



*(Armillaria mellea (Scop. : Fr.) Emeland, photo Marcel LECOMTE, Trélon, septembre 2006)*

# Bulletin de l'Association des Mycologues Francophones de Belgique

(A.M.F.B. asbl)

2008/01



[Table des matières :](#)

Pages

- 6 : Présentation de l'AMFB**
- 8 : Liste des membres fondateurs**
- 10 : Compte-rendu de la journée à Fesches le 01.09.2007** (Jacqueline Bernaud)
- 12 : Statuts de l'association après publication au Moniteur belge**
- 18 : Projets d'activités pour 2009 – 2010 - 2011**
- 19 : Mode d'emploi de Mycobel** (Marcel Lecomte)
- 27 : Une expérience intéressante : la plantation de noisetiers mycorhizés à la Truffe de Bourgogne (Tuber uncinatum)** (Marcel Lecomte)
- 32 : L'œil du braconnier** (Alfred Loss)
- 33 : Compte-rendu du séminaire de microscopie à Massembre** (André Février)
- 36 : A propos de notre journée « Champignons de printemps » à Marcinelle le 8 mai 2008** (Jacqueline Bernaud – Daniel Ghyselincx - Marcel Lecomte)
- 38 : Russula pseudodelica retrouvée dans la région de Namur** (Marcel Lecomte)
- 42 : Quelques réactifs en mycologie.** (Didier Baar)  
**Partie 1 : introduction, notions de chimie et généralités**  
**Notions élémentaires de chimie**  
 La matière : atomes, isotopes, molécules et ions  
 44 : La chimie minérale et la chimie organique  
 45 : La nomenclature et l'écriture des formules chimiques ; notion de fonction  
 47 : La mole ; la réaction chimique et son équation ; notion d'équilibre  
 Acides et bases ; notion de pH.
- 49 : **Généralités**  
 Réactifs macrochimiques  
 50 : Réactifs pour la microscopie  
 51 : Réactifs mixtes
- Partie 2 : réactifs pour la macrochimie et réactifs mixtes**  
**Réactifs pour la macrochimie**  
 Formol pur  
 52 : Phénol à 3% dans l'eau bidistillée  
 53 : Résine de gaïac à 10% dans l'alcool à 80°  
 54 : Soude à 10% dans l'eau bidistillée  
 55 : Sulfate de fer, cristal  
 56 : Sulfoformol
- Réactifs mixtes**  
 Acide sulfurique dilué 2x  
 57 : Ammoniaque concentrée  
 58 : Potasse à 10% dans l'eau bidistillée  
 59 : Vanilline
- 60 : **Partie 3 : réactifs pour la microscopie et bibliographie**  
 Réactifs pour la microscopie  
 Acide lactique concentré  
 Ammoniaque diluée 2x  
 61 : Bleu coton au lactophénol

- 62 : Chloral-lactophénol
- 63 : Eau bidistillée
  - Lactophénol
- 64 : Potasse à 5% dans l'eau bidistillée
- 64 : Potasse à 2% dans l'eau bidistillée
  - Réactif de Melzer
- 65 : Rouge Congo ammoniacal
- 67 : Bibliographie
  - Remerciements
- 68 : Tuber aestivum Vitt.** (Alfred Loss)
- 73 : Les mesures en mycologie** (Didier Baar)
  - Partie 1 : Introduction ; mesures à l'échelle macroscopique ; étalonnage des oculaires micrométriques ; photographie et dessin**
    - Introduction
    - Mesures, unités et étalons
  - 74 : Mesures à l'échelle macroscopique**
    - Le pied à coulisse
  - 75 : Expression des résultats
  - 76 : Mesures à l'échelle microscopique : généralités
  - 77 : Etalonnage des oculaires micrométriques**
    - Nécessité de l'étalonnage
  - 78 : Réglages préalables à l'étalonnage
  - 79 : Clé de choix du bon protocole de réglage
  - 80 : Protocoles de réglage
    - Microscopes monoculaires
    - Microscopes binoculaires à réglage interpupillaire n'influant pas sur la longueur du tube
  - 81 : Microscopes binoculaires à réglage interpupillaire influant sur la longueur du tube
  - 83 : Remarque importante concernant les protocoles B, C et D
    - Réglage de l'écart interpupillaire et réglage dioptrique
    - Réglage de l'écart interpupillaire
    - Réglage dioptrique
  - 84 : Pratique de l'étalonnage proprement dit
  - 85 : Cas particuliers du dessin et de la photographie**
    - Réalisation de mesures à partir de la pellicule ou du dessin
  - 86 : Réalisation de mesures sur des images secondaires
  - 87 : Fréquence utile d'étalonnage
  - 88 : Partie 2 : pratique des mesures micrométriques ; principales sources d'erreurs ; exploitation et expression des résultats ; conclusion.**
    - Réalisation pratique des mesures micrométriques**
      - Méthode générale de mesure
    - 89 : Mesure des spores
    - 90 : Définition des angles de vue et des grandeurs caractéristiques en fonction de la morphologie des spores.
    - 93 : Conditions de mesure
    - 95 : Mesure d'éléments divers
    - 95 : Petit catalogue des grandes erreurs de mesure**
    - 96 : Erreurs dues à un mauvais étalonnage
      - Négliger l'étalonnage
      - Ne pas tenir compte de l'écart interpupillaire et du réglage dioptrique
    - 97 : Cas des congrès
      - Erreurs dues à l'expérimentateur et à la nature des éléments mesurés
    - 98 : Erreurs dues au matériel utilisé
    - 99 : Fausses erreurs

**Exploitation et expression des résultats**

Effectif et précision

100 : Analyse statistique et expression des résultats

102 : Exemples d'exploitation des résultats de la mesure des spores

Comparaison des trois méthodes d'interprétation des résultats

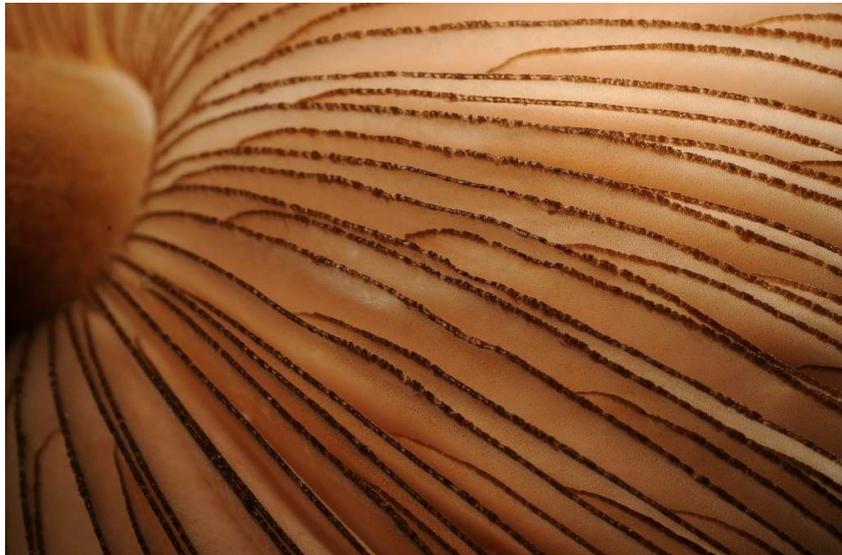
105 : Comparaison des résultats en fonction du nombre de spores mesurées

106 : **Conclusion générale**

107 : Bibliographie et remerciements



*Pholiota squarrosa* (Müll. : Fr.) Kummer – baside avec stérigmates et 3 spores (photo Françoise Draye)



*Pluteus umbrosus* (Pers. : Fr.) Kummer – lames avec arête ponctuée (photo Marc Paquay)



## L'Association des Mycologues Francophones de Belgique

A la suite d'une invitation de Jean Mornand et de Guy Redeuilh en octobre 2000 au siège de la SMF à Paris, l'année 2006 avait été proposée pour tenir en Belgique la session annuelle de la S.M.F. La précédente session belge avait eu lieu à Viroinval du 8 au 15 octobre 1987 (du jeudi matin au mercredi soir, y compris la préparation de l'expo l'après-midi et la séance de clôture à 17h, l'expo étant ouverte au public à partir du jeudi matin !).

Sous l'égide de Paul Pirot, c'est en novembre 2002 que fut lancée auprès des mycologues francophones de Wallonie et de Bruxelles l'invitation à une première réunion, qui se tint à Namur le 20 janvier 2003. Nous attendions au moins un représentant de chaque cercle de mycologie, sans compter qu'une vingtaine de scientifiques et d'« indépendants » avaient été invités eux aussi. André Fraiture, mycologue de profession, accepta de présider le projet. La préparation du congrès, nécessitant une équipe vaillante (!), était aussi l'occasion d'envisager la mise sur pied d'une sorte de fédération des associations ou cercles existants.

Notre invitation fut bien accueillie : nous étions 27 à cette première réunion. Après avoir fait connaissance, il fut question du lieu à trouver pour le congrès, des finances, et de la création éventuelle d'une association sans but lucratif (équivalente à une association - Loi 1901). La date fut choisie de sorte à précéder l'ouverture de la chasse, et des délégués se mirent en quête d'un site apte à héberger la session... L'aventure était engagée, avec un enthousiasme qui n'a pas fléchi durant quatre ans. De nouveaux membres ont rejoint depuis le comité, les responsabilités et tâches variées ont été partagées, des groupes de travail se sont constitués.

Au fil des rencontres, où furent mis sur la table tous les problèmes rencontrés et à envisager, et devant certaines difficultés d'apparence insurmontable, l'idée d'une a.s.b.l. autonome et celle d'une fédération de cercles furent abandonnées au profit de la création d'une Association des Mycologues Francophones de Belgique.

C'est l'a.s.b.l. des Mycologues du Luxembourg Belge (Neufchâteau) qui a assuré la couverture légale du comité organisateur jusqu'au congrès. Ce dernier a constitué une réussite exceptionnelle, qui a marqué profondément l'esprit des 248 participants, dont plus de 200 à temps plein. Le comité organisateur, composé de 35 personnes, a réussi son challenge et l'équipe constituée est sortie grand vainqueur de l'épreuve, avec des liens riches et nouveaux créés entre tous. Sur le plan financier, l'opération a été nettement positive : elle a permis de se constituer un « trésor de guerre » permettant d'envisager sereinement l'avenir.

l'A.M.F.B., un groupe nouveau rassemblant des individus attelés à un projet commun, non concurrentiel avec les associations existantes, venait de réussir son pari.

Forts de la réussite de la session S.M.F. 2006, et après une réunion de concertation regroupant les 35 organisateurs, nous avons décidé de continuer l'aventure, pour envisager d'autres activités communes.

Après une période de repos bien mérité et une rencontre festive à Vedrin, nous avons repris le collier afin d'élaborer des statuts en envisager le passage vers une asbl autonome.

l'A.M.F.B. asbl est née au mois de juin 2007 et a été portée sur les fonds baptismaux le 21 septembre 2007, jour de la publication officielle des statuts au Moniteur Belge.

La gestion journalière a été confiée à un conseil d'administration composé de 11 personnes, choisi parmi les 35 membres fondateurs.

Deux activités marquantes ont été réalisées et ont rencontré un vif succès :

- rencontre mycologique sur le parking de Fesches, avec balade organisée, barbecue et ensuite exposition commentée des espèces récoltées (voir commentaire plus loin).

- soirée de découverte et de formation pour le logiciel Mycobel, présentée par Daniel Ghyselincq, son auteur, au laboratoire de la faculté de botanique à Namur : 23 participants (voir synthèse plus loin).

« **Même l'impossible est possible !** » (*Carlos Rodriguez, coach de Justine Henin*)



Cystides couronnées de cristaux (coloration au rouge Congo) chez *Inocybe curvipes* Karsten, 04/09/2008 (photo Daniel Ghyselincq)



*Inocybe bongardii* (Weinm.) Quélet, parking de Fesches, 23/07/2008 (photo Marcel Lecomte)

## LES MEMBRES FONDATEURS DE L'A.M.F.B.



+ l'auteur de la photo

**DRAYE Françoise**, 56 rue des Combattants de Beez, B-5000 Beez. ☎ +32 81 22 91 20  
[draye\\_fr@hotmail.com](mailto:draye_fr@hotmail.com)

**FELU Claude**, 7A tour de Muâche, B-5340 Gesves. ☎ +32 81 58 21 18  
[mukanda@versateladsl.be](mailto:mukanda@versateladsl.be)

**FRAITURE André**, Jardin Botanique National de Belgique, Domaine de Bouchout, B-1860 Meise. ☎ +32 2 260 09 36 [fraiture@br.fgov.be](mailto:fraiture@br.fgov.be)

**GELIN Arlette**, 13 chemin des Aujes, B-5580, Rochefort. ☎ +32 84 37 74 97 ou  
 📞 +32 479 40 44 45 [gelinarlette@hotmail.com](mailto:gelinarlette@hotmail.com)

**GERARD Emile**, 111 rue de Bomel, B-5000 Namur. ☎ & 📠 +32 81.22 07 08  
[emile\\_gerard@hotmail.com](mailto:emile_gerard@hotmail.com)

**GHYSELINCK Daniel**, 1 avenue de la Résistance, B-1340 Ottignies. ☎ +32 10 40 06 59  
 ou 📞 +32 496 420 384  
[daniel.ghyselinck3@scarlet.be](mailto:daniel.ghyselinck3@scarlet.be)

**LEBRUN Jean-Claude**, 24 Wez de Bouillon, B-6890 Villance. ☎ +32 61 65 54 14 ou 📞  
 +32 485 38 41 10  
[lebrun.jeanclaud@skynet.be](mailto:lebrun.jeanclaud@skynet.be)

**LECOMTE Marcel**, 117 rue Basse-Chaussée, B-5022 Cognelée (Namur). ☎ +32 81 21  
 14 21 ou 📞 +32 475 45 17 75  
[mlecomte@skynet.be](mailto:mlecomte@skynet.be)

**LEGROS Jean-Pierre**, 14 rue de Malonne, B-5150 Floreffe.  
[jeanpierrelegros@versatel.be](mailto:jeanpierrelegros@versatel.be)

**LENNE Mireille**, 18 avenue Baron Albert d'Huart, B-1150 Bruxelles. ☎ +32 2 762 77 75  
[fa532665@skynet.be](mailto:fa532665@skynet.be)

**LHOEST Jean & Francine**, 20A ruelle Cracsot, bte 9, B-5660 Couvin. ☎ +32 60 39 03  
 00 ou 📞 +32 498 47 57 97  
[j.lhoest.couvin@skynet.be](mailto:j.lhoest.couvin@skynet.be)

**LOSS Alfred**, 6 allée des Ecureuils, B-6280 Loverval. ☎ +32 71 36 88 38 ou 📞 +32 477  
 50 92 07 [alfred.loss@scarlet.be](mailto:alfred.loss@scarlet.be)

**MERCKEN Maurits**, 41 rue Bernifa, B-6880 Acremont-Bertrix. ☎ +32 61 53 57 92  
[mauricemercken@hotmail.com](mailto:mauricemercken@hotmail.com)

**MERTENS Camille**, 4 rue du Maustichy, B-1460 Ittre. ☎ +32 67 64 87 46  
[camillemertens48@hotmail.com](mailto:camillemertens48@hotmail.com)

**MERTENS Yolande**, 116 Tomberg, bte 12, B-1200 Bruxelles. ☎ +32 2 762 34 61  
[yolande\\_mertens@hotmail.com](mailto:yolande_mertens@hotmail.com)

**NOTTE Annie & Raymond**, 6 avenue du Champ des Monts, B-1300 Wavre ☎ +32 10 24 22 28 ou 📞 +32 475 78 43 85  
[annie.raymond@yucom.be](mailto:annie.raymond@yucom.be)

**OTJACQUES Pierre**, 19 chemin de la Hette, B-6840 Neufchâteau. ☎ +32 61 27 90 63 ou 📞 +32 479 90 42 78  
[pierre.otjacques@skynet.be](mailto:pierre.otjacques@skynet.be)

**PAQUAY Marc**, 1 rue des Marmozets, B-5560 Ciergnon. ☎ +32 84 37 80 97 ou 📞 +32 476 21 49 29 [m.paquay@swing.be](mailto:m.paquay@swing.be)

**PELLICANI Joseph**, 8 rue Hotteux, B-4630 Soumagne. ☎ +32 4 358 95 62 ou 📞 +32 476 34 62 57  
[joseph.pellicani@skynet.be](mailto:joseph.pellicani@skynet.be)

**PETITJEAN Marc**, 8 rue Lucien Burnotte, B-6840 Neufchâteau. ☎ +32 61 27 71 75 ou 📞 +32 479 39 11 76  
[mpetitjean@skynet.be](mailto:mpetitjean@skynet.be)

**PETRE Liliane**, 2 Fond du Try, B-1342 Limelette. ☎ +32 10 41 19 90 ou 📞 +32 496 12 31 96. 📧 : +32 2 512 06 27 (boutique à Bruxelles)  
[liliane.petre@belgacom.net](mailto:liliane.petre@belgacom.net)

**PIRLOT Jean-Marie**, 7 rue des Bluets, B-6840 Neufchâteau. ☎ +32 61 27 72 44 ou 📞 +32 497 43 60 67  
[jeanmarie@tinel.be](mailto:jeanmarie@tinel.be)

**PIROT Paul**, 10 rue des Peupliers, B-6840 Neufchâteau. ☎ +32 61 27 91 32 ou 📞 +32 499 36 53 71 [paul.pirotd.mycology@skynet.be](mailto:paul.pirotd.mycology@skynet.be)

**PRADOS Monique et José**, 3 rue des Ibis, B-1170 Bruxelles. ☎ +32 2 673 82 57  
[pradosjose@scarlet.be](mailto:pradosjose@scarlet.be)

**PREVOST Serge**, 274 rue de la Gare, B-6880 Bertrix. ☎ +32 61 27 19 86 ou 📞 +32 478 24 37 21  
[serge.prevost@skynet.be](mailto:serge.prevost@skynet.be)

**QUINTIN Claude**, 9 rue du Pays Minier, B-4400 Flémalle. ☎ +32 42 50 52 01 ou 📞 +32 494 250 918  
[claud Quintin@teledisnet.be](mailto:claud Quintin@teledisnet.be)

**SENELART Jean-Marie & Jacqueline**, 10 rue du Lama, B-1180 Bruxelles. ☎ +32 2 376 27 99.  
 📞 +32 473 92 55 21 (J.-M.) et +32 486 31 78 46 (J.)  
[j-m.senelart@skynet.be](mailto:j-m.senelart@skynet.be) et [jacquelinebe@skynet.be](mailto:jacquelinebe@skynet.be)

**TROUPIN Oscar**, 9 avenue Léon Souguenet, B-4130 Esneux. ☎ +32 4 380 32 70 ou 📞 +32 494 19 46 21 [cary.troupin@scarlet.be](mailto:cary.troupin@scarlet.be)

**VALLEE David**, 28 rue de la Limite, B-7000 Mons. ☎ +32 65 39 87 81 (heures de bureau) ou 📞 +32 474 724 424  
[david.vallee@buildingsagency.be](mailto:david.vallee@buildingsagency.be) ou [coprinsdabord@yahoo.fr](mailto:coprinsdabord@yahoo.fr)

**VANDECASTEELE Emile**, 8 Hierdaux, B-5520 Onhaye. ☎ +32 82 64 56 32 ou 📞 +32 474 64 48 31  
[emile.vdc@skynet.be](mailto:emile.vdc@skynet.be)

**WILMET Jules**, 20 avenue Hubert Jacobs, B-1360 Perwez. ☎ +32 81 65 58 33 ou 📞 +32 474 70 30 49 [j\\_wilmet@yahoo.fr](mailto:j_wilmet@yahoo.fr)

## Parking de Fesches, samedi 1<sup>er</sup> Septembre 2007, sortie mycologique de l'AMFB

Ils sont venus, ils sont tous là, même ceux qui la veille encore prospectaient le Jura.

Pour les 2 ou 3 qui n'y étaient pas, cette magnifique journée manquera dans la galerie de leurs souvenirs.

Le soleil aussi nous accompagne ! Tout est là pour que cette première activité officielle de l'AMFB, soit une réussite.



*Lycoperdon mammiforme* Pers. : Pers. (Photo Paul Pirot, 01.09.2007)

Tout le monde se retrouve, quel plaisir de se revoir, de se raconter les dernières vacances, les récoltes mycologiques de l'été, les raretés trouvées, ou les déceptions de n'avoir rien vu d'intéressant.

Il est 9h 30, nous arrivons, mais notre cher Marcel, lui, occupe le terrain depuis potron minet, afin de préparer le barbecue sur lequel vont cuire saucisses et brochettes dont on pourra se régaler à midi ... MERCI MARCEL !

Voilà tout le monde est prêt ; nous partons dans le bois pour cette première sortie mycologique et historique de l'AMFB.

Hourra, il y a beaucoup de champignons, malgré le climat quelque peu particulier de cet été 2007.

Midi sonne, nous allons retrouver Marcel et une paire de courageux qui sont restés autour du barbecue, et « de l'apéro », afin que tout soit prêt pour nourrir notre petite troupe.

Nous retrouvons aussi Alfred, notre tout nouveau secrétaire, qui a passé sa matinée à préparer les formulaires et autres documents à signer et parapher par tout les membres fondateurs, afin de finaliser les quelques tracasseries administratives, pour que la naissance officielle de l'AMFB se passe sans complication.

Après un bon repas, quelques bonnes blagues, mycologiques bien sûr, et la détermination des espèces récoltées ce matin, il est hélas déjà l'heure de se quitter, mais chacun retourne chez soi, la tête remplie des bons souvenirs de cette journée, mais aussi des quelques projets esquissés pour l'avenir de notre bébé !!! LONGUE VIE A L'AMFB.

Jacqueline Bernaud



*Russula olivacea* (Sch.) Pers., parking de Fesches, 16/07/2007 – réaction caractéristique au phénol (photo Marcel Lecomte)



*Comme quoi, la fourchette l'emporte sur les Aphyllophorales, même chez les « spécialistes » réputés !*



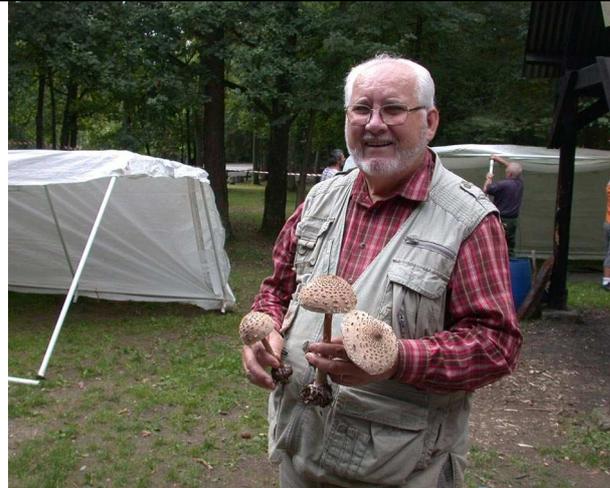
*Heureusement, il reste encore des gens sérieux, que nous ne rangerons pas dans les « sas-mange » !*



*Dis Alfred, tu crois qu'on peut le manger malgré tous les vers qui sont dans le pied ? Mais oui Joseph, c'est de la viande sans timbres ! (il faut de la culture historique pour comprendre ....)*



*Contraste quasi insupportable entre le sourire réjoui du consommateur et le mine interrogative, voire perplexe, de l'amateur de lactaires non orangés....*



*José, fier de sa récolte !*



*Jacqueline boudeuse ? Une facette de personnalité que nous ne lui connaissons pas ! Nous ne saurons jamais à qui Emile adresse ce regard réprobateur ....*

**Statuts de l'ASBL  
A.M.F.B.  
Association des Mycologues Francophones de Belgique**

Siège social : Allée des Ecureuils, 6 à 6280 LOVERVAL

Arrondissement judiciaire de Charleroi

Numéro d'entreprise : 892.031.004

Objet de l'acte : STATUTS

Les personnes désignées ci-dessous, et dénommées « fondateurs » :

BERNAUD Jacqueline, DRAYE Françoise, FELU Claude, FRAITURE André, GELIN Arlette, GERARD Emile, GHYSELINCK Daniel, LEBRUN Jean-Claude, LEBRUN Monique, LECLERQUE Annie, LECOMTE Marcel, LEGROS Jean-Pierre, LENNE Mireille, LHOEST Jean, LOSS Alfred, MERCKEN Maurits, MERTENS Camille, MERTENS Yolande, NOTTE Raymond, OTJACQUES Pierre, PAQUAY Marc, PELLICANI Joseph, PETITJEAN Marc, PETRE Liliane, PIRLOT Jean-Marie, PIROT Paul, PRADOS José, PREVOST Serge, QUINTIN Claude, RIVOT Francine, SENELART Jean-Marie, TROUPIN Oscar, VALLEE David, VANDECASTEELE Emile, VREYS Gaby, WILMET Jules,

ont convenu de constituer ce jour, pour une durée indéterminée, une association sans but lucratif dont les statuts sont arrêtés comme suit.

**Titre Ier. - DENOMINATION, DUREE, SIEGE, BUT ET OBJET**

**ART. 1**

Il a été constitué le 16 mai 2007 une association sans but lucratif sous la dénomination « Association des Mycologues francophones de Belgique » (en abrégé « A.M.F.B. »). Sa durée n'est pas limitée.

Son siège social est établi à 6280 Loverval, 6, Allée des Ecureuils dans l'arrondissement judiciaire de Charleroi. Ce siège peut être transféré sur décision du conseil d'administration.

**ART. 2**

L' Association des Mycologues Francophones de Belgique regroupe des personnes ayant pour objectif général la promotion et la diffusion des connaissances mycologiques, ainsi que la protection du patrimoine mycologique.

Elle a pour buts :

- De contribuer, par ses travaux, à l'enrichissement des connaissances concernant les champignons et les myxomycètes de nos régions, en particulier dans le domaine de la systématique, de l'écologie, de la nomenclature, de la floristique et de la chorologie.
- De favoriser l'échange et la mise en commun des informations entre ses membres, afin d'accroître les connaissances de ceux-ci, en ce qui concerne la nature en général, les champignons et les myxomycètes en particulier. Elle devrait s'exercer dans la convivialité, sans développer de concurrence avec les divers cercles et associations mycologiques existants.
- De contribuer à la diffusion des connaissances concernant les champignons et les myxomycètes et de développer l'intérêt pour les observations et les recherches concernant ces organismes.
- D'œuvrer à la promotion de la protection de la nature en général, et en particulier des forêts et des sites de grand intérêt mycologique.
- De participer à la formation de déterminateurs reconnus et qualifiés.
- De participer à la prévention en matière d'intoxications fongiques.

L'association poursuivra ces buts par les moyens qu'elle jugera utile, par exemple l'organisation de stages, excursions, expositions ou la publication de travaux ayant trait à la mycologie. Elle pourra accomplir tous les actes se rapportant directement ou indirectement à son but. Elle peut notamment prêter son concours et s'intéresser à toute activité similaire à ses objectifs.

Les moyens d'action de l'association peuvent être les suivants :

- organisation d'expositions mycologiques à thème ;
- rédaction d'une feuille de contact ou d'un bulletin de liaison, voire d'une revue périodique ;
- publication d'une revue scientifique ;
- organisation de cours, conférences, projections, montages audiovisuels ayant pour thème principal les champignons, et l'étude de la nature au sens large ;
- organisation de randonnées et de rencontres sur le terrain, en vue de cueillettes à vocation non gastronomique et de déterminations collectives ;
- organisation de stages de formation pour de futurs déterminateurs (séances de microscopie, étude et utilisation des réactifs chimiques) ;
- organisation de journées de perfectionnement pour les déterminateurs qualifiés et reconnus pour leur compétence ;
- création et gestion d'une bibliothèque ;

- constitution d'un herbier de référence ;
  - recensements et relevés systématiques en vue de l'élaboration de listes de récoltes ;
  - actions de protection de la nature et des forêts.
- Cette liste n'est pas limitative : peuvent s'y ajouter toutes actions et initiatives ayant un rapport direct ou indirect avec la mycologie.

## **Titre II – NOMBRE DE MEMBRES, ADMISSION, DEMISSION, EXCLUSION**

### **ART. 3**

Le nombre de membres n'est pas limité. Les membres sont inscrits à titre personnel et ne représentent pas les autres cercles ou associations de mycologie dont ils feraient éventuellement partie.

Les membres soussignés constituent le conseil d'administration.

L'association se compose de trois types de membres : les membres effectifs, les membres adhérents et les membres d'honneur, définis selon les principes suivants :

**Les membres effectifs** sont ceux qui participent activement aux travaux de l'association et qui paient leur cotisation. Leur nombre ne peut être inférieur à sept. Ils ont droit de vote à l'assemblée générale, et les membres du conseil d'administration sont choisis parmi eux. La qualité de membre effectif est accordée par l'assemblée générale, (sur proposition du conseil d'administration), statuant à la majorité simple des membres présents, à toute personne qui en fait la demande écrite, pour autant que celle-ci paie sa cotisation et collabore activement aux activités de l'association. Lors de la fondation de l'association, les membres du comité organisateur du congrès 2006 de la Société Mycologique de France obtiennent d'office et sans acquitter de cotisation jusqu'à la fin 2007, le statut de membre effectif, pour autant qu'ils en expriment le souhait.

Le conseil d'administration tient un registre des membres effectifs conformément à l'article 10 de la loi du 27 juin 1921, revue le 02 mai 2002. Ce registre est consultable au siège de l'association par toute personne qui en formule la demande.

**Les membres adhérents** acquièrent cette qualité du simple fait de verser la cotisation annuelle. Les membres adhérents n'ont pas voix délibérative ; ils sont inscrits à titre personnel et peuvent bénéficier de l'action de l'association sans participer à sa gestion. Un membre adhérent n'est pas associé aux termes de la loi. Un membre adhérent pourra postuler au titre de membre effectif, par courrier adressé au conseil d'administration, lorsqu'il justifiera de sa présence constructive et active dans l'association.

**Les membres d'honneur** sont des personnes qui rendent ou ont rendu des services remarquables à l'association ou à la mycologie en général. Ce statut est accordé par l'assemblée générale, (sur proposition du conseil d'administration), statuant à la majorité simple des membres présents. Il dispense du versement de la cotisation mais ne confère qu'un droit de vote consultatif lors de l'assemblée générale.

### **ART. 4**

Ne fait plus partie de l'association tout membre :

- qui adresse sa démission par écrit au conseil d'administration ;
- qui ne paie pas la cotisation qui lui incombe dans le mois du rappel qui lui est adressé par le trésorier (il recouvrera sa qualité de membre dès le versement de la cotisation annuelle) ;
- qui est exclu suite à une action contraire aux intérêts matériels et moraux de l'association tels que définis à l'article 2 des présents statuts et dans le règlement d'ordre intérieur, ou pour des motifs graves à préciser. Recours peut être fait auprès de l'assemblée générale où le membre mis en cause a le droit et la possibilité de présenter sa défense.

### **ART. 5**

L'exclusion d'un membre effectif ou adhérent ne peut être prononcée que par l'assemblée générale qui décidera aux deux tiers des voix des membres présents ou représentés. Le conseil d'administration peut prendre une décision de suspension à l'égard de membres qui se seraient rendus coupables d'infractions graves aux statuts ou aux lois, jusqu'à la décision de l'assemblée générale.

Tout membre démissionnaire, suspendu ou exclu, ainsi que les héritiers ou ayants droits du membre décédé, n'ont aucun droit sur le fonds social. Ils ne peuvent réclamer ou requérir ni relevé, ni reddition de compte, ni apposition de scellés, ni inventaire, ni le remboursement des cotisations versées.

## **Titre III – ASSEMBLEE GENERALE**

### **ART. 6**

L'assemblée générale se compose de tous les membres effectifs. Elle est le pouvoir souverain de l'association. Elle possède tous les pouvoirs qui lui sont expressément reconnus par la loi ou les présents statuts.

Sont notamment réservés à sa compétence :

- a) la modification des statuts ;
- b) la nomination et la révocation des administrateurs ;
- c) la nomination et la révocation des commissaires, et la fixation de leur éventuelle rémunération ;
- d) la décharge à octroyer aux administrateurs et aux commissaires ;
- e) l'approbation des budgets et comptes ;

- f) la dissolution volontaire de l'association ;
- g) les exclusions de membres ;
- h) la transformation de l'association en société à finalité sociale ainsi que tous les cas où les statuts l'exigent.

#### **ART. 7**

L'assemblée générale ne délibère que sur les questions portées à l'ordre du jour arrêté par le conseil d'administration. Elle est présidée par le président du conseil d'administration ou, à défaut, par le vice-président (s'il y en a un), ou par le plus âgé des administrateurs présents.

Elle pourra délibérer valablement quel que soit le nombre de membres effectifs présents ou représentés.

Il est tenu un procès-verbal des assemblées générales. Ces procès-verbaux seront rédigés sans ratures, blancs ni addenda ; ils seront tenus sur feuillets numérotés et conservés au siège de l'association. Les procès-verbaux sont signés par le président et le secrétaire.

Les rapports annuels et les comptes sont publiés chaque année dans la feuille de contact ou le bulletin de l'association, ou si ceux-ci n'existent pas encore, sont envoyés par courrier ordinaire ou par courrier électronique à tous les membres. Ils sont également déposés au Greffe du Tribunal du Commerce de l'arrondissement judiciaire.

#### **ART. 8**

L'assemblée générale se réunit au moins une fois par an, de plein droit, dans le courant du 1<sup>er</sup> trimestre de l'année civile.

Une assemblée générale extraordinaire peut être convoquée à la demande du conseil d'administration ou à la demande d'un cinquième au moins des membres effectifs.

Les décisions sont prises à la majorité simple des membres effectifs présents ou représentés, sauf dans les cas où il en est décidé autrement par la loi ou les présents statuts.

#### **ART. 9**

Ont voix délibérative à l'assemblée générale les membres effectifs en règle de cotisation. Y ont voix consultative les membres adhérents invités, ainsi que les membres d'honneur.

Tout membre effectif peut se faire représenter à l'assemblée générale par un autre membre effectif en règle de cotisation, pour autant qu'il donne à celui-ci une procuration écrite qui devra être présentée lors de l'assemblée générale. Chaque membre effectif ne pourra être porteur que d'une seule procuration.

#### **ART. 10**

Tous les membres effectifs doivent être convoqués à l'assemblée générale par lettre ordinaire ou par courrier électronique, au minimum 15 jours avant celle-ci, par le conseil d'administration. La convocation doit comporter l'ordre du jour, et est signée par un administrateur au nom du conseil d'administration. Toute proposition signée au moins par un vingtième des membres effectifs doit être portée à l'ordre du jour.

#### **ART. 11**

L'assemblée devra statuer :

- sur le projet moral de l'association ;
- sur le bilan et les comptes de l'exercice écoulé ;
- sur le budget de l'année en cours ;
- sur toute proposition que le conseil d'administration jugera utile de lui soumettre ;
- sur toutes questions pour lesquelles la loi du 27 juin 1921, modifiée le 02 mai 2002, lui attribue compétence.

#### **ART. 12**

Par dérogation à l'article 7, l'assemblée générale ne peut délibérer valablement sur les modifications aux statuts que si l'objet de celles-ci est spécialement indiqué dans la convocation et si l'assemblée est composée des deux tiers des membres ayant droit de vote.

Les modifications ne peuvent être adoptées qu'à la majorité des deux tiers des voix, et à la majorité des 4/5 pour les modifications portant sur les buts de l'association.

Si les deux tiers des membres effectifs ne sont pas présents ou représentés lors de la première réunion, il en sera convoqué une seconde qui ne pourra se tenir moins de 15 jours après la première et qui pourra délibérer valablement quel que soit le nombre des membres présents ou représentés.

Les modifications de statuts, les rapports annuels, les comptes et les budgets prévisionnels devront être transmis dans les délais aux autorités compétentes (Tribunal du Commerce).

#### **ART. 13**

La dissolution de l'association ne pourra être prononcée par l'assemblée générale que dans les conditions prévues à l'article 20 de la loi du 27 juin 1921, modifiée le 02 mai 2002.

### **Titre IV – ADMINISTRATION, ELECTIONS**

**ART. 14**

L'exercice social commence le premier janvier et finit le 31 décembre de chaque année. Cependant, le premier exercice commencera le jour du dépôt des statuts au greffe du Tribunal de Commerce et se terminera le 31 décembre 2007. Il est tenu annuellement une comptabilité simplifiée faisant apparaître un bilan et un compte de résultats.

**ART. 15**

L'association est administrée par un conseil d'administration composé au minimum de trois membres effectifs. Les membres du conseil d'administration sont élus pour trois ans par l'assemblée générale. Ils sont rééligibles, mais sont en tout temps révocables par l'assemblée générale.

**ART. 16**

Le conseil d'administration désigne parmi ses membres un président, un secrétaire, et un trésorier. Ceux-ci constitueront (avec le reste éventuel des administrateurs) le bureau exécutif.

Les administrateurs ne contractent en raison de leur fonction, aucune obligation personnelle et ne sont responsables que de l'exécution de leur mandat. Celui-ci est exercé à titre entièrement gratuit. Des remboursements de frais, notamment de déplacement, ne sont pas prévus, sauf cas exceptionnel qui devra faire l'objet d'une décision préalable du conseil d'administration : dans ce cas, des justificatifs devront être produits et feront l'objet de vérifications. Des jetons de présence ne sont pas prévus.

**ART. 17**

En cas de vacance au sein du conseil d'administration en cours de mandat, les membres restants continuent à former un conseil d'administration ayant les mêmes pouvoirs et responsabilités que s'il était au complet, pour peu que le conseil d'administration compte au moins trois membres. Le(s) poste(s) vacant(s) est (sont) pourvu(s) lors de la plus proche assemblée générale annuelle.

**ART. 18**

Lorsque des administrateurs sont sortants et rééligibles, le fait sera mentionné sur la convocation de l'assemblée générale. Les nouvelles candidatures au conseil d'administration devront être envoyées au président 8 jours avant l'assemblée générale.

**ART. 19**

Le conseil d'administration a les pouvoirs les plus étendus pour la gestion de l'association : tout ce qui n'est pas expressément réservé à l'assemblée générale par la loi ou par les statuts est de sa compétence. Le conseil se réunit sur convocation du président ou de deux administrateurs. Il ne peut statuer que si la majorité de ses membres est présente. Ses décisions sont prises à la majorité simple des votants présents ou représentés (un membre ne peut détenir qu'une seule procuration), la voix du président ou celle de son remplaçant étant, en cas de partage, prépondérante.

**ART. 20**

Les actions judiciaires ou extrajudiciaires sont poursuivies à la diligence de deux membres du conseil d'administration, dûment mandatés à cette fin par le conseil d'administration.

**ART. 21**

Les décisions doivent être communiquées pour ratification lors de la plus proche réunion du conseil d'administration ; elles se prennent à la majorité simple des voix. Un administrateur peut s'abstenir. En cas d'égalité des voix, celle du président est prépondérante.

Tout administrateur empêché d'assister à une réunion du conseil d'administration peut donner mandat à un autre administrateur pour le représenter. Chaque administrateur ne peut être titulaire que d'une seule procuration.

**ART. 22**

Les délibérations du conseil d'administration sont consignées dans des procès-verbaux, transcrits dans un registre spécial, sans ratures, blancs ni addenda ; ils sont tenus sur feuillets numérotés. Après leur approbation par le conseil d'administration, ils sont signés par le président et le secrétaire.

Ce registre est conservé au siège social de l'association où tous les membres peuvent en prendre connaissance, sans déplacement du registre.

**Titre V : COTISATIONS, DOTATIONS ET RECETTES****ART. 23**

Les membres effectifs et les membres adhérents payent une cotisation annuelle. Le montant de cette cotisation est déterminé par l'assemblée générale, au plus tard durant le mois de décembre de l'année qui précède l'entrée en vigueur de ladite cotisation. Il ne pourra être supérieur à 50,00 €.

### A. Dotations et ressources annuelles

La dotation comprend :

- le résultat financier positif enregistré lors de l'organisation du congrès de la Société Mycologique de France, en 2006, à Herbeumont
- les éventuelles recettes
- les éventuels dons et legs, meubles ou immeubles

### B. Recettes :

Les recettes annuelles de l'association se composent (cette liste n'étant pas limitative) :

- du revenu des biens composant la dotation (intérêts bancaires par exemple)
- des cotisations et souscriptions de ses membres
- des subventions éventuelles accordées par l'Etat, la Région, la Communauté Française, la Province, les Communes ou par les pouvoirs publics en général
- des recettes générées par des activités exceptionnelles (tombolas, conférences, repas, spectacles...)
- des rétributions perçues pour services rendus (guidance de promenades par exemple ou conférences et exposés)
- d'éventuelles interventions de sponsors

### C. Libéralités :

Il existe deux sortes de libéralités, sans distinction de genre (meubles ou immeubles) :

- les dons (qui sont le fait de personnes toujours en vie)
  - les legs (qui sont le fait de bienfaiteurs décédés).
- L'acceptation d'un montant supérieur à 1.000,00 € devra être précédée d'une délibération du conseil d'administration qui justifiera du caractère légal de cet apport.

L'acceptation d'un montant supérieur à 100.000 € devra être autorisée par arrêté royal.

L'autorisation royale n'est pas requise pour les dons manuels, sans distinction de montant ; les dons par virement sont assimilés à des dons manuels.

L'affectation indirecte d'un immeuble à l'objet social (par exemple la location) est autorisée, pourvu que les produits soient affectés à l'objet principal non lucratif de l'association.

## Titre VI : COMPTES

### ART. 24

Le contrôle des comptes et du patrimoine est assuré par deux vérificateurs nommés par l'assemblée générale. Ils sont chargés de vérifier la bonne tenue et la conformité des comptes de l'ASBL et de lui présenter un rapport annuel. Ils sont nommés pour un an et rééligibles. Le compte de l'exercice et le budget de l'année sont soumis à l'approbation de l'assemblée générale ordinaire. Ils sont ensuite déposés au greffe du Tribunal du Commerce de l'arrondissement judiciaire.

## Titre VII : DISSOLUTION

### ART. 25

En cas de liquidation de l'ASBL et sauf désignation d'un ou plusieurs liquidateurs, les administrateurs, en collège, assureront la liquidation.

L'assemblée générale appelée à se prononcer sur la dissolution de l'association, est convoquée spécialement à cet effet, dans les conditions des articles 8 à 12.

Si la proportion prévue n'est pas atteinte, l'assemblée générale est à nouveau convoquée au moins 15 jours plus tard et, cette fois, elle peut valablement délibérer quel que soit le nombre de membres présents ou représentés.

Dans tous les cas, la dissolution ne peut être votée qu'à la majorité des 2/3 des voix des membres effectifs présents ou représentés.

L'assemblée générale désignera les liquidateurs, déterminera leurs pouvoirs et indiquera l'affectation à donner à l'actif net de l'association.

Cette affectation devra obligatoirement être faite en faveur d'associations mycologiques ou botaniques poursuivant des buts similaires, ou d'associations caritatives.

## Titre VIII : DISPOSITIONS GENERALES

### ART. 26

Tout ce qui n'est pas explicitement prévu aux présents statuts sera réglé conformément aux dispositions de la loi du 27 juin 1921, modifiée le 02 mai 2002, sur les associations sans but lucratif. A défaut de prescription légale, les cas non prévus seront tranchés par le conseil d'administration. Celui-ci pourra élaborer un règlement d'ordre intérieur, qui sera soumis à l'assemblée générale la plus proche.

### ART. 27

Les présents statuts ne peuvent être modifiés que par décision de l'assemblée générale, statuant dans les conditions de l'article 8 de la loi.

Ont été nommés membres du conseil d'administration, les personnes suivantes qui acceptent : BERNAUD Jacqueline, FRAITURE André, LECOMTE Marcel, LEGROS Jean-Pierre, LOSS Alfred, MERTENS Camille, PELLICANI Joseph, PIRLOT Jean-Marie, PIROT Paul, QUINTIN Claude, VALLEE David.

Le mandat prendra fin à l'issue de l'assemblée générale ordinaire de 2010.

Les postes ont été attribués comme suit :

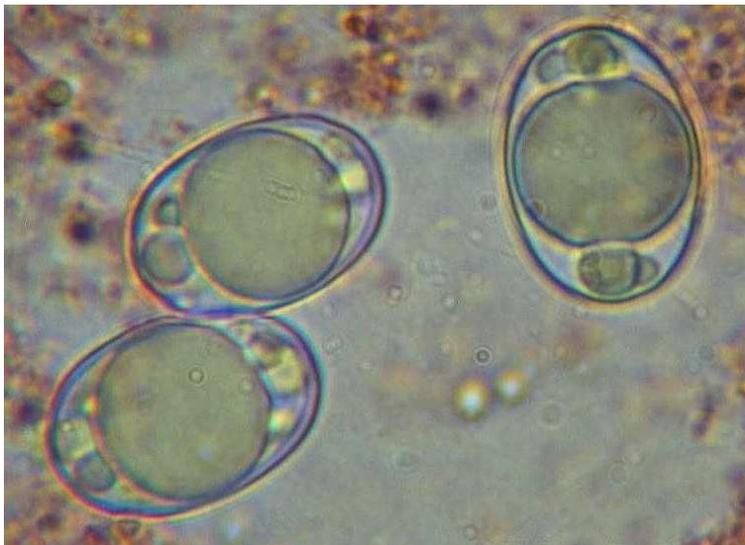
Président : FRAITURE André

Vice-Président : PIROT Paul

Secrétaire : LOSS Alfred, chargé de la gestion journalière

Trésorier : LECOMTE Marcel

Fait à Loverval, le 01 septembre 2007, en deux exemplaires originaux.



*Helvella pithyophila* Boudier, B-4630 Soumagne, nombreux exemplaires sous tilleul, 24/07/2008 – (photos Joseph Pellicani)

## PROJETS pour l'année 2009 et à plus longue échéance.

« Avant de critiquer un bénévole, assurez-vous que vous êtes qualifié(e) pour le remplacer ! » (pensée anonyme mais combien judicieuse...)

Dimanche 14 décembre 2008	Journée AMFB à Loverval
	assemblée générale de l'AMFB à Namur, dans notre local habituel
	banquet annuel de l'AMFB, auquel sont conviées les épouses des membres effectifs et adhérents organisateur : Marcel LECOMTE
du 24 au 29 mars 2009	Séminaire de microscopie, à Massembré (Belgique -1 semaine)
	journée pédagogique d'exposition et de détermination des champignons de printemps, réservée uniquement aux membres AMFB organisateur : Alfred LOSS
samedi 05 septembre 2009	excursion mycologique, détermination et barbecue, à Vielsalm organisateur : Joseph PELLICANI & Marcel LECOMTE
	journée annuelle de l'AMFB (activités à préciser)
année 2010	Congrès des Russulales, en Belgique (1 semaine)
année 2011	Journées Européennes des Cortinaires, en Belgique (1 semaine)



*Entoloma incarnatofuscescens* (Britz.) Noordeloos – (photos Françoise Draye)

## AMFB - Présentation de MycoBel

Essai de synthèse d'utilisation du logiciel par Marcel Lecomte, après présentation de celui-ci par son auteur, Daniel Ghyselincq (à Namur le mardi 13 novembre 2007). Ce texte n'a pas la prétention d'être complet, mais il constitue une bonne base de travail.

