

Publicato in: Micologia e Vegetazione Mediterranea 19(1): 43-56, 2004

**ATTEGGIAMENTO DELLE IFE SECRETRICI
IN CLORURO DI ORO, COMPLESSO ARGENTO AMMONIACALE,
ZINCO CLORURO IODURATO E ACIDO SOLFORICO***

H. Cléménçon

(Institut de Botanique Systématique - Université de Lausanne, Bâtiment de Biologie,
Institut d'Ecologie, CH-1015 Lausanne, Suisse)
Attuale: Chemin du Milieu 10, CH-1052 Le Mont - Suisse

Traduzione di: C. Lavorato - C/da Calamia, 10 - I-87069 S. Demetrio Corone (Cosenza)

* Titolo originale: Verhalten der Sekrethyphen in Goldchlorid, Silberammin, Chlorzinkjod und Schwefelsäure. Pubblicato in: Beiträge zur Kenntnis der Pilze in Mitteleuropas, IX: 161-170, 1993.

Riassunto: L'autore propone di rimpiazzare i termini errati di "*ife vascolari*" e "*ife oleifere*" con i termini più adatti "**ife secretrici**" e "**ife tromboplere**". Utilizzare il nome "**deuteroplasma**" per le ife secretrici contenenti un citoplasma ricco di secrezione, parola già usata nella biologia generale. Dopo aver testato 155 specie di *Hymenomyces*, si descrivono le reazioni caratteristiche e solitamente intense del deuteroplasma delle differenti ife secretrici con i 4 reattivi menzionati nel titolo ed in maggioranza finora sconosciute.

Summary: It is proposed to replace the erroneous terms "*vascular hyphae*" and "*oleiferus hyphae*" by the less erroneous terms "**secretion hyphae**" and "**thromboplerous hyphae**" and to use the word "**deuteroplasm**" to describe a cytoplasm rich in secreted substances, as is already done in general biology. After having tested 155 species of *Hymenomyces*, colour reactions of different types of deuteroplasmas with the four reagents mentioned in the title are described. Most of them have never been described before.

Introduzione

Esistono molti tipi di ife secretrici, specialmente le latticifere e le gloeoplere che nella letteratura odierna non vengono separate.

BOIDIN (1958:440) parla del suo disagio sui numerosi tipi di gloeocistidi (e con ciò anche delle ife gloeoplere) come segue (dalla traduzione dal francese): "É spiacevole usare la stessa espressione

di “gloeocistidi” per i diversi elementi come in *Gloeocystidiellum porosum* o *Peniophora incarnata*, *Sebacina* Sottogenere *Bourdotia*, alcune specie di *Stereum* stipitate, le specie tropicali di *Cladoderris*, oppure anche quelle di *Stereum bicolor* o quelle di specie di *Hericium*.

Da allora la situazione non è cambiata, e persino la separazione delle latticifere e gloeoplere comporta difficoltà.

Oggi usualmente le latticifere e gloeoplere vengono testate solo con acido sulfobenzaldeide e la maggior parte con sulfovanillina, colorate con blu di cresile, Singer ha fatto le prove e con i risultati ha cercato di caratterizzare i diversi tipi di ife secretrici ed i rispettivi tipi di cistidi. Nell'interpretazione di Singer il contenuto dei gloeocistidi in sulfovanillina è negativa e in blu di cresile diventa blu carico (SINGER 1945:176, 1990:32). Egli pensava che anche il colorarsi della parete con blu di cresile al viola pallido era un carattere sicuro dei gloeocistidi (SINGER 1962:41). SINGER (1986) resta indeciso quando scrive che le latticifere nel senso stretto con blu di cresile si possono colorare di blu, ma non necessariamente, e che queste in sulfovanillina possono risultare positive o negative. Se i cistidi in sulfovanillina risultano positivi e non si colorano con blu di cresile SINGER (1990:32) li denomina “macrocistidi”, questo termine lo aveva già introdotto ROMAGNESI (1944) per i cistidi delle *Russulaceae*, senza però specificare la reazione con sulfovanillina. La tipificazione di Singer non è soddisfacente, poiché i gloeocistidi, le ife gloeoplere e le ife latticifere risultano molto variabili e non si lasciano facilmente raggruppare, specialmente se si tiene conto delle *Aphylophorales*.

Le ife secretrici reagiscono molto di più colorandosi di quello che finora si supponeva. Già nel 1885 WEISS constatò, che le latticifere di *Lactarius deliciosus* o specie vicine con cloruro di oro diventavano nero bluastro, con acido solforico bruno scuro e con la soluzione allo iodio marrone. In seguito lo studio delle latticifere degli stessi funghi fu ripreso anche da

MASSEE (1887), ma da allora queste reazioni sono state abbandonate.

Le esperienze fatte da WEISS (1885) ci hanno spronato a provare su altri funghi il comportamento delle ife secretrici in cloruro di oro, acido solforico e soluzione allo iodio. Per motivi di praticità sono stati usati solo due soluzioni allo iodio, soluzione di Melzer e zinco cloruro iodurato di Schulzer.

Contemporaneamente s'è aumentato il numero dei reagenti con la speranza di inquadrare la separazione in chemiotipi delle latticifere e gloeoplere. Nella stagione micologica 1992 ci è stato possibile fare le prove con 14 soluzioni a 155 specie di *Hymenomyces* (soprattutto funghi lamellati). S'è constatato che effettivamente si separano molti chemiotipi, che verranno trattati in una futura pubblicazione. Ora ci limitiamo a usare solo le 4 soluzioni già menzionate e note da lungo tempo, sull'utilità in micologia degli *Hymenomyces*.

Sulla terminologia di ife secretrici al posto di “ife vascolari”

Le ife gloeoplere, latticifere e “oleifere” di solito sono indicate come “ife vascolari” (per es. TALBOT 1954, SINGER 1986), questo perché i micologi del XIX secolo sono stati notevolmente influenzati dall'anatomia botanica e l'osservazione di queste ife è stata male interpretata. Nel 1839 CORDA aveva scoperto in carpofori di *Russula foetens* (oggi un complesso di specie) ife che sembravano colme di una sostanza omogenea, leggermente giallastra. Egli ne paragona l'aspetto ad una asticella di vetro, affermando di non aver osservato setti. Inoltre aggiunse che queste ife corrispondono a “veri vasi di circolazione” nel quale scorre un “succo vitale”. Egli afferma di averlo visto scorrere. Con ciò è stata messa la prima pietra sulla osservazione delle ife secretrici come sistema di circolazione.

