

Het maken van ijzersulfaatkristallen.

Tijdens enkele excursies van onze vereniging bleek mij dat velen geïnteresseerd zijn om te weten hoe het in poedervorm verkrijgbare $\text{Fe SO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ kan worden omgekristalliseerd tot "zuivere" kristallen. Hoewel ik nagenoeg onbekend ben met de chemie in 't algemeen, wil ik trachten in deze handleiding duidelijk te maken hoe ik tot redelijk grote ($\frac{1}{2}$ - $1\frac{1}{2}$ cm.) kristallen kom. Ongetwijfeld zullen er vele andere manieren te bedenken zijn, zoals bijv. het gebruik van een wollen draadje dat in de verzadigde - al of niet afgedekte - vloeistof hangt, maar deze heb ik niet beproefd. Eén punt is echter van bijzonder belang en dat is dat de kristallisatie niet door afkoeling, doch door verdamping van het in de verzadigde oplossing aanwezige water moet worden verkregen. Dit verdampen "langs natuurlijke weg", d.i. zonder geforceerde luchtverplaatsing, duurt $1\frac{1}{2}$ - 3 weken. Maar nu het begin. Het ijzersulfaatpoeder moet in (gedistilleerd-) water van ca. 20°C ., bijv. in een kookbeker, worden opgelost tot dat een klein deel net niet meer oplost. Dit deel moet door een weinig verwarming tot oplossing worden gebracht. Denk er aan dat de temperatuur niet te hoog mag worden, zo'n 25 à 26°C . is meer dan voldoende. In 200 cc. water van 20°C . lost U zo ongeveer 32 à 35 gram poeder op. Tijdens het oplossen moet wat verdund zwavelzuur worden toegevoegd; juist zo veel dat de oplossing "op 't oog" helder blijft. De hydrolise, waardoor de oplossing troebel wordt, wordt zodoende tegengegaan. De mate van verdunning van het zwavelzuur is niet erg belangrijk, ik gebruikte en 2% en 50%, waarbij ik een voorkeur heb voor de weinig verdunde zwavelzuur, omdat dan bij de (bijna) verzadigde ijzersulfaatoplossing minder water wordt toegevoegd. Hierna zet U de beker op een rustig plekje weg. Na 1 of 3 dagen kijkt U of er al een begin van de kristallisatie is te zien, er kan nu nog corrigerend worden opgetreden. Als de neerslag (erg) veel is kan deze worden afgefiltreerd, dat dan het voordeel geeft dat slechts enkele van de grotere onder de kleine reeds gevormde kristalletjes weer als "entkristal" in de oplossing zijn terug te brengen. Als er na 2 à 3 weken voldoende kristallen zijn gevormd en het vloeistof-volume behoorlijk is afgenomen, kan de nog aanwezige vloeistof, welke flink zuur is geworden, onder de lopende kraan worden afgegoten. Voorts spoel ik de kristallen "even" met water af en droog ze snel met wat "kleenex tissues" of iets dergelijks voor ik ze met de hand aanraak. De aldus gevonden kristallen zien er mooi helder groen uit. De hoeveelheid van deze kristallen is mede afhankelijk van de hoeveelheid van de verzadigde oplossing waarvan wordt uitgegaan. Daar de kristallen aan de lucht vrij snel oxyderen kunnen zij beter in een goed afsluitbaar flesje of kokertje worden bewaard.

F.A.v.d.Bergh.

Enkele verslagen van de lezingen op de zesde mycologendag 21 februari 1970.

4. H. R. Visscher: Overeenkomsten en verschillen bij het in cultuur brengen van houtbewonende en micorrhizavormende basidiomyceten.

Een eerste, voor ons werk in Maasbree zeer belangrijk punt is de identificatie van mycelia na vele - vaak vergeefse - pogingen geïsoleerd uit het inwendige van een paddestoel (sporekleming lukt bij boleten niet). Een aantal van de volgende criteria wordt net zo lang getoetst, tot we het mycelium onder een bepaalde naam in de collectie

stoppen.

