

Une symbiose originale: le «champignon du thé»

par André FRAITURE (*)

Il y a quelques mois, une personne des environs de Mons a fait parvenir au Jardin Botanique National (Meise) un exemplaire d'une «plante» qu'elle disait en passe de devenir populaire dans sa région. Selon les instructions qui lui avaient été remises en même temps que le végétal, cette «plante miracle», originaire de l'Inde, devait être placée dans du thé avec deux morceaux de sucre. Elle se multipliait alors et on pouvait en distribuer des fragments, des boutures en quelque sorte. Au bout de trois semaines, il fallait vider le liquide et faire sécher la «plante». Celle-ci était censée porter bonheur à son propriétaire. Les «instructions» précisaient également que si le détenteur désirait se débarrasser de la culture, il ne pouvait en aucun cas la jeter à la poubelle – cela portait malheur ! – mais devait la jeter dans l'eau, par exemple dans un ruisseau ou un étang. C'est surtout ce dernier précepte qui avait inquiété ma correspondante, qui me demandait si de tels rejets ne pouvaient avoir de conséquences néfastes sur les écosystèmes aquatiques et si la fameuse «plante» ne pouvait se mettre à y proliférer de façon incontrôlable. Elle ajoutait que, la question ayant quelque peu agité les esprits dans la région, un débat autour du mystérieux végétal devait même avoir lieu sur les ondes d'une radio locale.

Par la suite, plusieurs envois me sont parvenus indépendamment, en provenance de diverses régions de Belgique et accompagnés de commentaires plus ou moins identiques, ce qui confirmait que la culture de cette «plante» commençait à se répandre dans notre pays, de même que les superstitions que d'aucuns y avaient attachées.

La plante ayant finalement échoué sur mon bureau – toujours baignant dans son bocal de thé sucré – j'ai entrepris de l'examiner. Elle se présentait sous la forme d'une membrane de couleur ocre terne, ressemblant à une fine crêpe qu'on aurait un peu chiffonnée pour la faire entrer dans le récipient. Ce dernier était un de ces bocaux à fermeture plus ou moins hermétique que l'on emploie pour les conserves. De petites bulles s'échappaient en permanence par le joint de caoutchouc, ce qui démontrait que le contenu était sous pression et faisait penser à un processus de fermentation. Ce dégagement gazeux avait une faible odeur de vinaigre.

(*) Jardin Botanique National de Belgique, Domaine de Bouchout, B-1860 Meise

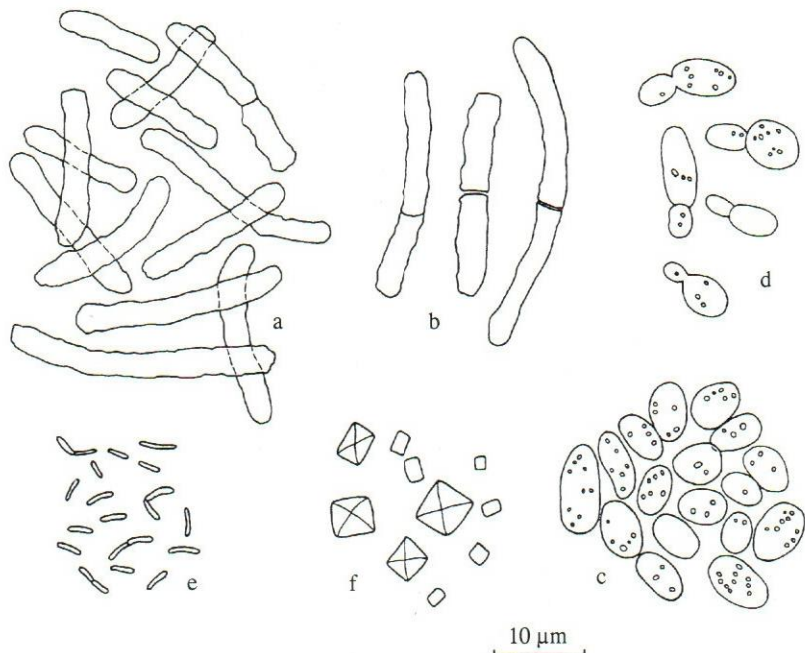


Fig. 1. Microorganismes et cristaux observés dans la culture provenant des environs de Mons. **a.** *Schizosaccharomyces pombe*, fragment de colonie. **b.** Idem, reproduction par fission. **c.** *Zygosaccharomyces rouxii*, fragment de colonie. **d.** Idem, reproduction par bourgeonnement. **e.** *Acetobacter xylinum*. **f.** Cristaux.

