



Crucibulum laeve (Huds.) Kambly, (photo Marcel Lecomte, Cognelée, 11/2009)

Bulletin de l'Association des Mycologues Francophones de Belgique

2010/03

Association des Mycologues Francophones de Belgique

(A.M.F.B. asbl)

Créée le 16 mai 2007

Siège social : Allée des Ecureuils, 6, à 6280 - LOVERVAL

Arrondissement judiciaire de Charleroi

Numéro d'entreprise : 892.031.004

<http://www.amfb.eu>

le site est géré par Emile VANDECASTEELE

Au sein du Conseil d'Administration, le bureau est composé de :

André FRAITURE, Président

Jardin Botanique National de Belgique, Domaine de Bouchout

B-1860 MEISE fraiture@br.fgov.be

Paul PIROT, vice-président

rue des Peupliers, 10, B-6840 NEUFCHATEAU paul.pirot.mycology@skynet.be

Alfred LOSS, secrétaire

Allée des Ecureuils, 6 - B-6280 LOVERVAL alfred.loss@skynet.be

Marcel LECOMTE, trésorier

Rue Basse Chaussée, 117 B-5022 COGNELEE/NAMUR mlecomte@skynet.be

Les autres membres du conseil d'administration sont :

Jacqueline BERNAUD

Françoise DRAYE

Jean-Pierre LEGROS

Camille MERTENS

Joseph PELLICANI

Jean-Marie PIRLOT

Claude QUINTIN

David VALLEE

La cotisation pour 2010 est de 5,00 € (voir page suivante)

Nous publions un bulletin annuel.

Table des Matières

Pages

2 : *In memoriam : Claude Lejeune*, M. LECOMTE, J.-J. WUILBAUT, J. GANE, J.-P. MAURICE, D. SCHOTT, B. WOERLY, P.-A. MOREAU

5 : *A propos de Russula camarophylla Romagnesi et Russula archaeosuberis Sarnari*, M. LECOMTE, M. DURAND & M. A. PEREZ-DE-GREGORIO

10 : *De la longévité des colorants et réactifs chimiques, en mycologie et en microscopie*, M. LECOMTE

13 : *Une planche d'artiste : Cortinarius subferrugineus Fr. ex Batsch*, J. GANE

14 : *Biblio : un nouveau programme de gestion d'une bibliothèque ; mode d'emploi*, D. GHYSELINCK & M. LECOMTE

22 : *La chromatographie sur couche mince (généralités)*, M. LECOMTE

24 : *La chromatographie sur couche mince (application à la mycologie)*, A. GERAULT & M. LECOMTE, avec la participation de G. FANNECHERE

30 : *Expérimentations personnelles de CCM, appliquées à quelques espèces de Dermocybe*, M. LECOMTE

36 : *Deux planches d'artiste : Inocybe alluvionis Stangl & Ves., Cortinarius gymnopus Henry*, J. GANE

37 : *Lactarius piperatus et L. glaucescens, peut-être pas si simple que cela !*, M. LECOMTE

- 37 : un peu d'histoire d'abord
- 40 : nos observations personnelles
- 41 : tests, mesures et expérimentations
- 43 : conclusions

47 : *Lactarius intermedius et scrobiculatus : essayons d'y voir plus clair !*, M. LECOMTE, avec la participation de M. FLORIANI, M. VERBEKEN, R. WALLEYN, M.T. BASSO, H. ROBERT, M. A. PEREZ-DE-GREGORIO, G. REDEUILH

50 : *Langue des bois*, P. PIROT

57 : *Phénologie et excursions (logiciel Mycobel)*, D. GHYSELINCK, A. FRAITURE & M. LECOMTE

59 : *Aide-mémoire du petit chimiste mycophile*, M. LECOMTE

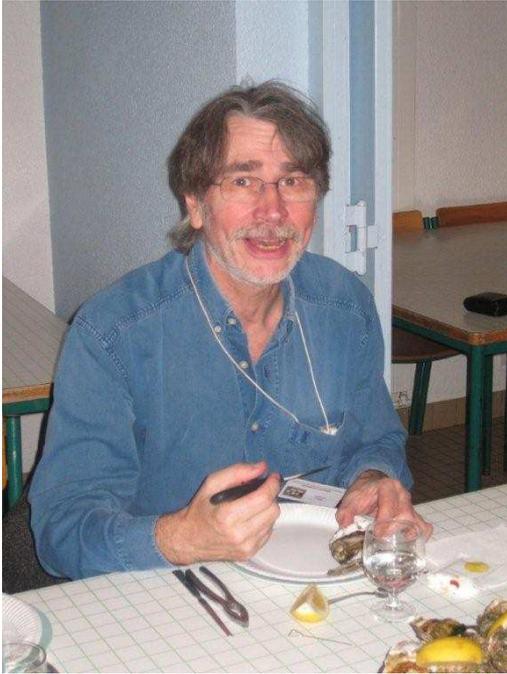
61 : *Guttules, vacuoles et noyaux*, M. LECOMTE

65 : *Une rareté : Amanita simulans*, M. LECOMTE & J. PELLICANI

68 : *Il y a microscopie et microscopie ...*, M. LECOMTE

In Memoriam : Claude Lejeune

Marcel Lecomte



La série noire continue !

Ce 1^{er} novembre 2009, la mycologie en général et le monde des russules en particulier, vient d'être amputé d'un de ses meilleurs éléments. Nous nous fréquentions depuis des années, animés tous deux par notre passion commune de la microscopie, du beau matériel et des livres rares.

Sa gentillesse n'avait d'égaux que sa simplicité et sa discrétion ; jamais il ne faisait étalage de ses immenses connaissances mycologiques et livresques, et de son impressionnante culture générale.

Chaque rencontre était un plaisir à chaque fois renouvelé, et j'ai toujours présente à l'esprit cette longue conversation du mois d'août, lors des Journées Mycologiques d'Été de Neufchâteau, où il m'avait confié ses « galères » passées, et son nouveau personnel basé sur de nouvelles dispositions très positives.

Une fois de plus, la vie a décidé injustement et cruellement, sans se préoccuper des craintes, des espoirs et des projets ; elle a frappé aveuglément, sans pitié, rappelant au néant une montagne de connaissances et un des êtres les plus humains et les plus charmants qu'il m'ait été donné de rencontrer.

Je pense à toi chaque fois que mes yeux croisent le microtome que tu m'avais donné, c'est-à-dire tout le temps, car il trône à la place d'honneur dans le capharnaüm qui me sert de laboratoire.

Adieu Claude, et à tôt ou tard de toute manière, en espérant partager avec toi le même paradis !

Voici comment il s'était présenté en janvier 2006, sur un forum :

« 54 ans. Troyen d'origine (j'y tiens, ne me demandez pas pourquoi), Strasbourgeois depuis des lustres. Beau-père d'une grande fille (26 ans) et père d'une horde de trois garçons (12-17-19).

Dans le civil, je m'occupe avec plus ou moins d'ardeur d'une agence de presse très spécialisée (programmes de 300 chaînes de télévision) créée avec ma moitié dans les années 80 et dont l'activité et la taille (un site à Paris, un site à Strasbourg, 80 collaborateurs) ont pris une ampleur inattendue. Activité qui m'a longtemps procuré autant de plaisirs que de légitimes emmerdements.

Je suis passé d'une cinéphilie ravageuse (de 16 à 34 ans) à une mycologie dévastatrice, sans trop savoir pourquoi. Il faut avouer que le rapport n'est pas évident !

J'ai un faible qui n'aura pas échappé aux plus attentifs pour les russules (encore que c'est sur un autre forum que cette manie s'exprime avec le moins de retenue). Je dois notamment à la générosité passée de Guy – générosité aveugle qui plus est : nous ne nous connaissions pas à l'époque – d'avoir fortement encouragé cette monomanie en lui procurant de quoi se repaître intellectuellement.

Il me reste de la tendresse pour mes premières amours : les mycènes, les polypores, et même certaines croûtes. Et l'envie de me rouvrir à d'autres genres (trop nombreux pour être cités).

Ce qui me passionne vraiment dans la mycologie ? Son côté touche-à-tout ; et l'incroyable paquet de questions qu'elle soulève ou invite à soulever et donc de domaines potentiellement concernés – et notamment l'Évolution, mais ce n'en est vraiment qu'un parmi d'autres !

A côté de la mycologie ? La « myco-bibliophilie », par passion des livres certes mais aussi et surtout par passion de la mycologie en tant qu'elle est profondément inscrite dans une chaîne ininterrompue de vies, toutes singulières.

Autrement : un reste de cinéphilie, un amour éclectique de la langue française (de Maupassant à Georges Pérec en passant par Albert Cohen et Jean Eschenoz ...) et de la chanson francophone : Piaf, Brassens, Félix Leclerc, Brel, Bobby Lapointe, j'en oublie, et le plus grand d'entre tous : Nougaro ! »

Je me suis permis de réunir ci-dessous quelques interventions parues sur différents forums, autant d'hommages empreints de douleur et de regrets

(J.J. Wuilbaut) :

« Je viens d'apprendre à l'instant par son épouse le décès de Claude Lejeune. Il était devenu en quelques années un ami cher, et je tremble encore d'avoir appris cette nouvelle qui me brise le coeur.

J'avais appris récemment qu'il avait dû se faire opérer, mais il avait aussi un tourment qui l'habitait car il était d'une sensibilité forte et méconnue. Il s'est éteint dans sa peine et sa douleur, et nombreux sont ceux qui le pleurent aujourd'hui. Et j'en suis.

J'enrage de cette maladie, et de l'impuissance qui m'empêchait de le voir plus souvent. Je l'ai encore vu en juillet, et il semblait aller plutôt bien, mais sa grande pudeur cachait mal une douleur intérieure. Et puis le cancer l'a touché, sans prévenir, et malgré des soins rapides, il s'en est allé doucement, recroquevillé sur lui même.

J'arrête ici mais sachez que ma peine est grande, et je crois qu'il aurait aimé que ses amis de la communauté mycologique l'apprennent par un de ses amis.

Tous les passionnés comme lui des russules, mais aussi des Aphyllophorales, tous ceux qui l'ont côtoyé physiquement ou virtuellement, ont apprécié sa gentillesse et son grand savoir.

Adieu Claude, tu es parti trop tôt, trop vite ! Peut-être rejoins-tu l'ami Jean-Claude Deiana, disparu lui aussi trop tôt. »

(Jacques Gane) :

« Impossible ! Nous étions encore aux journées d'été de Neufchâteau ce mois d'août !