### Conventions de symboles :

DC = double clic

CD = clic droit

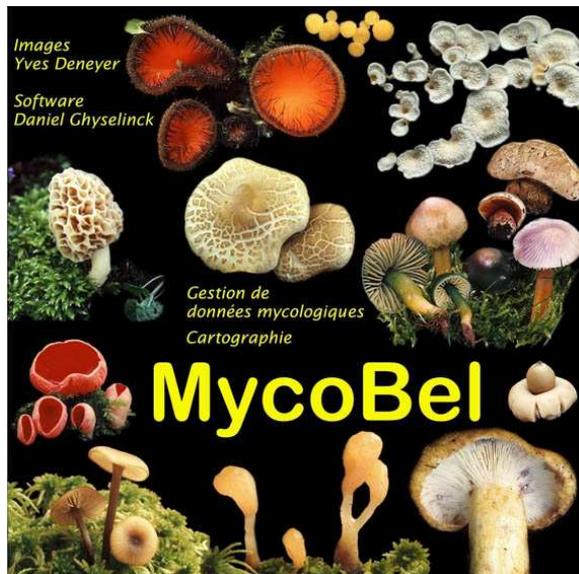
CG = clic gauche

Un mot indiqué en lettres capitale, comme « FENETRE » par exemple, signifie qu'il faut faire CD sur un des 8 menus déroulants proposés à la première ligne.

En seconde ligne, on trouve une série de symboles qui reprennent les diverses possibilités de la 1<sup>ère</sup> ligne.

Ne pas oublier non plus que dans nombre de menus présentent des raccourcis clavier.

Copier le DVD ou le CDRom sur le disque dur est conseillé.



### 1. Aperçu rapide :

→ DC sur le raccourci de Mycobel

- ouverture de fenêtre avec la classification et (ou) fenêtre avec la liste des taxons.

→ FENETRE → classification systématique → cocher

→ FENETRE → liste des espèces → cocher

[Attention, la coche ne signifie pas que la fenêtre est ouverte, elle signifie que c'est la fenêtre qui est active – donc qui à le focus]

- lorsque les deux fenêtres sont à l'écran, les positionner correctement pour avoir la classification sur 1/3 d'écran à gauche et la liste des taxons sur 2/3 d'écran à droite ; cette mise en forme réapparaîtra à chaque nouvelle ouverture du programme
- **classification** : CG sur le signe « plus » précédant le nom de l'ordre permet de développer son contenu ; DC sur le nom de

l'ordre ou de la famille permet d'accéder à un tableau des propriétés, où se trouve la possibilité d'inscrire des notes personnelles [les notes personnelles ne sont disponibles que pour les genres]

- **liste des taxons** : DC sur le nom du taxon permet d'accéder à une fiche donnant toute une série de renseignements qui sont pour la plupart modifiables grâce à des menus déroulants ; possibilité également d'y ajouter d'éventuels synonymes. Lorsque le nom d'un taxon est surligné, cela signifie qu'il y a un synonyme plus actuel, qui apparaîtra en cours de travail
  - **par défaut** on accède aux informations générales relatives aux taxons, mais il y a d'autres possibilités dans les six menus qui se trouvent au-dessus, avec leur symbole :
  - **liste des récoltes** : permet de voir toutes les excursions ou l'espèce a été observée, avec comme possibilités :
    - nouvelle récolte
    - détails de la récolte
    - supprimer la récolte
    - exporter
    - transférer vers un autre taxon
    - tout transférer vers un autre taxon
    - un indicateur du nombre de récoltes
    - un accès vers des photos en plein écran
    - un bouton OK pour confirmation d'éventuelles modifications
    - un bouton d'annulation
  - **distribution géographique** : une carte apparaît avec différents symboles de distribution de l'espèce en couleur selon la fréquence, avec comme possibilités :
    - consultation de fond de carte (s'il existe) par un menu déroulant

- le nombre de récoltes est affiché également
- un accès vers des photos en plein écran
- un bouton OK pour confirmation d'éventuelles modifications
- un bouton d'annulation
- **phénologie** : fournit un diagramme d'apparition sur une courbe annuelle, avec comme possibilités :
  - un menu déroulant donnant accès aux années de récoltes
  - la possibilité de consulter des courbes de température et de précipitation (*cela demande un apport de données extérieures fournies avec le logiciel, mais pour le centre de la Belgique – mise à jour disponibles chez moi sur simple demande*)
  - un accès vers des photos en plein écran
  - un bouton OK pour confirmation d'éventuelles modifications
  - un bouton d'annulation
- **photos** : donne la liste éventuelle des photos de l'espèce, avec comme possibilités :
  - ajouter une photo macro
  - ajouter une photo micro
  - supprimer la photo
  - comment nommer les fichiers
  - un accès vers des photos en plein écran
  - un bouton OK pour confirmation d'éventuelles modifications
  - un bouton d'annulation
- **remarques** : fournit une fenêtre de saisie permettant de noter toutes les remarques éventuelles à propos de cette espèce, avec comme possibilités :
  - un accès vers des photos en plein écran
  - un bouton OK pour confirmation d'éventuelles modifications
  - un bouton d'annulation

#### Remarques :

- Dans la liste des taxons, au niveau de la barre supérieure, un clic permet d'inverser la sélection A/Z ou Z/A.
- Possibilités de trier de diverses manières : noms français, fréquence d'un taxon, numéro, genres & espèces ou espèces & genres.
- L'appareil photo qui figure devant une espèce signifie que des photos de cette espèce sont disponibles

## 2. Encoder une excursion

A. Si vous venez d'acquérir le programme et que votre nom ne figure pas dans la liste des auteurs de relevés, effectuer d'abord l'opération suivante :

→ EXCURSIONS → auteur des relevés

- une fenêtre apparaît, indiquant la liste de tous les auteurs de relevés prévus jusqu'à présent
  - pour y inscrire votre nom : → nouveau
    - un champ encadré de rouge apparaît : vous y indiquez vos noms et prénoms
    - indiquer les initiales (attention qu'elles ne fassent pas double emploi avec celles qui figure déjà parmi les récolteurs)
    - présence d'une case à cocher indiquant que cette personne réalise des relevés mycologiques (facultatif) [*DOIT être coché pour pouvoir encoder des relevés sous ce nom*]
    - OK ou Annuler
    - si l'opération a été correctement exécutée, votre nom apparaît maintenant dans la liste des récolteurs. → *Par défaut, votre nom apparaît en gras, ce qui signifie que par défaut, MycoBel utilisera votre nom lors de la création d'un nouveau relevé.*
    - autres possibilités : modifier (permet de modifier un nom de récolteur) - supprimer (permet de supprimer un nom de récolteur) – OK

B. Pour encoder une nouvelle excursion :

→ EXCURSIONS → nouvelle excursion

- **par défaut, le programme accède à une fenêtre donnant des informations sur l'excursion**
  - date du relevé : le programme affiche la date du jour mais un menu déroulant permet d'accéder à n'importe quelle date en arrière

- « lieu » est encadré de rouge car c'est un champ obligatoire à compléter
- idem pour « province, région ou département »
- une case à cocher si l'excursion est organisée par un cercle de mycologie
- un carnet de notes permettant d'inscrire des remarques sur l'excursion ou sur le relevé
- « cartes » permet d'accéder aux éventuelles cartes disponibles (le traitement des cartes sera explicité plus loin)
- un menu déroulant permet d'indiquer l'auteur du relevé. *Par défaut, votre nom devrait apparaître dedans (voir ci-dessus).*
- une case permet d'indiquer les coordonnées IFBL ou MER (cette possibilité sera explicitée plus loin)
- OK pour confirmer tout cela [A ce stade, il ne faut PAS encore faire OK, sinon on va créer une excursion sans la liste des taxons ! Il faut cliquer sur l'onglet 'Liste des taxons récoltés'.]

➤ **accès à l'autre menu proposé : liste des taxons récoltés**

Selon le tri effectué, il suffit de taper les premières lettres du genre ou de l'espèce (possibilité d'effectuer un tri sur l'espèce ou sur le genre, en première ligne)

Attention : la fenêtre qui apparaît au-dessus du tableau n'est pas une fenêtre de saisie !

- Choisir le type de tri
- taper les premières lettres
- choisir la bonne espèce
- cocher la case (touche espace)
- continuer ainsi pour chaque espèce à encoder
- OK pour confirmer tout cela

**C. Consulter la liste des espèces d'une excursion et ajouter de nouvelles espèces.**

→ EXCURSIONS → liste des excursions

- apparition d'une fenêtre reprenant toute la liste des excursions encodées, ainsi que 2 autres onglets : Distribution géographique et Phénologie → voir C.02 & C.03)

➤

**C 01. CG sur l'excursion → CG sur « Détails » [ou DC sur une excursion]**

- nouvelle fenêtre dirigée vers la liste des taxons récoltés [ce n'est pas par défaut, le programme se souvient du dernier onglet utilisé], et fournissant diverses possibilités :
- informations relatives à la récolte
  - informations relatives au taxon surligné
  - possibilité de supprimer le taxon sélectionné
  - nombre total de taxons récoltés durant l'excursion
  - répartition en pourcentage selon le mode de vie (nutrition)
  - possibilité d'inverser « genre- espèce » et d'en faire « espèce-genre »
  - boutons de suppression, d'annulation, ou d'acceptation (OK)
  - deux autres onglets sont disponibles :
    - informations sur l'excursion
    - ajouter des taxons (à utiliser en cas d'oubli ou de rectification)

**C 01.1. onglet « Informations sur l'excursion »**

On retrouve la fenêtre qui est présentée lors de la procédure d'encodage, avec les diverses données qui ont été encodées pour l'excursion : nous avons donc la possibilité ici d'y modifier certaines données ou de compléter les remarques

**C 01.2. onglet « Ajouter des taxons »**

on retrouve la fenêtre présentée lors de la procédure d'encodage, et on pratique de la même manière pour ajouter de taxons qui aurait été oublié.

**C.02. Distribution géographique :** → EXCURSIONS → liste des excursions → distribution géographique : apparition d'une fenêtre fournissant une carte de Belgique, avec possibilité (par une case à cocher) de faire apparaître ou disparaître le quadrillage IGN. On n'y trouve également :

- le nombre d'excursions encodées
- la possibilité à l'aide d'un menu déroulant de faire apparaître des fonds de carte différents, et comportant au choix le réseau hydrographique, la géologie, le type de relief, le niveau des précipitations, la délimitation des provinces actuelles ... Où aucun fond tout simplement.
- La couleur des petits carrés correspond à un code déterminé et varie selon le nombre d'excursions réalisées à cet endroit (légende en surimpression sur la carte)

**C.03. Phénologie** : (étude des variations, en fonction du climat, des phénomènes périodiques de la vie fongique, végétale ou animale)

→ EXCURSIONS → liste des excursions → Phénologie : un graphique qui représente les excursions en fonction de la saison. Ce graphique est intéressant car, si on ne sort jamais en hiver, on ne risque pas d'avoir des observations pour une espèce pendant cette période. Ce graphique permet de voir la « phénologie » des excursions (ou des mycologues !).

- Par défaut le menu déroulant présente toutes les années
- si on choisit une année précise, on peut alors cocher les cases de température et de précipitation (par jour ou par quinzaine) afin de les voir apparaître également sur le diagramme
- la case à cocher « Bar Graph » permet de passer d'un diagramme en courbe à un diagramme par colonnes
- le diagramme fournit également le montant total des précipitations annuelles ainsi que la température moyenne annuelle
- 

### 3. Consultation des images de la base de données

→ FICHER → diaporama

#### 3.01. Accès à une fenêtre fournissant des informations générales et des possibilités diverses pour programmer le diaporama

- Contenu de la banque d'images
  - possibilité de consulter les images fournies avec le logiciel (leur nombre est indiqué entre parenthèses)
  - possibilité de consulter les images personnelles (idem pour le nombre)
  - on peut cocher l'un ou l'autre, où les deux
- Mode de défilement des images
  - possibilité de passage manuel
  - possibilité de passage automatique
  - possibilité d'un test de reconnaissance des espèces
  - possibilité de faire varier le délai entre chaque image
- Options du diaporama
  - afficher ou non le nom de l'espèce
  - afficher ou non le nom de l'auteur de la photo
  - afficher ou non les images dans un ordre aléatoire
  - possibilité d'une musique de fond
- Lancer le diaporama
- Annuler

3.02. Si on souhaite lancer le diaporama d'un **Ordre** ou une **famille** seulement, se positionner dans le tableau de gauche « classification » → CD sur le nom du genre → ouverture d'une fenêtre de diaporama consacrée au choix effectué ; on y retrouve les possibilités évoquées dans le paragraphe précédent.

### 4. La fenêtre « Classification »

Ajouter un genre, une famille, etc.

Selon le niveau hiérarchique sur lequel on voit se positionner, il est possible d'ajouter une division, une classe, à un ordre, une famille, un genre ; cela est indiqué automatiquement dans la fenêtre qui s'ouvre

→ CLASSIFICATION → ajouter un(e) .....

Cette même fenêtre permet également de supprimer l'élément qui est indiqué.

- ajouter un(e) .....
- supprimer le (la) .....
- Propriétés : permet de consulter la note qui ont éventuellement été prise
- *incertae sedis* signifie que la position de l'élément n'est pas connue avec certitude. Les scientifiques ne savent pas encore où le classer, ils ont donc créé ce « tiroir » sans nom. Beaucoup de champignons inférieurs sont dans ce cas (voir sur Cabi).

### 5. La liste des taxons

5.01. Les propriétés d'une espèce : → se placer sur le nom de l'espèce → CD : une fenêtre apparaît, fournissant tous les renseignements et offrant diverses possibilités de modification au niveau de cette espèce :

- sélectionner

- supprimer cette espèce
- synchroniser la classification : permet de développer la colonne gauche de classification en faisant apparaître le nom de genre
- gestion des synonymes : fait apparaître une nouvelle fenêtre où il est possible (au départ du nom de l'espèce à traiter, de la liste des synonymes existants, et de la liste des autres espèces dans la base de données) de :
  - permuter espèce et synonyme
  - désolidariser le synonyme
  - ajouter à la liste des synonymes
  - traiter l'espèce sélectionnée
  - OK pour confirmer
- propriétés de cette espèce → fait apparaître une fenêtre spécifique comportant plusieurs volets :
  - liste des récoltes :
    - indique les différents lieux de récolte
    - permet d'encoder une nouvelle récolte
    - permet d'encoder les détails de la récolte
    - permet de supprimer la récolte
    - permet l'exportation des données
    - permet de transférer vers un autre taxon
    - permet de tout transférer vers un autre taxon
    - bouton de consultation des images éventuelles
    - indicateur du nombre de récoltes
    - boutons OK ou Annuler
  - distribution géographique : fait apparaître une carte de répartition
  - phénologie : fait apparaître un diagramme
  - informations générales
  - remarques : permet d'introduire des notes et des commentaires
  - photos : voir 5.03.

*(Certaines de ces diverses possibilités sont reprises ici à titre simplement indicatif, car elles ont déjà été développées dans un autre chapitre concernant les excursions).*

**5.02. Créer une nouvelle espèce :** se placer n'importe où dans la liste des taxons ESPECES → nouvelle espèce → apparition d'une fenêtre de création permettant d'introduire toutes les informations générales et des remarques éventuelles (deux onglets).

Notez qu'un numéro s'incrémente automatiquement, mais il ne donne pas le nombre d'espèces existantes dans la base de données (pour l'instant 6499). Ce numéro correspond à un numéro unique pour identifier l'espèce dans la base de données. Le nombre d'espèces est indiqué tout en bas, à droite, dans la fenêtre de MycoBel. Il y a une petite différence entre les deux nombres, car l'auteur a supprimé quelques espèces, et les numéros sont donc « perdus » !)

**5.03. Ajouter une photo personnelle :** → se placer sur le nom de l'espèce → CD → Propriétés → Photos :

- Ajouter une photo macro : permet d'accéder au répertoire de tous les fichiers afin d'effectuer un choix
- ajouter une photo micro : même procédure
- un bouton fournit également des renseignements sur la manière de nommer les fichiers et d'importer un lot de photos ; pour la taille des photos, nous recommandons 1024 x 768

**5.04. Modifier le tri :** → ESPECES → cocher le mode de tri envisagé

## **6. Des situations particulières et des ASTUCES :**

### **6.01. Pour ajouter une photo :**

CD sur l'espèce dans la liste des taxons → CG Propriétés → CG sur l'appareil photo en haut à droite → CG sur « ajouter une photo » → OK

Il est essentiel d'avoir créé auparavant son répertoire photo, d'avoir encodé son nom & ses initiales dans « excursion » et de nommer correctement les photos (ses initiales entre parenthèses et .jpg) → voir 5.03 ci-dessus.

### 6.02. Créer un dossier personnel pour les photos :

→ DC sur Explorateur Windows → DC sur Mycobel → CG fichiers → CG Nouveau → CG Dossier : l'appeler par exemple « Photos Perso » → fermer EW  
 → FICHIER → répertoires → compléter la rubrique « Répertoire contenant les Images personnelles » (à l'aide du bouton contenant 3 points de suspension, sélectionner le sous-répertoire adéquat) → OK  
 Lorsqu'il s'agira d'ajouter une photo personnelle, il suffira de suivre alors la procédure simple qui est présentée dans le paragraphe 6.01 ci-dessus.

### 6.03. Pour encoder les excursions, 3 possibilités se présentent :

→ EXCURSIONS → nouvelle excursion  
 ou → EXCURSIONS → liste des excursions → nouvelle excursion  
 ou CD sur le pictogramme approprié (petit bonhomme en seconde ligne du menu principal) : apparition directe de la fenêtre intitulée « nouvelle excursion » ; les fenêtres de saisie avec menus déroulants sont obligatoires lorsqu'elles sont encadrées en rouge ; vérifier également la date et le nom de l'auteur du relevé.

6.04. Introduire un lot de photos personnelles dans la base de données : ces photos auront évidemment été stockées préalablement dans le sous-répertoire « Photos Perso » qui se trouve dans MycoBel (nous rappelons que le format idéal des images est de 1024 x 768).

Remarque : les photos ne sont pas copiées dans la base de données, seul le nom du fichier est sauvé dans la base de données !

→ FICHIER → importer les photos :

- aide pour importer des photos : permet d'accéder à un tableau récapitulatif des conseils de l'auteur du programme
- du CD MycoBel : récupérer les photos qui se trouvent sur le CD (ou le DVD) qui vous a été fourni (uniquement utile si vous venez d'obtenir une nouvelle version de MycoBel contenant des nouvelles photos)
- 
- personnelles : accès à l'arborescence du disque dur et au sous-répertoire « Photos perso »

→ OUI pour importer toutes les photos sélectionnées

### 6.05. ATTENTION, TRES IMPORTANT : réaliser un Backup régulier des données

Il s'avère essentiel d'effectuer très fréquemment (une fois par semaine en cas d'utilisation régulière ; ou alors directement après l'introduction d'un nombre important de données et de photos personnelles) une sauvegarde du fichier MYCO.MDB (il se trouve dans c:/Program Files/MycoBel – idem pour le fichier CARTES.MDB si vous avez introduit des cartes personnelles) ainsi que du sous-répertoire « Photos perso », qui se trouvent dans le dossier Mycobel sur le disque dur. En cas de détérioration du disque dur, toutes les autres données pourraient être récupérées en rechargeant le programme au départ du support acheté.

Il convient de rappeler qu'une sauvegarde de protection doit se faire impérativement sur un support externe à l'ordinateur utilisé : clé USB, CDRom, DVD ou disque dur externe.

### 6.06. Impression de fiches pour une exposition ou d'étiquettes :

→ FICHIER → Mise en page → cocher « Etiquettes »

→ FICHIER → Aperçu avant impression : permet de visionner les 8 étiquettes qui apparaîtront par feuille

On peut sélectionner la liste des espèces à imprimer → CD sur l'espèce → sélectionner : elle se coche on peut ainsi établir une liste d'étiquettes à imprimer ; si on souhaite supprimer la sélection, on se positionne sur l'élément sélectionné et on fait espace, la barre espace enlève ainsi la sélection.

### 6.07. Recherche dans la base de données :

→ EDITION → rechercher une espèce ou un genre (*cette fonction permet de rechercher du texte dans n'importe quel champ de la base de données des champignons ; une case à cocher permet même de rechercher à l'intérieur des mots*)

Exemple : on tape « esculent » et le moteur de recherche va s'arrêter à *Clorophyllum esculentum*, on fait ensuite F3, il passe au mot suivant « *esculenta* », et ainsi de suite ... pour revenir en arrière SHIFT F3

6.08. Surlignage dans la liste des taxons : toutes les espèces qui sont surlignées en couleur dans la liste des taxons constituent des synonymes. Pour activer cette fonction : → ESPECES → cocher « afficher les synonymes » ; si on décoche cette case, la liste des synonymes disparaît.

**6.09. Diverses fonctions de tri** : elles vont générer des symboles qui apparaîtront à gauche dans la Liste des taxons.

Le symbole représentant :

- un appareil photo : signifie que des photos sont disponibles
- un coche : indique que l'espèce est sélectionnée
- un pictogramme de sourire : comestible
- un pictogramme de rire évident : excellent comestible
- un point d'interrogation : espèce douteuse pour la consommation
- une croix blanche sur fond rouge : espèce toxique
- une tête de mort : espèce mortelle

→ ESPECES → trier sur ....

- le genre (garder ce tri par défaut) : la liste de taxons commence par le nom de genre
- l'espèce : la liste de taxons commence par le nom d'espèce
- le numéro : la liste de taxons est ordonnée selon le numéro généré par le programme
- le nom français
- la fréquence
- la comestibilité : lors de ce tri, un symbole de comestibilité ou de danger apparaît (ce symbole apparaît toujours !)
- la sélection

6.10. Exporter et envoyer des relevés :

6.11. Sauver la liste des taxons dans un fichier texte (ou l'envoyer par E-mail)

6.12. Scanner une carte et la calibrer, puis dessiner le parcours de l'excursion

- Scanner une carte IGN ou la récupérer d'un CD ou d'un site internet. Sauver le fichier au format JPEG (extension.jpg) dans le répertoire destiné aux cartes de MycoBel (à configurer via le menu Fichier / Répertoires).
- Ouvrir la liste des cartes via le menu Excursions / Cartes. Une fenêtre s'ouvre avec la liste des cartes que MycoBel connaît déjà. Cliquez sur Nouveau.
- Une fenêtre s'ouvre, et vous devez sélectionner le fichier JPEG qui correspond à votre nouvelle carte, puis cliquez sur Ouvrir.
- Le coin supérieur gauche de votre carte apparaît. En haut de la fenêtre, vous devez donner un nom à cette carte, par exemple Forêt de Soignes.
- Pour profiter du système de calcul automatique des coordonnées qui est intégré dans MycoBel, vous devez maintenant calibrer votre carte. Pour cela, vous devez connaître les coordonnées de 2 points assez éloignés l'un de l'autre. Sur les nouvelles cartes de l'IGN, le plus simple est d'utiliser les lignes orange qui quadrillent la carte : ce sont les coordonnées UTM31. Attention, à l'Est de la Belgique, il y a aussi les lignes du quadrillage UTM32. Mais MycoBel ne reconnaît que les UTM31.
- Cliquez sur Calibrer : une fenêtre vous donne la marche à suivre. Dès que vous cliquerez sur OK, le curseur de la souris devient un viseur. Cliquez exactement à l'intersection de deux lignes orange qui se situent +/- en haut à gauche de votre carte. Une fenêtre vous demande les coordonnées de ce point : choisissez UTM31 (ou un autre système de coordonnées selon le cas) et entrez les coordonnées en X (indiquées en orange en haut et en bas de la carte) et en Y (en orange à gauche et à droite). Attention, il faut ajouter 000 au nombre qui est inscrit sur la carte, car MycoBel travaille en mètres. Par exemple, pour Waterloo : X=599000, Y=5620000. Le premier point est encodé.
- Déplacez-vous vers le coin inférieur droit de la carte en utilisant les barres de défilement horizontales et verticales. Faites attention de ne pas cliquer sur la carte durant cette opération, sinon le système commencera la calibration du 2eme point ! Dès que vous y êtes, cliquez sur l'intersection de deux lignes orange et introduisez les coordonnées comme pour le premier point.
- La carte est maintenant calibrée, et si vous déplacez votre souris au dessus de la carte, les coordonnées s'affichent en bas de celle-ci (Lambert, UTM31, Geo, IFBL).
- N'oubliez pas de faire OK pour valider votre nouvelle carte calibrée.

6.13. Créer une nouvelle excursion à partir d'un fichier texte (importer)

6.14. Modifier une détermination (transfert vers un autre taxon)

6.15. Gérer plusieurs bases de données

## 6.16. Retrouver rapidement un genre dans la classification

## 7. Les requêtes

- 7.01. Créer une requête dans MycoBel.
- 7.02. Utiliser Access pour créer une requête complexe.
- 7.03. Sélectionner des espèces et faire un rapport.

**QUESTIONS :**

1/ J'ai des listes de récoltes existantes en tableau Word ou en tableau Excel ; comment faire pour les transférer directement dans Mycobel ? Quel est le logiciel à faire intervenir pour les transformer en fichiers .txt ? (Si j'ai bien compris...)

**REPONSE :**

- Dans Word, si c'est une simple liste avec le Genre et l'espèce (et éventuellement du texte avant et/ou après la liste), il suffit de sauver ton fichier au format txt (voir ci-dessous). Si c'est un document plus complexe avec des tableaux, il faudra peut-être supprimer ceux-ci ou faire du copier/coller vers un fichier 'bloc-notes' en txt.

1. Tu ouvres ton fichier dans **Word**.

2. Dans le menu **Fichier**, tu choisis **Enregistrer sous...** et dans la zone **Type de fichier**, tu choisis **Texte seulement (\*.txt)**. Word te demande de confirmer car il y aura perte des informations de mise en page.

3. A ce stade, tu peux ouvrir le fichier créé (simple double-clic), il s'ouvre avec le bloc-notes. C'est le texte sans la mise en page.

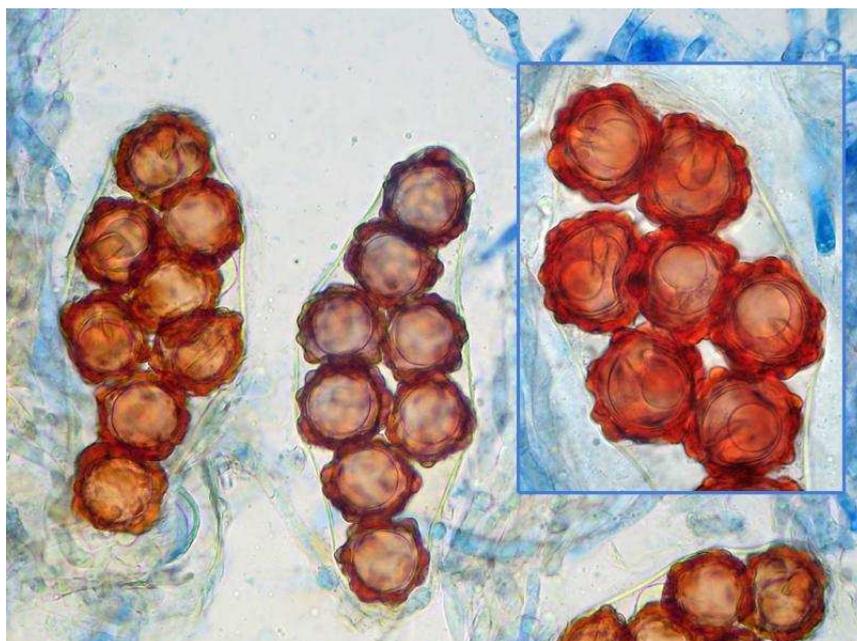
4. Dans MycoBel, tu vas dans le menu **Excursions... Importer...** Dans la fenêtre qui s'ouvre, tu cliques sur le petit **bouton avec les 3 petits points** et tu choisis ton fichier.txt, et tu fais **Suivant**.

5. Tu encodes l'auteur, la date, le lieu, puis tu cliques sur **Importer** et MycoBel fait le reste...

Même procédure avec Excel.

2/ Est-il possible de récupérer des cartes pour Mycobel au départ du CD-ROM des cartes d'état-major de Wallonie et Bruxelles dont je dispose ? En effet, je constate lorsque je l'utilise que les coordonnées que je crois être Lambert s'affichent automatiquement. Et il est possible d'imprimer des cartes avec n'importe quelle échelle en partant du millième jusqu'au 250.000<sup>e</sup>.

Oui, c'est possible. Je l'ai déjà fait plusieurs fois pour des régions que je n'ai pas en cartes traditionnelles au 25000<sup>e</sup>. Sur le CD-Rom, il y a moins de détails car les cartes sont au 50.000<sup>e</sup>. Mais on peut zoomer jusqu'au 1000<sup>e</sup>. Le plus dur c'est d'en faire un fichier JPG. J'avais fait des copier/coller successifs vers un programme de dessin. Ensuite il faut calibrer la carte dans MycoBel sur base des coordonnées affichées dans le programme de l'IGN (en localisant le même point dans MycoBel !). Ce n'est pas tellement compliqué, mais heureusement qu'il ne faut pas le faire tous les jours !



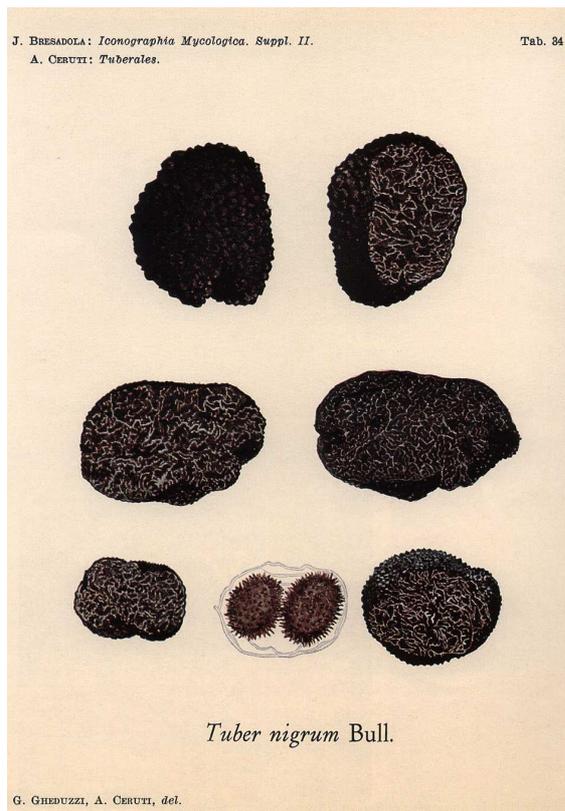
Spores *Hydnotria tulasnei*  
Berkeley & Broome,  
10/09/2008 (photo Daniel Ghyse-  
linck)

## Une expérience intéressante : la plantation de noisetiers mycorhizés à la Truffe de Bourgogne (*Tuber uncinatum*)

par Marcel LECOMTE

L'aventure s'est présentée de manière insolite car nous avons été sollicité par un professionnel et passionné de jardinage, qui distribue (moyennant espèces quand même...) des noisetiers, des chênes verts et des chênes pubescents mycorhizés soit à la Truffe Noire du Périgord (*Tuber melanosporum*), soit à la Truffe de Bourgogne (*T. uncinatum*).

L'idée de tenter l'expérience a germé tout de suite dans notre esprit, en même temps que celle de partager cela avec le plus grand nombre de personnes ; la magie d'internet jouant, ce fut un jeu d'enfant de contacter nombre de connaissances susceptibles de participer à cette expérimentation peu coûteuse finalement, mais combien tentante vu les résultats espérés.



Une étude rapide du sujet a permis de déterminer qu'il fallait se tourner vers les plants truffiers sur base de noisetiers, mycorhizés à la Truffe de Bourgogne (*Tuber uncinatum*) vu qu'il s'agit là de la combinaison sensée donner les meilleurs résultats pour notre pays.

En effet, même si une bascule climatique est en train de s'opérer de manière de plus en plus visible, il ne faut pas espérer pouvoir cultiver le chêne vert ou le chêne pubescent dans notre jardin avant quelques dizaines d'années encore.

Les plants proviennent directement de France et sont âgés d'un an (on pourrait penser qu'un plant plus âgé pourrait donner un résultat plus rapide mais rien n'est moins vrai. Un plant plus âgé aurait beaucoup plus difficile à s'adapter et à s'installer).

Ils sont tous certifiés par l'INRA (Institut National Français de Recherches Agronomiques), gage de qualité et garantie de bonne mycorhization et possèdent un numéro d'identification. Au-delà de leurs bonnes références, l'important viendra ensuite du soin que leur prodiguera le jardinier. On récolte ce que l'on sème...

La probabilité de réussite en temps normal est la même que pour toute plantation qui serait effectuée dans les conditions requises, à savoir très bonne. Le tout est de respecter les conditions de base qui sont

l'exposition au soleil et le type de sol. L'exposition, en ce qui la concerne, n'est pas spécialement problématique avec la combinaison proposée. En effet, une exposition à mi-soleil suffit, pas besoin ici de conditions méditerranéennes pour réussir (heureusement, vu notre climat Belge).

***Tuber uncinatum*** demande un peu de soleil mais pas une exposition en plein soleil, ce qui la rend utilisable dans de nombreuses conditions, surtout dans nos contrées.

Au niveau du choix du sol, le critère le plus important est un sol calcaire avec un ph entre 5.5 et 7.5 ; il est heureusement assez aisé de faire un apport de calcaire au niveau du sol. Pour le côté plus technique, la texture doit être limono-argileuse ou sablonneuse de façon à permettre une bonne circulation de l'air et de l'eau. Sa structure doit être équilibrée en éléments minéraux et en matière organique (comprise entre 1,5 et 8%, rapport Carbone / Azote voisin de 10). La composition minérale doit être sans carence ni excès d'aucun élément essentiel.

Il s'agit bien entendu de conditions optimales qui peuvent être respectées mais ne sont certainement pas indispensables à la lettre. La meilleure recommandation que nous pouvons donner est de faire procéder à une analyse du sol que l'on veut utiliser et ce, afin de connaître les amendements du sol qui pourraient être bénéfiques.

La plantation s'effectuant au départ dans une surface fort réduite, il est aisé d'améliorer le sol avoisinant.

Le petit tableau ci-dessous présente une comparaison entre la Truffe Noire du Périgord et la Truffe de Bourgogne, mettant bien en évidence pourquoi cette dernière est la plus adaptée à nos régions. Notre vision de la nature est qu'il ne faut pas la forcer mais bien se concentrer sur la plantation de ce qui peut l'être chez nous.

Plants mycorhizés	<i>Truffe noire</i> dite du Périgord	<i>Truffe grise</i> dite de Bourgogne
<b>Limite climatique</b>	Régions à hivers tempérés. Dans le Sud-Ouest 500 à 600 m d'altitude maximum, et dans le Sud-Est 800 à 900 m d'altitude maximum avec une exposition sud. Il est nécessaire d'avoir un bon ensoleillement dans la parcelle.	Régions nordiques où les hivers sont rigoureux. A l'opposé de <i>Tuber melanosporum</i> , elle supporte les couverts végétaux denses.
<b>Limite géologique</b>	Terrains argilo-calcaires (pH = 7,5 à 8,5), structure grumeleuse, souple et aérée sur un sol drainant caillouteux (épaisseur 15 à 40 cm) et avec un sous-sol fissuré	Terrains argilo-calcaires, supportant parfois un pH moins élevé que <i>Tuber melanosporum</i> , à sol profond mais aéré
<b>Densité de plantation</b>	6m x 5m	Plantation à haute densité 4m x 4m
<b>Période de récolte</b>	Novembre à mars	Septembre à décembre



*Tuber uncinatum* Chatin (Photos Etienne Charles, 26/11/2005)

Voici maintenant quelques informations pratiques :

### **A quelle époque planter**

Les plants truffiers sont traditionnellement plantés à deux époques: **novembre / décembre** et **février / mars / avril**. Les plantations réalisées à la fin de l'hiver, ou encore selon la croyance populaire à la lune vieille de mars, ont des reprises d'autant plus difficiles que l'été suivant est sec. L'arrosage des plants au pied est indispensable durant l'été. Par contre, les plantations réalisées en novembre et décembre font des arbres qui gagnent généralement une année sur ceux plantés deux à trois mois plus tard, à la fin de l'hiver.

### **La préparation du sol**

La plantation nécessite un **nettoyage complet du milieu**, la destruction de toutes les plantes herbacées ou ligneuses qui pourraient héberger des champignons mycorhiziens autres que *Tuber melanosporum*.

*nosporum* ou *Tuber uncinatum*, afin de planter sur un terrain parfaitement préparé. Le but est d'obtenir un terrain meuble, une terre fine sans grosses racines ni grosses pierres, comme pour toute autre plantation d'ailleurs. Pour une **plantation importante**, faire un labour léger (20 à 25 cm de profondeur) sur toute la surface à planter repris par des façons superficielles pour niveler et détruire les mauvaises herbes. Pour une **plantation de quelques arbres**, faire un travail du sol sur les emplacements des jeunes arbres sur 2 m<sup>2</sup>.

### La plantation des arbres truffiers

Préparer des trous cubiques de 25 à 30 cm d'arête. Retirer le godet cannelé plastique. Prendre la motte avec soin et la positionner au fond du trou. Remplir le trou de terre fine tout autour de la motte et jusqu'à son sommet. Bien tasser avec les deux mains et finir de combler le trou pour que le collet du plant soit enterré de 4 à 5 cm par rapport au niveau du sol. Arroser (2 à 3 litres par plant). Butter légèrement les plants tout en laissant autour une petite cuvette de quelques centimètres de profondeur et à 15 cm du plant pour retenir l'eau de pluie.

### Densité et production

Une plantation dense donne une production plus précoce, mais la fermeture progressive du milieu oblige à éclaircir ultérieurement. Une plantation moins dense produit plus tardivement mais peut rester en l'état plus longtemps.

### Vos arbres truffiers sont bien entretenus

Les plants truffiers doivent être **arrosés** la première année. Les jeunes noisetiers truffiers doivent être **taillés** dès la 2<sup>ème</sup> ou 3<sup>ème</sup> année de façon à favoriser le développement de l'arbre et l'ensoleillement au pied des arbres. La taille doit être progressive et sans excès. **Les mauvaises herbes sont détruites** par un sarclage à la main autour du plant. Des désherbants chimiques peuvent être employés dans certaines conditions (Gramoxone, Roundup), mais doivent de préférence être évités. **Les brûlés peuvent apparaître dès la 4<sup>ème</sup> année** et l'entretien est minime pour un début de production imminent. **La récolte de la truffe est manuelle**. Le soin apporté au cavage, à l'aide d'un chien dressé, permet de ne pas compromettre les récoltes ultérieures.

### Vos truffières sont arrosées lorsque les étés sont très secs

"Un été sans pluie donne un hiver sans truffe." **L'irrigation est indispensable** de juin à septembre, et d'autant plus que l'été est sec, avant l'entrée en production pour éviter que les jeunes plants ne souffrent, et en phase de production pour maintenir le sol frais autour de la jeune truffe. Lorsque la sécheresse sévit depuis 2 à 3 semaines, en juillet-août, il faut dans la mesure du possible arroser sinon les truffes nées en mai-juin se dessèchent et disparaissent. A défaut d'arrosage on peut recouvrir à certains endroits le sol de branches de genévriers ou de carrés de paille avant les fortes chaleurs de l'été.

Dès l'apparition des premiers brûlés, un ameublissement très superficiel est à effectuer tous les ans en mars-avril, pour aérer le sol. Il est à compléter éventuellement, par un désherbage chimique. Il faut proscrire les passages d'engins mécaniques lourds sur les truffières de tous âges. Les truffières vieillissantes doivent être rénovées. Lorsque les arbres ont 25 à 35 ans, le développement de la ramure empêche un ensoleillement normal du sol.



Et la récolte ?

La récolte débute en novembre, lorsque les premières truffes arrivent à maturité avec un parfum développé, et se poursuit jusqu'au mois de mars. La truffe repose dans un humus riche en calcaire, se délecte des hydrates de carbone que lui prodigue l'arbre avec lequel elle a lié amitié, se désaltère de la chaude humidité du dernier orage, prend du volume et devient fort appétissante...

C'est alors que les "nez" entrent en action.

Pour la petite histoire, **le cochon** raffole des truffes qu'il repère grâce à un odorat très

sensible, fouillant ensuite la terre avec son groin jusqu'à déterrer le champignon. L'avantage de ce penchant naturel est que l'animal n'a pour ainsi dire pas besoin d'être dressé. Ils sont alors retenus pour qu'ils ne dévorent pas les truffes qu'ils trouvent, après quoi on les récompense avec des fèves qu'ils apprécient également beaucoup. Aujourd'hui, cette technique liée à la tradition d'avoir dans chaque ferme un cochon que l'on engraisait, a tendance à se perdre et n'existe évidemment pas pour le particulier.

Le **chien** constitue de loin la solution la plus pratique, et par là-même la plus efficace. Il faut cependant noter qu'à l'encontre du cochon, le chien ne cherche pas des truffes par goût, mais parce qu'on l'a dressé pour cela. Il est donc moins motivé et l'efficacité d'un sujet à l'autre peut varier considérablement. Il faut arriver à lui faire comprendre qu'il lui suffit de gratter légèrement la terre à l'endroit où il a senti la truffe pour être récompensé. Nous pouvons vous fournir sur demande un produit odorant permettant de dresser les chiens à cet effet.

La **mouche** du type "*Helomyza tuberivora*" a l'habitude de pondre ses œufs au dessus des truffes qu'elle repère grâce à leur parfum. La technique de la mouche consiste, (de préférence lorsqu'il fait beau, car il est indispensable qu'il y ait beaucoup de lumière), à s'installer près du sol et à repérer le mouvement circulaire que ces insectes effectuent, toujours à la verticale de l'endroit où se trouve une truffe. C'est efficace, mais demande de l'attention.



Il existe trois espèces principales : *Suillia fuscicornis* en Provence, *Suillia gigantea* au Nord de la Loire, ainsi que *Helomyza tuberivora*. En Lorraine, quelques "rabassiers" locaux cherchent les truffes à la mouche souvent pour le plaisir de la quête. (photos libres de droits sur le net)

« Notre grand-père nous avait appris à observer cette mouche pour chercher la truffe mûre ! Il n'avait ni chien dressé ni cochon pour caver ses quelques arbres truffiers naturels. La mouche s'envolait faci-

lement et il ne fallait pas que notre ombre balaie la truffière. Il fallait donc avancer face au soleil. Une fine branchette à la main, d'un geste calme et sûr, il provoquait l'envol du diptère et marquait le point d'envol. La truffe était à quelques cm sous la surface du sol. Je n'avais que 6 ans, et je lui dois cette grande passion pour le diamant noir

La technique la plus utilisée par le particulier réside bien entendu dans la recherche manuelle, recherche qui ne représente pas de difficultés lorsque l'on dispose d'un nombre d'arbres ne relevant pas de la ferme truffière ! La recherche manuelle ne demande qu'une grande attention, il n'est en effet pas rare de passer à côté d'une truffe. Voilà qui est dit pour le côté technique.

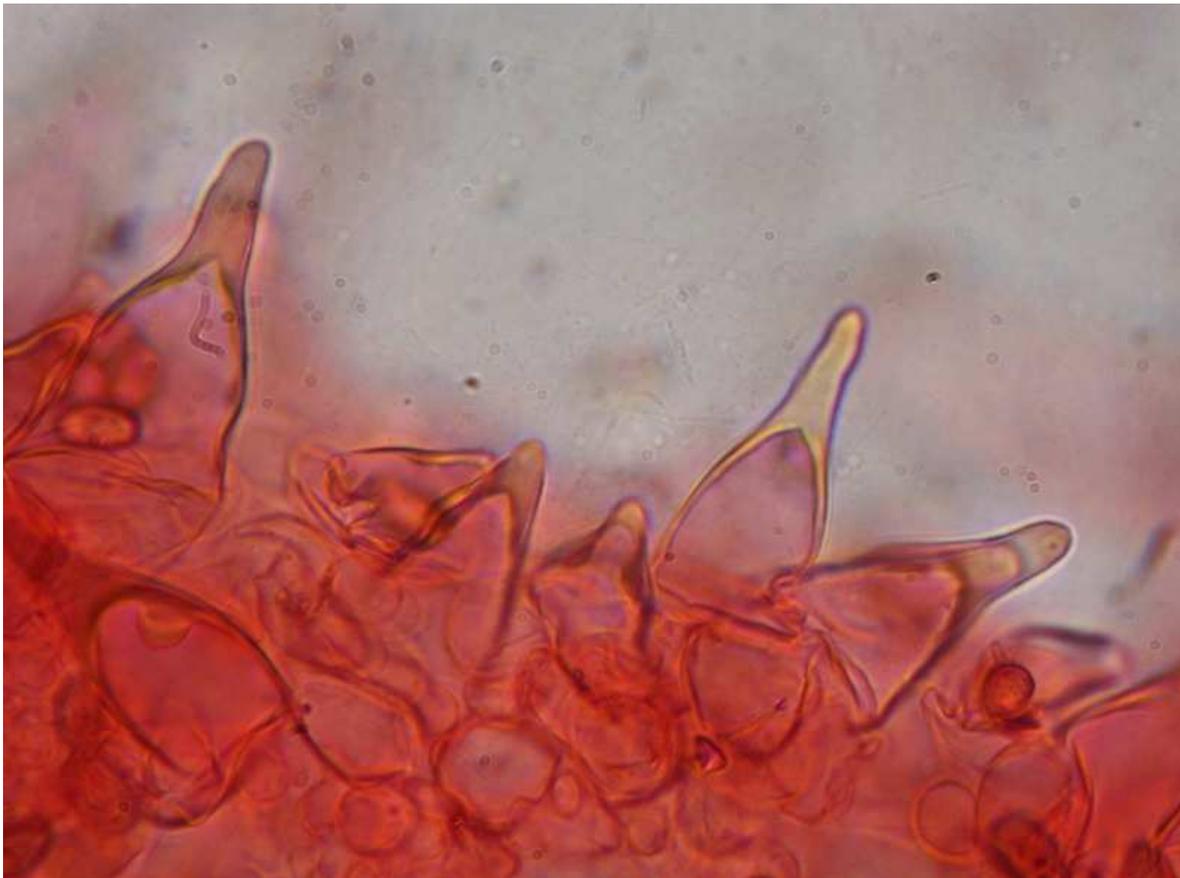
Interview de Patrick Faure, trufficulteur à Montoisson (26800) :

➤ Quel est l'avantage de la recherche à la mouche et à la baguette ?

*La mouche sent la truffe uniquement quand elle est bien mûre contrairement au chien qui a la capacité de la sentir avant. Par contre, la dimension poétique et spirituelle de la recherche à la mouche est plus évidente : Imaginez, parcourir les truffières avec une baguette pour lever les mouches, c'est comme un acte de magie. Jouer avec son ombre pour l'avoir toujours dans son dos afin de ne pas effrayer les mouches sur le brulis et de tapoter sur le sol, avec de temps en temps une nuée de mouches couleur or s'envolant au bout de la baguette et là enfoui, le diamant noir...*

➤ La recherche à la mouche est donc un acte poétique ?