L'interpretazione delle ife secretrici come sistema di circolazione per il nutrimento ha raggiunto il suo apice verso la fine del

XIX secolo. La maggioranza degli autori sottolinearono il fatto che queste ife erano sprovviste di setti oppure erano rari, erano inoltre piene di una sostanza particolare, e sono state interpretate come “tubi latticiferi”, “ife contenitrici” oppure “canali latticiferi” ma sempre interpretati come canali di circolazione. BAMBEKE (1892a:175) ha finalmente messo in chiaro che la funzione di circolazione era indipendente dall’aspetto delle ife ed ha introdotto la denominazione di “ife vascolari”.

Oggi la maggior parte dei micologi non interpretano le “hyphes vasculaires” oppure “vascular hyphae” com’era il suo senso iniziale ma gli attribuiscono la funzione di circolazione. Ciononostante resta l’espressione in uso in molti luoghi l’interpretazione di canali conduttori, anche se viene ribadito che “hyphe vasculaire” e “Gefäß (vaso)” è inteso come un contenitore statico.

Questa prassi é confusionale e non deve essere più usata. Come già affermato da DE SEYNES (1863:18), PIESCHEL (1924) e OEHM (1931) queste ife non hanno funzione di conduzione nel senso dei vasi delle piante, ma queste immagazzinano nel loro interno secrezioni (MAIRE (1902:188, HEIM 1931:18) e vengono perciò denominate ife secrete.

L’interpretazione delle latticifere come ife secrete ha anche il sostegno di moderne ricerche. CAMAZINE & LUPO (1984) e STERNER & al. (1985), scoprirono che *Lactarius vellereus* contiene l’innocua velutinal, che alla lesione del fungo viene rapidamente trasformata in velenosa aldeide velleral e isovelleral. Questo avviene come reazione di difesa del fungo contro insetti o lumache e con ciò il lattice assume un significato biologico. La motivata biosintesi e l’appropriato immagazzinamento di una sostanza (in questo caso la velutinal) ricade sotto il concetto di secrezioni.

Il deuteroplasma

La parte di una cellula o di un’ifa

che immagazzina secrezioni può essere interpretata come deuteroplasma, una denominazione “per secrezioni e sostanze di riserva nella cellula che prendono meno parte del protoplasma nella vita attiva” (WERNER 1972). L’uso di questa espressione facilita la descrizione dei tipi di ife secrete, che con un’unica parola può indicare quel luogo del contenuto di una ifa secrete, che nel nostro caso ci interessa.

Tromboplere al posto di “oleifere”

FAYOD (1889) denominò “oleifere” le ife, senza una specifica struttura, contenenti una sostanza rifrangente alla luce, presenti in numerosi funghi a lamelle, poiché lui pensava di riconoscere dell’olio in questa sostanza. Il contenuto di queste ife secrete non si scioglie nei solventi per l’olio, come alcool, etere, o cloroformio e non si colora neanche con i coloranti specifici per l’olio: Sudan III, Sudan IV o Sudan nero (Fig. 1), ma nè si colora con alcuni coloranti che non reagiscono ai grassi, come blu di toluidina, blu di Patent, blu cotone e rosso rutenio (Fig. 2-5, 8). L’errore di Fayod é stato notato da BAMBEKE (1892a, b, 1894), KÜHNER (1938a) e SANDOR (1957), purtroppo l’errore é continuato e lo troviamo anche nella letteratura moderna.

Qui si propone di correggere questo spiacevole errore di denominazione, e chiamare queste ife secrete non come si credeva in base alla loro composizione chimica, ma come contenitore di un flusso gelatinoso: **tromboplere** (thrombos = flusso di grossa goccia). La modifica viene anche giustificata dal fatto che diversi autori (per es. GLUCHOFF & al. 1983) chiamarono le conduttrici di olio gloeoplere “oleifere”, in modo che questa espressione ha acquisito un doppio significato.

Il deuteroplasma di una tromboplera matura é gelatinoso-rigido e di solito ha un aspetto omogeneo, localmente può essere inomogeneo o persino granuloso (fig. 7-9). Talvolta é incolore, ma solitamente é colorato. Il suo colore va dal giallastro pallido al fulvo e

bruno scuro (a causa di pigmenti sconosciuti, Fig. 9-12), oppure è giallo carico fino a giallo arancione o ancora da giallo limone a giallo verde (a causa del stirilpirone o del antrachinoide, GLUCHOFF-
FIASSON 1979).

Le tromboplere sono considerate ife morte, poiché nel loro interno non sono dimostrabili nuclei ed anche per l'evacuazione di secrezioni che è terminata. Se le tromboplere vengono stirate da forze esterne, il deutero plasma si rompe frammentandosi in piccoli segmenti sostenuti solo dall'allungamento della parete. Questo succede spesso nei gambi di numerosi funghi a lamelle durante la fase di crescita.

Il deutero plasma si rompe quasi sempre con un angolo retto, ortogonale alla parete (Fig. 12). Si può concludere che il deutero plasma non è né liquido, né solido. La consistenza gelatinosa in caso di rottura della parete che per la pressione viene spinta verso l'esterno, ha come conseguenza che il deutero plasma fuoriuscendo ha limitata possibilità di formare vesciche a forma di bottoni (Fig. 6). In alcuni liquidi di osservazione, per es. acido lattico e talvolta anche in liscivia di potassa, la parete delle tromboplere si rompe perpendicolarmente. Da queste rotture fuoriesce il deutero plasma che forma all'esterno dei cuscinetti o dei bottoni.

Comportamento delle ife secretrici nelle quattro soluzioni

Indicazioni tecniche: lavorando con i lattari, a causa della fuoriuscita di molto lattice, può risultarne un notevole disturbo. Il contenuto delle latticifere smette di scorrere, secondo DE BARY (1887:299), con la cottura del fungo, e secondo la nostra esperienza la capacità di reazione già dopo breve cottura risulta scarsa o del tutto negativa.

La colorazione dei grassi (qui non commentata) con Sudan, di solito riesce assai meglio su materiale cotto che fresco. Senza attendere lunghe prove, nella nostra ricerca è stato usato il seguente metodo: l'intero

fungo fresco è stato immerso nell'acqua bollente per circa 3 minuti, poi una volta ripescato è stato brevemente asciugato con carta assorbente. Il fungo così trattato diventa floscio e si lascia tagliare con difficoltà. Il deutero plasma delle latticifere sovente appare più grossolanamente granuloso che nel materiale fresco, ma la sezione resta pulita e può essere osservata meglio.

