

Próby wykorzystania reakcji odczynnika EP na obecność związków azulenowych w grzybach z rodzaju *Lactarius* do celów taksonomii

ANDRZEJ NESPIAK, APOLONIUSZ RYMKIEWICZ

Zakład Botaniki Akademii Medycznej we Wrocławiu

Nespiak A., Rymkiewicz A.: (Department of Pharmaceutical Botany, Medical Academy, Kochanowskiego 10, 51-601 Wrocław, Poland). *Attempts at utilization of the EP reagent for testing the occurrence of azulene compounds in genus Lactarius fungi, for taxonomic purposes*. Acta Mycol. 13 (2): 263-270, 1977.

29 species of *Lactarius* from various stands were tested for reaction with EP reagent. The results were positive for 22 species, i.e. the reagent turned blue or green.

PRZEGLĄD DOTYCHCZASOWYCH BADAŃ

Badania nad obecnością azulenów w mięszu owocników grzybów z rodzaju *Lactarius* zapoczątkował Willstaedt (1935, 1939). Autor ten stwierdził w owocnikach *Lactarius deliciosus* L. ex Fr. najpierw obecność substancji bliskich związkom azulenowym, a następnie wyodrębnił związek o nazwie laktarowiolina. Kolejne prace czeskich badaczy doprowadziły do poznania struktury trzech związków — werdazulenu, laktarazulenu i laktarowioliny — znajdujących się w owocnikach *Lactarius deliciosus* (Benešova, Herout, Šorm 1954; Šorm i in. 1954, 1955). Związki te, blisko spokrewnione z seskwiterpenami, charakteryzują się niebieskim, zielonym lub fioletowym zabarwieniem. Ich substancją macierzystą jest węglowodór azulenu $C_{10}H_8$ związek krystaliczny, ciemnoniebieski, o temperaturze topnienia $99^{\circ}C$, będący cyklicznym polienem o dwóch pierścieniach skondensowanych siedmio- i pięciocłonowych, zawierających pięć sprzężonych wiązań podwójnych. W roślinach wyższych, szczególnie w kwiatostanach *Matricaria chamomilla* oraz *Achillea millefolium*, najobficiej występuje chamazulen $C_{15}H_{18}$ znany ze swoich właściwości leczniczych. Stwierdzono, że azuleny tworzą

się dopiero podczas procesu suszenia roślin, lub zabiegów (ogrzewanie, destylacja) związanych z obróbką surowca farmaceutycznego. W tkankach roślin świeżych znajdują się natomiast zwykle związki określane nazwą proazulenów (Jerzmanowska 1967).

Mikrometodę wykrywania obecności proazulenów w tkankach roślinnych pozwalającą na jednoczesne przybliżone określenie ich ilości opracował Stahl (1953). Zastosował on w tym celu odczynnik EP o składzie: 50 g kwasu octowego lodowatego, 5 g kwasu ortofosforowego, 0,25 g aldehydu p-dwumetyloaminobenzoowego oraz 45 g wody. W zależności od stopnia intensywności barwy tego odczynnika reagującego z naważką surowca określał on w przybliżeniu przewidywaną w tym surowcu ilość proazulenów; i tak zabarwienie ciemnoniebieskie oznaczało dużą ilość tych związków, zabarwienie niebieskozielone ilość średnią, bladezielone ilości śladowe. Zabarwienie żółtobrazowe lub czerwono-brunatne wskazuje na brak proazulenów w badanym surowcu.

Posługując się odczynnikiem EP jako wywoływanym chromatogramów Turowska i in. (1969) stwierdzili obecność proazulenogennych substancji w miększu owocników *Lactarius vellereus*, *L. tormisus* i *L. rufus*.

W 1970 r. Daniewski i Kocór wyizolowali z miększu owocników *Lactarius rufus* Fr. cztery związki o charakterze seskwiterpenów, określając je jako laktarorufinę A, B, C, D. W rok później autorzy ci przedstawili biogenezę oraz strukturę cząsteczki laktarorufiny A (Daniewski, Kocór 1971).

