

La culture "in vitro" de *Lyophyllum ulmarium* = Die "in vitro"-Kultur von *Lyophyllum ulmarium*

Autor(en): **Job, Daniel / Keller, Jean**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Schweizerische Zeitschrift für Pilzkunde = Bulletin suisse de mycologie**

Band (Jahr): **71 (1993)**

Heft 8

PDF erstellt am: **21.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-936490>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Appendice: Sclerobasidi: è un fenomeno molto raro e osservato quasi esclusivamente nel genere *Armillaria*. Si tratta di basidi «anormali»: in generale a parete spessa e a setti trasversali, ciò che nelle agaricali normalmente non avviene mai. Nella mia collezione le pareti dei basidi non sono così spesse come altri micologi hanno trovato nelle loro collezioni; sono quasi spesse come nei normali basidi. In compenso sono plurisetati (fino a 4 setti), perfino gli sterigmi presentano setti. Non si sa ancora perchè in questo genere si hanno sclerobasidi e quale ne sia la loro funzione, e ciò non è nemmeno un carattere della specie. Probabilmente in un successivo contributo si indagheranno più da vicino i sclerobasidi.

Sarcoleotia turficola: è un parente del noto *Ascocoryne sarcoides* (Jacq. ex Fr.) Tul., è clavata con cima appiattita e larga fino a 3 cm. La parte esterna laterale è lilla-violetto pallido, la parte superiore è verde oliva. La carne è gelatinosa.

Microscopia: (secondo letteratura) aschi otosporigi, fino a $150 \times 10 \mu\text{m}$. Spore ellittiche lunghe, fusiformi, grandezza variabile $10,5-22 \times 4-6,5 \mu\text{m}$, lisce, in generale senza setti. Parafisi larghe fino a $2,8 \mu\text{m}$, parte terminale poco ingrossata, con molte gocce oleose sferiche.

Habitat: 1. collezione come *A. ectypa*. 2. Collezione: Salwidili, 1992, coord. 643.100/185.100. Mi è noto un ulteriore ritrovamento del 1991 della stessa regione.

Osservazioni: Questo ascomicete ha due forme di crescita: in una cresce dove nella torba vi sono incisioni, orme, fratture senza acqua, qui il fungo cresce in generale tozzo e cespitoso, spesso è simile a un cervello. La specie viene trovata in prevalenza in questi habitat. *Sarcoleotia turficola* cresce pure in mezzo a sfagni, in generali singoli, grossi e simili a zoccoli, e qui presenta un gambo lungo. In questi habitat la specie è molto ben nascosta e quasi invisibile, e questi sono gli esemplari che vi sono nella foto dell'*Armillaria*; io li osservai quando liberai il posto dalle erbe che ne disturbavano la vista. Questa specie, spesso non vista, non dovrebbe essere troppo rara.

Pericolo/Protezione: Si vede come per specie altamente specializzate sia importante non tanto la protezione della specie stessa quanto la protezione dello spazio vitale. Proprio i tipi di torbiere più rari come pure i tappeti fluttuanti hanno bisogno di maggior protezione!

Ringraziamenti: Ringrazio i Signori A. Einhellinger e il Prof. dr. H. Cléménçon per la loro premura e il loro sostegno.