Migliore ed anche più comodo della cottura con acqua è il "fissaggio fisiologico" in un forno a microonde, che, oltre al risparmio di tempo, ha anche il vantaggio di non estrarre sostanze. Si sono avuti ottimi risultati anche con un semplice forno a microonde da cucina. Mettendo i funghi in una ciotola aperta e senz'acqua, sono sufficienti 30-60 secondi di cottura, i funghi diventano un po' flosci ma si lasciano tagliare con facilità.

Cloruro di oro (Fig. 13, 14)

Cloruro di oro (precisamente tetracloro aurico) da alcune latticifere e gloeoplere viene ridotto in oro colloidale, in modo che il contenuto delle ife diventa ± finemente granuloso da blu scuro a nero. Questa reazione di solito è lunatica e riesce abitualmente solo su materiale fresco, e solo dopo aver riscaldato la sezione in cloruro di oro. Questa reazione era stata scoperta da WEISS (1885) su un lattario a lattice rosso, ma la sua applicabilità risulta molto più vasta.

Prodotto: acido tetracloro aurico distribuito dalla Merck. Soluzione: 1% in acqua distillata. Stabile.

Utilizzazione: versare una goccia in un recipiente di polietilene, immergervi la sezione del fungo, assicurarsi che sia ben bagnata. Dopo 15-20 minuti schiacciare fra il vetrino portaoggetti e coprioggetti e controllare al microscopio se la reazione è avvenuta. Nel caso non si veda nessuna colorazione scaldare il preparato sulla fiamma fino a breve bollitura. Non devono assolutamente essere usati strumenti metallici, ma si usino solo attrezzi di plastica. Il preparato potrà essere analizzato anche con idrato di cloralio al 50%,

ma non con idrato di potassio o ammoniaca.

Risultati con materiale fresco:

Positivo senza scaldare:

Lactarius deterrimus: il contenuto delle latticifere dopo circa 30 minuti diventa fitto di granuli neri (se scaldato, più intenso e rapidissimo).

Lactarius salmonicolor: dopo 20 minuti il deutero plasma diventa blu nero (se scaldato, più intenso e rapidissimo).

Lentinellus cochleatus: ife secretrici già dopo 3-5 minuti diventano fitti di granuli neri (se scaldato, più intenso e rapidissimo) (Fig. 13).

Positivo dopo scaldato:

Lactarius acerrimus: latticifere prevalentemente incolore, ma presenti alcuni granuli neri a schiere.

Lactarius chrysorrheus: latticifere diventano con fitta e minuta granulazione nero blu.

Lactarius circellatus: la minuta granulazione della secrezione delle latticifere diventa profondamente nero violetta.

Lactarius rufus: il contenuto granuloso di alcune latticifere, diventano delicatamente nero blu, altre restano incolore.

Lactarius subdulcis: numerose minute granulazioni blu nero. Un pò incostante: alcune latticifere sono ben colorate, altre non si colorano per niente oppure solo in parte.

Mycena pelianthina: tromboplere blu grigio scuro.

Russula integra: dermatocistidi sul gambo evidenziano fitti granuli neri.

Russula mairei: gloeoplere acquisiscono granulazioni blu nere (Fig. 14).

Russula rosacea: alcune gloeoplere acquisiscono granulazioni marrone nero. Meglio se il preparato viene scaldato in KOH al 5 %, poi ben lavato con acqua, infine scaldato in cloruro di oro: la maggior parte delle gloeoplere evidenziano numerose granulazioni nere.

Russula viscosa: le gloeoplere evidenziano una minuta granulazione nera.

Complesso argento ammoniacale (Fig. 15, 16)

Complesso argento ammoniacale da diverse ife secretrici viene ridotto in argento metallico, che formano delle belle colorazioni, di solito uniformemente marrone cuoio, marrone rosso, marrone scuro fino a quasi nero, raramente si formano sedimenti granulosi. Spesso la riduzione avviene già a temperatura ambiente, ma di regola deve essere brevemente scaldata.

Soluzioni del complesso argento ammoniacale vennero utilizzate già dall'ultimo secolo in diverse composizioni per rappresentare strutture "affini all'argento" (ROMEIS 1968 descrive oltre 60 metodi all'argento). Per la colorazione delle ornamentazioni delle spore SANDOR (1956) ne usa uno di questi sotto il nome "soluzione di argento ammoniacale".

Preparazione del reagente: 5 g di nitrato d'argento vengono sciolti in 45 ml di acqua distillata. Poi si aggiunge goccia a goccia ammoniaca concentrata finché si sciolgono i sedimenti marroncini. Bisogna lavorare a luce bassa poiché i sali d'argento sono sensibili alla luce.

Utilizzazione: immergere il materiale per 10-20 minuti a luce bassa in un recipientino con soluzione del complesso argento ammoniacale, sempre con poca luce. Dopo 15-20 minuti schiacciare fra il portaoggetti ed il coprioggetto e controllare al microscopio se la reazione è avvenuta. Se non si osserva una colorazione scura portare il preparato sulla fiamma fino a breve bollitura.

Risultati:

Positivi senza scaldare:

Cortinarius hemitrichus: tromboplere dopo 5 minuti diventano marrone rosso scuro.

Gymnopilus hybridus: tromboplere diventano nocciola

(scaldate: marrone rosso scuro).

Hygrophorus pustulatus: le ife sporgenti della caulocute diventano intenso marrone rosso. Le ife secetrici della trama anche dopo scaldare restano incolore.

Hypholoma capnoides: tromboplere diventano inomogenee marrone rosso (Fig. 15).

Pholiota spumosa: tromboplere già dopo 1 minuto diventano marrone rosso intenso (scaldate: profondamente marrone rosso scuro).

Tricholomopsis rutilans: tromboplere dopo 2-3 minuti diventano marrone rosso intenso (scaldando si intensifica di più). Macroscopicamente la carne diventa subito marrone nera.

Positivi dopo scaldato:

Amanita muscaria: gloeoplere gialle della pileocute da immutabili a marrone rosso.

Amanita solitaria: tromboplere diventano bruno ocrea.

Amanita vaginata: tromboplere si colorano omogeneamente marrone rosso pallido.

Amanita virosa: tromboplere diventano ocrea pallido.

Collybia butyracea: tromboplere diventano bruno grigio pallido.

Cortinarius mucosus: tromboplere si colorano omogeneamente da ocrea a marrone.

Cortinarius splendens: tromboplere si colorano di bruno castano scuro.

Hypholoma sublateritium: tromboplere diventano marrone rosso.

Inocybe fibrosa: tromboplere si colorano di un pallido ocrea rossastro, miele.