Au moyen d'une pince, j'ai prélevé un petit fragment de la «plante», dont la consistance s'avéra un peu fibreuse. Placé sous le microscope, ce fragment montra la présence de trois types de cellules (Fig. 1):

— 1. Des cellules cylindriques allongées (en forme de saucisses de Francfort), de $10-25 (-28) \times 2,5-3,5 \mu\text{m}$, à paroi rugueuse (Fig. 1a). Ces cellules sont groupées en petits amas. Elles se reproduisent par fission: la cellule s'allonge, puis une cloison apparaît dans la partie médiane et les deux cellules filles se séparent à ce niveau (Fig. 1b).

— 2. Des cellules irrégulièrement ovoïdes, de $5-10 \times 3-5 \mu\text{m}$ (Fig. 1c). Ces cellules sont également groupées en petits amas, distincts de ceux formés par les cellules allongées qui viennent d'être décrites. Elles se reproduisent par bourgeonnement: un petit bourgeon sphérique se forme à la surface de la cellule; il grossit et devient ovoïde, puis se sépare de la cellule-mère lorsqu'il a atteint la taille de celle-ci (Fig. 1d).

— 3. Des cellules très petites, en forme de cylindre étroit (bacilliformes), de $2-3 \times 0,3-0,5 \mu\text{m}$, et qui semblent se reproduire également par fission (Fig. 1e). Elles ne sont pas groupées en amas monospécifiques, contrairement aux deux types de cellules décrites ci-dessus.

En outre, on pouvait observer la présence de cristaux (Fig. 1f). Certains d'entre eux étaient de forme octaédrique et le côté des plus volumineux atteignait 6 µm. Toutes ces cellules et ces cristaux étaient «collés» à la surface de la membrane, qui était pratiquement invisible sous le microscope.

Comme les grandes cellules semblaient être des levures et les petites des bactéries, j'entrepris de chercher dans la bibliographie du côté des «grains de kéfir» (association de la levure *Saccharomyces fragilis* et de la bactérie *Leuconostoc dextranicum*, qui réalise la fermentation du lait) et d'autres formations symbiotiques composées elles aussi d'un mélange de levures et de bactéries. Je trouvai ainsi la trace du «champignon du thé».

Ce phénomène est connu depuis longtemps déjà. Dès 1913, LINDAU décrit en détail le comportement du «champignon» en culture dans le thé sucré. Sous le microscope, il n'observe qu'une seule espèce de microorganisme: une levure, qu'il décrit comme nouvelle sous le nom de *Medusomyces gisevii*. Quelques semaines plus tard, LINDNER répond à cet article en publiant une brève étude au titre acerbe: «Die vermeintliche neue Hefe *Medusomyces Gisevii*» (c'est-à-dire la levure prétendument nouvelle *Medusomyces Gisevii*). Dans cette réplique fulgurante, il expose le résultat des études qu'il réalise depuis plusieurs années sur les fameuses membranes et qui lui ont permis d'observer et de déterminer divers microorganismes. Il s'agit de la bactérie *Bacterium* (= *Acetobacter*) *xylinum* et de diverses levures: une espèce à cellules subsphériques, qu'il rapporte au genre *Torula*, une autre à cellules très allongées et bourgeonnantes, qu'il range dans le genre *Mycoderma*, une autre encore, à grandes cellules citriformes, qu'il détermine *Saccharomyces ludwigii* et enfin une levure à cellules elliptiques, pour laquelle il n'avance pas de nom. Il indique également que des échantillons étudiés par son collègue HENNEBERG ont montré la présence de *Bacterium xylinum* et de *Schizosaccharomyces pombe*.

Dans les années qui suivent, de nombreux chercheurs vont s'intéresser à cette découverte. En 1957, STADELMANN publie une brève synthèse des connaissances déjà acquises au sujet du «champignon du thé» et donne une liste bibliographique de l'abondante littérature déjà publiée à cette époque (163 références). Ces études concernent surtout les caractéristiques physiologiques et biochimiques des microorganismes impliqués, ainsi que les propriétés pharmacologiques de la solution obtenue.

