

Leuchtende Pilze

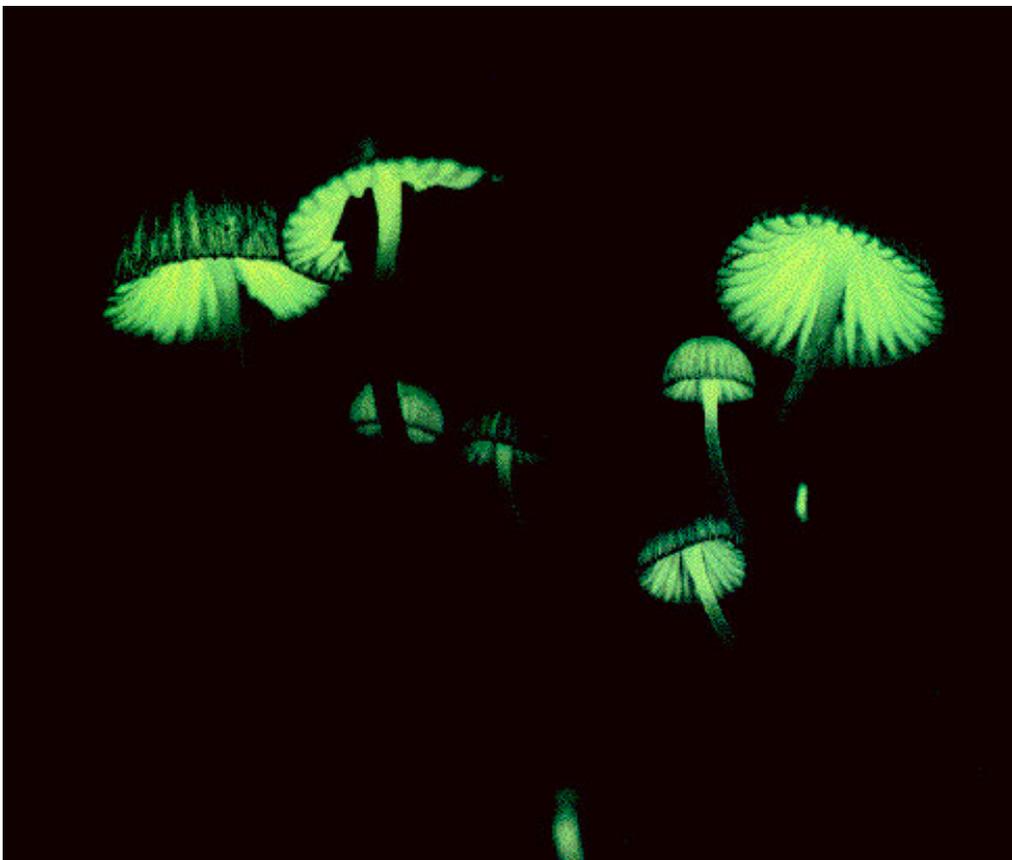
Silke Affinass

11.1.2005

Prof. Dr. A. Kesel

Internationaler Studiengang Bionik

Hochschule Bremen



Inhaltsverzeichnis

| | |
|---|-----------|
| ZUSAMMENFASSUNG | 2 |
| MOTIVATION | 2 |
| PILZAUFBAU..... | 3 |
| LUMINESZENTE PILZE..... | 3 |
| HISTORISCHES..... | 5 |
| BIOLOGISCHE BEDEUTUNG DES LEUCHTENS..... | 5 |
| EIGENSCHAFTEN DES LEUCHTENS..... | 6 |
| REAKTIONSMEECHANISMUS | 7 |
| ISOLIERTE LEUCHTSTOFFE | 8 |
| LITERATUR | 10 |