Je suis effondré ; c'était un ami très cher ; j'étais inquiet de ne plus voir ses interventions ; nous en avons parlé Alain Ferville et moi la dernière fois que nous nous sommes vus... mais, de là à apprendre cette terrible nouvelle... je n'en reviens pas ! »

(Jean-Paul Maurice) :

« J'avais appris qu'il était malade aux journées mycologiques de la SMS à Storckensohn et je savais la teneur du diagnostic, mais on espère toujours ! ...



Nous sommes si fragiles nous-mêmes et lui l'était particulièrement. Je suis sûr que la mycologie était pour lui un véritable ballon d'oxygène qui malheureusement ne lui a pas suffi pour échapper à de multiples inquiétudes.

Il avait un esprit très brillant, une énorme culture mycologique et malgré cela, un doute permanent ou presque devant n'importe quelle russule !

Il avait la prudence d'un grand mycologue et je le verrai toujours lors de journées mycologiques avec ses "batteries" de russules en train de sporuler pour lui permettre de proposer un nom. Merci Claude pour toutes tes diagnoses. »

(Dominique Schott) :

« Je suis très touché par tous vos messages de sympathie à l'égard de Claude, le mycologue le plus à l'Est de la France. C'était un ami de longue date, rencontré voici plus de 25 ans, ayant travaillé ensemble (le hasard faisant parfois bien les choses) dans la même entreprise Strasbourgeoise. Il était journaliste avant qu'il ne crée sa propre boîte d'édition.

Nous nous sommes côtoyés durant de nombreuses années au sein de la Société Mycologique de Strasbourg et nous nous sommes plus particulièrement rapprochés lorsque j'ai commencé à m'intéresser aux russules. Il a spontanément partagé avec moi ses immenses connaissances et est vite devenu mon maître.

D'une extrême générosité, il partageait son savoir sans compter, sans distinction de personne, et à toute heure du jour et de la nuit s'il le fallait. On se souviendra longtemps des échanges de mail à des heures impossibles ... C'était un plaisir immense d'herboriser en sa compagnie ; chaque récolte, même la plus banale était pour lui un émerveillement, comme s'il s'agissait de la première de sa vie. Doté d'une grande culture générale, il adorait aussi les beaux livres, la lecture et le cinéma.

C'est d'autant plus triste qu'il venait juste d'obtenir sa préretraite et avait tellement de projets en tête, mais la maladie en a décidé autrement. C'est dur de perdre un ami mais il faut tourner la page et voir vers l'avenir. C'était son état d'esprit. »

(Bernard Woerly) :

« J'ouvre mes mails après un week-end passé au loin, et j'apprends la nouvelle avec effarement. Il avait mon âge ; on avait passé une année de terminale dans le même lycée de Sélestat. A mes débuts à la SMS, il m'a beaucoup appris, c'était un copain, un vrai..., même si on échangeait peu; je pouvais rester deux trois ans sans le voir mais tout de suite renaissait une complicité tacite lors de nos rencontres, à l'occasion d'une quelconque sortie. La dernière fois, c'était au Liebfrauenberg en 2008, où il n'avait pas hésité à ramener son impressionnant microscope, devant lequel il restait jusqu'à des heures avancées, quitte à dormir un peu la journée... Je ne sais quoi dire. »



(Pierre-Arthur Moreau) :

« Claude était une de ces précieuses personnes qui laissent des traces indélébiles chez tous ceux qu'elles rencontrent, tant elles ont de générosité et de culture à partager. L'ami Jean-Claude Deiana avait eu la chance de croiser son chemin dans ses dernières années, et tous ses proches se souviennent de l'aide que Claude lui avait apportée jusqu'au bout, et de "KDO", un élan de solidarité et d'amitié qu'il avait créé avec passion et qui rappellera d'heureux moments d'optimisme à tous ceux qui y participèrent. Claude aura malheureusement peu écrit sur les Russules, dans lesquelles il était devenu un expert. Heureusement, il restera ses articles dans le bulletin de la S.M.S., et un travail brillant et minutieux hélas peu diffusé, "*Russula straminea* ou *Russula globispora* ?", dans les Annales de la C.E.M.M. 2004, où il démontrait l'identité de ces deux taxons. Voici l'image que je garderai de cet ami, prise en juillet 2005. Le sac en plastique avec des trucs comestibles dedans était une facétie au troisième degré comme il les aimait, qui nourrissait son amour de la dérision et éloignaient pour un temps la grisaille et la bêtise ordinaire. »



Neufchâteau, fin août 2009 : Claude, en compagnie de René Chalange, lors de la remarquable découverte de *Russula flavispora*...

Nous avons également une pensée émue pour d'autres mycologues qui nous ont quitté ces derniers temps et notamment Karina Woirin, Francis Hallet ...

A propos de *Russula camarophylla* Romagnesi et *Russula archaeosuberis* Sarnari

Marcel Lecomte,
avec la collaboration de
Maurice Durand (*)
& M. A. Pérez-De-Gregorio (**)

Cet article fait suite à une récolte réalisée par Maurice Durand, dans le sud-est de la France (Savoie), et conservée dans son herbier personnel sous le n° 20090906h01. Un morceau de la récolte se trouve dans mon herbier personnel sous la référence 2009112901.

Cette espèce avait déjà été récoltée une première fois par l'auteur, en compagnie de Pierre-Arthur Moreau, dans de semblables circonstances.



Russula camarophylla, Photo Maurice Durand, 10/09/2009

Cette espèce européenne a été décrite en 1968 par Henri Romagnesi, et rangée dans le sous-genre *Compacta*, section *Archaeinae*.

La section avait été créée par Roger Heim, sur base d'un type récolté à Madagascar (*Russula archaea* R. Heim, 1938). On considère généralement que cette section est la plus primitive du genre *Russula* ; elle présente un aspect de *Camarophyllus* notamment à cause des lames espacées, épaisses, à allure décurrente.

Nous citons Bart Buyck (révision critique de la section *Archaeinae*) :

« *Le premier fascicule du Prodrôme à une Flore Mycologique de Madagascar et Dépendances (HEIM 1938) était consacré à la famille des Russulaceae. Il présentait un grand nombre d'espèces nouvelles de russules et de lactaires malgaches, avec des caractères jusqu'alors inconnus dans ces genres. Cette publication était également le début d'une longue discussion sur la phylogénie des "Astérosporales" et la position des espèces annelées et hypogées dans le schéma évolutif. HEIM a décrit Russula archaea de Madagascar sur un seul basidiome et cette espèce prend une place importante dans le genre car elle est interprétée comme l'archétype d'une russule.*

Selon Heim, R. archaea appuie la parenté possible entre Russulaceae et Hygrophoraceae par ses rares lamelles pliciformes triangulaires-descendantes, par ses petites spores étirées à la base, montrant une ornementation peu amyloïde et une plage très peu différenciée et, finalement, par ses basides étroites et cylindracées. Singer, de son côté, a toujours (depuis 1942) réfuté une évolution éventuelle des Hygrophoraceae aux Russulaceae.

A part ces quelques caractères particuliers, les autres caractères de R. archaea sont bien ceux du genre, et HEIM la situe à proximité de R. nigricans (lamelles épaisses, peu nombreuses et de longueur différente, sporée blanche, revêtement piléique difficilement séparable et marge non striée, saveur douce). D'autre part, l'odeur fétide rappelle le groupe de R. foetens. »

Ecologie :

La première récolte a été réalisée le 11 août 2001, sur alluvions avec grès argilo-calcaires, sous couvert végétal d'épicéas et de châtaigniers ; les spécimens étaient en fin de vie, mais Pierre-Arthur Moreau avait immédiatement identifié l'espèce.

Cette seconde récolte du 06 septembre 2009, consiste en un seul spécimen jeune, qui a été récupéré au fond d'un panier lors d'une sortie commune des associations mycologiques de la Savoie à Albertville, dans la Forêt de Rhonne (coordonnées GPS : N 45°39'16", E 06°24'43").

Le récolteur ne se souvenait plus du lieu exact de sa découverte, mais nous avons pu noter que la zone de récolte approximative était sous couvert végétal d'épicéas, avec de nombreuses espèces caducifoliées dont le châtaignier, sur micaschiste et gneiss fins.

Si on ne teste pas la cassure de la chair, il n'est pas évident de penser à une russule. Les lames espacées et épaisses font plus penser à un *Hygrophoraceae* ou à un *Tricholomataceae*. L'éventualité d'une Russule a fortement surpris le groupe.

Observation macroscopique :

Chapeau de 8,5 cm de diamètre, robuste, irrégulier, presque difforme, largement bosselé dans son ensemble, convexe à aplati au centre, de couleur blanc jaunâtre sale, à marge retombante, non striée.

Cuticule mate, rugueuse, couverte de fibrilles plus ou moins enchevêtrées, crevassée radialement, de tonalité beige ocre clair, blanchâtre en dessous, non séparable.

Lames blanchâtres, virant vers le rose chair clair en vieillissant, plutôt horizontales mais nettement décurrentes sur le pied, très épaisses, d'aspect céracé, remarquablement espacées (3 par cm au demi-rayon) mais larges de 8 mm, anastomosées et parfois fourchues vers le pied, non friables et même remarquablement élastiques, brunissant au toucher en vieillissant, tenaces. Présence de lames, lamelles et lamellules.

Pied trapu (4 x 2,5 cm), atténué à la base, beige puis ocracé, cabossé, gaufré sur le haut, avec un pseudo réseau irrégulier en dessous.

Chair ferme, très dure, compacte et épaisse, granuleuse, blanchâtre sale, s'oxydant progressivement en ocre brunâtre en présence de l'air ; odeur de bouchon de liège du groupe des *Compactae*.

Saveur douce et banale.

Chimie (réactions sur la chair) : gaïac vert azur immédiat, solution ammoniacale nulle, sulfate de fer orangé, potasse nulle.

Réactions sur le pied : gaïac immédiatement vert puis rapidement bleu azur, solution ammoniacale nulle, sulfate de fer orangé, potasse virant rapidement au brun.

Description microscopique :

Basides 4-sporiques, allongées, claviformes.

Spores 5,5-6,2 x 4,5-5 µm, légèrement verruqueuses, avec un apicule court, à réaction amyloïde.

Macrocystides allongées, étroites, assez rares : il faut bien chercher pour les trouver !

Cuticule présentant des hyphes emmêlés, serrés, avec des dermatocystides banales, cylindriques, présentant de rares cloisons.

Chair composée de sphérocytes serrées à parois épaisses, ce qui confère cette sensation de rigidité de la chair à la manipulation.

On peut maintenant lui associer *Russula archaeosuberis*, nouvelle espèce décrite et illustrée par Sarnari, en 1998.