Markus Wilhelm, Kurzelängeweg 27, 4123 Allschwil

Traduzione: E. Zenone

Letteratura: Vedi testo tedesco

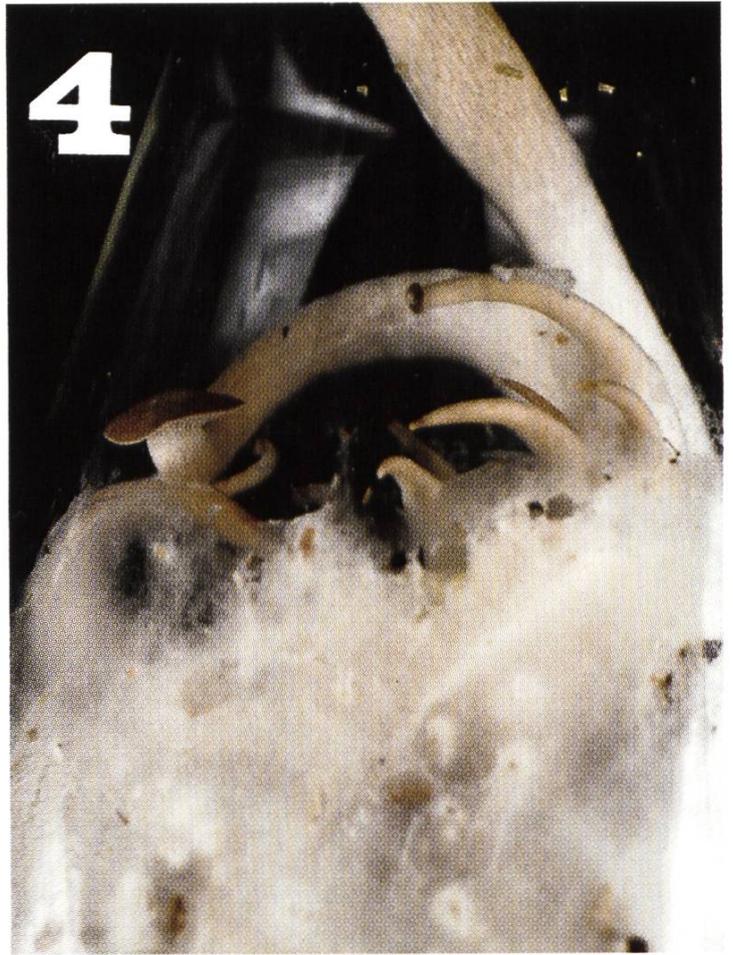
La culture «in vitro» de *Lyophyllum ulmarium*

La connaissance des conditions nécessaires au développement et à la fructification d'espèces comestibles non encore cultivées et pourtant intéressantes du point de vue gastronomique est un passage obligé si l'on veut offrir au consommateur de nouveaux produits sans porter atteinte à l'environnement par des ramassages massifs; cela est d'autant plus vrai qu'actuellement la flore fongique semble nettement régresser en Europe.

Lyophyllum ulmarium (Bull.: Fr.) Kühner est un champignon très apprécié et consommé au Japon, où il est connu sous le nom de «shirotamogitake» (DELMAS, 1989). Malgré sa qualité et l'augmentation de l'intérêt mondial pour la diversification des espèces cultivables (FARR, 1983), très peu de renseignements sont disponibles concernant la culture de cette espèce.

Afin d'analyser la faisabilité de la culture «in vitro» de nos souches, nous avons étudié l'influence de la température, de la lumière et de l'aération sur l'initiation fructifère et sur le développement des carpophores de *L. ulmarium*.





Pour toutes les expériences, nous avons utilisé comme substrat un mélange de paille de blé et de sciure de *Picea* (60–40 p–p) que nous avons laissé tremper dans l'eau pendant 48 h et que nous avons ensuite drainé pendant 24 h avant de l'autoclaver durant 20 minutes à 120°C.

Le substrat stérile a été ensuite inoculé avec la culture axénique¹ de *L. ulmarium* (souche JK, Neuchâtel, octobre 1988 sur *Ulmus*) et incubé pendant 35 jours dans l'obscurité, à 25°C et à 86% rH², chaque récipient étant pourvu d'une ouverture de 0,5 cm² par litre de substrat pour l'aération.

Après incubation, tous les échantillons étaient bien envahis par le champignon; ils ont alors été transférés dans différentes conditions environnementales (Tableau) et soumis à un cycle avec alternance de 12 h de lumière (600 lux) et de 12 h d'obscurité.