Zusammenfassung

Der Körperbau der Pilze ist sehr stark auf ihre Ernährungsweise, speziell die Verdauung außerhalb ihrer selbst, ausgerichtet. Sie bestehen aus Hyphen, d.h. Zellfäden, die aus aneinandergereihten Einzelzellen bestehen. Diese bilden das Pilzgeflecht, das sogenannte Mycel und in verdichteter Form den Fruchtkörper. Bei biolumineszenten Pilzen können der Fruchtkörper, das Mycel oder beides leuchten. Das Emissionsmaximum liegt bei ca. 528 nm. Das Leuchten ist nach Trocknung, Gefrieren oder mechanischer Zerstörung des Pilzes nicht mehr vorhanden, kann jedoch teilweise regeneriert werden. Biolumineszente Pilze wurden praktisch eingesetzt, z.B. als Schmuck und Erkennung in den Tropen oder als sichere Beleuchtung und Wegmarkierung in Form des leuchtenden Holzes. Die heutige Bedeutung des Leuchtens für die Pilze ist noch nicht geklärt, jedoch ist die Leuchtreaktion vor ca. 2,5 Milliarden Jahren als Schutzreaktion gegen den Sauerstoff entstanden. Es handelt sich um eine Luziferin-Luziferase-Reaktion, deren Reaktionsmechanismus dem der Bakterienlumineszenz äußerst ähnlich ist. Es werden H^+ -Ionen aus dem Zellstoffwechsel auf einen Elektronenakzeptor übertragen, der somit das sogenannte Luziferin bildet. Das Luziferin reagiert anschließend mit Sauerstoff in Anwesenheit von Luziferase zu Oxyluziferin im angeregten Zustand. Beim Übergang in den Grundzustand wird Licht freigesetzt. Verschiedene Forschergruppen bemühten sich um die Isolation des Pilzluziferins. Unter anderem gelang es, die chemolumineszente Substanz Panal aus *Panellus stypticus* und das fluoreszierende Lampteroflavin aus *Lampteromyces japonicus* zu isolieren und letzteres zu synthetisieren. Das Emissionsspektrum von Lampteroflavin stimmt sehr gut mit dem von *L. japonicus* überein.

Motivation

Die leuchtenden Pilze stellen innerhalb der biolumineszenten Lebewesen eine relativ unbekannt und wenig erforschte Gruppe dar. Aufgrund der immer aktueller werdenden Thematik des kalten Lichts sollte man sie jedoch nicht weiterhin außer acht lassen.

Das Ziel dieses Referates ist es nun, diese Lebewesen mit ihrer speziellen Fähigkeit des permanenten Leuchtens in das Licht der Öffentlichkeit zu rücken.

Pilzaufbau

Pilze dringen zur Nahrungsaufnahme in ihre Beute ein, scheiden Verdauungsenzyme aus und nehmen dann die Nahrung in flüssiger Form auf. Diese Art der Verdauung wirkt sich stark auf den Aufbau der Pilze aus. Der Pilzkörper an sich ist ein weit verzweigtes Geflecht aus dünnen Fäden, den Hyphen. Diese bestehen aus einer Aneinanderreihung von langgestreckten Zellen. Das aus Hyphen bestehende Geflecht wird Mycel genannt, der eigentliche Pilz. Auch der Fruchtkörper besteht aus Hyphen, doch sind diese hier wesentlich kompakter zusammengelagert als im Mycel und werden von Chitin stabilisiert. Der Fruchtkörper ist das Fortpflanzungsorgan des Pilzes. An ihm werden die Lamellen und Sporen ausgebildet.

Lumineszente Pilze

Weltweit sind ca. 40 leuchtende Arten bekannt, die meisten in den Gattungen *Pleurotus* und *Mycena*. [1] Es gibt drei verschiedene Typen von leuchtenden Pilzen:

- 1) Pilze, bei denen nur der Fruchtkörper leuchtet
- 2) Pilze, bei denen Fruchtkörper und Mycel leuchten
- 3) Pilze, bei denen nur das Mycel leuchtet [2].

1) Fruchtkörper leuchtet

Lumineszenz im Fruchtkörper wird meistens in den Lamellen beobachtet, wobei die Sporen ebenfalls leuchten können. Arten mit leuchtendem Fruchtkörper sind vor allem im fernen Osten und in den Tropen zu finden [3]. Dort leuchten die Pilze wie einige Helmlinge (z.B. *Mycena chlorophos*) in teilweise hoher Intensität [4].



