

Zur Kenntnis der *Hygrocyben* Pigmente*

A. BRESINSKY und I. KRONAWITTER

Botanisches Institut der Universität Regensburg,
Universitätsstraße 31, 8400 Regensburg

Eingegangen am 10.6.1986

Bresinsky, A. & I. Kronawitter (1986): A contribution to the knowledge of the pigments of *Hygrocybe*. Z. Mykol. 52(2): 321–334.

Key Words: Pigments, muscaflavine, hygroaurines, *Hygrophoraceae*, *Hygrocybe*.

Abstract: Water-soluble yellow pigments of the genus *Hygrocybe* (*Agaricales*) were separated chromatographically and documented in elution diagrams. The pigments of *Hygrocybe* species from different collections out of various localities were examined for constancy within individual species and for differences among related taxa. Muscaflavine was found in 42 of the 53 species studied. The hygroaurines which had been shown by other authors to be connected with muscaflavine were subjected to an indirect structure analysis of their amino acid content. The suspected combination of threonine with one of the hygroaurines was confirmed directly.

Zusammenfassung: Die wasserlöslichen gelben Pigmente der Gattung *Hygrocybe* (*Agaricales*) wurden mittels Säulenchromatographie getrennt und als Elutionsdiagramme abgebildet. Die Pigmentierung einzelner *Hygrocybe*-Arten wird auf die Konstanz innerhalb verschiedener Kollektionen einer Art sowie auf sippenspezifische Unterschiede untersucht. In 42 von 53 bearbeiteten Arten wurde Muscaflavin gefunden. Die zusammen mit Muscaflavin auftretenden Hygroaurine werden nach den bereits von anderen Autoren veröffentlichten Strukturvorstellungen (als Schiffische Base aus Muscaflavin und jeweils einer Aminosäure) auf die beteiligten Aminosäuren einer indirekten Strukturanalyse unterworfen. Das hierbei u. a. vermutete Vorkommen von Threonin-Hygroaurin konnte durch direkte Aminosäureanalyse weitgehend bestätigt werden.

Die leuchtend gelben und roten Farben der Saftlinge (Arten der Gattung *Hygrocybe*) haben bereits öfters das Interesse von Mykologen und Chemikern auf sich gezogen. v. Ardenne & al. (1974) wiesen in *Hygrocyben* gelbes Muscaflavin nach und klärten dessen Struktur auf. Die Verbindung war zuvor aus *Amanita muscaria* isoliert worden (Döpp & Musso 1973a). Besl & al. (1975) fanden Muscaflavin bei einer größeren Zahl von rot und gelb gefärbten *Hygrocybe*-Arten und glaubten auch bei einigen Spezies der Gattung *Hygrophorus*, sect. *Discoidea* (*H. lucorum*, *hypothejus* und *speciosus*) einen entsprechenden Nachweis erbracht zu haben. Schrödl (1975) und Cibulla (1976) haben sich mit Pigmentmustern bei *Hygrocybe* beschäftigt. Weitere chemische Untersuchungen an *Hygrophoraceen* erfolgten durch Fugmann (1985).

* Bericht über Teilaspekte einer von I. Kronawitter gefertigten Doktorarbeit (Diss. Regensburg, 1984), die vom Erstautor dieses Beitrags angeleitet wurde.

Bei der Auftrennung der wasserlöslichen Pigmente von gelben und orangeroten *Hygrocyben* erhielten v. A r d e n n e & al. (1974) außer Muscaflavin ($\lambda_{\max} = 420 \text{ nm}$) auch drei goldgelbe Fraktionen (Hygroaurine; $\lambda_{\max} = 465 \text{ nm}$), die bei Behandlung mit 0,6 n NH_4OH (20 min Raumtemperatur) ein mit dem von Muscaflavin übereinstimmendes Absorptionsmaximum bei $\lambda_{\max} = 420 \text{ nm}$ zeigten. Bei Veresterung mit Diazomethan lieferten diese Fraktionen Muscaflavin-dimethylester.

Hingegen ließ sich bei den oben genannten *Amanita*-Arten in den gelb gefärbten Fraktionen des wäßrigen Pigmentextraktes nach entsprechender Behandlung Betalaminsäure-dimethylester nachweisen (D ö p p & M u s s o , 1973b). Daraus konnte geschlossen werden, daß bei den *Hygrocyben* Betalaminsäure als Komponente der gelben Pigmente fehlt im Gegensatz zu den entsprechend gefärbten *Amanita*-Arten. Es lag daher die Vermutung nahe, daß ähnlich wie die Betalaminsäure in den Betalainen der *Amanita*-Arten in den *Hygrocybe*-Arten das Muscaflavin mit Aminosäuren verbunden ist.

Ohne im Detail die Doktorarbeit von K r o n a w i t t e r (1984) zu referieren – eine ausführliche Darstellung aller Ergebnisse soll in einer von der Autorin seit längerer Zeit angestrebten Veröffentlichung geschehen –, sei hier doch auf die wichtigsten Befunde zur Pigmentchemie der Gattung *Hygrocybe* eingegangen. An den Arbeiten war durch weiterführende Hinweise Prof. Dr. W. Steglich, Bonn, und durch Ausführung von Aminosäure-Analysen (im Labor von Prof. Steglich) mein Mitarbeiter H. Kemmer beteiligt. Herr Besl half mit vielerlei Ratschlägen. Allen Helfern sei hiermit der beste Dank ausgesprochen.

Material und Methoden

Die angewandten Methoden und das benützte Material sind ausführlich in der Dissertation von K r o n a w i t t e r (1984) beschrieben. Für die Untersuchung erwiesen sich tiefgefrorene oder in Alkohol eingelegte Pilze als brauchbar. Die Auftrennung der Pigmente erfolgte mittels Gradienten-Ionenaustauschchromatographie nach der Methode von D ö p p & M u s s o (1973a, 1974); sie wurde in einer mit DEAE-Sephadex A-25 gefüllten Säule (30 x 1 cm) mittels wäßriger Kochsalzlösung bei linear ansteigendem Kochsalzgradienten (0,3 bis 1,0 m) vorgenommen. Auf die Säule wurde 100 % (gelbe Arten) oder 25 % (rote Arten; diese enthalten gegenüber den gelben Spezies eine deutlich höhere Konzentration an gelben Pigmenten; der rote Farbeindruck kommt hier durch Überlagerung mit einem roten Pigment zustande) der Extraktmenge gegeben, die einer aus 1 g Frischpilz gewonnenen entsprach. Hierzu wurden die Pigmente mit wäßrigem Methanol durch mehrmaliges Wechseln der Lösung so lange extrahiert, bis die Fruchtkörper hellfarben (z. B. cremefarben) waren; lediglich die Fruchtkörper der schwärzenden Arten blieben nach der Extraktion intensiv schwarz.