*Oui. Et je pense à Federico Garcia Lorca qui dans un poème (Le romancero gitano) parlait d'un esprit libre (représenté par un gitan nommé Antonio Torres Herredia) qui tenait à la main une baguette d'osier... Ce poème a toujours représenté à mes yeux un hymne à la liberté de penser, d'aller... comme le vent, d'aller contre les idées établies et préconçues. C'est cet esprit qui anime l'homme cherchant la truffe à la baguette.*



*Psathyrella sarcocephala (Fr.) Singer – macrocystides spectaculaires (photo Françoise Draye)*

## L'œil du braconnier \*

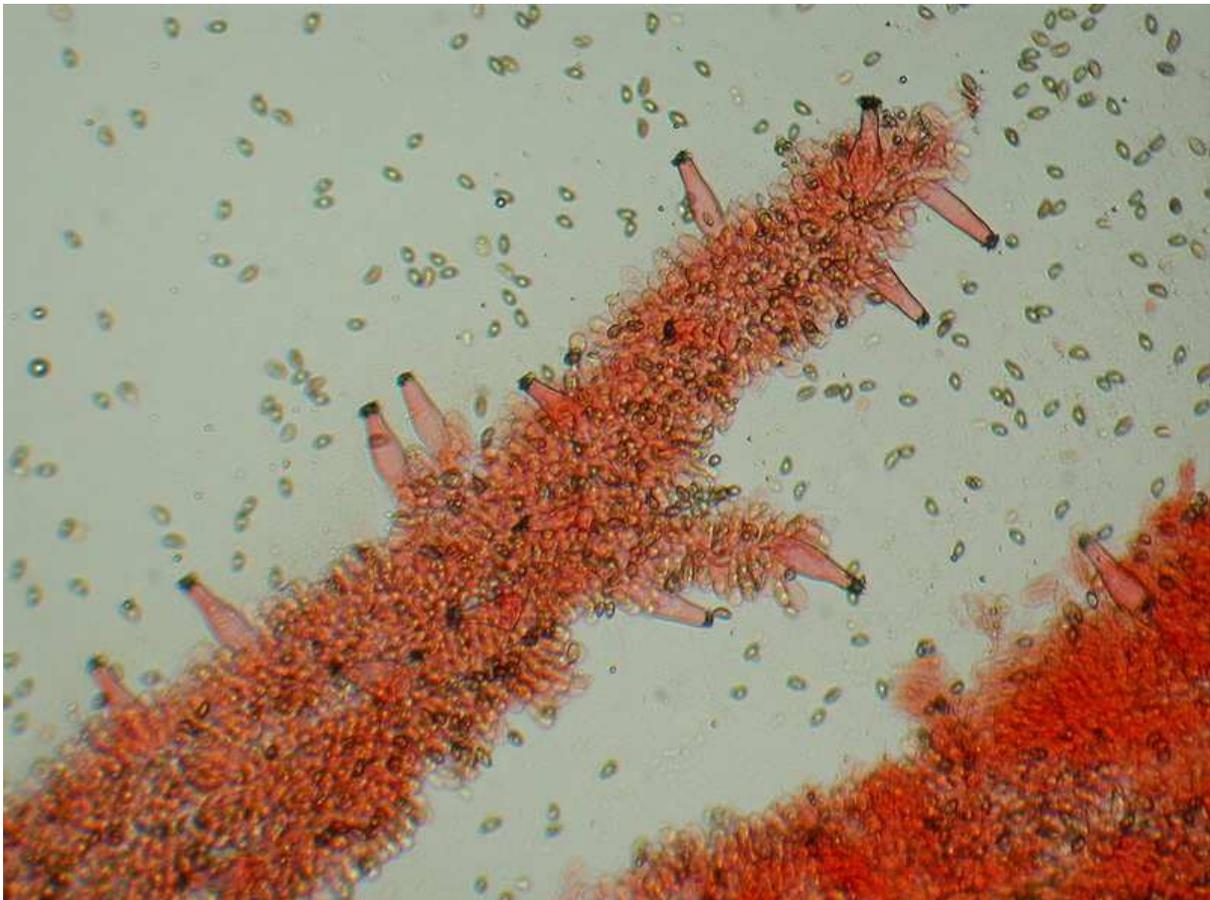
Texte d'Alfred LOSS

Sous la paille dense en pleine ébullition  
 Les effluves boisés embaument les biotopes ;  
 La fonge est en complète fermentation  
 Et les champignons s'affairent en bons saprotrophes.

Une pluie d'orage chaude et généreuse  
 De ses bienfaits vient accélérer la pousse :  
 Les clitocybes engendrent la nébuleuse  
 Et les craterelles noires émergent de la mousse.

Vite en route, c'est le moment de prendre ses paniers.  
 Attention ! le gardien de la forêt, aux abois guette ;  
 Soyons circonspects dans nos repérages frontaliers  
 Ayons l'œil en alerte, il y va de nos cueillettes.

\* composé un soir d'orage plein de promesses !



*Inocybe godeyi* Gillet – arête de lame avec cystides couronnées de cristaux d'acide oxalique (photo Françoise Draye)

## Séminaire de microscopie générale, au domaine de Massemble, à Heer-Agimont (Belgique) du 21 au 26 avril 2008

par André FEVRIER (Le MANS – France)

Ils sont venus, ils sont tous là, de Belgique, France, Luxembourg, il y avait même ceux du sud de ... (vous connaissez la chanson) plus loin encore d'outre Méditerranée (Maroc), ces passionnés qui ont répondu à l'invitation de venir écouter, que dis-je, de s'enivrer de la bonne parole de notre maître es microscopie, le révérend Marcel Lecomte, entouré par quelques-uns de ses fidèles disciples, qui officie à cette occasion sur ses terres d'Ardenne belge, dans le cadre accueillant du domaine de Massemble, transformé pour la circonstance en temple de la microscopie. Même si ses représentants sont peu nombreux, c'est aussi l'occasion de fêter les 10 ans d'existence du Club Français de Microscopie.

Suite au franc succès remporté lors de l'organisation du congrès de la Société Mycologique de France en septembre 2006 à Herbeumont (Belgique) par l'Association des Mycologues Francophones de Belgique (AMFB), le bilan tiré par les organisateurs était qu'une telle réussite ne pouvait rester sans lendemain. C'est ainsi que dès janvier 2007, pour initialiser cette démarche, Marcel Lecomte faisait part à quelques-uns de ses proches de son intention d'organiser un séminaire de microscopie générale ; projet qui s'était rapidement concrétisé, car rendez-vous fut pris pour avril 2008 à Heer-Agimont en Belgique, près de la frontière franco-belge, à quelques kilomètres de Givet, dans les Ardennes. Cependant, cette première mouture ne fut pas prise en charge directement par l'AMFB, car les formalités administratives pour la création de l'asbl furent très longues, empêchant tout pouvoir officiel de décision.

En ce 21 avril 2008, l'accueil des participants donne le ton : par la qualité de leur présentation et de leur contenu, les documents remis à chacun offrent un avant-goût du programme copieux. On mesure combien leur rédaction a fait l'objet d'une attention toute particulière ; dossier pédagogique, précis de microscopie traitant des matériels, accessoires, méthodes de travail, réactifs, colorants, milieux d'observation, types de microscopes ... : on ne peut être qu'admiratif devant un tel travail.

Si quiconque d'entre nous avait à l'esprit de pouvoir couler quelques moments de tranquillité dans ce cadre reposant et champêtre, voire bucolique, il doit déchanter rapidement ; le programme annonce quelques 14 ateliers pratiques, 5 séances de présentation et démonstration de matériels et pas moins de 8 conférences, le tout entrecoupé de courtes pauses (déjeuner, apéritif, dîner, **souper** et récupération hautement méritée). L'organisateur, conscient de l'ampleur de la tâche qui attend les participants et soucieux de garantir leur performance tout au long de la semaine, a même joint à la pochette d'accueil les compléments énergétiques censés les maintenir en bonne forme ! Chaque après-midi, une sortie botanique guidée par Paul Pirot va offrir la possibilité aux accompagnants et à ceux des congressistes qui le souhaitent de découvrir quelques-unes des richesses de la flore avoisinante ... ou de prendre un grand bol d'air frais.

Au fur et à mesure de l'installation de chacun des arrivants dans la salle de microscopie et au vu de l'abondance des matériels apportés, une petite inquiétude se fait jour : « Y aura-t-il suffisamment d'espace pour permettre à chacun de s'y trouver à l'aise ? ». Aucun souci finalement, car ce volume parfaitement adapté accueille sans aucun problème les 40 microscopistes, cette unité de lieu favorisant à merveille la communication et les échanges.

Tous sont venus avec des objectifs différents : certains font leurs premiers pas, d'autres plus aguerris sont impatients de se perfectionner, d'autres encore, presque au sommet de leur art, attendent de découvrir les nouveautés en termes de microscopes ou de caméras ; ils pouvaient être rassurés, car le programme va répondre en tous points aux attentes de chacun.

Une conférence avec pour thème : « Le principe du microscope et le rôle des divers constituants » ouvre le séminaire ; suit un atelier consacré aux « Réglages et optimisation du matériel » ; c'est l'occasion pour chacun de vérifier que son équipement répond à ses exigences, et de pouvoir l'exploiter au maximum de ses possibilités.

Ce premier pas franchi, un second atelier expose la démarche à entreprendre pour réaliser une bonne préparation microscopique, suivie d'une découverte des milieux d'observation et de montage ; à l'occasion d'un troisième atelier, les différents types de coloration et leurs applications sont évoqués. Il faut noter que l'organisateur a mis à disposition de chacun et en libre-service (il joue la carte de la confiance) plus d'une centaine de flacons regroupant tout ce qui se fait en matière de colorants et de réactifs et que chacun va pouvoir tester tout à loisir.

Nous allons crescendo dans la difficulté ! L'étape suivante, traite de la coloration régressive avec un exercice pratique sur la mise en évidence des incrustations acido-résistantes de la cuticule chez certai-

nes russules. Dans le même registre, une autre séquence aborde les réactions sulfoaldéhydiques chez les russules et les lactaires. S'en suit un atelier consacré à la préparation et au montage d'acariens, de vers, de crustacés et d'insectes.

Les lichens, également au programme, font l'objet d'une conférence présentée par Jean-Pierre Gaveriaux (le spécialiste en ce domaine) et d'un exercice en salle sur le thème «Lichens et réactifs chimiques».

Cet énoncé des sujets abordés n'est pas exhaustif ; on peut citer encore : la microscopie des Aphyllophorales (Jean-Marie Godart), les coupes au microtome de Ranvier et au microtome de Minod, la présentation du logiciel gratuit de mesure sur image « PIXIMETRE » (Alain Henriot), l'utilisation d'une table graphique (Jacques Gane), etc ... La technique n'est pas en reste ; à l'occasion de différents exposés, plusieurs thèmes sont abordés : le microscope à contraste de phase, à fluorescence, à polarisation, la capture d'images et les mesures directes avec une caméra numérique (Serge Roelandts).

En ce qui concerne la photographie, « Les techniques de prise de vue numériques et le traitement d'images avec PhotoShop » constituent le sujet d'une conférence, suivie d'un atelier pratique sur le thème : « La photo numérique avec APN au microscope » (Françoise Draye et André Février). Deux séances sont consacrées à l'utilisation et aux réglages de l'APN et du REFLEX sur le terrain.

Arrivé au terme de ce séminaire, et pour le clore tout en douceur au travers des deux dernières conférences, nous nous sommes laissés porter dans le monde des Mycènes de petite taille (Lucrèce Vannieuwerburgh) puis beaucoup plus loin jusqu'à Madagascar suite au coup de cœur de Paul Pirot ! En guise de conclusion, il nous faut remercier tout à la fois l'organisateur et les participants ; cette semaine a évidemment constitué une formidable occasion de parfaire nos connaissances dans le domaine de la microscopie : mais elle a aussi représenté une superbe réussite sur le plan humain, car elle a permis de partager d'intenses moments de convivialité. Tous ont fait preuve d'un intérêt et d'une disponibilité sans égal ; l'objectif permanent de répondre aux attentes de chacun a été de loin dépassé ; d'ailleurs il ne pouvait en être autrement, car l'organisateur a sans cesse donné le ton : « Un mot, un geste, et Marcel fait le reste ! »

Que faire, sinon se donner déjà rendez-vous à Massembré en 2009 ! (Mon petit doigt me l'a dit, c'est déjà programmé par l'AMFB, du mardi 24 mars 2009 à 14 heures au dimanche 29 mars, en fin de matinée !)



**Stage de microscopie Heer Agimont  
21 au 24 avril 2008**

1. Didier Grasperger	13. Marcel Lecomte	25. Paul Pirot
2. Jacques Gane	14. Jean-Marie Godart	26. Alain Henriot
3. Françoise Grasperger	15. Françoise Draye	27. Jerry Thorn

4. Jean-Pierre Gaveriaux	16. André Février	28. Claude Swennen
5. Jacqueline Février	17. Guy Moussy	29. Gérard Sick
6. Yvonne Muller	18. Elsa Mazet	30. Alfred Loss
7. Hassene Djadjaa	19. Jean-Claude Maire	31. Roger Bontinck
8. Chrystelle Gérard	20. Lucrèse Vannieuwerburgh	32. Jamma El Khayat
9. Patrick Cariou	21. Serge Roelandts	33. Eric Michon
10. Reynald Dossogne	22. Christian Grassin	34. Michelle Gaveriaux
11. Claude Quintin	23. Didier Argaud	
12. Daniel Thoen	24. Joseph Pellicani	



## A propos de notre journée « Champignons de printemps » à Marcienne le 8 mai 2008

Dans la rubrique « activités réussies » de l' A.M.F.B., cette journée s'y trouvera certainement en bonne place.

Le soleil, le cadre, l'amitié, le toast de *C. gambosa* imprévu sans oublier le délicieux spaghetti, tous les ingrédients étaient réunis pour que la « magie puisse opérer ».

Nous avons même pu monter une petite expo de champignons de printemps, assez fournie, malgré les conditions climatiques de ces dernières semaines !

Pour les accros à la microscopie, le matériel adéquat était aussi de la partie.

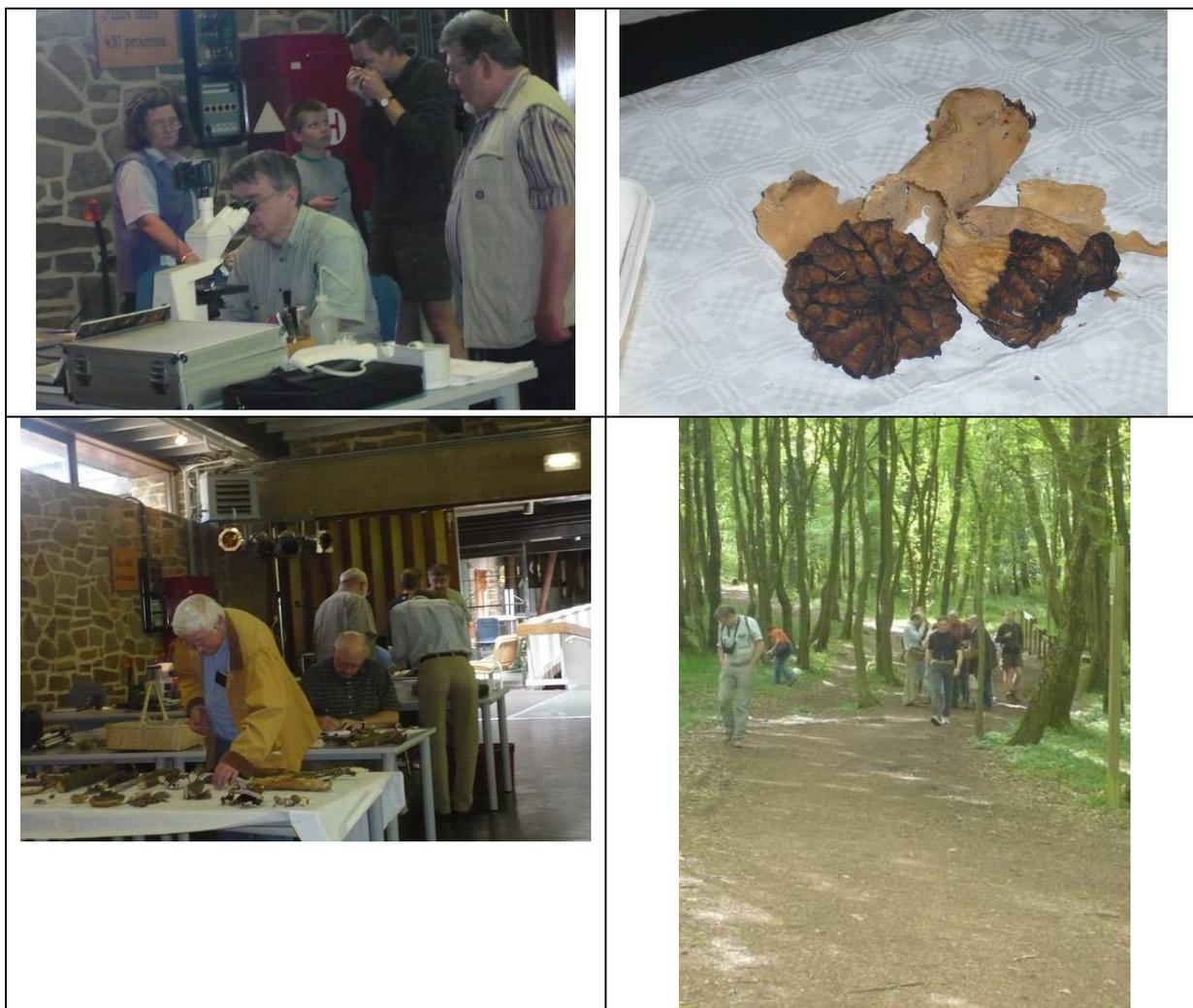
Peut être pourrions nous recommencer en automne au même endroit, afin de permettre à ceux et celles qui n'étaient pas là ce dimanche et qui auraient des regrets à combler !!

Bref, ce fut une belle expérience, à renouveler.

Je reprends les paroles d'Alfred : « merci à tous d'avoir fait de cette journée de printemps, une réussite » et aussi merci à Alfred de l'avoir mise sur pied.

A bientôt pour de nouvelles aventures, mycologiques bien sûr.

Jacqueline Bernaud.



**Liste des taxons rencontrés (total = 16) durant la promenade à Loverval :**

Relevé numéro 1432 (Mycobel) – Auteur : Daniel Ghyselincq

Lieu : Marcinelle Date : 04.05.2008

*Calocybe gambosa* (Fr. : Fr.) Sing.  
*Coprinus micaceus* (Bull.: Fr.) Fr.  
*Cudoniella clavus* (A. & S. : Fr.) Dennis  
*Daedaleopsis tricolor* (Bull.) Bond. & Sing.  
*Exidia glandulosa* (Bull.: Fr.) Fr.  
*Gloeophyllum sepiarium* (Wulf. : Fr.) P.Karst.  
*Helvella acetabulum* (L. : Fr.) Quéf.  
*Lachnum fuscescens* (Pers.)  
*Lachnum virgineum* (Batsch.: Fr.) P. Karst.  
*Lycogala epidendron* Linn.  
*Piptoporus betulinus* (Bull.: Fr.) P. Karst.  
*Stereum hirsutum* (Willd. : Fr.) Pers.  
*Stereum subtomentosum* Pouz.  
*Tremella foliacea* Pers.: Fr.  
*Ustulina deusta* (Hoffm.: Fr.) Lind.  
*Xylaria carpophila* (Pers. : Fr.) Fr.

La « mouche à longues antennes » que nous avons pu observer est un petit papillon, *Adela* (*Nemophora*) *reaumurella* ou une espèce voisine. *Origine de la photo* : <http://www.galerie-insecte.org/galerie/html/ILepidopteraAdelidae.html>



Photo Pierre OGER, 07/05/2008, Belgique

La Famille des Adelidae se compose de 2 sous-familles : les Adelinae et les Nematopogonine. Elle compte environ 300 espèces répandues dans le monde entier, dont 33 espèces répertoriées en France. Ce sont des papillons de petite taille, dont les antennes généralement simples, sont spectaculaires chez certaines espèces où elles peuvent atteindre jusqu'à quatre fois la longueur du corps ; les palpes et la trompe sont courts et souvent atrophiés ; les ailes sont allongées, ovales, avec l'apex plus ou moins pointu ; les ocelles sont absents. Les tibias postérieurs sont ornés de deux paires d'éperons. Leur activité est généralement diurne. Les chenilles forment un fourreau aplati ; elles sont souvent mineuses dans leur jeune âge (c'est-à-dire qu'elles creusent des galeries dans les feuilles). Certaines espèces, dont *A. reaumurella*, voltigent en troupes nombreuses dans les allées des bois, avec un vol pendulaire, un peu à la façon des moustiques. Il est très fréquent de les rencontrer au mois de mai.

### Champignons exposés (liste non complète)

<i>Strobilurus tenacellus</i> - Bomal - 3 mai (date de récolte)	<i>Trametes hirsuta</i> – Buzenol – 1 mai
<i>Hymenochaete rubiginosa</i> - Bomal - 3 mai	<i>Helvella acetabulum</i> – Buzenol – 1 mai
<i>Trichaptum abietinum</i> - Bomal - 3 mai	<i>Helvella acetabulum</i> – Sart Tilman - 3 mai
<i>Polyporus ciliatus</i> - Bomal - 3 mai	<i>Helvella leucomelaena</i> – Louvain-la-Neuve - 4 mai
<i>Conocybe aporos</i> - Bomal - 3 mai	<i>Entoloma clypeatum</i> – Haccourt - 4 mai
<i>Pluteus romellii</i> - Bomal - 3 mai	<i>Auriscalpium vulgare</i> – Louvain-la-Neuve – 3 mai
<i>Phallus impudicus</i> (œuf) - Bomal - 3 mai	<i>Anellaria semiovata</i> – Ittre – 3 mai
<i>Mitrophora semilibera</i> - Biron - 3 mai	<i>Daldinia concentrica</i> - Ittre – 3 mai
<i>Mitrulea paludosa</i> - Petit Han - 3 mai	<i>Ciboria rufofusca</i> – Ittre - 4 mai
<i>Disciotis venosa</i> - Hamoir - 4 mai	<i>Gyromitra esculenta</i> – Sart Tilman – 3 mai
<i>Marasmius hariolorum</i> - Etalle - 3 mai	<i>Polyporus badius</i> – Loverval - 4 mai
<i>Discina perlata</i> - Etalle - 1 mai	<i>Pholiota highlandensis</i> – Theux - 4 mai
<i>Auricularia mesenterica</i> – Etalle - 1 mai	<i>Phellinus igniarius</i> – Thuin - 4 mai
<i>Auricularia auricula-judae</i> – Verdenne – 3 mai	<i>Trametes hirsuta</i> – Buzenol – 1 mai
<i>Phellinus tuberculatus</i> – Thuin - 4 mai	

## Une Russule très intéressante : *Russula pseudodelica* Lange 1926 (nec J. Schaef ) sec. Blum

par Marcel LECOMTE

Le 28 juin 2004, Françoise DRAYE nous fait suivre une série de photos d'une grosse russule, semblable à *delica* Fr. ou à *chloroides* var. *trachyspora* (Romagn.) Sarnari, mais dont les réactions chimiques, et les caractères macroscopiques mais surtout organoleptiques sont différents des choses habituellement récoltées.

Biotope : 2 exemplaires récoltés à Beez (Marche-les-Dames), le 27 juin, et un autre exemplaire le 02 juillet ; sol argilo-calcaire, sous *Quercus* et *Fagus*.



*Russula pseudodelica* (photos Françoise Draye)

### Caractères macroscopiques marquants :

#### Description :

Chapeau à bordure blanc sale, et le reste quasi ocre clair, à dépression centrale jaune olivâtre, avec une nette tendance au brunissement après quelques heures.

Le plus grand exemplaire quasi circulaire, de 11 cm de diamètre ; aspect massif, solide, peu cassable ou friable ; contour irrégulier dessinant 3 lobes profonds de 2 cm ; bordure un peu enroulée, unie.

Les 2 premiers spécimens du 27/06 mesuraient 4,5 – 5,5 cm de diamètre.

Chair blanche à la coupe, pour les 2 jeunes exemplaires, grisonnant très légèrement après 30 minutes, presque noire dans le bas du pied après 1 heure, et gris clair dans le reste ; épaisse de 7 mm au centre du rayon du chapeau, avec lames de même épaisseur.

Cuticule sèche et mate, détachable sur à peine 1/3, voire ¼ de sa longueur, d'aspect un peu prumineux et fixant facilement les particules de terre ; un peu brunissante après manipulation.

Les lames sont décourantes par un filet, d'abord jaunâtres, puis nettement rosées carnées, avec la bordure brunissante avec l'âge ; rarement anastomosées, fines, flexueuses ; présence de lamelles fines de 5 à 10 mm de long, entre chaque lame, près de la bordure extérieure ; épaisseur de 6-7 mm au centre du rayon du chapeau ; lames au nombre de 7-8 par cm, à 1 cm de la bordure

Pied massif, blanc sale, appointi, fortement veiné brunissant uniformément avec l'âge ; 4,8 x 3,1 cm de diamètre, aplati, irrégulier ; 9,2 cm de long ; très dur de consistance ; suite à une coupe transversale, la chair blanche devient rosâtre (10 minutes) puis brunâtre (1/2 heure).

Saveur nettement douce durant 1 à 2 minutes puis amère et un peu piquante après 3 minutes ; goût très désagréable à la longue (pour les 2 exemplaires du 27/06) ; celui du 02/07, qui semble plus âgé, est resté doux durant 10 minutes, avant de présenter une petite amertume.

#### Réactions chimiques sur la surface du pied et sur la chair :

- Sulfate de fer rose orangé immédiat durant 4-5 secondes, puis rapidement vert olive en 10 secondes et vert émeraude foncé en 10 minutes
- Soluté de Gaïac vert clair immédiat puis vert bouteille en 10 minutes
- Phénol orangé brique, puis rougeâtre-brun rapide
- Phénolaniline : rouge brique en quelques secondes
- Sulfovanilline : mauve violet sur la cuticule du pied, et nettement bleuâtre sur la chair

Pas de réaction à l'ammoniaque, à la potasse 10 %, au formol et à la phénaniline



*L'aspect rosé des lames est nettement évident sur cette photo (photo F. Draye)*

Les 2 premiers exemplaires mesuraient 3,3 et 4 cm de long x 2,5 et 3 cm de diamètre.  
Odeur nettement fruitée, faisant place avec le temps à une nette odeur de poisson.



*Réaction au phénol  
(photos F. Draye)*

*Réaction au gaïac à gauche et au sulfate de fer à  
droite (après 10 minutes)*

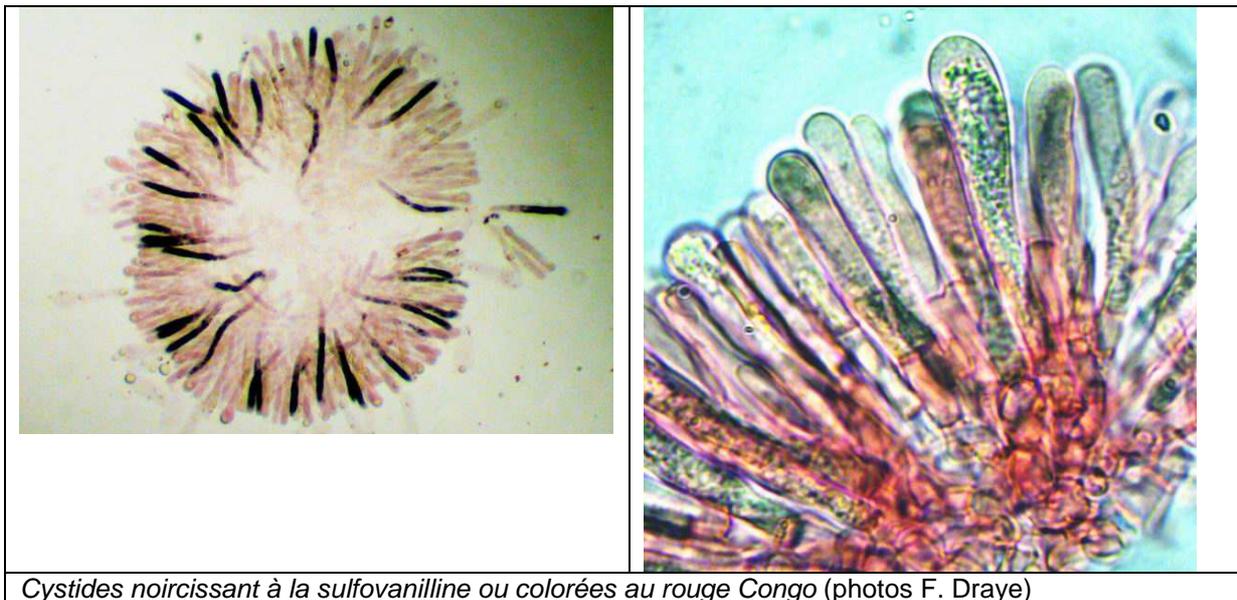
### Examen microscopique :

**Spores** ovales, peu ornées, vaguement réticulées, peu échinulées, 8-9,5 x 5,5-6,5  $\mu\text{m}$  ; réaction amyloïde très peu marquée, après de nombreux essais

**Cystides** cylindro-clavées, très nombreuses 45-55 x 7-8  $\mu\text{m}$  (dans leur plus grande largeur), à contenu noircissant nettement à la sulfovanilline

**Basides** peu nombreuses, de même longueur, mais plus renflées à l'extrémité (10-11  $\mu$ ), avec stérigmates très courts (2  $\mu$ )

**Pileipellis** : 5 essais n'ont pas permis de trouver des dermatocystides réagissant au sulfobenzaldéhyde. Vu un tapis d'hyphes minces, de 2 à 3  $\mu$  maximum



*Cystides noircissant à la sulfovanilline ou colorées au rouge Congo (photos F. Draye)*

#### Commentaires :

Cette récolte nous paraît particulièrement intéressante car elle a été réalisée dans la même région que celle évoquée par H. Romagnesi (Les Russules d'Europe et d'Afrique du Nord, Bordas, 1967, p.231) : récolte réalisée par M. De Marbaix, à Marche-les-Dames, le 08 octobre 1953.

D'après Romagnesi, selon les documents existants (dessins de Möller) représentant les spores de la *pseudodelica* de Lange, il paraît évident que la *pseudodelica* de J. Schaeffer est différente, au niveau de l'ornementation sporale.

Romagnesi ne connaît pas l'espèce originale de Lange (décrite des hêtraies danoises), mais une autre espèce à sporée jaune, dont la spore est très proche de celle de Lange.

Après examen de la récolte belge, Romagnesi en conclut qu'il semble exister une troisième espèce correspondant en tous points au type, et qu'il serait judicieux de renommer les deux premières.

Blum a également signalé l'existence de trois formes différentes, et en 1963, il attribue le nom de *var. pallidospora* à l'espèce de Schaeffer ; pour l'espèce xanthosporée, il crée la *var. flavispora*, mais sans aucune description et sans diagnose latine.

Romagnesi en arrive finalement à la conclusion que ces variétés mériteraient d'être élevées au rang d'espèces... Mais il ne le fait pas !

M. Sarnari (Genere Russula in Europa, tomo primo, AMB 1998, p. 204 & 209) a éliminé *pseudodelica*. La traduction littérale du dernier paragraphe de la p. 208 est : « Quant à *R. pseudodelica* Lange (1926), il s'agit d'une espèce vraiment mystérieuse. La fiche de « Russules d'Europe » est un hybride entre la diagnose originelle et l'analyse microscopique du matériel récolté par De Marbaix ; il semble qu'on ne peut exclure une synonymie avec *R. flavispora* Blum ex Romagnesi. »

Sarnari rejette donc tout simplement ce nom d'espèce, qu'il faut selon lui classer sous *R. pallidospora* Blum ex Romagnesi ou *R. flavispora*. Cette dernière semble avoir sa préférence, en raison de la couleur de la sporée.

En ce qui concerne *pseudodelica* Lange (1926), il parle d'une espèce fantomatique, mal définie, sans caractères microscopiques pratiques et discriminants. Et après nombre de considérations, il termine par cette conclusion : « L'énigme *pseudodelica* semble très loin de pouvoir être résolue ! ».



*R. delica* (photo Dominique Schott)



*R. pseudodelica* (photo M. Lecomte)



photo Marcel LECOMTE - 10/09/2008 - 20:30:24



photo Marcel LECOMTE - 10/09/2008 - 20:39:05



photo Marcel LECOMTE - 10/09/2008 - 20:37:19

*R. pseudodelica* (photos M. Lecomte)

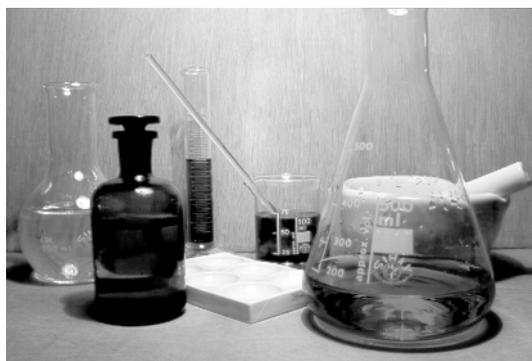
## Quelques réactifs en mycologie.

### Partie 1 : Introduction, notions de chimie et généralités.

Didier Baar <sup>(1)</sup>

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 mycètes<sup>2</sup>) 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 - voir le fascicule 1/2000 de *Myco'* - 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...

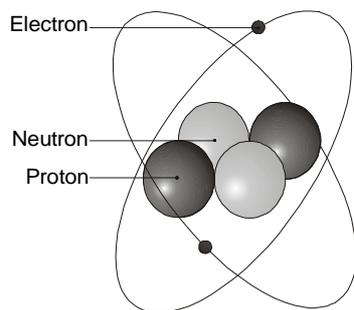
#### 1.1. La matière : atomes, isotopes, molécules et ions.

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 chimi-

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

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

ques) tels que le fer, le néon ou le sodium. On les croyait indivisibles<sup>3</sup>, jusqu'à ce qu'on découvre qu'ils sont tous constitués des mêmes particules fondamentales : les protons ( $p^+$ ), les neutrons ( $n^0$ ) et les élec-trons ( $e^-$ ). 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 (<sup>4</sup>). Ainsi, par exemple, l'atome de soufre, dont le numéro atomique (<sup>5</sup>) 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'expliciter), 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 <sup>35</sup>Cl (ou chlore trente-cinq, de numéro atomique 17) comprend  $35-17 = 18$  neutrons tandis que le chlore trente-sept (<sup>37</sup>Cl) 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 (<sup>2</sup>H) le nom de deutérium (D), et à l'hydrogène trois (<sup>3</sup>H) 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	<sup>1</sup> H	1	1	1	0	1
Deutérium	D	<sup>2</sup> H	1	2	1	1	1
Tritium*	T	<sup>3</sup> H	1	3	1	2	1
Molybdène* 93	Mo	<sup>93</sup> Mo	42	93	42	51	42
Molybdène 96	Mo	<sup>96</sup> Mo	42	96	42	54	42
Molybdène 98	Mo	<sup>98</sup> Mo	42	98	42	56	42
Osmium* 186	Os	<sup>186</sup> Os	76	186	76	110	76

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

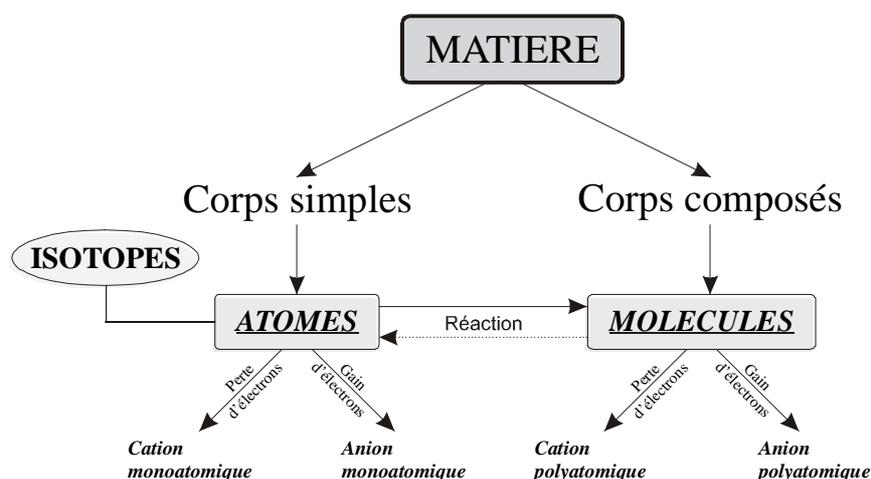
<sup>4</sup> Un atome, tant qu'il n'est pas devenu un ion, est électriquement neutre. Etant donné que la charge de l'électron est négative mais équivaut, en valeur absolue, à celle du proton (qui est positive), et sachant que la charge du neutron (qui est neutre) est nulle, le nombre d'électrons que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

<sup>5</sup> C'est le numéro du célèbre tableau périodique des éléments de Mendeleev.

Osmium 187	Os	$^{187}\text{Os}$	76	187	76	111	76
Osmium 188	Os	$^{188}\text{Os}$	76	188	76	112	76
Osmium 190	Os	$^{190}\text{Os}$	76	190	76	114	76
Uranium* 238	U	$^{238}\text{U}$	92	238	92	146	92

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 ( $\text{CO}_2$ ) comporte deux atomes d'oxygène (O) liés à un atome de carbone (C). L'eau est aussi composée de molécules. Sa formule est  $\text{H}_2\text{O}$ , 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 ;  $\text{Tl}^{3+}$  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 <sup>(6)</sup> les molécules qui contiennent du carbone. La chimie organique est à la base de la biochimie.

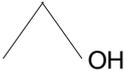
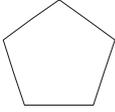
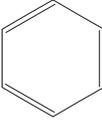
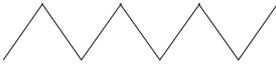
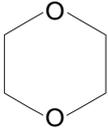
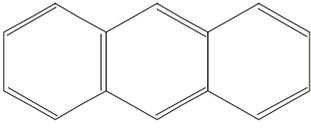
En fait, le carbone possède des propriétés <sup>(7)</sup> qui lui permettent une variété infinie de combinaisons. On compte en millions le nombre de molécules organiques différentes connues à ce jour. L'immense majorité des molécules (comme les protéines, les lipides, les glucides, les acides nucléiques 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

<sup>6</sup> 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  $\text{CO}_2$  (dioxyde de carbone), des carbonates (ion  $\text{CO}_3^{2-}$ ) et hydrogénocarbonates (ion  $\text{HCO}_3^-$ ), du graphite et du diamant, etc.

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

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.

Composés aliphatiques		Composés aromatiques
<i>LINEAIRES</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.

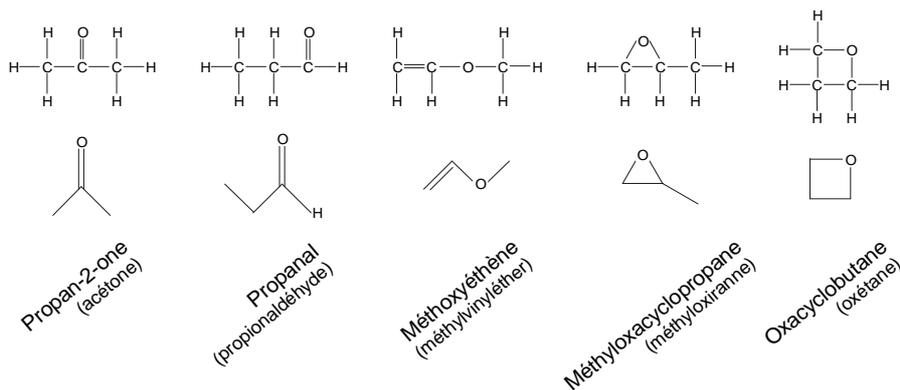
### 1.3. La nomenclature et l'écriture des formules chimiques ; notion de fonction.

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 nomenclature<sup>8</sup> 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.

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

### Isomères de formule brute $C_3H_6O$



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 (- $NH_2$ ). 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

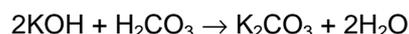
Les fonctions, en chimie minérale, sont nettement moins variées, puisqu'on se limite généralement à quatre : acide, base, oxyde et sel. Nous détaillerons par la suite les acides et les bases, qui sont les plus importants. Tous deux dérivent des oxydes, et le produit de la réaction entre une base et un 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 (<sup>9</sup>) -, 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 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 (<sup>10</sup>)...

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 (<sup>11</sup>). 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 (H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) pour donner une mole de carbonate de potassium (K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) et deux moles d'eau (H<sub>2</sub>O).

Dans notre réaction, la flèche simple devrait être remplacée par une double flèche {↔} (<sup>12</sup>). 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 hydrogène<sup>13</sup> (H<sup>+</sup>) : HCl (l'acide

<sup>9</sup> 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).

<sup>10</sup> Une réaction peut, par exemple, transformer l'ion ferreux (Fe<sup>2+</sup>) en ion ferrique (Fe<sup>3+</sup>) :  $\text{Fe}^{2+} \rightleftharpoons \text{Fe}^{3+} + \text{e}^-$  ; 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 :  $\text{Fe}^{2+} + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{Fe}$  et  $\text{Fe}^{3+} + 3\text{e}^- \rightleftharpoons \text{Fe}$ .

<sup>11</sup> 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 (CaCO<sub>3</sub>) libère du gaz carbonique (CO<sub>2</sub>), ce qui se traduit par :  $\text{CaCO}_3 + 2\text{HCl} \rightleftharpoons \text{CaCl}_2 + \text{CO}_2 \uparrow + \text{H}_2\text{O}$ .

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

<sup>13</sup> En vérité, l'ion H<sup>+</sup> n'existe pas tel quel dans l'eau : il s'associe à une molécule d'eau pour former une sorte d'ion complexe H<sub>3</sub>O<sup>+</sup> que l'on appelle ion hydronium :  $\text{H}^+ + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{H}_3\text{O}^+$ . Toutefois, en pratique, que l'on parle d'ion hydronium ou que l'on se limite à l'ion hydrogène,

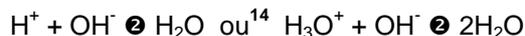
chlorhydrique),  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (l'acide sulfurique),  $\text{H}_3\text{PO}_4$  (l'acide phosphorique) et  $\text{H}_2\text{CO}_3$  (l'acide carbonique) sont tous les quatre des exemples d'acides :



A l'opposé, une substance est une base si, en solution aqueuse, elle libère des ions hydroxyde ( $\text{OH}^-$ ). La potasse ( $\text{KOH}$ ) et la soude ( $\text{NaOH}$ ) 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,  $\text{H}^+$  et  $\text{OH}^-$ , qui sont les deux ions « constitutifs » de l'eau, peuvent réagir entre eux :



Prenons comme exemple la réaction entre l'acide chlorhydrique ( $\text{HCl}$ ) et la potasse ( $\text{KOH}$ ), qui conduit à la libération d'eau ( $\text{H}_2\text{O}$ ) et à la formation d'un sel ( $\text{KCl}$ ) qui, en l'occurrence, est le chlorure de potassium :



Nous avons souligné dans ce qui précède que les ions  $\text{H}_3\text{O}^+$  sont responsables du caractère acide, et les ions  $\text{OH}^-$  du caractère basique. Une solution qui contient beaucoup d'ions  $\text{H}_3\text{O}^+$  et peu d'ions  $\text{OH}^-$  est donc acide, tandis qu'à l'inverse, une solution qui contient beaucoup d'ions  $\text{OH}^-$  et peu d'ions  $\text{H}_3\text{O}^+$  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  $\text{H}_3\text{O}^+$ , 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  $\text{H}_3\text{O}^+$  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  $\text{H}_3\text{O}^+$  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  $K_a$  (ou constante d'acidité). Plus la  $K_a$  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  $\text{H}_3\text{O}^+$ . Par une relation similaire à celle du calcul du pH d'après

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 :  $\text{HCl} \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{Cl}^-$ , mais doit s'écrire  $\text{HCl} + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{H}_3\text{O}^+ + \text{Cl}^-$ . Cette dernière équation est en fait la somme membre à membre des deux équations  $\text{HCl} \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{Cl}^-$  et  $\text{H}^+ + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{H}_3\text{O}^+$ , en simplifiant  $\text{H}^+$ , 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).

<sup>14</sup> Voir note au bas de la page précédente.

<sup>15</sup>  $\text{mol}^2\text{l}^{-2}$  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).

la concentration en ions hydro-nium, 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 :

$$pKa = - \log Ka$$

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  $H_3O^+$  libérables.

Acide ou base :	Formule :	pKa 1	pKa 2	pKa 3
ACIDES FORTS				
Acide chlorhydrique	HCl	-7		
Acide sulfurique	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	-3	2	
ACIDES FAIBLES				
Acide phosphorique	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	2,1	7,2	11,9
Acide carbonique	H <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	6,4	10,4	
Acide formique	H-COOH	3,8		
Acide lactique	CH <sub>3</sub> -CHOH-COOH	3,86		
Acide acétique	CH <sub>3</sub> -COOH	4,75		
BASES FAIBLES				
Ammoniac	NH <sub>3</sub>	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<sup>16</sup> 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.

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. On a en général avantage à observer les asques dans le réactif de Melzer, tandis que les paraphyses y sont fort peu visibles, etc. 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, chlorallactophénol, 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<sup>17</sup>, 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 bic, par exemple. Dans tous les cas, l'objet destiné à l'observation doit être de très petites dimensions.

## 2.3. Réactifs mixtes.

<sup>16</sup> 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).

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

Dans cette catégorie de réactifs ne sont classés, en fait, que l'acide sulfurique et la vanilline (les deux composants de la sulfovanilline), l'ammoniaque 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.

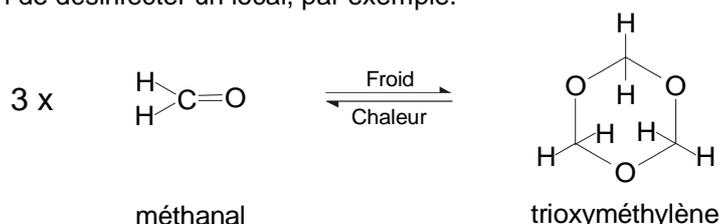
## Partie 2 : Réactifs pour la macrochimie et réactifs mixtes.

La description de chaque réactif est structurée selon quatre rubriques. D'abord, les caractéristiques les plus remarquables du produit (c'est essentiellement ici que des notions de chimie sont les bienvenues) sont exposées dans l'introduction. Celle-ci est suivie d'un point important, consacré aux utilisations mycologiques qui sont faites du réactif. La troisième rubrique met en exergue les dangers que présentent le réactif ou ses composants, tandis que dans la quatrième, des conseils relatifs à la conservation sont prodigués.

### 3. Réactifs pour la macrochimie.

#### 3.1. Formol pur.

Ce que l'on appelle communément « formol » est en réalité une solution concentrée d'un gaz : le méthanal, ou aldéhyde formique, ou encore formaldéhyde. Le méthanal (H-CHO) est le plus simple aldéhyde (fonction -CHO) possible, car il ne possède qu'un seul atome de carbone. Il a une odeur peu marquée, mais fortement irritante et a tendance, en solution aqueuse, à polymériser<sup>18</sup>, ce qui se traduit par l'apparition de fines lamelles blanches au fond des vieilles solutions. Ces cristaux sont en grande partie constitués de trioxyméthylène - (CH<sub>2</sub>O)<sub>3</sub> -, qui résulte de l'assemblage de trois molécules de méthanal en un cycle dont les angles, au nombre de six, sont alternativement occupés par un atome d'oxygène et un atome de carbone. Il est à noter que le trioxyméthylène se décompose en méthanal à la chaleur ; c'était anciennement le moyen employé dans les hôpitaux pour obtenir du méthanal gazeux afin de désinfecter un local, par exemple.