Abb. 1. *Mycena chlorophos*; A) tagsüber, B) Biolumineszenz in den Fruchtkörpern [4]

2) Fruchtkörper und Mycel leuchtet

Arten mit luminösem Fruchtkörper haben meistens auch leuchtende Mycelia. In Europa gibt es den giftigen Ölbaum-Trichterling (*Pleurotus olearis* oder *Omphalotus olearis*), bei dem die sporentragende Schicht auf der Hutunterseite des Fruchtkörpers und das Mycel leuchten. Dieser Pilz ist vor allem im Mittelmeerraum zu finden, aber auch in südlicher gelegenen Gebieten und in Nordamerika verbreitet, wo er unter dem Namen *Clitocybe illudens* auftritt. In Nordamerika gibt es als weiteren Vertreter den Zwergmuschling (*Panellus stypticus* oder *Panus stypticus luminescens*). Die Pilze derselben Art in Europa und Asien zeigen jedoch keine Biolumineszenz.

In Japan kommt der Pilz Tsuikyo-Take (*Lampteromyces japonicus*) vor, der im englischen Moonlight-Mushroom genannt wird. Dies ist ein Giftpilz, der oft mit zwei anderen, essbaren Pilzen verwechselt wird. Er wächst auf Baumstümpfen von toten Buchen und ist durch ein helles, grünes Licht gekennzeichnet, das von den Lamellen auf der Hutunterseite und dem Mycel ausgeht [2,3].

3) Mycel leuchtet

Ein Beispiel für Pilze mit Leuchterscheinungen im Mycel ist der in Europa vorkommende Hallimasch (*Armillaria mellea*). In den Niederlanden ist es vor allem dieser Pilz, der für das Phänomen des leuchtenden Holzes verantwortlich ist.

A



B

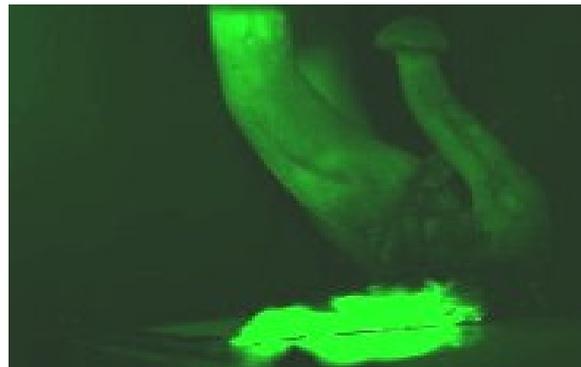


Abb. 2. *Armillarielle mellea*; A) tagsüber [4], B) Biolumineszenz im Mycel [5]

Allgemein lässt sich feststellen, dass in den heißeren Gebieten eher die Fruchtkörper leuchten und sich die Lumineszenz in kälteren Gebieten zum Mycel hin verschiebt. (Daten aus [6])

Historisches

Leuchtende Pilze

In einigen Gebieten Indonesiens fertigen Mädchen sich Halsketten aus leuchtenden Pilzen oder stecken sich solche Pilze als Schmuck in die Haare. Von tropischen Eingeborenen ist bekannt, dass sie leuchtende Pilze am Körper befestigen und auf diese Weise Leute durch den Wald geführt werden [7,8].

Leuchtendes Holz

Das Phänomen des leuchtenden Holzes ist schon lange bekannt. Schon von Aristoteles und Platon wurde es beschrieben [2,1]. Befallenes Holz wurde im 17.Jh. als sichere Beleuchtung für Heuböden oder in Winternächten verwendet [2] und nordische Völker benutzten es zur Wegmarkierung [8].

Kohlegruben

In Kohlegruben tritt die durch den Hallimasch hervorgerufene Lichtfäule auf, die durch bläulich leuchtende Flecke an den Stützbalken gekennzeichnet ist. Um die Vermutung zu bestätigen, dass das Leuchten auf den, auf Hölzern verbreiteten Pilz *A. mellea*, zurückzuführen ist, führte *Molisch* 1900 Züchtungsversuche durch und konnte Leuchterscheinungen beobachten, die vermehrt in der Farbänderungsphase des Mycels auftraten [8].