Eugster wyraża opinię, że seskwiterpeny, do których wlicza również azuleny, w przeciwieństwie do monoterpenów występują u grzybów częściej niż u roślin wyższych. Jednakże tylko nieliczne z nich będące w formie uwodnionej są związkami barwnymi. Takimi właśnie są: helikobazydyna wyizolowana z grzybni rodzaju *Helicobasidium*, oraz wspomniane wyżej: laktarazulen, laktarowiolina, werdazulen, a ponadto laktarofulwen i jego nietrwały ester kwasu stearynowego, otrzymane przez badaczy czeskich z owocników *Lactarius deliciosus* L. ex Fr.

Następnym krokiem do poznania związków seskwiterpenowych w owocnikach grzybów z rodzaju *Lactarius* są badania Lista i Hackenberga (1973) nad piekącymi substancjami zawartymi w mleczku owocników *Lactarius vellereus* Fr. i *L. piperatus* L. ex Fr. Autorzy ci stwierdzili w nim obecność welleralu i izowelleralu, związków o typowej budowie seskwiterpenów i identycznym wzorze sumarycznym $C_{15}H_{20}O_2$, lecz o różnej konfiguracji cząsteczek i różnych właściwościach chemicznych. Związki te, w odróżnieniu od poprzednio wymienionych, są bezbarwne.

Dalsze badania nad biogenezą i strukturą seskwiterpenów w tej grupie

grzybów przeprowadziła grupa szwedzkich chemików (Magnusson i in. 1972; Magnusson i in. 1973; Magnusson, Thoren 1973 oraz Thoren 1974). Badali oni owocniki *Lactarius vellereus* L. ex Fr. i *Lactarius pergamenus* Swartz ex Fr. W Polsce obecnie prowadzi się również analizy mięszu *Lactarius necator* Pers. ex Fr. oraz *Lactarius helvus* Fr. (Daniewski, informacja ustna).

Pierwszą próbę wykorzystania obecności seskwiterpenów do podziału taksonomicznego mleczai z sekcji *Dapetes* Fr., tzn. tych które posiadają mleczko barwiące się na kolor czerwony, wykonał Schmitt (1974). Wykazał on, że grzyby te morfologicznie bardzo sobie bliskie, różnią się między sobą zawartością enzymów powodujących tworzenie się w nich różnych ilości laktarazulenu, werdazulenu, laktarowioliny oraz ich pochodnych. W celu wykrycia tych związków przy rozdziale chromatograficznym Schmitt posługiwał się odczynnikiem EP. Omawiając wyniki przeprowadzonych doświadczeń zaproponował zmianę zakresu sekcji *Dapetes* i wliczenie do niej tych gatunków, które wykazują zdolność biosyntezy proazulenów i azulenów.

Celem naszej pracy było wykonanie prób z odczynnikiem EP na owocnikach nie przebadanych jeszcze, gatunków rodzaju *Lactarius* i sprawdzenie, w sposób możliwie prosty, działania odczynnika na miąższ gatunków analizowanych przez w. wymienionych badaczy.

MATERIAŁ I METODY

Materiałem do badań były owocniki 29 gatunków z rodzaju *Lactarius* zebrane w jesieni 1974 r. w różnych siedliskach w Polsce, Austrii oraz Północnych Włoszech. Owocniki suszono na wolnym powietrzu w temp. ok. 35-45°C. Po wysuszeniu, naważki 50 g powietrznie suchej masy owocnika zadawano 3 ml odczynnika EP w probówkach zabezpieczonych chłodniczkami powietrznymi. Po ogrzaniu zawiesiny na łaźni wodnej do temperatury ok. 100°C określano w trzech etapach — po 1-3, 3-4, i 4-7 min. — zmiany zabarwienia odczynnika. Przy określaniu barwy posługiwano się skalą barw Bondarcewa (1953). Wyniki przedstawiono w tabeli 1.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Analizując materiał stwierdzić można, że wśród 29 zbadanych (tab. 1) gatunków z rodzaju *Lactarius* przeważały gatunki, w których w różnych ilościach znajdowały się związki dające z odczynnikiem EP reakcję pozytywną na obecność azulenów względnie proazulenów. Niebieskie, zielone lub fioletowoczekoladowe zabarwienie odczynnika otrzymano

