

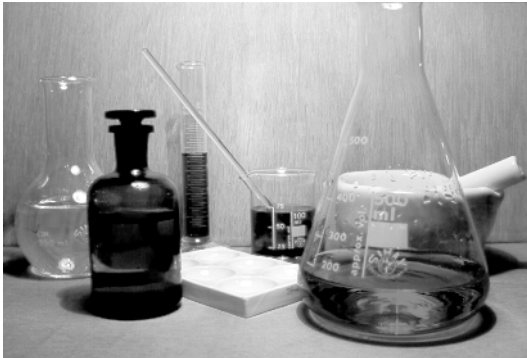
Quelques réactifs en mycologie.

Partie 1 : Introduction, notions de chimie et généralités.

Didier Baar¹

L'éventail des méthodes mises en œuvre lors de l'étude des champignons est chaque jour plus étendu. Continuellement, de nouvelles techniques, découvertes généralement dans d'autres disciplines, sont adaptées à la mycologie. C'est le cas, notamment, de la génétique (séquençage des gènes, par exemple), de l'immunologie (étude des maladies cryptogamiques), de la paléontologie (établissement de l'arbre phylogénétique des mycètes²) et de la biochimie (analyse des protéines et autres métabolites des champignons).

L'identification des champignons, dans le cadre de la taxonomie, a de tous temps été délicate.



Deux causes sont à la source de cette complexité : la variabilité typique des champignons, et la subjectivité à laquelle sont livrées la définition et la limitation des taxons. Ces deux causes rendent la taxonomie quelque peu empirique. C'est pourquoi, ici aussi, on multiplie le nombre de techniques d'étude. En effet, celles-ci permettent d'accéder à des caractères nouveaux, toujours plus objectifs, en vue de rendre davantage cartésienne cette partie essentielle de la mycologie.

C'est dans cette optique que la microchimie et la microscopie ont pris place dans l'éventail des techniques mycologiques. Ces deux grandes méthodes ont maintenant fait leurs preuves dans une large mesure. Toutes deux ont recours – pour ne pas dire qu'elles sont basées dessus - à une large panoplie de réactifs chimiques. Nous nous proposons, après un rappel sommaire des notions élémentaires (mais combien indispensables) de la chimie, d'étudier les plus importants d'entre eux.

1. Notions élémentaires de chimie.

Dans ce chapitre, la nécessité d'être succinct nous a quelquefois contraint à sacrifier un soupçon (!) de rigueur scientifique et à généraliser quelque peu les faits (c'est toujours le cas lorsqu'il s'agit de vulgarisation, et nous espérons que le lecteur, compréhensif, voudra bien se reporter aux ouvrages de chimie qui seront renseignés dans la bibliographie s'il désire des informations complémentaires). Certains concepts, tels que ceux d'écriture des formules et d'équilibrage des équations chimiques, ou de calcul du pKa des acides et des bases resteront dès lors probablement un peu vagues et devront être admis tels qu'ils sont proposés. Toutefois, pour que le soupçon n'atteigne pas l'ampleur du tantinet, nous nous sommes obstinément refusé à réduire ces notions de chimie à la portion congrue...

Quoi qu'il en soit, il est bien évident que la compréhension de toutes ces notions n'est pas du tout indispensable à une utilisation efficace des réactifs chimiques en mycologie (un bon esprit d'observation suffit). Il est néanmoins intéressant d'appréhender ce que sont les réactifs que tout mycologue utilise quotidiennement, et la manière dont ils agissent. C'est la raison d'être de ce premier chapitre et des introductions qui accompagneront la description de chacun des réactifs, dans les deux parties suivantes de cet article. Les lecteurs que ce premier volet aurait tant soit peu rebutés sont malgré cela invités à découvrir les parties suivantes, qui leur paraîtront certainement moins théoriques...

1.1. La matière : atomes, isotopes, molécules et ions.

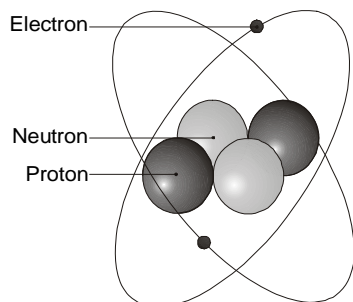
La matière est, comme chacun sait, constituée d'atomes et/ou de molécules. Les atomes (voir figure à la page suivante) sont les unités élémentaires des corps simples (ou éléments chimiques) tels que le fer, le néon ou le sodium. On les croyait indivisibles³, jusqu'à ce qu'on découvre qu'ils sont tous constitués des mêmes particules fondamentales : les protons (p^+), les neutrons (n^0) et les électrons (e^-)

¹ Didier Baar, décédé accidentellement le 14 octobre 2001, à l'âge de 23 ans.

² Voir l'article de J.-M. PIRLOT sur les champignons fossiles (*Myco'*, fascicule 2, 1999, pages 35-38).

³ Le nom « atome » vient du grec « *atomos* » : qu'on ne peut pas couper.

). On pourrait pousser plus loin encore le raisonnement, en disant que les protons et les neutrons sont eux-mêmes composés de différents types de quarks...



