

Reagentes para determinação de macrofungos

Aplicação

Amanita

[Reagente de Melzer](#): esporos amilóides subgénero *Lepidella*

[KOH](#): reacção amarela no chapéu

Hygrophorus

[KOH](#): reacção amarela no chapéu

Humidicutis

[KOH](#): descora o chapéu

Laccaria

[Floxina B](#): medição dos esporos

Tricholomataceae

[Reagente de Henry](#): rosa a lilás, ou verde

[Floxina B](#): coloração dos esporos

Tricholomatae (Tricholoma, Tricholomopsis)

[Sulfoformol](#): reacção positiva verde

Tricholoma

[Azul de cresilo](#): metacromatismo dos basídios.

Clitocybe

[Guaiaco](#): as espécies tóxicas do grupo de *C. dealbata* dão reacção positiva.

Clitocybe s.l. e Lepista

[Azul de anilina](#): esporos

Melanoleuca

[Azul de cresilo](#): metacromatismo das paredes dos cistídeos.

Marasmius, Crinipellis, Cystoderma

[Reagente de Melzer](#): trama dextrinóide nalgumas espécies de *Marasmius* e *Crinipellis*.

[KOH](#) (ou [NaOH](#)) diluído a 3–5%: dermatocistos de *Crinipellis* acinzentados, hifas da cutícula (ou antes, véu) castanho-avermelhadas nalguns *Cystoderma*.

Lyophylloideae (Lyophyllum, Tephrocybe, Calocybe, Hypsizygus, Termitomyces, Asterophora, Rugosomyces)

Granulação siderófila dos basídios com [carmim acético](#)

Mycena

[Reagente de Melzer](#): esporos amilóides nalguns grupos; trama dextrinóide.

[Lugol](#): carne vivescente na maior parte dos casos

[Azul de cresilo](#): metacromatismo das hifas do pé de algumas espécies

Xeromphalina

[KOH](#): trama castanho avermelhado em algumas espécies

Lepioteae (Melanophyllum, Cystolepiota, Echinoderma, Lepiota)

[Reagente de Melzer](#): endósporo dextrinóide

Leucocoprineae (Chlorophyllum, Sericeomyces, Leucoagaricus, Leucocoprinus, Macrolepiota, Cystolepiota)

[Azul de cresilo](#) (Cresyl Blue): endósporo com metacromatismo vermelho violáceo

Leucoagaricus

[NH₃](#): esverdeado nalgumas espécies (lâminas)

Agaricus

Óleo de anilina (+HNO₃ diluído dá reacção de Schaeffer): só um dos grupos cora de amarelo a laranja
[Reagente de Henry](#): discriminação entre espécies cuja trama muda para amarelo

Strophariaceae (mas também algumas Panæoleae)

[NH₃](#) (também [KOH](#)), ou com [azul de cresilo](#) (Cresyl Blue) láctico: crisocistídeos (respectivamente, reacção amarela ou azul dos corpos internos).

Bolbitiaceae

[NH₃](#): amarelo dourado ou oliváceo nalgumas espécies; esporos escurecem

Agrocybe

[Azul de cresilo](#): metacromatismo da trama nalgumas espécies.

Cortinariaceae

[Azul de cresilo](#): metacromatismo de certos gleocistídeos

[AgNO₃](#): coloração negra

Cortinarius

[KOH](#) ou [NaOH](#) a 20%: vermelho a castanho muito escuro no subgénero *Cortinarius*.

Estes mesmos reagentes (ou [NH₃](#)), e [lugol](#): outras reacções diagnosticantes das secções do subgénero *Phlegmacium*, e ainda em *Dermocybe* e *Telamonia*.

[KOH](#) a 2–5%: contrastação das ornamentações dos esporos

[Reagente de Melzer](#): reacção dextrinóide em espécies de *Telamonia*.

[Sulfovanilina](#): cistídeos laranja-acastanhado (sobre fundo rosa) em algumas espécies (v. [reagentes semelhantes](#))

[FeCl₃](#) detecta a presença de orelanina (mancha escura com auréola roxa)

[HCl](#) a 37% cora alguns elementos terminais de vermelho ou verde

[Reagente de Henry](#): reacção positiva rosado ou tijolo nalgumas espécies.

[Guaiaco](#): reacção vermelho a grená

[Água de anilina](#)

[Fenoanilina](#): intensidade e cor (rosa, violeta...)

Inocybe

[FeCl₃](#) a 20%: cores verdes no chapéu e nas lâminas

Hebeloma e Galerina

[Reagente de Melzer](#): esporos dextrinóides em várias sp.