Inocybe jurana: tromboplere si colorano da marrone scuro a nero.

Lactarius alpinus: latticifere diventano bruno rosso.

Lactarius bresadolianum: latticifere diventano bruno rosso.

Lactarius chrysorrheus: latticifere diventano bruno rosso.

Lactarius picinus: latticifere diventano bruno rosso pallido.

Lactarius pterosporus: latticifere diventano bruno nero.

Lactarius rufus: latticifere diventano irregolari bruno rosso scuro.

Lactarius volemus: latticifere si colorano da bruno rosso a bruno nero.

Lentinellus cochleatus: gloeoplere prevalentemente incolore, alcune bruno rosso.

Megacollybia platyphylla: la sostanza base delle tromboplere diventa bruno rosso scuro, le inclusioni restano incolore.

Mycena inclinata: tromboplere diventano bruno rosso scuro (Fig. 16).

Mycena pelianthina: tromboplere si colorano di un pallido marrone grigio, cistidi grumosi marrone nero.

Mycena sanguinolenta: tromboplere omogeneamente marrone rosso.

Russula cyanoxantha: tromboplere si colorano marrone rosso intenso, gloeoplere da bruno pallido a incolore, contenuto dei cistidi incolore.

Russula emetica: tromboplere e gloeoplere da incolore a marrone capriolo.

Russula queletii: gloeoplere la sostanza base diventa marrone.

Russula viscosa: tromboplere marrone rosso.

Sarcodon imbricatum: tromboplere marrone.

Stropharia semiglobata: tromboplere marrone rosso scuro.

Tricholoma sulphureum: tromboplere marrone ocrea.

Thelephora caryophyllea: tromboplere marrone nero.

Negativi:

Amanita crocea, *Boletinus cavipes*, *Chroogomphus helveticus*, *Clavulina cristata*, *Clitocybe gibba*, *Clitocybe pithyophila*, *Coprinus atramentarius*, *Cortinarius caninus*, *Cortinarius favrei* (scaldato: da

Tavola 1 - Concetto delle tromboplere

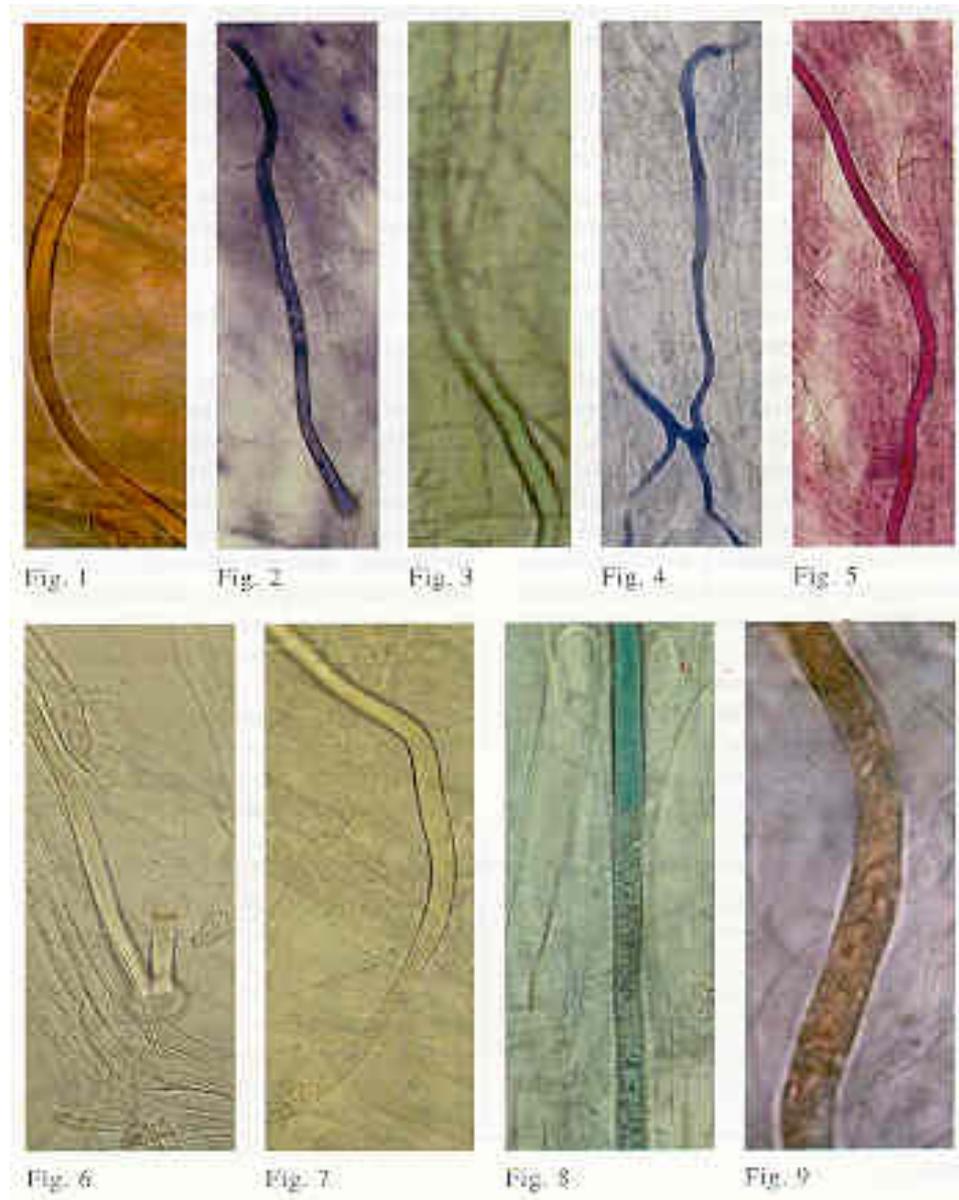
Fig. 1-6 : Tromboplere con (quasi) un normale ed omogeneo deuteroplasma.

1: Con Sudan III, senza reazione - 2: Blu di toluidina (reazione ortocromatica) - 3: Blu di Patent - 4: Blu cotone - 5: Rosso rutenio - 6: Fuoriuscita a forma di vesciche del deuteroplasma di un tratto di tromboplere.

1-5: Gambo di *Clitocybe pithiophila*. - 6: *Chroogomphus helveticus* in KOH al 5 %.

Fig. 7-9 : Tromboplere con un deuteroplasma da inomogeneo a granuloso.