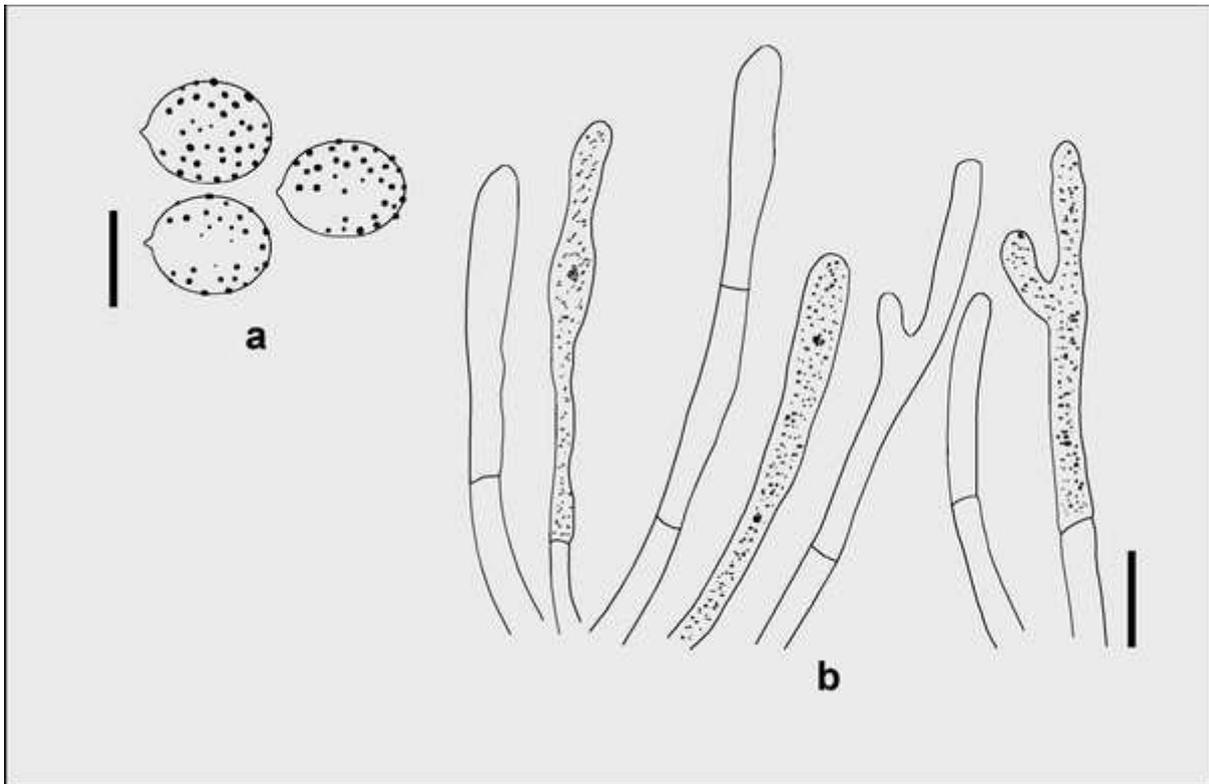
C'est une espèce méditerranéenne associée à *Quercus suber*, différant en outre de *R. camarophylla* par ses lames moins espacées et les extrémités des hyphes du piléipellis moins renflées.

Miquel A. Pérez De-Gregorio nous en parle car il a récolté cette espèce dans ses coins de prospection espagnols.



Russula archaeosuberis : photos de Miquel A. Pérez-De-Gregorio

Ces différentes récoltes ont été réalisées le 29 septembre 2005 et le 13 juin 2008, à Canet d'Adri (Espagne), associées à *Quercus suber*. Il est important de remarquer que la dernière récolte (un seul exemplaire), au Coll de Lli (11 juillet 2009), poussait sous *Castanea sativa* et *Ilex aquifolium*, sans présence de *Quercus suber*.



Russula archaeosuberis : dessins de C. Roqué (Espagne) – la barre de mesure vaut 5 µm

Commentaires :

Nous avons le sentiment que R. Galli (1996) a quelque peu mélangé les deux espèces dans son descriptif des pages 58 & 59, car il indique comme écologie « *Quercus suber* et arbres xérophiles méditerranéens », ce qui correspond à la description du biotope de *R. archaeosuberis*. Aucune photo in situ n'est fournie, mais l'aquarelle de Riccardo Mazza nous semble également plus proche de cette espèce.

La microscopie est décevante car elle ne permet pas de mettre en évidence des caractères déterminants ou spécifiques ; tout est banal dans la forme et dans la taille : basides, cystides, cuticule et dermatocystides ; les spores sont à peine représentatives des russules et ne présentent que des verrues de petite taille (voir les photos en MEB, page suivante), assez espacées, sans connectifs. Heureusement qu'il reste la réaction amyloïde.

Selon B. Buyck, il s'agit d'une espèce méditerranéenne très rare, voire rarissime, bien que retrouvée quelques fois en France et en Italie depuis la description originale. Des dessins des spores et des extrémités ont été fournis par Josserand (dans ROMAGNESI, 1968).

On peut cependant se demander si elle ne fait pas l'objet aux yeux de nombre de récolteurs, par simple méconnaissance, d'une confusion avec d'autres *Compactae*, jugées vieillissantes ou en mauvais état.

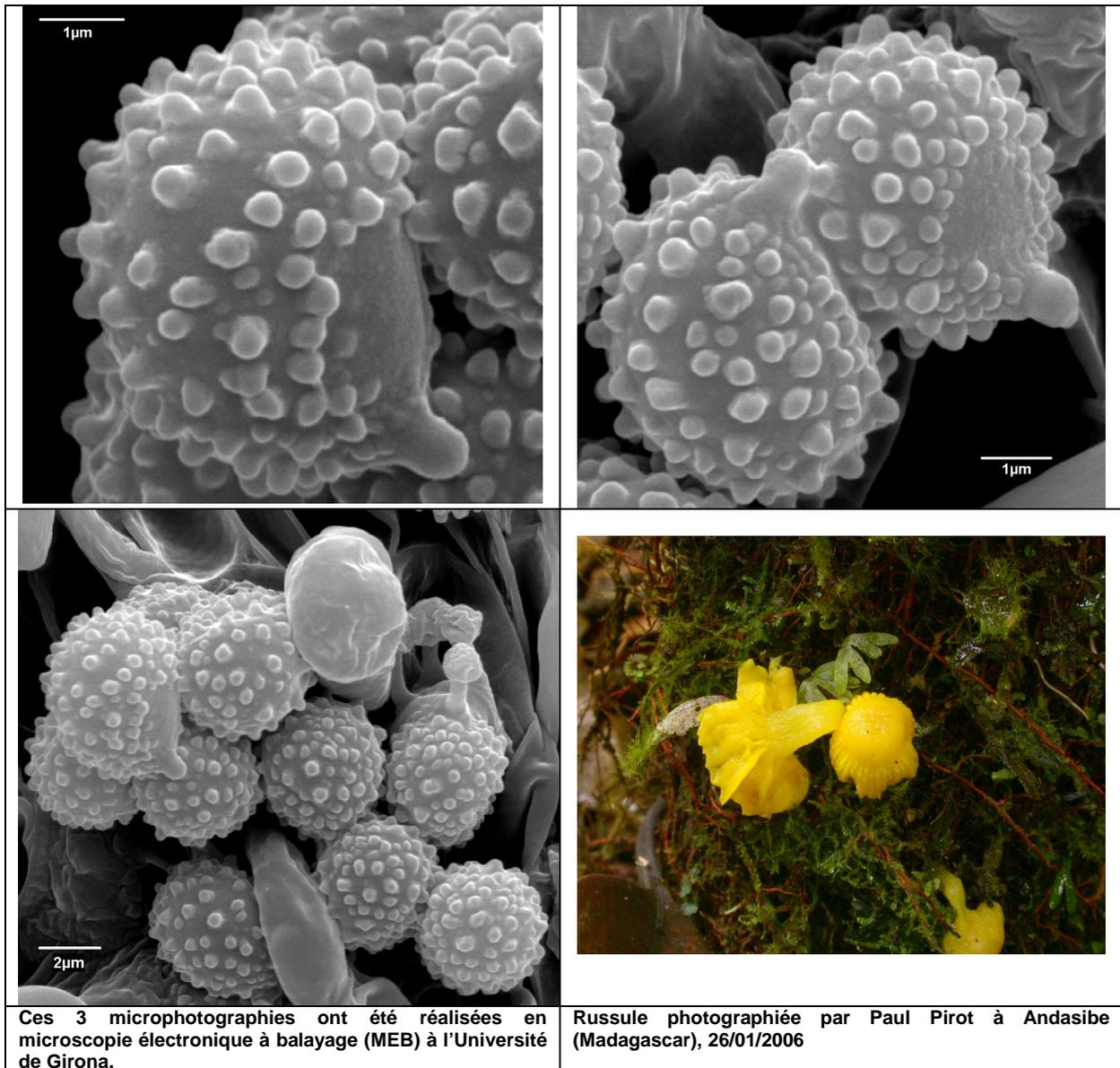
Il nous paraît raisonnable d'affirmer que les Archaeinae constituent des intermédiaires entre les Plorantinae et les Nigricantinae : sporée blanche (plutôt que blanc crème à jaunâtre) et chair brunissante (plutôt que rougissante-noircissante).

Nous avons lu avec beaucoup d'intérêt la redécouverte de *Russula archaea* par B. Buyck et son équipe, en 1997. Cela contribue à nous faire prendre conscience qu'il est nécessaire de sortir de la vision limitée que nous avons d'un genre ou d'une famille, et qu'il est nécessaire de « mondialiser » notre vision de la mycologie. En effet, nous sommes capables de reconnaître quasi en un coup d'œil une russule belge, française ou espagnole. Mais si nous étions confrontés à *R. archaea* à Madagascar, je doute fort que l'idée d'une Russulale nous effleure une seule seconde : très peu de chair, lames très espacées, chair translucide et gorgée d'eau, chapeau omphaliforme ... Voir la photo de Paul Pirot ci-dessous !

Mais cette vision mondiale va aussi nous obliger à tenir compte de certaines priorités ; ainsi, *Macrolepiota rachodes* s'appelle maintenant *Chlorophyllum rachodes*.

Pour information, voir Mycotaxon 83 (2002), à ce sujet. Voici la liste des comb. nov. de E. Vellinga.