La solution commerciale contient généralement 35-40% de méthanal et est habituellement stabilisée par 10-15% de méthanol (CH<sub>3</sub>OH). Le méthanal, au fil du temps, a tendance à s'oxyder en acide formique, ou méthanoïque :



L'acide formique (H-COOH) formé se dissocie suivant l'équilibre :



<sup>18</sup> La polymérisation est une classe de réactions chimiques qui, d'une manière générale, conduisent à la formation de molécules immenses (les polymères) à partir d'un grand nombre (souvent des milliers) de petites molécules (les monomères), le plus souvent toutes semblables, ou alors de deux types différents. Il existe toutefois de petits polymères, que l'on appelle des oligomères s'ils résultent de l'association de moins d'une dizaine de monomères. Le trioxyméthylène, qui provient de trois molécules de méthanal seulement, est un oligomère.

On voit que des ions hydronium ( $\text{H}_3\text{O}^+$ ), responsables du caractère acide, sont libérés. Le pKa (constante d'acidité) du couple  $\text{H-COOH}/\text{H-COO}^-$  est de 3,8 ; l'acide formique est un acide faible, mais suffisant cependant pour donner à la solution de méthanal un caractère sensiblement acide.

- UTILISATION :

Le formol est utilisé dans plusieurs groupes de champignons, et notamment dans la détermination des espèces au sein du genre *Leccinum*. Il provoque, par exemple, l'apparition d'une coloration rougeâtre sur la chair de *Leccinum scabrum* (d'après BATAILLE, 1969). D'autre part, le formol entre dans la composition de différents réactifs, et, entre autres, du sulfoformol (voir paragraphe 3.6), qui est un réactif sulfoaldéhydique qu'on peut utiliser non seulement en macrochimie, mais aussi en microscopie, quoi que cette dernière application du sulfoformol soit tombée en désuétude depuis un certain nombre d'années.

- DANGERS :

Le méthanal est un gaz fortement irritant, non seulement pour les voies respiratoires, mais également pour les yeux. D'autre part, il est toxique et même corrosif. Il convient donc d'éviter tout contact avec la peau ou les yeux et, surtout, d'éviter de respirer les vapeurs.

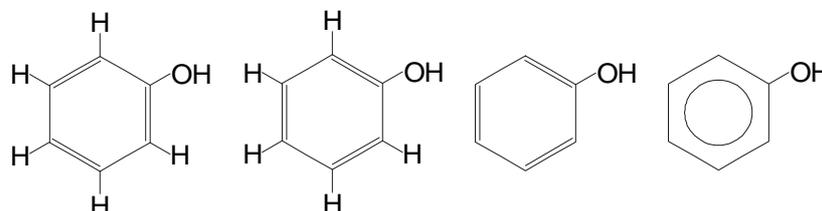
- CONSERVATION :

Le méthanal, cela a déjà été dit, polymérise à la longue en trioxyméthylène. Cette polymérisation est accélérée par le froid et, dès lors, il faut conserver le formol à température ordinaire, et non pas au réfrigérateur, comme il serait préférable de le faire pour de nombreux autres produits<sup>19</sup>. Pour éviter au méthanal, qui est un gaz, de s'échapper de la solution (dont la concentration diminuerait si cela arrivait), il est important de garder le formol dans un flacon hermétiquement fermé. Cette précaution permet, de plus, de limiter l'oxydation du méthanal en acide formique par l'oxygène atmosphérique.

### 3.2. Phénol à 3% dans l'eau bidistillée.

Le phénol ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$ ) est un des premiers termes de la grande famille des composés aromatiques, qui sont des molécules organiques (c'est-à-dire contenant du carbone), cycliques, et dont l'odeur est souvent assez remarquable, d'où leur nom. Sa structure de base est en effet un cycle à six atomes de carbone liés entre eux alternativement par une liaison simple et par une liaison double : le phénol dérive du benzène. Chacun des atomes de carbone supporte, de plus, un atome d'hydrogène. Dans le phénol, l'atome d'hydrogène d'un des six carbones du cycle benzénique a été substitué par un groupement hydroxyle (-OH). Ce groupement caractérise, en chimie aliphatique (chimie des composés organiques linéaires), les alcools. Les phénols sont donc les pendants aromatiques des alcools ; ils ont des propriétés communes, mais diffèrent néanmoins par de nombreux caractères physico-chimiques.

Le phénol se présente sous forme de petits cristaux blancs, ou légèrement roses s'il est quelque peu impur (même très peu) ; son odeur est forte, caractéristique. Il est assez soluble dans l'eau (à peu près 6%), et est hygroscopique, c'est-à-dire qu'il a tendance à absorber la vapeur d'eau de l'atmosphère.



Différentes manières de représenter le phénol.

Anciennement, on désignait le phénol sous le nom d'acide phénique, parce que, mis en présence d'une base forte, il a un comportement semblable à celui des acides (les phénols ont un caractère acide plus marqué que les alcools). Il est en effet, dans ces conditions, capable de former des

<sup>19</sup> Il est préférable, dans pratiquement tous les cas, de conserver les produits chimiques dans des flacons en verre brun, qui les protègent des rayons ultraviolets. Ces derniers ont en effet la propriété de détruire les molécules organiques, et particulièrement celles qui comptent beaucoup de liaisons doubles (comme les colorants, par exemple). Le verre est l'un des matériaux les plus résistants qui soient au point de vue chimique. Les flacons seront, à quelques exceptions près, conservés à l'abri de la lumière, et dans un endroit frais.

sels, que l'on appelle des phénolates (ou phénates). Par exemple, avec la soude (NaOH), qui est une base forte, le phénol donne du phénolate de sodium ( $C_6H_5ONa$ ) :



Le pKa du couple  $C_6H_5OH/C_6H_5O^-$  est de 9,9 : le phénol est un acide très faible.

- UTILISATION :

En solution aqueuse simple, le phénol n'est utilisé qu'en macrochimie. Il provoque en général, sur la chair des champignons, des réactions brunâtres et lentes. L'absence de réaction est, avec le phénol, au moins aussi intéressante que la réaction elle-même, qui est trop banale. Le phénol provoque, par exemple, l'apparition d'une coloration rouge vineux sur le pied d'*Amanita crocea* (d'après Roland HANON, communication orale). Par ailleurs, le phénol entre dans la composition de plusieurs autres réactifs macrochimiques, tels que la phénolaniline. En microscopie, on utilise le phénol en association avec d'autres produits (acide lactique, hydrate de chloral, glycérine, etc.), et parfois avec des colorants, comme ingrédient dans de nombreux milieux de montage de grande qualité (lactophénol, chloral-lactophénol, chloral-phénol, bleu coton au lactophénol, etc.).

- DANGERS :

Le phénol est corrosif et toxique. Pur, c'est un produit dangereux dont il faut se méfier. En solution à 3%, les dangers sont plus réduits, mais il est cependant préférable d'éviter tout contact avec la peau ou les yeux, et d'éviter de respirer les vapeurs.

- CONSERVATION :

La conservation du phénol, en solution ou non, exige certaines précautions. En effet, la présence de trois liaisons doubles dans la molécule de phénol la rend sensible aux radiations ultraviolettes. Il convient donc de conserver le phénol à l'abri de la lumière. D'autre part, l'exposition à l'air doit être évitée pour deux raisons : d'abord le phénol est hygroscopique (mais cela n'est vrai que pour les cristaux), et ensuite l'oxygène de l'air le détruit. Aussi, veiller à ce que le flacon soit bien fermé.

### 3.3. Résine de gaïac à 10% dans l'alcool à 80°

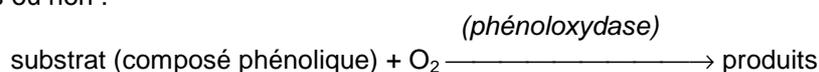
La base de ce réactif est une résine extraite d'arbres d'origine américaine : le *Guajacum officinale* et le *Guajacum sanctum*. Ces deux espèces font partie de la famille des *Zygophyllaceae*. La résine est un mélange complexe contenant principalement (à raison d'environ 70%) les acides  $\alpha$ - et  $\beta$ -guaïaconique, mais aussi de l'acide guaïacinique, de la vanilline, etc. On utilisait autrefois la solution de résine de gaïac dans différents tests biochimiques permettant de déceler la présence de sang dans les fèces.

La résine de gaïac du commerce peut être plus ou moins pure et se présenter sous différentes formes : poudre brune homogène, masses vitreuses rouge-noires ou blocs brunâtres. Elle contient même souvent des restes de bois (fibres, morceaux d'écorce, etc.), qui ne nuisent en rien à la qualité du réactif. Il est d'ailleurs possible d'utiliser le bois de gaïac lui-même, mais l'inconvénient est alors relatif au dosage. La nomenclature pharmaceutique voudrait qu'on appelle soluté le réactif obtenu à partir de la résine pure, et teinture celui qu'on obtient par macération du bois dans l'alcool.

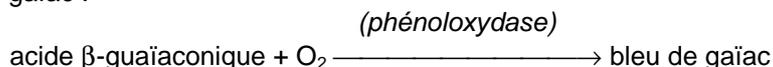
- UTILISATION :

La solution alcoolique de résine de gaïac est l'un des réactifs macrochimiques les plus utilisés. C'est sans doute celui qui donne les réactions les plus spectaculaires. D'une manière générale, la teinte obtenue est bleue ou turquoise, mais ce qui importe ici est la vitesse et l'intensité de la réaction. Il arrive qu'elle n'ait pas lieu du tout, ou qu'elle donne une coloration jaunâtre. La résine de gaïac à 10% dans l'alcool à 80° provoque, par exemple, l'apparition rapide d'une coloration bleue intense sur le stipe de *Russula ochroleuca*.

D'un point de vue biochimique, la résine de gaïac met en évidence les phénoloxydases. Celles-ci sont des enzymes qui ont la propriété d'oxyder les composés phénoliques grâce à l'oxygène de l'air ( $O_2$ ). Si on soumet à l'action d'une phénoloxydase (d'origine fongique) un composé phénolique (dit substrat vis-à-vis de l'enzyme) qui lui est adapté, alors on obtient toujours des produits, qui peuvent être colorés ou non :



Si les produits de la réaction sont colorés, alors la substance phénolique est susceptible d'être utilisée comme réactif macrochimique, puisque son application sur la chair d'un champignon qui possède une phénoloxydase adaptée provoquera l'apparition d'une coloration (qui est donc celle des produits de l'oxydation). Dans la résine de gaïac, le composé phénolique responsable de la réaction est l'acide  $\beta$ -guaïaconique, qui, sous l'action des phénoloxydases fongiques, donne un produit coloré en bleu, le bleu de gaïac :



Il existe de nombreux autres réactifs des phénoloxydases, qui donnent des produits diversement colorés : amidopyrine, gaïacol,  $\alpha$ -naphtol, etc.

- DANGERS :

L'alcool que contient le réactif est inflammable, mais c'est là le seul danger que présente le soluté de résine de gaïac.

- CONSERVATION :

Il est une précaution à prendre pour que la teinture de gaïac garde son efficacité le plus longtemps possible, c'est de la conserver dans un flacon hermétiquement fermé. En effet, si la réaction d'oxydation de l'acide  $\beta$ -guaïaconique se fait très rapidement grâce à la catalyse par les phénoloxydases des champignons, elle se fait aussi, quoique beaucoup plus lentement, sous l'action directe de l'oxygène de l'air, sans aucune catalyse. D'autre part, l'alcool est volatil.

L'efficacité du réactif peut être évaluée en l'essayant sur *Russula ochroleuca* : la réaction bleue doit être immédiate et très intense. Roland HANON (communication orale), conseille de plus un essai sur *Russula fellea* qui, au contraire, doit donner une réaction faible et très lente. Ce dernier test, très précieux, permet de s'assurer que la concentration du réactif en résine de gaïac n'est pas trop élevée. Dans tous les cas, il est préférable de renouveler la solution tous les ans.

### 3.4. Soude à 10% dans l'eau bidistillée.

« Soude » est le terme courant pour désigner l'hydroxyde de sodium (NaOH), qui se présente sous forme de pastilles blanches. La soude, tout comme la potasse d'ailleurs, est fortement hygroscopique. Exposées à l'air, les pastilles de soude, après un certain temps, deviennent liquides tant elles ont capté de vapeur d'eau.

En solution aqueuse, l'hydroxyde de sodium se dissocie selon l'équilibre suivant :



On voit que des ions hydroxyde ( $\text{OH}^-$ ), responsables du caractère basique, sont libérés. Le pKa du couple  $\text{H}_2\text{O}/\text{OH}^-$  est de 15,7 : la soude est une base forte.

- UTILISATION :

La soude (NaOH) à 10% et la potasse (KOH) à 10% (voir paragraphe 4.3) sont des réactifs très proches, et les réactions qu'ils provoquent sont souvent assez similaires. Il est néanmoins des cas où l'une doit être utilisée et pas l'autre. La soude est employée dans plusieurs genres de champignons, mais c'est sans doute lors de la détermination des impénétrables cortinaires qu'on y a le plus souvent recours. La soude provoque, par exemple, l'apparition d'une coloration noire sur le stipe de *Cortinarius semisanguineus* (d'après BATAILLE, 1969). Certains auteurs conseillent d'employer la soude à une concentration de 40% plutôt que de 10%. C'est pourtant la solution à 10% qui donne les résultats les plus nets, car la solution à 40%, lors des réactions, digère autant la chair des champignons qu'elle ne la colore. Enfin, la soude est utilisée à différentes concentrations (généralement 10%, 5% ou 2%) en microscopie, en tant que succédané de la potasse. C'est un assez bon milieu de montage.

- DANGERS :

Les propriétés basiques de la soude la rendent corrosive, malgré la dilution importante. Il convient donc d'éviter tout contact avec la peau, et surtout avec les yeux.

- CONSERVATION :

La seule règle à observer pour que la soude reste efficace le plus longtemps possible est de la conserver dans un flacon bien fermé, qu'on ouvre le moins souvent et le moins longtemps possible. En effet, le CO<sub>2</sub> atmosphérique réagit avec la soude pour donner du carbonate de sodium (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>), qui précipite au pH alcalin de la solution, ce qui se traduit par l'apparition de cristaux brillants.

### 3.5. Sulfate de fer, cristal.

Il existe deux « variétés » de sulfate de fer : le sulfate ferreux, ou sulfate de fer (II), dont la formule est FeSO<sub>4</sub>, et le sulfate de fer (III), ou sulfate ferrique, qui répond à la formule Fe<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>. C'est l'état d'oxydation<sup>20</sup> de l'atome de fer qui est responsable des différentes variétés. Dans le FeSO<sub>4</sub>, le fer est à l'état +2 (Fe<sup>2+</sup> ; ion ferreux), c'est-à-dire qu'il a perdu deux électrons, tandis que dans le Fe<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>, il en a perdu trois ; le fer est alors à l'état +3 (Fe<sup>3+</sup> ; ion ferrique).

C'est le sulfate ferreux que l'on utilise en mycologie. Celui-ci peut être soit anhydre (libre de toute molécule d'eau), soit hydraté. C'est la forme hydratée, que l'on appelle aussi cristallisée, qui est la plus employée. En effet chaque molécule de sulfate de fer (II), en cristallisant, capture sept molécules d'eau : on parle de sulfate ferreux heptahydraté (FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O). Ce corps est susceptible, avec le temps, de perdre ses molécules d'eau, et donc de se déshydrater : c'est l'efflorescence des cristaux.

Le sulfate ferreux se présente sous forme de petits cristaux verts à l'état hydraté, et d'une poudre blanchâtre à l'état anhydre. Le sulfate ferrique, quant à lui, a une couleur rouille. Le sulfate ferreux s'ionise en solution aqueuse selon l'équilibre suivant :



Et le Fe<sup>2+</sup> (ion ferreux) s'oxyde très facilement en ion ferrique :



C'est pour cela que les solutions de sulfate ferreux vivent en quelques temps du vert à rouille. C'est pour cela également que l'on préfère utiliser le cristal de sulfate ferreux, qui s'oxyde beaucoup moins rapidement que la solution.

- UTILISATION :

Pour l'utilisation, il suffit de frotter le cristal sur la partie du champignon à tester. Certains auteurs conseillent l'utilisation de la solution à 10% de sulfate de fer. Les réactions que provoque cette solution sont généralement beaucoup plus rapides et plus vives que celles que provoque le cristal, mais la solution ne se conserve que peu de temps ; c'est pourquoi, d'une manière générale, le cristal lui est préféré. Le sulfate de fer est surtout employé lors de la détermination des russules, chez lesquelles il provoque des réactions variées ; par exemple chez *Russula nigricans*, dont la chair vire au vert sombre suite à l'application du sulfate de fer (réaction assez lente).

- DANGERS :

Le cristal de sulfate de fer est vraiment un réactif peu dangereux. Eviter toutefois un contact prolongé avec la peau, en raison de l'acide sulfurique qu'il contient (en très faible quantité), suite à sa préparation.

- CONSERVATION :

L'ion fer II a tendance à s'oxyder, avec le temps, en fer III. C'est pourquoi il faut conserver le cristal de sulfate de fer dans un flacon bien fermé, à l'abri de l'oxygène, de l'humidité et de la lumière. Une autre raison de tenir le flacon hermétiquement fermé est l'efflorescence du cristal : il perd son eau en vieillissant. Il faut donc absolument le garder à l'écart de tout agent desséchant. On peut, pour limiter encore l'oxydation et l'efflorescence du cristal, enduire celui-ci d'une couche d'huile (d'après CHARBONNEL, 1995). De même, les vapeurs ammoniacales lui sont fortement nuisibles. Enfin, le cristal est assez fragile, aussi faut-il éviter les chocs.

### 3.6. Sulfoformol.

Le sulfoformol est un liquide incolore à l'odeur irritante. Il fait partie de la famille des réactifs sulfoaldéhydiques, qui résultent de la dissolution d'un aldéhyde (fonction -CHO) dans l'acide sulfurique. Le formol (H-CHO) est le plus simple des aldéhydes parce qu'il ne possède qu'un seul atome de carbone. Le benzaldéhyde, l'anisaldéhyde, le pipéronal et la vanilline sont également des aldéhydes,

<sup>20</sup> L'état (ou étage, ou nombre) d'oxydation d'un atome correspond, *grosso modo*, au nombre d'électrons qu'il a perdus ou gagnés lors de sa transformation (réversible !) en ion. L'atome neutre a toujours un état d'oxydation égal à zéro.

plus complexes. Dissouts dans l'acide sulfurique, ils donnent respectivement le sulfobenzaldéhyde, le sulfoanisaldéhyde, le sulfopipéronal et la sulfovanilline.

L'acide sulfurique ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ; voir paragraphe 4.2) est un acide fort : le pKa du couple  $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{HSO}_4^-$  est de -3. Le formol (voir paragraphe 3.1), quant à lui, est en réalité une solution aqueuse concentrée de méthanal, qui est un gaz à température ordinaire. A la longue, le méthanal a tendance à polymériser en trioxyméthylène -  $(\text{CH}_2\text{O})_3$  -, ce qui se traduit par l'apparition de fines lamelles blanches au fond des solutions anciennes.

- UTILISATION :

On utilise le sulfoformol pour l'étude de différents genres, et notamment *Lactarius*, *Russula* et *Tricholoma*. Le sulfoformol provoque, par exemple, l'apparition d'une coloration bleue sur la chair de *Lactarius pergamenus* (d'après MARCHAND, 1980). C'est le plus utilisé des sulfoaldéhydes pour la macrochimie. Il a aussi eu quelques applications microscopiques, mais la tendance actuelle, à ce niveau, est en faveur de la sulfovanilline (voir paragraphe 4.1).

- DANGERS :

Le sulfoformol est un réactif dangereux. Il contient de l'acide sulfurique qui, même dilué, reste extrêmement corrosif, et du formol, dont les vapeurs sont irritantes et toxiques. Eviter donc tout contact avec la peau ou les yeux, et éviter de respirer les vapeurs. Prendre des précautions particulières lors de la préparation de ce réactif, car l'élévation de température due à la dilution de l'acide sulfurique favorise l'évaporation du méthanal. D'autre part, il faut garder présent à l'esprit que la moindre goutte d'acide sulfurique, même sensiblement dilué, qui tombe sur un vêtement, provoque à coup sûr l'apparition d'un trou.

- CONSERVATION :

L'acide sulfurique, même dilué par le formol, reste hygroscopique, c'est-à-dire qu'il a tendance à absorber la vapeur d'eau contenue dans l'atmosphère. Il convient donc de conserver le flacon bien fermé, et à température ambiante (non pas au réfrigérateur), car la polymérisation du formol est favorisée par le froid. Il est préférable de tenir le sulfoformol à l'écart de toutes vapeurs ammoniacales, avec lesquelles l'acide sulfurique réagit pour donner de l'hydrogénosulfate d'ammonium ( $\text{NH}_4\text{HSO}_4$ ), puis du sulfate d'ammonium -  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  -, ce qui pollue le réactif. Dans tous les cas, il est conseillé de renouveler chaque année ce réactif.

## 4. Réactifs mixtes.

### 4.1. Acide sulfurique dilué 2x.

L'acide sulfurique ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) est un liquide dense et épais à température ambiante. C'est un acide biprotique, c'est-à-dire qu'en solution aqueuse, il conduit à la formation de deux ions hydronium ( $\text{H}_3\text{O}^+$ ), responsables du caractère acide :



L'acide sulfurique du commerce contient généralement 95-98% de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Dilué deux fois, il en contient donc un peu moins de 50%. L'acide sulfurique est un acide fort : le pKa du couple  $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{HSO}_4^-$  est de -3, tandis que l'ion hydrogénosulfate ( $\text{HSO}_4^-$ ) est un acide plus faible : le pKa du couple  $\text{HSO}_4^-/\text{SO}_4^{2-}$  est de 2.

- UTILISATION :

L'acide sulfurique est essentiellement utilisé sous forme de sulfovanilline, qui est un réactif aussi bien macrochimique que microscopique. La sulfovanilline, au même titre que le sulfopipéronal, le sulfoformol (voir paragraphe 3.6), le sulfobenzaldéhyde ou le sulfoanisaldéhyde, fait partie des réactifs sulfoaldéhydiques, qui résultent de la dissolution d'un aldéhyde (vanilline, pipéronal, formol, benzaldéhyde ou anisaldéhyde) dans l'acide sulfurique. La sulfovanilline est le plus utilisé des réactifs sulfoaldéhydiques. On la prépare de la manière suivante : dissoudre extemporanément quelques cristaux de vanilline dans une grosse goutte d'acide sulfurique dilué deux fois en mélangeant avec une aiguille en verre. La solution obtenue est jaune clair et s'altère rapidement. Certains auteurs préfèrent préparer la sulfovanilline à partir d'acide sulfurique concentré, plutôt que dilué deux fois.

Au point de vue macrochimique, la sulfovanilline est surtout destinée à l'étude des russules, sur la chair desquelles elle provoque couramment de belles réactions rose-rouge (chez *Russula integra*, par exemple, d'après BATAILLE, 1969). L'acide sulfurique est également utilisé pur en macrochimie : concentré (95-98%), il provoque par exemple une réaction lilas-violet pâle sur les lames d'*Amanita phalloides* (d'après CHARBONNEL, 1995) ; il est aussi employé dans d'autres genres. De plus, il entre dans la composition de différents réactifs macrochimiques, tels que la phénolaniline.



Cette photographie, prise au microscope, montre une gléocystide de *Russula aeruginea* qui a été montée dans la sulfovanilline. Le contenu (d'aspect granuleux) de cette cystide a bien été mis en évidence par le réactif, alors que la paroi de la cellule demeure incolore, et donc quasiment invisible.

Pour la microscopie, on n'utilise l'acide sulfurique que sous forme de réactifs sulfoaldéhydiques. La sulfovanilline colore en gris ardoise le contenu des laticifères et des cystides (on parle alors de gléocystides) de nombreux lactaires et russules, ce qui permet de les déceler et de les étudier. Ce réactif est très précieux, notamment, pour la recherche des dermatocystides, qui passent facilement inaperçues dans les autres liquides d'observation. On observe également des gléocystides chez certains cortices, tels que *Peniophora* (d'après Jean-Marie PIRLOT, communication orale). On n'utilise pas l'acide sulfurique seul comme milieu de montage parce qu'il détruit les hyphes et donne de très mauvaises préparations.

- DANGERS :

L'acide sulfurique, même dilué, est un réactif extrêmement dangereux car, étant très corrosif, très oxydant et fortement déshydratant, il détruit la plupart des matières organiques. De nombreux plastiques sont attaqués par lui. Il faut donc absolument éviter tout contact avec la peau et, *a fortiori*, avec les yeux ou la bouche. Garder présent à l'esprit que la moindre goutte d'acide sulfurique, même sensiblement dilué, qui tombe sur un vêtement, provoque à coup sûr l'apparition d'un trou. En ce qui concerne la dilution, il faut savoir que le mélange de l'acide sulfurique avec l'eau s'accompagne d'un important dégagement de chaleur. Aussi, il existe une règle d'or qu'il faut observer lors de la dilution de l'acide sulfurique : verser l'acide dans l'eau (et par petites quantités, en agitant) et non pas l'inverse ; on risquerait de voir l'eau bouillir et l'acide jaillir de tous côtés. Enfin, il faut éviter de mélanger l'acide sulfurique avec des bases (ammoniaque, soude, potasse), car la réaction pourrait être assez violente.

- CONSERVATION :

L'acide sulfurique doit être conservé dans un flacon en verre, muni d'un bouchon en plastique résistant. Dilué, il reste hygroscopique. Il convient donc de garder le flacon bien fermé. D'autre part, il est préférable de tenir l'acide sulfurique éloigné des vapeurs ammoniacales, avec lesquelles il réagit pour donner de l'hydrogénéosulfate d'ammonium -  $\text{NH}_4\text{HSO}_4^-$ , puis du sulfate d'ammonium -  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4^-$ , ce qui le pollue.

#### 4.2. Ammoniaque concentrée.

L'ammoniaque est une solution aqueuse concentrée d'ammoniac ( $\text{NH}_3$ ), qui est un gaz à l'odeur extrêmement irritante. Les solutions commerciales contiennent généralement entre 20 et 30% de ce gaz. L'ammoniac en solution réagit avec l'eau selon l'équilibre suivant :



Et l'hydroxyde d'ammonium ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ) formé se dissocie comme suit :



On voit qu'il y a libération d'ions hydroxyde ( $\text{OH}^-$ ), qui confèrent à la solution d'ammoniac son caractère basique (au sens d'Arrhénius). Le pKa du couple  $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$  est de 9,2 seulement : l'ammoniaque est une base faible.

- UTILISATION :

On peut, pour son utilisation en macrochimie, déposer une petite goutte d'ammoniaque sur la partie du champignon à tester, ou bien exposer celle-ci aux vapeurs qui se dégagent du flacon, quoique cette dernière méthode soit moins efficace et moins couramment employée. L'ammoniaque donne, par exemple, une belle réaction rose violacé sur les tubes de *Daedaleopsis confragosa*. On l'utilise également pour l'étude des *Xerocomus*, ainsi que pour de nombreux autres genres.

Du côté de la microscopie, l'ammoniaque concentrée a le pouvoir de ramollir les hyphes de champignons frais et de regonfler les exsiccata. C'est, de plus, le solvant de colorants tels que le rouge Congo ou, anciennement, le vert d'anhracène. L'ammoniaque est très volatile, aussi faut-il en ajouter souvent lors de l'observation d'une préparation microscopique. C'est en général un très bon milieu de montage, mais il faut savoir qu'il dissout certains éléments comme les incrustations acido-résistantes de la cuticule des russules, et qu'il altère quelquefois la couleur des pigments. On l'utilise d'autre part pour l'étude des chrysocystides (cystides dont le contenu vire au jaune sous l'action des bases ; voir paragraphe 5.10 dans le prochain numéro de *Myco*) dans des genres comme *Hypholoma* ou *Stropharia*, notamment. De même, les cystides de certains *Inocybe* jaunissent dans l'ammoniaque à des degrés divers, ce qui est intéressant pour leur identification (d'après Jean-Marie PIRLOT, communication orale). Enfin, certains auteurs préfèrent diluer deux fois l'ammoniaque, car son action sur les hyphes est alors moins drastique, et elle peut dès lors être appliquée au montage d'objets plus délicats.

- DANGERS :

L'ammoniaque n'est pas à proprement parler un produit dangereux. Toutefois, étant très volatile, elle libère le gaz ammoniac, qui est fortement irritant. Ses propriétés basiques la rendent corrosive ; donc éviter le contact avec la peau et surtout avec les yeux, et éviter de respirer les vapeurs. D'autre part, il est bon de savoir que l'ammoniaque, au contact de l'iode, provoque des réactions à caractère explosif.

- CONSERVATION :

Il convient, pour que l'ammoniaque reste efficace le plus longtemps possible, de la conserver dans un petit flacon bien fermé, qu'on ouvre le moins souvent et le moins longtemps possible. Cela pour deux raisons : d'une part l'ammoniac se dégage de la solution, et d'autre part le CO<sub>2</sub> atmosphérique réagit avec l'hydroxyde d'ammonium (NH<sub>4</sub>OH) pour donner du carbonate d'ammonium (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, qui précipite au pH alcalin de la solution, ce qui se traduit par l'apparition de cristaux brillants. Ces deux phénomènes ont pour résultat d'abaisser le titre (concentration) de la solution.

#### 4.3. Potasse à 10% dans l'eau bidistillée.

La potasse (KOH), en vérité hydroxyde de potassium, se présente sous forme de pastilles blanches, tout comme la soude. Les propriétés de ces deux corps sont d'ailleurs pratiquement identiques ; c'est pourquoi elles ne seront par reprises ici (se reporter au paragraphe 3.4). Quelques points toutefois différencient ces deux hydroxydes, notamment - c'est évident - l'équilibre de dissociation dans l'eau, qui est le suivant pour la potasse :



Même le pKa de la potasse est identique à celui de la soude. C'est logique puisque, en réalité, c'est le pKa d'un des deux couples de l'eau (couple H<sub>2</sub>O/OH<sup>-</sup>) ; il vaut 15,7 : toutes deux sont des bases fortes.

- UTILISATION :

Les utilisations macrochimiques de la potasse sont elles aussi semblables à celles de la soude (voir paragraphe 3.4). La potasse fait par exemple virer au rouge violacé la chair de *Cortinarius violaceus* (d'après BATAILLE, 1969). Certains auteurs préfèrent la solution de potasse à 40% - avec l'inconvénient que l'on sait.

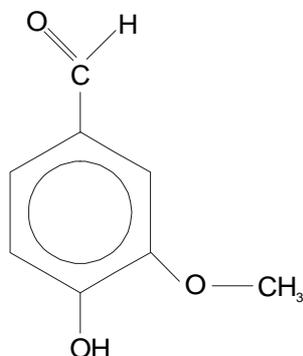
Du point de vue de la microscopie, la concentration en potasse la plus utilisée est, en fait, non pas de 10% mais de 5%. La solution à 5% (voir paragraphe 5.7 du numéro suivant de *Myco*) convient bien pour la plupart des observations. A 10%, on utilise la potasse pour l'étude des champignons très durs, tels que les polypores et les croûtes, qui peuvent résister très longtemps à la dissociation dans la potasse à 5%. Plus concentrée, la solution à 10% exerce une action beaucoup plus rapide. Mais elle présente, d'un autre côté, le désavantage d'être très agressive et de dissoudre certains éléments, tels que l'ornementation des spores de certains ascomycètes. Il ne faut donc l'utiliser que pour les polypores et les croûtes, quoiqu'elle puisse être intéressante lors de l'observation des champignons gélatineux (*Auricularia*, *Tremella*), parce que la potasse concentrée liquéfie les mucilages, ce qui est d'un grand secours lors de la dissociation.

Globalement, la potasse offre les avantages de regonfler les exsiccata et de ramollir les tissus, mais elle altère souvent les cellules. C'est finalement un assez bon milieu d'observation, mais dont il faut se servir avec une certaine circonspection. On utilise aussi, quelquefois, une solution à 2% (voir paragraphe 5.8 du prochain numéro) qui est encore plus douce que la solution à 5%.

- DANGERS ET CONSERVATION :

La potasse présente les mêmes dangers que la soude (voir paragraphe 3.4). Les recommandations relatives à la conservation de la potasse sont les mêmes que pour la soude. Le sel qui précipite suite à la réaction entre l'hydroxyde de potassium et le gaz carbonique est le carbonate de potassium ( $K_2CO_3$ ).

#### 4.4. Vanilline.



**Vanilline** La vanilline est une poudre blanche à la forte odeur de vanille. Les chimistes organiciens la désignent sous le nom de 4-hydroxy-3-méthoxybenzaldéhyde (formule brute :  $C_8H_8O_3$ ). Elle fait partie de ce que l'on appelle les composés aromatiques parce que sa structure de base est une chaîne hydrocarbonée cyclique à six carbones : la vanilline dérive du benzène. C'est en réalité du benzaldéhyde (benzène pourvu d'une fonction aldéhyde : -CHO) dont l'hydrogène du carbone numéro 4 a été substitué par un groupement hydroxyle (-OH) tandis que celui du carbone numéro 3 a été substitué par une fonction éther (-O-) portant un groupement méthyle (-CH<sub>3</sub>).

- UTILISATION :

La vanilline est essentiellement utilisée sous forme de sulfovanilline (qui a été traitée avec l'acide sulfurique - voir paragraphe 4.1). Si au lieu d'acide sulfurique, on dissout la vanilline dans l'acide chlorhydrique, on obtient de la chlorovanilline, qui est un réactif macrochimique peu utilisé.

- DANGERS :

Additif alimentaire des plus banals, la vanilline n'est pas un produit dangereux ; elle est cependant un peu nocive. Il est préférable d'éviter le contact avec les mains, non pas à cause d'un danger quelconque, mais bien parce que son odeur forte et tenace masque tous les autres parfums, et notamment ceux des champignons... La sulfovanilline, quant à elle, contient de l'acide sulfurique, avec tous les dangers que cela comporte (voir paragraphe 4.1).

- CONSERVATION :

La vanilline, dont la structure de base est un cycle benzénique, comprend plusieurs liaisons doubles entre atomes, ce qui la rend sensible aux radiations ultraviolettes. Il est donc impératif de la conserver à l'obscurité, et de préférence dans un flacon bien fermé, pour la protéger de l'action oxydante de l'oxygène de l'air.

## Partie 3 : Réactifs pour la microscopie et bibliographie.

### 5. Réactifs pour la microscopie.

#### 5.1. Acide lactique concentré.

L'acide lactique, de son vrai nom acide 2-hydroxypropanoïque ( $\text{CH}_3\text{-CHOH-COOH}$ ), est un acide carboxylique (fonction  $\text{-COOH}$ ) porteur, sur le carbone numéro 2, d'une fonction alcool ( $\text{-OH}$ ). C'est, en résumé, un acide propanoïque ( $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-COOH}$ ) dont un des hydrogènes du carbone numéro 2 a été substitué par un groupe hydroxyle ( $\text{-OH}$ ). Il existe deux formes d'acide lactique selon celui des deux hydrogènes du carbone 2 qui a été substitué : la forme D et la forme L. Ces deux formes sont, comme nos deux mains, l'image l'une de l'autre dans un miroir sans être superposables : ce sont des énantiomères (du grec *enantios* : opposé)<sup>21</sup>.

L'acide lactique commercial est rarement pur : il s'agit généralement d'une solution très concentrée (environ 90%), du mélange des deux énantiomères dans l'eau (on parle de mélange racémique). En solution aqueuse, il se dissocie comme le montre l'équilibre suivant :



L'ion hydronium ( $\text{H}_3\text{O}^+$ ) libéré est responsable du caractère acide de la solution. Le pKa (constante d'acidité) du couple  $\text{CH}_3\text{-CHOH-COOH}/\text{CH}_3\text{-CHOH-COO}^-$  est de 3,86 : l'acide lactique est un acide faible.

- UTILISATION :

L'acide lactique concentré est un regonflant très énergique des exsiccata. Son indice de réfraction assez élevé ( $n = 1,439$ ) en fait un bon milieu d'observation pour de nombreux objets, et spécialement pour les spores. Si sa viscosité présente l'inconvénient de rendre la dissociation difficile, elle offre l'avantage de permettre la réalisation de préparations semi-permanentes. Seul, il est relativement peu utilisé, mais il entre dans la composition de plusieurs milieux d'observation de très grande valeur, tels que le lactophénol ou, mieux, le chloral-lactophénol. C'est d'autre part le solvant du bleu de méthyle (ou bleu coton ; voir paragraphe 5.3) dans le colorant dit « bleu lactique ». Enfin, l'acide lactique est quelque peu utilisé en macrochimie.

- DANGERS :

L'acide lactique n'est pas dangereux : on l'emploie couramment comme condiment dans des préparations alimentaires, car il est plus doux que l'acide acétique (constituant principal du vinaigre). Toutefois, en concentration élevée, il devient irritant ; aussi faut-il éviter tout contact avec la peau, et surtout avec les yeux.

- CONSERVATION :

La conservation de l'acide lactique ne pose aucun problème particulier. Il vaut mieux cependant, comme pour tous les acides, éviter de laisser le flacon ouvert lors de la manipulation d'ammoniaque (il se formerait du lactate d'ammonium :  $\text{CH}_3\text{-CHOH-COONH}_4$ ).

#### 5.2. Ammoniaque diluée 2x.

Les propriétés de l'ammoniaque ont déjà été décrites au paragraphe 4.2 (voir numéro précédent de *Myc*). Etant donné que l'ammoniaque concentrée contient 20 à 30% de  $\text{NH}_3$  (qui est le gaz ammoniac), la solution diluée deux fois en contient 10 à 15%. Cependant, la distinction entre solution concentrée et solution diluée deux fois est un peu arbitraire parce que la concentration en  $\text{NH}_3$  des solutions diminue rapidement au cours du temps (lorsque le flacon a été ouvert quelques fois), tant l'ammoniac est volatil. Il est bien évident que cette diminution de concentration est beaucoup plus rapide pour la solution concentrée que pour la solution diluée, ce qui fait qu'au bout du compte, la distinction n'est vraiment valable que pour les solutions assez récentes et conservées dans des conditions idéales.

<sup>21</sup> Les énantiomères sont un cas particulier d'isomères. Pour rappel, des isomères sont des molécules qui possèdent la même formule brute, c'est-à-dire la même composition en atomes, mais qui diffèrent par leur formule développée, c'est-à-dire par la disposition spatiale relative de leurs atomes.

- UTILISATION :

Les utilisations de l'ammoniaque diluée deux fois sont, en ce qui concerne la microscopie, semblables à celles de l'ammoniaque concentrée (voir paragraphe 4.2). Néanmoins, diluée deux fois, l'ammoniaque a une action moins forte sur les tissus que la solution concentrée, ce qui permet de l'employer au montage d'objets plus délicats.

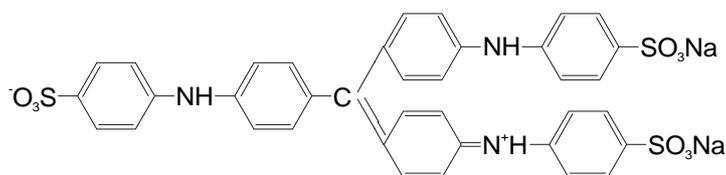
Par contre, en macrochimie, la solution diluée deux fois n'est pas employée parce que l'ammoniaque concentrée donne toujours des réactions plus nettes sans détruire la chair des champignons pour autant.

- DANGERS ET CONSERVATION :

Les dangers que présente l'ammoniaque diluée deux fois sont les mêmes que pour la solution concentrée, même si le facteur de dilution les atténue quelque peu. Les conseils relatifs à la conservation sont identiques, également, pour les deux solutions (toujours au facteur de dilution près).

### 5.3. Bleu coton au lactophénol.

Le vrai nom du bleu coton est le bleu de méthyle (à ne pas confondre avec le bleu de méthylène!). Le numéro du *Color Index* (C.I., c'est la référence internationale en matière de colorants) pour le bleu de méthyle est le 42 780. C'est un dérivé du triphénylméthane : son chromophore (région de la molécule qui est principalement responsable de la teinte) est formé d'un atome de carbone qui porte trois cycles benzéniques substitués (c'est-à-dire que certains de leurs atomes d'hydrogène ont été remplacés par des groupements chimiques). Deux de ces cycles sont liés au carbone central par une liaison simple, le troisième par une liaison double.

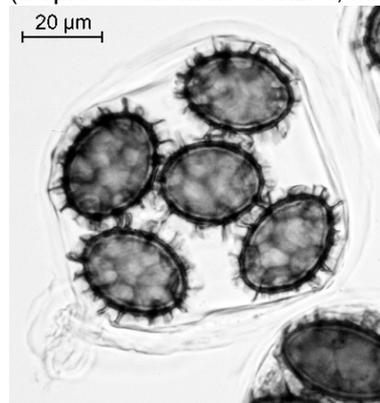


Bleu de méthyle (C.I. : 42 780)

Le bleu de méthyle est un colorant acide ; il résulte de cet état de choses qu'il a une affinité particulière pour les structures à caractère basique. C'est le colorant le plus adapté à la mycologie générale parce qu'il est spécifique de la callose, qui est un des principaux constituants de la paroi des hyphes des champignons.

- UTILISATION :

Le bleu de méthyle au lactophénol est un bon milieu d'observation pour les champignons. Il ne se fixe pas électivement sur certaines cellules, mais il a la particularité de teinter la paroi de la plupart des hyphes, ce qui en fait un colorant d'usage général. Néanmoins, il met particulièrement bien en évidence les ornements des spores chez les ascomycètes (chez *Scutellinia*, par exemple). D'autre part, c'est aussi un réactif microchimique à proprement parler, en ce sens qu'on peut dire de certaines structures qu'elles sont cyanophiles si elles prennent le bleu de méthyle avec une intensité spectaculaire, ce qui est relativement courant. C'est le cas, notamment, du contenu amorphe des chrysocystides (voir paragraphe 5.10), sur lequel le bleu coton se fixe avec une intensité remarquable (d'après Jean-Marie PIRLOT, communication orale).



*Cette photographie, prise au microscope, illustre les propriétés colorantes du bleu de méthyle. Il s'agit d'un asque de Tuber sp. qui a été monté dans le bleu d'aniline au lacto-phénol. Le bleu d'aniline est un colorant extrêmement proche du bleu de méthyle et, comme lui, il se fixe très bien sur l'ornementation des spores de nombreux ascomycètes. Les ornements, qui forment chez cette truffe une sorte de réseau plus ou moins régulier, sont bien mises en évidence sur ce cliché (elles apparaissaient bleu foncé sur l'original).*

Pour avoir les meilleures préparations possibles, on a intérêt à colorer les éléments à observer dans ce réactif, mais à les laver et à les monter dans le lactophénol pur. Le contraste s'en trouve augmenté,

ce qui est très utile pour la photomicrographie. Le lactophénol (voir paragraphe 5.6) a deux avantages : son indice de réfraction élevé ( $n = 1,44$ ) rend les préparations très transparentes, ce qui facilite leur interprétation (toutefois, le chlorallactophénol lui est encore supérieur à ce point de vue). D'autre part, sa viscosité importante permet de conserver les préparations quelques jours, voire quelques semaines, sans altération : il permet la réalisation des préparations semi-permanentes. Mais cette viscosité est également un désavantage, car la dissociation est très difficile dans ce réactif (à ce point de vue, le bleu de méthyle acétique est supérieur au bleu de méthyle au lactophénol).

Concrètement, le bleu de méthyle au lactophénol n'est donc véritablement intéressant que pour l'observation des spores et des hyphes de champignons frais et bien mous. Le bleu de méthyle est aussi utilisé en solution acétique ou lactique, mais, d'une manière générale, la solution dans le lactophénol leur est préférée. Un chauffage modéré facilite généralement la dissociation, en rendant le milieu plus fluide. De plus, le chauffage accélère et intensifie la coloration. Mais chauffer déforme souvent les hyphes et provoque l'éclatement de certaines spores.

- DANGERS :

Le lactophénol est un réactif relativement dangereux par le phénol qu'il contient, qui est toxique et corrosif, ainsi que par l'acide lactique, qui est irritant. Il est donc préférable d'éviter tout contact avec la peau ou les yeux. D'autre part, le bleu coton, comme son nom l'indique, se fixe très bien sur le coton (et sur d'autres textiles), où il fait des taches indélébiles.

- CONSERVATION :

Le lactophénol contient du phénol, qui est un dérivé du benzène. Sa formule compte trois liaisons doubles (voir paragraphe 3.2) ; il est donc sensible aux radiations ultraviolettes. Quant au bleu de méthyle, s'il est bleu, c'est parce qu'il absorbe les autres couleurs de la lumière visible grâce à ses innombrables liaisons doubles entre atomes. Cette absorption de lumière est susceptible, à long terme, de détruire le colorant. Il faut dès lors conserver le bleu coton au lactophénol à l'obscurité, dans un flacon en verre (le plastique pourrait être attaqué) fermé hermétiquement (risque d'altération par l'oxygène de l'air et de dilution par absorption de vapeur d'eau).

#### 5.4. Chloral-lactophénol.

Le chloral-lactophénol est un liquide visqueux. C'est un mélange de trois substances : hydrate de chloral, phénol et acide lactique. L'hydrate de chloral, de son vrai nom 2,2,2-trichloroéthane-1,1-diol est une molécule d'éthane ( $\text{CH}_3\text{-CH}_3$ ) sur laquelle les trois hydrogènes d'un des deux atomes de carbone ont été substitués par des chlores et deux des hydrogènes de l'autre carbone par des fonctions alcool ( $-\text{OH}$ ). Sa formule est donc  $\text{CCl}_3\text{-CH}(\text{OH})_2$ . C'est un solide blanc, très soluble dans l'eau et à l'odeur forte, caractéristique. Le phénol (voir paragraphe 3.2) et l'acide lactique (voir paragraphe 5.1) ont déjà été décrits.

- UTILISATION :

Le chloral-lactophénol est un des meilleurs milieux d'observation qui soit. Son indice de réfraction élevé ( $n = 1,49$ ) permet la réalisation de préparations très claires, où chaque membrane apparaît sous la forme d'un trait unique, fin. Il est particulièrement indiqué pour la mesure des éléments observés, bien que certains auteurs lui reprochent de gonfler trop fortement les cellules, ce qui fausse un peu les mesures. Ce défaut n'est pas trop grave à condition que soit toujours mentionné le milieu dans lequel la mesure a été effectuée (règle importante que, malheureusement, très peu d'auteurs respectent). Il a un autre inconvénient : s'il rend les préparations très claires, celles-ci manquent quelquefois de contraste.

Sa viscosité lui donne l'avantage de permettre la réalisation de préparations semi-permanentes, sans pour autant rendre la dissociation trop difficile. L'hydrate de chloral, en effet, ramollit très bien les tissus et facilite cette opération. A ce point de vue, comme à beaucoup d'autres, le chloral-lactophénol est très supérieur au lactophénol (voir paragraphe 5.6). De plus, il n'est pour ainsi dire pas volatil et ne cristallise pas avec le temps. Cela permet de ne pas avoir à se soucier d'ajouter du milieu de montage en cours d'observation. Enfin, les milieux visqueux sont toujours intéressants pour la photomicrographie, car ils limitent le mouvement des objets au cours de l'exposition, qui peut être de plusieurs secondes.

- DANGERS :

Les dangers sont les mêmes que pour le bleu de méthyle au lactophénol (voir paragraphe 5.3), si ce n'est que le chloral-lactophénol contient, en plus, de l'hydrate de chloral, qui est loin d'être un produit inoffensif (il est toxique et irritant). Éviter donc absolument de respirer les vapeurs. Naturel-

lement, le chloral-lactophénol ne contient pas de bleu de méthyle, ce qui limite (sans les supprimer) les risques de taches sur les vêtements.