Le «champignon du thé» (ou kombucha ou, en allemand, Teekwasspilz, Weinpilz, Wunderpilz, Wolgapilz, Wolgaqualle ⁽¹⁾, etc.) est utilisé pour produire, à partir de thé noir sucré, une boisson fermentée qu'on appelle bière de thé, cidre de thé ou kwas de thé (bien que le véritable kwas soit fabriqué à partir de céréales, de farine ou de pain). Sa région d'origine est, suivant les traditions, la Chine (Mandchourie, où il serait connu depuis plus de 2000 ans), le Japon, l'Inde ou la Russie.

Le «champignon du thé» se présente donc comme une membrane, qui se forme puis s'épaissit à la surface du thé. Accrochées à cette membrane, se développent

(1) = «méduse de la Volga» !

de petites colonies de deux levures ainsi que des bactéries, qui vivent en une sorte de symbiose.

Les cellules en cylindre allongé (Fig. 1, a & b) appartiennent à la levure *Schizosaccharomyces pombe* LINDNER. Cette détermination a été confirmée par le laboratoire de la Mycothèque de l'U.C.L. (MUCL), qui a isolé cette espèce à partir d'un de mes échantillons (souche MUCL 38951). Cette levure a été décrite pour la première fois en 1893 à partir d'une souche isolée d'une bière traditionnelle d'Afrique de l'Est (le «pombe»), fabriquée par fermentation du millet. Elle fut isolée la même année par VORDERMAN dans le processus de fermentation de riz ou de jus de canne à sucre utilisé à Java pour la fabrication de la liqueur appelée arak. HARLEY (1895) indique à ce propos: «pas trace d'alcool méthylique ni d'alcool amylique non plus que d'acides libres. Le liquide rectifié possède une saveur et un goût très fins, contrairement aux araks du commerce, qui contiennent toujours de l'alcool amylique. Cette espèce est donc de beaucoup la plus importante au point de vue de la qualité du produit, comme aussi du rendement et de la rapidité de l'opération».

Les souches de VORDERMAN furent d'abord appelées *S. asporus* BEIJERINCK et *S. vordermani* WEHMER, avant d'être rapportées à *S. pombe*. En 1909, JÖRGENSEN isola cette même levure des fermentations destinées à la préparation du rhum en Jamaïque; croyant avoir découvert une nouvelle espèce, il l'appela *S. mellacei*.

Les cellules ovoïdes (Fig. 1, c & d) appartiennent à une autre levure. La forme, les dimensions et le mode de bourgeonnement correspondent aux «elliptische Hefen» (levures elliptiques) observées par LINDNER. Le laboratoire MUCL a isolé et déterminé les levures *Zygosaccharomyces rouxii* (BOUTROUX) YARROW (syn.: *Saccharomyces rouxii* BOUTROUX, souche MUCL 38950) et *Z. bailii* (LINDNER) GUILLIERMOND (souche MUCL 38904) dans les cultures que je lui ai transmises. Lors d'une analyse du même type de matériel, réalisée en 1991, ce même laboratoire avait observé la présence de *Z. fermentati* NAGANISHI. Ces espèces sont généralement rencontrées sur des substrats assez sucrés, tels que bière, vin, moût, gelée de pommes ou miel, et on doit donc les considérer comme osmotolérantes.

Les petites cellules bacilliformes (Fig. 1e) appartiennent à la bactérie *Acetobacter xylinum*, connue pour oxyder l'alcool éthylique (celui de nos boissons alcoolisées) en acide acétique (le vinaigre). Cette bactérie est aussi celle qui forme la «mère du vinaigre», qui a d'ailleurs un aspect un peu analogue. On a démontré depuis longtemps que cette bactérie était capable de synthétiser une cellulose semblable à celle du coton ($C_6H_{10}O_5$), fait exceptionnel pour une bactérie (BARSHA & HILBERT 1934). Cette synthèse serait réalisée grâce à l'utilisation du glucose. L'*Acetobacter* sécrète d'abord une substance mucilagineuse homogène qui est un précurseur de la cellulose. Les fibres de cellulose, d'un diamètre d'environ 250 Ångström (comme chez les végétaux) se forment rapidement par polymérisation, à l'extérieur des bactéries. L'entrelacs de ces fibres finit par produire le voile à la surface duquel se fixent et se développent les colonies des levures (MÜHLETHALER 1949).

