	20 g

MB IV (nach MOSER):

Bohnenmehl	10 g	KH ₂ PO ₄	0.5 g
MgSO ₄	0.5 g	FeCl ₃ (1 %)	1 ml
Hefeextrakt	0.1 g	Malzextrakt	50 g
Pepton	1 g	Agar	15 g
aqua dest.	1 l		

Wright-Agar (nach SINGER 1962) :

Malzextrakt	10 g	Hefeextrakt	5 g
Pepton	5 g	Maltose	5 g
MgSO ₄	0.5 g	Calciumnitrat	0.5 g
KH ₂ PO ₄	0.25 g	Agar	30 g
aqua dest.	1 l		

Die Kultur erfolgte — wo nicht anders angegeben — jeweils bei Zimmertemperatur (18 bis 24° C), gedämpftem Tageslicht und auf die Dauer von 6 Wochen. Für die Farbstoffuntersuchungen wurde der Inhalt von 2 bis 3 Kulturröhrchen im warmen Wasserbad verflüssigt und mit 50 ml heissem Aethanol unter Zugabe einiger Tropfen 1 n HCl extrahiert. Der Rohextrakt wurde filtriert und in einem Rotationsverdampfer bei einer Badtemperatur

von 50° C zur Gänze eingengt. Der Rückstand wurde in ca. 80 ml heissem, angesäuertem Wasser aufgenommen und im Scheidetrichter mit ca. 50 ml Essigsäureäthylester ausgeschüttelt. Die Wasserphase wurde verworfen, die Esterphase mit wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet, filtriert und zur Gänze eingengt. Der Rückstand wurde in 1 ml Essigsäureäthylester aufgenommen. Die Chromatographie erfolgte auf aktivierten Kieselgelplatten (HF₂₅₄; Schichtdicke 0.25 mm; Laufmittel: Benzol/Ameisensäureäthylester/Ameisensäure = 65/25/20). Nachweisreaktionen wurden grösstenteils auf der Tüpfelplatte vorgenommen (Xerocom - und Variiegatsäure: K₃[Fe(CN)₆] = blau; HNO₃ = rot / Atromentinsäure: K₃[Fe(CN)₆] = ohne Feststellung; HNO₃ = violett / Pigmenttyp E incl. Grevilline; K₃[Fe(CN)₆] = ohne Feststellung; H₂SO₄ konz. = lila / Atromentin: siehe Anweisung bei BRESINSKY und RENNSCHMID (1971). Die Wirkung von Ammoniakdämpfen wurde überprüft, indem die Platten eine halbe Stunde lang in ammoniakgesättigten Glasküvetten exponiert wurden.

Der Test auf die Fähigkeit des Myzels zur Nitritakkumulation wurde wie folgt ausgeführt: Der Mb-Nährboden wird mit Nitrat versetzt. Wird beim Nitratabbau Nitrit angehäuft, dann erhält man mit GRIES ILOSVAYE-Reagens eine rosarote Verfärbung des Mediums.

Die Herkünfte der kultivierten Myzelien sind in BACHMANN 1971 und SCHNEIDER 1972 aufgezeichnet.

Hinweise zu besonderen Kulturbedingungen

Die Buchstaben beziehen sich auch auf die Uebersicht der Verteilung der Merkmale auf die Sippen)

- a) Anzucht von 9 Wochen; dem Mb-Nährboden war Dopa (Dioxyphenylalanin) oder Gallussäure beigemischt. Die Extraktion der Pigmente geschah, nachdem der dunkelbraun verfärbte Nährboden schon eingetrocknet war.
- b) Mit Zusatz von Asparaginsäure zum Nährboden.
- c) Nur auf Mb-Nährboden mit Zusatz von 0.2 ml Gallussäure oder Dopa je Röhrchen. Auch auf Kirschagar, den Angaben von GAYLORD, BENEDICT, HATFIELD und BRADY folgend.
- d) Verkürzte Kulturdauer von 3 Wochen. Die Myzelkulturen müssen frischen Fruchtkörperexplanaten entstammen.
- e) Verkürzte Kulturdauer von insges. ca. 3 Wochen.
- f) Unter unbekanntem äusseren Bedingungen, die schwanken, werden bestimmte Pigmente nicht mehr ausgebildet.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danke ich für grosszügige Unterstützung dieser Arbeit. Weiterhin danke ich Herrn Dr. B. SARCLETTI für die Möglichkeit zu mykologischen Studien in Malgolo, Val di Non, Herrn Prof. W. STEGLICH und Dr. H. BESL für Anregungen, Hinweise und Testsubstanzen, meinen Schülern R. BACHMANN und G. SCHNEIDER sowie der technischen Assistentin Frau D. OLLIG für die Durchführung einer Vielzahl von Untersuchungen, Frau Dr. H. v. AUFSESS und Dr. V. DEMOULIN für die Ueberlassung von Kulturen.