Chlorophyllum abruptibulbum, *Chlorophyllum agaricoides*, *Chlorophyllum alborubescens*, *Chlorophyllum brunneum*, *Chlorophyllum globosum*, *Chlorophyllum hortense*, *Chlorophyllum humei*, *Chlorophyllum mammillatum*, *Chlorophyllum neomastoideum*, *Chlorophyllum olivieri*, *Chlorophyllum rachodes*, *Chlorophyllum subfulvidiscum*, *Chlorophyllum subrhacodes*



Bibliographie consultée :

- **BUYCK B.**, 1998 – *Une révision critique de la section Archaeinae (Russula, Russulales)*, Belg. Journ. Bot. 131 (2) : 116-126 (1998)
- **BUYCK B., EYSSARTIER G. & DUHEM B.**, 1998 – *Contribution à un inventaire mycologique de Madagascar*, Belg. Bull. Soc. Mycol. France, 114 (1) : 33-58
- **GALLI R.**, 1996 – *Le Russule*, Edinatura, 58-59
- **PÉREZ-DE-GREGORIO M. A., CARBO J., & ROQUÉ C.**, 2009 - *Algunos hongos interesantes de Girona*, Fungi Non Delineati, Pars XLIV, Ed. Candusso, 100 pp.
- **ROMAGNESI H.**, – *Les Russules d'Europe et d'Afrique du Nord*, Suppléments, 1001
- **SARNARI M.**, 1998 – *Monografia Illustrata del Genere Russula in Europa*, Tomo primo, A.M.B., 215-227

(*) Maurice Durand : 110, Montée Saint Jean, F-73290 La Motte Servolex maurice.durand@wanadoo.fr

(**) Miquel A. Pérez De-Gregorio : c/ Pau Casals, 6, 1º, 1ª. E-17001 GIRONA. E-mail: mycena@telefonica.net

De la longévité des réactifs et colorants chimiques en mycologie et microscopie

Marcel Lecomte

La question nous est souvent posée de déterminer la longévité d'un produit chimique que nous préparons, et surtout de savoir pourquoi n'y figure pas une date de péremption.

La manière la plus simple d'y répondre, est constitué par une lapalissade : chaque réactif ou colorant va durer un certain temps ... Pour faire référence au refroidissement du fût du canon, si cher à Fernand Raynaud.

En effet, il est impossible de déterminer des délais précis pour diverses raisons :

- chaque produit présente une durée de vie différente
- la longévité dépendra des qualités de stockage (exposition ou non à la pleine lumière, température de la pièce, flacons hermétiquement fermés...)
- Elle sera également directement proportionnelle au soin de manipulation apporté par l'utilisateur ; pour les réactifs macroscopiques par exemple, il est impératif d'essuyer la petite palette fournie avec le flacon après chaque utilisation, sinon vous risquez d'introduire dans le produit des éléments qui vont précipiter, et le dégrader (c'est particulièrement fréquent quand on teste le lait des lactaires : après quelques mauvaises manipulations, la potasse contient des précipités qui se manifestent sous forme de traînées blanchâtres)
- il est très important de ne pas laisser le flacon ouvert en cas d'utilisation prolongée, car les solvants risquent de s'évaporer très vite dans certains cas (ammoniaque ou éthanol)



Il est possible cependant de déterminer certaines constantes ou généralités :

- **Le TL4**, qui contient des acides forts (acide nitrique et acide chlorhydrique, solvants de l'oxyde de thallium) peut se conserver plus de 10 années ;
- **Les acides forts** cités ci-dessus, et **l'acide nitrique**, se conservent de 5 à 10 ans, même s'ils noircissent.
- **L'aniline** brunit après 1 an mais reste efficace durant nombre d'années.
- **La soude et la potasse** se conservent durant deux à trois ans, et restent efficaces si le liquide n'est pas troublé par des précipités.
- **L'ammoniaque** peut durer quatre à cinq ans (il suffit de tester son efficacité en le respirant avec beaucoup de précaution), ou alors d'ouvrir le flacon en présence rapprochée de *Lactarius necator* : les lames vont réagir immédiatement en mauve sous l'action des vapeurs d'ammoniac.
- **Le phénol** est très sensible à la lumière et il doit être scellé dans un flacon en verre brun ; nous vous conseillons en outre de l'entourer de papier aluminium. Il vaut mieux le remplacer après 2 ou 3 ans. Pour le tester, vérifier sa réaction sur le stipe de *Russula olivacea* : il donne une réaction pourpre violet vive (couleur groseille ou framboise), alors qu'elle est généralement brun chocolat pourpré.
- **Le formol** forme assez vite des précipités et à tendance à polymériser s'il fait trop froid dans le lieu de stockage : conservation 2 à 3 ans, dans de bonnes conditions.

Le Lugol et le réactif de Melzer doivent être contrôlés régulièrement après un an de vie, car la réaction amyloïde risque d'être faussée (et donc également la réaction dextrinoïde). Les produits iodés se



à gauche, du Melzer « fatigué » ; à droite du Melzer bien frais, en contact avec une feuille de papier (photo Marcel Lecomte)

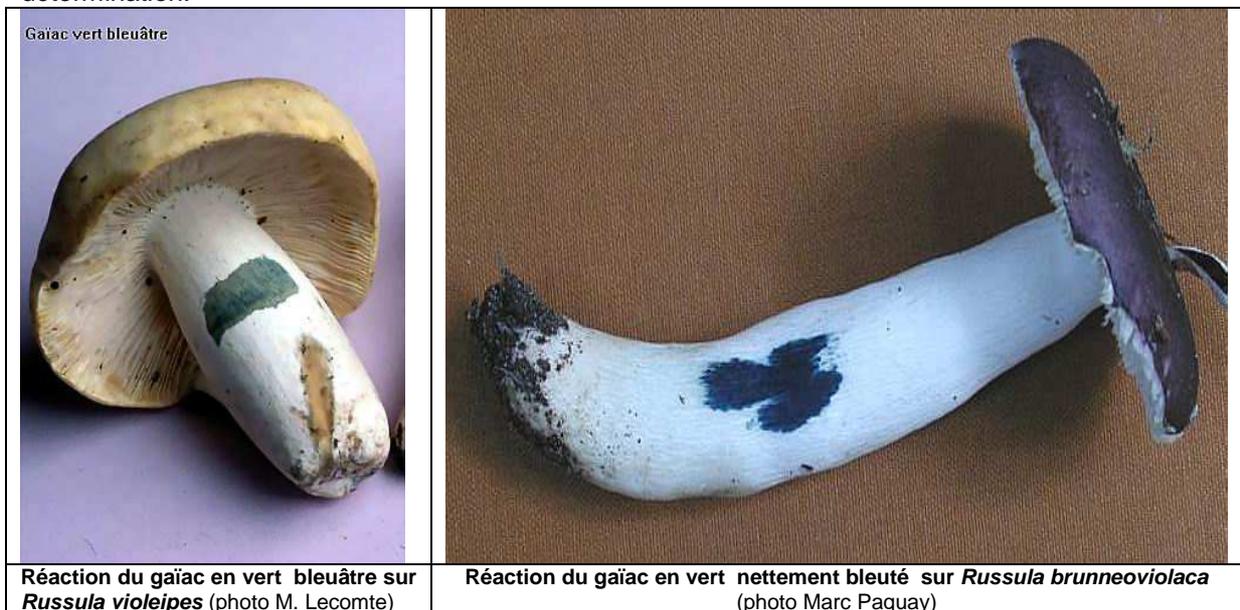
dégradent facilement en milieu trop chaud, à la lumière, ou encore dans des flacons mal fermés ou laissés ouverts et l'iode est très volatile !

Deux moyens simples pour les tester :

- Passer la palette sur du papier ou du sopalin (essuie-tout), et la tache doit devenir brun foncé au minimum ; si la tache reste brun clair ou orangée, Lugol et Melzer ne sont plus efficaces.
- Passer la palette sur les lames de russules ou de lactaires, et la réaction amyloïde apparaît immédiatement.

Le soluté de gaïac est vraisemblablement le produit qu'il faut remplacer le plus souvent, car il « fatigue » au bout

d'une saison, et l'utilisation d'un produit trop vieux peut générer de fâcheuses erreurs de détermination.



- L'efficacité du réactif peut être évaluée en l'essayant sur *Russula ochroleuca* : la réaction bleue doit être immédiate et très intense.
- Roland Hanon (M.L.B.), conseille 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.
- Voici ce que préconisait H. ROMAGNESI : le réactif doit être positif sur les lames de *Russula velutipes* (= *rosea* = *aurora*) et quasi nul sur le pied. S'il réagit sur le pied, c'est qu'il est trop fort ! S'il ne réagit pas sur les lames, c'est qu'il est trop faible !
- Cela marche aussi sur *R. minutula* ; toutes les autres russules testées par Romagnesi ont une réaction identique sur lames et pied (test à effectuer TOUJOURS sur du matériel frais – sur des exsiccata, les réactions sont variables).

Le cristal de sulfate de fer présente de grosses difficultés de préparation et le pourcentage de réussite est faible ; en outre, il a tendance à se dégrader assez vite s'il n'est pas enfermé dans une boîte hermétique, sur un lit d'ouate hydrophile.

Par contre, **la solution aqueuse de sulfate de fer**, stabilisée en milieu acide, peut se conserver plus de 5 ans, et donne les mêmes réactions que le cristal, à condition de blesser la chair du champignon, avant de le tester.

Il est impossible de conserver certains mélanges qui doivent se préparer de manière extemporanée, c'est-à-dire au moment de l'utilisation, sans possibilité de les stocker ensuite. Ce sera le cas notamment de tous les réactifs sulfoaldéhydiques, tels **la sulfovanilline, le sulfoformol, le sulfobenzaldéhyde, et le sulfopipéronal**. Ou encore, **le métol** et **le paraphénylène diamine**.

Il en sera de même pour **le rouge de ruthénium**, et pour **le réactif R56** de Dagon, qui noircit complètement en quelques jours.



Les différents **milieux de montage** vont se conserver durant très longtemps (quasi indéfiniment) s'ils sont stockés dans des flacons spéciaux, à bouchon en verre rodé, comme celui figuré à côté, et contenant du baume du Canada.

C'est une sage précaution, car les solvants de ces différents milieux sont souvent très volatiles.

Ce récipient est assez coûteux, mais le remplacement régulier des différents milieux l'est encore plus. En outre, la baguette de verre permet de déposer une petite goutte avec beaucoup de précision sur la lame porte-objet.

En ce qui concerne les colorants microscopiques classiques, la plupart des produits conventionnels peuvent se conserver durant plusieurs années (de 5 à 10) en flacons bien fermés.