- CONSERVATION :

Les recommandations sont les mêmes que pour le bleu de méthyle au lactophénol, car les deux réactifs contiennent du phénol.

### 5.5. Eau bidistillée.

L'eau bidistillée est une eau qui, comme son nom l'indique, a été distillée deux fois successivement. En principe, elle ne contient donc aucune impureté ; mais en pratique, les gaz de l'atmosphère, tels que le dioxygène (O<sub>2</sub>), le diazote (N<sub>2</sub>) ou le dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) ont tôt fait de s'y dissoudre. Elle reste néanmoins intéressante parce qu'elle ne contient pas (ou presque pas) de substances minérales telles que le sodium (Na<sup>+</sup>), le potassium (K<sup>+</sup>), le chlore (Cl<sup>-</sup>), le calcaire (essentiellement CaCO<sub>3</sub>), etc. En théorie, son pH est de 7.

- UTILISATION :

L'eau bidistillée est souvent utilisée pour se faire une idée générale des tissus à observer. C'est en effet un liquide naturel, qui modifie peu les éléments fongiques et qui, en particulier, n'altère jamais les pigments. Par ailleurs, l'eau est, même indirectement, le solvant de la grosse majorité des réactifs que l'on utilise en mycologie.

Mais ses inconvénients sont nombreux : elle a un très faible indice de réfraction (n = 1,333), ce qui rend les préparations difficilement intelligibles. De plus, comme elle est incolore, les éléments qu'on y observe manquent sensiblement de contraste. D'autre part, elle a tendance à faire gonfler (voire éclater) les hyphes par le phénomène de turgescence, qui est dû au fait que la concentration en éléments dissous est beaucoup plus importante dans les cellules que dans l'eau. Or les éléments en question ne peuvent pas traverser les membranes cellulaires tandis que l'eau, elle, peut le faire. Pour équilibrer la différence de concentration, l'eau a donc tendance à entrer dans les cellules, ce qui provoque la turgescence. Ce gonflement a non seulement le désavantage de déformer les hyphes mais, en plus, si l'eau n'altère pas les pigments dissous dans le cytosol (liquide intérieur de la cellule), la turgescence les dilue. L'intensité de leur couleur diminue donc et ils peuvent devenir invisibles.

Pour empêcher la turgescence, on peut utiliser la solution dite physiologique, qui contient 9 g de chlorure de sodium (NaCl) par litre, et qui est en équilibre avec la concentration du cytosol. Pour mettre les pigments en évidence, on utilise quelquefois une solution beaucoup plus concentrée en NaCl (ou en d'autres substances, comme certains sucres), qui a l'effet inverse de la turgescence : elle contracte les cellules (que l'on dit alors plasmolysées), parce que sa concentration est supérieure à celle du cytosol. Enfin, dernier inconvénient de l'eau bidistillée, c'est qu'elle ne contient aucun agent ramollissant, ce qui ne facilite pas la dissociation.

- DANGERS :

L'eau bidistillée ne présente vraiment aucun danger.

- CONSERVATION :

Il convient de conserver l'eau bidistillée dans des flacons bien fermés, et cela pour limiter le plus possible la dissolution du dioxyde de carbone (ou gaz carbonique : CO<sub>2</sub>) et la formation subséquente d'acide carbonique (H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>), qui se dissocie, et conduit à la libération d'ions hydronium (H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>), dont la concentration augmente :



Le résultat est une diminution du pH, c'est-à-dire une acidification de l'eau. Il est cependant à remarquer que cette acidification est réversible, puisqu'il suffit de faire bouillir l'eau pour que le gaz carbonique s'échappe.

### 5.6. Lactophénol.

Le lactophénol est un liquide visqueux et incolore, à l'odeur de phénol. C'est un mélange de plusieurs constituants : phénol, acide lactique, glycérine et eau bidistillée. Le phénol (voir paragraphe

3.2), l'acide lactique (voir paragraphe 5.1) et l'eau bidistillée (voir paragraphe 5.5) ont déjà été décrits. La glycérine (en vérité propane-1,2,3-triol :  $\text{CH}_2\text{OH}-\text{CHOH}-\text{CH}_2\text{OH}$ ), quant à elle, est un triol : elle possède trois fonctions alcool (-OH). C'est un liquide très visqueux aux températures habituelles.

- UTILISATION :

Le lactophénol est reconnu comme un très bon milieu d'observation. Son indice de réfraction assez élevé ( $n = 1,44$ ) permet la réalisation de préparations très lisibles, mais sa viscosité importante rend la dissociation difficile, quoiqu'elle permette de conserver les préparations pendant quelques temps. Le chloral-lactophénol est supérieur au lactophénol parce que son indice de réfraction est encore meilleur et que la dissociation y est plus facile grâce à la présence d'hydrate de chloral, qui ramollit les structures. Cependant, ces deux milieux, s'ils rendent les préparations très lisibles, ne leur donnent qu'un assez faible contraste.

Le lactophénol est intéressant, notamment, pour laver les préparations réalisées dans le bleu de méthyle au lactophénol. Le fond étant ainsi décoloré, le contraste s'en trouve amélioré. D'autre part, un fond incolore est toujours intéressant pour la photomicrographie, et, de plus, la viscosité du lactophénol limite le mouvement des objets au cours de l'exposition.

- DANGERS ET CONSERVATION :

Ces deux points ont été traités avec le bleu coton au lactophénol (voir paragraphe 5.3). Les dangers et les recommandations relatives à la conservation sont les mêmes, mis à part que le lactophénol ne contient pas de bleu de méthyle. Le risque de taches sur les vêtements s'en trouve donc réduit (mais non supprimé).

### 5.7. Potasse à 5% dans l'eau bidistillée.

Les propriétés de la potasse ont déjà été décrites au paragraphe 4.3.

- UTILISATION :

On utilise, en microscopie, la potasse à différentes concentrations : 10%, 5% et 2%. La solution à 5% est la plus universellement employée. Elle a des effets semblables à l'ammoniaque concentrée, mais elle présente l'avantage sur cette dernière d'être sensiblement moins volatile et d'être inodore. On peut donc, au lieu d'ammoniaque concentrée, employer de la potasse à 5% pour toutes les observations courantes ; on peut même y dissoudre du rouge Congo. Globalement, la potasse offre les avantages de regonfler les exsiccata et de ramollir les tissus, mais elle altère souvent les cellules. C'est, finalement, un assez bon milieu d'observation, mais dont il faut se servir avec une certaine circonspection parce qu'il est susceptible de dissoudre certains éléments, dont notamment l'ornementation des spores chez les ascomycètes.

La solution à 10%, plus concentrée, est utilisée pour la dissociation de champignons coriaces (polypores, croûtes), ou gélatineux (*Auricularia*, *Tremella*), tandis que la solution à 2% est préférée par certains auteurs en vertu de son action plus douce. D'autre part, la potasse, de même que la soude, est employée à la concentration de 10% pour les réactions macrochimiques.

- DANGERS ET CONSERVATION :

Les consignes de sécurité et de conservation sont les mêmes, à la dilution près, que pour la potasse à 10% (voir paragraphe 4.3).

### 5.8. Potasse à 2% dans l'eau bidistillée.

La solution de potasse à 5% (voir paragraphe 5.7) convient bien pour la plupart des observations, mais la solution à 2% est parfois préférée parce que son action est plus douce. Elle peut, par conséquent, être utilisée pour des champignons plus délicats.

### 5.9. Réactif de Melzer.

Le réactif de Melzer est un liquide brun, épais, composé d'iode, d'iodure de potassium, d'hydrate de chloral et d'eau. Son odeur est irritante et résulte du mélange de l'odeur de l'iode et de celle de l'hydrate de chloral. Le constituant le plus important de ce réactif est l'iode, qui a la propriété de se fixer sur certains glucides, notamment. L'iode est un solide à l'éclat métallique, volatil et à

l'odeur particulière. Il est peu soluble dans l'eau, mais l'est plus dans les solutions d'iodure de potassium (KI), suite à la formation d'un ion complexe<sup>22</sup> entre l'iode ( $I_2$ ) et l'ion iodure ( $I^-$ ) suivant l'équation :

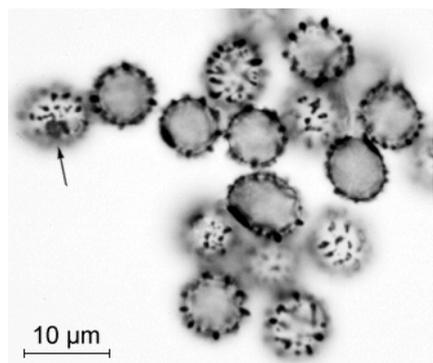
$$I_2 + I^- \rightleftharpoons I_3^-$$

C'est pour cela que le réactif de Melzer contient de l'iodure de potassium. Celui-ci est un solide blanchâtre, soluble dans l'eau. L'hydrate de chloral a déjà été décrit (voir paragraphe 5.4).

- UTILISATION :

Le réactif de Melzer est un des milieux de montage les plus utiles pour la microscopie. En effet, c'est un réactif vis-à-vis duquel les éléments observés peuvent avoir trois comportements différents : ou bien ils sont iodo-négatifs, ou bien ils sont soit amyloïdes, soit dextrinoïdes. L'iodo-négativité correspond à l'absence apparente de réaction : les cellules se teintent de jaune-brunâtre, qui est la couleur du réactif. Des éléments amyloïdes prendront une coloration gris-bleu ardoise, voire noire, tandis que des cellules dextrinoïdes se teinteront de brun-rouge foncé. La réaction amyloïde signale généralement la présence d'amidon, tandis que la réaction dextrinoïde révèle le plus souvent les dextrines.

Ainsi, le réactif de Melzer est utilisé dans de nombreux genres, aussi bien chez les basidiomycètes que chez les ascomycètes. Il permet de savoir si les spores, notamment chez *Amanita* et *Mycena*, ainsi que chez de nombreux aphylophorales, sont amyloïdes ou non, et si, chez les lépiotes *lato sensu*, elles sont dextrinoïdes ou pas. Il facilite l'observation et la description de l'ornementation des spores chez *Lactarius* et *Russula*, principalement. Enfin, il intervient lors de la détermination des ascomycètes, dont le sommet des askes (que ce soit un opercule ou un pore) peut être amyloïde ou non, et lors de l'identification des mycènes, dont la chair est souvent dextrinoïde, mais pas toujours. Le réactif de Melzer est aussi quelque peu utilisé en macrochimie, mais dans ce domaine, le liquide de Lugol lui est préférable. Le Lugol est un Melzer sans hydrate de chloral, et avec des proportions en iode et iodure de potassium un peu différentes.



Les spores, notamment chez les Russulaceae (genres *Lactarius* et *Russula*), présentent des ornements amyloïdes, ce qui permet de les étudier très aisément grâce au réactif de Melzer. Ici, un amas de spores de *Russula nauseosa*, montées dans le réactif de Melzer. On distingue, sur certaines spores, et notamment celle qui se trouve à l'extrême gauche, une tache supra-apiculaire, amyloïde également.

- DANGERS :

Le réactif de Melzer est assez dangereux : l'hydrate de chloral est toxique et irritant et l'iode est nocif ; aussi, éviter tout contact avec la peau ou les yeux, et éviter de respirer les vapeurs. D'autre part, il est bon de savoir que l'iode, au contact de l'ammoniaque, provoque des réactions à caractère explosif. Enfin, l'iode se fixant très bien sur la cellulose (qui est un polymère de glucose, c'est-à-dire de sucre), à laquelle il donne une coloration noirâtre, il faut éviter d'en tacher les vêtements en coton (les taches peuvent être enlevées à l'aide d'une solution diluée de thiosulfate de sodium ( $Na_2S_2O_3$ ), mais ce procédé présente un risque de décoloration du tissu).

- CONSERVATION :

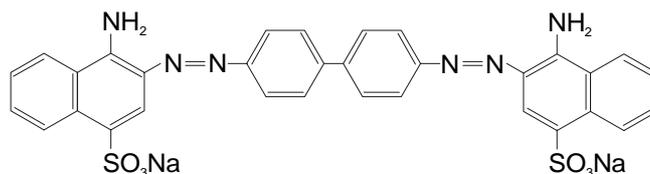
Le réactif de Melzer doit être conservé dans un flacon en verre hermétiquement fermé parce que ce liquide est assez corrosif et que l'iode, volatil, est capable de s'échapper de certains flacons, à travers le plastique. D'autre part, il est préférable de garder le flacon à l'obscurité car la lumière pourrait altérer l'hydrate de chloral.

### 5.10. Rouge Congo ammoniacal.

Le rouge Congo est un colorant qui fait partie de la catégorie des polyazoïques parce qu'il possède deux chromophores de type azoïque, c'est-à-dire formés chacun de deux atomes d'azote doublement liés, et substitués. Le numéro du *Color Index* du rouge Congo est le 22 120. C'est un colorant acide, c'est-à-dire qu'il a tendance à se fixer préférentiellement sur les structures basiques. Il

<sup>22</sup> Les ions complexes résultent de l'association d'un atome, voire d'une molécule (neutres), ou plus souvent d'un cation, avec un ou des ligands. Les ligands sont des molécules (neutres) ou des anions. Ils peuvent être de nature minérale ou organique. L'iode, qui est ce qu'on appelle en chimie un « non-métal », constitue une exception parce que généralement, c'est un métal qui s'associe aux ligands.

colore particulièrement bien les parois des cellules de champignons ; c'est pour cela qu'il est un des colorants les plus utilisés en mycologie générale.

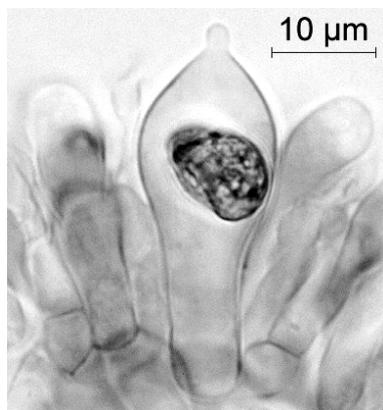


Rouge Congo (C.I. : 22 120)

• UTILISATION :

Le rouge Congo ammoniacal est un excellent milieu pour toutes les observations courantes. Il a les mêmes qualités regonflantes et ramollissantes que l'ammoniaque (voir paragraphe 4.2), et a l'avantage supplémentaire de colorer la paroi de la plupart des hyphes, ce qui augmente le contraste et facilite ainsi l'observation et l'interprétation. Il convient parfaitement lors de la recherche des anses d'anastomose, qu'il met admirablement en évidence. On a intérêt, et particulièrement lors de la photomicrographie, à laver dans l'ammoniaque diluée deux fois les préparations montées dans le rouge Congo ammoniacal. Par cette opération, le fond se décolore et le contraste se trouve encore augmenté. L'ammoniaque diluée deux fois a ici l'avantage sur l'ammoniaque concentrée de ne dissoudre que le colorant non fixé sur les structures fongiques. L'ammoniaque concentrée, au contraire, dissout assez facilement le rouge Congo, même fixé, et fait donc pâlir les éléments observés. L'eau convient moins bien parce que le colorant n'y est que peu soluble, et qu'elle a tendance à provoquer sa cristallisation.

Mais le rouge Congo ammoniacal a les défauts de l'ammoniaque : il est très volatil et la préparation se dessèche au cours de l'observation. Plutôt que d'ajouter du colorant pour maintenir la préparation humide, on a intérêt à ajouter de l'ammoniaque diluée deux fois pour les raisons évoquées précédemment. Par ailleurs, il faut savoir que l'ammoniaque dissout certains éléments comme les incrustations acido-résistantes de la cuticule des russules. On peut aussi utiliser le rouge Congo ammoniacal au lieu d'ammoniaque pour l'étude des chrysocystides (qui sont des cellules stériles dont le contenu vire au jaune au contact des bases), car le rouge Congo ne masque pas la réaction.



*Le rouge Congo ammoniacal est très efficace pour l'étude des chrysocystides, comme en témoigne cette photomicrographie. La teinte rouge du colorant ne nuit aucunement à la réaction (au contraire, le rouge Congo fait admirablement ressortir les parois des hyphes), et l'ammoniaque qu'il contient met très bien en évidence la masse amorphe que présentent les chrysocystides (cette masse apparaît dorée sur l'original). Il s'agit ici d'une chrysocystide d'*Hypholoma capnoides*.*

• DANGERS :

Tous les dangers que présente le rouge Congo ammoniacal sont dus à l'ammoniaque, sauf le risque de tacher irrémédiablement les vêtements, qui, lui, incombe au rouge Congo. L'ammoniaque, étant très volatile, libère le gaz ammoniac, qui est fortement irritant.

Ses propriétés basiques la rendent corrosive, donc éviter le contact avec la peau et surtout avec les yeux, et éviter de respirer les vapeurs. D'autre part, il est bon de savoir que l'ammoniaque, au contact de l'iode, provoque des réactions à caractère explosif.

• CONSERVATION :

Il convient, pour que le rouge Congo ammoniacal reste efficace le plus longtemps possible, de le conserver dans un petit flacon bien fermé, qu'on ouvre le moins souvent et le moins longtemps possible. Cela pour deux raisons : d'une part l'ammoniac se dégage de la solution, et d'autre part le CO<sub>2</sub> atmosphérique réagit avec l'hydroxyde d'ammonium (NH<sub>4</sub>OH) pour donner du carbonate d'ammonium (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, qui précipite au pH alcalin de la solution, ce qui se traduit par l'apparition de cristaux brillants. Ces deux phénomènes ont pour résultat d'abaisser le titre (concentration) de la solution. Comme la concentration en ammoniac diminue, la solubilité du rouge Congo diminue également, et il finit par précipiter lui aussi.

## 6. Bibliographie.

- ARNAUD, P. : *Chimie organique*. Seizième édition. Dunod, 1996.
- AYEL, A. ET MOINARD, A. : *Le microscope. Constitution, fonctionnement, emploi en mycologie*. Bulletin spécial numéro 3a de la Société mycologique du Poitou.
- BATAILLE, F. : *Les réactions macrochimiques chez les champignons*. Cramer, 1969.
- BON, M. : *Champignons de France et d'Europe occidentale*. Arthaud, 1988.
- BOULLARD, B. : *Dictionnaire plantes & champignons*. Estem, 1997.
- BREITENBACH, J. ET KRÄNZLIN, F. : *Les champignons de Suisse. Tome 2 : Champignons sans lames. Hétérobasidiomycètes, aphylophorales, gastéro-mycètes*. Mykologia, 1986.
- CHARBONNEL, J. : *Les réactifs mycologiques. Tome 1 : Les réactifs macrochimiques*. Edité par l'auteur, 1995.
- COURTECUISSÉ, R. ET DUHEM, B. : *Guide des champignons de France et d'Europe*. Delachaux et Niestlé, 1994.
- DE IZARRA, Z. : *Introduction à l'étude microscopique des champignons*. Bulletin spécial numéro 5 de la Société mycologique du Poitou.
- DE IZARRA, Z. : *L'examen des champignons (étude de leurs caractères - avant tout recours au microscope)*. Bulletin spécial numéro 6 de la Société mycologique du Poitou.
- EHRMANN, E. : *Traité des matières organiques colorantes et de leurs diverses applications*. Dunod, 1922.
- KÜHNER, R. ET ROMAGNESI, H. : *Flore analytique des champignons supérieurs. Agarics, bolets, chate-relles*. Masson, 1984.
- LAROCHE, G. ET LAROCHE C. : *Examens de laboratoire du médecin praticien*. Cinquième édition. Mas-son, 1949.
- LOCQUIN, M. : *Mycologie générale et structurale*. Masson, 1984.
- LOCQUIN, M. ET LANGERON, M. : *Manuel de microscopie*. Masson, 1978.
- MARCHAND, A. : *Champignons du Nord et du Midi*. Edité par l'auteur.
- Tome 5 : *Les russules*. 1977.
  - Tome 6 : *Lactaires et pholiotes*. 1980.
  - Tome 7 : *Les cortinaires*. 1982.
  - Tome 8 : *Les cortinaires (fin)*. 1983.
- MC QUARRIE, D. A. ET ROCK, D. P. A. : *Chimie générale*. Troisième édition. De Boek, 1992.
- MERCK : *Réactifs, produits chimiques, diagnostica*. Catalogue Merck, 1996.
- MERCK : *The Merck Index*. Eleventh edition. Merck, 1989.
- MEYBECK, J. : *Les colorants*. Troisième édition. Presses Universitaires de France, 1963.
- RAWN, J. D. : *Traité de biochimie*. De Boek, 1990.
- SEGUY, E. : *Le microscope. Emploi et applications*. Lechevalier.
- Tome 1. 1951.
  - Tome 2. 1949.
- TONNEAU, J. : *Tables de chimie. Un mémento pour le laboratoire*. De Boek, 1991.
- UCB : *Chimie. Produits pour le laboratoire et l'industrie*. Catalogue UCB, 1995.
- VOLLHARDT, K. P. C. ET SCHORE, N. E. : *Traité de chimie organique*. Deuxième édition. De Boek, 1995.

## 7. Remerciements.

Un amical merci à Jean-Marie PIRLOT pour ses suggestions et la réorganisation en un texte continu des fiches qui sont à la base de cet article.

Souvenirs d'aventures et commentaires parfois impertinents d'un vieux maraudeur !  
Photos et recettes : Alfred Loss.

## Tuber aestivum vitt.

La truffe d'été appelée aussi truffe de la Saint-Jean, car elle fructifie généralement de juin à fin septembre début octobre dans nos régions, semble avoir été trouvée pour la première fois en 1964 à la Montagne-au-Buis, lieu bien connu de tous les mycologues belges.

Elle fut retrouvée quasi au même endroit sur le territoire de Fagnolle en 1968. Albert Marchal le relate dans un article des Naturalistes Belges (*Truffes et Mycologie au Pays de Couvin*). Le regretté Paul Heinemann confirme la chose et dépose l'échantillon dans l'herbier du Jardin Botanique de Bruxelles. Albert Marchal conduit P. Heinemann sur le site. Ce dernier en donne une parfaite description dans un article des Naturalistes Belges sous le titre, *Les Truffes (Tubérales) de Belgique*.

Cet article met nettement en évidence que *Tuber aestivum* croît très près de la surface du sol et finit souvent par montrer une surface de quelques cm<sup>2</sup> qu'un œil exercé peut apercevoir.

Point n'est donc besoin de chien pour trouver la truffe d'été !

J'ai eu la certitude ce jour-là, il y a de cela environ 15 ans, que je trouverai un jour *Tuber aestivum*.

Je commence par acheter plusieurs livres dont le sujet est la truffe et constate que *Tuber aestivum* est cultivée dans beaucoup de régions d'Italie et spécialement en Toscane, Ombrie, Marche, Abruzzes etc.

En France par contre, elle est volontairement bannie, dépréciée pour éviter au maximum de la mettre en concurrence avec *Tuber melanosporum* et lui garantir un prix fort.

En 1997, après une étude approfondie, je décide d'orienter mes vacances vers l'Ombrie Marche et le Parc National dei Monti Sibillini, dont je ne soupçonnais pas la beauté incomparable.

J'ai la chance de trouver une maison à flanc de colline, à Pievebovigliana, exactement dans la partie Nord des Sibillini. Une Belge loue son habitation qui offre tout le confort raffiné d'une bourgeoise nantaise. Région remarquable, gîte de grand confort dans un hameau comprenant quelques maisons anciennes et une petite église. Au pied de la maison en contrebas, les sangliers s'en donnent à cœur joie à la recherche de pommes de terres, voire de truffes, qui sait ?

Mon épouse et mes enfants passeront de superbes vacances, mais je n'aurais jamais osé dire au départ que j'avais choisi cette région pour la Truffe ! Déjà qu'on passe souvent pour des « djondus (\*) » en temps ordinaire avec nos réactifs, nos microscopes et tout le bazar...

(\*) : au sens premier du dialecte wallon, ce mot se définit comme suit : « celui qui s'est fait avoir et rouler » ; il s'applique aussi « à quelqu'un qui n'a pas de sens commun, un idiot ou un imbécile ».

### A la recherche de *Tuber aestivum*

Après une escale réparatrice chez un ami de Bergamo, nous voilà partis à la recherche de *Tuber aestivum*. Nous arrivons à Pievebovigliana et que vois-je ? Des panneaux partout signalant que la récolte de la truffe est interdite et punissable par la loi.

Je crois rêver, j'ai tapé dans le mille !

De la truffe, il y en a puisqu'ils le disent !

Ils sont fous ces Italiens !

Demain, j'irai à la truffe !

A la nuit tombée, en savourant l'air pur du soir, je salue un petit vieux du hameau et lui dis que le lendemain j'irai chercher des truffes. « Tu peux y aller ! Mais sans chien, tu ne peux pas en trouver ! Bonne soirée à demain ! »

Dès potron-minet, me voilà parti ! Pas loin, à 300 m. de mon logis !

Une heure après, je reviens avec un fameux paquet de truffes, sûrement un gros kilo.

En remontant le sentier, je les montre au petit vieux : « Porca miseria !!! » Je crois qu'il va faire une attaque ! Après avoir récupéré tous ses esprits, il me dit : « si tu y vas encore, je viens aussi avec ma femme, nous ferons le guet, car je n'ai pas les moyens mais j'aimerais quand même avant de mourir, en manger au moins une fois dans ma vie ! On dit que c'est si bon ? »

La propriétaire de notre gîte ayant eu vent du projet, se propose de nous accompagner également.

Quelques jours plus tard, nous voilà en grandes manœuvres : les petits vieux montant la garde, la propriétaire avec un gros panier à la main, et moi, vieux braconnier, avec un sac en poche - c'est plus discret -, et bien sûr le couteau du « mycologue », celui avec la brosse.

Il ne se passe pas une demi-heure que je ressorts du bois avec un sac lourd de presque 2 kilos de *Tuber aestivum*. Dès cet instant, je décide d'arrêter mes incursions dans ce bois planté de noisetiers (*Corylus avellana*) mycorhizés à la truffe d'été. Je ne veux pas courir le risque de passer le reste des vacances dans une prison Italienne.

Aux deux villageois, j'abandonne une partie de ma récolte : ils sont aux anges ! J'invite par ailleurs notre propriétaire à partager notre repas du soir, car elle n'a rien trouvé elle-même. En apéro, à la croque au sel et ensuite sur pâtes, râpées en mélange avec le parmesan, elles furent très appréciées mes truffes.

Le surlendemain, c'est le retour. Il me restait un bon kilo de sporophores, que j'avais partagés en deux bocaux. Faisant à nouveau escale chez nos amis à Bergamo, j'avais mis au frigo la part que je leur destinais. Et sur la route du retour, après 250 km, Je réalise que je les ai oubliées.

La propriétaire m'en remercie encore et moi, j'ai de bon cœur quand même cédé les miennes à mes amis, qui m'en parlent toujours !

Nous étions au mois d'août et les truffes étaient parfaitement matures et donc excellentes même si, disent certains, *elles ne valent pas Tuber melanosporum* ! A voir, car moi qui ai dégusté les trois, et même si je considère *Tuber magnatum* comme incontestablement la meilleure, je ne dédaigne pas du tout *T. aestivum* même si *T. melanosporum*, différente au goût, est sûrement supérieure !

Comparons les prix maintenant : De 2.500 à 5.000 € le kilo, pour *T. magnatum* selon la saison, 600 € pour *T. melanosporum*, et 100 € pour *T. aestivum* ... on croit rêver !

Ma Renault Kangoo me donne beaucoup de joies par rapport à la Ferrari que je n'aurai jamais. !

Les italiens, champions du monde pour la mise en valeur des produits de la terre, l'ont bien compris, eux qui expriment leur cuisine en fonction de leurs produits frais de saison, et *Tuber aestivum* en fait largement partie.

## La truffe en Provence

En février 2000, une autre expérience passionnante ! Recherche de *Tuber melanosporum* dans le Tricastin avec les « Coprins d'Abord » de David Vallée, en compagnie du Pr. Pierre Piérart et Masha son épouse, Francine et Jean L'Hoest, et d'autres.

Il faut avoir vu une fois dans sa vie le marché aux truffes de Carpentras, et plus encore le marché de Richerences, où la seule rue du village est noire de monde ... Il s'y échange plus d'une tonne de truffes en une matinée ! Pas de carte bancaire ni de chèques : toutes les transactions se règlent en liquide. Le coffre rempli de truffes d'une grosse Mercedes attendant les acheteurs vaut plus que la voiture elle-même ! On dit que sous les billets de la ceinture-banane du vendeur se trouve un revolver prêt à l'emploi !

Lors de la quête à l'église du village, pendant la messe de la truffe, St Antoine patron des trufficulteurs est fêté dignement. Les oboles, sont constituées uniquement de truffes destinées aux besoins et œuvres de la paroisse. En 2003, leur vente a rapporté 4.500 €.

Les visites de truffières et la participation au cavage avec les chiens des propriétaires représentaient notre quotidien, avec dégustations et repas gastronomiques le soir. Un réel bonheur. A vivre une fois dans sa vie !!

## Tuber aestivum Vitt. à Solre-sur-Sambre

Solré-sur-Sambre est une agglomération située sur la route qui va de Beaumont à Mons, près d'Erquennes, sur le territoire belge. Un jour, monsieur Bayet a la surprise de trouver sur son terrain quelques champignons qu'il croit être des truffes.

Il se confirme qu'il s'agit bien de *Tuber aestivum*. Un exemplaire ayant été confié à J.J. Wuilbaut qui en avait réalisé la microscopie une année ou deux auparavant.

Depuis 2005, l'heureux propriétaire en récolte plusieurs kilos et beaucoup de taille très respectable, allant l'œuf à l'orange. L'année dernière il en cavé une de 400 grammes.

Comment est-ce possible ?

Devenu quasi un ami, car je lui rends visite tous les ans depuis 2005, monsieur Bayet m'a expliqué que pour apporter un peu de verdure à peu de frais dans son jardin, il a prélevé quelques petits noisetiers dans un bosquet voisin et les a plantés autour de sa maison. Nous sommes sur terrain calcaire et sans doute que ces plants étaient mycorhizés, car ils ont commencé à produire d'abord quelques truffes et depuis 2005, des quantités de plus en plus importantes.

Dès le mois de mai, il prospecte le brûlé au pied de ses buissons de noisetiers et place de petits bâtonnets à côté des truffes qui commencent à percer le sol. Patiemment il attend qu'elles se développent et essaie de les soustraire à temps à la voracité des limaces.

Mais comment savoir si elles sont mûres ?

Là est tout le problème !

L'idéal serait de dresser un chien, car même à quatre pattes, en humant le sol, nous, humains ne sentons que l'odeur de la terre et donc sans chien nous prélevons beaucoup d'exemplaires immatures qui ne présentent alors aucun intérêt culinaire.

Quel gaspillage !

Le chien truffier, lui, ne s'arrête et ne montre qu'une truffe mûre, et néglige toutes celles qui n'ont pas d'odeur.

Toutes ces belles truffes prélevées en juillet 2008 sont immatures. (photo Alfred Loss) Remarquez les verrues pyramidales du périidium, et la couleur trop blanchâtre de la gléba, sans aucun parfum. Elles seront données aux « amis-cologues », à seule fin de microscopie ! Dommage : quel gâchis gastronomique !



Spores de

*Vitt.* vues au grossissement x 1000, l'asque présente trois spores et met en évidence que cette truffe n'est pas mûre. L'ornementation sporale, aurait été plus marquée en cas de maturité. (photo Alfred Loss)

*Tuber aestivum*



Le brûlé caractéristique au pied des noisetiers (photo Alfred Loss)



Et pour la fin, car en mycologie cela commence toujours par la casserole, une page de myco-gastronomie pour que la science évolue !!!

### Quelques conseils

Pour vous éviter des déceptions et vous aider à découvrir toute la subtilité du parfum de la truffe mieux vaut la cuire le moins possible, voire pas du tout et éviter les assaisonnements trop forts.

La truffe se marie parfaitement avec des mets neutres, tels que la pomme de terre, les œufs, les pâtes,...qui la mettent en valeur.

Consommez de préférence la truffe fraîche. Vous pouvez la commander chez certains trufficulteurs via Internet et les recevoir sous les 48 heures.

Évitez les mets truffés, les conserves, les jus, les essences de truffes, sous-produits onéreux et sans réelle valeur gustative. L'arôme puissant de certaines huiles à la truffe est produit chimiquement !

Une truffe fraîche se conserve une semaine au réfrigérateur, dans une boîte hermétique. Évacuer le jus (condensat) de temps à autre, qui peut éventuellement parfumer une sauce.

Avant de consommer la truffe, la laver à l'eau courante, la brosser délicatement (brosse à dents) afin d'en évacuer la terre. Une truffe doit être propre (elle peut cependant comporter encore un peu de terre) et canifée pour montrer la couleur de la gléba. Sans cela vous pourriez acheter au prix fort des truffes chinoises (*Tuber indicum*), lesquelles ne valent rien !

La truffe peut se congeler sans perte de goût, mais sa texture sera plus molle et aqueuse après décongélation. Conservation : 6 mois maximum.

### Omelette aux truffes sans truffes

Enfermer 6 œufs frais dans un bocal hermétique avec une truffe ou deux (= 50 g).

Après au moins 24 heures au réfrigérateur, retirer les œufs. Les cuire en omelette baveuse. Le parfum enivrant de la truffe ayant migré dans les œufs, en fait un régal exquis, tout en finesse. Accompagner d'un Muscat d'Alsace.

On peut servir sur un pain toasté enduit d'huile d'olive extra vierge pas trop parfumée. Quelques pointes d'asperge verte, pour un mariage somptueux. La cerise sur le gâteau : offrez ensuite les truffes à belle-maman !

### Cassez votre tirelire

Si vos revenus vous le permettent, disposez dans les assiettes des convives 3 ou 4 truffes fraîches émincées finement à la « mandoline ». Quelques grains de sel de Guérande, quelques tours de moulin de poivre blanc, une légère brumisation d'huile d'olive, et un peu de ciboulette hachée, (l'ail des ours est encore mieux) et quelques copeaux de Parmesan, un bon Coteaux du Tricastin ... Tout va vous faire planer toute la soirée ! C'est peut-être aussi cela le Paradis ...

### **Tagliatelles aux truffes**

Cuire les pâtes « al dente ». Râper quelques truffes à la grosse râpe et les mélanger à un parmesan « Reggiano » râpé également. Saupoudrer les pâtes de cette préparation, et jeter par-dessus quelques gros copeaux de truffe : arroser d'un filet d'huile d'olive. Servir avec un Côtes-du-Rhône Villages ou un Châteauneuf-du-Pape !

Tuber magnatum, melanosporum, aestivum, trois truffes renommées, ont participé à ces préparations et qui m'ont apporté, dans l'ordre mais avec beaucoup de nuances et de différences, des satisfactions culinaires hors du commun.

Notez bien qu'une bonne frite belge, -mais en trouve-t-on encore ?- croquante, croustillante, dorée, peut aussi vous envoyer au 7<sup>ème</sup> ciel ? Et ce tubercule est aussi un hypogé !!!

N.B. : si j'ai omis volontairement l'aspect purement scientifique, -notre littérature en étant suffisamment fournie-, j'ai surtout voulu éveiller votre curiosité à l'égard de ce tubercule quasi mythique dont j'aimerais vous entretenir à nouveau dans un prochain bulletin et plus particulièrement de Tuber regianum signalée pour la première fois en 1997. Je tenterai aussi de vérifier comme certains l'affirment (génétique moléculaire) si Tuber uncinatum, (la truffe de Bourgogne), la plus répandue en Europe, ne serait pas une Tuber aestivum à parfaite maturité ?

Vos bibliographies, connaissances, sur ces questions m'aideraient à préparer une information détaillée. N'hésitez pas à me les communiquer.

### **Bibliographie**

Truffes et Mycologie au pays de Couvin. A.Marchal pp.152 à155.Les Naturalistes Belges.

Les Truffes (Tubérales) de Belgique. P.Heinemann pp 156 à 163.Les Naturalistes Belges.

La Truffe en Provence. Les Coprins d'Abord. D. Vallée.2<sup>nd</sup> trimestre 2000.

Le Grand Livre de La Truffe. Pierre-Jean et Jacques Pebeyre.D.Briand - R. Laffont. 1988.

La coltivazione moderna del Tartufo .Giovanni Pacioni. De Vecchi Editore.1987.

Le livre de la Truffe.Bernard Duc-Maugé/Bernard Duplessy. Edisud.1998.

La Mycothérapie.Alain Tardif. Editions Amyris.2007.

Il Tartufo.Daniella Signorini-Oriano Valli. Ottaviano.1988.

Guida alle città del Tartufo. Touring Club Italiano.2000.

Parco Nazionale dei SIBILLINI. Societa Editrice Ricerche 1997.

Escursioni nel Parco dei Monti Sibillini. Cierre Edizioini1994.

## Les mesures en mycologie

### *Partie 1 : Introduction ; mesures à l'échelle macroscopique ; étalonnage des oculaires micrométriques ; photographie et dessin.*

Didier BAAR <sup>(23)</sup>

#### 1. Introduction

La place importante qu'occupent les mesures au sein de l'ensemble des caractères intervenant dans l'identification des champignons va sans dire. Aussi bien à l'échelle macroscopique que microscopique, l'influence, souvent plus ou moins inconsciente, des mesures sur notre jugement est considérable. En effet, le mycologue qui découvre une espèce inconnue pour lui, parvient très souvent à la situer dans un genre au premier coup d'œil. Cette action de classification devient, avec l'expérience, une sorte de réflexe, conditionné par une série de caractères perçus de manière subliminale. Parmi ceux-ci, deux nous semblent prépondérants : la forme <sup>(24)</sup> surtout, mais aussi la dimension. Ces deux caractères fondamentaux peuvent être estimés aisément et très rapidement : une fraction de seconde suffit à situer une mycène parmi les petites espèces à lames, et non au sein des taxons charnus ornés de tubes !

Au niveau microscopique, l'intérêt des mesures est encore plus considérable. Il est peu concevable, à l'heure actuelle, de faire l'étude micrographique d'un champignon sans en mesurer au moins les spores. Si l'importance des dimensions sporales est relativement limitée au sein d'un genre comme les lactaires, elle est déjà plus grande chez les inocybes, et elle devient primordiale chez les ascomycètes. La mesure des spores ne se limite d'ailleurs pas à leur longueur et à leur largeur, et la portée des mesures microscopiques en général s'étend bien au-delà des spores, car elle concerne également une multitude d'hyphes et d'articles particuliers, comme les asques, les cystides, les basides, etc.

Au cours de ces quelques pages, nous allons donc tenter de donner un aperçu des instruments et des techniques de mesure utilisés couramment en mycologie. Cet article est scindé en deux parties qui, pourtant, sont indissociables l'une de l'autre, car les éléments développés dans la première partie seront largement utilisés au cours de la seconde.

Ce premier volet est consacré à une introduction générale sur les mesures, aux mesures macroscopiques, à une introduction aux mesures micrométriques, à l'étalonnage des oculaires micrométriques, et à la réalisation de mesures à partir de dessins ou de photographies. Dans la seconde partie, nous nous intéresserons à la réalisation pratique des mesures micrométriques, aux différentes sources d'erreurs, ainsi qu'à l'interprétation et à l'expression des résultats. Nous terminerons ce second volet avec une conclusion générale et la bibliographie.

#### 2. Mesures, unités et étalons

Toutes les mesures physiques reposent sur un même principe : la comparaison de l'intensité d'une propriété des objets (appelée grandeur) avec une grandeur comparable, choisie comme étalon. Cet étalon définit l'unité utilisée pour exprimer le résultat d'une mesure. Les mesures de longueur n'échappent pas à cette règle, et résultent de la comparaison de la longueur des objets avec celle d'un étalon. Elles s'expriment en mètres <sup>(25)</sup>, en multiples (surtout kilomètre) ou en sous-multiples (millimètre, micromètre, nanomètre, etc.) de celui-ci.

Le mètre a d'abord été défini comme une longueur égale au quarante millionième du méridien terrestre. Puis, pour une meilleure précision, le mètre a été concrétisé par une règle de platine iridié dont la longueur coïncidait avec celle définie par l'étalon précédent. Ensuite, le mètre a été défini sur base de la longueur d'onde d'une radiation émise par l'atome de krypton 86. Enfin, depuis 1983, il est

<sup>(23)</sup> décédé accidentellement le 14 octobre 2001, à l'âge de 23 ans.

<sup>(24)</sup> Il est à noter que la forme et les dimensions ne sont pas sans relation : le rapport des dimensions d'un objet donne souvent une idée de sa forme. Ainsi, pour prendre un exemple simple, on appellera sphéroïde un objet dont tous les diamètres sont de longueur égale ou presque ; par contre, un objet filiforme est au moins trois fois plus long que large...

<sup>(25)</sup> Le mètre (m) est l'unité du Système International, mais d'autres unités sont utilisées dans des domaines particuliers : l'angström (Å), notamment utilisé en spectrométrie, équivaut au dixième de nanomètre (soit 10<sup>-10</sup> m), tandis que l'année-lumière (a l), courante en astronomie, équivaut à une distance de quelque dix petamètres (exactement 9,461.10<sup>15</sup> m).

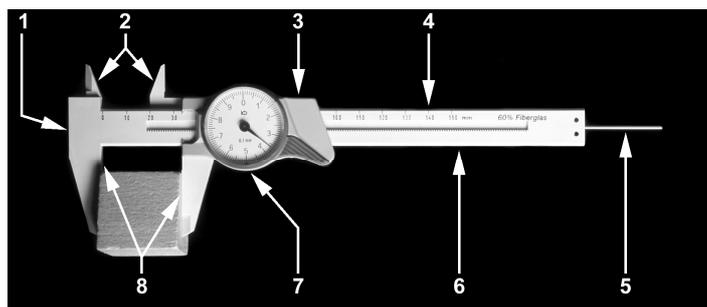
défini par le trajet que parcourt la lumière dans le vide en une fraction (1/299.792.458) de la seconde qui correspond à l'inverse de la vitesse de la lumière, de telle manière que la longueur ainsi définie coïncide également avec celle des étalons précédents. L'étalon a donc été, à maintes reprises, remplacé au cours des siècles, afin d'obtenir une meilleure précision et une plus grande reproductibilité, mais l'unité de mesure n'a pas changé.

### 3. Mesures à l'échelle macroscopique

La mesure des champignons à l'échelle macroscopique ne pose pas de grandes difficultés. Une simple règle suffit dans la plupart des cas, bien que l'utilisation du pied à coulisse soit toujours préférable. Cet instrument facilite les mesures en s'adaptant à la forme des objets grâce à divers artifices. D'autre part, sa précision est beaucoup meilleure que celle d'une simple règle : elle varie, selon les modèles, du dixième au cinquantième de millimètre. Le dixième de millimètre est suffisant en mycologie. De plus, sa large gamme de mesure, qui s'étend de la fraction de millimètre à la quinzaine de centimètres, rend le pied à coulisse adapté à la plupart des champignons, qu'il s'agisse de minuscules ascomycètes ou d'imposants basidiomycètes.

#### **3.1. Le pied à coulisse**

Le pied à coulisse (voir figure 1) est composé de deux éléments principaux : un ensemble de deux règles qui peuvent glisser l'une sur l'autre, et un système d'estimation des fractions du millimètre, à l'origine un vernier ou, sur certains modèles, une montre. Différents dispositifs font partie intégrante des deux règles : une pince et une sorte d'écarteur permettent notamment de mesurer respectivement le diamètre extérieur et le diamètre intérieur de cylindres ; une latte est destinée à la mesure de la hauteur de dénivellations ; enfin, une tige permet de mesurer la profondeur de cavités étroites. L'adaptation du pied à coulisse à la mycologie permet de mesurer avec précision, sans peine et sans devoir dépecer les champignons, le diamètre ou la longueur du stipe, le diamètre du chapeau, la longueur et la largeur des lames, la profondeur des apothécies, etc.

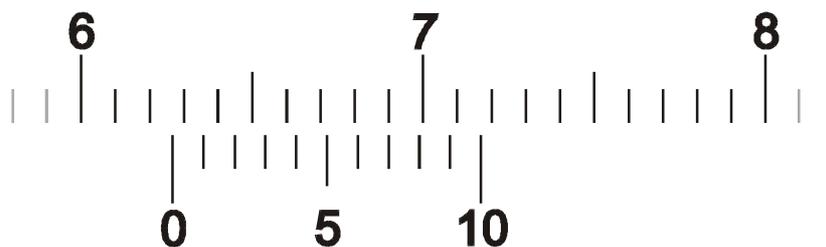


**Figure 1 :** Les différentes parties du pied à coulisse. 1- latte pour la mesure de la hauteur de dénivellations ; 2- sorte d'écarteur permettant notamment la mesure du diamètre intérieur de cylindres ; 3- règle mobile ; 4- Echelle millimétrique ; 5- tige permettant la mesure de la profondeur de cavités étroites ; 6- règle fixe ; 7- montre permettant la lecture des dixièmes de millimètre ; 8- sorte de pince permettant, par exemple, la mesure du diamètre extérieur de cylindres.

Ainsi, pour mesurer le diamètre du stipe d'un champignon, il suffit de le pincer délicatement entre les mors du pied à coulisse. La condition pour obtenir une mesure exacte est d'assurer un bon contact sans pour autant comprimer l'objet, car cela conduirait à une sous-estimation de la mesure. La lecture du nombre de centimètres se fait sur la règle fixe de l'instrument, en fonction de la position de la règle mobile. Le nombre de millimètres est lu soit sur la règle fixe également (modèles à vernier), soit sur la montre (modèles à montre). Enfin, les fractions de millimètres sont lues respectivement sur le vernier ou sur la montre. De légères variations de ces principes peuvent se présenter, notamment en rapport avec la précision du modèle considéré.

Le vernier est une petite règle, le plus souvent divisée en dix parties égales sur une longueur de neuf millimètres, qui est intégrée à la barre mobile du pied à coulisse. Chaque division du vernier a donc une longueur de neuf dixièmes de millimètre. Cette petite règle est juxtaposée à une règle millimétrique ordinaire gravée dans la partie fixe de l'instrument. La différence de longueur entre une division du vernier et une division de l'échelle millimétrique est donc de un dixième de millimètre. C'est cette différence qui est à la base de l'évaluation : il suffit de rechercher, parmi les onze traits (définis-

sant dix divisions) du vernier, celui <sup>(26)</sup> qui est le plus exactement en face d'un trait quelconque de l'échelle fixe pour lire le nombre de dixièmes de millimètres (voir figure 2). L'évaluation des vingtièmes ou des cinquantièmes de millimètre que permettent les modèles les plus précis est basée sur le même principe.



**Figure 2 :** Exemple de mesure d'un objet à l'aide d'un pied à coulisse muni d'un vernier. L'échelle millimétrique ordinaire est située en haut ; le vernier se trouve en bas. La lecture des centimètres et des millimètres se fait sur l'échelle fixe ; les dixièmes de millimètre sont lus sur le vernier. Etant donné que le zéro du vernier se trouve entre 6,2 et 6,3 cm, on peut dire que l'objet mesure plus de 62 mm, mais moins de 63 mm. La septième graduation du vernier est la seule qui soit exactement en face d'un des traits de l'échelle millimétrique. On doit donc ajouter sept dixièmes de millimètre à la mesure obtenue : l'objet de cet exemple mesure 62,7 mm.

