

DAS METALLBINDUNGS-VERMÖGEN DER LYOPHYLLUM-GRANULATION *

von

H. Clémenton, Lausanne

Bei der Untersuchung der Basidien von *Lyophyllum urbanense* wurde entdeckt, daß die siderophile Granulation die Fähigkeit besitzt, außer Eisen noch Titanium, Zirkonium, Thorium, Kupfer und Blei genügend fest zu binden, daß diese auch nach längerem Auswaschen cytochemisch in den Granen nachgewiesen werden können (Clémenton 1967).

Es wird im folgenden dargestellt, daß das Bindungsvermögen der *Lyophyllum*-Granulation nicht auf diese sechs Metalle beschränkt ist, und daß im Periodischen System der Elemente die von der Granulation gebundenen Metalle deutliche Gruppen bilden.

Material und Methoden

Die Untersuchungen wurden an folgenden, in den USA gesammelten Arten durchgeführt:

| Gattung und Art: | Kollektion Nr. |
|--|----------------|
| <i>Lyophyllum decastes</i> (Fr.) Sing | 670628 D |
| <i>L. decastes</i> (Fr.) Sing. | 670711 E |
| <i>L. leucopaxilloides</i> (Bigelow et Smith) Clç. | 670724 C |
| <i>L. urbanense</i> Smith et Clç. | 661101 |
| <i>L. spec.</i> (<i>semitale</i> -Gruppe) | 670624 |
| <i>Tephrocycbe carbonaria</i> (Vel.) Donk | 671125 A |
| <i>T. palustris</i> (Peck) Donk | 670626 B |
| <i>T. spec.</i> (<i>atrata</i> -Gruppe) | 670625 B |
| <i>Calocybe naucoria</i> (Murr.) Sing. | 670804 A |

Lichtmikroskopische Untersuchungen:

Die Pilze wurden in Formol-Alkohol-Essigsäure fixiert, mit Alkohol entwässert und über Terpeneol in Paraffin eingebettet. Die auf Objektträgern aufgezogenen, entparaffinierten und gewässerten Schnitte wurden während 20 - 30 Minuten mit einer entsprechenden Metallsalzlösung von 1 - 2% in destilliertem Wasser gebeizt, mehrmals ausgewaschen und anschließend das

* Mit Unterstützung der Amerikanischen National Science Foundation, Grant GB 6464.

gebundene Metall durch eine Reaktion sichtbar gemacht. Die so behandelten Schnitte wurden durch Alkohol und Xylol geführt und in Caedax eingeschlossen. Abweichungen von diesem Schema werden an Ort und Stelle angeführt.

Für den Nachweis der gebundenen Metalle wurden folgende Reaktionen verwendet:

Acetocarmin (AC): Die gebeizten und gewaschenen Schnitte wurden während 10 Minuten in heiße Karminessigsäure im kochenden Wasserbad eingetaucht und anschließend mit kalter Essigsäure gewaschen. AC eignet sich zum Nachweis der folgenden Metalle, mit denen es dunkle, unlösliche Komplexe bildet: Titanium, Zirkonium, Hafnium, Thorium, Eisen, Kupfer, Blei und Vanadium. Beispiel: Fig. 1.

Haematoxylin (Hx): Die gebeizten und gewaschenen Schnitte wurden während 30 - 60 Minuten in eine 0,5% Lösung von Haematoxylin gebracht, die man sich durch Verdünnen einer gereiften Stammlösung hergestellt hat. Anschließend wurde mit Leitungswasser gespült. Durch ihre dunklen Haematoxylin-Komplexe lassen sich folgende Metalle nachweisen: Hafnium, Uran, Eisen, Osmium, Kupfer, Zinn, Antimon und das Halbmetall Arsen. Beispiel: Fig. 2.

Natriumsulfid-Fällung (S^{''}): Die gebeizten und gewaschenen Schnitte wurden während 10 Minuten in eine 1%ige wässrige Lösung von Natriumsulfid gebracht und anschließend gespült. Folgende Metalle lassen sich durch ihre unlöslichen Sulfide nachweisen: Chrom, Eisen (zweiwertiges und dreiwertiges), Osmium, Cobalt (zwei- und dreiwertiges), Nickel, Silber, Zinn, Cadmium, Quecksilber, Thallium, Blei und Wismut. Beispiel: Fig. 3.