Tabela 1 — Table 1

Barwne reakcje odczynnika EP z miąższem następujących gatunków mleczai (*Lactarius*)
 Farbige Reaktion mit EP Reagenz für folgende Milchlinge

Gatunek Art	Siedlisko Standort	Miejsce i data zbioru Stelle und Datum	1-3 min 1-3 Min.	Zabarwienie odczynnika EP po: Farbe der EP Reagenz nach:	4-7 min 4-7 Min.
<i>L. bodiosanguineus</i> Kühn et Romagn.	pod świerkami Fichtenwald	A — Innsbruck	jasnoniebieskie hell-blau	jasnoniebieskie hell-blau	czekoladowe schokoladenbraun
— <i>biennius</i> Fr.	las bukowy Buchenwald	P — Trzebnica k. Wrocławia	brak zabarwienia keine Reaktion	niebieskie blau	ciemnoszare dunkel-grau
— <i>camphoratus</i> Bull. ex Fr.	las miesznany Mischwald	"	jasnożółte hell-gelb	jasnożółte hell-gelb	czekoladowe schokoladenbraun
— <i>camphoratus</i> Bull. ex Fr.	las miesznany Mischwald	"	brak zabarwienia keine Reaktion	brak zabarwienia keine Reaktion	jasnoczekoladowe hell-schokoladenbr.
— <i>chrysorrhoeus</i> Fr.	las modrzewiowo-kasz- tanowy Edelkastanienwald mit Lärche	W — Calcezanico prov. Trento	ciemnoniebieskie dunkel-blau	ciemnoniebieskie dunkel-blau	ciemnoniebieskie dunkel-blau
— <i>cremor</i> Fr.	las bukowy Buchenwald	P — Trzebnica k. Wrocławia	niebieskie blau	niebieskie blau	niebieskie blau
— <i>cyathula</i> Fr.	w torfowcach in Sphagnum	P — Moszne woj. Lubelskie	niebieskie blau	niebieskie blau	szarzielone grau-grün
— <i>deceptus</i> Quel.	pod świerkami Fichtenwald	P — Zakrzów k. Wrocławia	brak zabarwienia keine Reaktion	jasnoniebieskie hell-blau	jasnoczekoladowe hell-schokoladenbr.
— <i>detririmus</i> Gröger	las świerkowo-bukowy Buchen-Fichtenwald	W — Levico prov. Trento	jasnozielone hell-grün	zielone grün	zielone grün
— <i>glyciosmus</i> Fr.	miotłok debowy Eichenwald	P — Dąbrowa k. Lublina	białoniebieskie hell-blau	jasnoniebieskofiol. hell-violettblau	jasnofioletowe hell-violett
— <i>hetvus</i> Fr.	las sosnowy zatorfiony Kiefernwald mit <i>Sphagnum</i>	P — Milicz	żółte gelb	żółte gelb	żółte gelb
— <i>lacunarum</i> Lge. (Romagn.) Lge.	las olchowy z torfowcami Erlenwald mit <i>Sphagnum</i>	P — Moszne woj. Lubelskie	niebieskie blau	niebieskie blau	szarzielone grau-grün
— <i>lignyotus</i> Fr.	las świerkowy Fichtenwald	A — Innsbruck	brak zabarwienia keine Reaktion	brak zabarwienia keine Reaktion	jasnoczekoladowe hell-schokoladenbr.
— <i>negator</i> (Pers. ex Fr.) Karst.	las miesznany, pod sosnami Mischwald mit Kiefern	P — Zakrzów k. Wrocławia	rdzawobrązowe rost-rot	rdzawobrązowe rost-rot	kasztanowe kastanien-braun
— <i>mittissimus</i> Fr.	pod świerkami Fichtenwald	W — Vetrilo prov. Trento	niebieskie blau	niebieskie blau	czekoladowe schokoladenbraun
— <i>pallidus</i> Pers. ex Fr.	pod bukami i świerkami Buchen-Fichtenwald	W — Val Sella prov. Trento	brak zabarwienia keine Reaktion	brak zabarwienia keine Reaktion	białoniebieskie hell-blau
— <i>porninasis</i> Roll.	pod bukami i modrzewiami Buchenwald-Lärchenwald	W — Val Sella prov. Trento	brak zabarwienia keine Reaktion	brak zabarwienia keine Reaktion	brak zabarwienia keine Reaktion