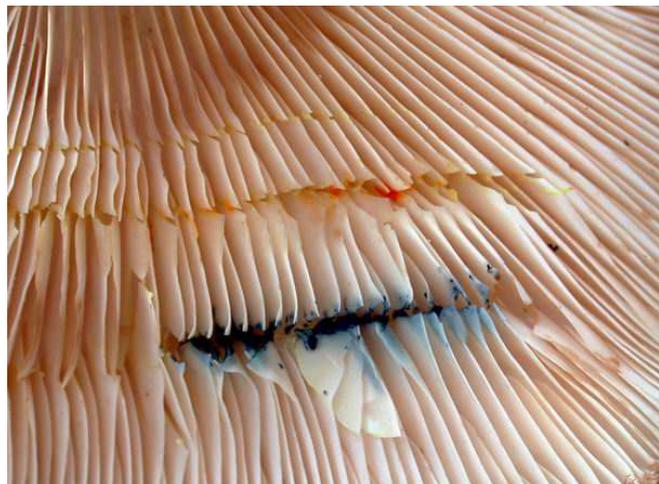
Nous parlons ici de :

- bleu de méthyle lactophénolé, ou **bleu coton lactophénolé**
- bleu de méthyle lactique ou **bleu coton lactique**
- **bleu d'aniline**
- diverses préparations de **bleu de crésyl**
- **bleu de toluidine**
- **carmin acétique** de Sémichon
- **fuchsine de Ziehl**
- **phloxine B**
- **fuchsine acide, lactique**

Il s'agira cependant de se montrer prudent avec le **rouge Congo ammoniacal** (il perd ses qualités en cas de dégradation de l'ammoniaque), et encore plus avec le **rouge Congo SDS**, qui bien souvent doit être remplacé chaque année (cela ne constitue pas un problème majeur, car un microscopiste quelque peu travailleur consomme largement un flacon durant une saison).

Nous accorderons également une attention toute particulière à **l'huile d'immersion synthétique**. Elle peut être avantageusement remplacée par le **glycérol** « spécial microscopie » qui possède un indice de réfraction exceptionnel, de l'ordre de 1,7 ; il a l'avantage d'être soluble dans l'eau et donc de présenter une grande facilité de nettoyage au niveau des lames ou des objectifs à immersion ... et les autres, qui sont souvent pollués par une fausse manœuvre.

Sur les lames de *Lactarius aquizonatus*, la potasse à 10 % réagit en donnant du jaune orangé, tandis que le TL4 donne une réaction d'un beau bleu noirâtre (photo Marcel Lecomte)



Une planche d'un de nos artistes : Jacques Gane

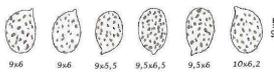


10 mm

JGane

JGa9920

Cortinarius subferrugineus Fries ex Batsch



largement et strictement elliptiques
ventruses, à forte dépression ventrale
ornementation micéliante, basse
(sans relief) mais dense
9-10 x 5,5-6,5 µm

15 octobre 1999
forêt syndicale de la vierge
250 m, Arriance (57 Moselle)
sous feuillus (chênes, hêtres, charmes)
terrain neutre à tendance calcaire

AMFB - Présentation de BIBLIO et mode d'emploi

Daniel Ghyselincq & Marcel Lecomte

Daniel Ghyselincq, notre informaticien de génie, a conçu un logiciel simple et sobre d'apparence, mais qui constitue à nos yeux un outil exceptionnel de gestion de bibliothèque et de référencement de données bibliographiques.

Il est en effet basé sur une quadruple possibilité :

- Encodage d'une bibliothèque personnelle
- Utilisation d'encodages déjà existants
- Possibilité d'encoder des mots « clés »
- Recherche de références au départ d'une liste de mots « clés » évolutive

La suite ci-dessous constitue un essai de synthèse d'utilisation de ce logiciel. Ce texte n'a pas la prétention d'être complet, mais il constitue à nos yeux une bonne base de travail.

Conventions de symboles :

DC = double clic

CD = clic droit

CG = clic gauche

Un mot indiqué en lettres grasses, comme « **Nouveau livre** » par exemple, signifie qu'il faut faire CG sur l'icône proposée.

Une référence de menu présentée comme suit « (*Sauver la liste*) » signifie que cette option n'est pas accessible à ce moment précis.

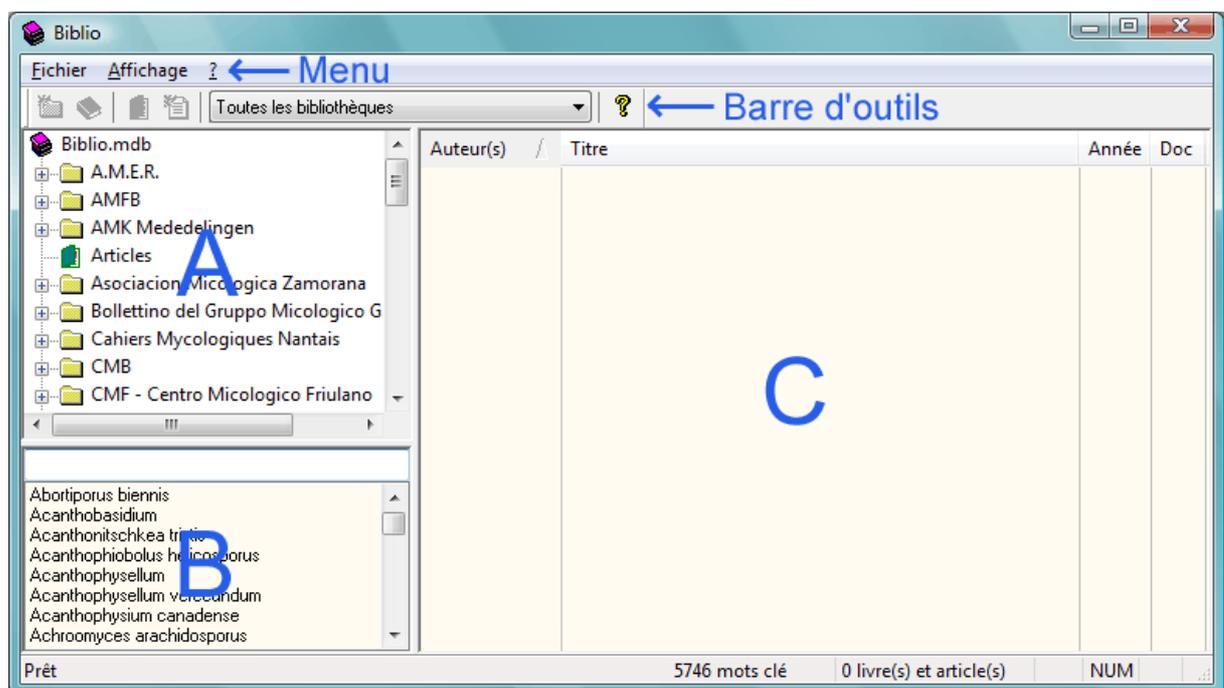
Il faut copier le contenu du CD ou du DVD dans un répertoire sur le disque dur.

Il contient un fichier .exe (outil de gestion) et un fichier .mdb, qui est la base de données proprement dite : il est impératif de sauvegarder ce dernier très régulièrement, sur un support externe, car c'est là dedans que se trouvent tous les renseignements encodés.

OUVRIR LE PROGRAMME :

→ DC sur le raccourci de Biblio (bureau)

→ Ouverture d'une fenêtre présentant 3 zones précises :



A. Une zone en haut, à gauche, reprenant l'arborescence de la bibliothèque (livres et revues)

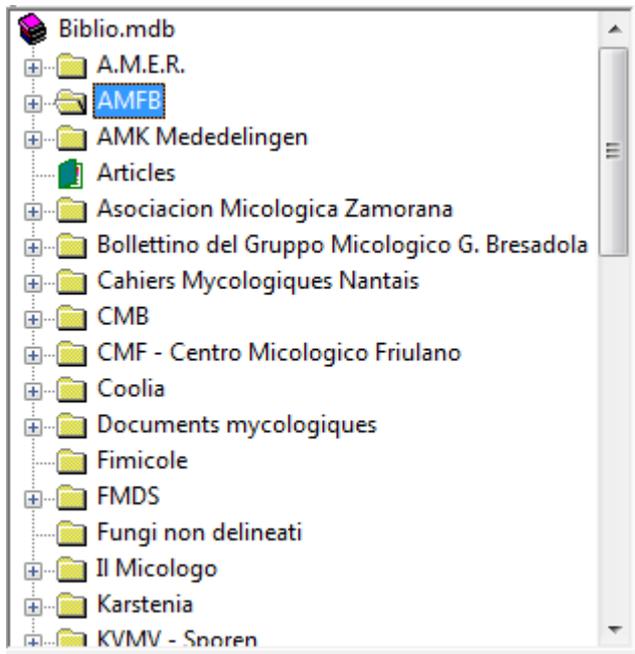
B. Une zone en bas, à gauche, reprenant la liste alphabétique des mots clés

C. Une grande zone, à droite, de consultation des documents encodés (auteur, titre, année)

D. Le menu et la barre d'outils

A. L'ARBORESCENCE DE LA BIBLIOTHEQUE

C'est simplement le développement de l'arborescence de la base de données, tel que cela se présente lorsqu'on liste le contenu d'un disque dur ou d'un périphérique avec l'Explorateur Windows. On se déplace tout au long de l'arborescence à l'aide de la barre verticale de défilement.



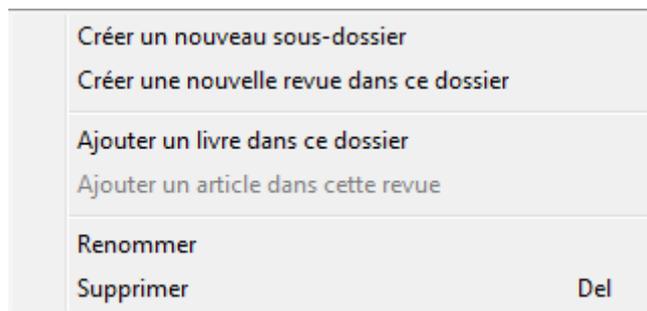
En cliquant sur l'encadré +, on visualise le contenu du dossier.
En cliquant sur l'encadré -, on occulte le contenu du dossier.

→ CG sur AMFB - 2008/01 par exemple, fait apparaître le contenu de la revue dans la zone de droite (à condition bien évidemment que cela ait été encodé) ... voir l'exemple ci-dessous.