On a observé que l'abaissement de la température à 12°C et l'augmentation de la surface de ventilation de 0,5 cm²/litre à 25 cm²/litre (Tableau a) déclenche, après le sixième jour, l'apparition de nombreux primordia (plus de 30 par 100 cm² de surface), formés d'un pied court (2–8 mm) et d'un début de chapeau (Photo 1). L'initiation de la fructification après une diminution de la température est aussi connue chez d'autres espèces cultivées, par exemple *Pleurotus ostreatus* ou *Coprinus comatus*. Après quelques jours, dans les mêmes conditions expérimentales, plusieurs primordia régressent et seuls 4 à 7 poursuivent leur développement et parviennent à maturité en 2 à 3 semaines (Photo 2).

Nous avons remarqué que c'est l'augmentation de la surface d'aération, et non pas l'exposition au «choc froid», qui induit l'initiation fructifère et la formation des carpophores, lesquelles sont toutefois retardées de 10 à 14 jours (Tableau b). On rejoint ici la «théorie de la souffrance» du mycologue R. HEIM: il stipulait que la mise en situation nouvelle et inconfortable du mycélium en période de croissance, tels un choc à basse température ou un appauvrissement du milieu nutritif, peuvent modifier le métabolisme et déclencher le fonctionnement du système biochimique inducteur de la fructification.

Un effet plus marqué a été observé avec la variation de la surface d'aération. La diminution de la température, en maintenant une surface de ventilation de 0,5 cm²/litre, produit l'apparition de primordia avortés, formés seulement de pieds qui continuent de s'allonger, pouvant atteindre plus de 15 cm de longueur (Photo 3), sans jamais former de chapeaux. Par contre, l'augmentation de la ventilation (Tableau c) a pour effet de déclencher la formation de chapeaux qui se développent jusqu'à la maturation des basides (Photo 4).

Ces résultats indiquent que la croissance mycélienne supporte un taux élevé de CO₂, tandis que le développement de la fructification, et plus particulièrement la formation des chapeaux, est sensible à un excès de dioxyde de carbone.

En cas d'aération faible, comme précédemment, mais à 25°C, des primordia avortés sont produits; toutefois, leur nombre est bien supérieur (plus de 70 par 100 cm²) [Photo 5]; dans ce cas, l'augmentation de la ventilation (Tableau d) ne permet pas la formation de chapeaux, contrairement à l'expérience précédente; les primordia ne mûrissent pas car, vraisemblablement, le mycélium végétatif a épuisé le substrat, son activité étant plus importante à 25°C.

Dans une deuxième série d'expériences nous avons étudié, dans les mêmes conditions que celles indiquées dans le Tableau a, le développement des fructifications, en les maintenant cette fois dans l'obscurité pendant 60 jours. Malgré l'abaissement de la température et l'augmentation de l'aération, la formation des primordia a été inhibée; ce fait indique l'importance de la lumière comme facteur de contrôle exogène de la fructification de *L. ulmarium*, ce qui avait été démontré chez d'autres espèces (EGER & al., 1974; JAMES & McLAUGHLIN, 1988).

Nous dirons pour conclure que de nombreuses espèces encore méritent d'être cultivées et il n'est pas exclu de penser que des mycologues pourront trouver à l'avenir dans ce domaine «pratique» l'occasion de mettre en valeur leur savoir théorique et de rendre ainsi service à la communauté.