Cette représentation de l'atome est un peu schématique et désuète, puisque l'on a établi, par la théorie quantique, que les électrons ne circulent pas autour du noyau (ensemble formé par les protons et les neutrons, au centre de l'atome) dans des orbites bien définies telles qu'elles sont tracées ici. L'atome illustré ci-contre compte deux protons et deux électrons : il s'agit de l'hélium (He).

On connaît actuellement plus de cent dix éléments chimiques différents, mais les derniers ont tous été créés artificiellement, et leur durée de vie est très courte. A chacun de ces éléments correspond un type d'atomes, qui diffère de ses congénères par le nombre de protons et d'électrons qu'il contient (⁴). Ainsi, par exemple, l'atome de soufre, dont le numéro atomique (⁵) est le seize, contient seize électrons et seize protons, tandis que l'atome de calcium, dont le numéro atomique est le vingt, contient vingt protons et vingt électrons. On peut retourner le problème et dire qu'on reconnaît les atomes au nombre d'électrons et de protons qu'ils contiennent. Deux atomes qui comptent le même nombre de ces particules élémentaires ne sont pourtant pas nécessairement identiques (comme nous allons l'explicitier), mais appartiennent en tout cas au même élément. Ainsi, tous les atomes qui comptent seize protons sont des atomes de soufre, et tous ceux qui en possèdent vingt sont des atomes de calcium.

Outre le nombre de protons et d'électrons, le nombre de neutrons peut aussi varier. Si deux atomes qui comportent le même nombre d'électrons et de protons possèdent un nombre différent de neutrons, ils sont appelés des isotopes. Ainsi, le ³⁵Cl (ou chlore trente-cinq, de numéro atomique 17) comprend 35-17 = 18 neutrons tandis que le chlore trente-sept (³⁷Cl) en possède 20. Pourtant, ces deux types d'atomes sont du chlore. Les différents isotopes d'un élément portent donc tous le même numéro atomique, mais on les caractérise par leur « nombre de masse », qui correspond à la somme du nombre de leurs protons et du nombre de leurs neutrons. Ainsi, le chlore trente-cinq, qui possède dix-sept protons et dix-huit neutrons, a justement trente-cinq pour nombre de masse (c'est là la signification du nombre qui accompagne toujours le symbole et le nom des isotopes). Seuls les isotopes de l'hydrogène possèdent des noms particuliers : on donne couramment à l'hydrogène deux (²H) le nom de deutérium (D), et à l'hydrogène trois (³H) celui de tritium (T). De nombreux isotopes sont radioactifs (*). Quelques exemples sont repris dans le tableau ci-dessous.

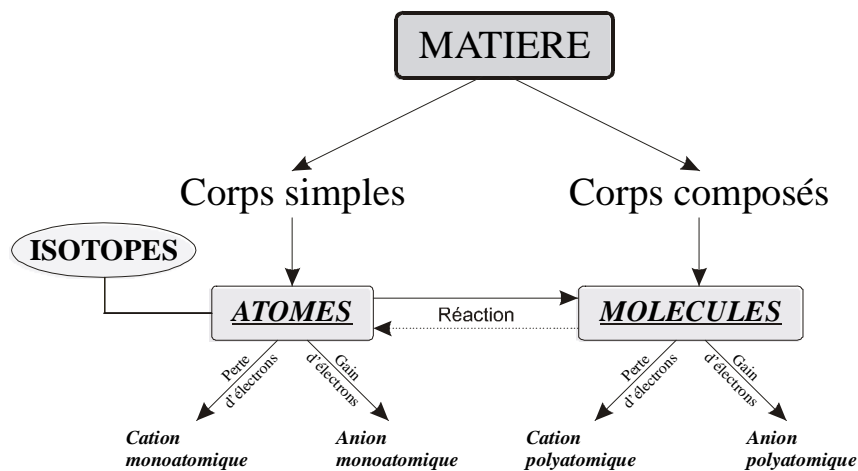
Élément	Symbole	Isotope	Numéro atomique	Nombre de masse	Protons	Neutrons	Electrons
Hydrogène	H	¹ H	1	1	1	0	1
Deutérium	D	² H	1	2	1	1	1
Tritium*	T	³ H	1	3	1	2	1
Molybdène* 93	Mo	⁹³ Mo	42	93	42	51	42
Molybdène 96	Mo	⁹⁶ Mo	42	96	42	54	42
Molybdène 98	Mo	⁹⁸ Mo	42	98	42	56	42
Osmium* 186	Os	¹⁸⁶ Os	76	186	76	110	76
Osmium 187	Os	¹⁸⁷ Os	76	187	76	111	76
Osmium 188	Os	¹⁸⁸ Os	76	188	76	112	76
Osmium 190	Os	¹⁹⁰ Os	76	190	76	114	76
Uranium* 238	U	²³⁸ U	92	238	92	146	92

⁴ Un atome, tant qu'il n'est pas devenu un ion, est électriquement neutre. Etant donné que la charge de l'électron est négative mais équivalente, en valeur absolue, à celle du proton (qui est positive), et sachant que la charge du neutron (qui est neutre) est nulle, le nombre d'électrons que possède un atome doit nécessairement être égal au nombre de protons qu'il contient.