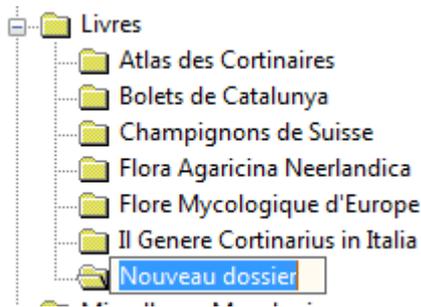


A1. Encoder un nouveau livre ou article de revue

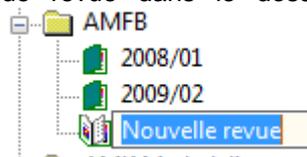
C'est à partir de cette fenêtre qu'il faut encoder les nouveaux livres et articles. Un CD sur un élément de l'arborescence fait apparaître ce menu :



- **Créer un nouveau sous-dossier** ( dans la barre d'outils) : crée un nouveau sous-dossier sous la rubrique sélectionnée dans l'arborescence. Vous devez introduire un nom pour ce nouveau sous dossier :



- **Créer une nouvelle revue dans ce dossier** ( dans la barre d'outils) : (l'icône est active seulement si on se trouve sur une branche de l'arborescence). Permet d'ajouter un nouveau titre de revue dans le dossier choisi. Par exemple, nouvelle revue dans le dossier AMFB :

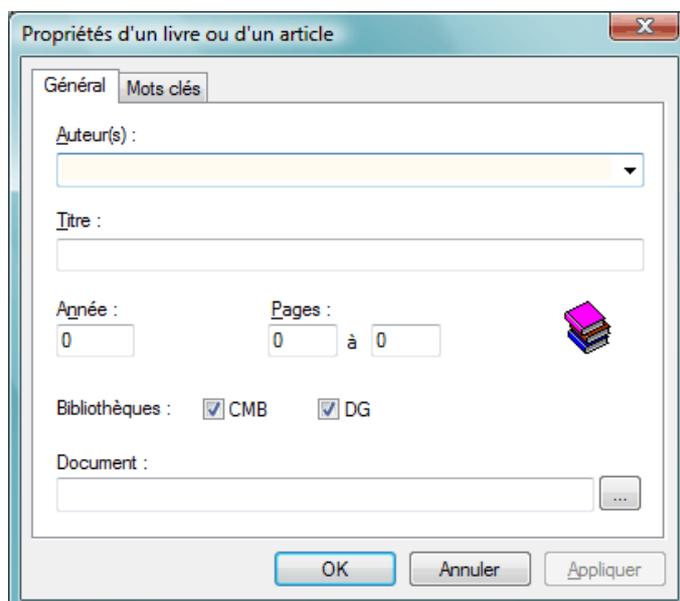


- **Ajouter un livre dans ce dossier** ( dans la barre d'outils) : (l'icône est active seulement si on se trouve sur une branche de l'arborescence). Un CG fait apparaître la fenêtre d'encodage d'un nouveau livre. Voir le paragraphe « Fenêtre d'encodage » ci-dessous.
- **Ajouter un article dans cette revue** ( dans la barre d'outils) : → CG → apparition de la fenêtre d'encodage (même procédure que pour « nouveau livre » ci dessus).
- **Renommer** : permet de changer le nom du dossier sélectionné.
- **Supprimer** : pour supprimer le dossier sélectionné. Par sécurité, le programme refusera de le supprimer si le dossier n'est pas complètement vide.

A2. Fenêtre d'encodage / Propriétés d'un livre ou d'un article

Cette fenêtre permet d'encoder les caractéristiques du livre. C'est la même fenêtre qui est utilisée pour encoder un article de revue.

L'onglet « Général », vous permet d'encoder le(s) auteur(s) → **ne pas oublier qu'il y a un menu déroulant à disposition...** Introduire les 2 ou 3 premières lettres du nom d'auteur vont vous amener



dans la zone adéquate du menu déroulant ... → clic gauche sur le nom choisi et il s'affiche dans la case.

Encoder : titre, année, pagination, bibliothèques et document. Penser à cocher la ou les cases correspondant aux bibliothèques dont ce livre fait partie.

TRES IMPORTANT :

La zone « document » permet d'ajouter des documents externes aux articles. Vous pouvez joindre des PDF, des images, des documents WORD, Excel, etc. et le programme pourra les ouvrir d'un simple clic !

Le bouton  permet d'accéder à l'arborescence du disque dur et de sélectionner le fichier incriminé. MAIS il n'est pas possible d'accéder à n'importe quel répertoire du disque dur. Le fichier doit être situé dans un répertoire en dessous du répertoire d'installation de Biblio. Ceci peut paraître un peu contraignant, mais de cette façon tous les documents sont rassemblés sous un même répertoire et il est donc très aisé de faire une sauvegarde de tous les fichiers en une seule opération (pour effectuer le déplacement du fichier concerné dans le répertoire de Biblio, utilisez l'Explorateur Windows par exemple et un « copier – coller »).



Lorsque c'est fait, le nom du document sélectionné se marque dans la fenêtre « Document » comme ci-dessous :

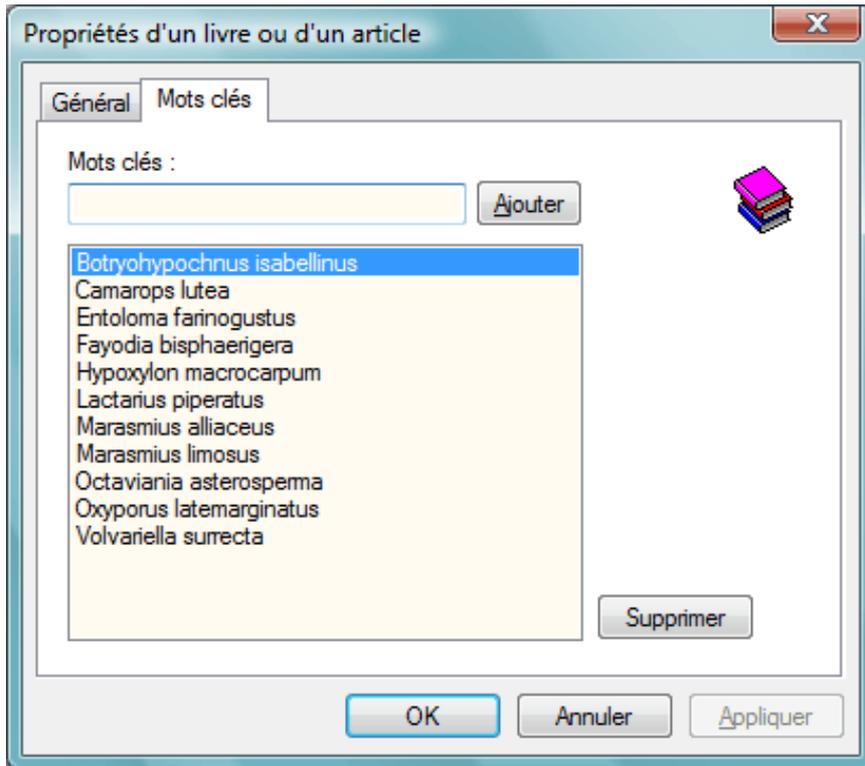


L'existence de pareil document sera mentionnée dans la fenêtre principale par le mot « OUI » dans la colonne « DOC »

Auteur(s)	Titre	Année	Doc
Baeké V.	Pleurotus tuberregium, ou l'excrément surnaturel	2005	Oui
Ghyselincq D.	Plicaria acanthodictya, un ascomycète rarissime récolté en Wallonie	2005	Oui
Lenne M.	Octaviania asterosperma, un champignon hypogé retrouvé au Bois de la Cambre	2005	Oui
Peric B. & Peric O.	Discina parma, nouvelle espèce de la flore mycologique du Monténégro	2005	Oui
Prados M.	Les excursions des années 2003 et 2004	2005	Oui
Walley R.	Quelques récoltes intéressantes en Forêt de Soignes (3)	2005	Oui

→ DC sur le « Oui » provoque l'ouverture du document pour consultation !

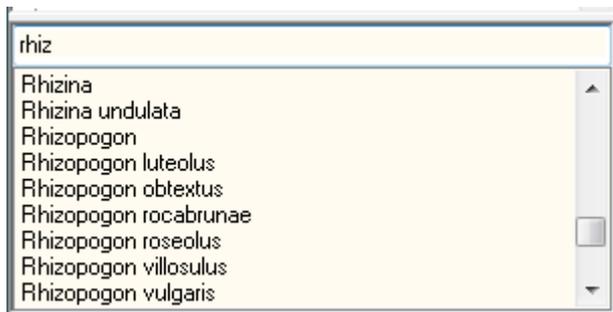
L'onglet « Mots clés » permet d'ajouter tous les taxons dont traite ce livre.



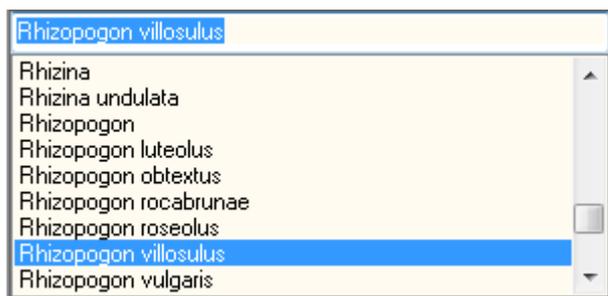
Il nous paraît très important de bien vérifier l'orthographe du mot clé encodé (très souvent un nom de genre et d'espèce).

B. LA LISTE ALPHABETIQUE DES MOTS CLES

Elle est constituée de 2 parties : une zone d'édition et en dessous de celle-ci, la liste avec tous les mots clés. Pour chercher les ouvrages qui traitent d'une espèce, par exemple *Rhizopogon villosulus*, le plus rapide est de taper les premières lettres de l'espèce dans la zone d'édition, comme ceci :



La liste se déplace automatiquement lors de la saisie, et lorsque vous apercevez dans la liste le taxon recherché, il vous suffit de cliquer dessus. Le mot clé est alors surligné en bleu...



...et tous les livres et articles traitant de cette espèce sont affichés dans la liste des documents encodés :

Auteur(s)	Titre	Année	Doc
Pirot P.	Bilan de la saison 2004	2005	
Societat Catalana de Micologia	Bolets de Catalunya - XXVI	2007	

Si vous cliquez sur un des ouvrages de la liste, la référence du livre ou de la revue apparaît en surligné dans la fenêtre de l'arborescence.

The screenshot shows a software interface with a tree view on the left and a table on the right. The tree view is expanded to show a folder named 'Mycolux' containing sub-items for years and issues, with '2005/1' selected. Below the tree view is a list of fungal species, with 'Rhizopogon villosulus' selected. The table on the right has columns 'Auteur(s)', 'Titre', 'Année', and 'Doc'. The first row is highlighted in blue, showing 'Pirot P.' as the author and 'Bilan de la saison 2004' as the title.

ATTENTION !

Il ne faut jamais encoder 2 fois le même ouvrage qui serait dans deux bibliothèques ! Il suffit de cocher les cases adéquates (par exemple CMB + AMFB) et ensuite choisir dans la barre d'outils la bibliothèque qu'on veut consulter.

Pour attribuer au nom de l'AMFB les revues déjà encodées par d'autres, il faut ouvrir chaque revue encodée (→ CG) pour ouvrir l'article (→ DC) et cocher AMFB en plus de CMB (ou autre) : tous les articles seront ainsi en biblio commune.