Kaliumferrocyanid (KFC): Die gewaschenen Schnitte wurden für 10 - 15 Minuten in eine 1%ige, mit HCl leicht angesäuerte Lösung von Kaliumferrocyanid gebracht. Eisen, Cobalt und Kupfer lassen sich so durch ihre dunklen und unlöslichen Komplexe nachweisen. Beispiel: Fig. 4.

Direkte Beobachtung im Lichtmikroskop (LM): Das verwendete Salz des Rutheniums, bekannt unter dem Namen Rutheniumrot, weist eine so starke Eigenfärbung auf, daß auf eine Sichtbarmachung mittels einer Reaktion verzichtet werden kann. Die Schnitte wurden in einer 0,05 - 0,1%igen Lösung während 10 - 20 Sekunden gefärbt. In solch schwacher Lösung und bei solch kurzen Zeiten färben sich nur die siderophilen Grana.

Elektronenmikroskopische Methoden:

Fragmente der Lamellen wurden mit 1% Lithiumpermanganatlösung fixiert, mit Aceton entwässert und in Epon eingebettet (Cléménçon 1967). Die auf

den Objektnetzchen aufgezogenen Schnitte wurden während 20 - 30 Minuten auf 1%igen Lösungen der Metallsalze schwimmen gelassen und anschließend mit destilliertem Wasser gut gespült. Die Verteilung der Metalle in den Schnitten wurde mit dem Elektronenmikroskop in direkter Beobachtung festgestellt und photographiert.

Mit den meisten Metallen läßt sich eine allgemeine Kontrastierung des Cytoplasmas erreichen; also werden die meisten Metalle von den Zellproteinen komplexiert. Bei den hier als positiv bezeichneten Metallen aber kommt es zu einer auffallenden Anhäufung in den Granen, so daß diese bevorzugt dargestellt werden. Dies entspricht einer starken Affinität der Granumproteine für diese Metalle. Beispiele: Fig. 5 - 8.

Resultate.

Einen Überblick gibt die Figur 9. Daraus geht hervor, daß von den 30 geprüften Elementen deren 16 von der Lyophyllum-Granulation bevorzugt gebunden werden. Diese bilden im Periodischen System drei Gruppen, zwischen denen allerdings einzelne positive Metalle vorkommen. Da die chemischen Eigenschaften der drei Gruppen stark voneinander abweichen, werden sie wahrscheinlich drei verschiedenen Komplexierungs-Mechanismen mit dem oder den Proteinen der Granulation entsprechen.

Die Titaniumgruppe (Titanium, Zirkonium, Hafnium, Thorium) weist ausnahmslos stark positive Metalle auf, die auch chemisch eine Einheit darstellen, handelt es sich doch um die gesamte vierte Nebengruppe (IV B) des Periodischen Systems.

Zinn und Blei, die metallischen Glieder der vierten Hauptgruppe (IV A) sind ebenfalls stark positiv. Leider konnte das Germanium nicht geprüft werden, aber es ist wohl damit zu rechnen, daß die gesamte vierte Gruppe (natürlich mit Ausnahme der nichtmetallischen Glieder Kohlenstoff und Silicium) positiv ist.

Die Eisen-Platin-Gruppe (VIII) kann hier nicht in die üblichen Untergruppen Eisen-Cobalt-Nickel und die Platinmetalle getrennt werden. Vielmehr müssen die Anfangsglieder der vierten, fünften und sechsten Periode der Gruppe VIII (also Eisen, Ruthenium und Osmium) von den Endgliedern (Nickel, Palladium, Platin) getrennt werden. Erstere sind stark komplexierend mit den Granaproteinen, letztere nicht. Cobalt verhält sich wie Eisen, was auch der allgemeinen Chemie dieser Metalle entspricht. Mit der Sulfidfällung kann nachgewiesen werden, daß sowohl die zweiwertigen, wie auch die dreiwertigen Eisen- und Cobaltionen gebunden werden, letztere aber deutlich stärker. Daß das Nickel innerhalb der Eisengruppe negativ ist, überrascht zunächst,

bestätigt jedoch eine Erfahrung der Chemiker, daß sich das Nickel oft anders verhält, als man es seiner Stellung gemäß erwartet.