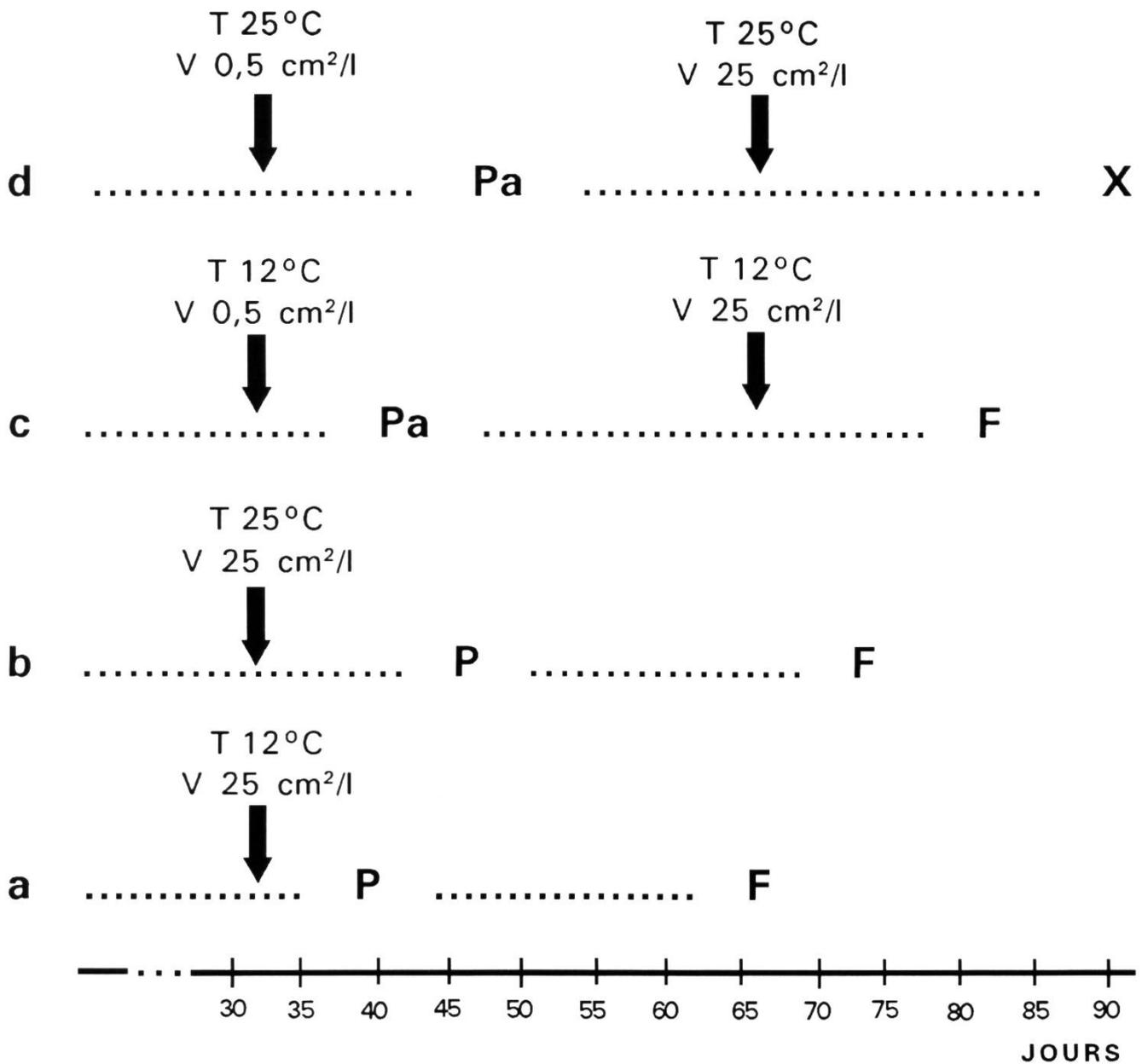
Daniel Job & Jean Keller, Laboratoire de Microbiologie, Université de Neuchâtel

¹ axénique = en milieu stérile

² rH = humidité relative

Bibliographie

Delmas, J. 1989. Les champignons et leur culture. Flammarion Paris. 970 p.
 Eger, G; Gottwald, H.-D. and Netzer, U. 1976 The action of light and other factors on sporophore initiation in *Pleurotus ostreatus*. Mushroom Sciences 9: 575–583.
 Farr, D. F. 1983 Mushroom industry: Diversification with additional species in the United States. Mycologie 75 (2) 351–360.
 James, S. W. and McLaughlin D. J. 1988. The influence of carbohydrate source and concentration and light on fruitbody development in *Clavicornia pyxidata*. Mycologia 80 (1): 89–98.