The screenshot shows a search or filter dialog box. It contains fields for 'Année' (1979), 'Pages' (185 à 191), and checkboxes for 'Bibliothèques' (CMB, DG, ML, AMFB). There is also a 'Document' field with a browse button.

C. LA LISTE DES DOCUMENTS ENCODES

Cette liste affiche les livres et les articles. La liste correspond soit au dossier sélectionné dans l'arborescence de gauche, soit au mot clé sélectionné dans la zone alphabétique.

Auteur(s)	Titre	Année
Baar D.	Les mesures en microscopie	2008
Lecomte M.	Présentation de MycoBel	2008
Lecomte M.	Une expérience intéressante : la plantation de noisetiers mycorhizés à la Truffe de Bourgogne (Tuber uncinatum)	2008
Lecomte M.	Une russule très intéressante : Russula pseudodelica	2008
Loss A.	Tuber aestivum vitt.	2008

Pour consulter ou compléter les propriétés du livre → DC sur la ligne. La fenêtre de propriétés du livre apparaît (voir description détaillée ci-dessus).

Pour consulter le document lié → DC sur le « Oui » dans la colonne « Doc ». Le document s'ouvre pour consultation.

Pour plus de détails, voir les paragraphes A et B ci-dessus.

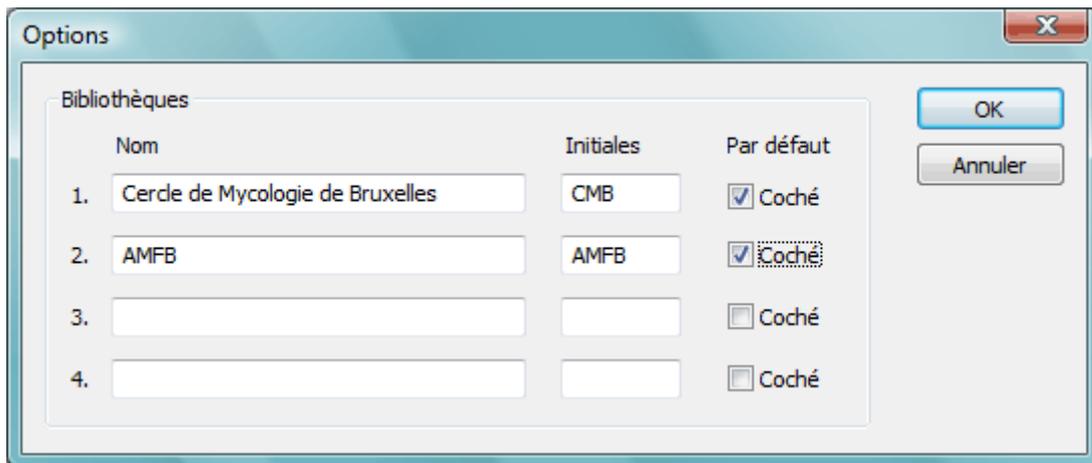
D. LE MENU ET LA BARRE D'OUTILS

D1. Le menu

Fichier Affichage ?

D11. Le menu « Fichier »

- **Sauver la liste** : Lorsque la zone de droite contient des livres ou des articles, cette fonction permet de sauver la liste de ces livres et articles dans un fichier texte. Le programme vous demande d'introduire un nom de fichier et de choisir l'endroit où le sauver. Le fichier est automatiquement ouvert, vous pouvez donc immédiatement visualiser son contenu.
- **Options** : Comme Biblio permet de gérer jusque 4 bibliothèques différentes, ce menu permet de leurs donner un nom. La fenêtre suivante s'affiche :



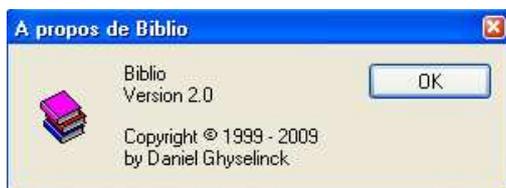
Le nom complet apparaît dans la barre d'outils qui permet de passer d'une bibliothèque à une autre tandis que les initiales sont utilisées lorsqu'on encode un nouveau livre.

- **Quitter** : Pour quitter l'application. Les données sont automatiquement sauvées.

D12. Le menu « Affichage »

- **Barre d'outils** : permet de masquer ou d'afficher la barre d'outils (la zone avec les icônes juste en dessous du menu).
- **Barre d'état** : permet de masquer ou d'afficher la barre d'état (la petite zone dans le bas de la fenêtre qui donne quelques informations).

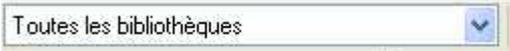
D13. Le menu « ? » (A propos de Biblio) : permet de vérifier la version du programme.



D2. La barre d'outils



-  : raccourci pour créer un nouveau sous-dossier (voir A1).
-  : raccourci pour ajouter un livre dans le dossier sélectionné (voir A1).
-  : raccourci pour créer une nouvelle revue dans le dossier sélectionné (voir A1).
-  : raccourci pour ajouter un article dans la revue sélectionnée (voir A1).

-  **Menu déroulant** reprenant les bibliothèques encodées (voir D11 – Options). Quand on change de bibliothèque, la liste des mots « clés » et la liste des livres changent automatiquement.
-  **(A propos de Biblio)** : ce n'est pas un menu d'aide, mais cela donne simplement les caractéristiques du programme. Voir D13.

C. LES SAUVEGARDES :

La perte des données constituerait un dommage irréparable. Il est donc essentiel de réaliser une sauvegarde très régulière de la base de données.

Personnellement, nous réalisons une sauvegarde après chaque nouvel encodage important de données, sur un disque dur externe ou une clé USB.

Un répertoire « Biblio » aura été créé et il faudra y sauvegarder tout le répertoire « Biblio » avec ses sous-répertoires (ainsi, tous les documents annexes seront sauvés en même temps).

Le fichier le plus important est : « biblio.mdb » : c'est celui-là qui contient toutes vos données personnelles, et qu'il faut sauver après chaque modification !

DU NOUVEAU de dernière minute !

La version 2.1 du logiciel Biblio affiche deux nouvelles fonctions, une pour exporter une revue, et l'autre pour importer une revue.

- **Pour exporter**, il faut sélectionner la revue dans l'arborescence de gauche. Par exemple AMFB → 2008/01. Clic droit et dans le menu contextuel, choisir « exporter cette revue ». Choisir dans quel dossier le fichier avec toutes les informations de cette revue seront sauvées (donc tous les articles avec les mots-clés).

- **Pour importer**, même procédure mais il faut sélectionner le « dossier » dans lequel on veut importer la revue. Par exemple AMFB. Ensuite, clic droit et choisir « Importer une revue »...

Rien n'est prévu actuellement pour exporter/importer les livres.

Le fichier exporté (fichier avec extension .bib) peut très facilement être envoyé par mail pour être ensuite importé dans un autre Biblio. Cela permet d'échanger des encodages de revues, et de se partager le travail.

Ne pas oublier de transmettre également les pièces qui seraient attachées à la revue.

La CHROMATOGRAPHIE sur COUCHE MINCE (généralités)

Marcel Lecomte

Après nombre d'échanges avec Alain Gérard, biochimiste de mes amis, et lecture approfondie d'articles publiés par Mme Madeleine Gabriel (bulletins de la SMF, 1959 et années suivantes), nous avons été fortement surpris de constater qu'il n'est guère fait mention (voire pas du tout, à notre connaissance) de cette technique différentielle dans la mycologie moderne.

Première question : **de quoi s'agit-il exactement ? Quel en est le principe ?**

Une rapide recherche sur internet nous fournit la réponse suivante :

*La chromatographie est **une méthode physique de séparation de mélanges en leurs constituants** ; elle est basée sur les différences d'affinité des substances à l'égard de deux phases, **l'une stationnaire ou fixe, l'autre mobile**. La chromatographie sur couche mince, ou sur plaque (CCM), est effectuée surtout en vue **d'une analyse** d'un mélange.*

*La phase stationnaire solide est fixée sur une plaque, et la phase mobile liquide, nommée **éluant**, est un solvant ou un mélange de solvants. On dépose sur la phase fixe une petite quantité du mélange à séparer et on met cette phase au contact de la phase mobile.*

*La phase mobile migre de bas en haut, par capillarité, le long de la phase fixe en entraînant les constituants du mélange. C'est le **phénomène d'élution**, qui permet la séparation des constituants du mélange à analyser.*

*Chaque constituant migre d'une certaine hauteur, caractéristique de la substance, que l'on appelle **rapport frontal** ou **rétenion frontale (Rf)**.*

Chaque tache correspond à un constituant et on l'identifie par comparaison du Rf avec un témoin (une même substance migre toujours à la même hauteur dans des conditions opératoires identiques).

Si la théorie n'était pas trop difficile à comprendre (dans ses grandes lignes), il s'agissait ensuite de passer à la phase pratique.

Pour cela, nous avons choisi de nous intéresser d'abord à des produits que nous connaissons tous, car ils font partie de notre vie alimentaire : les colorants de la série E.

En consultant des sites de vente de matériel expérimental pour les classes du secondaire, nous nous sommes procuré sans problèmes les kits de matériel nécessaires.

Les colorants utilisés seront le E102 (tartrazine, de couleur jaune), le E122 (azorubine, de couleur rouge), le E131 (bleu patenté V, de couleur bleue).

La phase stationnaire sera une simple solution aqueuse à 1 % (eau distillée).

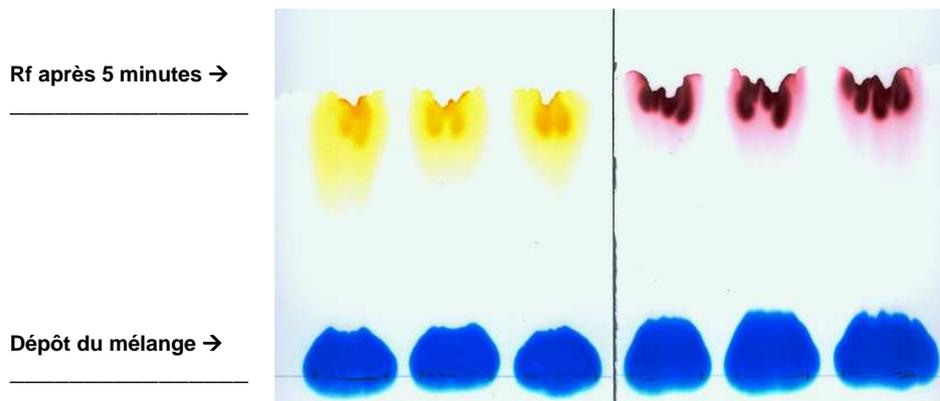
L'éluant destiné à la phase mobile sera une solution aqueuse de NaCl (chlorure de sodium) à 3 % (nous aurions pu utiliser une solution aqueuse de citrate de Na à 5 %, ou un mélange 50/50 d'éthanol pur et d'eau salée à 3 %).