Chroogomphus

[Reagente de Melzer](#): hifas

Reagentes para determinação de macrofungos

Paxillaceae

[NH₃](#): rosa ou roxo em algumas espécies

Boletaceae

[Reagente de Melzer](#): endósporo dextrinóide, trama do pé amilóide nalguns *Boletus* (incubar a trama dissociada 3' no corante, enxaguar e lavar 2× com hidrato de cloral e observar à lupa; a reacção positiva é violeta-azulado, se mais fraca azul acinzentado, a negativa é amarelo, esverdeado ou pardo)

[Reagente de Henry](#): reacção azul a violeta.

[NH₃](#): rosa ou roxo nalgumas espécies (ver *Xerocomus*)

Leccinum

[FeSO₄](#): coloração da carne do chapéu para verde-escuro, amarelo, cinzento, etc.

[Formaldeído](#): cora nalgumas espécies

[KOH](#): conversão do azul-turquesa na base do pé quando exposto em amarelo ± esverdeado

Xerocomus s.l. e Phylloporus

[FeSO₄](#): nalgumas espécies, coloração verde-escuro no contexto da base do pé e na superfície do chapéu.

[NH₃](#): no grupo *Subtomentosus* e em *Phylloporus*, reacção azul-esverdeada no chapéu (vapores são suficientes;

indispensável exemplares frescos; pode ficar avermelhada)

Russulaceae

[Reagente de Melzer](#): ornamentações dos esporos

[Fenoanilina](#): reacção castanho a preto

[Formaldeído](#): cora nalgumas espécies

[Sulfovanilina](#) ou [sulfobenzaldeído](#): coloração azul ou negra de pseudocistídeos e macrocistídeos

Russula

[FeSO₄](#): tons de verde ou de rosa-laranja, nalguns casos cinzento ou sem cor.

[NH₃](#): carmim nas lâminas de *R. sardonia*

[Fenol](#): tons de carmim ou castanho

[Sulfovanilina](#): tom de groselha preta na subsecção *Olivaceineae* (secção *Alutaceae*). Reacções microscópicas (que podem ser com outros [reagentes semelhantes](#)) de hifas laticíferas, dermatocistídeos, pseudocistídeos, e algumas hifas oleíferas.

[Água de anilina](#): reacção amarela.

[Tintura de guaiaco](#): reacção verde azulada, azul a roxo no pé.

[1-naftol](#): anil escuro a roxo em material fresco

[Fucsina carbólica/ácida](#) (e lavagem no solvente): coloração dos grânulos dos dermatocistídeos e hifas de Melzer.

Hydnaceae

[KOH](#): cor verde-azulada

Clavaria

[Água de anilina](#).

Poliporóides

Hifas generativas: [vermelho de Congo](#) para as paredes (hifas de ligação negativas), [azul de anilina](#) para o citoplasma; hifas esqueléticas: alguns casos de reacções amilóides, dextrinóides ([lugol](#)) ou cianófilas ([azul de anilina](#)), [vermelho de Congo](#) para as paredes.

Ascomycetes

[Lugol](#) e [Reagente de Melzer](#): reacções do ascos e das paráfises

Formulário

Sem precisarem de preparação especial

Nota: todos os desta secção têm fumos muito agressivos e causam queimaduras graves, proteger respiração.

NH₃ (ou NH₄OH) a 25% (*Leucoagaricus*, *Strophariaceae*, *Paxillaceae*, *Boletaceae*, *Bolbitiaceae*, *Cortinarius*, *Xerocomus*, *Russula*)

HCl a 37% (*Cortinarius*), HNO₃ a 65%, H₂SO₄ a 95–98% — preparação de reagentes

Formaldeído a 40% (= sol. fórmica, formalina, formol, metanal; *Leccinum*, *Lactarius*, *Russula*)

[FeSO₄](#) a 10% (*Russula*, *Lactarius*, *Leccinum*, *Xerocomus*)

10 mL: 1 g FeSO₄·7H₂O ou (mais estável) FeSO₄·(NH₄)₂SO₄ + quase 10 mL água + 2

ou 3 gotas de [H₂SO₄ diluído](#) (facilita a dissolução e previne a oxidação).

[FeCl₃](#) em HCl 0,5 N (*Inocybe*, *Cortinarius*)

10 mL: 410 µL HCl a 37% (ou 5 mL a 1 N) para 10 mL com água, dissolver 2 g (20%) ou 300 mg (3%) FeCl₃·6H₂O.

[Reagente de Melzer](#) (*Amanita*, *Marasmius*, *Crinipellis*, *Mycena*, *Lepioteae*, *Chroogomphus*, *Boletaceae*, *Cortinarius*, *Hebeloma*, *Galerina*, *Ascomycota*, *Russulaceae*)

Para 15 mL final: stock de solução iodada com 0,125 g I₂ + 0,375 g KI + 7,5 mL água.