La lecture des fractions du millimètre est plus rapide sur les modèles à montre : une aiguille tourne autour de son axe et indique un point, sur un cadran circulaire représentant un centimètre divisé en dixièmes de millimètres.

Il faut, pour obtenir des mesures exactes, s'assurer que le pied à coulisse indique bien zéro lorsqu'aucun objet n'y est inséré. Un système de « réglage du zéro » est parfois prévu. Il peut par exemple s'agir, pour les modèles à montre, d'une possibilité de rotation du cadran : on amène le zéro du cadran en face de l'aiguille lorsqu'aucun objet n'est inséré dans l'instrument. Sans ce réglage, les résultats risquent d'être entachés d'une erreur systématique correspondant à la différence entre le zéro réel et le zéro de l'instrument.

### 3.2. Expression des résultats

Enfin, l'expression des résultats dépend de la nature et de l'ordre de grandeur de l'objet mesuré. Il est bien évident que donner le diamètre du chapeau d'un tricholome au dixième de millimètre près n'a aucun sens, notamment à cause de la très grande variabilité naturelle des champignons. D'autre part, la moindre compression du chapeau, un imperceptible dessèchement, un choix non optimal du diamètre mesuré, et bien d'autres causes, font allègrement varier les mesures de plusieurs millimètres ; le centimètre (ou, à la rigueur, le demi-centimètre) constitue donc une approximation suffisante. Ainsi, on arrondira à dix centimètres le diamètre d'un chapeau pour lequel on a obtenu la mesure de nonante-six millimètres et quatre dixièmes.

Ordre de grandeur	Précision à respecter	Unité d'arrondissement	Exemple de mesure réelle	Expression du résultat
10 cm	$\pm 0,5$ cm	cm	86,1 mm	9 cm
5 cm	$\pm 0,25$ cm	$\frac{1}{2}$ cm	53,7 mm	5,5 cm
1 cm	$\pm 0,5$ mm	mm	11,5 mm	12 mm <sup>(27)</sup>
5 mm	$\pm 0,25$ mm	$\frac{1}{2}$ mm	4,3 mm	4,5 mm
1 mm	$\pm 0,05$ mm	$\frac{1}{10}$ mm	0,8 mm	0,8 mm

**Tableau 1 :** Précision à prendre en compte lors de l'expression du résultat des mesures, sur base d'une erreur relative maximale de cinq pour cent. Les trois colonnes de gauche

<sup>(26)</sup> Il ne peut jamais y avoir qu'un seul trait du vernier exactement en face d'un des traits de l'échelle millimétrique, sauf dans le cas où l'objet mesure un nombre entier de millimètres : le premier et le onzième trait du vernier sont alors chacun en face d'un des traits de l'autre échelle.

<sup>(27)</sup> On arrondit toujours à l'unité supérieure les décimales égales ou supérieures à cinq. Les décimales inférieures à cinq sont arrondies à l'unité inférieure.

donnent les valeurs théoriques pour quelques ordres de grandeur fréquents en mycologie ; les deux colonnes de droite en donnent des exemples concrets.

En gros, il semble qu'une précision relative de cinq pour cent sur les mesures macroscopiques soit largement suffisante en mycologie. Le tableau 1 donne quelques ordres de grandeur pour des mesures courantes chez les champignons, avec la précision théorique à respecter et l'unité ou la fraction d'unité à laquelle les valeurs devraient être arrondies.

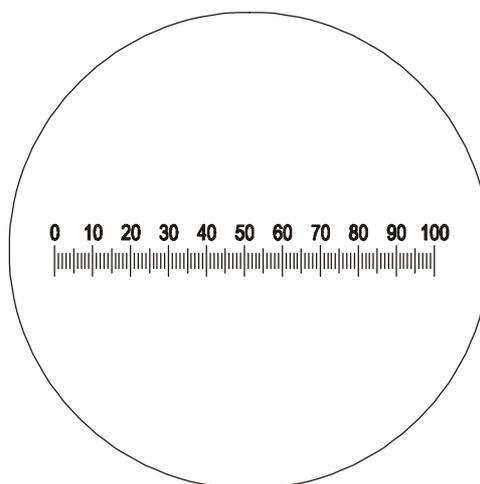
Dans ce tableau, le choix des unités pour l'expression des résultats n'est pas innocent. Des mesures telles que 9 cm ou 5,5 cm doivent bien être exprimées en centimètres et non pas en millimètres, car indiquer 90 mm ou 55 mm, dans le but principal d'éviter les décimales, supposerait que la mesure est précise au millimètre près, ce qui n'a pas de sens <sup>(28)</sup>. De même, et de manière encore plus flagrante, les mesures comme 4,5 mm ou 0,8 mm doivent évidemment être exprimées en millimètres, et non pas en micromètres.

#### 4. Mesures à l'échelle microscopique : généralités

A l'échelle microscopique, des mesures de différents types sont rendues possibles grâce à des dispositifs plus ou moins sophistiqués. Les mesures de longueurs, qui donnent accès, principalement par le truchement des méthodes mathématiques, aux mesures de surfaces et de volumes, voire de masses, sont évidemment les plus courantes. Mais le microscope permet également la réalisation de mesures d'épaisseur, d'angles, de viscosité, de dureté, d'indices de réfraction, etc., sur lesquelles nous ne nous étendrons pas.

Trois techniques d'usage courant permettent la réalisation des mesures de longueur au microscope : les oculaires micrométriques, le dessin et la photographie. Exactement comme à l'échelle macroscopique, les mesures micrométriques sont réalisées par comparaison avec un étalon, en l'occurrence le micromètre-objet <sup>(29)</sup>. Celui-ci est composé d'une lame porte-objet sur laquelle des traits ont été gravés, espacés par un intervalle dont la longueur est connue avec exactitude. Il s'agit en général d'un millimètre divisé en centièmes, soit cent divisions de dix micromètres chacune. Cet étalon servira aussi bien aux mesures réalisées à l'aide des oculaires micrométriques, qu'aux mesures qui découlent du dessin ou de la photographie.

Les oculaires micrométriques ont ceci de particulier que le constructeur y a inséré un graticule (LOCQUIN et LANGERON, 1978), composé d'un disque de verre portant une échelle graduée semblable à celle que représente la figure 3. La lentille d'œil <sup>(30)</sup> est montée sur une bague fileté permettant de réaliser la mise au point du graticule.



**Figure 3 :** Graticule des oculaires micrométriques.

On trouve également, sur le marché, des disques de verre gradués, destinés à être insérés au niveau du plan focal des oculaires ordinaires, afin de les convertir en oculaires micrométriques. En pratique, il suffit de dévisser la lentille d'œil, de déposer le graticule sur le diaphragme de l'oculaire,

<sup>(28)</sup> En vérité, pour la même raison, au lieu d'indiquer « 5,5 cm », il serait préférable d'écrire « 5½ cm ».

<sup>(29)</sup> Le micromètre-objet est en fait un étalon secondaire, construit à partir du mètre, l'étalon primaire.

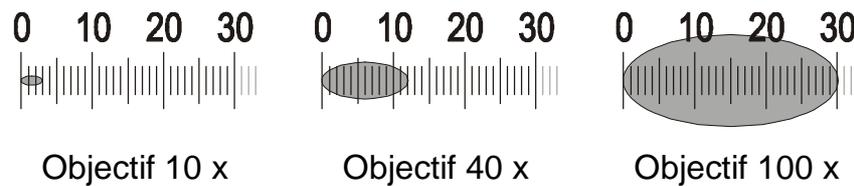
<sup>(30)</sup> On appelle « lentille d'œil » d'un oculaire la lentille contre laquelle se trouve l'œil lors de l'observation (voir figure 5/9). La lentille qui est située à l'autre extrémité de l'oculaire porte le nom de « lentille de champ ».

puis de revisser la lentille. Mais cette solution économique n'est pas sans présenter de sérieux inconvénients. D'une part, il est impossible, sans bricolage, de réaliser la mise au point de l'échelle micrométrique ; pour peu que l'œil de l'observateur ne soit pas parfaitement normal, cette échelle risquera d'apparaître constamment floue. D'autre part, le disque n'étant pas fixé, il peut se déplacer dans le tube de l'oculaire lors des mesures. Il est toutefois assez simple de remédier à cet inconvénient en scellant le graticule sur le diaphragme de l'oculaire au moyen d'une goutte de baume du Canada.

## 5. Etalonnage des oculaires micrométriques

### 5.1. Nécessité de l'étalonnage

L'objectif agrandit l'image de l'objet observé, mais pas celle du graticule de l'oculaire micrométrique. Par conséquent, alors que la distance réelle, absolue, qui sépare les traits du graticule est évidemment invariable, la valeur relative des divisions varie en fonction du grossissement. C'est ce qu'illustre la figure 4.



**Figure 4 :** Apparence d'un même objet, mesurant *environ* 30 µm, observé à l'aide d'un même oculaire micrométrique, mais avec trois objectifs différents. La longueur physique de l'objet est évidemment identique, qu'il soit observé à travers un objectif 10 x, un objectif 40 x ou un objectif 100 x. Mais la taille de son image varie selon le grossissement, alors que l'image des graduations, elle, ne varie pas. Cet exemple montre bien que la valeur d'une division du graticule varie en fonction du grossissement : avec l'objectif 10 x, une division vaut *environ* 10 µm ( $\pm 30 \mu\text{m} / 3 \text{ graduations} \cong 10 \mu\text{m}$ ) ; avec l'objectif 40 x, une division vaut *environ* 2,5 µm ( $\pm 30 \mu\text{m} / 12 \cong 2,5 \mu\text{m}$ ) ; avec l'objectif 100 x, une division vaut *environ* 1 µm ( $\pm 30 \mu\text{m} / 30 \cong 1 \mu\text{m}$ ).

Trois facteurs principaux influencent le grossissement du microscope : la puissance de l'*objectif*, celle de l'*oculaire*, et la distance qui sépare l'objectif de l'oculaire, c'est-à-dire la *longueur du tube* <sup>(31)</sup>. Ces trois facteurs sont donc susceptibles de modifier la valeur relative des divisions de l'échelle micrométrique par rapport à l'image de l'objet. Dès lors, l'étalonnage devra être effectué pour *chacune des combinaisons* possibles de ces trois éléments.

D'une manière générale, les constructeurs calculent leurs oculaires micrométriques de telle manière qu'une division du graticule corresponde à *peu près* à un micromètre lors de l'observation avec les objectifs 100 x à immersion. C'est la raison pour laquelle de nombreuses personnes ont tendance à négliger l'étalonnage de leurs optiques...

L'étalonnage doit donc être effectué avec *chaque oculaire micrométrique*, y compris s'ils ont été fabriqués par le même constructeur et s'ils sont du même modèle. En effet, de très légères différences peuvent apparaître d'un lot à l'autre.

Il en va de même pour les objectifs : chaque oculaire micrométrique doit être étalonné *pour chaque objectif*, même si ceux-ci sont de la même marque et du même modèle. On pourrait être tenté de n'étalonner que l'objectif 100 x à immersion et de se dire que, puisqu'un objectif 10 x est dix fois moins puissant que l'objectif 100 x, il suffit de multiplier par dix le coefficient trouvé pour l'objectif 100 x afin d'obtenir celui de l'objectif 10 x. Mais ce serait une erreur, car le grossissement indiqué sur les objectifs et sur les oculaires n'est jamais qu'*approximatif*.

Enfin, l'étalonnage doit être fait en *tenant compte* des caractéristiques du tube du microscope, à savoir sa constitution et sa longueur. L'importance de ces deux paramètres, bien qu'elle soit largement méconnue, est absolument primordiale. Concrètement, l'étalonnage de chaque combinaison objectif-oculaire doit être réalisé pour une longueur et une constitution bien précises du tube.

<sup>(31)</sup> A l'origine, le tube du microscope était un simple cylindre métallique aux extrémités duquel étaient fixés l'objectif et l'oculaire. Actuellement, le nom de tube a été conservé, bien que son sens se soit élargi : il désigne, sur les microscopes modernes, l'ensemble des éléments mécaniques et optiques qui définissent le trajet de la lumière entre l'objectif et l'oculaire.

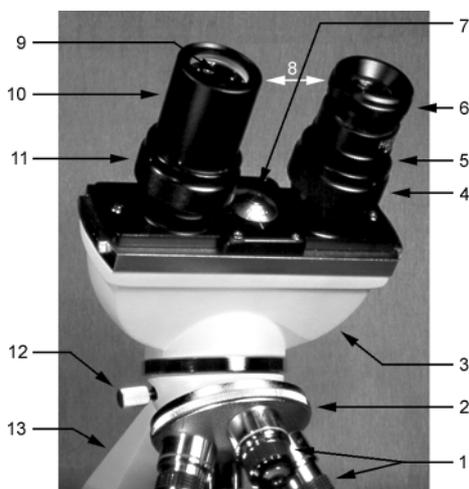
La constitution du tube varie évidemment d'un microscope à l'autre <sup>(32)</sup>, mais elle peut également varier sur un même instrument, par exemple lors du montage d'accessoires photographiques ou lors du remplacement d'une tête monoculaire par une tête binoculaire.

De même, la longueur du tube, bien qu'elle soit partiellement standardisée depuis longtemps, varie encore d'un constructeur à l'autre, essentiellement entre les valeurs de 160 ou de 170 mm. Mais la longueur du tube peut également varier sur un même microscope, non seulement suite au montage d'accessoires divers, mais également, très simplement, par la modification de l'*écart interpupillaire* <sup>(33)</sup> ou du *réglage dioptrique* <sup>(34)</sup> ! Cette variation de la longueur du tube intéresse essentiellement les microscopes binoculaires, et peut conduire à des erreurs de mesure considérables ; nous verrons des exemples plus bas.

## 5.2. Réglages préalables à l'étalonnage

Tout microscope doit impérativement être réglé correctement avant d'être étalonné. Le protocole de réglage dépend de différents paramètres : nature monoculaire ou binoculaire du microscope ; type de mouvement permettant le réglage de l'écart interpupillaire ; présence d'une compensation automatique de la modification de la longueur du tube lors du réglage de l'écart interpupillaire ; possibilité d'une compensation manuelle ; possibilité de réglage dioptrique sur un des tubes porte-oculaires, voire sur les deux ; etc.

Nous avons mis au point treize protocoles, consignés plus bas, qui décrivent le réglage de seize modèles différents de microscopes. Il est bien évident que cet exposé n'est pas exhaustif, et que tous les types de microscopes n'ont pas pu être évoqués. Le choix s'est tout naturellement orienté vers les modèles les plus courants.



**Figure 5 :** Les différents organes de la partie supérieure d'un microscope binoculaire. 1- objectifs ; 2- revolver ; 3- tête binoculaire pouvant tourner sur 360 ° ; 4- bague de compensation de l'écart interpupillaire ; 5- bague permettant la rotation de l'oculaire micrométrique ; 6- bague de mise au point du graticule ; 7- échelle indiquant la valeur de l'écart interpupillaire ; 8- mouvement de réglage de l'écart interpupillaire ; 9- lentille d'œil ; 10- oculaire ordinaire ; 11- bague de réglage dioptrique ; 12- vis de blocage de la tête binoculaire ; 13- potence, faisant partie du statif. L'échelle du tube portant l'oculaire micrométrique n'apparaît pas sur cette figure ; elle se trouve à l'arrière. La terminologie est fort semblable en ce qui concerne les microscopes monoculaires, à quelques détails près.

Le souci de clarté nous a poussé à limiter au maximum le nombre de renvois, c'est pourquoi le parti a été pris de rédiger des protocoles complets, chacun se suffisant à lui-même. Mais ce choix nous a obligé à faire de très nombreuses redites d'un protocole à l'autre. Afin de simplifier la recher-

<sup>(32)</sup> Pas question donc de prendre son oculaire micrométrique et de l'utiliser, sans recommencer l'étalonnage, pour mesurer des spores avec le microscope du voisin, comme nous l'avons vu faire souvent, notamment à l'occasion de congrès.

<sup>(33)</sup> L'écart interpupillaire n'est pas entendu ici au point de vue de l'observateur, mais il désignera la distance physique séparant le centre des deux oculaires des microscopes binoculaires.

<sup>(34)</sup> On appelle « réglage dioptrique » la manoeuvre qui permet d'équilibrer les oculaires de manière à ce que les yeux perçoivent tous deux une image parfaitement nette. Le réglage dioptrique est rendu possible grâce à la présence, sur au moins un des deux tubes du microscope, d'une bague fileté permettant d'allonger ou de raccourcir légèrement le tube, afin de compenser une éventuelle différence de vision entre les deux yeux.

che fastidieuse du protocole adapté à l'instrument que l'on s'est mis en devoir d'étalonner, nous avons rédigé une clé de choix du bon protocole, basée sur le même principe que les clés dichotomiques d'identification des champignons. La figure 5 nomme les principales parties du microscope dont il sera question dans les lignes qui suivent.

### 5.2.1. Clé de choix du bon protocole de réglage

Cette clé permet de choisir le bon protocole de réglage, parmi les treize qui sont décrits à la section suivante.

- [1.a] Le microscope est monoculaire ..... PROTOCOLE A
- [1.b] Le microscope est binoculaire (si le microscope possède plus de deux tubes porte-oculaires, les seuls dont il sera question dans la suite de cette clé sont les deux qui servent à l'observation ordinaire) ..... 2
- [2.a] Le réglage de l'écart interpupillaire se fait par *rotation* des tubes porte-oculaires autour d'un axe excentrique, comme dans le cas des jumelles. En principe, avec ce type de tête binoculaire, le réglage de l'écart interpupillaire n'influe pas sur la longueur du tube 4
- [2.b] Le réglage de l'écart interpupillaire se fait par *glissement* des deux tubes porte-oculaires le long d'un même axe (voir figure 5/8). Avec ce type de tête binoculaire, le réglage de l'écart interpupillaire peut influencer sur la longueur du tube ..... 3
- [3.a] Le microscope possède un système de compensation automatique de la modification de la longueur du tube lorsque l'écart interpupillaire est changé (modèles haut de gamme). Ce système de compensation automatique est généralement visible par le fait que, lorsque l'utilisateur augmente l'écart interpupillaire, la longueur des deux tubes porte-oculaires diminue grâce à un mouvement mécanique, et vice versa ..... 4
- [3.b] Aucune compensation automatique n'est prévue (modèles plus modestes) ; celle-ci doit se faire manuellement. La longueur des tubes porte-oculaires n'est donc pas modifiée automatiquement lorsque l'utilisateur règle l'écart interpupillaire de son instrument. En principe, la présence d'une échelle graduée doit permettre la lecture de la valeur de l'écart interpupillaire, exprimée en millimètres, et une échelle semblable doit être gravée sur au moins un des deux tubes porte-oculaires ..... 5
- [4.a] Aucun des deux tubes porte-oculaires ne présente de bague de réglage dioptrique (modèles mal conçus) ..... PROTOCOLE B
- [4.b] Un seul des deux tubes porte-oculaires présente une bague de réglage dioptrique (cas le plus fréquent) ..... PROTOCOLE C
- [4.c] Une bague de réglage dioptrique est présente sur chacun des deux tubes ..... PROTOCOLE D
- [5.a] Aucune échelle permettant la lecture de la valeur de l'écart interpupillaire n'est présente (modèles mal conçus) ..... 6
- [5.b] Une échelle permet la lecture de la valeur de l'écart interpupillaire .. 7
- [6.a] Aucun des deux tubes porte-oculaires ne présente de bague de réglage dioptrique PRO-  
TOCOLE E
- [6.b] Un seul des deux tubes porte-oculaires présente une bague de réglage dioptrique PRO-  
TOCOLE F
- [6.c] Une bague de réglage dioptrique est présente sur chacun des deux tubes ..... PROTOCOLE G
- [7.a] Aucun des deux tubes porte-oculaires ne présente d'échelle reprenant les valeurs possibles de l'écart interpupillaire (modèles mal conçus) ..... 8
- [7.b] Un des deux tubes porte-oculaires présente à la fois une échelle correspondant à celle qui permet la lecture de la valeur de l'écart interpupillaire et une bague de réglage. L'autre tube porte-oculaire ne présente pas d'échelle, mais est souvent doté d'une bague de réglage dioptrique ..... 9
- [7.c] Chacun des deux tubes porte-oculaires présente à la fois une échelle semblable à celle permettant la lecture de la valeur de l'écart interpupillaire et une bague de réglage. Cette dernière peut servir indifféremment à la compensation ou au réglage dioptrique PROTOCOLE H

- [8.a] Aucun des deux tubes porte-oculaires ne présente de bague de réglage dioptrique PRO-  
TOCOLE I
- [8.b] Un seul des deux tubes porte-oculaires présente une bague de réglage dioptrique PRO-  
TOCOLE J
- [8.c] Une bague de réglage dioptrique est présente sur chacun des deux  
tubes..... PROTOCOLE K
- [9.a] Le tube qui porte l'échelle présente une bague de réglage, mais l'autre tube en est dépourvu  
(modèles mal conçus) ..... PROTOCOLE L
- [9.b] Les deux tubes, aussi bien celui qui présente une échelle que celui qui en  
est dépourvu, sont dotés d'une bague de réglage (cas le plus  
fréquent) ..... PROTOCOLE M

### 5.2.2. Protocoles de réglage

Ces protocoles aiguillent le choix, parmi les deux tubes porte-oculaires, de celui qui devra recevoir l'oculaire micrométrique. Une fois ce choix effectué, il faudra absolument veiller à toujours insérer l'oculaire micrométrique dans le même tube, que ce soit lors de l'étalonnage ou pour la réalisation des mesures. Les protocoles indiquent également, pour chaque type de microscope, de quelle manière l'écart interpupillaire et le réglage dioptrique doivent être établis afin de pouvoir procéder à l'étalonnage et, ultérieurement, aux mesures. Enfin, ils renseignent sur la possibilité éventuelle de pouvoir modifier l'écart interpupillaire et/ou le réglage dioptrique après avoir réalisé l'étalonnage, sans risquer d'introduire des erreurs de mesure, et sans devoir recommencer l'étalonnage.

Toutefois, afin d'éviter de les répéter dans chacun des protocoles, les techniques générales à utiliser pour réaliser, de manière optimale, les réglages dioptrique et d'écart interpupillaire, ne seront décrits qu'à la section 5.2.4.

#### *5.2.2.1. Microscopes monoculaires*

**PROTOCOLE A :** L'étalonnage des microscopes monoculaires ne présente pas de difficulté particulière, car la longueur de leur tube, en dehors de l'adaptation d'accessoires, est rarement amenée à varier. Il suffit donc d'insérer l'oculaire micrométrique dans le tube porte-oculaire et de procéder à l'étalonnage avec chaque objectif.

#### *5.2.2.2. Microscopes binoculaires à réglage interpupillaire n'influant pas sur la longueur du tube*

**PROTOCOLE B :** L'étalonnage de ce type de microscopes se ramène à celui des microscopes monoculaires, car, en dehors de l'adaptation d'accessoires, la longueur de leurs tubes n'est en principe pas amenée à varier. Il suffit d'insérer l'oculaire micrométrique dans un des deux tubes porte-oculaires et de procéder à l'étalonnage avec chaque objectif. Le réglage de l'écart interpupillaire peut être modifié à n'importe quel moment, même après l'étalonnage, sans aucun risque d'introduire des erreurs de mesure. Le réglage dioptrique est, quant à lui, impossible sans bricolage. Voyez la section 5.2.3.

**PROTOCOLE C :** La longueur du tube portant la bague est amenée à varier chaque fois que l'observateur effectue le réglage dioptrique. Il est donc impératif d'insérer l'oculaire micrométrique dans le tube fixe, c'est-à-dire celui qui ne possède pas de bague. Procéder ensuite à l'étalonnage de chaque objectif. Dans ces conditions, les réglages dioptrique et d'écart interpupillaire peuvent être effectués à n'importe quel moment, même après l'étalonnage, sans aucun risque d'introduire des erreurs de mesure. Voyez la section 5.2.3.

**PROTOCOLE D :** La longueur de chacun des deux tubes est amenée à varier toutes les fois que l'utilisateur modifie le réglage dioptrique du tube concerné. Il est donc impératif d'immobiliser le tube destiné à recevoir l'oculaire micrométrique : choisir ce tube et le fixer, par exemple à l'aide d'une bande adhésive, dans une position quelconque <sup>(35)</sup>. Une autre solution consiste à graver un repère

<sup>(35)</sup> Le début ou la fin de course de la bague représentent les deux meilleures positions, car la butée constitue un point de repère précieux. Le choix du début ou de la fin de course dépend de la vision de l'observateur, si elle n'est pas parfaitement normale ou s'il ne porte pas ses lunettes lorsqu'il observe au microscope. En effet, un mauvais choix risque d'entraver le réglage dioptrique sur le tube qui ne porte pas l'oculaire micrométrique ; le plus sûr est de réaliser des essais. Il est à noter que les personnes atteintes d'astigmatisme doivent toujours porter leurs lunettes lorsqu'elles observent au microscope. Les myopes, les hypermétropes et les presbytes, par contre, peuvent indifférem-

permettant de retrouver la même position chaque fois que des mesures devront être effectuées. Procéder ensuite à l'étalonnage de chaque objectif. Le réglage de l'écart interpupillaire peut être effectué à n'importe quel moment, même après l'étalonnage, sans aucun risque d'introduire des erreurs de mesure. Il en va de même pour le réglage dioptrique, à condition qu'il soit effectué uniquement sur le tube qui ne porte pas l'oculaire micrométrique. Voyez la section 5.2.3.

### 5.2.2.3. Microscopes binoculaires à réglage interpupillaire influant sur la longueur du tube

**PROTOCOLE E :** La longueur des tubes de ce type de microscopes est amenée à varier chaque fois que l'observateur modifie l'écart interpupillaire, sans repère ni compensation possible. Il est donc impératif de régler précisément l'écart interpupillaire et de l'immobiliser fermement dans une position convenable (par exemple à l'aide de bandes adhésives), ou au moins de graver un repère permettant de retrouver cette position chaque fois que des mesures devront être effectuées. Insérer ensuite l'oculaire micrométrique dans un des deux tubes porte-oculaires et procéder à l'étalonnage de chaque objectif. Le réglage dioptrique est impossible sans bricolage. Rappelons que l'écart interpupillaire ne peut pas être modifié sans recommencer l'étalonnage.

**PROTOCOLE F :** La longueur des tubes de ce type de microscopes est amenée à varier chaque fois que l'observateur modifie l'écart interpupillaire, sans repère ni compensation possible. Il est donc impératif de régler précisément l'écart interpupillaire et de l'immobiliser fermement dans une position convenable (par exemple à l'aide de bandes adhésives), ou au moins de graver un repère permettant de retrouver cette position chaque fois que des mesures devront être effectuées. D'autre part, la longueur du tube portant la bague varie chaque fois que l'observateur effectue le réglage dioptrique. L'oculaire micrométrique doit donc obligatoirement être inséré dans le tube fixe, c'est-à-dire celui qui ne possède pas de bague. Procéder ensuite à l'étalonnage de chaque objectif. Dans ces conditions, le réglage dioptrique peut être effectué à n'importe quel moment, même après l'étalonnage, sans aucun risque d'introduire des erreurs de mesure. Rappelons que l'écart interpupillaire ne peut pas être modifié sans recommencer l'étalonnage.

**PROTOCOLE G :** La longueur des tubes de ce type de microscopes est amenée à varier chaque fois que l'observateur modifie l'écart interpupillaire ou le réglage dioptrique, sans repère ni compensation possible. Il est donc impératif de régler précisément l'écart interpupillaire et de l'immobiliser fermement dans une position convenable (par exemple à l'aide de bandes adhésives), ou au moins de graver un repère permettant de retrouver cette position chaque fois que des mesures devront être effectuées. De même, il est indispensable d'immobiliser le tube destiné à recevoir l'oculaire micrométrique : choisir ce tube et le fixer dans une position quelconque <sup>(36)</sup>. Là aussi, la gravure d'un repère peut être suffisante. Procéder ensuite à l'étalonnage de chaque objectif. Le réglage dioptrique peut être effectué à n'importe quel moment, même après l'étalonnage, sans aucun risque d'introduire des erreurs de mesure, à condition qu'il soit effectué uniquement sur le tube qui ne porte pas l'oculaire micrométrique. Rappelons que l'écart interpupillaire ne peut pas être modifié sans recommencer l'étalonnage.

**PROTOCOLE H :** La longueur des tubes de ce type de microscopes est amenée à varier chaque fois que l'observateur modifie le réglage dioptrique ou l'écart interpupillaire, mais une compensation est possible. Dès lors, la seule règle qu'il est indispensable de respecter pour éviter les erreurs de mesure est de toujours reporter la valeur de l'écart interpupillaire (lue sur l'échelle indicatrice) sur l'échelle portée par le tube dans lequel se trouve l'oculaire micrométrique. En pratique, commencer par régler l'écart interpupillaire, puis insérer l'oculaire micrométrique dans un des deux tubes porte-oculaires. Reporter la valeur de l'écart interpupillaire sur l'échelle de ce tube, en tournant la bague de compensation. Procéder ensuite à l'étalonnage de chaque objectif. Le réglage dioptrique peut donc être effectué à n'importe quel moment, même après l'étalonnage, à condition qu'il le soit uniquement sur le tube qui ne porte pas l'oculaire micrométrique. Il en va de même pour l'écart interpupillaire, à condition de toujours reporter la valeur de cet écart sur l'échelle du tube qui porte l'oculaire micrométrique.

**PROTOCOLE I :** La longueur des tubes de ce type de microscopes est amenée à varier chaque fois que l'observateur modifie l'écart interpupillaire, sans compensation possible. Il est donc impératif de commencer par régler précisément l'écart interpupillaire et d'en noter soigneusement la valeur, qui constituera la « position de mesure ». Insérer ensuite l'oculaire micrométrique dans un des deux tubes porte-oculaires et procéder à l'étalonnage de chaque objectif. Le réglage dioptrique est impossible

---

ment observer avec ou sans leurs bésicles, sans que cela ait une influence sur la qualité de l'image perçue, ni d'ailleurs sur l'étalonnage de l'oculaire micrométrique.

<sup>(36)</sup> Voir <sup>(13)</sup>.

sans bricolage, et le réglage interpupillaire doit être ramené à la « position de mesure » avant de procéder aux mesures.

**PROTOCOLE J :** La longueur des tubes de ce type de microscopes est amenée à varier chaque fois que l'observateur modifie l'écart interpupillaire, sans compensation possible. Il est donc impératif de commencer par régler précisément l'écart interpupillaire et d'en noter soigneusement la valeur, qui constituera la « position de mesure ». D'autre part, la longueur du tube portant la bague varie chaque fois que l'observateur effectue le réglage dioptrique. L'oculaire micrométrique doit donc obligatoirement être inséré dans le tube fixe, c'est-à-dire celui qui ne possède pas de bague. Procéder ensuite à l'étalonnage de chaque objectif. Dans ces conditions, le réglage dioptrique peut être effectué à n'importe quel moment, même après l'étalonnage, sans aucun risque d'introduire des erreurs de mesure. Le réglage interpupillaire doit être ramené à la « position de mesure » avant de procéder aux mesures

**PROTOCOLE K :** La longueur des tubes de ce type de microscopes est amenée à varier chaque fois que l'observateur modifie l'écart interpupillaire ou le réglage dioptrique, sans compensation possible. Il est donc impératif de commencer par régler précisément l'écart interpupillaire et d'en noter soigneusement la valeur, qui constituera la « position de mesure ». De même, il est indispensable d'immobiliser le tube destiné à recevoir l'oculaire micrométrique : choisir ce tube et le fixer, par exemple à l'aide d'une bande adhésive, dans une position quelconque <sup>(37)</sup>. Une autre solution consiste à graver un repère permettant de retrouver la même position chaque fois que des mesures devront être effectuées. Procéder ensuite à l'étalonnage de chaque objectif. Le réglage dioptrique peut être effectué à n'importe quel moment, même après l'étalonnage, sans aucun risque d'introduire des erreurs de mesure, à condition qu'il soit effectué uniquement sur le tube qui ne porte pas l'oculaire micrométrique. De même, le réglage interpupillaire peut être modifié à condition de le ramener à la « position de mesure » avant de procéder aux mesures.

**PROTOCOLE L :** La longueur des tubes de ce type de microscopes est amenée à varier chaque fois que l'observateur modifie l'écart interpupillaire, mais une compensation est possible, grâce à l'échelle qui se trouve sur un des deux tubes porte-oculaires. C'est donc dans ce tube que doit impérativement être inséré l'oculaire micrométrique. Dans ces conditions, la seule règle qu'il est indispensable de respecter pour éviter les erreurs de mesure est de toujours reporter la valeur de l'écart interpupillaire (lue sur l'échelle indicatrice) sur l'échelle portée par le tube dans lequel se trouve l'oculaire micrométrique. En pratique, commencer par régler l'écart interpupillaire, puis insérer l'oculaire micrométrique dans le tube portant l'échelle. Reporter la valeur de l'écart interpupillaire sur l'échelle de ce tube en tournant la bague de compensation. Procéder ensuite à l'étalonnage de chaque objectif. Le réglage de l'écart interpupillaire peut donc être effectué à n'importe quel moment, même après l'étalonnage, à condition de toujours reporter la valeur de cet écart sur l'échelle du tube qui porte l'oculaire micrométrique. Etant donné que l'autre tube porte-oculaire ne présente pas de bague de réglage dioptrique, ce dernier est impossible sans bricolage.

**PROTOCOLE M :** La longueur des tubes de ce type de microscopes est amenée à varier chaque fois que l'observateur modifie l'écart interpupillaire, mais une compensation est possible, grâce à l'échelle qui se trouve sur un des deux tubes porte-oculaires. C'est donc dans ce tube que doit impérativement être inséré l'oculaire micrométrique. Dans ces conditions, la seule règle qu'il est indispensable de respecter pour éviter les erreurs de mesure est de toujours reporter la valeur de l'écart interpupillaire (lue sur l'échelle indicatrice) sur l'échelle portée par le tube dans lequel se trouve l'oculaire micrométrique. En pratique, commencer par régler l'écart interpupillaire, puis insérer l'oculaire micrométrique dans le tube portant l'échelle. Reporter la valeur de l'écart interpupillaire sur l'échelle de ce tube en tournant la bague de compensation. Procéder ensuite à l'étalonnage de chaque objectif. Le réglage dioptrique peut donc être effectué à n'importe quel moment, même après l'étalonnage, à condition qu'il le soit uniquement sur le tube qui ne porte pas l'oculaire micrométrique. De même, l'écart interpupillaire peut être modifié, à condition de toujours reporter la valeur de cet écart sur l'échelle du tube qui porte l'oculaire micrométrique.

### 5.2.3. Remarque importante concernant les protocoles B, C et D.

Les protocoles B, C et D s'appliquent aux microscopes pour lesquels le réglage de l'écart interpupillaire n'influence pas la longueur du tube, soit parce que ce réglage se fait par rotation des

---

<sup>(37)</sup> Voir <sup>(13)</sup>.

tubes porte-oculaires autour d'un axe excentrique, soit parce qu'un système de compensation automatique est prévu.

Il est simple et très utile de vérifier que la longueur du tube est effectivement invariable : il suffit de mesurer deux fois un même objet (assez long de préférence), aux deux positions extrêmes de l'écart interpupillaire : la longueur obtenue doit être rigoureusement identique dans les deux cas. Bien entendu, ce test n'est valable que si l'écart interpupillaire est le seul paramètre qui varie. Eviter donc de modifier le réglage dioptrique entre les deux mesures... D'autre part, une mesure absolue, exprimée en micromètres, n'est pas nécessaire : il suffit de compter les graduations, et éventuellement d'évaluer les fractions de graduations si leur nombre n'est pas entier. Pour la même raison, n'importe quel objectif peut convenir à cette opération. Dans le cas, peu probable, où les longueurs obtenues aux deux extrémités de l'échelle ne seraient pas exactement identiques, il faudrait reprendre la clé de choix du bon protocole à partir de la question 5.

Une bonne indication de l'invariabilité probable de la longueur du tube est également donnée par l'absence d'échelle indiquant la valeur de l'écart interpupillaire, combinée à l'absence d'échelle correspondante sur les tubes porte-oculaires. Mais attention aux constructeurs peu consciencieux qui ne se préoccupent pas nécessairement des erreurs que pourraient commettre les utilisateurs de leurs microscopes en modifiant l'écart interpupillaire de leur appareil.

#### 5.2.4. Réglage de l'écart interpupillaire et réglage dioptrique

##### *5.2.4.1. Réglage de l'écart interpupillaire*

L'idéal, afin de parvenir aisément à régler l'écart interpupillaire d'un microscope, est de le faire dans des conditions normales d'observation, avec une préparation sous les yeux. Le plus simple est d'écartier au maximum les deux tubes porte-oculaires, puis de les rapprocher lentement, jusqu'à ce que les deux images se confondent exactement en une seule. Ne pas oublier de reporter, si nécessaire, la valeur de l'écart interpupillaire (lue grâce à l'échelle indicatrice) sur le tube qui porte l'oculaire micrométrique. L'exactitude de cette correction peut aisément être vérifiée, en s'assurant que les mesures obtenues à la valeur minimale de l'écart interpupillaire sont rigoureusement identiques à celles que l'on obtient lorsque celui-ci est maximal. Si ce n'était pas le cas, il faudrait réaliser l'étalonnage et les mesures en conservant toujours exactement le même écart interpupillaire.

Lorsqu'on n'a aucune habitude de l'observation binoculaire, le réglage de l'écart interpupillaire peut s'avérer délicat, car l'image n'est entièrement visible que lorsque les yeux sont parfaitement dans l'axe des oculaires. Le moindre mouvement des yeux ou de la tête suffit à faire disparaître une des deux images, sans qu'on s'en aperçoive toujours immédiatement, à cause de l'autre image qui continue à être observée normalement. Pour cette raison, il est important de choisir un siège de hauteur convenable, afin d'être dans une position d'observation confortable, et que les yeux soient bien dans l'axe des oculaires, sans devoir faire d'effort pour y parvenir.

##### *5.2.4.2. Réglage dioptrique*

Il ne peut être effectué que si le tube qui ne porte pas l'oculaire micrométrique est pourvu d'une bague de réglage. On choisira, pour réaliser le réglage dioptrique, une préparation qui présente des détails particulièrement fins, quoique suffisamment contrastés. Les diatomées, vendues par bon nombre de fournisseurs de microscopes afin de démontrer la qualité de leurs optiques, conviennent parfaitement à cet effet. La préparation sera observée avec le plus fort objectif à sec dont on dispose (en général 40 x). Commencer par occulter l'œil qui ne regarde pas dans l'oculaire micrométrique. A l'aide du mouvement fin - vis micrométrique <sup>(38)</sup> - du microscope, réaliser la mise au point très précise d'un détail subtil de la préparation. Changer d'œil et, sans plus toucher à la vis micrométrique, ajuster la mise au point sur le même détail, à l'aide de la bague de réglage dioptrique qui se trouve sur le tube par lequel l'œil ouvert observe, c'est-à-dire, maintenant, le tube qui porte l'oculaire ordinaire, et non pas l'oculaire micrométrique.

### **5.3. Pratique de l'étalonnage proprement dit**

---

<sup>(38)</sup> Il est bien entendu que la vis micrométrique n'a aucun rapport avec l'oculaire micrométrique. Elle porte ce nom parce que l'ampleur du mouvement vertical qu'elle imprime à la platine du microscope (ou au tube des modèles anciens) est de l'ordre du micromètre.

Le but de l'abondante littérature (!) qui précède est de permettre, quels que soient le type du microscope et les particularités des yeux de l'observateur, la réalisation, dans des conditions parfaitement constantes, de l'étalonnage et des mesures : c'est la seule manière d'arriver à des résultats exacts et reproductibles, et d'éviter de devoir recommencer l'étalonnage avant chaque mesure. C'est ainsi qu'il ne doit, en principe, être réalisé qu'une seule fois avec chaque oculaire micrométrique.

Le micromètre-objet, qui est la clé de l'étalonnage, a déjà été décrit à la section 4 : il s'agit d'une lame porte-objet sur laquelle des traits, généralement espacés d'un centième de millimètre, ont été gravés.

La première étape de l'étalonnage consiste à mettre au point le graticule de l'oculaire micrométrique en vissant ou en dévissant la bague de la lentille d'œil, jusqu'à ce que traits et chiffres apparaissent nettement. Prendre garde, ce faisant, que le tube porte-oculaire, entraîné par le mouvement, ne tourne pas lui-même (ce qui provoquerait une modification de sa longueur). Positionner ensuite le micromètre-objet sur la platine du microscope, et le mettre au point avec le premier objectif pour lequel l'étalonnage doit être réalisé. Tourner l'oculaire micrométrique dans le tube (attention : pas la bague du tube ni la bague de la lentille d'œil !), de manière à obtenir les deux échelles en position parallèle.

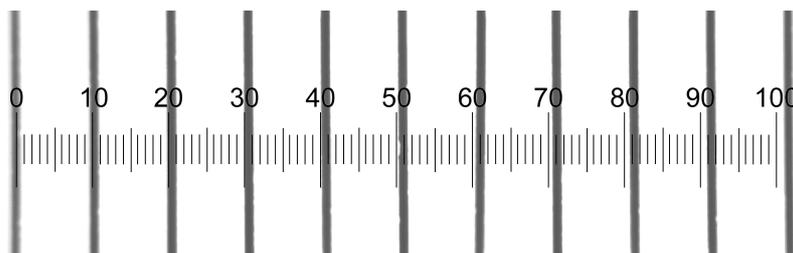
Juxtaposer (ou mieux : superposer) les deux échelles en déplaçant le micromètre-objet sur la platine (la présence d'une surplatine ou « chariot » est presque indispensable pour mener à bien cette opération), et ajuster très exactement un trait de l'échelle-étalon en face du premier trait de l'échelle oculaire. Rechercher ensuite une éventuelle correspondance entre deux traits, vers la fin de l'échelle oculaire. Compter, sur chacune des deux échelles, le nombre de divisions qui séparent les deux points de correspondance. Si, comme c'est le cas la plupart du temps, cette correspondance n'existe pas, alors il faut évaluer les fractions de divisions sur une des deux échelles. La figure 6 donne un exemple d'étalonnage pour un objectif 100 x.

Le calcul du coefficient de conversion,  $C_i$ , pour l'objectif  $i$  considéré, se fait alors grâce à la relation suivante :

$$C_i = \frac{m \times l}{n} \quad \text{Relation 1}$$

Dans cette relation,  $m$  est le nombre de divisions comptées sur le micromètre-objet, entre les deux points de correspondance ;  $l$  est la longueur, exprimée en micromètres, d'une division de l'étalon ; enfin,  $n$  est le nombre de divisions comptées sur l'échelle oculaire. La valeur obtenue pour  $C_i$  étant rarement entière, le mieux est de ne conserver que trois chiffres significatifs lors de son expression.

Afin de diminuer l'erreur due à l'expérimentateur, il est préférable de réaliser, pour chaque objectif, plusieurs étalonnages, et de prendre pour  $C_i$  la moyenne de toutes les valeurs obtenues. D'autre part, l'erreur relative sur  $m$  et sur  $n$ , et donc sur  $C_i$ , sera d'autant plus faible que les valeurs de  $m$  et de  $n$  seront grandes. Il est donc primordial de réaliser l'étalonnage sur une longueur aussi importante que possible des deux échelles. Enfin, plus le grossissement de l'objectif à étalonner sera important, plus les traits de l'étalon apparaîtront grossiers. L'étalonnage des objectifs puissants devra être réalisé en tenant compte de l'épaisseur des traits, c'est-à-dire que la recherche des deux points de correspondance entre l'échelle oculaire et l'échelle d'étalonnage devra être effectuée par rapport au bord gauche, au centre, ou au bord droit, des traits de l'étalon.



**Figure 6 :** Etalonnage d'un objectif 100 x à immersion. L'étalon est la plus grosse des deux échelles ; une division correspond à 10  $\mu\text{m}$ . Remarquer l'épaisseur importante des traits à ce grossissement. L'autre échelle est celle de l'oculaire micrométrique. Dans le

cas de cet objectif, 91,5 divisions de l'échelle oculaire correspondent à 9 divisions de l'étalon. Le coefficient  $C_{100}$  est donc, en vertu de la relation 1, de 0,984 pour cet objectif.

Au terme de l'étalonnage d'un oculaire micrométrique sur un microscope particulier, on se retrouve avec plusieurs valeurs de  $C_i$ , une pour chaque objectif. Par exemple, les valeurs  $C_4$ ,  $C_{10}$ ,  $C_{40}$ , et  $C_{100}$ , se rapportant respectivement aux objectifs 4 x, 10 x, 40 x et 100 x, sont voisines de 25, 10, 2,5 et 1, en vertu de ce qui a été dit au paragraphe 5.1. Concrètement,  $C_i$  représente le nombre de micromètres (C) de l'objet correspondant à une division de l'échelle oculaire, lorsque l'objet est observé à l'aide de l'objectif  $i$ . Il suffira donc, pour obtenir, en micromètres, la longueur (L) d'un objet mesuré, de multiplier par le coefficient  $C_i$  le nombre ( $n$ ) de divisions de l'échelle oculaire couvertes par cet objet :

$$L = n \times C_i \quad \text{Relation 2}$$

## 6. Cas particuliers du dessin et de la photographie

La réalisation de mesures à partir de dessins ou de photographies demande l'observation des mêmes règles générales que pour les mesures effectuées à l'aide des oculaires micrométriques : un étalonnage doit être réalisé pour chaque boîtier photographique ou pour chaque tube à dessiner, sur chaque microscope, et avec chaque objectif. Les mesures doivent être réalisées dans des conditions parfaitement constantes, et identiques à celles de l'étalonnage.

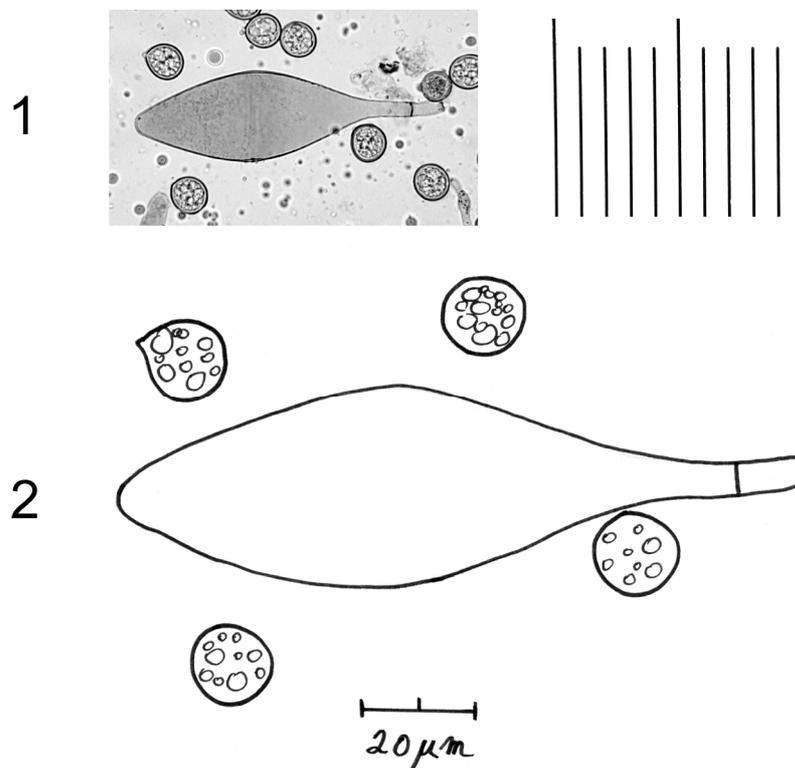
### 6.1. Réalisation de mesures à partir de la pellicule ou du dessin

La conduite de l'étalonnage est très simple, quelle que soit la technique de reproduction mise en oeuvre : il suffit, après avoir photographié ou dessiné un objet, de remplacer la préparation par le micromètre-objet et de photographier ou de dessiner celui-ci dans les mêmes conditions : même matériel, même tirage, même position en hauteur de la feuille pour le dessin, etc. On mesure ensuite, à l'aide d'une règle ou d'un pied à coulisse, sur le négatif, la diapositive ou l'épure, autant de divisions que possible de la reproduction du micromètre-objet, et on obtient le coefficient de conversion,  $C_r$ , grâce à la relation suivante :

$$C_r = \frac{m \times l}{d} \quad \text{Relation 3}$$

Dans cette relation,  $m$  est le nombre de divisions du micromètre-objet prises en compte ;  $l$  représente la longueur réelle, exprimée en micromètres, d'une de ces divisions ; et  $d$  correspond à la longueur de l'ensemble des divisions, exprimée en millimètres et mesurée sur la reproduction. Pour obtenir la longueur, exprimée en micromètres, d'un objet dessiné ou photographié, il suffit de mesurer celui-ci sur la pellicule ou sur le dessin, et de multiplier la longueur obtenue, exprimée en millimètres, par le coefficient de conversion  $C_r$  <sup>(39)</sup>. Il est à noter que cette technique de mesure est relativement peu précise, particulièrement à partir de dessins, qui ne permettent jamais une reproduction parfaitement fidèle des objets. La figure 7 donne un exemple de mesure d'une même cystide, à partir d'un dessin et d'une photographie.