7: Gambo di *Amanita citrina* incolore in H₂O. - 8: Gambo di *Amanita virosa* in blu di Patent. - 9: *Clavariadelphus pistillaris* incolore in KOH al 5 %.



incolore a bruno pallido), *Gomphidius glutinosus*, *Hygrocybe konradii*, *Hygrophorus pustulatus* (vedi anche lista positivi!), *Hypholoma epixanthum*, *Hypholoma fasciculare*, *Hypholoma marginatum* (le pareti delle ife sono ben colorate), *Inocybe friesii*, *Inocybe geophylla*, *Inocybe pudica*, *Lactarius acerrimus*

(raramente bruno rosso pallido), *Lactarius circellatus*, *Lactarius controversus*, *Lactarius deterrimus*, *Lactarius glyciosmus* (scaldato: da incolore a marrone pallido), *Lactarius mitissimus*, *Lactarius nanus*, *Lactarius piperatus*, *Lactarius pseudouvidus*, *Lactarius pubescens* (scaldato: raramente e localmente

Fig. 10-12 : Tromboplere e deuteroplasma con colori naturali.

10: Metà gambo di *Mycena inclinata*, bruno pallido in KOH al 5 %. - 11: Base del gambo di *Mycena inclinata* bruno rossastro in KOH al 5 %. - 12: Deuteroplasma del gambo lacerato trasversalmente attraverso la crescita delle ife che lo circondano, giallo a causa del antrachinoide in H₂O.

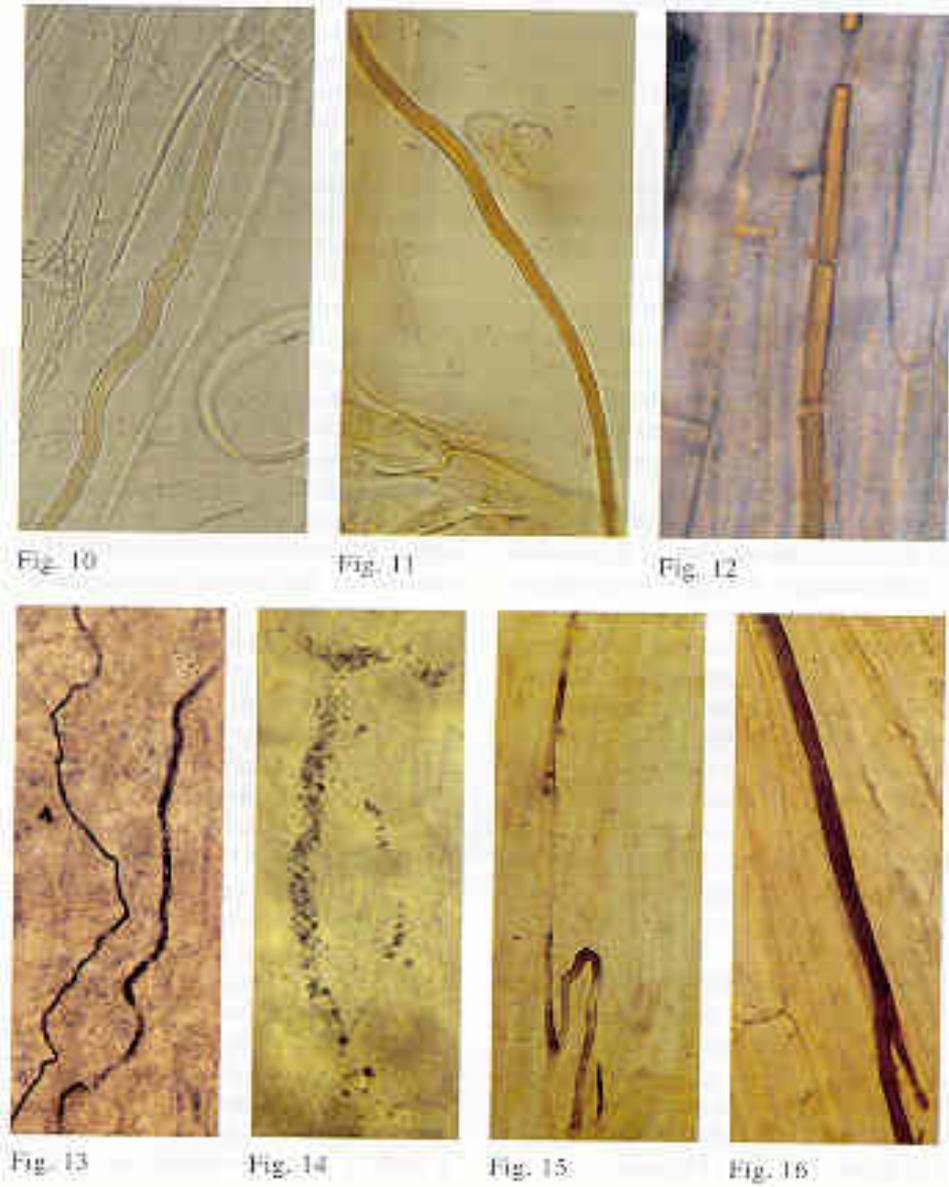
Tavola 2 - Comportamento chimico di alcune ife secretrici

Fig. 13-14 : Viraggio scuro del deuteroplasma di gloeoplere attraverso la riduzione spontanea da cloruro aurico in oro.

13: Lamelle di *Lentinellus cochleatus* senza riscaldare. - 14: Gambo di *Russula mairei* riscaldato.

Fig. 15-16 : Viraggio brunastro del deuteroplasma delle tromboplere attraverso la riduzione spontanea dal complesso argento ammoniacale in argento colloidale.

15: Gambo di *Hypholoma capnoides*, reazione irregolare a freddo. - 16: Metà gambo di *Mycena inclinata* reazione regolare dopo averlo riscaldato.



marrone), *Lactarius salmonicolor*, *Lactarius scrobiculatus* (scaldato: giallo ambra), *Lactarius subdulcis*, *Lentinellus cochleatus* (scaldato: prevalentemente incolore, alcuni marrone rosso), *Lentinellus flabelliformis* (scaldato: prevalentemente incolore, solo alcuni marrone rosso), *Leucoagaricus pudicus*, *Mycena metata*, *Mycena viscosa*, *Panaeolus semiovatus*, *Pluteus atricapillus*, *Russula chloroides*, *Russula integra*, *Russula mairei* (da incolore a marrone pallido), *Russula nana*, *Russula norvegica*, *Russula ochroleuca* (scaldata generalmente incolore, raramente pallida), *Russula rosacea*.