On peut donc résumer le processus de la façon suivante (essentiellement d'après les observations de REISS 1987, qui a utilisé le milieu suivant: 1 g de thé noir infusé pendant 15 minutes dans 1 litre d'eau bouillante, avec 50 g de sucre et quelques gouttes de jus de citron). Le sucre (saccharose) est hydrolysé en glucose et fructose par les levures, ce qui est révélé par l'augmentation rapide de la concentration en glucose du 5^{ème} au 9^{ème} jour après l'inoculation. Cette concentration commence ensuite à décroître parce que les levures se mettent à utiliser le glucose dans un processus de fermentation. Il s'agit d'une fermentation aérobie et la solution doit donc rester largement en contact avec l'air. La fermentation donne naissance à plusieurs sous-produits, dont la concentration augmente rapidement dans la solution. Il s'agit principalement de l'éthanol ou alcool éthylique (celui des boissons alcoolisées) et des acides lactique et gluconique.

La bactérie entre à son tour en action et dégrade l'éthanol en donnant de l'acide acétique (vinaigre) comme sous-produit. L'augmentation des teneurs des 3 acides organiques fait chuter le pH et la solution s'acidifie considérablement. On observe parallèlement la formation de nombreuses autres substances: du gaz carbonique (CO₂), qui rend la solution faiblement pétillante, de la vitamine C, des ferments et des antibiotiques, dont les propriétés ont été très étudiées en Russie.

Environ 15 à 20 jours après l'inoculation, la concentration en glucose devient très faible et le processus s'arrête quasiment. Les concentrations observées à ce moment par REISS sont d'environ 3,5 g/l pour l'éthanol, 3 g/l pour chacun des acides lactique et gluconique et 100 mg/l pour l'acide acétique. Le pH est passé de 5,6 (début de l'expérience) à 2,4 après 15 jours.

Il convient toutefois de préciser que ces taux peuvent varier fortement, principalement en fonction de trois facteurs:

- 1. La concentration en sucre du liquide de base est très importante. Son augmentation donnera des concentrations plus élevées en alcool et en acide acétique dans la solution finale.
- 2. La nature du liquide de base est également importante. Des essais ont été réalisés (REISS 1987) avec d'autres types d'infusion (tisanes de tilleul, de menthe poivrée) et même avec d'autres breuvages (bière, Coca-Cola). La croissance de la colonie n'est rapide que sur thé noir et sur bière (type pils). La production d'éthanol et des divers acides organiques est nettement meilleure sur thé noir que sur les autres substrats, sauf en ce qui concerne l'acide acétique, qui atteint des concentrations plus élevées dans l'infusion de tilleul et dans la bière.
- 3. La composition de la «souche» du champignon du thé peut faire varier les concentrations finales du simple au décuple. Cela peut être dû non seulement à la présence de souches plus ou moins performantes du même microorganisme, mais aussi à la présence d'espèces différentes. En effet, il semble que le mélange d'espèces composant le «champignon du thé» soit assez varié. D'après les données de la littérature, auxquelles ont été ajoutés les noms des souches de

HESELTEINE (voir ci-après) et de celles qu'a déterminées à ma demande le laboratoire de MUCL, on trouve en effet les noms suivants (2):

Levures sporifères (Ascomycètes): *Pichia fermentans* LODDER, *P. fluxuum* (PHAFF & KNAPP) KREGER-VAN RIJ, *P. membranaefaciens* HANSEN (ces trois espèces sont très voisines, voir PONCET 1975), *Saccharomycodes ludwigii* HANSEN, *Schizosaccharomyces pombe* LINDNER, *Zygosaccharomyces bailii* (LINDNER) GUILLIERMOND, *Z. bisporus* N AGANISHI, *Z. fermentati* N AGANISHI et *Z. rouxii* (BOUTROUX) YARROW.

Levures non sporifères (formes imparfaites): *Candida famata* (HARRISON) MEYER & YARROW (sub *Torulopsis famata*, qui est un synonyme), *Candida guilliermondii* (CASTELLANI) LANGERON & GUERRA (dont le stade parfait est *Pichia guilliermondii* WICKERHAM), *Mycoderma* sp. et *Torula* sp. (beaucoup d'espèces décrites dans ces deux genres sont maintenant transférées dans d'autres genres, notamment dans le genre *Candida*).

Bactéries: *Acetobacter xylinum*, *A. xylinoides*, *Bacterium gluconicum* et *B. ketogenum*.