LITERATUR :

- BACHMANN R., 1972. — Pigmente aus Myzelkulturen der Boletales und ihre taxonomische Bedeutung. Zulass.-Arb. zur Wiss. Prüfung für das Lehramt. München.
- BEAUMONT P.C., EDWARDS L.R. and ELSWORTHY G.C., 1968. — J. Chem. Soc. (London), C 1968, 2968.
- BESL H., 1971. — Die Pigmente der Lärchenröhrlinge *Suillus grevillei* (Klotzsch) Sing. und *Suillus tridentinus* (Bres.) Sing. Diss. TU München.
- BRESINSKY A. und BACHMANN R., 1971. — Bildung von Pulvinsäurederivaten durch *Hygrophoropsis aurantiaca* (Paxillaceae - Boletales) in vitro. Zeitschr. f. Naturf. schg., 26 b, 1086-1087.
- BRESINSKY A. und RENNSCHMID A., 1971. — Pigmentmerkmale, Organisationsstufen und systematische Gruppen bei Höheren Pilzen. Ber. Deutsch. Bot. Ges., 84, 313-329.
- GABRIEL N., 1965. — Contribution à la chimiotaxonomie des Agaricales. Pigments des Bolets et des Cortinaires. Thèse, Lyon.
- GAYLORD M.C., BENEDICT R.G., HATFIELD G.M. and BRADY L.R., 1970. — Isolation of diphenyl-substituted tetronic acids from cultures of *Paxillus atrotomentosus*. J. Pharmac. Sci., 59, 1420-1423.
- GAYLORD M.C. and BRADY L.R., 1971. — Comparison on pigments in carpophores and saprophytic cultures of *Paxillus panuoides* and *Paxillus atrotomentosus*. J. Pharmac. Sci., 60, 1503-1508.
- KÜHNER R., 1946. — Recherches morphologiques et caryologiques sur le mycélium de quelques Agaricales en culture pure. Bull. Soc. Myc. de France, 62, 1503-1508.
- KÜHNER R., 1947. — Nouvelles observations sur la culture pure des Homobasidiés et sur les particularités de leur mycélium secondaire. Bull. Soc. Myc. de France, 63, 133-158.
- NOBLES M.K., 1971. — Cultural characters as a guide to the taxonomy of the *Polyporaceae*, in R.H. PETERSON (Ed.) : Evolution in the Higher Basidiomycetes. The University of Tennessee Press. Knoxville, p. 169-196.
- SCHNEIDER G., 1973. — Charakterisierung von Myzelkulturen Höherer Pilze mit chemischen Merkmalen. Zulass.-Arb. zur Wiss. Prüfung für das Lehramt. München.
- SINGER R., 1962. — The Agaricales in modern taxonomy. Weinheim.
- SINGH P. and ANCHEL M., 1971. — Atromentic acid from *Clitocybe illudens*. Phytochemistry, 10, 3259-3262.
- STEGLICH W., 1972. — The biosynthesis of fungal quinones. Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 353, 124-125.
- STEGLICH W., FURTNER W. und PROX A., 1969. — Xerocomsäure und Gomphidsäure, zwei interessante Pulvinsäurederivate aus *Gomphidius glutinosus*. Zeitschr. f. Naturf. schg., 24 b, 941.

- STEGELICH W., ESSER F. und PILS I., 1971. — Helveticon, ein Benzochinon-Derivat vom Bovinon-Typ aus *Chroogomphus helveticus* und *Ch. rutilus*. Zeitschr. f. Naturf. 26 b, 336-338.
- STEGELICH W., PILS I. und BRESINSKY A., 1971. — Nachweis und chemotaxonomische Bedeutung von Pulvinsäuren in *Rhizopogon* (Gasteromycetes). Zeitschr. f. Naturf. 26 b, 376-377.

*Botanische Staatssammlung,
Menzinger Strasse 67,
D-8000 München 19,
(Allemagne fédérale).*