Das Filtrat des Rohextraktes wurde im Rotationsverdampfer (Wassertemperatur 20–25 °C) völlig eingedampft; der Rückstand dann in wenig Wasser aufgenommen, die dabei entstehende farbige Lösung durch Dekantieren vom Rückstand getrennt und 3–5mal mit Petroläther (40–60 °C) ausgeschüttelt. Die gefärbte wäßrige Phase wurde am Rotationsverdampfer erneut zur Trockene eingedampft und der Rückstand tiefgekühlt aufbewahrt. Für die Säulenchromatographie wurde der Rückstand in wenig Wasser aufgenommen, über Filterwatte gereinigt, um dann auf die Säule in der oben angegebenen Menge aufgetragen zu werden. Für die während der Chromatographie eluierten Pigmentfraktionen wurde jeweils die Absorption (bei $\lambda = 465 \text{ nm}$) mittels eines Schreibers kontinuierlich aufgezeichnet (Elutionsdiagramm). Um die eluierten Pigmentfraktionen verschiedener Trennvorgänge miteinander vergleichen zu können, wurde die Elutionszeit von Muscaflavin als $R_M = 1$ festgesetzt und alle anderen (davor) eluierten Pigmentfraktionen auf diesen Wert bezogen. Ein Pigment mit $R_M = 0,50$ würde also in der halben Zeit gegenüber der Zeit von Muscaflavin eluiert. Durch Planimetrie der Gipfflächen des Elutionsdiagrammes und durch jeweiligen rechnerischen Bezug auf den Muscaflavin-Wert wurden F_{rel} -Werte erhalten. Diese F_{rel} -Werte geben an, wie groß bei einem Auftrennungsvorgang die relativen Mengen der einzelnen Pigmentfraktionen (Hygroaurine) im Vergleich zum Muscaflavin sind (vgl. R_M/F_{rel} -Diagramme Abb. 1–4).

Für die indirekte Strukturaufklärung der Hygroaurine wurde Säulenchromatographie wie oben beschrieben angewendet. Zusätzlich wurde zur Bestimmung der Aminosäuren ein Aminosäure-Analysator (Biotronic LC 6000 E) eingesetzt. Zur Bestimmung der freien Aminosäuren wurden getrocknete *Hygrocyben* zerkleinert und mit heißem Wasser extrahiert. Die Lösung wurde filtriert und eingedampft

und der Rückstand durch Säulenchromatographie (Sorptionsmittel: Kationenaustauscher Dowex 50 W; Elutionsmittel: Wasser/Ammoniak in verschiedenen Konzentrationen) aufgetrennt. Die Ammoniak-Fractionen wurden vereinigt und eingedampft; der Rückstand in Verdünnungspuffer gelöst. Die Bestimmung der Aminosäuren erfolgte durch Vergleich der Testlösung mit einer 17 häufige Aminosäuren enthaltenden Eichlösung. Für die Bestimmung von Threonin-Hygroaurin wurde die Pigmentfraktion bei $R_M = 0,58$ von *H. obrussea* isoliert und über Sephadex G-10 in Wasser entsalzt, bis der Chlorid-nachweis negativ war. Um das Hygroaurin möglichst rein zu erhalten, wurde jeweils nur der zentrale Abschnitt der Pigmentzone aufgefangen und weiterverarbeitet. Die gereinigte Pigmentlösung wurde vorsichtig bis zur Trockene eingedampft, der Rückstand mit 0,6 n NH_4OH (30 Minuten bei Raumtemperatur) hydrolysiert und mit einem Aminosäure-Analysator untersucht.

Die in dieser Arbeit erwähnten Arten der Gattungen *Hygrocybe*, *Hygrophorus* und *Humidicutis* gehen aus der folgenden Zusammenstellung hervor. Sie lassen sich aufgrund ihrer Pigmentierung und anderer Merkmale in Gruppen zusammenfassen, die sich teilweise mit Sektionen und Untersektionen decken. Soweit für solche taxonomische Kategorien Namen verfügbar sind, werden sie den Gruppen in Klammern beigelegt.

Hygrocybe Kummer

1.0 Gruppe um *H. psittacina* (Sectio Psittacinae Bat.):

- H. psittacina* (Schff. ex Fr.) Wünsche
- H. sciophana* (Fr.) Karst.
- H. laeta* (Pers. ex Fr.) Kummer
- H. irrigata* (Pers. ex Fr.) Bon
- H. unguinosa* (Herink) Sing.

2.0 Gruppe um *H. lilacina*:

- H. lilacina* (Laest.) Mos.
- H. xanthochroa* (P. D. Orton) Mos.

3.0 Gruppe um *H. ingrata* (Sectio Olidae Bat.):

- H. ingrata* Jens & Moell.
- H. murinacea* (Fr.) Mos.
- H. ovina* (Bull. ex Fr.) Kühn.
- H. fornicata* (Fr.) Sing.

4.0 Gruppe um *H. calyptraeformis*:

- H. calyptraeformis* (Bk. & Br.) Fay. als einzige Art der Gruppe

5.0 Gruppe um *H. conica* (Sectio Hygrocybe):

5.1 Untergruppe mit *H. conica* (Subsectio Conicae Fay. pr. p.):

- H. conica* (Scop. ex Fr.) Kummer
- H. nigrescens* (Quél.) Kühn.
- H. olivaceonigra* (P. D. Orton) Mos.
- H. tristis* (Pers.) Moell.
- H. conicoides* (P. D. Orton) Ort. & Watl.
- H. riparia* Kreisel
- H. conico-palustris* R. Haller

5.2 Untergruppe mit *H. acutoconica*:

- H. acutoconica* (Clements) Sing.
- H. subglobispora* (P. D. Orton) Mos.

5.3 Untergruppe mit *H. chlorophana*:

- H. chlorophana* (Fr.) Karst.
- H. flavescens* (Kauffm.) Sing.

5.4 Untergruppe mit *H. obrussea*:

- H. obrussea* (Fr.) Wünsche
- H. konradii* R. Haller
- H. spadicea* (Scop. ex Fr.) Karst.

5.5 Untergruppe mit *H. citrinovirens*:

- H. citrinovirens* (Lge.) J. Schff.
- H. brevispora* Moell.

5.6 Untergruppe mit *H. intermedia*:

- H. intermedia* (Pass.) Fay. als einzige Art

6.0 Gruppe um *H. coccinea* (Sectio Coccineae Fay.):

6.1 Untergruppe mit *H. coccinea*:

- H. coccinea* (Schaeff. ex Fr.) Kummer
- H. splendidissima* (P. D. Orton) Mos.
- H. punicea* (Fr.) Kummer
- H. aurantiosplendens* R. Haller
- H. strangulata* (P. D. Orton) Svr.
- H. substrangulata* (P. D. Orton) Mos.

6.2 Untergruppe mit *H. marchii*:

- H. marchii* Bres.
- H. quieta* (Kühn.) Sing.

6.3 Untergruppe mit *H. reidii*:

- H. reidii* Kühn.
- H. parvula* (Peck.) Murr.

6.4 Untergruppe mit *H. reai*:

- H. reai* R. Mre.
- H. mucronella* (Fr.) Karst.
- H. insipida* (Lge. ex Lundell) Mos.
- H. subminutula* Murr.

6.5 Untergruppe mit *H. citrina*:

- H. citrina* (Rea) Lge.
- H. glutinipes* (Lge.) Orton
- H. vitellina* (Fr.) Karst.
- H. ceracea* (Wulf. ex Fr.) Karst.

6.6 Untergruppe mit *H. miniata*
(Subsectio Squamulosi Bat.):

H. miniata (Fr.) Kummer
H. turunda (Fr. ex Fr.) Karst.

H. coccineocrenata (Orton) Mos.
H. helobia (Arnolds) Bon
H. cantharellus (Schw.) Murr.

Hygrophorus Fr.

1.0 Gruppe um *H. hypothejus* (Sectio Discoidei
Bat. pr. p.):

H. hypothejus (Fr.) Fr.
H. lucorum Kalchbr.
H. speciosus Peck

2.0 Gruppe um *H. appalachianensis*
H. appalachianensis Hesler & Smith

Humidicutis (Sing.) Sing.