Die Wismutgruppe umfaßt die halbmetallischen oder ganzmetallischen Glieder der fünften Hauptgruppe (V A): Arsen, Antimon und Wismut. Arsen wird am schwächsten, Wismut am stärksten gebunden. Letzteres kann sogar im Elektronenmikroskop als spezifisches Kontrastmittel für die Lyophyllum-Granulation dienen (Fig. 6).

Aufgrund der Elektronenkonfigurationen und einiger chemischer Eigenschaften ist es zulässig, Zinn und Blei der Wismutgruppe anzuschließen, wie dies in Figur 9 getan wurde. Auf diese Weise kommen die drei Gruppen mit den sehr verschiedenen Eigenschaften besser zur Geltung, und das Periodische System der Elemente präsentiert sich in der üblichen Weise.

Zwischen der Titaniumgruppe und der Eisen-Platin-Gruppe liegt die *Molybdängruppe* mit positiven Gliedern (Molybdän und Uran) und negativen Gliedern (Chrom und Wolfram).

Molybdän und Wolfram sind einander so ähnlich, daß der Unterschied im Verhalten gegenüber den Granen sehr auffällt und überrascht. Dies ist umso erstaunlicher, als Uran wiederum stark positiv ist. Für das unterschiedliche Verhalten von Molybdän und Wolfram kann keine Erklärung gegeben werden, und der Fall verdient besondere Bearbeitung. Allerdings kann angeführt werden, daß Molybdän in biologischen Systemen recht verbreitet ist, Wolfram biologisch unbedeutend ist. Vielleicht besteht da ein Zusammenhang mit unseren Befunden.

Das in die gleiche Gruppe gehörende Chrom ist vielleicht nicht so sehr verschieden, da es sich in diesem Falle lediglich um eine Frage der Reaktionsgeschwindigkeit handeln könnte. Es ist bekannt, daß Chrom in vielen Fällen sehr langsam reagiert, so daß 30 Minuten Beizung wohl nicht genügen. Es sollte vielleicht während Tagen oder gar Wochen gebeizt werden.

Die Goldgruppe verhält sich im Allgemeinen negativ zu den Granen, mit Ausnahme des Kupfers, welches auch in der allgemeinen Chemie deutlich von den Edelmetallen verschieden ist. Gold und Silber passen in unseren Versuchen sehr gut in den Block der nicht reagierenden Metalle.

Die Benennung der Lyophyllum-Granulation

Da die Lyophyllum-Granulation durch das Karminessigsäureverfahren entdeckt worden war, wurde sie ursprünglich als "karminophil" bezeichnet (Kühner 1938). Später wurde aber gezeigt, daß Karmin keine Affinität zu den Granen besitzt, sondern lediglich ein Mittel zur Sichtbarmachung des

gebundenen Eisens darstellt (Cléménçon 1967). Ein Vorschlag, diese Granulation "siderophil" zu nennen, sei hier wiederholt und begründet.

In Anbetracht der großen Anzahl der positiven Metalle könnte auch an "metallophil" gedacht werden. Diese Bezeichnung wäre aber sprachlich als auch inhaltlich falsch: das griechische "metallein" bedeutet suchen, "metallon" das Gesuchte oder Gefundene. Auch wenn Metall im modernen Sinn verstanden würde, wäre die Bezeichnung falsch, denn erstens sind ja nicht alle Metalle positiv, und zweitens ist Arsen kein Metall. So wurde denn das Eisen (gr. sideros) als ursprünglich verwendetes Element gewählt und die Bezeichnung nach ihm gerichtet.

Noch unveröffentlichte Untersuchungen zeigten, daß verschiedene Typen siderophiler Grana bestehen, die nach ihrem Vorkommen benannt werden können, z. B. *Lyophyllum*-Granulation.

Literatur

CLEMENCON, H. (1967) - Beiträge zur Kenntnis der Gattungen *Lyophyllum* und *Calocybe*. II. Cytochemie und Feinstruktur der Basidie von *Lyophyllum urbanense* spec. nov. *Nova Hedwigia* 14, 127 - 142.

KÜHNER, R. (1938) - Utilisation du carmin acétique dans la classification des Agarics leucosporés. *Bull. Soc. Linn. Lyon* 7, 204 - 211.