⁵ C'est le numéro du célèbre tableau périodique des éléments de Mendeleev.

Si des atomes, appartenant ou non au même élément, s'associent entre eux par l'intermédiaire de liaisons chimiques, ils forment des molécules. Les molécules sont donc les unités élémentaires des corps composés. Par exemple, le dioxyde de carbone (gaz carbonique) que nous rejetons n'est pas constitué d'atomes, mais bien de molécules ; chaque molécule de ce gaz (CO_2) comporte deux atomes d'oxygène (O) liés à un atome de carbone (C). L'eau est aussi composée de molécules. Sa formule est H_2O , ce qui veut dire que chaque molécule d'eau comporte deux atomes d'hydrogène (H) et un atome d'oxygène (O) liés entre eux.

Si, lors d'une réaction chimique, un atome ou une molécule vient à perdre ou à gagner des électrons, il ou elle se transforme en un ion. L'ion sera monoatomique s'il provient d'un atome, et polyatomique s'il dérive d'une molécule. Etant donné que la charge de l'électron est négative, un atome ou une molécule qui perd un ou plusieurs électrons forme un ion positif, ou cation. Si, au contraire, l'atome ou la molécule gagne des électrons, alors la charge de l'ion est négative : il s'agit d'un anion. $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ est l'anion polyatomique dichromate ; Tl^{3+} est le cation monoatomique thallium (III). Les ions, à la différence des atomes, ne possèdent plus le même nombre d'électrons que de protons, mais on peut quand même les reconnaître à leur nombre de protons qui lui, en dehors de la chimie nucléaire, est invariable.



1.2. La chimie minérale et la chimie organique.

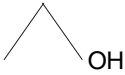
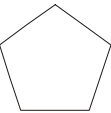
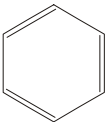

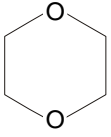
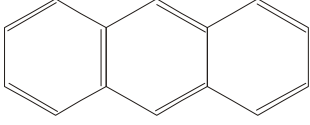
On a pris l'habitude de scinder la chimie en deux grandes disciplines : la chimie minérale et la chimie organique. La première étudie tous les éléments minéraux et leurs réactions ; elle est plus générale que la seconde. La chimie organique, quant à elle, ne considère que les molécules « organiques », c'est-à-dire toutes - ou presque ⁽⁶⁾ les molécules qui contiennent du carbone. La chimie organique est à la base de la biochimie.

En fait, le carbone possède des propriétés ⁽⁷⁾ qui lui permettent une variété infinie de combinaisons. On compte en millions le nombre de molécules organiques différentes connues à ce jour. L'immense majorité des molécules (comme les protéines, les lipides, les glucides, les acides nucléiques et les vitamines) dont sont construits et grâce auxquelles fonctionnent les organismes vivants sont des molécules organiques.

On distingue encore deux domaines au sein de la chimie organique : la chimie aliphatique, et la chimie aromatique. La chimie aliphatique traite des molécules linéaires (comme l'acide formique, l'octane, l'acétone ou l'éthanol) et de certaines molécules cycliques (telles que le cyclopentane, le dioxane, l'adamantane ou le tétrahydrofurane), tandis que la chimie aromatique ne relève « que » des molécules cycliques (le type de ces molécules est le benzène, mais on peut citer aussi le toluène, l'anthracène ou le phénol) répondant à une série de critères bien déterminés, et notamment la présence de nombreuses liaisons doubles. Malgré cette restriction *a priori* importante, la chimie aromatique a un poids au moins aussi lourd que la chimie aliphatique.

⁶ Quelques rares composés du carbone (les plus simples, en fait), ne sont généralement pas considérés comme des molécules organiques. Tel est le cas du CO (monoxyde de carbone), du CO_2 (dioxyde de carbone), des carbonates (ion CO_3^{2-}) et hydrogénocarbonates (ion HCO_3^-), du graphite et du diamant, etc.

⁷ La plus remarquable propriété du carbone est de pouvoir former quatre liaisons semblables ou différentes, avec lui-même ou avec d'autres éléments.

Composés aliphatiques		Composés aromatiques
<i>LINÉAIRES</i>	<i>CYCLIQUES</i>	
 Ethanol	 Cyclopentane	 Benzène
 Octane	 Dioxane	 Anthracène

Pour comprendre cette figure, il faut savoir que, dans le type de représentation choisi pour les molécules-exemples, à chaque angle ou extrémité des molécules se trouve un atome de carbone (C), sauf si un autre atome ou groupe d'atomes (que l'on appelle « fonction ») y est indiqué. Les traits correspondent, quant à eux, aux liaisons chimiques (les traits doubles signalent les liaisons doubles). D'autre part, on ne dessine les atomes d'hydrogène (H) que s'ils font partie d'une fonction chimique (les fonctions chimiques seront définies dans la section suivante). Ces schémas montrent bien la différence entre molécules linéaires et molécules cycliques, dont les atomes (au moins dans une partie de la molécule), sont enchaînés les uns aux autres et forment un anneau.