H. marginata (Peck) Sing.

Belegmaterial zu den untersuchten Arten befindet sich in der Botanischen Staatssammlung München (M).

Trennung und Elutionsmuster gelber *Hygrocybe*-pigmente

Bei der Trennung der wasserlöslichen gelben Pigmentextrakte verschiedener Arten von *Hygrocybe* durch Säulenchromatographie wurden außer einer am Schluß auftretenden Muscaflavin-Fraktion etwa 10 und mehr Fraktionen eluiert, die den Hygroaurinen entsprechen. Solche Pigmente besitzen auch die rein rot gefärbten Arten. Die sich ergebenden Elutionsmuster bilden bei den einzelnen Arten von *Hygrocybe* weitgehend artkonstante Muster. Auch nahverwandte Arten verfügen oft über eine qualitativ ziemlich ähnliche Ausstattung an wasserlöslichen gelben Pigmenten. Allerdings sind bisweilen meist geringfügige quantitative Unterschiede zwischen mehreren Kollektionen einer Art bzw. nahverwandten Arten festzustellen. Qualitative Unterschiede weisen auf eine stärkere Sippendifferenzierung auf dem Niveau verschiedener Arten oder Sektionen hin. Um dies zu verdeutlichen, seien 5 überwiegend rot gefärbte Arten herausgegriffen, innerhalb derer *Hygrocybe intermedia* relativ isoliert steht. *Hygrocybe punicea* und *H. aurantiosplendens* sowie *Hygrocybe splendidissima* und *H. coccinea* bilden eine Gruppe enger verwandter Arten, wobei *H. punicea* und *H. aurantiosplendens* einerseits und *H. splendidissima* und *H. coccinea* andererseits sich jeweils sehr nahe stehen.

Hygrocybe intermedia verfügt gegenüber *Hygrocybe punicea*, *aurantiosplendens*, *splendidissima* und *coccinea* über ein eigenes Hygroaurin mit dem R_M -Wert 0,65–0,68 (vgl. Abb. 1–4); die Art ist aber auch durch weitere Hygroaurine von den genannten *Hygrocyben* verschieden, gegenüber *H. punicea* z. B. durch Hygroaurine bei $R_M = 0,70$ – $0,72$ und $R_M = 0,43$ – $0,45$. *Hygrocybe punicea* ist gegenüber *H. aurantiosplendens* verschieden in Hygroaurinen bei $R_M = 0,91$ – $0,92$; $0,82$ – $0,85$; $0,76$ – $0,77$; $0,67$ – $0,70$. Umgekehrt besitzt letztere Art ein Hygroaurin bei $R_M = 0,43$ – $0,46$, welches ersterer fehlt. *Hygrocybe splendidissima* und *H. coccinea* sind hinsichtlich des Elutionsmusters der Hygroaurine praktisch identisch; in beiden Fällen treten auch quantitative Übereinstimmungen auf, etwa derart, daß die Hygroaurine bei $R_M = 0,55$ – $0,60$ und $R_M = 0,31$ – $0,34$ vergleichsweise hohe Elutionsmengen ergeben.

Der Vergleich europäischer und nordamerikanischer Kollektionen von *Hygrocybe splendidissima* ergab ebenfalls eine qualitative Übereinstimmung und auffallende Ähnlichkeiten hinsichtlich der Elutionsmengen; auch hier dominieren wieder in beiden Fällen die

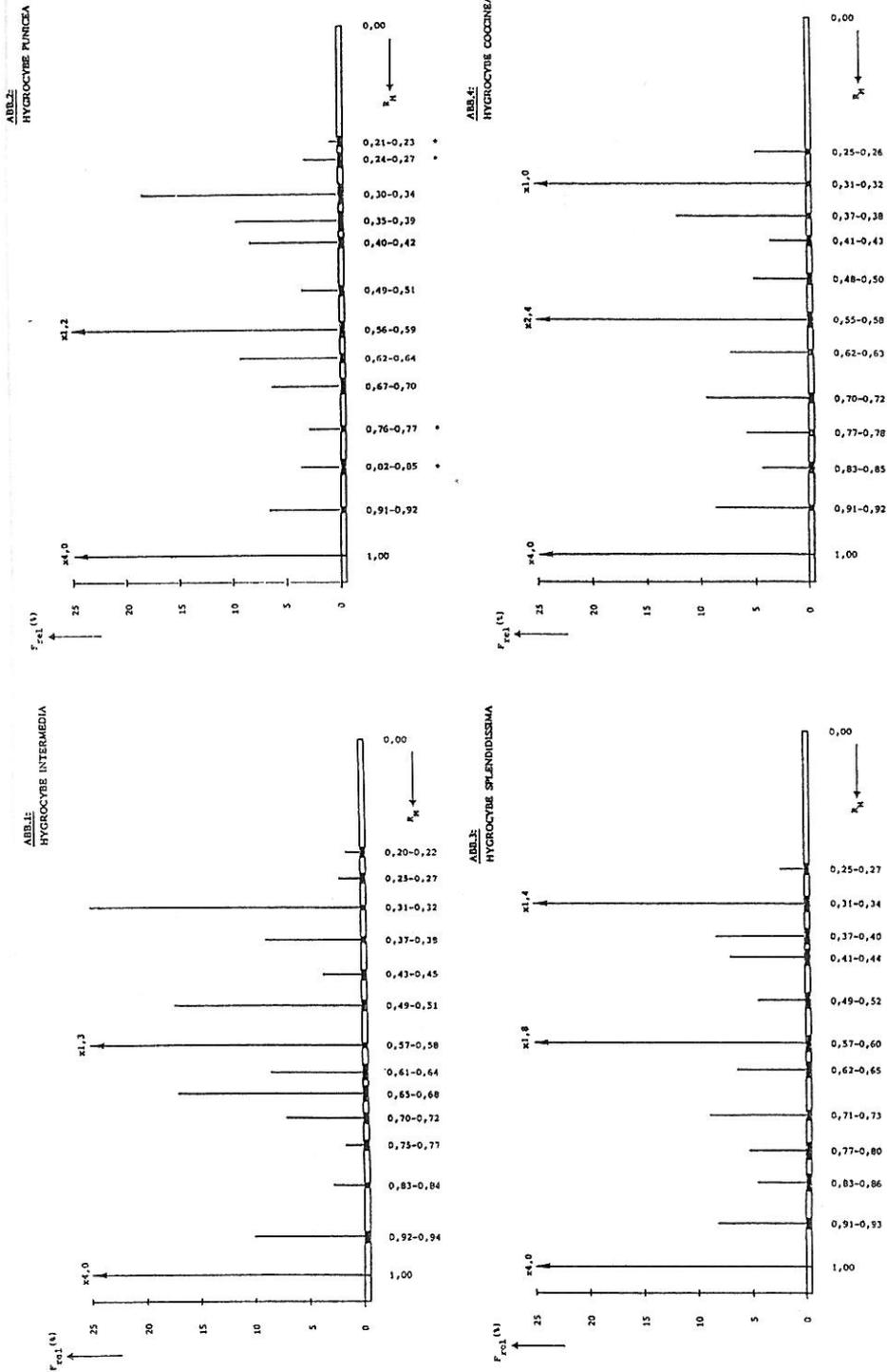


Abb. 1-4: Elutionsdiagramme der gelben wasserlöslichen Pigmente verschiedener Arten von *Hygrocybe*. Muscaflavin mit $R_M = 1$ und $F_{rel} = 100\%$ als Standard festgelegt, auf den sich alle anderen Pigmentfraktionen hinsichtlich ihrer F_{rel} -Werte und R_M -Werte beziehen. 25% übersteigende F_{rel} -Werte sind mit einem Faktor versehen, aus dem der ermittelte Wert errechnet werden kann. Die Schwankungsbereiche der R_M -Werte ergeben sich aus den Maßwerten mehrerer Parallelversuche.

