

UTILISATION du MICROSCOPE et de REACTIFS CHIMIQUES pour l'ETUDE des CHAMPIGNONS

TECHNIQUES D'OBSERVATION

Considérations :

L'utilisation de réactifs chimiques constituent une nécessité impérieuse pour l'étude et la détermination des champignons, même si cela rebute nombre de personnes ... Nous parlerons de réactions microchimiques lorsqu'elles interviennent sur des éléments à observer impérativement au microscope, sous forme de colorations diverses ou de non colorations.

Il nous paraît intéressant de préciser que ces réactifs ont pour objectif unique d'orienter une détermination. De même, notre intention n'est pas de faire école et d'imposer des techniques de manipulation, mais simplement d'exposer notre mode de travail et quelques tours de main. Nous souhaitons aussi aider les débutants à aborder un travail passionnant, mais qui peut s'avérer rébarbatif et décourageant, sans la connaissance de quelques élément de bases et astuces pratiques.

Techniques d'observation :

Quelques remarques et conseils !

- Nous pensons qu'il faut toujours s'obliger à examiner une préparation d'abord dans de l'eau pure, même si celle-ci est destinée à un examen avec d'autres réactifs ou colorants, car ces derniers, en raison de leur caractère acide ou alcalin, peuvent dégrader voire dissoudre certaines sécrétions ou excréctions cellulaires, modifier ou altérer certains pigments, faire disparaître certaines structures ou encore changer l'aspect du contenu cellulaire. L'eau permet également de percevoir les couleurs « naturelles » de l'objet examiné et pratiquement, ne coûte quasi rien. Cependant, nous préférons utiliser de l'eau distillée ou bidistillée, car elle est exempte de calcaire et autres impuretés.
- Lorsqu'il s'agit d'observer des spores provenant d'exsiccata notamment, nous avons constaté qu'elles ont une fâcheuse tendance à flotter à la surface de l'eau et à migrer vers l'extérieur lorsqu'on pose la lamelle de verre sur la préparation ; pour contrer cet inconvénient majeur, nous utilisons une solution aqueuse de détergent de vaisselle à 1 %, qui joue le rôle d'agent mouillant et contribue ainsi à « noyer » les spores dans le milieu d'observation (le résultat est encore meilleur avec les agents mouillants utilisés pour le développement photographique).
- Lors de l'observation de spores dans de l'eau, nous rencontrons souvent un phénomène très désagréable : il se forme des courants de déplacement du liquide qui entraînent les spores et rendent l'observation difficile et la microphotographie impossible. L'utilisation de milieux d'observation plus denses, comme le lactophénol ou le chloral lactophénol s'avère alors indispensable. Cependant, nous utilisons également la solution de détergent mentionnée ci-dessus additionnée de 20 % de glycérine pure. Ces liquide plus visqueux limitent sensiblement ou tota-

lement les mouvements et empêchent le dessèchement de la préparation durant plusieurs jours (on parle alors de préparations semi-permanentes).

- Lorsqu'on veut obtenir une contraction des vacuoles cellulaires, on dissout dans l'eau une quantité variable de sel, de sucre ou de glycérine.
- Lors des coupes, il arrive que les espaces entre les hyphes soient remplis d'air, et alors les préparations sont difficilement interprétables ; il suffit de poser une goutte d'ammoniaque entre lame et lamelle de verre et chauffer jusqu'à ébullition, pour chasser l'air indésirable.
- Il est impératif de « regonfler » les parties dures des fragments d'exsiccata avant observation ; plusieurs possibilités se présentent :
 - la soude et la potasse en solution aqueuse à 5 %, utilisées à froid, sont excellentes, mais le matériel doit y séjourner 1 à 2 jours : ce laps de temps a pour avantage de faire disparaître le contenu cellulaire, éclaircir les parties foncées et de faciliter l'études des parois chitineuses qui nous intéressent.
 - pour des observations immédiates, nous proposons de regonfler (en quelques secondes) à la chaleur (ébullition), entre lame et lamelle, en utilisant un des produits suivants :
 - solution aqueuse sirupeuse d'hydrate de chloral (elle a notre préférence pour sa grande transparence)
 - chloral lactophénol (excellent également)
 - lactophénol
 - acide lactique
 - ammoniaque concentré

Les milieux d'observation cités ci-dessus sont placés selon un ordre dégradé de préférence personnelle.

- Une bonne observation d'une dissociation, d'une coupe ou d'une sporée est grandement améliorée par l'utilisation combinée de colorants. En voici un exemple :

Pour l'étude d'un scalp, nous allons combiner les milieux d'observation, réactifs ou colorants suivants :

- chloral lactophénol pour le pileipellis
- réactif de Melzer pour les laticifères
- Congo ammoniacal pour les sphérocystes

Un peu de vocabulaire :

Les CYSTIDES (éléments semblables aux basides, mais stériles) se retrouvent partout sur un sporophore et leur localisation précise est aidée par un préfixe : voici les termes les plus utilisés !

- CHEILOcystides : sur l'arête des lames
- CAULOcystides : à la base du pied
- PLEUROcystides : sur la face des lames

- PILEOCystides ou DERMATOCystides : sur la cuticule du chapeau (surface piléique)
- LAMPROCystides : utilisé pour des grosses cystides
- LEPTOCystides : utilisé pour des petites cystides
- GLOEOCystides : s'utilise quand elles sont SV+ (réaction positive à la sulfovaniline)
- CHRYSOCystides : leur contenu est jaune avec NH_4OH (ammoniaque) et elles sont ++ (réaction nettement positive) au bleu coton ; elles sont constantes chez *Hypholoma* et *Stropharia*, inconstantes chez *Pholiota* et *Hemipholiota*, inexistantes chez *Inocybe*...