<sup>(39)</sup> De la même manière que  $C_i$  représente le nombre de micromètres (C) de l'objet correspondant à une graduation de l'oculaire micrométrique en fonction du grossissement ( $i$ ), le coefficient  $C_r$  représente le nombre de micromètres (C) de l'objet correspondant à un millimètre sur la reproduction  $r$ . C'est donc un nombre sans unité, puisqu'il se rapporte à des micromètres par millimètres (équivalant à des micromètres par mille micromètres), c'est-à-dire à des pour mille.



**Figure 7 :** Mesure d'une même cystide d'*Oudemansiella mucida*, à partir d'un dessin ou d'une photographie. 1- à partir d'une photographie : dix divisions du micromètre-objet mesurent 32,5 mm. Le coefficient  $C_r$  vaut donc, ici, 3,08. Sur la photographie, la cystide mesure 36,5 mm. Sa longueur réelle est dès lors de 112,5  $\mu\text{m}$ . 2- à partir d'un dessin : deux divisions de l'étalon mesurent 15 mm, ce qui correspond à un coefficient  $C_r$  de 1,33. La longueur de la cystide est de 82 mm sur le dessin ; sa longueur réelle est donc de 109  $\mu\text{m}$ . La différence constatée entre les deux valeurs obtenues pour la longueur réelle de la cystide est due à de légères imprécisions au niveau du dessin, qui ne reproduit évidemment pas aussi fidèlement l'objet que la photographie. Notons encore que, si cette figure n'avait pas été une illustration mais bien un cas réel de mesure, elle se serait plutôt rapportée à la réalisation de mesures à partir d'images secondaires (section suivante) qu'à partir de dessins ou de photographies proprement dits, car les images présentées ci-dessus ont été numérisées et imprimées avant d'être mesurées. Au lieu d'un coefficient  $C_r$ , nous aurions donc dû calculer un coefficient  $C_{r'}$ , comme nous le verrons plus bas.

## 6.2. Réalisation de mesures sur des images secondaires

Le tirage sur papier argentique, la projection de diapositives, la numérisation de photographies, et bien d'autres, sont autant d'opérations qui infligent une modification (le plus souvent une augmentation) de taille à l'image. Afin de pouvoir réaliser des mesures à partir d'épreuves, d'images projetées sur écran ou bien numérisées, il faut tenir compte de ce facteur d'agrandissement supplémentaire, en calculant un nouveau coefficient de conversion,  $C_r$ . La meilleure méthode, pour y parvenir, est de faire subir exactement les mêmes opérations à la photographie de l'étalon qu'à celle de l'objet : projection à l'aide du même matériel, tirage à un agrandissement équivalent, ou numérisation à des résolutions identiques.

On mesure alors, sur l'image finale de l'étalon, le plus grand nombre possible de divisions, puis on calcule le coefficient  $C_r$  <sup>(40)</sup> à l'aide de la relation suivante, similaire à la relation 3, mais dans laquelle  $d'$  représente, en millimètres, la longueur de l'ensemble des divisions mesurées sur l'image finale de l'étalon, et non plus sur la pellicule :

<sup>(40)</sup> Egalement sans unité. Voir <sup>(17)</sup>.

$$C_r' = \frac{m \times l}{d'} \quad \text{Relation 4}$$

Une autre méthode, permettant de calculer  $C_r'$ , est de multiplier  $C_r$  par le rapport entre la dimension ( $p$ ) du négatif ou de la diapositive et la dimension ( $f$ ) de l'image finale (relation 5). Mais cette méthode est moins précise, car elle augmente le nombre d'étapes nécessaires au calcul du coefficient de conversion, et donc l'erreur relative sur la valeur finale obtenue pour  $C_r'$  augmente également.

$$C_r' = C_r \times \frac{p}{f} \quad \text{Relation 5}$$

Concernant le dessin, la technique est absolument comparable : il suffit d'astreindre le dessin de l'étalon aux mêmes opérations (photocopie, agrandissement, réduction, numérisation, etc.) que le dessin de l'objet lui-même, puis d'utiliser le rapport entre la dimension réelle de l'étalon et sa longueur mesurée sur l'image finale pour trouver le nouveau coefficient de conversion  $C_r'$ .

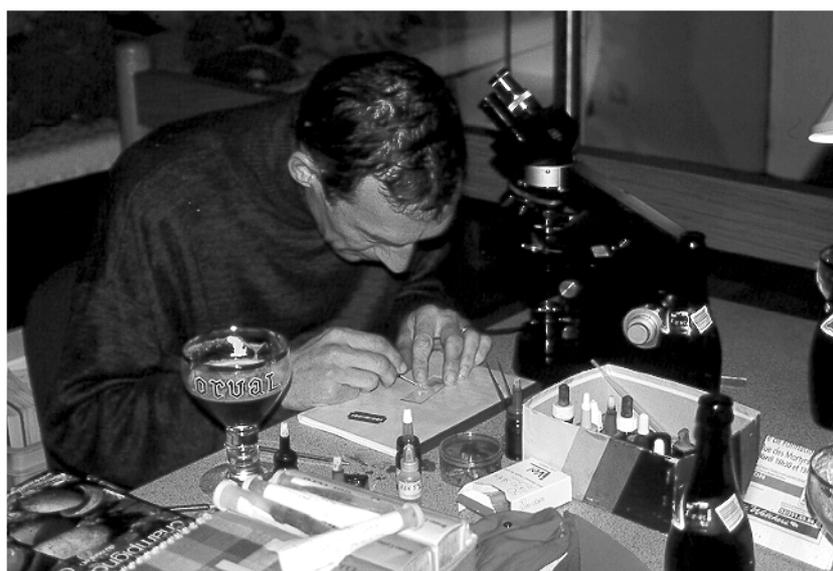
Afin d'obtenir, en micromètres, la longueur exacte d'un objet à partir de son image finale, de quelque nature qu'elle soit, il convient de multiplier, par le coefficient  $C_r'$ , la longueur de l'image, exprimée en millimètres. Enfin, il est à noter que ce coefficient permet, grâce à la relation suivante, de calculer aisément l'échelle,  $E$ , de l'image finale :

$$E = \frac{1000}{C_r'} \quad \text{Relation 6}$$

### 6.3. Fréquence utile d'étalonnage

En principe, pour autant qu'on prenne soin de toujours photographier dans des conditions constantes (même boîtier, même oculaire, même tirage, etc.), une photographie du micromètre-objet, réalisée avec chacun des objectifs, est parfaitement suffisante pour permettre la mesure d'objets à partir de toutes les photographies ultérieures, qu'elles soient sous forme de négatifs, de diapositives, d'épreuves sur papier argentique, qu'elles soient projetées à l'écran ou numérisées puis imprimées, etc. En effet, toutes ces opérations peuvent être appliquées aux photographies du micromètre-objet autant de fois que cela est nécessaire.

De même, un dessin de l'étalon, effectué avec chaque objectif, est en principe suffisant, à condition que le croquis des objets soit toujours réalisé en conservant la même position du tube à dessiner et de son miroir (s'il s'agit d'un modèle à miroir), et à condition que le papier soit toujours positionné exactement à la même hauteur par rapport au microscope. Etant donné qu'une petite variation d'un de ces paramètres est vite survenue, il est préférable d'ajouter un petit dessin du micromètre-objet à chaque épure. Ce dernier dessin aura par ailleurs l'avantage de donner l'échelle.



Micrographe en plein travail, s'apprêtant certainement à mesurer une cystide...

*Partie 2 : Pratique des mesures micrométriques ; principales sources d'erreurs ; exploitation et expression des résultats ; conclusion.*

Nous allons maintenant aborder la réalisation pratique des mesures micrométriques, et tenter de donner une définition précise des différents angles de vue (vue de face, de profil et par bout) sous lesquels les spores peuvent être observées, ainsi que des grandeurs caractéristiques (longueur, largeur, épaisseur, diamètre et hauteur). Nous envisagerons également les différentes sources des erreurs qui peuvent entacher les mesures de manière dramatique, et donnerons un aperçu des techniques d'exploitation et des modes d'expression des résultats. Enfin, une conclusion générale et une bibliographie clôtureront ce texte.

## 7. Réalisation pratique des mesures micrométriques

Le microscope photonique à fond clair ne permet de voir des objets qu'un seul plan à la fois, c'est-à-dire qu'il réduit à deux dimensions des objets qui en possèdent trois. La perception des volumes n'est possible que grâce à un effort d'imagination, qui consiste à superposer mentalement les différents plans optiques donnés par le microscope. Une spore de helvelle, par exemple, dont deux des sections sont elliptiques et la troisième circulaire, est un ellipsoïde, structure volumineuse, bien qu'elle apparaisse elliptique ou circulaire, donc plane, sous le microscope.

C'est ainsi que, tout naturellement, une grande partie des termes utilisés dans les études micrographiques est issue de la géométrie plane : les volumes, au lieu d'être décrits comme tels, le sont à partir d'une ou de plusieurs surfaces. Des éléments sphériques, ellipsoïdaux, cubiques, ovoïdaux, cylindriques, prismatiques, et bien d'autres, seront souvent qualifiés de ronds, elliptiques, carrés, ovales, rectangulaires, polygonaux, etc.

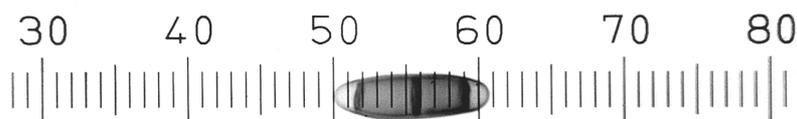
Cette simplification de la description des formes se retrouve dans l'expression des dimensions, qui sont quasiment toujours, quelle que soit la géométrie de l'objet mesuré, ramenées à des longueurs ( $L$  sur les figures), à des diamètres ( $D$ ), à des largeurs ( $l$ ), à des épaisseurs ( $e$ ) et, exceptionnellement, à des hauteurs. De fait, la description micrographique des mycètes s'encombre peu fréquemment de rayons, de bases, d'axes, de diagonales, etc.

*En principe*, la longueur est la plus grande des trois dimensions, et l'épaisseur est la plus petite. Si cette définition est souvent respectée, elle ne l'est pas toujours, notamment dans le cas des spores chez certains basidiomycètes, comme nous allons le voir plus loin. Le plus souvent toutefois, l'épaisseur des structures fongiques étant égale à leur largeur, on n'en donne que deux dimensions : leur longueur et leur diamètre (ce dernier étant, selon les auteurs, également appelé largeur ou épaisseur). C'est le cas pour l'immense majorité des spores, des basides, asques, cystides, paraphyses, hyphes, etc., et, d'une manière générale, pour tous les objets ellipsoïdaux, cylindriques, ovoïdaux, etc.

### **7.1. Méthode générale de mesure**

La mesure en elle-même ne pose que peu de difficultés : il suffit d'amener, en déplaçant la préparation et en tournant l'oculaire dans le tube, une des extrémités de l'objet en concordance avec un des traits de l'échelle oculaire, puis de compter le nombre de divisions qui recouvrent l'objet. Si, comme c'est presque toujours le cas, ce nombre n'est pas entier, alors on peut évaluer les fractions de division, mais en se limitant à la demi-division ou, à la rigueur, au quart de division ; nous verrons les raisons de cette limite. Ne pas oublier de multiplier le nombre de divisions comptées par le coefficient de conversion,  $C_i$ , correspondant à l'objectif utilisé, pour obtenir, en micromètres, la longueur réelle de l'objet. La figure 8 donne un exemple de mesure.

L'un ou l'autre conseil pratique permettra de réaliser les mesures dans les meilleures conditions : plus le milieu d'observation utilisé sera visqueux, plus lents seront les mouvements des objets à l'intérieur de ce milieu, et donc plus aisées seront les mesures. Mais le choix du milieu d'observation est intimement lié à la nature de l'objet dont il doit permettre l'étude. De plus, il est primordial, pour la réalisation de mesures exactes, que le milieu utilisé ait une influence aussi faible que possible sur la forme des éléments étudiés : les spores doivent être bien gonflées, mais pas excessivement. D'autre part, il est bien évident que meilleur sera le contraste, moins laborieuses seront les mesures... Mais le contraste dépend largement du milieu d'observation choisi !



**Figure 8 :** Mesure de la longueur d'une spore de *Chaetosphaerella phaeostroma*, à l'aide d'un objectif 40 x. La spore occupe  $10\frac{3}{4}$  divisions de l'échelle oculaire. Etant donné que, pour le microscope utilisé, le coefficient  $C_{40}$ , correspondant à cet objectif, est de 2,51, cette spore mesure  $10,75 \times 2,51 = 27 \mu\text{m}$ .

Dans tous les cas, il est souhaitable de toujours mentionner, en plus des dimensions obtenues, les conditions dans lesquelles les mesures ont été réalisées : origine du matériel étudié (sporée ou dissociation d'un fragment d'hyménium), âge des spores (fraîchement chues ou déshydratées depuis longtemps), nature du milieu de montage utilisé, composition du liquide ayant servi au regonflage, s'il est différent du milieu de montage, chauffage éventuel pour accélérer une réaction, etc.

Par ailleurs, notons qu'il est préférable, afin de limiter au maximum les erreurs de mesure dues à l'imperfection des optiques, de réaliser, autant que faire se peut, les mesures vers le centre du champ, car c'est dans cette zone que la correction des aberrations optiques est la meilleure. De plus, les mesures sont toujours plus exactes lorsque l'œil qui ne les effectue pas est occulté. En effet, lors de l'utilisation d'un microscope binoculaire, l'intégration, par le cerveau, de l'image dépourvue d'échelle micrométrique avec l'image qui sert à la mesure perturbe souvent, au moins, l'évaluation des fractions de divisions de l'échelle.

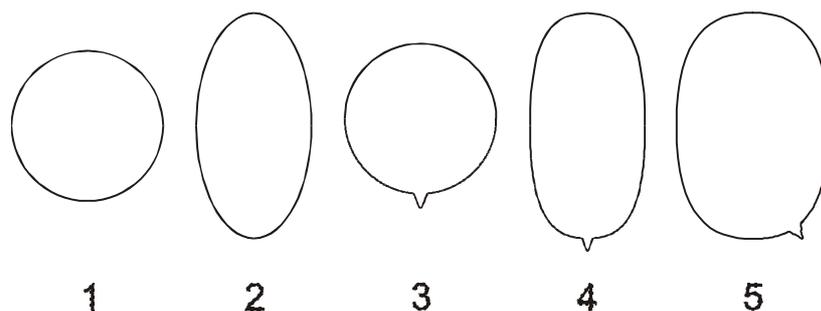
Enfin, des mesures sur les objets non sphériques ne peuvent être prises que lorsque ces objets sont dans des *positions franches par rapport à l'axe optique* du microscope : position horizontale ou verticale, mais pas oblique. En effet, la mesure d'objets disposés obliquement conduit inévitablement à la sous-estimation ou à la surestimation d'au moins une de leurs dimensions. Une bonne indication que des objets sont en position oblique est que leur contour n'apparaît pas entièrement net sans devoir retoucher la mise au point. Néanmoins, il faut garder présent à l'esprit que le contour de certains objets de morphologie particulière, même positionnés franchement, peut apparaître partiellement flou.

## 7.2. Mesure des spores

JOSSERAND (1952) discute de la mesure des spores avec une élégance peu commune, assortie d'une étonnante richesse en détails. Nous nous conformerons en grande partie, dans les lignes qui suivent, aux recommandations de cet auteur.

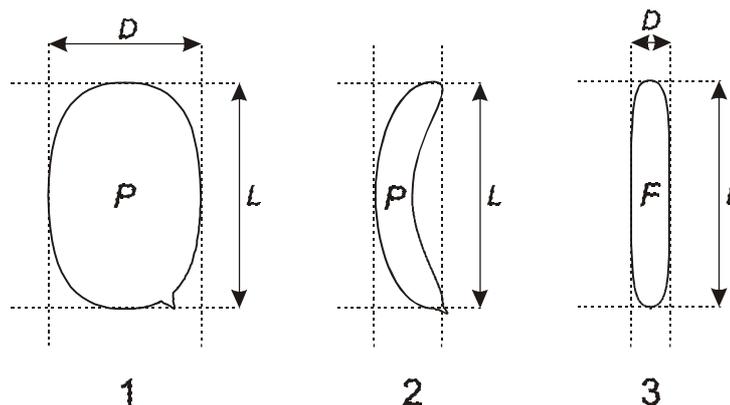
Il convient tout d'abord, comme l'a fait JOSSERAND, de préciser les angles de vue sous lesquels les spores doivent être mesurées. Toutefois, cet auteur de grand talent s'est essentiellement préoccupé de la description des spores chez les basidiomycètes, négligeant quelque peu les ascomycètes, que nous affectionnons particulièrement. Il est pourtant une différence fondamentale entre basidiospores et ascospores : c'est que les premières possèdent un *apicule*, tandis que les dernières, par définition, en sont dépourvues.

L'apicule, qui rend la plupart des basidiospores « moins symétriques » que la majorité des ascospores, représente un excellent point de repère, permettant une définition relativement précise de l'angle sous lequel une spore de basidiomycète est observée : vue *de profil* (*P* sur les figures), *de face* (*F*), ou *par bout* (*B*), selon JOSSERAND. La distinction entre la vue de profil et la vue de face nous paraît nettement moins claire en ce qui concerne les ascospores, aussi bien, d'ailleurs, que pour les basidiospores sphériques, ou encore celles dont l'apicule est terminal et point du tout latéral. Voir figure 9.



**Figure 9 :** Représentation schématique des différents types de spores étudiés ici. Toutes sont disposées de profil, à condition que l'on admette cela possible, car, pour les quatre premières spores, la vue de profil est impossible à distinguer de la vue de face. Pour la première spore, la vue par bout ne peut d'ailleurs pas être distinguée non plus. 1- ascospore sphérique ; 2- ascospore ellipsoïdale ; 3- basidiospore sphérique ; 4- basidiospore ellipsoïdale à apicule terminal ; 5- basidiospore ellipsoïdale à apicule latéral.

Précisons encore, avant de poursuivre, que la mesure d'une spore, observée dans une orientation franche, soit de face, soit de profil, soit par bout, se ramène le plus souvent à la mesure des côtés du rectangle circonscrit qu'il est possible de tracer autour de la coupe optique de la spore, telle que fournie par le microscope. Selon la morphologie de la spore et selon son orientation, le petit et le grand côté de ce rectangle correspondront à la longueur, à la largeur ou à l'épaisseur des spores. La figure 10 illustre ces notions.

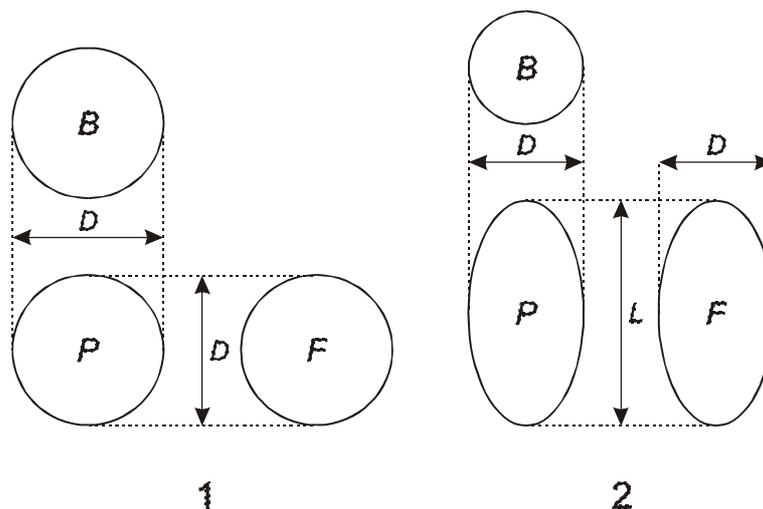


**Figure 10 :** La mesure d'une spore se ramène le plus souvent à la mesure des côtés des rectangles circonscrits à la spore, vue soit de profil, soit de face, soit par bout. 1- le rectangle circonscrit à la vue de profil d'une basidiospore ellipsoïdale permet la mesure de sa longueur et de son diamètre ; 2- dans le cas d'une basidiospore allantoïde, seule la longueur peut être mesurée de cette manière ; 3- le rectangle circonscrit à la vue de face permet, quant à lui, la mesure de la longueur et du diamètre des basidiospores allantoïdes.

### 7.2.1. Définition des angles de vue et des grandeurs caractéristiques en fonction de la morphologie des spores

On sent bien, d'après ce qui précède, que la définition des angles de vue selon lesquels les spores peuvent être observées dépend essentiellement de leur symétrie. Cette définition devra donc être adaptée au type de spore dont il est question, et sera d'autant plus précise que les spores seront moins symétriques.

L'exemple extrême d'élément parfaitement symétrique est celui de l'ascospore sphérique qui, par nature, est dépourvue d'apicule. C'est le cas chez des espèces à spores lisses, comme *Pulvinula constellatio*, *Sphaerosporella brunnea*, *Caloscypha fulgens*, et bien d'autres, mais aussi chez de nombreuses espèces à spores ornementées, comme *Lamprospora laetirubra* ou *Scutellinia armatospora*. Les spores de toutes ces espèces peuvent être, à condition que leur ornementation, si elle existe, soit homogène, observées sous n'importe quel angle, et donner toujours exactement la même image (voir figure 11/1). Il est dès lors impossible de dire si deux spores de ce type sont orientées de la même manière ou pas, et si de telles spores sont vues de face, de profil ou par bout. De même, il n'est pas possible de distinguer une longueur, une largeur et une épaisseur : en dehors des ornements et du contenu, la seule dimension que l'on puisse donner, pour les ascospores sphériques, est leur diamètre.

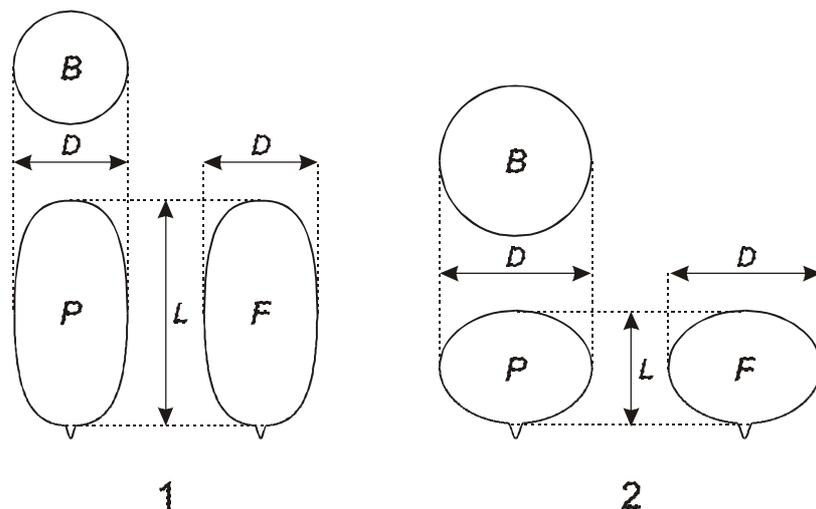


**Figure 11 :** Mesure des ascospores sphériques ou ellipsoïdales. 1- En ce qui concerne les ascospores sphériques, la seule dimension qu'on puisse mesurer est le diamètre. La spore apparaît de la même manière, qu'elle soit vue de face, de profil ou par bout. 2- Dans le cas des ascospores ellipsoïdales, la vue de face est semblable à la vue de profil, mais, par contre, la vue par bout est différente.

Un peu moins symétriques sont les ascospores ellipsoïdales, comme celles de *Peziza badia*, de *Helvella crispa* ou de *Morchella conica*. L'apparence de ces spores n'est plus indépendante de l'angle selon lequel on les observe : la vue de face et la vue de profil, indiscernables à moins que la spore soit comprimée, feront apparaître celle-ci sous la forme d'une même ellipse, tandis que la vue par bout montrera un cercle (voir figure 11/2). Lors de l'expression des dimensions de telles spores, on mentionnera donc leur longueur (la plus grande des dimensions) et leur diamètre, cette dernière grandeur correspondant à la fois à la largeur et à l'épaisseur. Dans le cas où les ascospores seraient comprimées, au lieu du diamètre, on donnera, cette fois, la largeur et l'épaisseur, cette dernière étant la plus petite des trois dimensions. Notons que, par convention anthropomorphique, la vue de face sera logiquement celle qui permet de voir à la fois la longueur et la largeur, tandis que dans le profil, l'épaisseur deviendra visible, au détriment de la largeur. Cette convention correspond d'ailleurs assez bien à la réalité, car les spores comprimées le sont quasi toujours, d'après JOSSERAND, selon un axe antéro-postérieur, en tout cas chez les basidiomycètes, pour lesquels cet axe est identifiable grâce à la présence d'un apicule.

Le cas des basidiospores sphériques (par exemple, chez *Laccaria tortilis* ou chez *Amanita ceciliae*) est fortement semblable au cas des ascospores sphériques, car la présence d'un apicule, s'il permet de définir une vue de profil (ou de face) et une vue par bout, n'intervient pas dans l'expression des mesures, qui se résument toutes à une unique dimension : le diamètre. Précisons toutefois que la longueur de l'apicule ne doit pas être comptée dans la mesure du diamètre.

Un niveau encore un peu moindre de symétrie est constitué par les basidiospores ellipsoïdales (par exemple chez certaines *Tricholomatales*) dont l'apicule est exactement terminal, mais il s'agit d'un cas relativement rare car, chez l'immense majorité des basidiomycètes à spores non sphériques, l'apicule est disposé plus ou moins latéralement sur la spore. Les dimensions des spores à apicule terminal seront exprimées en suivant les mêmes règles que pour les ascospores ellipsoïdales, à la différence près que la longueur sera toujours la dimension, même si ce n'est pas la plus grande, reliant la base de la spore (c'est-à-dire l'extrémité portant l'apicule) à son sommet (voir figure 12). La longueur de l'apicule lui-même, toutefois, doit être exclue de la mesure.



**Figure 12 :** Mesure des basidiospores ellipsoïdales à apicule terminal. 1- basidiospore normale, plus longue que large ; 2- basidiospore « aplatie », plus large que longue. Remarque que, selon nos conceptions, la longueur doit, dans les deux cas, se mesurer suivant le même axe, malgré que, pour les spores aplaties, la longueur ne soit pas la dimension la plus grande.

Enfin, nous arrivons au cas très fréquent des basidiospores à apicule plus ou moins déjeté latéralement. Nous reprendrons, pour le traitement de ce cas, les excellentes définitions de JOSSE-RAND.

Le profil est [...] le contour de la spore telle qu'elle apparaît si on la tranche par son plan de symétrie, le seul qui la partage en deux moitiés égales. Sur une telle vue de profil, l'apicule est toujours visible sur le côté et saillant au maximum [...].

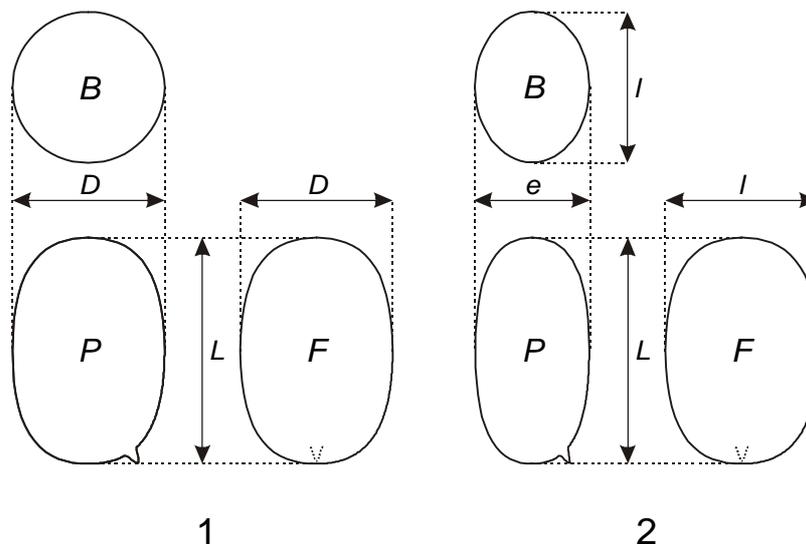
La vue de face est définie, par ce même auteur, de la manière suivante : Parmi l'infinité de plans perpendiculaires au plan de symétrie et passant par le sommet de la spore, [la vue de face correspond à] celui qui découpe dans le volume sporique la figure la plus allongée. Nous nommerons vue de face la vue de la spore supposée tranchée par un tel plan. Ajoutons que l'apicule doit être tourné vers l'observateur, sinon la vue est de dos.

La vue par bout est [...] la vue de la spore présentant vers l'observateur son extrémité distale, le grand axe sporique fuyant dans le rayon visuel. Une mise au point à mi-hauteur permettra de tracer la coupe optique de la spore vue par bout [...]. Un des avantages de préférer étudier les spores avec leur extrémité distale <sup>(41)</sup> tournée vers l'observateur est que le pore germinatif, s'il existe, apparaîtra plus nettement (moyennant l'ajustement de la mise au point), que s'il était vu à travers la spore.

La longueur des basidiospores à apicule latéral correspondra donc, sur la vue de face ou de profil, à la longueur du segment de droite qui relie l'extrémité distale de la spore à son extrémité proximale, apicule non compris. La largeur de la spore représentera la distance (souvent perpendiculaire <sup>(42)</sup>, ou presque, à la longueur) qui sépare les deux flancs de la spore lorsque celle-ci est vue de face. Enfin, l'épaisseur de la spore est la troisième dimension, également perpendiculaire, en général, aux deux autres, qui relie la face ventrale de la spore (portant l'apicule lorsque celui-ci n'est pas terminal) à sa face dorsale. Notons encore que, dans la plupart des cas, les spores ne sont pas comprimées, et donc leur largeur est égale à leur épaisseur. Avec LOCQUIN (1984), nous préférons alors utiliser le terme *diamètre*, à la place de *largeur* ou d'*épaisseur*. Voir figure 13.

<sup>(41)</sup> Les extrémités des basidiospores sont définies par rapport à la baside qui leur a donné naissance : on qualifie de *proximale* l'extrémité de la spore qui est la plus proche de la baside ; c'est donc celle qui porte l'apicule. A *contrario*, l'extrémité distale est opposée à la baside, et donc à l'apicule.

<sup>(42)</sup> La largeur et l'épaisseur des spores peuvent ne pas être perpendiculaires à leur longueur, notamment dans le cas où l'apicule est à la fois latéral et disposé sur une protubérance, qui constitue l'extrémité proximale de la spore.



**Figure 13 :** Mesure des basidiospores ellipsoïdales à apicule latéral. 1- basidiospore non comprimée ; 2- basidiospore comprimée selon un axe dorso-ventral ( $e < l$ ).

JOSSERAND définit les trois dimensions des basidiospores en fonction du grand et du petit côté des deux rectangles circonscrits à la spore, vue de profil ou de face. Mais ces notions de *grands* ou de *petits* côtés présentent l'inconvénient de ne pas pouvoir s'appliquer aux spores « aplaties », c'est-à-dire plus larges que longues (comme c'est par exemple le cas chez *Tremella globospora*).

Voici les définitions de JOSSERAND : *La longueur et l'épaisseur d'une spore sont respectivement égales au grand et au petit côté du rectangle circonscrit à la spore vue de profil, étant entendu que le rectangle doit être construit de telle manière que ses grands côtés soient disposés parallèlement à l'axe longitudinal de la spore inscrite [...]. Le grand et le petit côté du rectangle circonscrit à la spore vue de face donnent : 1° une nouvelle fois la longueur [...] et 2° sa largeur [...].* De la même manière, nous pourrions ajouter, à ces définitions, que la largeur et l'épaisseur de la spore sont encore égales, respectivement, au grand et au petit côté du rectangle circonscrit à la spore vue par bout, à condition que ce rectangle soit tracé dans la zone de la spore correspondant à sa section maximale (à mi-hauteur pour les spores ellipsoïdales, vers la base dans le cas des spores ovoïdes, etc.).

Toutefois, ces définitions, bien qu'elles excellent par leur clarté et leur précision, présentent l'inconvénient de n'être exactes que pour une variété assez limitée de spores. En effet, elles ne sont parfaites que pour les basidiospores ellipsoïdales comprimées à apicule latéral. Par contre, elles s'appliquent moins intimement aux spores arquées ou aplaties, aux ascospores, etc.

Quoi qu'il en soit, il est bien évident que toutes les définitions données ci-dessus restent relativement générales, et que la variété des cas envisagés n'est pas suffisante pour cerner l'étude de toutes les spores que les Champignons ont bien pu imaginer. Le plus souvent, néanmoins, une légère adaptation de ces règles permet de les appliquer aux cas même les plus farfelus. En conclusion, admettons humblement que l'énonciation de règles universelles paraît bien délicate...

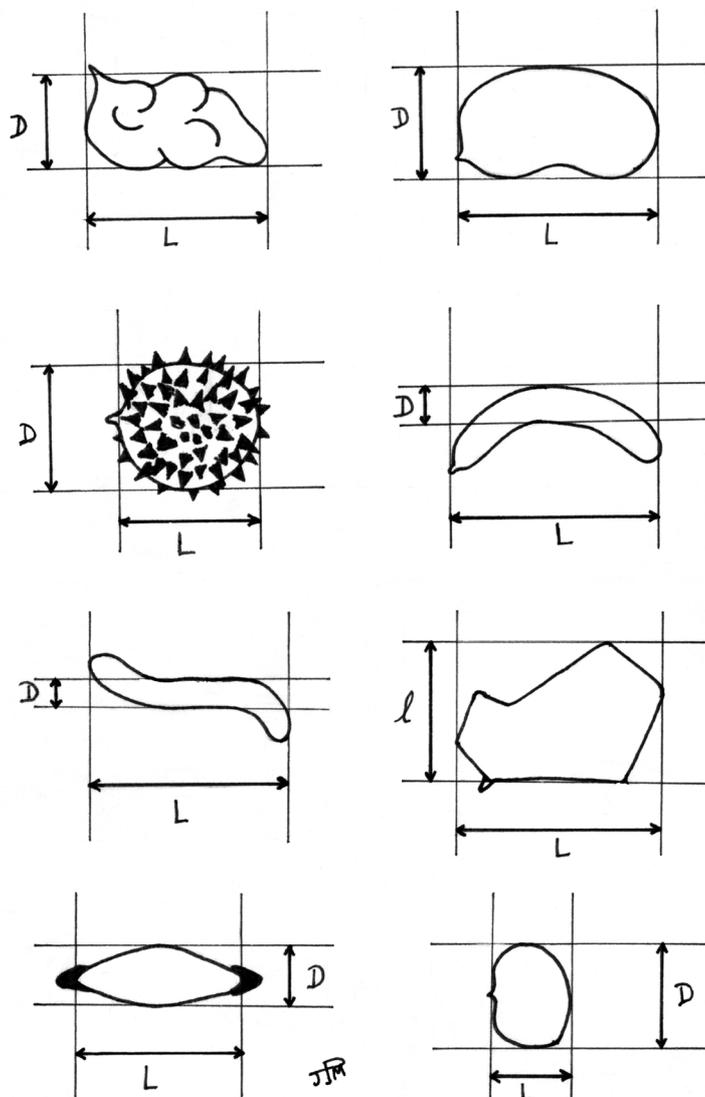
### 7.2.2. Conditions de mesure

Il est une condition essentielle à la réalisation de mesures valables, c'est que les spores soient parfaitement matures. Le seul moyen d'en être absolument sûr est de travailler à partir de sporées. En effet, la présence d'une coloration, ainsi que l'aspect des ornements et du contenu des spores, bien qu'ils donnent de précieuses indications sur l'état de maturité de celles-ci, ne sont pas suffisants pour jurer que ce dernier est complet. Il n'est pas indispensable, toutefois, d'avoir à sa disposition une sporée sur papier ou sur plaque de verre, car des sporées naturelles se forment presque toujours en haut du pied, mais également, aussi étonnant que cela puisse paraître, à la surface du chapeau. L'observation d'un scalp dans la cuticule ou dans la partie sommitale du stipe permet donc souvent de se tirer d'affaire.

Les spores, lorsqu'elles ont été émises depuis un certain temps, ont une fâcheuse tendance à se dégonfler. Il convient donc, avant de procéder à des mesures, de les regonfler complètement. Divers milieux de montage peuvent être conseillés, mais les liquides à base d'ammoniaque ou d'hydrate de chloral sont sans doute parmi les plus efficaces à ce point de vue. Un chauffage est parfois nécessaire, pour parvenir à résoudre les cas les plus difficiles, et notamment les spores d'entolomes, qui ont une propension particulière à résister au regonflage. Il n'est toutefois pas indiqué de chauffer systéma-

tiquement, car les spores dont la paroi est délicate pourraient se regonfler trop fortement, voire éclater.

D'autre part, on doit faire intervenir, dans la longueur, la largeur et l'épaisseur des spores, tout accident de leur paroi qui n'est pas clairement délimité : gibbosités et nodules des *Inocybe* goniosporés ; faces et angles des entolomes ; protubérance supportant l'apicule ; etc. Par contre, toutes les structures nettement individualisées, comme l'apicule, et ce qui, d'une manière générale, constitue l'ornementation proprement dite des spores (épines, verrues, crêtes, appendices divers, etc.) ne doivent pas intervenir dans la mesure : tous ces éléments seront étudiés séparément. Voir figure 14.



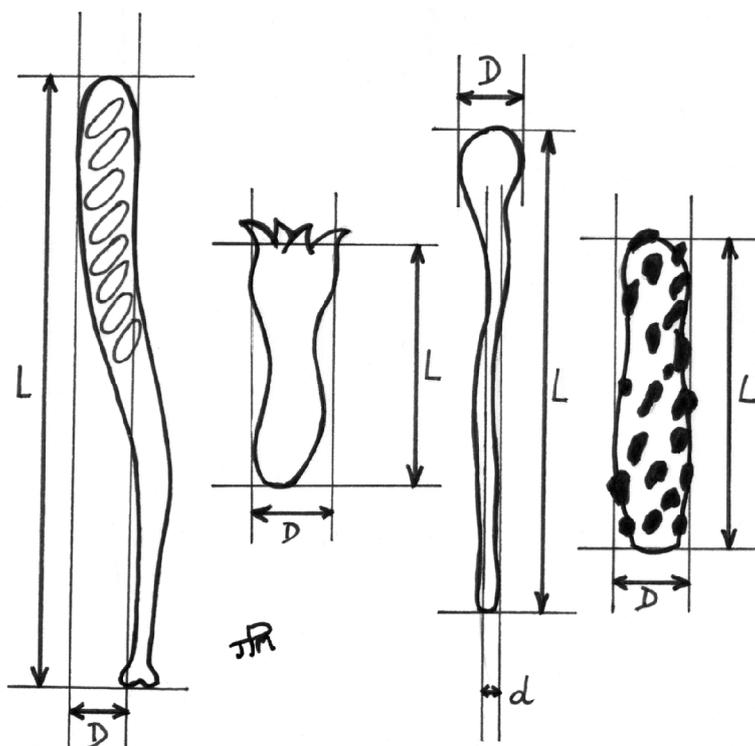
**Figure 14 :** Cas particuliers de la mesure des spores. De gauche à droite et de haut en bas : spores de *Inocybe*, *Hygrocybe*, *Laccaria*, *Auricularia*, *Lasiosphaeria*, *Entoloma*, *Rhizina* et *Tremella*.

En effet, la mesure des spores est loin de se limiter à leur longueur, à leur largeur et à leur épaisseur : il est intéressant également, selon les cas, de mesurer la longueur et le diamètre de l'apicule ; la hauteur et le diamètre des épines ; l'épaisseur de la paroi ; le diamètre des granules, guttules, globules et vacuoles ; la longueur, l'épaisseur et la hauteur des crêtes ; etc. Toujours dans l'optique d'une nomenclature cohérente et uniforme, nous pensons qu'il est préférable, pour la plupart des ornements, d'appeler hauteur la dimension perpendiculaire à la surface de la spore, au lieu d'épaisseur pour les verrues, de longueur pour les épines, etc.

### 7.3. Mesure d'éléments divers

La portée des mesures s'étend bien au-delà des dimensions sporales : très courantes également sont les mesures se rapportant aux asques, aux basides, aux paraphyses, aux cystides, aux hyphes de la cuticule et de la trame des lames, aux sphérocytes de la chair, aux conidies, aux hyphes du cortex du stipe, aux stérigmates, aux articles de l'excipulum ou du sous-hyménium, et à bien d'autres éléments encore (voir figure 15). De manière générale, toute mesure sera intéressante lorsqu'elle représentera un critère à la fois constant et discriminatoire, pouvant contribuer à la distinction de taxons en vue de l'identification spécifique d'une récolte, ou de la définition d'une espèce par rapport à ses synonymes et aux autres taxons appartenant à un même clade. Il faudra donc choisir des mesures significatives et reproductibles, car caractéristiques des éléments observés (longueur *totale* ; diamètre *maximum* et, éventuellement, *minimum* ; importance d'un *renflement* ou d'une *constriction*, etc.).

Comme pour les spores, la manière de nommer les différentes grandeurs varie en fonction de la morphologie des éléments mesurés. Les deux dimensions les plus généralement acceptées sont la longueur et le diamètre, bien que ce dernier, selon les auteurs, soit également nommé largeur ou épaisseur. La logique veut que, pour tous les éléments cylindriques, et, plus généralement, pour ceux dont les coupes transversales sont toutes des disques ou des cercles, on nomme diamètre la grandeur qui est perpendiculaire à la longueur, et non pas largeur ou épaisseur (comme nous l'avons souvent écrit nous-même). Toutefois, cette terminologie varie largement d'un auteur à l'autre, et il est toujours souhaitable de préférer les termes clairs à ceux qui, tout en respectant la logique de manière idéale, sont quelque peu ambigus.



**Figure 15 :** Mesure d'éléments divers. De gauche à droite : asque de *Rutstroemia* ; baside de *Sistotrema* ; paraphyse d'*Orbilina* ; cystide de *Lyomyces*.

## 8. Petit catalogue des grandes erreurs

Nous allons voir, dans ce qui suit, que les sources d'erreurs de mesure foisonnent. L'importance de toutes ces erreurs n'est pas aisément quantifiable ; c'est pourquoi seules quelques-unes seront illustrées par des exemples numériques. Les erreurs seront réparties en trois classes : d'abord, celles qui sont dues à un mauvais étalonnage ou à la réalisation des mesures dans des conditions différentes de celles de l'étalonnage ; ensuite, celles qui sont liées à l'expérimentateur et à la nature de l'élément mesuré ; enfin, les erreurs, souvent négligeables, introduites par le matériel

utilisé. Précisons que les exemples numériques présentés n'ont pas été inventés : ils sont parfaitement authentiques.

### 8.1. Erreurs dues à un mauvais étalonnage

Les erreurs dues à un mauvais étalonnage ou à la réalisation des mesures dans des conditions inconstantes, bien qu'elles n'affectent généralement pas de plus de dix pour cent le résultat d'une mesure, ne peuvent cependant pas être négligées. Elles seront envisagées dans les lignes qui suivent, et illustrées par des exemples chiffrés.

#### 8.1.1. Négliger l'étalonnage

Au début de cet article, nous avons mis en exergue l'importance de l'étalonnage. Le tableau 2 donne les coefficients  $C_i$ , calculés lors de l'étalonnage de notre propre microscope, et l'erreur relative qui entacherait systématiquement les mesures si cet étalonnage n'avait pas été réalisé. Cet exemple, parfaitement banal, montre déjà une erreur relative atteignant trois pour cent, ce qui signifie une erreur d'un micromètre et demi sur la longueur d'un élément qui en mesure cinquante. D'autre part, la banalité de l'exemple choisi suggère que des erreurs beaucoup plus importantes sont possibles.

Objectif concerné	Coefficient $C_i$ théorique	Coefficient $C_i$ réel	Erreur relative
4 x	25,00	25,2	0,8 %
10 x	10,00	10,3	3,0 %
40 x	2,50	2,51	0,4 %
100 x	1,00	0,998	0,2 %

**Tableau 2 :** Exemple réel d'étalonnage d'un oculaire micrométrique avec les quatre objectifs d'un microscope. Trois chiffres significatifs ont été conservés dans l'expression du coefficient de conversion réel. La quatrième colonne donne l'erreur relative qui entacherait les mesures si l'étalonnage n'avait pas été effectué. La correspondance entre le coefficient théorique et le coefficient réel est presque parfaite pour l'objectif 100 x, tandis qu'elle est moins bonne pour l'objectif 10 x. Cet exemple démontre clairement l'importance d'étalonner séparément *chaque* objectif.

#### 8.1.2. Ne pas tenir compte de l'écart interpupillaire et du réglage dioptrique

L'erreur relative que peut introduire une mauvaise gestion des réglages dioptrique et d'écart interpupillaire lors des mesures est assez importante, comme en témoigne l'exemple du tableau 3. Ce tableau présente la mesure d'un étalon de 50  $\mu\text{m}$  à l'aide d'un objectif 100 x, et avec différentes combinaisons entre la valeur de l'écart interpupillaire, lue sur l'échelle indicatrice, et la valeur choisie sur l'échelle du tube qui porte l'oculaire micrométrique.

COMPENSATION	ECHELLE INDICATRICE		
	55 mm	65 mm	75 mm
55 mm	50 $\mu\text{m}$	51,5 $\mu\text{m}$	53 $\mu\text{m}$
65 mm	48,5 $\mu\text{m}$	50 $\mu\text{m}$	51,5 $\mu\text{m}$
75 mm	47 $\mu\text{m}$	48,5 $\mu\text{m}$	50 $\mu\text{m}$

**Tableau 3 :** Exemple réel de mesure d'un étalon de 50  $\mu\text{m}$  avec différentes combinaisons entre la valeur de l'écart interpupillaire et la valeur choisie sur l'échelle du tube portant l'oculaire micrométrique. Ces mesures ont été effectuées à l'aide de l'objectif 100 x du microscope dont les coefficients de conversion sont repris dans le tableau 2. Le coefficient  $C_{100}$  est suffisamment proche de l'unité pour que cinquante divisions de l'échelle oculaire équivalent, en pratique, à cinquante micromètres (exactement, 50 divisions correspondent à  $50 \times 0,998 = 49,9 \mu\text{m}$ ). Remarquer qu'on arrive toujours à cinquante micromètres lorsque les deux échelles sont mises en concordance, et ce, quelle que soit la valeur de l'écart interpupillaire. Ceci prouve l'efficacité et l'exactitude de la correction que permet l'échelle se trouvant sur le tube qui porte l'oculaire micrométrique.