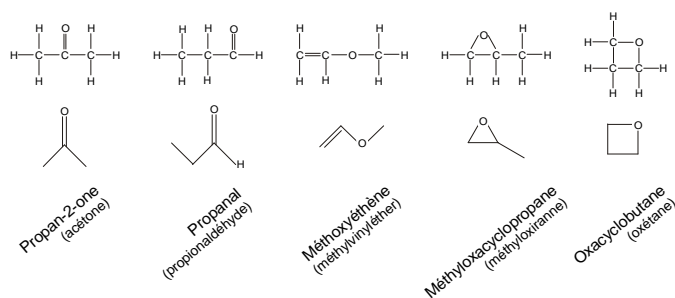
Nous l'avons déjà souligné, l'élément central de la chimie organique est le carbone (C). Toutefois, d'autres atomes ont un rôle capital en chimie organique : l'hydrogène (H), l'oxygène (O) et l'azote (N), principalement, mais aussi le soufre (S) et le phosphore (P), et, accessoirement, le chlore (Cl), le brome (Br), l'iode (I), etc.

1.3. La nomenclature et l'écriture des formules chimiques ; notion de fonction.

Tout comme les champignons, les corps chimiques sont soumis à des règles de nomenclature très strictes. Cela permet de ne pas attribuer deux noms différents au même composé, et, à l'inverse, de ne pas donner le même nom à deux substances différentes. D'autre part, l'énorme avantage du système actuel de nomenclature⁸ est qu'il permet, à partir du nom d'un composé, d'en retrouver la formule et vice-versa. En effet, l'ancienne nomenclature était fondée sur des noms enchanteurs (formol, vanilline, thymol, etc.) mais peu évocateurs de la composition de la molécule qu'ils nommaient.

Outre par des noms, les produits chimiques sont donc, comme chacun sait, désignés par des formules, qui peuvent être plus ou moins détaillées. Les formules dites « brutes » indiquent la composition de la molécule en atomes, mais ne livrent aucune indication sur la disposition spatiale et relative de ces atomes. Au contraire, les formules développées donnent une idée de la géométrie de la molécule considérée. Cela permet de distinguer entre eux les isomères. Deux isomères sont deux molécules qui possèdent la même formule brute, et donc la même composition en atomes, mais dont la disposition spatiale (donc la formule développée) est différente. En règle générale, plus les molécules sont compliquées, plus elles possèdent d'isomères.

Isomères de formule brute C_4H_8O



⁸ L'IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*) est l'organisme responsable de la nomenclature des corps chimiques.

Cette figure illustre cinq (il en existe d'autres) des isomères de l'acétone, une molécule très simple qui répond à la formule brute C_3H_6O . Chaque molécule est représentée de deux manières différentes et est identifiée par deux noms : le premier est le nom correct (en accord avec les règles de l'IUPAC), tandis que le second est l'un des noms les plus courants (il existe, comme en mycologie, de nombreux synonymes). Toutes ces molécules, bien que leur formule brute soit la même, possèdent des propriétés physico-chimiques complètement différentes !

L'écriture des formules chimiques répond elle aussi à une série de règles bien précises. Prenons l'exemple de l'acide sulfurique, H_2SO_4 . Les lettres correspondent aux symboles des atomes : dans notre formule, H indique la présence d'hydrogène, S celle de soufre et O celle d'oxygène. Les chiffres en indice se rapportent au symbole qui les précède, et indiquent le nombre d'atomes de cet élément que contient chaque molécule. Toute molécule d'acide sulfurique compte donc deux atomes d'hydrogène, quatre atomes d'oxygène et un atome de soufre (lorsqu'un élément n'est représenté, comme le soufre dans notre exemple, que par un seul atome, il n'est pas nécessaire de le préciser ; c'est pour cela que la formule est H_2SO_4 et non pas $H_2S_1O_4$).

Lorsqu'une seconde formule suit la première et qu'un point les sépare, il s'agit de molécules d'« accompagnement ». Par exemple, le sulfate de fer (II) heptahydraté s'écrit $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ parce que chaque molécule de sulfate de fer (II) est accompagnée de sept (ce qu'indique le nombre qui suit le point) molécules d'eau : on parle de l'eau d'hydratation.

On est parvenu à identifier une série de fonctions chimiques, qui sont à la base de la nomenclature actuelle. En chimie organique, on parle de fonctions pour désigner des groupements caractéristiques d'atomes, qui font partie de nombreuses molécules, et qui donnent à toutes les molécules qui les portent une série de propriétés communes. Par exemple, un alcool est une molécule qui comporte une fonction alcool (c'est-à-dire un groupement -OH) ; une amine est une substance qui présente une fonction amine (-NH₂). Le tableau qui suit reprend les principales fonctions de la chimie organique qui seront rencontrées dans la suite de cet exposé. Il existe une multitude d'autres fonctions que celles qui sont reprises dans ce tableau : des courantes (amine, ester, amide, nitrile, cétone, etc.) et de moins courantes (imide, thioester, imine, etc.).