Zinco cloruro iodurato (Fig. 17-20)

Zinco cloruro iodurato colora il contenuto dell'ifa da bruno oro fino a bruno nero; la parete può essere amiloide, destrinoide o ampelocroide

(virante al rosso vinoso). A causa dell'arricchimento dello iodio la colorazione gialla viene valutata come reazione negativa. Zinco cloruro iodurato e reagente di Melzer non sono equivalenti, poiché di solito reagiscono diversamente.

Il "miscuglio zinco cloruro iodato, ioduro di potassio e iodio" per "separare e distinguere con certezza la cellulosa dalle sostanze cuticolari" è stato presentato da SCHULZ il 20 settembre 1850 ad una riunione scientifica, ma nel protocollo (FÜRNROHR 1850:643) non sono stati riportati le quantità. Questo è anche il motivo per cui in seguito furono pubblicati diverse formulazioni. Sembra che le percentuali delle sostanze non ha una grossa importanza. Qui sono date tre varianti che conducono allo stesso risultato (di ognuna si è fatta la trasformazione arrotondata su 20 ml di acqua, peso in grammi).

	STRASBURGER 1919	KRAUTER 1954	GERLACH 1969
Acqua distillata	20,0	20,0	20,0
Potassio ioduro	12,4	16,0	13,0
Iodio crist.	2,5	3,0	2,6
Zinco cloridrico, secco	38,1	50,0	40,0

Preparazione

Si sciolgono le sostanze nell'ordine dato. Aggiungere la sostanza successiva solo quando la precedente è già sciolta. All'aggiunta del zinco cloridrico si forma un sedimento nero brunastro, minutamente granuloso e il miscuglio si riscalda. Questo ha come conseguenza che salgono i vapori di iodio violacei, cosa che per la qualità del reagente è insignificante, ma che per le persone può risultare fastidioso.

Pertanto è consigliabile che l'aggiunta di zinco cloridrico avvenga lentamente e raffreddando il recipiente con acqua corrente. Il sedimento è così pesante che già dopo un paio d'ore si decanta depositandosi alla base, in tal modo il liquido marroncino superiore può essere asportato con una pipetta. Questo liquido asportato è il reagente.

Il sedimento potrebbe essere anche centrifugato, ma è sconsigliabile, come anche il filtraggio. Zinco cloruro iodurato è una soluzione allo iodio estremamente acida. Si consiglia la soluzione secondo GERLACH (1969).

Si legge spesso che lo zinco cloridrico iodato deve essere conservato in bottigliette marrone e che scade dopo qualche settimana. Abbiamo usato una bottiglietta chiara tenuta senza speciale protezione dalla luce, ebbene dopo 25 anni era ancora in piena efficienza.

Uso:

Parti di piante sono da immergere direttamente in zinco cloridrico iodato e fatta la microscopia. Cellulosa e polisaccaridi affini si colorano da viola, grigio bluastro fino a blu. A

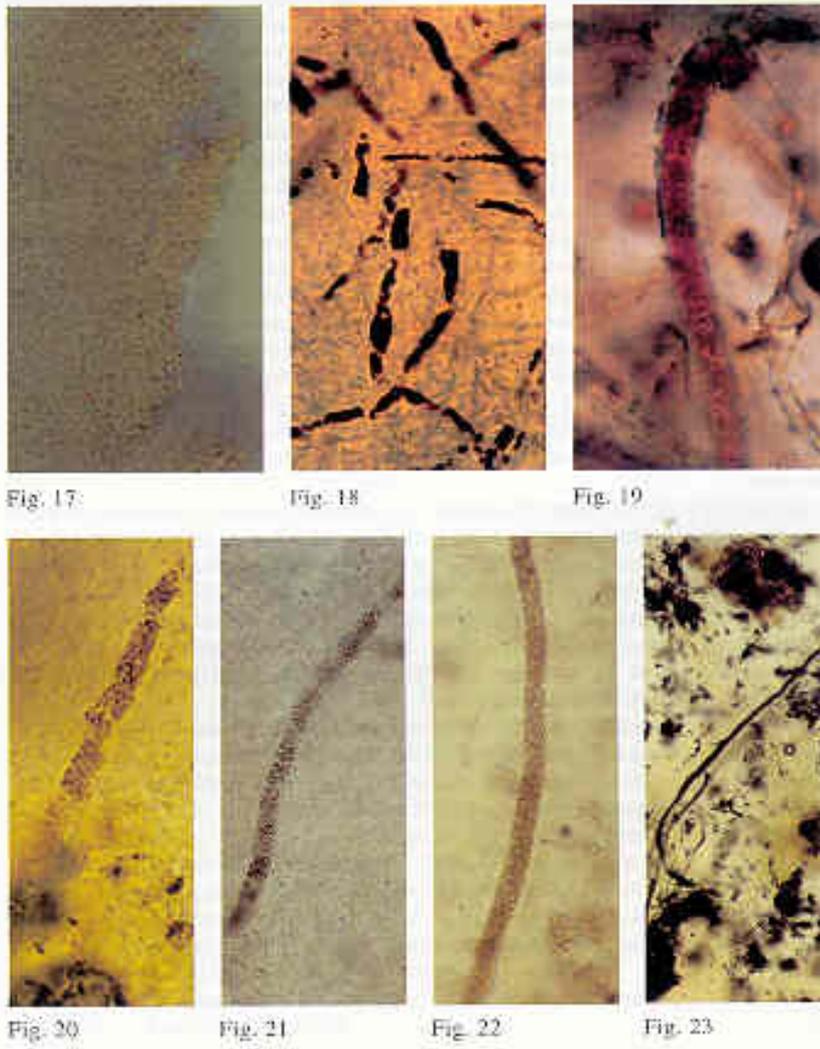
Tavola 3 - Comportamento chimico di alcune ife secetrici

Fig. 17-20 : Viraggio con zinco cloruro iodurato.

17: La sostanza amiloide delle ornamenta sporali di *Russula lepida* si dissolve e vira al blu. - 18: Il deuteroplasma delle ife gloeoplere del gambo di *Russula mairei* diventa bruno scuro. - 19: Il deuteroplasma delle ife tromboplere di *Chroogomphus helveticus* è destrinoide, la parete ialina mentre le incrostazioni sono amiloidi. - 20: Il deuteroplasma granuloso delle latticifere di *Lactarius glyciosmus* diventa brunastro.

Fig. 21-23 : Viraggio delle latticifere in acido solforico al 70 %.

21-22: Il deuteroplasma granuloso di *Lactarius glyciosmus* diventa brunastro. - 23: Il deuteroplasma (quasi) omogeneo di *Lactarius glyciosmus* annerisce.



lungo é stata ritenuta una reazione specifica per la cellulosa, ma non é cosí. Non é del tutto noto quali siano i polisaccaridi e che tipo di colori diano.