* = Nicht bei allen Kollektionen einer Art beobachtet. Nach Kronawitter (1984)

Fig. 1-4: Elution diagrams of the water-soluble yellow pigments from various species of *Hygrocybe*. The values of the fractions were based on muscaflavine as a standard ($R_M = 1$; $F_{rel} = 100\%$). F_{rel} -values of over 25% are marked with a multiplication factor which gives the determined value. Variation of the R_M -values results from the differences of data from diverse parallel experiments.

* = Not in all collections of one species observed. According to Kronawitter (1984).

Hygroaurine bei $R_M = 0,57-0,60$ und $R_M = 0,31-0,34$. Eine weitgehende Übereinstimmung zeigten auch die Pigmentmuster europäischer und nordamerikanischer Kollektionen jeweils von *Hygrocybe punicea* und *flavescens*, während bei *Hygrocybe reai* zwischen solchen Aufsammlungen geringfügige Unterschiede auftraten.

Ein weiteres Beispiel bezieht sich auf die oft miteinander verwechselten Arten *Hygrocybe marchii* und *reidii*; beide Sippen sind aufgrund der Kernzahl je Spore (Sporen bei *H. marchii* überwiegend 1kernig., bei *H. reidii* überwiegend 2kernig; Kühner 1977a) voneinander hinreichend isoliert. *H. marchii* unterscheidet sich gegenüber *H. reidii* durch ein Hygroaurin bei $R_M = 0,92-0,93$; ob eine geringfügige Elutionsverzögerung des dominierenden Hygroaurins (*Hygrocybe marchii* $R_M = 0,59-0,60$; *H. reidii* $R_M = 0,56-0,59$) über dessen unterschiedlichen Chemismus etwas aussagt, muß allerdings zweifelhaft bleiben. Auch der Vergleich der Pigmentfraktionen von *H. reidii* (bzw. *marchii*) und *parvula* zeigt Unterschiede (z. B. bei $R_M = 0,64$).

Schließlich seien noch *Hygrocybe conica* und ihre nächsten Verwandten (vgl. Tab. 1) erwähnt, die taxonomisch gesehen einen schwer zu gliedernden Formenkomplex schwärzender Sippen bilden. Aufgrund zahlreicher Übergangsformen werden in dieser Studie *H. conica* und *H. nigrescens* nicht als verschiedene Arten bewertet. Auch hinsichtlich der Hygroaurine läßt sich zwischen Kollektionen, die sich mit den beiden Namen benennen ließen (wie auch im Falle von intermediären Formen) kein beachtenswerter Unterschied aus den Elutionsdiagrammen herauslesen.

Tab. 1:

R_M -Wert	<i>conica</i>	<i>conica</i> (<i>nigrescens</i>)	<i>olivaceo-</i> <i>nigra</i> (1)	<i>tristis</i>	<i>conicoides</i> (1)	<i>riparia</i> (1)	<i>conico-palustris</i> (1)
<0,25-0,33>	+	+	+	+	+	-	+
0,25	+	+	+	+	+	-	+
0,28-0,30	-	-	-	+	-	-	-
0,31-0,33	+	+	+	-	+	-	+
0,49-0,51	+	+	+	-	-	+	-
0,52-0,54	-	+	-	-	-	+	-
0,62-0,64	+	+	+	-	+	-	+
<0,64-0,90>	+	+	-	+	+	+	+
<0,72-0,79>	+	+	-	+	+	+	+
0,75-0,77	+	+	-	-	-	+	-
0,90-0,92	+	+	-	-	-	-	-

Tab. 1:

Hygroaurine in *H. conica* und nahe verwandten Arten. In eckigen Klammern sind größere R_M -Bereiche angegeben worden. ? = Zuordnung zu einem R_M -Wert fraglich. (1) = nur eine Kollektion wurde untersucht. * = nicht bei allen Kollektionen einer Art.

Tab. 1:

Hygroaurines isolated from *H. conica* and closely related species. Larger R_M -ranges are given in the brackets. ? = R_M -value uncertain (1) = only a single sample was investigated. * = not found in all samples of the same species.

Auf der anderen Seite zeigen *H. olivaceonigra*, *tristis*, *conicoides*, *riparia* und *conico-palustris* sowohl untereinander als auch zu *H. conica* (bzw. *nigrescens*) qualitative Unterschiede. Hierbei ist allerdings einschränkend zu bemerken, daß von den mit (1) gekennzeichneten Arten nur jeweils eine Kollektion pigmentchemisch untersucht werden konnte. Bei *H. conica* einschließlich (*nigrescens*) ist die Gesamtausstattung an Hygroaurinen reicher als bei den anderen genannten Sippen. Weitere, aus der Tabelle nicht hervorgehende Merkmale sind, daß z. B. *H. conico-palustris* gegenüber *H. conica* eines von zwei Pigmenten im Bereich von $R_M = 0,72-0,79$ fehlt, daß sich bei *H. riparia* gegenüber *H. tristis* im Bereich von $R_M = 0,57-0,61$ eine Pigmentfraktion mehr eluieren läßt als bei *H. tristis* und *H. olivaceonigra*. Auf der anderen Seite war zwischen *H. conica* und *H. conicoides* Übereinstimmung hinsichtlich der dominierenden Komponenten bei $R_M = 0,31-0,33$ und $0,55-0,58$ gegeben. Von Unterschieden insgesamt wenig betroffen waren Muscaflavin ($R_M = 1$) sowie die Hygroaurine bei $R_M = 0,37-0,39$ und $0,55-0,58$ ($-0,60$).

Qualitative Unterschiede im Elutionsmuster der Hygroaurine wurden auch zwischen den Sippen des Artenkomplexes rund um *H. turunda* mit *H. coccineocrenata*, *miniata*, *helobia* und *cantharellus*, des Artenkomplexes rund um *H. reai* mit *H. mucronella*, *insipida* und *subminutula*, des Komplexes rund um *H. citrina* mit *H. glutinipes* und *vitellina* (*H. ceracea* stand für eine pigmentchemische Analyse nicht in ausreichender Menge zur Verfügung), sowie zwischen *H. chlorophana* und *H. flavescens* gefunden. Die pigmentchemischen Unterschiede zwischen *Hygrocybe citrinovirens* und *brevispora* sind hingegen eher quantitativer als qualitativer Natur, ebenso die zwischen *H. acutoconica* und *H. subglobispora* einerseits und zwischen *H. obrussea* und *H. konradii* andererseits. Die beiden letzten Arten sind besonders dadurch hervorgehoben, daß bei ihnen die Hygroaurine bei $R_M = 0,50-0,53$ und $R_M = 0,57-0,59$ dominieren, wobei von diesen z. T. sogar Muscaflavin übertroffen wird. Hingegen setzt sich die oft als verwandt betrachtete *H. acutoconica* pigmentchemisch von *H. konradii* deutlich ab. Eher ist noch *H. spadicea* mit *H. konradii* und *H. obrussea* pigmentchemisch vergleichbar; bei dieser Art dominieren allerdings mehr als zwei Hygroaurine, nämlich zusätzlich zu dem bei $R_M = 0,58$ ebenfalls in verstärktem Maße erhaltenen die bei $R_M = 0,39$, $0,34$ und $0,27$ eluierten; die Fraktion bei $R_M = 0,51$ wurde hingegen in normaler Menge gewonnen. Hinsichtlich ihrer dominierenden Hygroaurine unterscheiden sich *H. spadicea* sowie *H. obrussea* und *H. konradii* von allen anderen Hygrocyben.