La différence entre la longueur mesurée et la longueur réelle de l'étalon atteint  $3\ \mu\text{m}$ , ce qui correspond à une erreur relative de 6 %. Noter que la différence entre les deux valeurs extrêmes est de  $6\ \mu\text{m}$ , ce qui correspond à 12 % d'erreur relative sur une longueur réelle de  $50\ \mu\text{m}$ . Une erreur aussi importante pourrait être atteinte dans le cas où les mesures seraient réalisées dans des positions extrêmes et inverses des deux échelles, tandis que l'étalonnage aurait été réalisé avec les échelles dans des positions exactement opposées.

Cet exemple illustre également les erreurs entraînées lorsque le réglage dioptrique est effectué sur le tube portant l'oculaire micrométrique, étant donné que la compensation de l'écart interpupillaire dont il est question ci-dessus se fait par le même mouvement que le réglage dioptrique lui-même.

A nouveau, cet exemple, de par sa banalité, suggère que des erreurs plus importantes encore que 12 % peuvent exister. Toutefois, les positions extrêmes de l'écart interpupillaire et du réglage dioptrique sont rarement utilisées, ce qui atténue quelque peu l'importance de l'erreur dont il est question ici.

### 8.1.3. Cas des congrès

L'étalonnage doit être réalisé avec chaque microscope, car il dépend de la longueur et de la constitution du tube du microscope : c'est également un point sur lequel nous avons beaucoup insisté. L'influence de la constitution du tube ne sera pas illustrée ici, car la quantification de ce paramètre est relativement malaisée à réaliser. L'influence de la longueur du tube, par contre, a déjà été illustrée au paragraphe précédent, à travers la non-prise en compte des réglages dioptrique et d'écart interpupillaire.

Un deuxième exemple de l'influence de la longueur du tube sur les mesures va nous permettre d'illustrer le cas où un même oculaire micrométrique est utilisé sur deux microscopes différents, sans se soucier des questions d'étalonnage. On pourrait nommer cet exemple le « cas des congrès », car c'est souvent à leur occasion que les oculaires passent inopinément d'un microscope à l'autre. Pour cet exemple, nous allongerons artificiellement le tube du microscope en surélevant l'oculaire micrométrique à l'aide d'une bague en bristol, longue d'un centimètre d'abord, puis de deux. Le tableau 4 reprend les résultats de la mesure d'un étalon de  $50\ \mu\text{m}$  à l'aide d'un même microscope, avec ou sans l'ajout de bagues en bristol, afin de simuler l'utilisation de trois microscopes différents.

Bague	Longueur de l'étalon	Erreur relative
Aucune bague	$50\ \mu\text{m}$	0 %
Bague de 1 cm	$53\ \mu\text{m}$	6 %
Bague de 2 cm	$56\ \mu\text{m}$	12 %

**Tableau 4 :** Exemple d'erreur qui pourrait être introduite en utilisant le même oculaire micrométrique sur différents microscopes, et sans se préoccuper de l'étalonnage. Les microscopes diffèrent par la longueur de leur tube, dont la variation est simulée par l'ajout de bagues en bristol afin de surélever l'oculaire micrométrique.

Ce tableau montre qu'une différence de deux centimètres dans la longueur du tube de deux microscopes introduit une erreur relative de 12 %. Toutefois, cet exemple est moins réaliste que les précédents, car il simplifie la réalité en considérant le tube du microscope comme un simple cylindre. Par ailleurs, il est intéressant de noter que l'ajout de bagues en bristol (noir de préférence) peut être mis à profit de plusieurs manières. En effet, cet artifice, moyennant quelque tâtonnement, permet d'ajuster, à un micromètre exactement, la valeur d'une division de l'oculaire micrométrique. Il permet également le réglage dioptrique sur les tubes porte-oculaires qui sont dépourvus de bague, et la mise au point du graticule des oculaires non réglables. C'est essentiellement la confection de ces bagues qui a été appelée « bricolage » dans les protocoles de réglage du microscope avant l'étalonnage, au paragraphe 5.2.2.

## 8.2. Erreurs dues à l'expérimentateur et à la nature des éléments mesurés

L'observateur est lui-même directement responsable d'une partie des erreurs de mesure : il peut ne pas ajuster exactement l'élément mesuré sur les traits de l'échelle ; il peut se tromper en comptant le nombre de divisions couvertes par l'élément mesuré, ou encore en convertissant ce nombre en micromètres à l'aide du coefficient  $C_i$  ; il peut aussi mal évaluer les fractions de divisions, surtout lorsque la mesure est effectuée alors que les deux yeux sont ouverts ; etc. Néanmoins, l'importance de toutes ces erreurs peut être sensiblement limitée par la réalisation de plusieurs mesures et par l'analyse statistique des résultats obtenus, telle que nous la verrons au chapitre 9.

Une autre erreur importante due à la subjectivité de l'observateur, spécialement lors de la mesure de spores, est une attirance particulière pour les plus grandes, pour celles qui présentent telle forme plutôt que telle autre, pour les nombres pairs, impairs ou ronds, etc. Ces préférences, plus ou moins inconscientes, sont très fréquentes et peuvent entraîner des erreurs importantes sur le résultat des mesures. Il faut donc absolument s'astreindre à mesurer des spores sélectionnées *au hasard*, c'est-à-dire à mesurer *toutes* les spores *normales*, qui se présentent dans une *position convenable* lors du parcours de la préparation suivant un chemin bien établi. Celui-ci sera évidemment choisi de manière à éviter de passer deux fois à la même place. Le zigzag d'un bout à l'autre de la préparation est incontestablement la meilleure méthode.

Néanmoins, la mesure au hasard n'est possible que lorsque toutes les spores présentes dans la préparation sont mures, ce dont on ne peut être sûr que si les spores proviennent d'une sporée. Lorsque cette condition n'est pas respectée, il est préférable de ne mesurer que les grandes spores, car, bien évidemment, la taille des spores augmente au cours de la maturation. Éviter toutefois la mesure *des plus grandes spores*, surtout si elles sont en petit nombre.

En discutant de la maturité, on arrive à ce qui nous semble être *la plus grande source d'erreurs* : la mesure de spores ne provenant pas d'une sporée. Théoriquement, la taille des spores étant minimale lorsqu'elles viennent de naître, et leur dimension plafonnant à la complète maturité, l'erreur relative maximale sur les mesures effectuées à partir de spores ne provenant pas d'une sporée avoisine les 100 %. Heureusement, cette erreur est nettement plus faible en pratique, car les spores absolument immatures sont aisément reconnaissables. Néanmoins, la distinction entre les spores quasiment mures et celles qui le sont effectivement est nettement plus délicate, tandis que leur dimension peut encore augmenter sensiblement entre ces deux états. En vertu de ce fait et de notre expérience personnelle, nous n'hésitons pas à proclamer que l'erreur sur ce type de mesure atteint *fréquemment les 20 %*, et les dépasse même souvent. En conclusion, disons que les mesures obtenues à partir de spores dont on n'est pas certain de la complète maturité, bien qu'elles donnent souvent des indications précieuses, doivent être interprétées avec la plus grande prudence.

D'autres facteurs, liés à la nature des objets mesurés, peuvent également augmenter les risques d'erreurs : les éléments dont la paroi est épaisse et/ou ornementée seront plus difficiles à mesurer que les objets lisses à paroi fine. En effet, l'ajustement des extrémités de l'objet sur les traits de l'échelle micrométrique sera plus délicat, et donc le risque d'erreur sera plus important. D'autre part, l'indice de réfraction de l'objet mesuré, ainsi que sa coloration, influenceront le contraste ; meilleur sera celui-ci, et plus aisé sera l'ajustement sur l'échelle micrométrique. Enfin, la mesure fractionnée d'objets dont la longueur dépasse celle de l'échelle oculaire est entachée d'une erreur supplémentaire, engendrée par le déplacement inévitable de l'objet.

### **8.3. Erreurs dues au matériel utilisé**

De nombreuses erreurs sont également introduites par le matériel utilisé, à savoir l'étalon, le microscope, le matériel de préparation et le dispositif de reproduction, qu'il s'agisse d'un boîtier photographique ou d'un tube à dessiner. Ces erreurs, bien que variées, n'influencent généralement que très peu le résultat des mesures. Nous allons tout de même, pour mémoire, en évoquer quelques-unes.

La perfection n'existe pas, c'est bien connu, et donc le micromètre-objet qui sert à l'étalonnage n'est pas parfait lui-même : la longueur des divisions est inévitablement entachée d'une erreur, toujours faible mais néanmoins présente. D'autre part, de subtiles déformations, constamment infligées à l'ensemble du matériel par la manipulation et les écarts de température, introduisent également une erreur. Les couvre-objets, l'huile à immersion et le milieu de montage utilisés, qui, tous, se trouvent dans le trajet de la lumière entre l'objet et son image, représentent eux aussi, *via* leur indice de réfraction, des sources supplémentaires d'erreurs. Tous ces éléments agissent un peu comme de minuscules lentilles, et, pour bien faire, l'étalonnage devrait être recommencé chaque fois que l'un ou l'autre d'entre eux est modifié : achat d'un nouveau flacon d'huile à immersion, utilisation de couvre-objets plus ou moins épais, et choix d'un milieu de montage plus ou moins réfringent. En pratique, toutefois, l'influence de ces variations est suffisamment faible que pour pouvoir être négligée devant les sources d'erreurs plus importantes.

Enfin, certaines erreurs sont dues à d'autres causes, plus subtiles encore que les précédentes. Ainsi, des erreurs trouvent leur source dans la distorsion de l'image de l'objet par l'optique du microscope. Ces erreurs sont de plus en plus réduites, grâce aux progrès réalisés dans la conception des optiques. D'autre part, elles peuvent être en grande partie évitées en réalisant les mesures préférentiellement dans la partie centrale du champ. La diffraction est une autre cause d'erreur, car elle rend imprécise la limite des objets. Des erreurs sont également engendrées, lors de la réalisation de mesures sur des photographies, par la déformation que subit le support photographique au cours du développement. D'autres sources d'erreurs encore sont décrites en détail par POLICARD, BESSIS et LOCQUIN (1957).

#### 8.4. Fausses erreurs

La mécanique des microscopes modernes permet la rotation de la tête sur le statif. Cette rotation ne modifie pas, en principe, la longueur du tube. Elle n'a donc aucune influence sur l'étalonnage. De même, la mise au point du graticule de l'oculaire micrométrique, après l'étalonnage, n'introduit aucune erreur de mesure, car la modification de la longueur du tube entraînée par ce réglage affecte la dimension de l'image de l'objet et la dimension de l'image du graticule dans des proportions identiques.

### 9. Exploitation et expression des résultats

Nous avons vu, au cours de la section précédente, que les sources d'erreurs sur les mesures fourmillent ; des erreurs relatives de dix pour cent sont monnaie courante. Toutefois, il est possible de réduire, dans une large mesure, l'importance de la plupart de ces erreurs, en prenant une série de précautions qui ont été détaillées dans ce qui précède : étalonnage du matériel, conditions de mesure constantes, etc.

La méthode d'échantillonnage représente une des plus importantes sources d'erreurs ; nous avons déjà précisé qu'il était préférable, toutes les fois où cela est possible, de réaliser les mesures sur des spores provenant d'une *sporée*, et sélectionnées *au hasard*. Cependant, même lorsque cette condition est respectée, la variabilité naturelle des dimensions cellulaires, particulièrement chez les champignons, constitue un risque d'erreur supplémentaire. Celui-ci peut toutefois être limité également, grâce à l'utilisation d'outils statistiques plus ou moins élaborés.

Bien qu'il ne soit pas invraisemblable d'envisager leur généralisation à tous les types de mesures, les méthodes statistiques sont essentiellement appliquées à l'exploitation des résultats issus de la mesure des spores. Il n'est pas dans notre intention de développer dans le détail l'exploitation statistique de ces mesures, mais bien d'en rappeler les grandes lignes, en nous limitant aux opérations les plus utiles et les plus fréquemment rencontrées dans la littérature.

#### 9.1. Effectif et précision

Tout d'abord, il est bien évident que mesurer l'entière des spores émises par un champignon, même minuscule, est pratiquement impossible par les méthodes habituelles. On est donc contraint de s'intéresser à un échantillon réduit de spores, et de supposer celui-ci représentatif de la population entière. On s'attend, en toute logique, à ce que l'approximation soit d'autant meilleure que l'effectif de l'échantillon étudié sera important.

Le nombre de spores que l'on conseille de mesurer pour obtenir des résultats fiables varie largement selon les auteurs : de cinq (JOSSERAND, 1952) à cent (LOCQUIN, 1984). Personnellement, nous estimons que, à des fins systématiques courantes, la mesure d'une dizaine de spores lorsque la population est relativement homogène, ou d'une vingtaine de spores lorsque leur taille est très variable, est largement suffisante.

D'autre part, il est absolument vain de vouloir mesurer des spores avec une précision supérieure au demi-micromètre ou, à la rigueur, au quart de micromètre. Un peu d'habitude suffit à s'en convaincre, mais deux raisons flagrantes permettent d'expliquer cette limite. Tout d'abord, il est parfaitement illusoire, avec les oculaires micrométriques courants, de tenter l'estimation des dixièmes et, *a fortiori*, des centièmes de micromètres, car cette opération est encore plus délicate, mais tout aussi insensée, que l'estimation des dixièmes de millimètres à l'aide d'une simple règle.

Ensuite et surtout, le pouvoir de résolution optique des microscopes photoniques à fond clair utilisant la lumière blanche est de l'ordre du quart de micromètre. Il s'agit d'une limite physique, incontournable, liée à la nature même de la lumière. C'est cette limite qui a fixé le grossissement maximal de la majorité des microscopes à environ mille fois. Il est pourtant très simple, par exemple en projetant des photomicrographies, d'atteindre, et même de dépasser largement, des grossissements dix fois plus importants. Certes, l'image obtenue est beaucoup plus grande, mais elle est aussi infiniment plus grossière, et ne montre aucun détail supplémentaire qui n'était pas visible à un grossissement plus faible.

L'erreur *absolue* minimale sur les mesures se situe donc aux alentours du quart de micron, et ce, quelle que soit la taille de l'élément mesuré. Au contraire, l'erreur *relative* minimale sur les mesures augmente rapidement lorsque la dimension de l'objet devient très petite. Ainsi, par exemple, cette erreur est de 2,5 % pour une spore de 10  $\mu\text{m}$ , tandis qu'elle est de 25 % pour une spore de 1  $\mu\text{m}$ . Disons, avec HENTIC (2000), que les mesures ne sont plus que des ordres de grandeur pour des dimensions de l'ordre de 3  $\mu\text{m}$  et en dessous.

Notons encore qu'il est préférable de réaliser les *calculs* avec un excès de précision, par exemple en conservant deux décimales pour toutes les valeurs intermédiaires, et de ne procéder à l'arrondissement que lors de l'expression du *résultat final*. La précision choisie lors de cette expression devra être adaptée à la nature du résultat : longueur, quotient sporique, volume, etc.

Il faut se limiter, lors de l'expression des grandeurs linéaires (longueur, largeur, épaisseur, diamètre, hauteur), au quart de micromètre pour les raisons évoquées précédemment. Toutefois, pour une meilleure lisibilité, nous indiquerons toujours « ,25 », « ,5 » et « ,75 », au lieu de « ¼ », « ½ » ou « ¾ ». Ce choix typographique n'est pourtant pas idéal, car il suppose, lorsqu'on ne donne aucune indication, que les mesures aient été réalisées au dixième ou au centième de micromètre près. D'autre part, il nous paraît raisonnable de limiter au micromètre cube la précision des volumes sporiques, car la variation des volumes est beaucoup plus grande que la variation des longueurs. À l'inverse, il est indispensable de conserver au moins une décimale, voire deux, lors de l'expression des quotients sporiques.

## 9.2. Analyse statistique et expression des résultats

Les résultats des mesures, en mycologie, peuvent être exprimés de différentes manières. Ils ont longtemps été, et sont encore couramment à l'heure actuelle, exprimés de manière empirique, en repérant « à l'œil » les tailles les plus *courantes* au sein de l'ensemble des valeurs, et en transformant celles-ci en un intervalle reflétant la variation naturelle des spores concernées. On donne un, deux ou trois intervalles, selon la forme des spores, comme le montrent les exemples repris dans le tableau 5.

Forme des spores	Dimensions	Exemple
Spoires sphériques	Diamètre	12-13,5 µm
Spoires ellipsoïdales	Longueur x diamètre	12-13,5 x 6-7 µm
Spoires comprimées	Long. x largeur x épais.	12-13,5 x 6-7 x 4-4,75 µm

**Tableau 5 :** Exemples d'expression de la dimension des spores en fonction de leur forme.

Lorsque *quelques-unes* des spores mesurées ne peuvent pas être incluses dans cet intervalle parce que, sans être *anormales*, elles sont soit nettement plus petites, soit nettement plus grandes que l'ensemble des spores, il est d'usage d'indiquer leurs dimensions entre parenthèses, de part et d'autre de l'intervalle. Par exemple, indiquer les dimensions suivantes : (10)12-13,5 x (5)6-7(7,5) µm, signifie que la longueur de la plupart des spores oscille entre 12 et 13 ½ µm, mais qu'il n'est pas rare (ni vraiment fréquent !) de trouver des spores de 10 µm de longueur. De même, le diamètre de la plupart des spores de cet exemple se situe entre 6 et 7 µm, mais il en existe de plus minces (5 µm), et de plus épaisses (7,5) µm. Les dimensions indiquées entre parenthèses sont, en quelque sorte, des dimensions « *modérément extrêmes* », et il faudra toujours ignorer les *monstres de nanisme ou de gigantisme*, pour reprendre les expressions de JOSSERAND.

On sent bien à quel point cette méthode d'expression des résultats est empirique, et liée à la subjectivité de l'observateur, à sa conception plus ou moins large de la spore *normale*. Une meilleure méthode, pour exprimer les résultats, est de se baser sur des paramètres statistiques, dont les deux plus importants sont la *moyenne* et l'*écart-type*.

La moyenne, que tout le monde connaît, est une mesure de tendance centrale, c'est-à-dire qu'elle donne une idée de la valeur autour de laquelle oscille la dimension des spores. On distingue différents types de moyennes : arithmétique, géométrique, harmonique, quadratique. La plus courante est la moyenne arithmétique ( $\bar{x}$ ). Elle se calcule en additionnant l'ensemble des valeurs ( $x_i$ ) de l'échantillon, puis en rapportant la somme obtenue au nombre de valeurs prises en compte, c'est-à-dire à l'effectif ( $n$ ) de l'échantillon :

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n}$$

### Relation 7

L'écart-type ( $s$ ), quant à lui, est une mesure de la dispersion, c'est-à-dire qu'il donne une idée de la manière dont les valeurs sont distribuées autour de la moyenne. Un écart-type grand reflète un échantillon hétérogène, c'est-à-dire une grande variation dans la dimension des spores : les valeurs sont dispersées ; elles ne sont pas bien rassemblées autour de la moyenne. Au contraire, un écart-

type faible traduit une population homogène. L'écart-type est généralement défini comme la moyenne quadratique des écarts des valeurs ( $x_i$ ) par rapport à la moyenne arithmétique,  $\bar{x}$ , de l'échantillon. La relation 8 illustre cette définition. Dans cette relation, lorsque l'effectif ( $n$ ) de l'échantillon n'est pas supérieur à 30, on remplace souvent par  $n - 1$  le dénominateur de la fraction.

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n}}$$

**Relation 8**

Comme avec la méthode empirique, le résultat de la mesure des spores sera exprimé sous la forme d'un intervalle ( $\bar{x} \pm s$ ). La limite inférieure de celui-ci est calculée en retranchant l'écart-type à la moyenne ; au contraire, la limite supérieure est calculée en additionnant ces deux paramètres. Certains auteurs, comme HENTIC (2000), conseillent de calculer les bornes en retranchant ou en additionnant, à la moyenne, le double de l'écart-type ( $\bar{x} \pm 2s$ ). Personnellement, nous préférons nous limiter à un seul écart-type, car alors l'intervalle défini devient trop large, et les mesures perdent une grande partie de leur signification.

Bien entendu, il n'est pas interdit de combiner la méthode empirique avec la méthode statistique, notamment en assortissant l'intervalle défini par la méthode statistique des valeurs *modérément extrêmes*, indiquées entre parenthèses, et relevées par la méthode empirique. On peut aussi rechercher l'intervalle par la méthode empirique, et mentionner, en plus, la moyenne et l'écart-type, que le lecteur interprétera selon ses propres conceptions.

Enfin, les mesures de spores sont fréquemment accompagnées, dans la littérature, de deux paramètres supplémentaires : le quotient et le volume sporiques, qui sont aisément calculables. Le quotient sporique ( $Q$ ) se calcule en divisant la longueur des spores,  $L$ , par leur diamètre,  $D$ . Une spore aura donc un quotient d'autant plus proche de un que sa forme tendra vers la sphère. A l'inverse, plus une spore sera allongée, et plus son quotient sporique sera élevé. On subodore clairement que le quotient sporique donne une idée de la forme des spores, à travers l'importance de leur « allongement ».

$$Q = \frac{L}{D}$$

**Relation 9**

Pour les spores comprimées, deux quotients peuvent être calculés, l'un correspondant au rapport longueur sur épaisseur, et l'autre au rapport longueur sur largeur. Un troisième quotient, donnant une idée de l'importance de la compression, pourrait être calculé en recherchant le rapport entre la largeur et l'épaisseur.

Dans la plupart des cas, tous les quotients sporiques sont égaux ou supérieurs à un, car les rapports sont toujours recherchés en divisant la longueur par l'épaisseur ou par la largeur, ou encore en divisant la largeur par l'épaisseur, mais pas l'inverse ; or, pour l'immense majorité des spores, la longueur est plus grande que la largeur, qui est elle-même plus grande que l'épaisseur.

Comme pour les dimensions, les quotients seront exprimés sous la forme d'un intervalle concernant les valeurs les plus courantes. Les valeurs exceptionnelles pourraient, ici aussi, être indiquées entre parenthèses.

Le volume sporique, quant à lui, est un paramètre supplémentaire, moins significatif que les quotients, mais pouvant néanmoins valoir la peine d'être recherché. Il s'exprime en micromètres cube ( $\mu\text{m}^3$ ) et se calcule en assimilant les spores à des ellipsoïdes de révolution, grâce à la relation suivante <sup>(43)</sup>, dans laquelle  $L$  représente la longueur de la spore, et  $D$  correspond à son diamètre, ces deux grandeurs étant exprimées en micromètres :

$$V = \frac{4}{3} \times \pi \times \frac{L}{2} \times \left(\frac{D}{2}\right)^2$$

**Relation 10**

<sup>(43)</sup> Cette relation, donc, est celle qui permet le calcul du volume d'un ellipsoïde de révolution. Elle n'est théoriquement correcte que pour les spores non comprimées, c'est-à-dire pour celles dont l'épaisseur est égale à la largeur. Lorsque ce n'est pas le cas, la relation générale suivante devrait être utilisée :

$$V = \frac{\pi \times L \times l \times e}{6}$$

**Relation 10'**

On peut également donner un intervalle pour ce paramètre, ou se contenter de mentionner le volume moyen. La signification du volume sporique, calculé de cette manière, est relativement limitée, d'abord parce qu'il ramène la forme des spores à des ellipsoïdes de révolution, ce qui est loin d'être toujours le cas, et ensuite parce qu'une très faible augmentation de la longueur des spores, ou de leur diamètre, conduit à une augmentation bien plus forte de leur volume. Pour une sphère, le volume double lorsque le diamètre est multiplié par 1,26<sup>(44)</sup> !

Enfin, il est bon de préciser que les quotients et le volume sporiques doivent être calculés pour chaque spore étudiée, et non pas à partir de l'intervalle représentant la dimension générale des spores. Disons encore que la première chose à faire, après avoir calculé le ou les quotients et le volume sporiques pour chaque spore, est de trier séparément, par ordre croissant, les valeurs correspondant à chaque paramètre ( $L$ ,  $D$ ,  $Q$ ,  $V$ ). Cette manière de procéder permet de repérer rapidement les maxima et les minima, et de se faire plus facilement une idée globale de la distribution des valeurs, sans pour autant être obligé de répartir ces dernières en classes et de dresser un graphique.

Tous les calculs dont il est question ci-dessus peuvent paraître fastidieux, mais avec un minimum d'habitude, ils sont aisément réalisés, rapidement et sans risque d'erreur, à l'aide d'un ordinateur ou d'une calculatrice de poche tant soit peu perfectionnée. Deux exemples réels vont nous permettre d'explicitier ce qui précède. Ceux-ci nous donneront notamment l'occasion de comparer entre elles les différentes méthodes d'exploitation des résultats, et de montrer l'intérêt de mesurer un nombre suffisamment élevé de spores.

### 9.3. Exemples d'exploitation des résultats de la mesure des spores

#### 9.3.1. Comparaison des trois méthodes d'interprétation des résultats

Le premier exemple qui va être traité est celui de la mesure d'une vingtaine de spores de *Peziza cerea*, prélevées sur une sporée ancienne de plus d'un an. Les spores ont été énergiquement regonflées, à chaud, dans l'ammoniaque concentrée, et mesurées dans le rouge Congo ammoniacal. Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau 6. Notons que les ascospores de *Peziza cerea* sont de forme ellipsoïdale.

Longueur (µm)	Diamètre (µm)	Quotient	Volume (µm <sup>3</sup> )
16,5	9	1,833	699,8
17,25	9,75	1,769	858,6
16	9,5	1,684	756,1
18,25	10,5	1,738	1053,5
16	9,5	1,684	756,1
15,25	9,25	1,649	683,2
18,75	10,5	1,786	1082,4
15	9	1,667	636,2
16,75	9	1,861	710,4
17,5	10	1,750	916,3
16,25	9	1,806	689,2
17,25	9	1,917	731,6
15,75	9	1,750	668,0
16,75	9,75	1,718	833,7
16	9	1,778	678,6
18	10,25	1,756	990,2
18,25	9,75	1,872	908,4
15,75	9	1,750	668,0
16,75	9,25	1,811	750,4
17	10	1,700	890,1

**Tableau 6 :** Résultats de la mesure de vingt spores provenant d'une ancienne sporée de *Peziza cerea*. Les quatre valeurs se trouvant sur une même ligne se rapportent toutes à la même spore : la longueur et le diamètre ont été mesurés, tandis que le quotient et le volume ont été calculés respectivement d'après les relations 9 et 10.

<sup>(44)</sup> En fait, le volume de la sphère étant proportionnel au cube de son rayon, il double lorsque ce dernier est multiplié par un facteur correspondant à la racine cubique de deux (c'est-à-dire 1,26).

Le passage par un tableau de ce genre est nécessaire aux calculs du quotient et du volume de chaque spore. Toutefois, ce type de tableau n'est que très peu éloquent, et, afin de pouvoir interpréter les données, il est préférable de construire un second tableau, dans lequel les valeurs seront rangées par ordre croissant. C'est ce qui a été fait dans le tableau 7.

Longueurs ( $\mu\text{m}$ )	Diamètres ( $\mu\text{m}$ )	Quotients	Volumes ( $\mu\text{m}^3$ )
<i>15,00</i>	<b>9,00</b>	<b>1,649</b>	636,2
15,25	<b>9,00</b>	<b>1,667</b>	<b>668,0</b>
<b>15,75</b>	<b>9,00</b>	<b>1,684</b>	<b>668,0</b>
<b>15,75</b>	<b>9,00</b>	<b>1,684</b>	<b>678,6</b>
<b>16,00</b>	<b>9,00</b>	<b>1,700</b>	<b>683,2</b>
<b>16,00</b>	<b>9,00</b>	<b>1,718</b>	<b>689,2</b>
<b>16,00</b>	<b>9,00</b>	<b>1,738</b>	<b>699,8</b>
<b>16,25</b>	<b>9,00</b>	<b>1,750</b>	<b>710,4</b>
<b>16,50</b>	<b>9,25</b>	<b>1,750</b>	<b>731,6</b>
<b>16,75</b>	<b>9,25</b>	<b>1,750</b>	<b>750,4</b>
<b>16,75</b>	<b>9,50</b>	<b>1,756</b>	<b>756,1</b>
<b>16,75</b>	<b>9,50</b>	<b>1,769</b>	<b>756,1</b>
<b>17,00</b>	<b>9,75</b>	<b>1,778</b>	<b>833,7</b>
<b>17,25</b>	<b>9,75</b>	<b>1,786</b>	<b>858,6</b>
<b>17,25</b>	<b>9,75</b>	<b>1,806</b>	<b>890,1</b>
<b>17,50</b>	<b>10,00</b>	<b>1,811</b>	<b>908,4</b>
18,00	<b>10,00</b>	<b>1,833</b>	<b>916,3</b>
18,25	10,25	1,861	990,2
18,25	10,50	1,872	1053,5
18,75	10,50	1,917	1082,4
$\bar{x} = 16,75 \mu\text{m}$	$\bar{x} = 9,50 \mu\text{m}$	$\bar{x} = 1,764$	$\bar{x} = 798,0 \mu\text{m}^3$
$s = 1,01 \mu\text{m}$	$s = 0,52 \mu\text{m}$	$s = 0,070$	$s = 132,2 \mu\text{m}^3$

**Tableau 7 :** Les données du tableau précédent sont présentées ici par ordre croissant. Les quatre valeurs d'une même ligne ne se rapportent donc plus nécessairement à une même spore, car chaque colonne a été triée indépendamment. Un tableau de ce genre permet de repérer facilement les minima et les maxima (italique), les valeurs courantes (fond gris) et les valeurs « modérément extrêmes ». Bien entendu, la distinction entre les valeurs *normales* ou *modérément extrêmes* est personnelle et très subjective. La moyenne ( $\bar{x}$ ) et l'écart-type ( $s$ ) ont été calculés à partir des valeurs de chaque colonne, selon les relations 7 et 8. Ces deux paramètres auraient déjà pu être calculés dans le tableau précédent.

La présentation utilisée dans le tableau 7 facilite grandement l'interprétation et l'expression des mesures. Il a été dit, dans ce qui précède, que cette interprétation pouvait être réalisée de manière empirique ou statistique, mais encore, dans ce dernier cas, qu'il était possible de baser le calcul des intervalles sur l'écart-type ( $\bar{x} \pm s$ ) ou sur le double de celui-ci ( $\bar{x} \pm 2s$ ). Les limites inférieure (inf.) et supérieure (sup.) de chaque intervalle de valeurs ont été calculées par chacune de ces trois méthodes, et elles sont comparées dans le tableau 8.

METHODE	LONGUEUR		DIAMETRE		QUOTIENT		VOLUME	
	inf.	sup.	inf.	sup.	inf.	sup.	inf.	sup.
<b>A l'œil</b>	15,75	17,50	9,00	10,00	1,649	1,833	668,0	916,3
$\bar{x} \pm s$	15,74	17,76	8,98	10,02	1,694	1,834	665,8	930,2
$\bar{x} \pm 2s$	14,73	18,77	8,46	10,54	1,624	1,904	533,6	1062,4

**Tableau 8 :** Limites inférieure (inf.) et supérieure (sup.) des intervalles de valeurs courantes pour la longueur, le diamètre, le quotient et le volume des spores de *Peziza cerea*. Les bornes de ces intervalles ont été déterminées selon trois méthodes différentes : d'une part empiriquement, grâce aux valeurs disposées par ordre croissant dans le tableau 7, et, d'autre part, statistiquement, sur base de la valeur du simple ( $\bar{x} \pm s$ ) ou du double ( $\bar{x} \pm 2s$ ) écart-type. Remarquer la bonne correspondance générale entre les valeurs de la première ligne et celle de la seconde ligne, mais la discordance par rapport à la dernière ligne.

Ce tableau montre clairement que les valeurs obtenues par la méthode statistique basée sur le simple écart-type sont, globalement, très proches des valeurs que nous avons obtenues empiriquement, à l'œil. Par contre, les limites obtenues sur la base du double écart-type divergent assez nettement. Cette dernière méthode n'est donc pas en accord avec notre propre conception, c'est pourquoi nous refusons de l'utiliser.

Il reste encore, une fois tous ces calculs effectués, à procéder à l'expression finale de la dimension des spores. Celle-ci se fera à partir des limites d'intervalle consignées dans le tableau 8, mais il faudra tenir compte, en plus, des valeurs *modérément extrêmes* du tableau 7, tout en rejetant les valeurs *véritablement extrêmes* de ce même tableau. C'est au moment de l'expression des résultats (en suivant les règles énoncées aux paragraphes 9.1 et 9.2) que les nombres devront être arrondis. La transcription, selon la syntaxe habituelle, des dimensions des spores prises en compte dans cet exemple, est réalisée dans le tableau 9.

METHODE	RESULTATS
<b>Longueur et diamètre</b>	
<b>A l'œil</b>	(15)15,75-17,5(18,25) x 9-10(10,5) $\mu\text{m}$
$\bar{x} \pm s$	(15)15,75-17,75(18,25) x 9-10(10,5) $\mu\text{m}$
$\bar{x} \pm 2s$	14,75-18,75 x 8,5-10,5 $\mu\text{m}$
<b>Quotient</b>	
<b>A l'œil</b>	1,65-1,83(1,92)
$\bar{x} \pm s$	1,69-1,83(1,92)
$\bar{x} \pm 2s$	1,62-1,90
<b>Volume</b>	
<b>A l'œil</b>	(636)668-916(1082) $\mu\text{m}^3$
$\bar{x} \pm s$	(636)666-930(1082) $\mu\text{m}^3$
$\bar{x} \pm 2s$	534-1062 $\mu\text{m}^3$

**Tableau 9 :** Expression, selon les conventions habituelles, des valeurs consignées dans les tableaux 7 et 8. Ce tableau permet une comparaison des résultats obtenus par les trois méthodes d'interprétation, et montre bien que les intervalles obtenus par la méthode basée sur le double écart-type sont trop larges, car même les valeurs extrêmes sont comprises dans ces intervalles. Remarquer que les bornes des intervalles ont été arrondies selon les règles énoncées au paragraphe 9.1. Les valeurs *modérément extrêmes* du tableau 7 ont été définies par la méthode empirique, et conservées dans les trois méthodes d'expression, sauf lorsqu'elles se rapprochaient trop des bornes de l'intervalle des valeurs *normales*.

Cet exemple nous a permis de comparer les trois méthodes d'expression des résultats, et de montrer pourquoi nous préférons celle basée sur l'analyse statistique des données, avec définition des intervalles par rapport au simple écart-type. L'exemple suivant va permettre la comparaison des valeurs obtenues en fonction du nombre de spores mesurées.

### 9.3.2. Comparaison des résultats en fonction du nombre de spores mesurées

Les spores étudiées, dans ce second exemple, sont celles de *Chaetosphaerella phaeostroma*. Elles ont été mesurées à partir de périthèces frais, préparés par dissociation dans le rouge Congo ammoniacal. Rappelons que *Chaetosphaerella phaeostroma* est un pyrénomycète qui possède des spores arquées, cylindriques à fusiformes. Le tableau 10 reprend les dimensions obtenues.

Longueur ( $\mu\text{m}$ )	Diamètre ( $\mu\text{m}$ )	Quotient	Volume ( $\mu\text{m}^3$ )
30,75	7	4,393	788,9
28	5,75	4,870	484,7
32,25	6,75	4,778	769,4
29,5	6,5	4,538	652,6
28,25	6,25	4,520	577,8
32,25	7	4,607	827,4
33,5	6,75	4,963	799,2
36,5	6	6,083	688,0
29,25	6,75	4,333	697,8
32,25	6,25	5,160	659,6
34	7	4,857	872,3
39,25	6,25	6,280	802,8
32,25	6,75	4,778	769,4
31,5	7,25	4,345	866,9
34,75	7	4,964	891,6
27,5	7	3,929	705,5
32	6,25	5,120	654,5
31,5	6	5,250	593,8
34	7	4,857	872,3
33,5	6,25	5,360	685,2

**Tableau 10 :** Résultats de la mesure de vingt spores de *Chaetosphaerella phaeostroma* avec, pour chacune d'elles, la valeur du quotient et du volume. Les vingt spores ont été réparties en quatre groupes de cinq. Cette répartition est aléatoire, puisque les spores mesurées ont elles-mêmes été sélectionnées de manière aléatoire.

Les vingt spores dont les dimensions sont reprises dans ce tableau ont été arbitrairement réparties en quatre groupes de cinq. La moyenne et l'écart-type ont été calculés, d'une part, pour chacun de ces groupes et, d'autre part, pour l'ensemble des vingt spores. Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau 11.

GROUPE	LONGUEUR		DIAMETRE		QUOTIENT		VOLUME	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
1 <sup>er</sup> groupe	29,75	1,59	6,45	0,43	4,620	0,176	654,7	114,9
2 <sup>e</sup> groupe	32,75	2,34	6,55	0,37	5,029	0,599	734,4	66,2
3 <sup>e</sup> groupe	34,35	2,71	6,85	0,34	5,045	0,652	840,6	46,5
4 <sup>e</sup> groupe	31,70	2,29	6,50	0,42	4,903	0,515	702,3	93,0
ensemble	32,14	2,82	6,59	0,42	4,899	0,547	733,0	108,5

**Tableau 11 :** Résultats du calcul de la moyenne arithmétique et de l'écart-type pour chacun des quatre groupes de cinq spores, ainsi que pour l'ensemble des vingt spores.

Statistiquement, l'approximation de la moyenne et de l'écart-type à partir d'un échantillon aléatoire sera d'autant meilleure (car plus proche de la réalité) que l'effectif de l'échantillon sera important. Nous simplifierons le problème en supposant que la population totale est de vingt spores, et que donc la moyenne et l'écart-type, calculés à partir de l'ensemble des vingt spores, correspondront aux paramètres de la population. Pour avoir une idée de l'erreur que l'on risque de commettre en calculant les paramètres statistiques sur cinq spores au lieu de vingt, nous comparerons la moyenne et l'écart-type des groupes de cinq (que nous appellerons dès lors des échantillons) aux paramètres de la population (constituée par les vingt spores du tableau 10). Les résultats de la comparaison sont repris dans le tableau 12, sous la forme d'écarts relatifs ( $\% \bar{x}$  et  $\% s$ ) entre les paramètres des échantillons de cinq spores et ceux de la population.

GROUPE	LONGUEUR		DIAMETRE		QUOTIENT		VOLUME	
	$\% \bar{x}$	$\% s$						

<b>1<sup>er</sup> groupe</b>	<b>7,4</b>	<b>43,6</b>	2,1	2,4	<b>5,7</b>	<b>67,8</b>	10,7	5,9
<b>2<sup>e</sup> groupe</b>	1,9	17,0	0,6	11,9	2,7	9,5	0,2	39,0
<b>3<sup>e</sup> groupe</b>	6,9	3,9	<b>3,9</b>	<b>19,0</b>	3,0	19,2	<b>14,7</b>	<b>57,1</b>
<b>4<sup>e</sup> groupe</b>	1,4	18,8	1,4	0,0	0,1	5,9	4,2	14,3

**Tableau 12 :** Ecarts relatifs entre les paramètres (moyenne et écart-type) des quatre échantillons de cinq spores et les paramètres de la population. Les plus grands écarts sont mis en exergue (caractères gras italiques).

Ce tableau montre qu'en ne mesurant que cinq spores au lieu de vingt, on risque de commettre des erreurs atteignant 15 % sur la moyenne, et presque 70 % sur l'écart-type<sup>(45)</sup> ! Bien entendu, ces valeurs sont biaisées par le fait que nous avons limité la population à vingt spores, ce qui n'est pas le cas dans la réalité. Il est évident qu'une erreur entache également la moyenne et l'écart-type calculés à partir de vingt spores, puisque la population en compte presque une infinité dans la réalité.

En conclusion, cet exemple montre bien l'importance de mesurer un nombre suffisamment grand de spores, particulièrement lorsque la taille de ces dernières varie dans une large mesure. Une vingtaine de spores représente un bon compromis entre l'effort fourni et le gain en précision et en exactitude. Néanmoins, il serait intéressant de comparer les résultats obtenus en mesurant vingt spores et en mesurant une centaine...

## 10. Conclusion générale

Personne ne conteste l'importance du rôle joué par les mesures, aussi bien macroscopiques que microscopiques, dans l'identification des champignons, tout particulièrement au niveau spécifique. A travers cet article, nous avons tenté de montrer que l'obtention de mesures *comparables* n'est pas nécessairement tâche aussi aisée qu'il peut y paraître de prime abord.

Les grandes sources d'erreurs ont été explicitées, et quelques conseils permettant l'évitement des écueils les plus importants ont été prodigués. Nous avons vu que des erreurs relatives pouvant dépasser dix pour cent sont monnaie courante. Toutefois, on peut raisonnablement espérer que, de manière générale, les différentes sources d'erreurs n'exercent pas toutes leur action dans le même sens. Ainsi, l'une compensant l'autre, l'erreur globale sur le résultat final peut être relativement limitée.

C'est, entre autres, pour cette raison que la réalisation de mesures à l'aide du microscope photonique reste, pour le mycologue, une technique d'usage courant, car, pour peu qu'elles soient toujours effectuées dans de bonnes conditions, les mesures sont *comparables*. Il faut cependant admettre, en toute modestie, que l'exactitude physique de nos mesures micrométriques quotidiennes est bien loin d'être toujours démontrée, et que les dimensions obtenues à l'aide d'autres méthodes, telles que la microscopie électronique, pourraient fournir des résultats bien différents...

Par ailleurs, une certaine confusion existe encore en ce qui concerne la définition des angles de vue et des grandeurs caractéristiques des spores, chaque auteur ayant ses propres conventions. La largeur des uns correspond à l'épaisseur des autres ; d'aucuns conseillent de réaliser les mesures sur les spores vues de face, les autres les préfèrent de profil ; etc. Chacun argumente sa vision des choses avec plus ou moins d'à propos et de bon sens. Ainsi, les notions développées au chapitre 7, bien que largement basées sur les vues de JOSSERAND, n'en restent pas moins très personnelles.

Nous avons également vu comment il est possible de réaliser des mesures à partir de dessins ou de photographies. Toutefois, une autre technique, dont l'usage se répand de plus en plus, a été complètement passée sous silence, faute d'expérience personnelle : il s'agit de la réalisation automatique des mesures, par informatique, à l'aide de logiciels spécialisés. Les mesures sont effectuées à partir d'images numérisées, obtenues, en temps réel, à l'aide d'une caméra vidéo ou d'un appareil photo numérique. Comme lors de la réalisation de mesures par les techniques habituelles, un étalonnage préalable est indispensable.

Terminons en disant que la plupart des idées de cet article sont issues d'une réflexion personnelle, basée sur notre propre expérience et sur la lecture de différents ouvrages et articles. Ces réflexions pourront paraître étonnantes, curieuses, voire farfelues, inutiles ou même incompréhensibles à certains. Espérons toutefois que ceux-là, qui n'auront peut-être pas tout à fait tort, parviendront malgré tout à extraire, des lignes qui précèdent, quelques informations pratiques leur permettant de réaliser des mesures de manière adéquate.

<sup>(45)</sup> Une erreur relative aussi importante que 70 % tend à montrer que le calcul de l'écart-type n'a pas de sens pour des échantillons dont l'effectif est aussi réduit. Par ailleurs, il est à noter que rien, dans la relation permettant le calcul de ce paramètre, n'empêche de le faire sur deux données, voire même sur une seule !

## 11. Bibliographie

Les ouvrages de JOSSERAND (1952), de POLICARD *et al.* (1957) et de LOCQUIN (1984), ainsi que l'introduction du tome 3 de BREITENBACH et KRÄNZLIN (1991), et l'article de HENTIC (2000), sont des compléments dont la lecture ne saurait trop être conseillée.

- AYEL, A. ; MOINARD, A. : *Le microscope. Constitution ; fonctionnement ; emploi en mycologie*. Bulletin Spécial n°3a. Société Mycologique du Poitou, 1992 (seconde édition).
- BON, M. : *Champignons de France et d'Europe occidentale*. Arthaud, 1988.
- BOUILLOT, R. : *La photographie moderne. Traité technique et pratique*. Montel, 1975.
- BREITENBACH, J. ; KRÄNZLIN, F. : *Champignons de Suisse*. Mykologia, 1986-2000 (5 tomes).
- COURTECUISSÉ, R. ; DUHEM, B. : *Guide des champignons de France et d'Europe*. Delachaux et Niestlé, 1994.
- DE IZARRA, Z. : *Introduction à l'étude microscopique des champignons*. Bulletin Spécial n°5. Société Mycologique du Poitou.
- ELLIS, M. B. ; ELLIS, J. P. : *Microfungi on Land Plants*. Richmond, 1997 (seconde édition).
- FAROUX, J.-P. ; RENAULT, J. : *Optique. Optique géométrique et optique physique*. Dunod, 1998.
- HENTIC, R. : *A propos de l'exploitation statistique des mesures en mycologie*. Bull. Soc. mycol. Fr., 116 (2), 2000 : 173-180.
- JOSSERAND, M. : *La description des champignons supérieurs. Technique descriptive ; vocabulaire raisonné du descripteur*. Lechevalier, 1952.
- JUNGERS, V. J. : *Principes de microscopie et de microphotographie*. Desoer.
- KANE, J. ; STERNHEIM, M. : *Physique*. InterEditions, 1986.
- KUHNER, R. ; ROMAGNESI, H. : *Flore analytique des champignons supérieurs. Agarics, bolets, chate-relles*. Masson, 1984.
- LOCQUIN, M. : *Mycologie générale et structurale*. Masson, 1984.
- LOCQUIN, M. ; LANGERON, M. : *Manuel de microscopie*. Masson, 1978.
- POLICARD, A. ; BESSIS, M. ; LOCQUIN, M. : *Traité de microscopie. Instruments et techniques*. Masson, 1957.
- SPIEGEL, M. R. : *Statistique. Cours et problèmes*. Seconde édition, McGraw-Hill, 1993.
- VENEK, J. ; PROS, L. : *Minéraux*. Gründ, 1987.

Nous n'avons malheureusement pas encore eu l'occasion de consulter l'article de HEINEMANN, P. et RAMELOO, J. (*De la mesure des spores et de son expression*. Agarica, 6 (12), 1985 : 366-380), qui représente pourtant certainement une référence intéressante.

## 12. Remerciements

Je tiens à adresser mes plus vifs remerciements aux trois personnes qui m'ont aidé dans la rédaction de cet article : tout d'abord Jean-Marie PIRLOT, pour la réalisation des nombreux dessins qui sont à la base des figures 7, 14 et 15, ainsi que pour la relecture avisée de mon texte, à travers l'oculaire de son fidèle microscope. Ensuite, Daniel DRUART, qui a, lui aussi, accepté de relire mon texte, dépoussiérant pour l'occasion son tableau noir de mathématicien. Enfin, et peut-être surtout, Jean-François BAAR, qui, affublé de son épée d'Académicien, a toujours révisé mes articles avec beaucoup de persévérance, en concentrant tout particulièrement ses efforts sur la question linguistique.