— <i>pubescens</i> Fr.	torfowisko wys. pod brzoziami Hochmoor unter Birken	P — Moszne woj. Lubelskie	brak zabarwienia keine Reaktion	bladoniebieskie hell-blau	szaroniebieskie grau-blau
— <i>pyrogatus</i> Bull. ex Fr.	las mieszany Mischwald	P — Dąbrowa k. Lublina	niebieskie blau	niebieskofioletowe violett-blau	niebieskofioletowe violett-blau
— <i>quietus</i> Fr.	dąbrowa Eichenwald	P — Zakrzów k. Wrocławia	bladoniebieskie hell-blau	bladoniebieskofioł. hell-violett-blau	jasnobrazowe hell-braun
— <i>quietus</i> Fr.	dąbrowa Eichenwald	P — Dąbrowa k. Lublina	bladoniebieskie hell-blau	bladoniebieskofioł. hell-violett-blau	jasnobrazowe hell-braun
— <i>resimus</i> Fr.	pod świerkami Fichtenwald	W — Val Sella prov. Trento	bladozielone hell-grün	bladozielone hell-grün	bladozielone hell-grün
— <i>rufus</i> Scop. ex Fr.	las sosnowy Kiefernwald	P — Zakrzów k. Wrocławia	jasnoniebieskie hell-blau	fioletowe violett	czekoladowofioletowe schokolade-violett
— <i>rufus</i> Scop. ex Fr.	las sosnowy Kiefernwald	P — Zakrzów k. Wrocławia	jasnoniebieskie hell-blau	fioletowe violett	brunatnofioletowe braun-violett
— <i>rufus</i> Scop. ex Fr.	las mieszany, pod sosnami Mischwald mit Kiefern	W — Albere prov. Trento	jasnoniebieskie hell-blau	fioletowe violett	brunatnofioletowe braun-violett
— <i>rufus</i> Scop. ex Fr.	las mieszany, pod sosnami Mischwald mit Kiefern	P — Radlin woj. Kieleckie	jasnoniebieskie hell-blau	jasnofioletowe hell-violett	brunatnofioletowe braun-violett
— <i>rufus</i> Scop. ex Fr.	las mieszany, pod sosnami Mischwald mit Kiefern	P — Puszcza Kampi- noska	jasnoniebieskie hell-blau	fioletowe violett	brunatnofioletowe braun-violett
— <i>salmonicolor</i> Heim et Led.	las sosnowo-bukowy Kiefern-Buchenwald	W — Levico prov. Trento	jasnozielone hell-grün	jasnozielone hell-grün	zielone grün
— <i>semisanquifolius</i> Heim et Led.	las świerkowo-bukowy Fichten-Buchenwald	A — Innsbruck	zielone grün	zielone grün	zielone grün
— <i>sanguifolius</i> Pauter ex Fr.	las sosnowo-bukowy Kiefern-Buchenwald	W — Levico prov. Trento	jasnozielone hell-grün	jasnozielone hell-grün	jasnozielone hell-grün
— <i>scrobiculatus</i> Scop. ex Fr.	las świerkowo-bukowy z sosną — Fichten- Buchenwald	A — Innsbruck	niebieskie blau	ciemnoniebieskie dunkel-blau	ciemnoniebieskie dunkel-blau
— <i>serifolius</i> DC. ex Fr.	las dębowy Eichenwald	P — Dąbrowa k. Lublina	brak zabarwienia keine Reaktion	brak zabarwienia keine Reaktion	bladozółte hell-gelb
— <i>theogatus</i> Bull. ex Fr.	pod brzoziami wśród tor- fowców — Birkenwald mit <i>Sphagnum</i>	P — Puszcza Kampi- noska	jasnożółte hell-gelb	jasnożółte hell-gelb	żółto-brązowe gelb-braun
— <i>viduus</i> Fr.	las mieszany, pod olchami Mischwald mit Erlen	W — Calceanico, prov. Trento	brak zabarwienia keine Reaktion	bladooliwkowe hell-oliv	oliwkowe olivbraun
— <i>vellerens</i> Fr.	las mieszany Mischwald	P — Puszcza Kampi- noska	jasnoniebieskie hell-blau	niebieskie blau	ciemnoniebieskie dunkel-blau
— <i>vellerens</i> Fr.	las bukowo-sosnowy Buchen-Kiefernwald	P — Trzebnica k. Wrocławia	jasnoniebieskie hell-blau	niebieskie blau	ciemnoniebieskie dunkel-blau