La lignina non reagisce e non reagiscono nemmeno le pareti cellulari lignificate. Perciò spesso nella botanica è stato usato zinco cloridrico iodato per distinguere pareti lignificate da pareti non lignificate. La reazione sovente risulta debole e dato che oggi sono a disposizione metodi migliori lo zinco cloridrico iodato non viene usato spesso.

Nella micologia finora zinco cloridrico iodato é stato usato raramente. Materiale fresco può essere immerso direttamente in zinco cloridrico iodato, ma per la reazione bisogna attendere almeno 10-15 minuti. Materiale secco deve prima essere rinvenuto in una soluzione alcalina e poi lavato con acqua, altrimenti potrebbe non reagire. Persino le spore delle *Russula* non reagiscono se non pretrattate, anche se il materiale é stato seccato solo un giorno prima!

Lo zinco cloruro iodurato colora le pareti delle ife e delle spore di alcuni *Hymenomyces* da blu fino a ± viola oppure rosso brunastro, come per es. le ornamenta sporali delle *Russulaceae*, le ife delle fibre di *Serpula lacrimans* se pretrattati con una soluzione alcalina e le ife delle fibre dei rizomi basali di *Leucocoprinus birnbaumii*.

Il deutero plasma di alcune gloeopler e cistidi diventa marrone scuro in zinco cloridrico iodato, come per es. il contenuto dei cistidi di *Russula rosacea*, che altrimenti

avrebbe una scarsa reazione.

Si noti che lo zinco cloridrico iodato spesso reagisce diversamente del reagente di Melzer. Le ife delle fibre di *Serpula lacrimans* in reagente di Melzer non diventano viola brunastro pallido ma marrone rossastro intenso, e il deutero plasma dei cistidi di *Russula rosacea* in Melzer non dà un colore specifico. Il reagente di Melzer colora sempre bene strutture amiloidi, per es. le spore delle *Russulaceae*, sia di materiale fresco che d'erbario, zinco cloridrico iodato invece di solito non colora il materiale d'erbario.

Talvolta capita, che la massa amiloide delle ornamenta sporali delle *Russulaceae* in zinco cloridrico iodato si dissolve, spesso formando una soluzione blu (Fig. 17).

Risultati positivi:

Amanita muscaria: gloeopler della pileocute diventano giallo chiaro a marrone rossastro pallido, almeno localmente.

Chroogomphus helveticus: il deutero plasma diventa marrone rossastro, la parete incolore, ma di solito le incrostazioni amiloidi (Fig. 19).

Lactarius alpinus: secrezione gocciolante, marrone scuro, secrezione omogenea incolore.

Lactarius chrysorrheus: da verde bluastro, olivastro fino a marrone.

Lactarius controversus: da marrone fino a marrone scuro.

Lactarius deterrimus: particelle secretive verde olivastro, marrone

olivastro fino a marrone scuro.

Lactarius glyciosmus: la sostanza principale delle latticifere resta incolore, particelle secretive marrone ocraceo (Fig. 20).

Lactarius mitissimus: il deuteroplasma del fungo fresco diventa da marrone dorato a marrone; il deuteroplasma di un fungo con breve cottura diventa marrone scuro.

Lactarius obscuratus: tromboplere negative, latticifere con granulazione marrone.

Lactarius piperatus: la secrezione diventa marrone.

Lactarius pubescens: a freddo vira da giallo dorato a bruno nerastro, riscaldato bruno nerastro intenso.

Lactarius rufus: la secrezione diventa marrone.

Lactarius salmonicolor: la secrezione diventa bruno nerastro.

Lactarius subdulcis: latticifere si colorano marrone scuro.

Lentinellus cochleatus: la secrezione all'interno della stessa cellula da giallo dorato a bruno nerastro.

Lentinellus flabelliformis: la secrezione da bruno tabacco a bruno scuro.

Panaeolus semiovatus: la parete delle tromboplere del gambo rosso vinoso intenso, il deuteroplasma resta incolore.

Russula cyanoxantha: tromboplere restano incolore, gloeoplere granulosi marrone scuro (come anche nei cistidi).

Russula emetica: ife secretrici grumosi marrone scuro.

Russula integra: la granulosità delle gloeoplere diventa marrone scuro.

Russula mairei: il contenuto delle gloeoplere diventa grumoso bruno nerastro (Fig. 18).

Russula nana: il contenuto delle gloeoplere diventa nero, marrone; il contenuto dei cistidi bruno nerastro oppure giallo.

Russula norvegica: le tromboplere restano incolore, la sostanza principale delle gloeoplere gialla, la grana bruno rossastro scuro, cistidi gialli.

Russula mairei: il deuteroplasma di alcuni cistidi vira al bruno olivastro.

Russula ochroleuca: gloeoplere marrone scuro, tromboplere incolore.

Russula queletii: gloeoplere grumose da ambra a bruno scuro.

Russula rosacea: la parte granulosa delle ife secretrici vira al marrone nerastro, la parte omogenea resta incolore.

Russula viscosa: il deuteroplasma da marrone a bruno scuro.

Acido solforico al 70 % (Fig. 21-23)

L'acido solforico colora il contenuto delle cellule di numerose piante da rosso a viola (MOLISCH 1923:315). Sui funghi alcune ife con acido solforico possono dare una colorazione \pm brunastra. Questa reazione é stata scoperta da WEISS (1885) su un *Lactarius* a lattice rosso

e ripresa da MASSEE (1887) per analizzare l'anatomia dei funghi.

Preparazione del reagente: a freddo sotto acqua corrente vengono versati lentamente 70 ml di acido solforico concentrato in 30 ml di acqua distillata.

Utilizzazione: il preparato va immerso in una piccola goccia di reagente sul portaoggetti senza coprioggetto. Dopo 3-5 minuti coprire con coprioggetto e fare una leggera schiacciata.

Risultato: il contenuto di alcune latticifere e gloeoplere diventano da marrone, nero bruno fino a quasi nero. Il risultato non garantisce la reazione di "sulfovanillina".

Risultati:

Esempi di funghi con ife secretrici viranti al bruno: *Lactarius alpinus*, *L. controversus*, *L. deterrimus* (Fig. 23), *L. glyciosmus* (Fig. 21, 22), *L. piperatus*, *L. rufus*, *L. salmonicolor*, *L. subdulcis*, *Lentinellus flabelliformis*, *Russula integra*, *R. ochroleuca*.