Lyophyllum ulmarium

Tableau: développement des fructifications dans différentes conditions environnementales.

T = température, V = ventilation, P = primordium, Pa = primordium avorté, F = fructifications mûres, X = absence de fructification.

Photos 1 à 5 voir dans le texte.

Obige Tabelle: Entwicklung der Fruchtkörper unter verschiedenen Umweltbedingungen.

T = Temperatur, V = Belüftung, P = Primordium, Pa = sterile Primordien, F = reife Fruchtkörper, X = keine Fruktifikation.

Fotos auf Seiten 178 und 179: Erklärungen siehe im Text.

Die «in vitro»-Kultur von *Lyophyllum ulmarium*

Das Wissen um die erforderlichen Bedingungen für die Entwicklung und die Bildung von Fruchtkörpern essbarer Pilze, die bis heute noch nicht kultiviert wurden, ist die notwendige Voraussetzung, wenn man dem Pilzliebhaber in gastronomischer Sicht neue Produkte offerieren will, ohne dass durch Massensammelaktionen die Umwelt geschädigt wird. Dies ist umso notwendiger, als das Pilzwachstum in Europa generell rückläufig zu sein scheint.

Lyophyllum ulmarium (Bull.: Fr.) Kühner ist in Japan ein sehr geschätzter Speisepilz, wo er unter dem Namen «shirotamogitake» (DELMAS, 1989) bekannt ist. Trotz seiner Qualitäten als Speisepilz und obwohl weltweit das Interesse an einer grösseren Mannigfaltigkeit von kultivierbaren Speisepilzen steigt (FARR, 1983), stehen noch sehr wenig Informationen für eine erfolgreiche Kultur dieser Pilzart zur Verfügung.

Um nun die Möglichkeiten einer «in vitro»-Kultur unserer verschiedenen Pilzstämme abzuklären, haben wir den Einfluss der Temperatur, des Lichtes und der Belüftung auf den Beginn der Fruktifikationsphase und der Ausbildung von Fruchtkörpern von *L. ulmarium* untersucht.

Für alle unsere Versuche haben wir als Substrat ein Gemisch aus Getreidestroh und Sägemehl von Fichtenholz im Verhältnis von 60 zu 40 Teilen verwendet. Das Gemisch durchnässten wir während 48 Stunden. Darauf wurde diesem Substrat während 24 Stunden das Wasser entzogen, bevor es im Autoklaven während 20 Minuten bei 120 °C keimfrei gemacht wurde.

Das sterile Substrat wurde darauf mit einer sterilen Kultur von *L. ulmarium* (Stamm JK, Neuchâtel, Oktober 1988 auf *Ulmus*) geimpft und während 35 Tagen im Dunkeln bebrütet. Die Temperatur betrug dabei 25 °C und die relative Luftfeuchtigkeit 86%. Um eine gewisse Luftzirkulation zu gewährleisten, verfügte jeder Glasbehälter mit geimpftem Substrat über eine Öffnung von 0,5 cm² pro Liter Substrat.

Nach der Inkubationszeit waren alle Muster von Pilzmyzel gut durchwachsen. Daraufhin wurden die einzelnen Proben in verschiedene Umweltbedingungen gesetzt (Tabelle) und einem alternierenden zwölfstündigen Licht (600 Lux)/Dunkel-Wechsel ausgesetzt.