Legenda — Legende: A — Austria (Oesterreich); W — Włochy (Italia); P — Polska (Polen); woj. (Bezirk); k. (bei).

w przypadku 22 gatunków. Wśród nich były wszystkie te, u których metodami chemicznymi stwierdzono obecność seskwiterpenów (Benešova, Herout, List, Daniewski, Thoren i in. l.c.). Na tej podstawie nie można oczywiście stwierdzić, czy grzyby jeszcze nie przeanalizowane są bogate w seskwiterpeny względnie azuleny. Odpowiedzi na to pytanie mogą udzielić tylko badania chromatograficzne. Wykorzystując jednak dość stały i prawie niezależny od siedliska, z którego pochodziły owocniki, charakter uzyskanych reakcji, można wysunąć pewne wnioski co do stopni powinowactwa poszczególnych grup gatunków.

Stale powtarzające się, dość jednolite zabarwienie zielone odczynnika EP u gatunków *Lactarius semisanguifluus*, *L. sanguifluus*, *L. salmonicolor* oraz *L. deterrimus*, zdają się potwierdzać bliskie pokrewieństwo tych gatunków lub sugerować, że mogą to być formy *Lactarius deliciosus* L. ex Fr o mleku czerwonym mniej lub bardziej intensywnie zieloniejącym i *Lactarius sanguifluus* Fr. o mleku szybko purpurowiejącym. Do podobnego wniosku doszedł również Schmitt (1973) stwierdzając, że *L. sanguifluus* i *L. semisanguifluus* różnią się wyraźnie od *L. deliciosus*, *L. deterrimus* i *L. salmonicolor* zawartością 14-hydroksyguai-1,3,5,9,11-pentanu oraz laktarowioliny. Tę ostatnią syntetyzuje spośród wszystkich gatunków o czerwonym mleczku tylko *L. sanguifluus*. Schmitt przypuszcza więc, że *L. deliciosus*, *L. deterrimus* i *L. salmonicolor* są tylko mikryzowymi formami *Lactarius deliciosus* s. Fries, z których opisany przez Grögera (1968) *L. deterrimus* powinien być uważany za formę związaną ze świerkami, natomiast *L. salmonicolor* opisany przez Heima i Leclaira za formę, albo związaną ze sosnami, albo nie wykazującą bliżej określonych wymagań ekologicznych. Zgodne jest to z sugestiami Vasilkova (1948) i Smotlacha (1945), którzy na podstawie wyglądu owocników, a przede wszystkim charakterystyki siedliska, na którym one rosły, wyróżniają dwie (Vasilkov) względnie trzy (Smotlacha) odmiany *Lactarius deliciosus* Fr., tj odmianę świerkową (var. *piceus* Sm.), sosnową (var. *pinicola* Sm.), oraz jodłową (var. *abietinus* Sm.). Do podobnych wyników dochodzi Schaefer (1970) zachowujący nazwę *Lactarius deliciosus* dla grzybów z drzewostanów świerkowych i kreujący nową nazwę — *Lactarius pinicola* (Sm.) Schaefer dla grzybów z drzewostanów sosnowych. Jego zdaniem jest to gatunek identyczny z *L. deliciosus* Fr. var. *pinicola* sensu Smotlacha.