Die erhaltenen Pigmentmuster ließen eine Strukturermittlung der Hygroaurine besonders wünschenswert erscheinen. Da eine direkte Strukturaufklärung infolge zu geringer Mengen nicht möglich war, wurde versucht, auf indirektem Wege Einblicke zu gewinnen.

Indirekte Strukturaufklärung der Hygroaurine

Aus *Hygrocybe punicea* isoliertes und gereinigtes Muscaflavin wurde mit jeweils einer von insgesamt 24 verschiedenen Aminosäuren zur Reaktion gebracht. Hierzu wurde eine wäßrige Muscaflavin-Lösung mit einem Überschuß einer Aminosäure versetzt. Während isoliertes Muscaflavin bei der Elution nur einen Gipfel zeigte, bildeten sich bei der Auftrennung des Muscaflavin-Aminosäure-Gemisches zwei scharf voneinander abgesetzte Pigmentzonen. Die obere besaß die für Muscaflavin typischen Merkmale, während die untere die typische Farbe der Hygroaurine aufwies und je nach verwendeter Aminosäure durch unterschiedliche Retention charakterisiert war.

Der Hygroaurin-Gipfel konnte im Vergleich zum Muscaflavin-Gipfel je nach zugesetzter Aminosäure verschieden groß sein. Außer den jeweils zwei Gipfeln traten auf Verunreinigungen schließende Nebengipfel, es sei denn bei Verwendung von Cystin, selten und dann von zu vernachlässigender Größe auf.

Anstelle von isoliertem und gereinigtem Muscaflavin wurde für die geschilderten Versuche auch der gesamte wäßrige Pigmentextrakt von *Hygrocybe punicea* mit je einer Aminosäure versetzt. Ziel dieser Versuche war festzustellen, ob alle Hygroaurine nach dem Aminosäure-Zusatz in unveränderten Mengen erhalten blieben oder ob qualitative und quantitative Veränderungen zu beobachten waren. Im allgemeinen lieferte der Zusatz einer Aminosäure zum Pigmentextrakt Elutionsdiagramme, die von dem des unbehandelten Pigmentextraktes abwichen. Das Elutionsdiagramm des behandelten Pigmentextraktes zeigte oft eine Abnahme des Muscaflavin-Gipfels und stets eine Zunahme eines der Hygroaurin-Gipfel; meist traten die anderen Hygroaurine gegenüber dem immer noch stark bleibenden Muscaflavin-Gipfel und einem nunmehr geförderten Hygroaurin-Gipfel in den Hintergrund.

Zur Verdeutlichung der Ergebnisse seien die Versuche mit der Aminosäure Threonin näher beschrieben. Bei dessen Zusatz zu isoliertem und gereinigtem Muscaflavin erscheint im Elutionsdiagramm bei $R_M = 0,58$ ein Hygroaurin, bei $R_M = 1$ Muscaflavin, und zwar in geringerer Menge als bei Säulenchromatographie des unbehandelten Muscaflavins. Der Pigmentextrakt von *H. punicea* lieferte ohne Threonin-Zusatz Hygroaurine bei $R_M = (0,21); (0,24); 0,31; 0,36; 0,40; 0,49; 0,57; 0,63; (0,70); (0,76); (0,92)$ und bei $R_M = 1$ Muscaflavin; die dominierenden Fraktionen liegen bei $R_M = 0,57$ und $R_M = 1$. Bei Zusatz von Threonin zum Pigmentextrakt und anschließender säulenchromatographischer Trennung verschwanden die oben eingeklammerten Fraktionen, verstärkte sich die Fraktion bei $R_M = 0,57$ um ein Vielfaches, während Muscaflavin, ebenfalls um ein Vielfaches, abnahm. Daraus läßt sich der Schluß ziehen, daß im Bereich von $R_M = 0,57$ nach Zugabe von Threonin zu Muscaflavin (a), als auch zum Pigmentextrakt (b), die Menge des Muscaflavins im Vergleich zur Ausgangsmenge um 78,5 % (a) bzw. um 79,4 % (b) abgenommen hatte und, daß dies offensichtlich jeweils zu gunsten einer entstehenden bzw. zunehmenden Muscaflavin-Threonin-Verbindung bei $R_M = 0,57-0,58$ geschah; die λ_{\max} -Werte stimmten in diesem Bereich in beiden Versuchsansätzen sehr gut überein, was jeweils auf ein Hygroaurin schließen läßt. Alles dies legt die Vermutung nahe, daß aus Muscaflavin und Threonin sich ein spezifisches Hygroaurin, genauer ein Threonin-Hygroaurin gebildet hat.

Anhand einer entsprechenden aus *Hygrocyben* isolierten und gereinigten Hygroaurin-Fraktion und einer sich anschließenden Bestimmung der daran beteiligten Aminosäuren mittels Aminosäure-Analysator durch das Labor von Prof. Steglich sollte die Zusammensetzung von Threonin-Hygroaurin bestätigt werden. Für diesen Versuch wurde *Hygrocybe obrussea* gewählt, weil hier zwei Hygroaurine ($R_M = 0,50$ und $R_M = 0,57-0,58$) dominierten, die eine einwandfreie Isolierung und Reinigung erwarten ließen und weil eine der dominierenden Fraktionen ($R_M = 0,57-0,58$) dem im Versuch erzeugten Threonin-Hygroaurin entsprach. Hier muß allerdings eingeflochten werden, daß auch mit Glutamin und Muscaflavin ein Hygroaurin gebildet werden konnte, das nach Säulenchromatographie einen mit Threonin-Hygroaurin identischen R_M -Wert aufwies. Bei den Fraktionen mit $R_M = 0,57-0,58$ aus Pigmentextrakten von *Hygrocybe*-Arten kann es sich also ebenso um Glutamin-Hygroaurin wie um Threonin-Hygroaurin handeln, da beide Verbindungen säulenchromatographisch nicht zu trennen waren.

Die Analyse der aus der Fraktion bei $R_M = 0,57-0,58$ durch Hydrolyse gewonnenen Aminosäuren zeigte drei Gipfel: einen NH_3 -Peak (hydrolysierendes Agens) und zwei weitere Gipfel, von denen der deutlich größere dem Threonin entspricht, während der kleinere wegen fehlender Vergleichssubstanzen nicht identifiziert werden konnte. Hierbei könnte es sich um eine als Verunreinigung auftretende freie wie auch um eine in $R_M = 0,50$ -Hygroaurin gebundene Aminosäure handeln, falls dieses nicht vollständig von $R_M = 0,57-0,58$ -Hygroaurin abgetrennt werden konnte. Leider fehlte dem Vergleichsgemisch Glu-

tamin, so daß nicht mit Sicherheit auszuschließen ist, daß auch Glutamin an der Bildung des Hygroaurins von *H. obrussea* bei $R_M = 0,57-0,58$ beteiligt war.