Abgeschlossen am 11. Februar 1969.

| | IVB | VB | VIB | VIIB | VIII | IB | IIIB | IIIA | IVA | VA |
|---|---------------------|---------|--------------|----------|-------------------------|----------------|-------------|----------------------|-------------|---------------------|
| 4 | (Ti) AC | V AC | Cr S" | Mn EM | (Fe) AC Hx S" KFC | (Co) S" KFC | Ni S" EM | (Cu) AC Hx KFC | Zn S" | (As) Hx |
| 5 | (Zr) AC EM | | (Mo) EM | | (Ru) LM EM | | Pd EM | Ag S" EM | Cd S" | (Sb) Hx EM |
| 6 | (Hf) AC Hx EM | | W EM | | (Os) Hx S" EM | | Pt EM | Au EM | Hg S" EM | (Bi) S" EM |
| 7 | (Th) AC EM | | (U) Hx EM | | | | | | | (Pb) AC S" EM |

Eingekreist: Komplexierende Elemente

Nicht eingekreist: Nicht komplexierende Elemente

Leere Felder: Nicht untersuchte Elemente

Erklärung der Abkürzungen der angewendeten Techniken:

- AC Acetocerin, nach Beizung mit dem entsprechenden Element und folgender Auswaschung
- EM Direkte Beobachtung im Elektronenmikroskop
- Hx Haematoxylin, nach Beizung mit dem entsprechenden Element und folgender Auswaschung
- KFC Sichtbarmachung des gebundenen Metalles durch Kaliumferrocyanid-Lösung
- LM Direkte Beobachtung im Lichtmikroskop
- S" Sichtbarmachung des gebundenen Metalles durch Natriumsulfid-Lösung

Fig 9 - Zentralteil des Periodischen Systemes der Elemente, Übersicht über die Versuche.

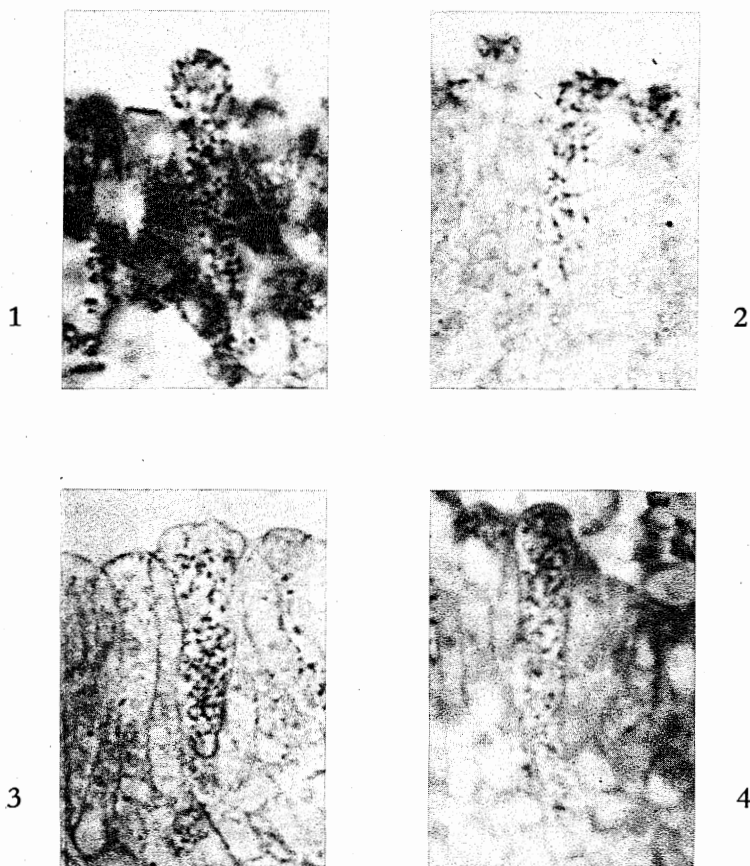


Fig. 1-4 - *Tephrocybe carbonaria* siderophile Granulation, Lichtmikroskop, 1500:1. Dargestellt mit: 1: Karminessigsäure nach Beizung mit Titanium 2: Haematoxylin nach Beizung mit Osmium 3: Sulfidfällung nach Beizung mit Wismut 4: Kaliumferrocyanid nach Beizung mit Eisen

Fig. 5 - 8 - *Lyophyllum decastes*, siderophile Granulation, Elektronenmikroskop 25000:1, dargestellt mit: 5: Zirkonium 6: Wismut 7: Hafnium 8: Molybdän