Misturá-la 1:1 com [hidrato de cloral](#) à medida das necessidades, sem deixar envelhecer mais que 1 mês. Para evitar deterioração do reagente, tem de ser mantido num recipiente de vidro e protegido da luz. Coloração amilóide e dextrinóide:

Reagentes para determinação de macrofungos

misturar na lâmina de microscópio, com os esporos, 1 gota da solução iodada com 1 gota de hidrato de cloral, deixar reagir durante alguns minutos (pode ajudar adicionar-se 1 gota de HCl concentrado), remover líquido em excesso e cobrir com a lamela. Há quem prefira a visualização macroscópica, na margem duma massa de esporos posta em contacto com o reagente.

Lugol (*Mycena, Cortinarius, Ascomycetes, poliporóides*)

15 mL: 0,1 g I_2 + 0,2 g KI + 15 mL água, conservar em frasco escuro.

A reacção hemiamilóide (vermelho, que passa a azul se for feito prétratamento com KOH diluído) é útil em Ascomycota, e em líquenes: Helotiales, Pyrenomycetes, alguns Pezizales v.

<http://www.gbif-mycology.de/HostedSites/Baral/IodineReaction.htm>

KOH a 30 – 40% (*Amanita, Cortinarius, Crinipellis, Cystoderma, Xeromphalina, Panaeolus, Humidicutis, Hygrophorus, Russula, Strophariaceae, Hydnaceae*)

10 mL: 4 g + pelo menos 8 mL de água. Dissolve facilmente, mas cuidado, é exotérmico.

Usar diluído a metade para as cortinariáceas (muito importante, porque senão não se evidenciam as *nuances* de cor, que são diagnosticantes), e a perto de 1/10 para a cutícula de *Crinipellis* e *Cystoderma*, assim como os esporos doutras cortinariáceas.

Uma gota descora o chapéu em *Humidicutis*, cora em certos *Hygrophorus* e *Hydnaceae*.

Usar a 2–3% para re-hidratar espécimes de herbário, sendo necessário enxaguar antes de proceder às colorações. Este tratamento evidencia crisocistídeos (amarelo) nas Strophariaceae e parte de *Panaeolus*, e mostra as partes gelatinizadas com um tom prateado.

NaOH a 30 – 40% (como KOH)

10 mL: 4 g + pelo menos 8 mL de água. É necessário agitador magnético e algum tempo para completar a dissolução; é exotérmico.

Usar diluído em diversas situações (v. KOH)

Azul de cresilo/toluidina (*Mycena, Leucocoprineae, Tricholoma, Melanoleuca, Strophariaceae, Agrocybe, Cortinariaceae*)

20 mL: 50–100 mg azul de toluidina em água (100–200 mg no caso do azul de cresilo). O stock de azul de metileno é a 2% em etanol 70%, e a solução de trabalho prepara-se juntando, por cada 3 mL do stock, 10 mL de água e 100 µL de KOH a 1%. O azul de toluidina talvez dê melhor resolução que o de cresilo para visualizar reacções metacromáticas.

Sulfo(cloro)vanilina/sulfobenzaldeído/sulfoformol (*Russulales, Cortinarius, Tricholomataceae*)

Todos os casos: preparar q. b. para cada dia.

Sulfovanilina: dissolver 1 g de vanilina pura em ácido sulfúrico diluído (8 mL

dissolvidos em 3 mL de água H_2SO_4 a 70%; versão alternativa: 4 + 2 mL, isto é 65%), coloração típica violeta (específico; restantes células carmim).

Sulfobenzaldeído: misturar 5 mL de ácido sulfúrico concentrado em 1,5 mL de água e juntar 4 mL de benzaldeído, coloração castanho-negro. Ou: 1/1 com H_2SO_4 60–70%.

Clorovanilina: idem, mas usando ácido clorídrico diluído (4 mL da solução a 37% em 2 mL de água, dando HCl a 25%), coloração vermelha.

Sulfoformol: formaldeído a 40% e H_2SO_4 a 60 – 70% em partes iguais, coloração castanha em Russulales, lilás em *Cortinarius*, verde em Tricholomataceae.

Azul de anilina a 0,1% (reacção cianófila das paredes dos esporos e/ou das hifas; *Clitocybe* s.l., *Lepista*, poliporóides)

10 mL: 10 mg azul de anilina (Gurr) solúvel (Acid blue 22, colour index 42755, CAS 28631-66-5; Panreac 253708, Fisher Scientific 10556592) + 10 mL de ácido láctico concentrado (~ 85%). Alternativamente, 15 mg em 9 mL. Dissolve devagar, requer pipetagem. Reacção: Fervura durante alguns segundos acelera a reacção, enquanto a frio deixa-se durante várias horas ou mesmo dias. Uma variação deste corante é o lactofenol, disponível comercialmente (Merck 113741, Fluka 61335), ou podendo ser preparado com 5 g fenol + 5 g ácido láctico + 10 g glicerol + 10 mg azul de anilina (concentração final 0,05%); ou, seguindo outra fórmula: 4 g fenol + 4 g ácido láctico + 8 g glicerol + 4 mL água + 100 mg azul de metilo (concentração final 0,5%).