Es kann somit festgestellt werden, daß die mutmaßliche Beteiligung von Threonin an $R_M = 0,57-0,58$ -Hygroaurin durch Aminosäureanalyse bekräftigt, wenn auch nicht vollständig bewiesen werden konnte. Durch Zugabe verschiedener Aminosäuren zu Muscaflavin (bzw. zum wäßrigen Pigmentextrakt), anschließender Säulenchromatographie und Bestimmung der entstehenden neuen Pigmentfraktion (bzw. Feststellung der Mengenzunahme einer Fraktion) konnte die mögliche Beteiligung der verschiedenen Aminosäuren an den verschiedenen Hygroaurinen postuliert werden. In der folgenden Tabelle 2 sind jeweils die R_M -Werte angegeben, bei denen die entsprechenden Hygroaurine (Muscaflavin-Aminosäure) eluiert werden konnten. Die Klammerwerte beziehen sich auf die Kombination Pigmentextrakt plus Aminosäure, falls das hieraus gewonnene Hygroaurin in seinem R_M -Wert vom Wert Muscaflavin plus Aminosäure abwich.

Tab. 2:

R_M -Wert	Aminosäure				
(0,32)	(Lysin)	I	0,62	α -Aminobuttersäure	IIa
0,33	Lysin	I	(0,63)	(α -Aminobuttersäure)	IIa
0,41	Histidin	I	0,63	Isoleucin	IIa
(0,40)	(Arginin)	I	0,64	Leucin	IIa
0,43	Arginin	I	0,64	Methionin	III
(0,57)	(Glutamin)	IIc	(0,67)	(Cystein)	III
0,58	Glutamin	IIc	0,68	Cystein	III
0,58	Threonin	IIb	0,70	Cystin	III
0,59	Hydroxyprolin	II d	(0,71)	(Cystin)	III
0,59	Serin	IIb	(0,74)	(Dihydroxyphenylalanin)	IV
0,59	Asparagin	IIc	0,75	Dihydroxyphenylalanin	IV
0,59	Prolin	II d	0,75	Phenylalanin	IV
(0,60)	(Asparagin)	IIc	(0,77)	(Phenylalanin)	IV
(0,60)	(Prolin)	II d	0,77	Tyrosin	IV
0,61	Valin	IIa	(0,79)	(Tyrosin)	IV
(0,61)	(Isoleucin)	IIa	(0,83)	(Glutaminsäure)	V
(0,61)	(Alanin)	IIa	0,84	Glutaminsäure	V
0,62	Alanin	IIa	(0,85)	(Asparaginsäure)	V
0,62	Glycin	IIa	0,87	Asparaginsäure	V
			0,91	Tryptophan	VI

Tab. 2:

Entstehung von verschiedenen Hygroaurinen (gekennzeichnet durch die R_M -Werte) nach Zugabe von Aminosäuren zu Muscaflavin bzw. (in Klammern) zu Pigmentextrakt. Weitere Erläuterungen im Text.

A. S. = Aminosäure	II d = cyclische A. S.
I = basische A. S.	III = schwefelhaltige A. S.
II a = aliphatische A. S. ohne zusätzliche funktionelle Gruppen	IV = aromatische A. S.
II b = Hydroxy-A. S.	V = saure A. S.
II c = ω -Amide von α -Aminodicarbonsäuren	VI = heteroaromatische A. S.

Tab. 2:

Induction of different hygroaurines (as distinguished by the R_M -values) after addition of amino acids to muscaflavine or pigment extracts (shown in parenthesis). Further details are given in the text.

A. S. = amino acid (a. a.)	II c = cyclic a. a.
I = basic a. a.	III = sulfur containing a. a.
II a = aliphatic a. a. without additional functional groups	IV = aromatic a. a.
II b = hydroxy a. a.	V = acidic a. a.
II c = ω -amides of α -amino dicarbon acids	VI = heteroaromatic a. a.

Die R_M -Werte hängen in gewisser Weise von der Konstitution der Aminosäuren ab. Die basischen Aminosäuren lieferten Reaktionsprodukte mit relativ niederen R_M -Werten, die sauren Aminosäuren solche mit hohen R_M -Werten, während die meisten neutralen Aminosäuren solche mit mittleren R_M -Werten lieferten. Die Aminosäuren wurden von K r o n a w i t t e r sechs Gruppen zugeordnet, die jeweils einen eigenen Bereich von Hygroaurinen in der R_M -Wert-Skala bilden (vgl. Tab. 2).

Die untersuchten Aminosäuren zeigten trotz übereinstimmender Versuchsbedingungen eine unterschiedliche Reaktivität, d. h. die resultierenden Mengen an Hygroaurinen waren durchaus unterschiedlich. Aus dem R_M -Wert kann nicht mit absoluter Sicherheit auf die Beteiligung einer bestimmten Aminosäure am entsprechenden Hygroaurin geschlossen werden. Es ist nicht auszuschließen, daß andere in den Versuchen nicht verwendete Aminosäuren, die selten oder noch unbekannt sein mögen, beteiligt sind. Außerdem sind bisweilen unterschiedliche Hygroaurine (mit unterschiedlichen Aminosäuren) aufgrund ihrer R_M -Werte kaum auseinanderzuhalten. Die eindeutige Strukturaufklärung der natürlichen Hygroaurine kann letztlich nur durch eine chemische Charakterisierung der beteiligten Aminosäuren geschehen.

Falls die genannten Aminosäuren im Pilz an der Bildung der natürlichen Hygroaurine beteiligt sind, dann sollte erwartet werden können, daß sie entsprechend dem Reaktionsgleichgewicht



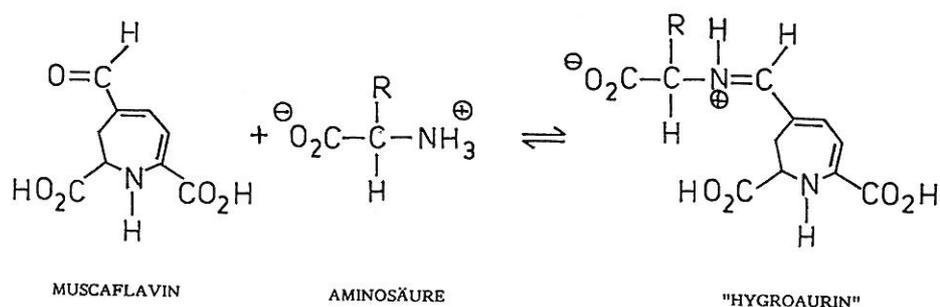
	Cys	His	Arg	Gln	Tyr	Hydro	Ser	Asn	Trp	Val	Ala	Gly	α-Abs	Ile	Leu	Met	Orn	Pro	Leu	Arg	Tyr	Ala	Asp	Trp
<i>H. conica</i>	+	⊙	⊙	⊙	+	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	+	-								⊙
<i>H. nigrescens</i>	+	⊙	⊙	⊙	+	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	+	-								⊙
<i>H. chlorophana</i>	⊙	+	⊙	⊙	⊙		+		?	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	+	+							⊙	⊙
<i>H. caustocornica</i>	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙		+		?	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	+	?							⊙	⊙
<i>H. splendidissima</i>	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙		+			+	⊙	⊙	⊙	⊙	+	-							⊙	⊙
<i>H. punicea</i>	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙		+		?	+	⊙	⊙	⊙	⊙	+	?	⊙	?				⊙	⊙	⊙
<i>H. coccinea</i>	+	⊙	⊙		+		+			⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	+	-							⊙	⊙
<i>H. quiescens</i>	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙		+	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	+	+						⊙	⊙	⊙
<i>H. cetrinoverna</i>	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙		⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	+	+	⊙					⊙	⊙	⊙
<i>H. intermedia</i>	+	⊙	⊙	⊙	+		+			⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	+	+	⊙					⊙	⊙	⊙

Tab. 3: Vorkommen freier Aminosäuren (angegeben durch die üblichen Abkürzungen) in verschiedenen Arten von *Hygrocybe* im Vergleich zu den erwarteten. Nähere Erläuterungen im Text. Nach K r o n a w i t t e r (1984).