- a). Als ik 10 weefselstukjes uitleg op agar en uit 7 ervan gaat eenzelfde mycelium op eenzelfde wijze uitgroeien, bij voorkeur vanuit het gehele oppervlak, dan is de kans vrij groot, dat we het goede te pakken hebben, mits de algemene infecties (*Mucor* etc.) goed bekend zijn.
- b). Hierop aansluitend: "circumstantial evidence", zo iets als "m.i. niet toevallige bijkomstigheden". Voorbeeld: uit vele weefselstukjes van Morieljes groeit gewoonlijk een ijl varenachtig vertakt, bruin mycelium. Uit stukjes van de verwante eetbare (! ?) kluifjeszwam *Gyromitra esculenta* verschijnt geregeld eenzelfde soort mycelium, iets geliger. Deze "evidence" is voor mij dan voldoende om beide mycelia te accepteren als de goede.
- c). Mikroskopisch en makroskopisch vergelijken met reeds aanwezige isolaties. Vooral de gespen zijn belangrijk; bij aanwezigheid daarvan wordt door ons de kans gemakshalve uitgesloten, dat een andere Basidiomycete is mee geïsoleerd.
- d). Geur van het mycelium bij fijnwrijven. Voorbeeld: onze isolaties van *Suillus grevillei* ruiken precies zoals mijn handen roken na het verzamelen van *S. luteus*, dus goedgekeurd. Ook het mycelium van *Boletus edulis* heeft een "boleetachtige" geur, evenals dat van *Xerocomus badius*.
- e). Kleur van het mycelium. Ons mycelium van *Laetiporus sulphureus* heeft een (oranje) gele kleur. Het mycelium van *Lactarius deliciosus*, ons 's-middags getoond door Prof. Oort, had oranje en groene delen.
- f). Het mycelium kan losse basidiën of cystiden vormen.
- g). Vorming van complete of incomplete paddestoelen. Indien alleen primordiën, zie opmerking bij c.).

Nu een aantal kweekproblemen. Een "makkelijk" fructificerende soort, bijv. het fluweelpootje, *Flammula velutipes*, kan je net zo lang vertroetelen, tot hij onder laboratoriumomstandigheden aanvaardbare paddestoelen vormt. Onder dezelfde omstandigheden vormen morieljes en cantharellen wel mycelium, maar geen hoeden en groeien de boleten bijna helemaal niet. Dit is de huidige stand van zaken en wij doen ijverig ons best, daar verandering in te brengen. De cantharellen en morieljes laten wij de komende tijd buiten beschouwing.

De grote verschillen tussen de boleten enerzijds en de houtsaprofyten anderzijds zijn in zeer belangrijke mate terug te brengen tot een verschil tot nu toe in groeisnelheid van de betreffende mycelia. (1-1,5 cm/maand, resp. 2-5 cm/week op petrischalen met agar.) Belangrijkste gevolg: van de houtschimmels is in afzienbare tijd "broed" te maken d.w.z. graankorrels of houtdeeltjes, met mycelium omgroeid. Van dat broed stopt men een groot aantal entpunten in een vast substraat, b.v. zaagsel. Daarvan gaat het mycelium nog eens snel uitgroeien, gevolg: 6 weken na het enten heb je houtpaddestoelen. De boletenmycelia groeien tot nu toe vrijwel niet op een vast substraat, gevolg: nog geen broed, gevolg: nog geen paddestoelen op vast substraat. Derhalve is een verschillende aanpak nodig voor beide groepen.

A.) Onderzoek aan houtpaddestoelen, vnl. *Flammulina velutipes* en *Agrocybe aegerita*, peppelagrocybe.

Onze methode is min of meer systematisch-empirisch, soms gokkend, voortgaan op een ingeslagen weg, die tot het snel vormen van vele primordiën geleid heeft. Het mycelium "geeft antwoord" op onze experimenten door het vormen van meer of minder, trager of sneller gevormde gave of minder gave, grotere of kleinere paddestoelen. De werkwijze is heel simpel. Aan populierenzaagsel worden diverse stoffen toegevoegd, afhankelijk van onze interpretatie van voorgaande proeven en van - vrij schaarse - nieuwe literatuur.