Najintensywniejsze niebieskie zabarwienie odczynnika EP uzyskano dla gatunków: *Lactarius vellereus*, *L. scrobiculatus*, *L. chrysorrhoeus* i *L. cremor*. Przypuszczać więc można, że są to gatunki najbogatsze w proazuleny względnie seskwiterpeny, co w pewnym stopniu znajduje potwierdzenie w wynikach badań Lista i Hackenberga (1973).

Podobieństwo cech chemicznych znajduje w tym wypadku potwierdzenie w podobieństwie cech morfologicznych. Trzy bowiem spośród tych gatunków — *L. vellereus*, *L. scrobiculatus* i *L. chrysorrhoeus* — należą, według systemu Friesa (1874), do jednego szczepu *Piperites*.

Interesująco przedstawiają się wyniki reakcji z odczynnikiem EP u gatunków: *L. lacunarum*, *L. cyathula*, *L. pubescens* i *L. badiosanguineus*. Te, różnie zresztą interpretowane gatunki, mimo dużego podobieństwa makroskopowego owocników, reprezentują grupę niejednorodną pod względem charakteru reakcji z odczynnikiem EP.

W przypadku zbadanych owocników *Lactarius rufus* pochodzących z pięciu różnych siedlisk stwierdzono identyczne reakcje barwne z odczynnikiem EP. Wnioskować należy więc, że gatunek ten nie ma tendencji do tworzenia jakichkolwiek form ekologicznych.

Spśród wszystkich przebadanych gatunków odczynnik EP nie dawał pozytywnych reakcji na obecność związków azulenowych tylko u *Lactarius helvus*, *L. necator*, *L. camphoratus*, *L. thejogalus* i *L. porninsis*. Na podstawie wstępnych wyników analiz chemicznych wykonanych przez Daniewskiego (informacja ustna) z gatunkami *L. helvus* i *L. necator* nie można jednak wykluczyć u nich obecności bliżej jeszcze nie określonych seskwiterpenów.

LITERATURA

- Benešova V., Herout V., Šorm F., 1954, O rostlinnych látkach III. O látkach z ryzce praveho (*Lactarius deliciosus* L.). Chem. Listy 48: 882-885.
- Bondarcev A. S., 1958, Trutowye griby evropejskoj czasti ZSRR i Kavkaza. Izd. Akad. Nauk, Moskwa-Leningrad.
- Daniewski W., Kocór M., 1970, Isolation and structure of some new sesquiterpens from *Lactarius rufus*. Bull. Acad. Polon. Sci. 18: 585-593.
- Daniewski W., Kocór M., 1971, Constituents of higher fungi II. Structure of lactarorufin A. Bull. Acad. Polon. Sci. 19: 553-561.
- Eugster C. H., 1973, Pilzfarbstoffe, ein Überblick aus chemischer Sicht mit besonderer Berücksichtigung der Russulae. Zeitschr. Pilzk. 39: 45-96.
- Fries E. M., 1874, *Hymenomyces Europaei*. Upsaliae.
- Gröger Fr., 1968, Zur Kenntnis von *Lactarius semisanguifluus* Heim et Leclair. Westf. Pilzbr. 7: 3-11.
- Jerzmanowska Z., 1967, Substancje roślinne. Metody wyodrębniania. Warszawa.
- List P. H., Hackenberg H., 1973, Die scharf schmeckenden Stoffe von *Lactarius vellereus* Fr., Zeitschr. Pilzk. 39: 97-102.
- Magnusson G., Thoren S., Wickberg B., 1972, Fungal extractives I. Structure of a sesquiterpene dialdehyde from *Lactarius* by computer simulation of the NMR Spectrum. Tetrahedron Lett. 12: 1105-1108.
- Magnusson G., Thoren S., Drakenberg T., 1973, Fungal extractives IV. Structure of a novel sesquiterpene dialdehyde from *Lactarius* by spectroscopic methods. Tetrahedron Lett. 29: 1621-1624.