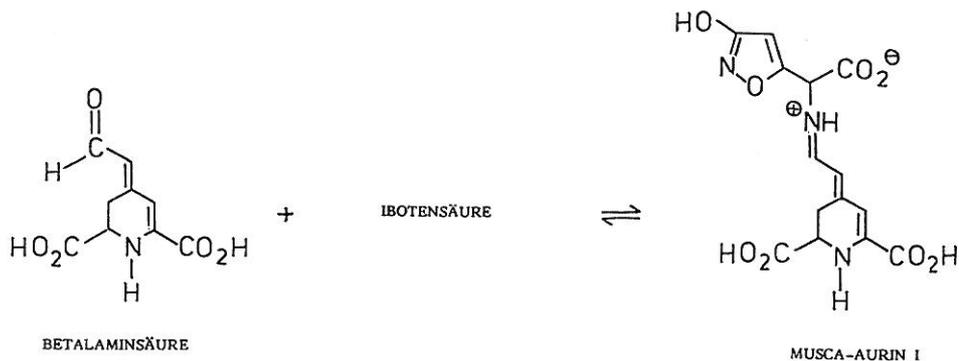
Tab. 3: Occurrences of free amino acids (the usual three-letter symbols are used) in various species of *Hygrocybe* compared to the expected ones. For further details see text. According to K r o n a w i t t e r (1984).

auch in freier Form im Pilz nachzuweisen sind. Die Untersuchungen wurden von H. Kemmer im Labor von Prof. Steglich durchgeführt und von I. Kronawitter zusammengestellt (vgl. Tab. 3), und zwar derart, daß die aufgrund indirekter Strukturermittlung für die einzelnen Hygroaurine in Frage kommenden Aminosäuren (0) mit den durch Aminosäuren-Analyse ermittelten freien Aminosäuren (+) verglichen wurden; eine Deckung der Befunde (⊕) war sehr häufig der Fall, seltener war eine an Hygroaurinen vermutlich beteiligte Aminosäure in freier Form nicht nachweisbar (⊖), bzw. nur die freie Aminosäure im Pilz vorhanden (+).

Alle diese Befunde unterstützen die von Steglich vermutete und von Kronawitter vorgeschlagene chemische Struktur der Hygroaurine als sog. Schiff'sche Basen, die sich nach folgendem Schema bilden:



Die analogen Muscaaurine in *Amanita muscaria* und einigen anderen Arten der Gattung haben demgegenüber folgende Struktur:



Es muß derzeit als ungeklärt angesehen werden, warum in *Amanita*-Arten Hygroaurine fehlen, da doch Muscaflavin in freier Form in *Amanita* vorkommt, und warum hier die freien Aminosäuren mit Betalaminsäure und nicht mit Muscaflavin reagieren. Möglicherweise sind die Hygroaurine weniger stabil, so daß sie im Gleichgewicht nicht mit den Muscaaurinen (Betalainen) konkurrieren können.

Kommen Muscaflavin und Hygroaurine in *Hygrophorus*-Arten vor?

Vorkommen oder Fehlen von Muscaflavin und Hygroaurinen, bzw. von nah verwandten Pigmenten ist für die Gliederung der *Hygrophoraceen* in verschiedene Gattungen als bedeutendes Merkmal zu werten. Dementsprechend haben schon *B e s l & al.* (1975) versucht, die oben aufgeworfene Frage zu klären. Aufgrund ihrer dünn-schichtchromatographischen Arbeiten vermuteten sie für *Hygrophorus lucorum*, *H. hypothejus* und *H. speciosus* das Vorkommen von Muscaflavin. Wegen geringer Pilzmengen und unspezifischer Trennverfahren blieben die Nachweise teilweise fraglich. Deshalb wurden Extrakte aus einer größeren Pilzmenge mit den besseren säulenchromatographischen Verfahren – wie sie für *Hygrocybe* angewendet worden waren – einer Trennung unterworfen. Den Elutionsdiagrammen der *Hygrocyben* kommt dasjenige von *Hygrophorus hypothejus* sehr nahe. Als „Leitpigment“ kann hier eine am Schluß eluierte leuchtend grünlichgelbe Fraktion bezeichnet werden, die Muscaflavin quantitativ und qualitativ außerordentlich ähnlich ist; sie zeigt das für Muscaflavin charakteristische Absorptionsverhalten. Dem „Leitpigment“ im Gesamtextrakt von *Hygrophorus hypothejus* wurden ähnlich wie bei *Hygrocybe* verschiedene Aminosäuren zugesetzt, wobei darauf geachtet wurde, daß je eine Aminosäure des basischen, neutralen sowie sauren Typs gewählt wurde. In jedem Fall kam es zur Verstärkung oder Neubildung einer goldgelb gefärbten Pigmentzone (vgl. Tab. 4).

Tab. 4.

R _M -Wert: <i>Hygrophorus hypothejus</i>	Aminosäure	R _M -Wert: <i>Hygrocybe</i>
0,33	Lysin	0,32
0,60	Threonin	0,58
0,61	Serin	0,59
0,87	Asparaginsäure	0,85

Tab. 4:
Verstärkung oder Neubildung von Pigmenten (gekennzeichnet durch die R_M-Werte) nach Zugabe von Aminosäuren zum Leitpigment von *Hygrophorus hypothejus* und Vergleich mit den analogen Versuchen bei *Hygrocybe*.

Tab. 4:
Induction or increased production of pigments (as distinguished by the R_M-values) after addition of amino acids to the main pigment of *Hygrophorus hypothejus*. The results are compared with corresponding experiments within the genus *Hygrocybe*.

Diese Befunde deuten darauf hin, daß *Hygrophorus hypothejus* ein der Gattung *Hygrocybe* vergleichbares, chemisch sehr ähnliches Pigmentsystem besitzt. Zwischenzeitlich konnte *F u g m a n n* (1985) den Nachweis von Muscaflavin für *Hygrophorus hypothejus* und *speciosus* eindeutig bestätigen und für *Hygrophorus aureus* ausweiten.