Nom de la fonction :	Groupement :	Exemple :
Halogénure	C-X (X = F, Cl, Br ou I)	Chloral
Alcool	C-OH	Ethanol
Ether	C-O-C	Méthoxyéthène
Aldéhyde	-CHO	Propanal
Acide carboxylique	-COOH	Acide lactique

En chimie minérale, les fonctions sont nettement moins variées, puisqu'on se limite généralement à quatre : acide, base, oxyde et sel. Nous détaillerons par la suite les acides et les bases, qui sont les plus importants. Tous deux dérivent des oxydes, et le produit de la réaction entre une base et un acide est un sel.

1.4. La mole ; la réaction chimique et son équation ; notion d'équilibre.

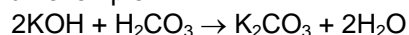
La taille des atomes et des molécules étant extrêmement réduite - pour les atomes, elle se mesure en picomètres (⁹) -, la moindre réaction chimique ne s'exerce pas entre dix, mille, ni même un milliard d'atomes ou de molécules, mais le plus souvent au moins entre des milliers de milliards de milliards (un avec vingt et un zéros derrière). Pour ne pas avoir à travailler avec des nombres aussi encombrants, une unité très importante a été définie en chimie : la mole. Une mole correspond à $6,02252 \cdot 10^{23}$ (602 252 avec dix-huit zéros derrière) molécules ou atomes, selon la substance. Ce nombre est la constante d'Avogadro.

Nous venons de soulever l'idée que des substances chimiques pouvaient réagir entre elles pour donner naissance à d'autres corps. Toutefois, en dehors de la chimie nucléaire, il est impossible de transformer un élément chimique en un autre (eh non, la pierre philosophale n'a toujours pas été découverte !). Une réaction chimique ne fait que réarranger, redistribuer les atomes : elle peut transformer les molécules en d'autres molécules, les molécules en atomes ou les atomes en

⁹ Un picomètre (pm) correspond à un millième de milliardième de mètre : $1 \text{ pm} = 10^{-12} \text{ m}$. On pourrait dire aussi que le picomètre est la millionième partie du micromètre (μm), qui est lui-même la millionième partie du mètre (m).

molécules, mais est totalement incapable de transformer les atomes en d'autres atomes, malgré qu'elle puisse provoquer la transformation d'ions en d'autres ions (¹⁰)...

Lors des réactions, on distingue les réactifs et les produits : les réactifs sont les substances que l'on met en présence en vue d'obtenir une réaction, et les produits sont les corps que l'on récupère au terme de la réaction (¹¹). La réaction, en chimie, est représentée par une équation : les réactifs sont inscrits à gauche de la flèche, tandis que les produits sont inscrits à droite. Chaque substance est précédée d'un chiffre, que l'on appelle « coefficient stoechiométrique ». Il indique le nombre de moles de chaque réactif qui sont nécessaires pour que la réaction soit complète (en théorie !) et le nombre de moles de chaque produit qui seront récupérées en fin de réaction (si elle était complète). Illustrons ceci par un exemple :



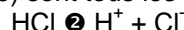
Dans la réaction entre la potasse et l'acide carbonique (qui provient du « gaz carbonique » de l'atmosphère), deux moles de potasse (KOH) réagissent avec une mole d'acide carbonique (H₂CO₃) pour donner une mole de carbonate de potassium (K₂CO₃) et deux moles d'eau (H₂O).

Dans notre réaction, la flèche simple devrait être remplacée par une double flèche {↔ (¹²)}. Il n'existe en effet aucune réaction qui aille « jusqu'au bout », comme disent les chimistes, c'est-à-dire aucune réaction au terme de laquelle l'entière des réactifs a été transformée en produits. La simple flèche n'est acceptable que du point de vue théorique, sur papier, tandis que la flèche double exprime ce qui se passe véritablement lors de l'expérience. Elle symbolise l'équilibre auquel est limitée toute réaction chimique.

Cet équilibre peut être plus ou moins « déplacé vers la droite », selon le langage consacré. Plus l'équilibre est déplacé vers la droite et plus la réaction est complète, c'est-à-dire plus la quantité de produits récupérés sera proche du maximum prévu par l'équation théorique. Concrètement, l'équilibre est atteint au moment où la quantité de produits qui se forment à partir des réactifs est égale à la quantité de produits qui disparaissent pour reformer les réactifs. Les réactions chimiques peuvent en effet toujours s'effectuer dans les deux sens même si, généralement, l'un des deux sens est largement favorisé par rapport à l'autre. Pour bien comprendre cela, il faut se défaire de l'idée trop largement répandue qu'une réaction chimique est un phénomène statique. La réaction est un processus dynamique...