Leuchtende Blätter

Bei leuchtenden Blättern handelt es sich um verwesendes Laub, in Deutschland meist von Ahorn, Buche, Eiche oder Fichte. Dieses befindet sich in einem bestimmten Zersetzungszustand, der durch die netzartig durchbrochenen Blätter gekennzeichnet ist. Sie senden ein milchig-weißes Licht aus, wobei das Pilzmycel leuchtet. Das Leuchten wird vermutlich von Pilzen der Art *Mycena* hervorgerufen. Leuchtende Blätter wurden auch in den gemäßigten Zonen und den Tropen nachgewiesen [2, 3,9].

Biologische Bedeutung des Leuchtens

Biolumineszenz wurde ursprünglich von Lebewesen entwickelt, um das frühere Stoffwechselfgift Sauerstoff zu vernichten. Diesen erzeugten die ersten

photosynthetischen Lebewesen vor ca. 2,5 Milliarden Jahren, wodurch es zu einer Anreicherung des Sauerstoffs in der Atmosphäre kam. Die heutige Bedeutung des Leuchtens bei Pilzen ist noch nicht geklärt [1].

Eigenschaften des Leuchtens

Das Leuchten des Mycels lässt sich in dessen Wachstumsphase gut beobachten. Die leuchtenden Fruchtkörper bilden sich nachdem das Holz durchwachsen ist [1].

Das Emissionsmaximum vieler Pilze liegt bei $\lambda_{\max} = 528 \text{ nm}$ (grün).

Im allgemeinen gilt, dass Fruchtkörper, die, egal auf welche Weise, getrocknet worden sind, kein Leuchten mehr zeigen. Bei Befeuchtung mit Wasser erfolgt jedoch eine Regeneration der Lumineszenz zu nahezu 100%. Einmal gefrorene Pilze erreichen hingegen nur noch eine sehr geringe Lumineszenzkraft. Bei mechanischer Zerstörung, z.B. durch Zerreiben der Pilze, erlischt die Lumineszenz endgültig [2].