Certains de ces organismes ne sont peut-être que des «commensaux», voire des contaminations, et ne jouent pas un rôle important dans le processus. Toutefois, la présence de deux levures, en plus de la bactérie, est peut-être nécessaire. En effet, HESSELTEINE (1965), au cours d'une étude du phénomène, a isolé les trois organismes qui lui paraissaient les plus importants dans le processus. En réalisant des essais avec ces souches séparées, puis combinées par deux ou trois, il constata que seule la combinaison des trois souches permettait de réaliser la fermentation de manière satisfaisante. Ces souches consistaient en une bactérie, déterminée comme *Acetobacter* sp., et deux levures non identifiées. Des cultures pures de ces organismes ont été déposées par HESSELTEINE dans la collection «ARS» à NRRL (actuellement U.S. Department of Agriculture, National Center for Agricultural Utilization Research, Peoria, Illinois, U.S.A.). Elles figurent toujours dans cette collection, sous les numéros et dénominations suivantes: NRRL B-2357 *Acetobacter* sp., NRRL YB-4810 *Zygosaccharomyces bisporus* et NRRL YB-4882 *Pichia fluxuum*.

Ainsi que l'a observé LINDAU (1913), les membranes des vieilles cultures se colorent de plus en plus tandis que le thé dans lequel elles baignent se décolore petit à petit. Des fragments de membrane morte se détachent et restent pendus en lobes irréguliers à la face inférieure de ces vieilles membranes, ce qui leur confère un aspect de méduse et donna à LINDAU l'idée du nom *Medusomyces*. Dans les vieilles colonies, la membrane peut atteindre 2 à 5 cm d'épaisseur (HESSELTEINE 1965). En Allemagne, à la fin de la première guerre mondiale, elle fut même utilisée, après tannage, comme ersatz du cuir.

(2) Beaucoup d'espèces de champignons sont «pléomorphiques», c'est-à-dire qu'elles peuvent apparaître sous deux ou plusieurs formes. Dans la forme parfaite, encore appelée «téléomorphe», le champignon se reproduit sexuellement, avec production de spores. Dans la ou les formes imparfaites, ou «anamorphes», soit il se reproduit par la production asexuée de conidies, soit on ne connaît ni stade conidien, ni stade sporifère. Comme ces formes parfaite et imparfaites apparaissent souvent isolément, elles ont généralement été décrites comme espèces distinctes, sous des noms différents. L'avancement des connaissances permet petit à petit d'établir les connexions.

Le liquide résultant après quelques temps (optimum: 3 à 6 jours) peut être consommé; il constitue même une boisson rafraîchissante. Elle ne se conserve guère. Pour continuer la production d'un liquide buvable, il faut remplacer la solution par du thé frais une ou deux fois par semaine. Si l'on poursuit, au contraire, la culture pendant 10 à 15 jours ou plus sans renouveler le milieu, la concentration en vinaigre augmente dans celui-ci, qui peut alors être utilisé comme assaisonnement.

Certains confèrent à ce breuvage des vertus diététiques, voire curatives. En raison de ces vertus curatives (ou prétendues telles), cette boisson fermentée a connu une certaine vogue en Europe de l'Est, notamment en Lettonie, durant la première moitié du XX^{ème} siècle. Elle est également populaire au Japon. Des publications non scientifiques parlent même d'«élixir de longue vie» et d'action favorable dans la lutte contre une liste de problèmes de santé aussi longue qu'hétéroclite, incluant cancer, allergies, cataracte, insomnie, diabète, dysfonctionnement du foie, des reins et de la glande thyroïde, excès de cholestérol, rhumatisme, hypertension, asthme, bronchite, douleurs musculaires et même excès de poids, impuissance, rides et «taches de vieillesse» !

Il est commercialisé sous le nom de «Kombucha» (Dr SKLENAR) mais les milieux scientifiques sont généralement réservés, voire franchement hostiles devant les publicités concernant ces vertus thérapeutiques qui n'ont, semble-t-il, jamais été prouvées scientifiquement (ANONYME 1989; HAUSER 1990).

Quant aux prétendues qualités de «porte-bonheur» (notre correspondante parlait même de possibles gains financiers !) attribuées par certains à la seule possession de cette culture ou d'une membrane séchée (et non pas à la consommation de la boisson produite), elles ne peuvent bien sûr être prises au sérieux et doivent être classées parmi les innombrables superstitions de tous ordres qui circulent par le vaste monde et trouvent toujours des esprits crédules et peu cartésiens pour les accueillir et les propager.