- Magnusson G., Thoren S., 1973, Fungal extractives III. Two sesquiterpene lactones from *Lactarius*. Acta Chem. Scand. 37: 1573-1578.
- V. The stereostructure of two sesquiterpene lactones from *Lactarius*, ditto 27: 2396-2398.
- Neuhoff W., 1956. Die Milchlinge. Bad Heilbrunn.
- Schaefer Zd., 1970, Beitrag zum Studium der Milchlinge. Schw. Z. Pilzk. 48: 105-106, 138-143.
- Schmitt J. A., 1973, Chemotaxonomische morphologische und pflanzensoziologische Studien an mitteleuropaischen *Lactarius*-Arten der Sektion *Dapetes* Fr. Zeitsch. Pilzk. 39: 219-244.
- Šorm F., Benešova V., Herout V., 1954, Über die Struktur des lactarazolens und des lactaroviols. Coll. Czech. chem. Commun. 19: 357.
- Šorm F., Benešova V., Krupička J., Šneberk V., Dolejš L., Herout V., Sicher J., 1955. The structure of Lactarviolin. Chem. Ind. 1511.
- Smotlacha F., 1945 Atlas hub jedlych a jedovatych. Praha.
- Stahl E., 1953, Mikro-Azulennachweismethode für Schafgarben. Deutsche Apoth. Z. 93: 197-200.
- Thoren S., 1974, Studies on some sesquiterpenes from *Lactarius*. Organic Chem. 2, Lund Inst, Techn: 2-33.
- Turowska J., Kohlmünzer S., Molik-Węgiel J., 1969, The search for physiologically active constituents of some domestic species of higher fungi II. Dissert. Pharm. Pharmacol. 21: 417-423.
- Vokáč K., Samek Z., Herout V., Šorm F., 1970, On terpenes CCV. The structure of two native orange substances from *Lactarius deliciosus* L. Coll. Czech. chem. Commun. 35: 1296.
- Willstaedt H., 1935, Über die Farbstoffe des echten Reizkers (*Lactarius deliciosus* L.). Ber. Deutsch. Chem. Ges. 68: 333.
- Willstaedt H., 1939, Zur Konstitution des Lactaroviols. Atti X. Congr. Intern. Chimica, Roma 3, 390.
- Vasilkov B. P., 1948. Siedobnyje i jadowityje griby ZSRR. Moskwa.

Versuche mit ER Reagenz als Azulennachweis bei *Lactarius*-Arten für taksonomische Zwecke

Zusammenfassung

Es wurden 29 *Lactarius*-Arten (größtenteils in trockenem Zustand) von verschiedenen Standorten mit dem EP Reagens geprüft. In 22 Arten davon hatte man positive Azulenreaktion bekommen, d.h. mindestens in einen von den drei geprüften Fällen ist blaue oder grüne Farbe mit Reagenz erschienen.

Bei den Arten der *Dapetes*-Gruppe und bei *Lactarius vellereus*, *scrobiculatus*, *chrysorrhoeus* und *cremor* gab das EP Reagens die stärkste positive Reaktion — blau bis intensiv blau. Das stimmt mit den Ergebnissen von Schmitt (1974), List (1973) u. an Vorschler überein, die aus einigen dieser Arten verdazulene, laktarazolene laktrovioli n.u.a sesquiterpenen isoliert haben.

Lactarius rufus, von welchen Daniewski und Kocór (1970, 1971) vier laktarorufin isoliert hatten, hat fast desgleiche unabhängig vom Standort azulenpositive Reaktion gegeben. *Lactarius helvus*, *L. necator*, *L. porninsis*, *L. camphoratus* und *L. thejogalus* haben keine azulenpositive Reaktion gezeigt.