1.5. Acides et bases ; notion de pH.

Il existe trois théories qui définissent les acides et les bases, et interprètent les réactions qui se produisent entre eux : la théorie d'Arrhenius, celle de Bronsted-Lowry et enfin celle de Lewis. Nous n'étudierons que la première, qui est la plus simple mais qui, malheureusement, comporte des lacunes. Arrhenius considère qu'une substance est un acide si, en solution dans l'eau, elle libère des ions hydrogène¹³ (H⁺) : HCl (l'acide chlorhydrique), H₂SO₄ (l'acide sulfurique), H₃PO₄ (l'acide phosphorique) et H₂CO₃ (l'acide carbonique) sont tous les quatre des exemples d'acides :



A l'opposé, une substance est une base si, en solution aqueuse, elle libère des ions hydroxyde (OH⁻). La potasse (KOH) et la soude (NaOH) sont des bases dites d'Arrhenius :



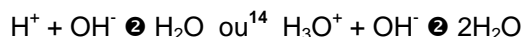
L'acide et la base sont opposés en ce sens qu'ils peuvent se neutraliser l'un l'autre en libérant de l'eau et en formant un sel. En effet, H⁺ et OH⁻, qui sont les deux ions « constitutifs » de l'eau, peuvent réagir entre eux :

¹⁰ Une réaction peut, par exemple, transformer l'ion ferreux (Fe²⁺) en ion ferrique (Fe³⁺) : Fe²⁺ ↔ Fe³⁺ + e⁻ ; ces deux ions, malgré que leur charge est différente, sont bel et bien des ions « fer ». D'ailleurs, tous deux peuvent se retransformer en fer métallique par les réactions suivantes : Fe²⁺ + 2e⁻ ↔ Fe et Fe³⁺ + 3e⁻ ↔ Fe.

¹¹ Dans les réactions qui conduisent à un dégagement gazeux, on a coutume de démarquer le produit gazeux en faisant suivre sa formule, dans l'équation de la réaction, par une flèche verticale orientée vers le haut. Par exemple, l'action de l'acide chlorhydrique (HCl) sur le calcaire (CaCO₃) libère du gaz carbonique (CO₂), ce qui se traduit par : CaCO₃ + 2HCl ↔ CaCl₂ + CO₂↑ + H₂O.

¹² En vérité, la double flèche figurée ici est à l'envers, mais les voies de la typographie sont impénétrables...

¹³ En vérité, l'ion H⁺ n'existe pas tel quel dans l'eau : il s'associe à une molécule d'eau pour former une sorte d'ion complexe H₃O⁺ que l'on appelle ion hydronium : H⁺ + H₂O ↔ H₃O⁺. Toutefois, en pratique, que l'on parle d'ion hydronium ou que l'on se limite à l'ion hydrogène, cela change peu de choses. Seules les équations chimiques sont un peu différentes, puisque la dissolution d'un acide dans l'eau ne peut plus s'écrire, par exemple : HCl ↔ H⁺ + Cl⁻, mais doit s'écrire HCl + H₂O ↔ H₃O⁺ + Cl⁻. Cette dernière équation est en fait la somme membre à membre des deux équations HCl ↔ H⁺ + Cl⁻ et H⁺ + H₂O ↔ H₃O⁺, en simplifiant H⁺, qui se retrouve dans les deux membres (dans une certaine mesure, l'équation chimique se traite comme une équation mathématique, et permet, par exemple, de changer des termes de membre et de réaliser grâce à cela des simplifications).



Prenons comme exemple la réaction entre l'acide chlorhydrique (HCl) et la potasse (KOH), qui conduit à la libération d'eau (H₂O) et à la formation d'un sel (KCl) qui, en l'occurrence, est le chlorure de potassium :



Nous avons souligné dans ce qui précède que les ions H₃O⁺ sont responsables du caractère acide, et les ions OH⁻ du caractère basique. Une solution qui contient beaucoup d'ions H₃O⁺ et peu d'ions OH⁻ est donc acide, tandis qu'à l'inverse, une solution qui contient beaucoup d'ions OH⁻ et peu d'ions H₃O⁺ est basique. Mais une solution contient toujours les deux types d'ions, et le produit de leurs concentrations (on symbolise une concentration par des crochets) est constant :

$$[\text{H}^+] \times [\text{OH}^-] = 10^{-14} \text{ mol}^2\text{l}^{-2} = \text{constante}^{15}$$

Comme ce produit, que l'on appelle « produit ionique de l'eau », est constant, une solution qui contient beaucoup d'ions hydronium contiendra peu d'ions hydroxyde, et inversement. Cette relation permet de ramener l'acidité et la basicité à la concentration en ions hydronium : une solution acide contient beaucoup d'ions H₃O⁺, tandis qu'une solution basique en contient peu. Voilà donc la notion de basicité rapportée à celle d'acidité.

La mesure de la concentration en ions H₃O⁺ permet, dès lors, une évaluation de l'acidité d'une solution. On dira d'une solution qu'elle est acide si elle contient plus de 10⁻⁷ moles d'ions hydronium par litre. Au contraire, elle est basique si sa concentration en ions H₃O⁺ est inférieure à 10⁻⁷ moles par litre. La concentration de 10⁻⁷ moles par litre en ions hydronium correspond, on l'aura compris, à la neutralité ; une solution est neutre si elle n'est ni acide ni basique : c'est le cas de l'eau pure.

Les exposants négatifs, qui compliquent les calculs, sont éliminés par le calcul du pH, qui correspond à l'opposé du logarithme en base dix de la concentration en ions hydronium :

$$\text{pH} = - \log [\text{H}_3\text{O}^+]$$

Plus un nombre est grand, plus son logarithme est grand ; dès lors, d'après la relation qui précède, on voit que plus la concentration en ions hydronium d'une solution est élevée, moins son pH est grand. Ainsi donc, une solution dont le pH est de 1 est très acide, tandis qu'une solution dont le pH est de 13 est très basique. L'échelle de pH courante s'étend de 0 à 14, mais des valeurs négatives ou supérieures à 14 sont possibles.