Dabei hat man festgestellt, dass ein Senken der Temperatur auf 12 °C und eine Vergrößerung der Belüftungsöffnung von 0,5 cm²/Liter auf 25 cm²/Liter (Tabelle a) nach dem 6. Tag das Erscheinen zahlreicher Primordien (mehr als 30 auf 100 cm² Oberfläche) auslöst. Diese Primordien verfügen schon über einen kurzen (2–8 mm) Stiel und über ein Anfangsstadium eines Hutes (Foto 1). Das Auslösen der Fruktifikation durch ein Senken der Temperatur ist auch bei andern kultivierbaren Pilzen z. B. *Pleurotus ostreatus* oder *Coprinus comatus* bekannt. Bei gleichbleibenden Versuchsbedingungen verkümmern mehrere Primordien nach einigen Tagen, und nur 4–7 entwickeln sich weiter. Nach 2–3 Wochen haben diese dann ihren vollen Entwicklungsgrad erreicht (Foto 2).

Dabei haben wir festgestellt, dass eine Vergrößerung der Belüftungsfläche hierfür der Grund ist und nicht der Kälteschock, wodurch der Fruktifikationsprozess und die Bildung von Fruchtkörpern erst ausgelöst wird. Immerhin wird dies um 10 bis 14 Tage verzögert (Tabelle b). Man erkennt hier wieder die «Theorie des Leidens» vom Mykologen R. HEIM: er legte fest, dass das Einbringen des Pilzmyzeliums in eine neue feindliche Umgebung, wie ein Kältetemperaturschock oder eine Verminderung des Nahrungsumfeldes, den Stoffwechselmechanismus und das Auslösen des biochemischen Initialsystems für eine Fruktifikation verändern kann.

Ein bedeutend auffälligerer Effekt konnte beobachtet werden, wenn die Belüftungsfläche vergrößert wurde. Eine Temperatursenkung beim Beibehalten einer Belüftungsöffnung von 0,5 cm²/Liter Substrat bewirkte Missbildungen an den Primordien. Es bildeten sich nur Stiele, die länger und länger wurden und 15 cm erreichten (Foto 3), ohne dass je Pilzhüte ausgeformt wurden. Im Gegenteil dazu bewirkt eine Erhöhung der Belüftung (Tabelle c) den Anstoss zur Ausbildung von Pilzhüten, die sich bis zur Bildung von Basidien (Foto 4) entwickelten.

Diese Ergebnisse zeigen nun, dass das Wachstum des Myzeliums einen recht hohen CO₂-Gehalt erträgt, während die Entwicklung der Fruchtkörper, im besonderen aber der Pilzhüte, empfindlich auf ein Übermass an CO₂ reagiert. Im Falle einer schwachen Belüftung wie zuvor, aber bei einer Temperatur von 25 °C, werden Missbildungen an den Primordien ausgelöst. Auf alle Fälle ist deren Anzahl bedeutend grösser (mehr als 70 pro 100 cm² Fläche) [Foto 5]. Im Gegensatz zum vorigen

Versuch verhindert in diesem Falle eine Erhöhung der Belüftung (Tabelle d) die Ausbildung von Pilzhüten. Die Primordien können nicht reifen, da das vegetative Pilzmyzelium die Nährstoffe im Myzelium wahrscheinlich aufgebraucht hat, weil dessen Aktivität bei einer Temperatur von 25 °C bedeutend höher ist.

Bei einer zweiten Versuchsreihe haben wir unter denselben Bedingungen, wie sie in Tabelle a aufgeführt sind, die Entwicklung der Fruchtkörper untersucht. Diesmal arbeiteten wir bei vollständiger Dunkelheit während einer Dauer von 60 Tagen. Trotz einer Senkung der Temperatur und einer Verstärkung der Belüftung entwickelten sich keine Primordien. Diese Tatsache weist auf die entscheidende Wirkung des Lichtes als bestimmender Umweltfaktor für eine Fruktifikation von *L. ulmarium*, was auch für andere Pilzarten schon aufgezeigt wurde (EGER & al., 1974; JAMES & McLAUGHLIN, 1988).