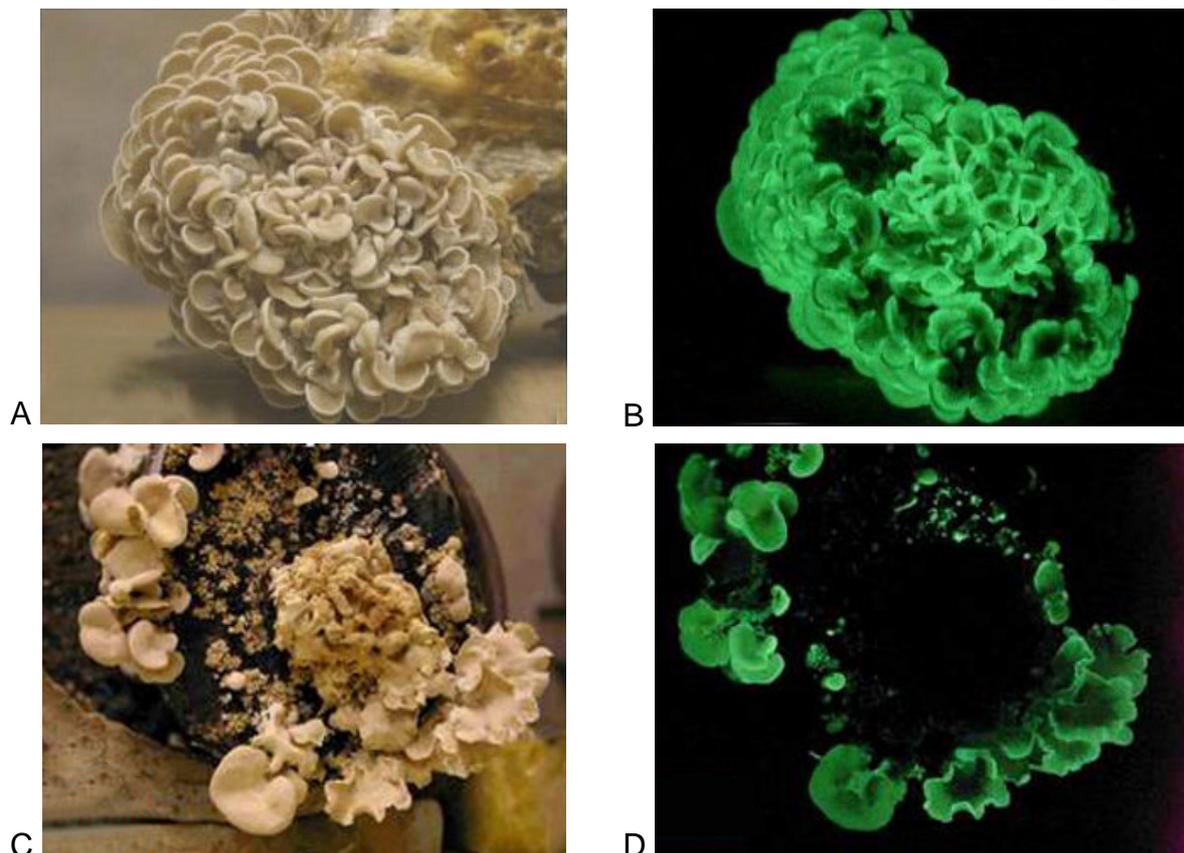


Abb. 3. *Panellus stypticus* A) tagsüber in feuchtem Zustand; B) Biolumineszenz in den Fruchtkörpern in feuchtem Zustand; C) tagsüber in eingetrocknetem Zustand; D) Biolumineszenz in den Fruchtkörpern in eingetrocknetem Zustand (nach Herbert Wurth)

Reaktionsmechanismus

Die Biolumineszenz ist eine Untergruppe der Chemolumineszenz, bei der die lichterzeugende Reaktion in einem Organismus stattfindet [9]. Es ist also die Fähigkeit von Lebewesen, selbst oder mit Hilfe von Symbionten Licht zu erzeugen. Chemolumineszenz ist definiert als chemische Reaktion, bei der Substanzen entstehen, die durch Zutritt von Sauerstoff eine Oxidation erfahren und einen Teil der freiwerdenden Energie in Form einer sichtbaren Strahlung also Licht entlassen. Es handelt sich dabei stets um kaltes Licht, d.h. Lichterscheinungen, die nicht an Wärmeentwicklung gekoppelt sind [8].

Die Luziferin-Luziferase-Reaktion



Abb. 4. Reaktionsgleichung der Luziferin-Luziferase-Reaktion (nach [10])

Die Substanz Luziferin reagiert mit Sauerstoff, wobei die Reaktion durch die Luziferase, ein Enzym, katalysiert wird. Als Reaktionsprodukt entsteht Oxyluziferin. Die dabei freiwerdende Energie wird in Form von Licht abgegeben. Das Licht erzeugt keine Wärme und ist deswegen sehr effektiv - 90% der eingesetzten Energie werden auch in Leuchtkraft umgesetzt [11]. Da das Luziferin während der Reaktion verbraucht wird, muß es entweder durch die Nahrung aufgenommen oder im Körper synthetisiert werden [9].

Schema der Pilzlumineszenz

Die Pilzlumineszenz zeigt eine beträchtliche Ähnlichkeit mit der bakteriellen Lumineszenz.

Es werden H^+ -Ionen aus dem Zellstoffwechsel auf einen Stoff X übertragen. Der Stoff X mit dem angelagerten Wasserstoff bildet das Luziferin. Es folgt die Luziferin-Luziferase-Reaktion, bei der Oxyluziferin in einem elektronisch angeregten Zustand entsteht. Beim Übergang in den Grundzustand wird Energie in Form von Licht frei [2].

Für die Pilzlumineszenz formulierten *Airth* und seine Mitarbeiter folgendes Schema:

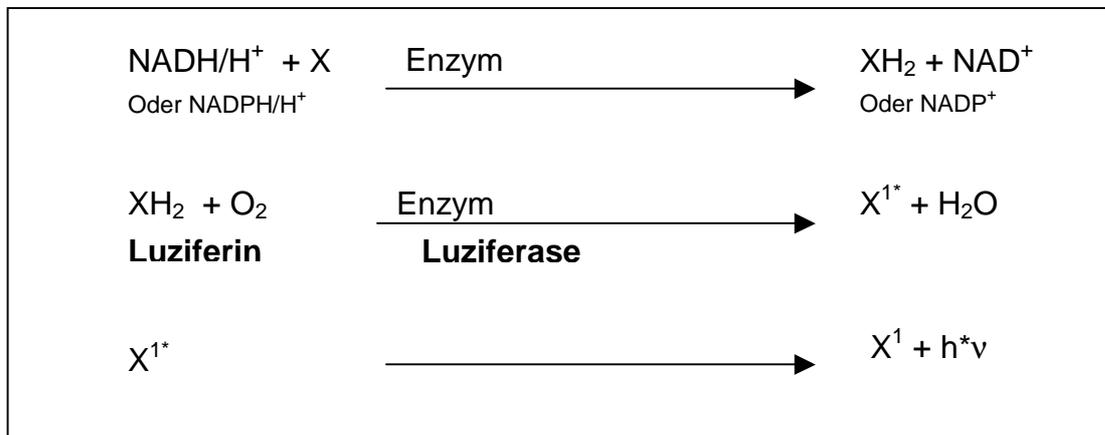


Abb. 5. Schema der Pilzlumineszenz nach *Airth*; X: Elektronenakzeptor; XH₂ : Luziferin; X^{1*}: Oxyluziferin in elektronisch angeregtem Zustand; X¹: Oxyluziferin im Grundzustand (nach [3] - überarbeitet).

Isolierte Leuchtstoffe

Zum ersten Mal gelang eine In-vitro-Isolation der leuchtenden Komponenten 1959 durch *Airth* und *Mc Elroy*. Den beiden Forschern gelang der Nachweis, dass es sich dabei um eine Luziferin-Luziferase-Reaktion handelt, bei der zwei Enzyme beteiligt sind. Ein luminenter Strang von *P. stypticus* enthält beide Enzyme. In nicht-leuchtenden Pilzen dieser Spezies waren diese beiden Enzyme entweder nicht vorhanden oder inaktiv. [2,3]

Panal als mögliche Vorstufe des Pilzluziferins

1988 beschrieben *Nakamura*, *Kishi* und *Shimomura*, dass ein wässriger Rohextrakt von *P. stypticus* Chemolumineszenz zeigt [2]. Die isolierte Substanz wurde *Panal* genannt.

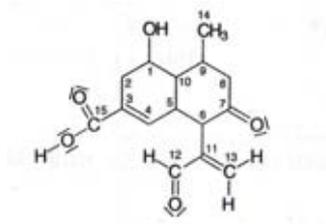


Abb. 6. Strukturformel des *Panal* [2]

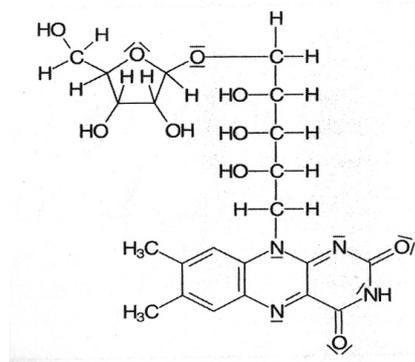
Durch die Zugabe von 30%-igem Methanol, einem Tensid (z.B. CTAB), Eisen(II)-Salz und Wasserstoffperoxid kann die Chemolumineszenz des *Panal* hervorgerufen

werden. Das Emissionsmaximum liegt zwischen $\lambda_{\text{max}} = 485 \text{ nm}$ und $\lambda_{\text{max}} = 585 \text{ nm}$, abhängig vom eingesetzten Tensid [2].

Der Pilzleuchtstoff Lampteroflavin

Isobe, Uyakul und *Goto* isolierten in den Jahren 1988 – 1990 aus den Lamellen frischer Fruchtkörper von *L. japonicus* eine stark grün fluoreszierende Verbindung. Das Fluoreszenzspektrum des Lampteroflavin stimmt praktisch vollständig mit dem von *L. japonicus* überein [2]. Die Strukturformel konnte später bestimmt werden [12].