Pour terminer, disons que tous les acides n'ont pas une force équivalente : on les classe habituellement en acides « forts » et en acides « faibles ». La force d'un acide correspond à la facilité avec laquelle il libère des ions hydronium, et donc plus un acide est fort, plus faible sera la quantité nécessaire de cet acide pour acidifier nettement une solution. De même, une base est d'autant plus forte qu'elle libère plus facilement des ions hydroxyde.

La force des acides et des bases est caractérisée par une constante : la Ka (ou constante d'acidité). Plus la Ka d'un acide est élevée, et plus cet acide est fort, c'est-à-dire plus grande est la facilité avec laquelle il libère ses ions H₃O⁺. Par une relation similaire à celle du calcul du pH d'après la concentration en ions hydronium, on définit le pKa. Parallèlement au pH, plus petit est le pKa (dont les valeurs s'étalent principalement entre -10 et +35) d'un acide, plus cet acide est fort :

$$\text{pKa} = - \log \text{Ka}$$

Le tableau de la page suivante reprend quelques acides et bases courants, avec leur(s) pKa respectif(s). En effet, les acides qui présentent la possibilité de libérer plusieurs ions hydronium (ce qui se voit pour beaucoup d'entre eux au nombre en indice qui suit le symbole « H » de l'hydrogène dans leur formule) possèdent autant de pKa différents que d'ions H₃O⁺ libérables.

Acide ou base :	Formule :	pKa 1	pKa 2	pKa 3
ACIDES FORTS				
Acide chlorhydrique	HCl	-7		
Acide sulfurique	H ₂ SO ₄	-3	2	
ACIDES FAIBLES				
Acide phosphorique	H ₃ PO ₄	2,1	7,2	11,9

¹⁴ Voir note au bas de la page précédente.

¹⁵ mol²l⁻² est l'unité (définie mathématiquement) qui correspond à ce rapport, tout comme « m » est une unité de longueur. Toutes deux sont conformes au S.I. (Système International).

Acide carbonique	H ₂ CO ₃	6,4	10,4	
Acide formique	H-COOH	3,8		
Acide lactique	CH ₃ -CHOH-COOH	3,86		
Acide acétique	CH ₃ -COOH	4,75		
BASES FAIBLES				
Ammoniac	NH ₃	9,2		
BASES FORTES				
Hydroxyde de sodium (soude)	NaOH	15,7		
Hydroxyde de potassium (potasse)	KOH	15,7		

2. Généralités.

On utilise en mycologie une multitude de produits différents. Nous en avons sélectionné une vingtaine parmi les plus communs. La première distinction qui puisse être faite entre ces réactifs est relative à l'usage auquel ils sont destinés : macrochimie ou microscopie. Il n'est pas rare toutefois que des produits servent à des applications aussi bien macrochimiques que microscopiques : nous les qualifierons alors de mixtes.



Une autre manière de classer les innombrables produits utilisés est d'isoler les réactifs véritables du reste. On parlera de réactif lorsqu'un produit conduit à une réaction *a priori* inattendue. Tel est le cas du sulfate de fer, qui est vert mais donne souvent des réactions orange. Le rouge Congo ammoniacal, quant à lui, n'est pas un réactif parce qu'il colore en rouge les éléments qu'on y plonge. Quoi de plus normal ? Il y a cependant ici aussi des cas discutables, en ce sens que certains

produits, qui ne sont en général pas des réactifs, peuvent à l'occasion se comporter comme tels. C'est justement le cas du rouge Congo ammoniacal, car on peut dire de certaines structures qu'elles sont congophiles si elles fixent le rouge Congo de manière spectaculaire. C'est la raison qui nous a poussé à utiliser indifféremment les termes « réactif » et « produit » dans la suite de cet exposé.

2.1. Réactifs macrochimiques.



Toutes les substances à usage macrochimique sont des réactifs à proprement parler. Ils sont le plus souvent stockés dans des flacons présentant une petite tige (fichée dans le capuchon) terminée par une palette, normalement destinée à l'application de produits pharmaceutiques (sur les cors, les verrues et autres joyusetés).

Sur le terrain, on a intérêt à n'emporter que le minimum de flacons, afin de limiter l'encombrement.

Pour l'utilisation, il suffit de déposer, grâce à la tige, une petite goutte du réactif sur la partie du champignon à tester. Le sulfate de fer, lui, sera appliqué en frottant la

surface du champignon avec le cristal.

L'ammoniaque, enfin, est le seul réactif qu'on peut utiliser sans provoquer de contact direct entre la substance et le champignon : les vapeurs peuvent être suffisantes.

Pour réaliser des réactions macrochimiques dans des conditions idéales, il faut choisir des spécimens adultes mais pas trop vieux, et bien frais mais non gorgés d'eau. De même, les réactifs utilisés doivent être en bon état pour fournir des résultats reproductibles. La plupart se conservent longtemps, mais pas tous. Une réaction positive se traduit par un changement de couleur de la zone testée.