Pour être tout à fait objectif et complet sur ce sujet, je mentionnerai toutefois l'effet «placebo» qui, dans certains cas, peut influencer favorablement l'évolution de certaines situations, notamment de désordres ou de maladies d'origine psychosomatique. C'est ce même effet favorable de l'auto-persuasion qui est exploité dans la fameuse «méthode Coué».

Enfin, je ne pense pas que le fait de rejeter le «champignon du thé» dans les eaux naturelles (ruisseau, étang, ...) soit susceptible de provoquer une catastrophe écologique, ces eaux étant trop pauvres en nutriments et surtout en sucre pour permettre un développement important des levures et des bactéries concernées. Par contre, les membranes du «champignon du thé» étant biodégradables, leur rejet dans la nature donnera naissance à une petite pollution organique.

Remerciements

Je remercie vivement MM. P. ÉVRARD et C. DECOCK du laboratoire MUCL (Louvain-la-Neuve) pour la détermination de trois souches de levures présentes dans les colonies que j'ai étudiées. Je remercie également M^{me} Y. GOSSELIN (Quaregnon), le D^r O. GUILLITTE (Gembloux), M. D. GEERINCK (Bruxelles) et le D^r RADOUX (F.U.L., Viville) pour m'avoir remis un fragment de «champignon du thé». Ma reconnaissance s'adresse aussi aux D^{rs} C. CHASSEUR (I.H.E., Bruxelles), B. DE SCHUITENEER (Centre Anti-Poisons, Bruxelles) et J. MAHILLON (U.C.L., Louvain-la-Neuve), pour m'avoir fourni des copies de certains articles que je recherchais. Je remercie enfin le D^r C.P. KURTZMAN (Peoria, U.S.A.) pour la transmission des données concernant les souches de HESSELTINE conservées à NRRL, et O. VAN DE KERCKHOVE (Jardin Botanique National, Meise) pour la mise à l'encre de mes dessins.

Bibliographie

- ANONYME 1989.- Kombucha – Lebensmittel oder Arzneimittel ? Rummel um den Teepilz. *Dt. ApothZtg.* **129** (7): 326.
- BARSHA, J. & HIBBERT, H. 1934.- Studies on reactions relating to carbohydrates and polysaccharides, XLVI. - Structure of the cellulose synthesized by the action of *Acetobacter xylinus* on fructose and glycerol. *Can. J. Res.* **10** (2): 170-179 + 1 pl. h.t.
- HARLEY, M. 1895.- Observations sur les ferments et champignons producteurs de sucre et d'alcool dans la fabrication de l'Arrak. *Bull. trimest. Soc. mycol. Fr.* **XI**: 201-204.
- HAUSER, S.P. 1990.- Teepilz Kombucha nach Dr. med. SKLENAR – eine biologische Krebstherapie. *Schweiz. Rdsch. Med. (PRAXIS)* **79** (9): 243-246.
- HESSELTINE, C.W. 1965.- A millenium of fungi, food, and fermentation. *Mycologia* **57** (2): 149-197 + 1 pl. h.t.
- KREGER-VAN RIJ, N.J.W. [éd.] 1984.- The yeasts, a taxonomic study: Third edition, xvi+1082p. Elsevier, Amsterdam.
- LINDAU, G. 1913.- Über *Medusomyces Gisevii*, eine neue Gattung und Art der Hefepilze. *Ber. dt. bot. Ges.* **31**: 243-248 + 1 pl. h.t.
- LINDNER, P. 1913.- Die vermeintliche neue Hefe *Medusomyces Gisevii*. *Ber. dt. bot. Ges.* **31**: 364-368 + 2 pl. h.t.
- MÜHLETHALER, K. 1949.- The structure of bacterial cellulose. *Biochim. biophys. Acta* **3**: 527-535.
- PONCET, S. 1975.- Analyse numérique des 50 espèces classées dans le genre *Pichia* (Ascomycètes). Seconde application d'une méthode d'analyse factorielle. *Mycopathologia* **57** (2): 99-108.
- REISS, J. 1987.- Der Teepilz und seine Stoffwechselprodukte. *Dt. LebensmittRdsch.* **83** (9): 286-290.
- STADELMANN, E. 1957.- Der Teepilz, eine Literaturzusammenstellung. *Sydowia* **11**: 380-388.

*

* *