A



B

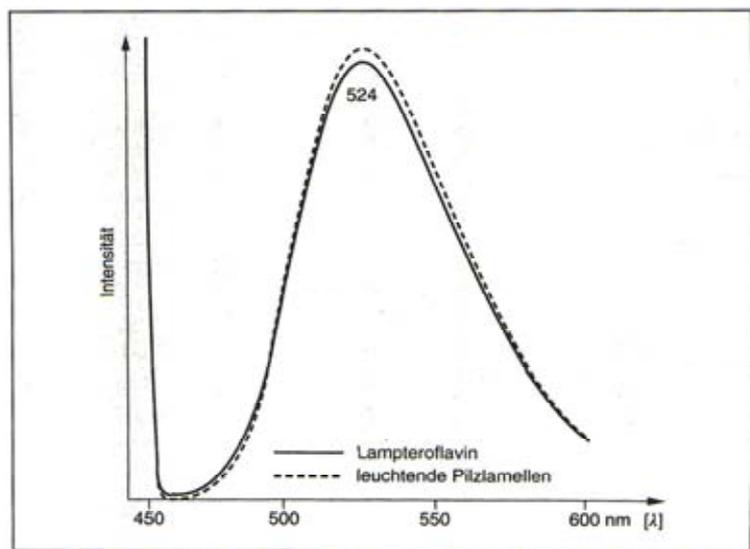


Abb. 8. Lampteroflavin; A) Strukturformel B) Biolumineszenzspektrum des „in-vitro“ vorliegenden Lampteroflavins im Vergleich mit dem „in-vivo“ vorhandenen Leuchtstoff [2]

Lampteroflavin konnte inzwischen erfolgreich von *Takahashi, Isobe*, und *Goto* synthetisiert werden. Dabei wurde geschütztes Riboflavin mit Ribofuranosyl glykosyliert. Die Chlorethyl-Gruppe, die unter neutralen Bedingungen entfernt werden konnte, trug zu dieser Synthese bei [13].

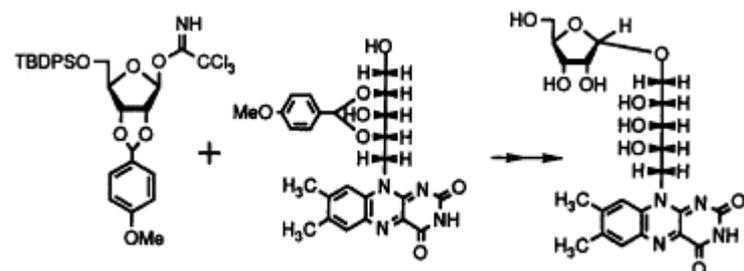


Abb. 9. Synthese von Lampteroflavin aus Riboflavin und Ribofurannosyl [13]

Literatur

- 1) <http://www.mykonet.ch>, 10.11.04
- 2) Brandl, H. (2000): Leuchtende Pilze und Pilzleuchtstoffe. Praxis der Naturwissenschaften /Chemie, Bd.49 (Heft 3), S.15-18, Chemie-Köln, Aulis-Verlag, Deubner
- 3) Herring, P.J. (1978): Bioluminescence In Action. Academic Press, London, New York, San Francisco
- 4) <http://www.pilzepilze.de/intmush.html>, 03.11.2004
- 5) <http://www.sensovation.com/docs/>, 10.11.04
- 6) Wassink, E.C. (1979): On fungus luminescence. Landbouwhogeschool Wageningen, Wageningen, Nederland
- 7) http://www.uky.edu/Agriculture/kpn/kpn_00/pn001023.htm, 3.11.2004
- 8) Schlittler, J. (1975): Das große Buch der Pilze. Freiburger Graphische Betriebe, Etablissements Gals, Liechtenstein, Verlag Herder, Freiburg im Breisgau
- 9) <http://www.lifesci.ucsb.edu/~biolum/myth.html>, 10.11.2004
- 10) Brandl, H. (1982): Biologische und chemische Aspekte der Biolumineszenz (I). Praxis der Naturwissenschaften /Chemie, Bd.31 (Heft 1), S.1-12, Chemie-Köln, Aulis-Verlag, Deubner
- 11) <http://www.lebendes-licht.de/html/licht2.html>, 10.11.04
- 12) Isobe M., Uyakul D., Goto T. (1987): *Lampteromyces* bioluminescence - 2 lampteroflavin, a light emitter in the luminous mushroom, *L. japonicus*. Tetrahedron Vol. 29 (10), 1169-1172
- 13) Takahashi H., Isobe M., Goto T. (1991): Chemical synthesis of lampteroflavin as light emitter in the luminous mushroom, *lampteromyces japonicus*. Tetrahedron Vol. 47 (32), 6215-6222