Eindeutig nachzuweisen war Muscaflavin auch in der nordamerikanischen Art *Hygrophorus appalachianensis* *Hesler & Smith*. Dieser Nachweis kann jedoch, anders als im Falle von *Hygrophorus hypothejus*, *lucorum* und *aureus*, nicht als Beleg dafür gelten, daß Pigmente des Muscaflavinsystems in der Gattung *Hygrophorus* auftreten. Vielmehr ist *Hygrophorus appalachianensis* aufgrund aller relevanter Merkmale ein Vertreter der Gattung

Hygrocybe. Die Art nimmt allerdings hier aus verschiedenen Gründen eine isolierte Stellung ein. Besonders auffällig ist ein ausgesprochener Dimorphismus von Basidien und Sporen ein und desselben Fruchtkörpers. An kleinen Basidien werden jeweils 4 kleine im Mittel $6,6 \times 3,7 \mu\text{m}$ messende Sporen mit überwiegend einem Kern je Spore, an großen Basidien jeweils 4(-2) große, im Mittel $14,5 \times 8,3 \mu\text{m}$ messende Sporen mit überwiegend 2 Kernen je Spore gebildet. Auch die Pigmentausstattung der Fruchtkörper weicht von den übrigen untersuchten *Hygrocybe*-Arten etwas ab. Neben Muscaflavin dominieren die Pigmente bei $R_M = 0,33-0,35$, $R_M = 0,50$ und $R_M = 0,57-0,58$. Die Dominanz bei $R_M = 0,50$ und $R_M = 0,57-0,58$ erinnert allerdings an die von *H. obrussea* und *H. konradii* erhaltenen Elutionsdiagramme.

Fehlen des Muscaflavin-Pigmentsystems in zu *Hygrocybe* gerechneten Arten

Das Muscaflavin-Pigmentsystem konnte in 42 von 53 untersuchten Arten der Gattung *Hygrocybe* nachgewiesen werden. In 11 Arten fehlte es und wurde auch nicht durch ein vergleichbares Pigmentsystem ersetzt. Pigmente des Muscaflavin-Systems fehlen in den Arten der ersten drei in Material und Methoden genannten Gruppen vollständig. Diese Arten nehmen innerhalb der Gattung *Hygrocybe* eine isolierte Stellung ein. Besonders deutlich wird dies im Falle der Gruppe 1.0 um *Hygrocybe psittacina* (Sectio Psittacinae), die zusätzlich durch das Vorkommen von Medaillonschnallen von den übrigen Gruppen innerhalb von *Hygrocybe* deutlich abgegrenzt erscheint. Dadurch wird eine Grenze sichtbar, die ebenso tief ist wie zwischen den bereits allgemein anerkannten Gattungen der Hygrophoraceen. Aus diesem Grunde dürfte die von Herink (siehe Singer 1975, p. 207) aufgestellte Gattung *Gliophorus* mit der dahin transferierten *H. psittacina* als Typusart durchaus berechtigt sein. Zu dieser Gattung können alle Arten der Gruppe 1.0 gerechnet werden. Ihre Arten sind zusätzlich durch starke Schleimigkeit von Stiel und Hut sowie durch schmale, aufsteigende Hyphen in der Hutdeckschicht (Kühner 1976, 1977) gekennzeichnet.

Hingegen darf das Fehlen von Muscaflavin in *H. ingrata* und *H. murinacea* taxonomisch nicht sehr gewichtet werden, da die in die gleiche Sektion (Gruppe 3.0) gehörende *H. ovina* Muscaflavin und Hygroaurine führt (vgl. auch Steglich & Preuss, 1974). Insofern grenzt sich die von Herink (siehe Singer 1975, p. 207) vorgeschlagene Gattung *Neohygrocybe* mit *H. ovina* als Typusart nicht besonders scharf von den übrigen Hygrocyben ab.

Im Falle von *Humidicutis marginata* hatte Singer wegen des Fehlens von Schnallen und im Hinblick auf Abweichungen in der Pigmentierung – und dies nach den hier referierten pigmentchemischen Untersuchungen völlig zu Recht (vgl. auch Besl & al. 1975) – die Abgliederung von *Hygrocybe* vollzogen.

Etwas merkwürdig bleibt auch die Tatsache, daß die ausgesprochen gelb gefärbten Arten *Hygrocybe xanthochroa* und *H. lilacina* über keine Pigmente des Muscaflavinsystems verfügen. Hier lohnt es sich, genaue Studien hinsichtlich abweichender anatomischer Merkmale und der beteiligten Pigmente durchzuführen, um auf deren Grundlage die derzeitige generische Zuordnung abzusichern oder erneut zu überdenken.

Literatur

- ARDENNE, R. von, H. DÖPP, H. MUSSO & W. STEGLICH (1974) – Über das Vorkommen von Muscaflavin bei *Hygrocyben* (*Agaricales*) und seine Dihydroazepin-Struktur. *Z. Naturforsch.* 29c: 637–639.
- BESL, H., A. BRESINSKY & I. KRONAWITTER (1975) – Notizen über Vorkommen und systematische Bewertung von Pigmenten in Höheren Pilzen (1). *Z. Pilzkd.* 41: 81–98.
- CIBULA, W. G. (1976) – The pigments of *Hygrophorus* section *Hygrocybe* and their significance in taxonomy and phylogeny. – Amherst, Univ. of Massachusetts, Philos. Dep., Diss. – 236 S.
- DÖPP, H., W. GROB & H. MUSSO (1971) – Über die Farbstoffe des Fliegenpilzes (*Amanita muscaria*). *Naturwissenschaften* 58: 566–567.
- & H. MUSSO (1973a) – Isolierung und Chromophore der Farbstoffe aus *Amanita muscaria*. *Chem. Ber.* 106: 3473–3482.
- (1973b) – Die Konstitution des Muscaflavins aus *Amanita muscaria* und über Betalaminsäure. *Naturwissenschaften* 60: 477–478.
- (1974) – Eine chromatographische Analysenmethode für Betalainfarbstoffe in Pilzen und Höheren Pflanzen. *Z. Naturforsch.* 29c: 640–642.
- , S. MAURER, A. N. SASAKI & H. MUSSO (1982) – Fliegenpilzfarbstoffe, VIII: Die Konstitution der Musca-aurine. *Liebigs Ann. Chem.*: 254–264.
- FUGMANN, B. (1985) – Dissertation (bei Prof. Dr. W. Steglich), Bonn.
- KRONAWITTER, I. (1984) – Die Gattung *Hygrocybe* (*Agaricales*) unter besonderer Berücksichtigung von Pigmentausstattung und Sipplgliederung. Dissertation Regensburg 1984
- KÜHNER, R. (1976) – *Agaricales de la Zone Alpine. Genre Hygrocybe* (Fries) Kummer. *Bull. Soc. Myc. France* 92: 455–515.
- (1977a) – A propos de la délimitation des espèces dans les *Hygrophorus* Fries du sous-genre *Hygrocybe* Fries. Deux caractéristiques peu ou non utilisées. The species concept in Hymenomyces. *Proceedings of a Herbet Symposium held at the University of Lausanne, Switzerland, August 16–20, 1976* / hrsg. von H. Cléménçon. – Vaduz: Cramer. – 157–181. (*Bibliotheca Mycologica*; 61).
- (1977b) – Vers un Système Phylogenetique des *Camarophyllus* (Fr.) et *Hygrocybe* (Fr.). *Revue Mycologie* 41: 73–90.
- SCHRÖDL, J. (1975) – Vergleichende Untersuchungen über die gelben wasserlöslichen *Hygrocyben*-Farbstoffe. – Regensburg, Univ., Fak. für Biol. u. Vorkl. Med., Zulassungsarbeit. – 52 S.
- SINGER, R. (1975) – *The Agaricales in modern taxonomy*. – 3., völlig rev. Aufl. – Vaduz: Cramer, 912 S. + 84 Taf.
- STEGLICH, W. & R. PREUSS (1974) – L-3,4-Dihydroxyphenylalanine from carpophores of *Hygrocybe conica* and *H. ovina*. *Phytochemistry* 14: 1119.