Esempi di funghi con ife secretrici non viranti al bruno: *Amanita vaginata*, *Clitocybe gibba*, *Collybia butyracea*, *Coprinus atramentarius*, *Gomphidius glutinosus*, *Lactarius picinus*, *L. volemus*, *Lentinellus cochleatus*, *Megacollybia plathyphylla*, *Panaeolus semiovatus*, *Pluteus atricapillus*, *Russula emetica*.

Bibliografia:

BAMBEKE C. VAN, 1892 a: Onderzoekingen over de vaathyphen der Eumyceten. I. vaathyphen der Agaricineen. Recherches sur les hyphes vasculaires des Eumycètes. Bot. Jaarboek Dodonaea 4: 175-239.

BAMBEKE C. VAN, 1892 b: Contribution à l'étude des hyphes vasculaires des Agaricinés. Hyphes vasculaires de *Lentinus cochleatus* Pers. - Bull. Acad. Roy. Sci. Lett., Beaux-Arts Belg. III 23: 472-490.

BAMBEKE C. VAN, 1894: Hyphes vasculaires du mycélium des autobasidiomycètes. Bull. Acad. Roy. Sci. Lett., Beaux-Arts Belg. III 27: 492-494.

BOIDIN J., 1958: Hétérobasidiomycètes saprophytes et homobasidiomycètes résupinés. IV. Les *Peniophora* Section Coloratae B. & G. à dendrophyses. Bull. Soc. Mycol. France 74: 436-481.

CAMAZINE S. & LUPO A.T. Jr., 1984: Labile toxic compounds of the Lactarii: The role of the laticiferous hyphae as a storage depot for precursors of pungent dialdehydes. Mycologia 76: 355-358.

CORDA A.C.J., 1839: Icones Fungorum Hucusque Cognitorum. Abbildungen der Pilze und Schwämme. Bd. 3.

DE SEYNES J., 1863: Essai d'une Flore mycologique de la région de Montpellier et du Gard. éd. Baillièrre Paris.

- FAYOD V., 1889: Prodrome d'une histoire naturelle des Agaricinés. Ann. Sci. Nat. Bot. VII: 9, 181-441.
- FÜRNROHR A.E., 1850: Verhandlungen der Section für Botanik, Land- und Forstwissenschaft bei der XXVII Versammlung deutscher Naturforscher und Aerzte in Greifswald. Flora 8: 641-653.
- GERLACH D., 1969: Botanische Mikrotechnik. G. Thieme Verlag, Stuttgart.
- GLUCHOFF-FIASSON K., 1979: Contribution à la chimiotaxonomie des Hyménomycètes: Pigments des *Tricholomataceae* et *Strophariaceae*. These, Lyon 216 p.
- GLUCHOFF-FIASSON K., DAVID A., & DEQUATRE B., 1983: Contribution à l'étude des affinités entre *Heterobasidion annosum* (Fr.) Bres. et les *Bondarzewiaceae*. Cryptog. Mycol. 4: 135-145.
- HEIM R., 1931: Le genre *Inocybe*. Encyclopédie mycologique I. Lechevalier, Paris.
- KRAUTER D., 1954: Mikroskopie im Alltag. Franckh'sche Verlagshandlung, Stuttgart.
- KÜHNER R., 1938: Le genre *Mycena*. Encyclopédie mycologique vol. X. Lechevalier, Paris.
- MAIRE R., 1902: Recherches cytologiques et taxonomiques sur les Basidiomycètes. Bull. Soc. Mycol. France 18: 1-209.
- MASSEE G., 1887: On the differentiation of Tissues in Fungi. Trans. Roy. Microscop. Soc. 1887: 205-208.
- MOLISCH H., 1923: Mikrochemie der Pflanze. 3 Auflage. G. Fischer, Jena.
- OEHM G., 1931: Die Saftleitung bei *Lentinus squamosus* (Schaeff.) Fr. und *L. squ. f. suffrutescens* Brot. Arch. Protistenk. 74: 121-147.
- PIESCHEL E., 1924: Ueber die Transpiration und Wasserversorgung der *Hymenomyceten*. Bot. Archiv 8: 64-104.
- ROMAGNESI H., 1944: La Cystide chez les Agaricacées. Suppl. Rev. Mycol. 9: 4-21.
- ROMEIS B., 1968: Mikroskopische Technik. Oldenburg Verlag, München, Wien.
- SANDOR R., 1956: Neue Farbreaktionen und Färbungen an frischen Blätterpilzen und Röhrlingen. Z. Pilzk. 22: 97-103.
- SANDOR R., 1957: Neue Farbreaktionen und Färbungen an frischen Blätterpilzen und Röhrlingen. II. Teil. Z. Pilzk. 23: 33-37.
- SINGER R., 1945: The *Laschia*-Complex (Basidiomycetes). Lloydia 8: 170-230.
- SINGER R., 1962: The Agaricales in Modern Taxonomy. Aufl. 2, Cramer Vaduz.
- SINGER R., 1986: The Agaricales in Modern Taxonomy. Aufl. 4, Koelz.

SINGER R., 1990: Agaricales new for Mexico or Central America. *Anales Inst. Biol. Univ. Nac. Autón. México, Ser. Bot.* 60(1): 27-36.

STERNER O., BERGMAN R., KIHLEBERG J. & WICKBERG B., 1985: The sesquiterpenes of *Lactarius vellereus* and their role in a proposed chemical defense system. *J. Nat. Prod.* 48: 279-288.

STRASBURGER E., 1919: *Das kleine botanische Praktikum*. Achte Aufl., bearbeitet von M. Koernicke. G. Fischer Jena.

TALBOT P.H.B., 1954: Micromorphology of the lower Hymenomycetes. *Bothalia* 6: 249-299.

WEISS A., 1885: Ueber gegliederte Milchsaftgefäße im Fruchtkörper von *Lactarius deliciosus*. *Sitzungsber. Math.-naturwiss. Classe kais. Akad. Wissensch.* 91(1):166-202.

WERNER F.C., 1972: *Wortelemente lateinisch-griechischer Fachausdrücke in der biologischen Wissenschaften*. Suhrkamp.

Fig. 10-12 : Trombopler e deuteroplasma con colori naturali.

10: Metà gambo di *Mycena inclinata*, bruno pallido in KOH al 5 %. - 11: Base del gambo di *Mycena inclinata* bruno rossastro in KOH al 5 %. - 12: Deuteroplasma del gambo lacerato trasversalmente attraverso la crescita delle ife che lo circondano, giallo a causa del antrachinoide in H₂O.