Plusieurs facteurs ⁽¹⁶⁾ doivent être pris en compte pour une utilisation rationnelle et optimale des réactifs macrochimiques : la partie du champignon sur laquelle le réactif a été appliqué, l'intensité de la réaction, le temps nécessaire à la réaction, et enfin la subjectivité de l'opérateur. En effet, les réactions seront souvent différentes selon que le réactif a été déposé sur la cuticule du chapeau ou sur la chair du stipe, par exemple. Au niveau de l'intensité de la réaction, on distingue souvent par - ou 0 une réaction négative, par + une réaction positive mais faible, par ++ une réaction plus nette, et par +++ une réaction forte. On se contente de ces quatre niveaux parce qu'il est difficile de quantifier précisément l'intensité de la réaction.

¹⁶ Voir l'article de P. OTJACQUES sur les réactions macrochimiques du genre *Russula* (*Bulletin du C.M.L.B.*, fascicule 2, 1995, pages 6-13).

De même, on distingue des réactions instantanées, des réactions rapides (quelques secondes), des réactions normales (autour d'une minute), des réactions lentes (entre deux minutes et un quart d'heure) et des réactions tardives (de l'ordre de la demi-heure ou plus). Enfin, la subjectivité du manipulateur entre aussi en ligne de compte, car chacun voit les couleurs avec une teinte et une intensité propres. Ainsi, un ocre sera plutôt jaune pour certains, et plutôt brun pour d'autres...

2.2. Réactifs pour la microscopie.

En microscopie, on utilise aussi bien des réactifs véritables, comme le liquide de Melzer, que des milieux d'observation inertes (ou qui peuvent être considérés comme tels). Le choix d'un milieu d'observation dépend essentiellement de trois facteurs : le groupe auquel appartient le champignon à observer, le type de cellules à mettre en évidence et la destination de la préparation.

Le groupe auquel appartient le champignon est essentiel : il est inutile, par exemple, d'observer des spores de *Clitocybe* dans le réactif de Melzer, car elles sont iodo-négatives chez toutes les espèces du genre. De même, il est plus intéressant d'observer des spores d'ascomycètes dans le bleu coton au lactophénol que dans le rouge Congo ammoniacal, parce que le bleu coton se fixe très bien sur l'ornementation des spores de nombreux ascomycètes, ce qui n'est pas nécessairement le cas du rouge Congo.

Le type de cellules à mettre en évidence n'est pas non plus sans importance. Par exemple, on a en général avantage à observer les ascques dans le réactif de Melzer, tandis que les paraphyses y sont fort peu visibles. Enfin, la destination de la préparation doit être prise en compte. Une préparation extemporanée sera idéalement réalisée dans un milieu très fluide (ammoniacal, rouge Congo ammoniacal, potasse, etc.) qui facilite la dissociation. Au contraire, si on désire conserver la préparation quelque temps, on aura intérêt à la monter dans un liquide visqueux, stable et peu volatil (bleu coton au lactophénol, acide lactique concentré, lactophénol, chloral lactophénol, etc.). De la même manière, les préparations vouées à la photographie seront avantageusement montées dans des milieux visqueux, qui limitent le déplacement des objets au cours de l'exposition (qui dure parfois plusieurs secondes).

Pour l'utilisation des milieux de montage en microscopie ⁽¹⁷⁾, on dépose une goutte du liquide choisi sur une lame porte-objet, on y transfère le fragment de champignon à observer et on retourne délicatement sur le tout une lamelle couvre-objet sur laquelle une toute petite goutte du milieu de montage aura été déposée, et ce pour éviter l'emprisonnement de bulles d'air. Le fragment à observer peut être une coupe fine, faite en général à la lame de rasoir, ou bien un petit morceau de champignon prélevé à l'aide de pincettes ou d'un scalpel. Dans ce dernier cas, il est nécessaire, pour voir quelque chose, de dissocier le prélèvement dans le liquide d'observation. Pour ce faire, on tapote la surface de la lamelle à l'aide de l'extrémité molle et arrondie d'un stylo bic, par exemple. Dans tous les cas, l'objet destiné à l'observation doit être de très petites dimensions.

2.3. Réactifs mixtes.

Dans cette catégorie de réactifs ne sont classés, en fait, que l'acide sulfurique et la vanilline (les deux composants de la sulfovanilline), l'ammoniacal et la potasse à 10% dans l'eau bidistillée.

Il est à remarquer que les réactifs dont l'utilisation la plus courante est de loin macrochimique ont été regroupés avec les réactifs typiquement macrochimiques (c'est le cas du sulfoformol). De même, les réactifs qui, bien que pouvant occasionnellement être utilisés en macrochimie, sont surtout destinés à la microscopie, ont été regroupés avec les réactifs purement microscopiques (le réactif de Melzer en est un bon exemple).

Remarque : dans chaque catégorie, nous avons classé les réactifs par ordre alphabétique, même si, parfois, cela peut paraître illogique.

¹⁷ Voir l'article de D. BAAR sur les préparations par dissociation (*Mycos*, fascicule 3, 1996, pages 3-7).