Vervolgens wordt het substraat met het "juiste" vochtgehalte in glazen potten van verschillende inhoud gesteriliseerd en na afkoeling geënt met broed. Zijn de potten doorgroeid met mycelium, dan worden ze bij lagere temperatuur gezet en hogere luchtvochtigheid om het uildrogen van de latere knoppen tegen te gaan. De doorgroeiing duurt ongeveer 3 weken, in de daarop volgende 3-4 weken worden de paddestoelen gevormd. Bij gebrek aan klimaatkamers werken we nu nog vnl. met kragen van natgehouden filtreerpapier om de pot.

De grootste sprong voorwaarts is tot nu toe geweest, in navolging van japanse experimenten, het toevoegen van rijststijpsel, een bijproduct van de rijstpellerij, vooral rijk aan vitaminen (vnl. B complex, vgl. Eykman's Nobelprijs wegens zijn onderzoekingen aan de Beri-beri.) Ook maisweekwater (Corn Steep Liquor) heeft een gunstig effect, terwijl de C/N verhouding van het substraat een belangrijke rol speelt, te variëren met suikers en diverse stikstofbronnen.

De groei op niet gesteriliseerd substraat, bij voorkeur met handhaving van de reeds bereikte fructificatie vormt een nog belangrijk toekomstig veld van onderzoek. In O. Europa, meest recentelijk in Hongarije, ent men op grote schaal populieren- en andere boomstroken met broed vnl. van de oesterzwam, *Pleurotus ostreatus*, met reeds aardige resultaten. De paddestoelen verschijnen na enting in het voorjaar soms al in hetzelfde najaar, en anders het najaar daarop, een aantal jaren lang.

B.) Onderzoek aan Boleten, vnl. eekhoorntjesbrood, *Boletus edulis*, kastanjeboleet, *Xerocomus badius* en de nog niet van een officiële nederlandse naam voorziene *Boletus aereus*, (bronskopboleet?).

Door het toevoegen van alle mogelijke stoffen wordt geprobeerd de myceliumgroei op agarbodems te versnellen, hetgeen enige resultaten begint op te leveren. *B. edulis* vormt tot nu toe alleen maar mycelium, *B. aereus*, een isolatie van prof. Oort, vormt, evenals *X. badius* op sommige bodems kleine knopjes, tot 1 cm. in doorsnee, die soms en dan vaak aan de bovenkant, een buisjeslaag vormen. Laatstgenoemde knopjes verkleuren soms blauw bij doorsnijden, een hoopvol teken. Omdat we van *B. aereus* pas 1 isolatie hebben, tgo. een tiental van de andere twee soorten, kunnen we dus (nog?) niet zeggen, dat dit een aanvulling is op het accepteren van deze twee als verschillende soorten, hetgeen een twistpunt is (geweest).

S. grevillei, de gele ringboleet, een zeer specifieke mycorrhizavormer met *larix*, groeit van alle boleten bij ons het snelst op agar. Dit leidt ons nog even naar een specifiek boletenprobleem. De agarcultures moeten zeer vaak overgeënt worden, waarbij *S. grevillei* wel de kroon spant: eens in de 3-4 weken.

Een ander zeer belangrijk punt is de mycelia er toe te bewegen op een vast substraat te gaan groeien, tot nu toe met weinig resultaat. Hoe dit toekomstige vaste substraat er uit zal gaan zien, is nog niet te voorspellen. Of dit nu persé bosgrond moet zijn, al of niet met bv. boomwortels of zo er door heen is nog maar de vraag, gezien onze ervaringen met de gekweekte champignons, waar geen weiland en geen paard meer aan te pas hoeven te komen. Toch moeten wij wel de plaatsen bestuderen, waar de paddestoelen van nature voorkomen, want wat betreft de vele factoren, die bij de fructificatie een rol spelen, kunnen wij nog heel wat van de natuur leren.