Adicionar os reagentes pela ordem indicada.

Floxina B a 1% (*Laccaria, Tricholomataceae, corante intracelular geral*)

3 mL: 30 mg + 3 mL de amónia diluída (~ 2%).

Vermelho de Congo a 1% (corante das paredes)

50 mL: 0,5 g em água. Ver outras formulações em Microscopia.zip

Eritrosina

Útil para evidenciar o episporio em coprinóides, e citoplasma em geral.

Fenol a 2 – 3% (*Russula*)

40 mL: 0,8 – 1,2 g + 40 mL de água. Indispensável guardar em frasco escuro.

Carmim acético (reacção siderofílica, *Lyophylloideae*)

Versão simples: em vidro de relógio contendo **solução férrica** ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$ a 5%, ou Sulfato de amónio e ferro a 3%, em solvente contendo sulfato de amónio a 3%, ácido acético glacial a 1% e H_2SO_4 diluído a 1/1000), ferver o material 1'; transferir para vidro de relógio 2 mL de carmim acético (1:1 da solução aquosa saturada com ácido acético glacial) e ferver também 1'; montar em algumas gotas de [hidrato de cloral](#)

Reagentes para determinação de macrofungos

diluído a 50%.

Versão de Clemençon: enxugar a amostra e colocar num tubo de vidro em solução mordente (1 hora a 2 dias); enxugar de novo, transferir para tubo Eppendorf furado na tampa com 300 µL carmim acético; ferver 5'; esvaziar para papel absorvente, fazer esfregação em hidrato de cloral.

Solução mordente: 1 volume FeCl₃ 10% em ácido acético 50% + 1 vol. acetato de Cobre 10% em ácido acético 50% + 1 vol. ácido pícrico saturado em água + 1 vol. formaldeído saturado; misturar, e depois juntar 1/5 vol. acetato de chumbo em ácido acético 50%, gota a gota.

Carmim acético: 1–1,5% (w/v) em ácido acético 50%, ferver 2–3h, deixar a dissolver durante 1 noite, e filtrar.

Reagente de Henry (*Agaricus*, *Cortinarius*, *Tricholomataceae*)

Aproximadamente 15 mL: 2 g de I₂O + 4 mL HCl concentrado + 1 mL de HNO₃; depois de dissolvido, adicionar 1 g NaHCO₃, deixar passar a efervescência e juntar 10 mL de água. Deixar assentar 3–4 dias antes de começar a usar. Aplicam-se 1 ou 2 gotas sobre a cutícula e espera-se o desenvolvimento da cor durante 1 a 2' (muita precaução com este reagente, é muito venenoso).

Tintura de guaiaco (*Cortinarius*, *Russula*, *Clitocybe*)

Resina de guaiaco saturada (20%) em etanol a 70%. – cerca de 1 g em 6 mL, preparada de fresco v. tb. [1-naftol](#) e [água de anilina](#)).

Guaiacol (5% em etanol a 96% (Fluka 50880)), protegendo da luz. Não parece ser a mesma coisa.

1-naftol a 5% (*Russula*)

2 mL: 0,1 g em 2 mL de etanol absoluto.

Água de anilina (*Cortinarius*, *Clavaria*, *Russula*)

Solução aquosa saturada, reacção positiva para amarelo.

Fenoanilina (*Cortinarius*, *Russulaceae*)

Para 10 mL de fenol a 3%, adicionar 450 µL ácido sulfúrico concentrado, e finalmente 360 µL anilina (fenilamina, aminobenzeno). Reacções dentro de 20 minutos são positivas.

Sudão III a 0,1%

Pode dissolver-se em ácido láctico ou em hidrato de cloral a 50%. Alternativamente, usar uma solução saturada em etanol.

Fucsina carbólica (*Russula*)

Dissolver (concentração?) em HCl a 10%.

AgNO₃ a 10% (*Cortinarius*)

10 mL: 1 g + 10 mL água. Indispensável guardar em frasco escuro.

H₂SO₄ diluído (3:4 com água, aprox. 55%)

14 mL: 6 mL de água + 8 mL de ácido sulfúrico concentrado (estritamente nesta ordem!). A mistura aquece muito e deve ser preparada com cuidado e numa *hotte*.

Hidrato de cloral

Para 15 g do sólido deve fazer-se uma solução com 7,5 mL de água (o sólido é muito deliquescente).

Outros reagentes

Benzidina (1% em etanol absoluto)

Anotações