Abschliessend möchten wir noch bemerken, dass auch viele andere Pilzarten sich für eine Kultivierung eignen. Man kann nicht ausschliessen, daran zu denken, dass Mykologen in Zukunft auch für diese praktische Seite der Mykologie auf Grund ihrer theoretischen Kenntnisse vermehrt der Allgemeinheit einen Dienst erweisen können.

Daniel Job und Jean Keller, Laboratoire de Microbiologie, Université de Neuchâtel

Literatur: siehe französischen Text

Übersetzung: R. Hotz

Der gedüngte Wald

Der Artikel von Pilzfreund H. Jäger in der SZP 1992/2 «Hemmt oder fördert die Düngung das Wachstum?» hat eine meiner Beobachtungen in finnischen Wäldern wieder wach werden lassen. Unvergessliche fünfzig Wochen zählen unsere mehrmaligen Aufenthalte seit 1976 in den herrlichen Wäldern, wie auch an und auf den bezaubernden Seen Finnlands. «Weg vom Fenster», im Blockhaus unseres Freundes Toivo, Förster, Fischer und Jäger in einer Person, liess es sich ohne Elektrizität, Fernsehen, Telefon und dergleichen zivilisiertem Drum und Dran gut leben!

«Was tut wohl dieses Schweizer Ehepaar alleine über so viele Wochen in unseren weiten Wäldern?» war die häufige Frage von uns bekannten Finnen, und auf Schweizerboden schliesslich das Pendant zu dieser Befragung: «Haben Euch die Schnaken niemals aufgefressen?» Diesen beiden beliebten Themen folgten immer unsere Antworten im selben Trott: «An Ideen und Tätigkeiten, die Freude bereiten und auf uns zugeschnitten sind, hat es auch in Finnland nie gefehlt, niemals konnte Langeweile aufkommen!» Unsere besorgten Eidgenossen liessen wir wissen: «Sind die im Süden Finnlands nicht so zahlreichen Stechmücken hungrig auf Blutsuche aus, nehmen diese Quälgeister wegen einer Spur Chemie auf den wenigen nackten Körperstellen fluchtartig Reissaus!»

Birken und Kiefern wo man hinschaut, so auch im Gehölz unseres «Hausmeisters» Toivo. Entlang eines seiner prächtigen Föhrenwälder zieht der etwa drei Meter breite Honkajoki gemütlich dahin. Ungezählte Flusskrebse fühlen sich in diesem einmaligen Bächlein zuhause. An diesen, uns so lieb gewordenen Forst, schliesst sich im Gleichklang und fast ohne Hindernis der Wald unserer lieben, bald achtzigjährigen Witwe Hanna an.

Über drei Jahre lang blieb mir unklar, weshalb denn Hannas Wald ein derart grosses und vielfältiges Pilzvorkommen aufweist, während man bei «unseren», also Toivos angrenzenden Bäumen von Zufall reden kann, wenn einem ein einsamer farbenfroher Täubling entgegenlacht. Wohlverstanden, es handelt sich um zwei identische Wälder, der Unterschied besteht einzig darin, dass das eine Gehölz unserer lieben Hanna gehört, der Besitzer des nachbarlichen Waldes heisst eben Toivo. Also: gleiche Forste, verschiedene Eigner!

Keinen Zigarettenstummeln, niemals leeren Flaschen, auch keinen dazugehörenden Kronenverschlüssen, keinen Alu-Büchsen, gar keinen Papiertaschentüchern oder derartigen Dingen, die tadelnswerte Zeitgenossen wegwerfen, sind wir je in Toivos Wald begegnet. Doch eines Tages kam die Überraschung: Was will denn dieser kurze Plastikzipfel, der aus der kleinen Mulde herauschaut? Diesem Schnipsel will ich zeigen, wohin es gehört, raus damit, und so entsorgen, wie es