Nous avons choisi de travailler sur des plaques de silicagel sur support PVC semi-rigide, plutôt que sur des feuilles de papier à dessiner, afin de privilégier la précision.

Dépôt sur la première plaque (gauche) d'un mélange de E131 et E102 (dépôt vert émeraude).

Dépôt sur la seconde plaque (droite) d'un mélange de E131 et E122 (dépôt bleu foncé).

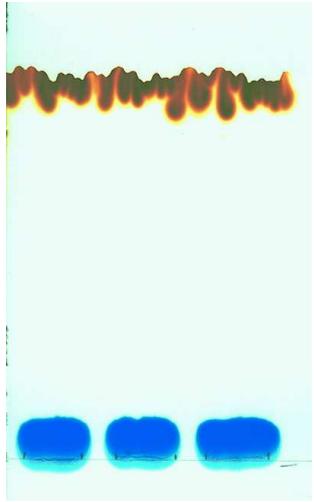
Voici le résultat obtenu :



On constate que les 2 composants du mélange ont migré différemment avec un Rf bien précis, très voisin pour E102 et E122 (mais un peu plus élevé pour ce dernier). E131 possède un Rf peu élevé.

Renouvelons l'expérience en mélangeant les trois colorants !

Voici le chromatogramme obtenu après 10 minutes de migration. Nous avons doublé le temps de migration, car après 5 minutes, le rouge et le jaune étaient quasi superposés ; cela n'y a rien changé.



Nous arrivons à la même conclusion que lors de l'expérimentation précédente :

- Rf de E131 peu élevé
- Rf de E102 et E122 très semblables (mais un peu plus élevé pour ce dernier : le jaune transparaît à l'arrière du rouge)

Cette notion de Rf peut être transformée en données numériques et représente une constante, mais cela dépasse le cadre de ce travail d'initiation.

En matière de colorants alimentaires de masse (voir liste ci-dessous), le champ d'investigation est énorme et peut faire l'objet d'expérimentations très intéressantes. Il suffit de réaliser une CCM pour chaque colorant utilisé (en principe, tous solubles dans l'eau), afin de réaliser son chromatogramme et déterminer son Rf. Ce référentiel de comparaison permettra alors de déterminer la nature du colorant qui se trouve dans l'aliment que vous voulez tester.

Couleur	N°	Nom	Couleur	N°	Nom
Jaune	E100	Curcumine	Bleu	E130	Bleu antraquinonique
Jaune	E101	Lactoflavine	Bleu	E130	Bleu patenté V
Jaune	E102	Tartrazine	Bleu	E132	Indigotine
Jaune	E103	Chrysoïne S	Vert	E140	Chlorophylle
Jaune	E104	Jaune de quinoléine	Vert	E141	Complexes cuivriques des Chlorophylles
Jaune	E105	Jaune solide	Vert	E142	Vert acide brillant BS
Orange	E110	Jaune orange S	Brun noir	E150	Caramel
Orange	E111	Orange GGN	Brun noir	E151	Noir brillant BN
Rouge	E120	Cochenille, acide carminique	Brun noir	E152	Noir 7984
Rouge	E121	Rouge Orseille orcéine	Brun noir	E153	Carbo medicinalis vegetalis
Rouge	E122	Azorubine	Rouges divers	E160	Caroténoïdes
Rouge	E123	Amarante		E161	Xanthophylles
Rouge	E124	Rouge cochenille A		E162	Rouge de betterave
Rouge	E125	Écarlate GN		E163	Anthocyanes
Rouge	E126	Rouge ponceau GR			
Rouge	E127	Erythrosine			

De là à tenter de réaliser le même travail en mycologie, il n'y a qu'un pas !

Cette méthode expérimentale est connue depuis longtemps et avait été appliquée avec succès à divers groupes de champignons par Madeleine Gabriel il y a environ 50 ans. Elle relate ses expériences (« Recherches sur les pigments des Agaricales ») dans une série d'articles dont vous trouverez la référence ci-dessous.

Il apparaît que les espèces qui contiennent des anthraquinones constituent un terrain de travail idéal et nous avons choisi de nous y intéresser à nouveau, dans l'article suivant.

Il existe des techniques beaucoup plus pointues, telles que la chromatographie en phase gazeuse ou la spectrophotométrie, mais qui sont totalement inaccessibles à des « amateurs » et nécessitent l'accès à un laboratoire spécialisé.

CHROMATOGRAPHIE SUR PAPIER OU EN COUCHE MINCE (CCM). Application à la mycologie.

Marcel Lecomte

La chromatographie sur couche mince (CCM) est basée essentiellement sur des phénomènes d'adsorption et sur le principe de la capillarité. Lorsque la plaque sur laquelle on a déposé l'échantillon est placée dans la cuve chromatographique, l'éluant monte à travers la phase stationnaire (PhS). Mais, en fonction de sa densité, de sa solubilité dans la phase mobile et des forces électrostatiques retenant le composant sur la PhS, chaque composant de l'échantillon se déplace à sa propre vitesse dans l'absorbant.

Le contenant sera une cuve chromatographique, à savoir un récipient habituellement en verre, de forme variable, fermé par un couvercle étanche.

On va devoir gérer 3 éléments bien définis :

1. **La phase mobile (PhM)**, également appelée **éluant** : c'est un solvant (ou un mélange de solvants), qui progresse le long d'une phase dite « stationnaire », fixée sur un support, en entraînant les composants de l'échantillon.

Selon le type d'analyse à réaliser, le choix de l'éluant sera variable :

- pour les hydrocarbures : hexane, éther de pétrole ou benzène.
- pour des groupements fonctionnels courants : hexane ou éther de pétrole, mélangés en proportions variables avec du benzène ou de l'éther diéthylique.
- Pour des composés polaires : éthanoate d'éthyle, propanone ou méthanol.

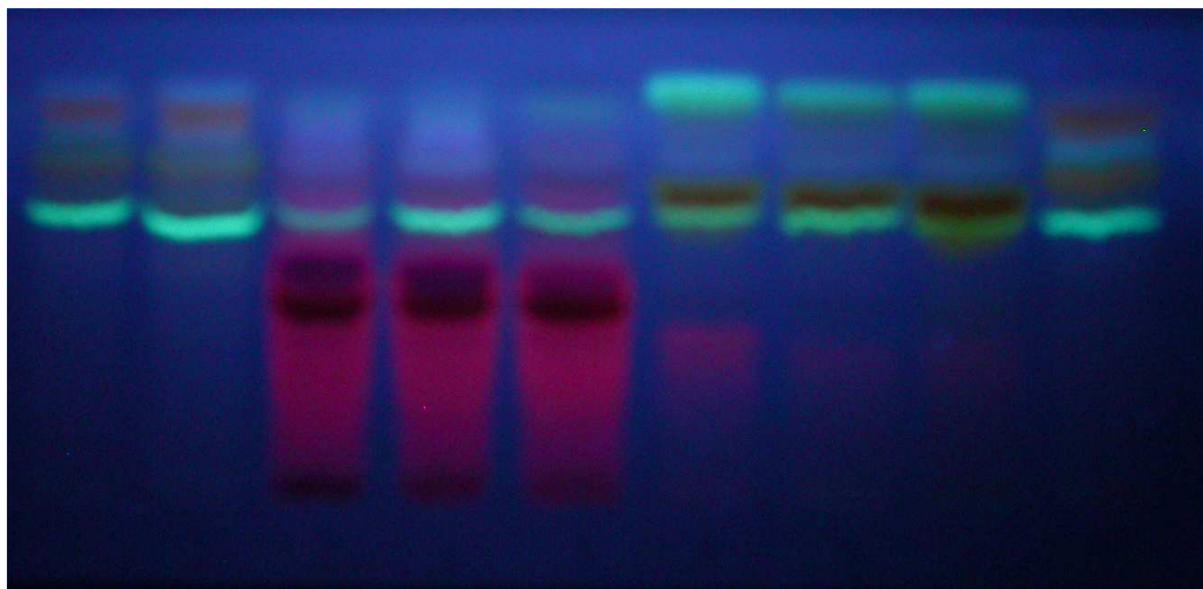
2. **La phase stationnaire (PhS)** : c'est une couche d'environ ¼ de mm de gel de silice (un adsorbant parmi d'autres) qui est fixée sur une plaque de verre (ou sur une feuille semi-rigide de matière plastique ou d'aluminium, voire même sur une feuille de papier), à l'aide d'un liant comme le sulfate de calcium hydraté (plâtre), l'amidon ou un polymère organique. Après le dépôt de l'échantillon sur la PhS, les substances migrent à une vitesse qui dépend de leur nature et de celle du solvant.

Par ordre d'importance décroissante, les adsorbants employés en CCM sont le gel de silice, l'alumine, le kieselguhr et la cellulose.

3. **L'échantillon** : il est mis en solution (2 à 5 %) dans un solvant volatil, qui n'est pas forcément le même que l'éluant : les plus utilisés sont le trichlorométhane (chloroforme), la propanone ou le dichlorométhane. La solution (1 cm³ max.) est déposée sur la plaque, à environ 1 cm de la partie inférieure

Explications fournies par Alain GERAULT, suite à des questions posées par Marcel LECOMTE ; avec également les conseils judicieux de Georges FANNECHERE.

Image « point de départ » qui a lancé le débat !



(ML) : *Bonjour Alain,*

Cette technique séduisante est-elle à la portée d'un mycologue "moyen" : matériel à utiliser, investissement de base, coût des produits, dangerosité ?

Pourrais-tu faire suivre une fiche technique qui explique cela dans le détail ?

(AG) : c'est accessible à un mycologue moyen en ce qui concerne la différence entre espèces et ceci avec des moyens réduits. A titre documentaire, voici une plaque de dermocybes de Nouvelle-Zélande (image ci-dessus) qui étaient assez semblables du point de vue micro et macro. On constate (sans qu'il soit nécessaire d'identifier formellement les pigments anthraquinoniques en cause...) qu'en partant de la gauche :

1 et 2 appartiennent à la même espèce.

3, 4, 5 idem

6, 7, 8 idem

9 est une espèce différente mais affine à 1 et 2, à mettre en balance avec d'autres caractères.

Présenté comme cela, c'est simple, non ?

(ML) : *Mais qu'en est-il au niveau du matériel nécessaire ?*

Cela relève-t-il d'un laboratoire spécialisé, inaccessible à des non-professionnels ?

(AG) : Mais non, c'est simple, j'ai rassemblé mon matériel sur ces photos.

Photo 1 :



Photo 2 :

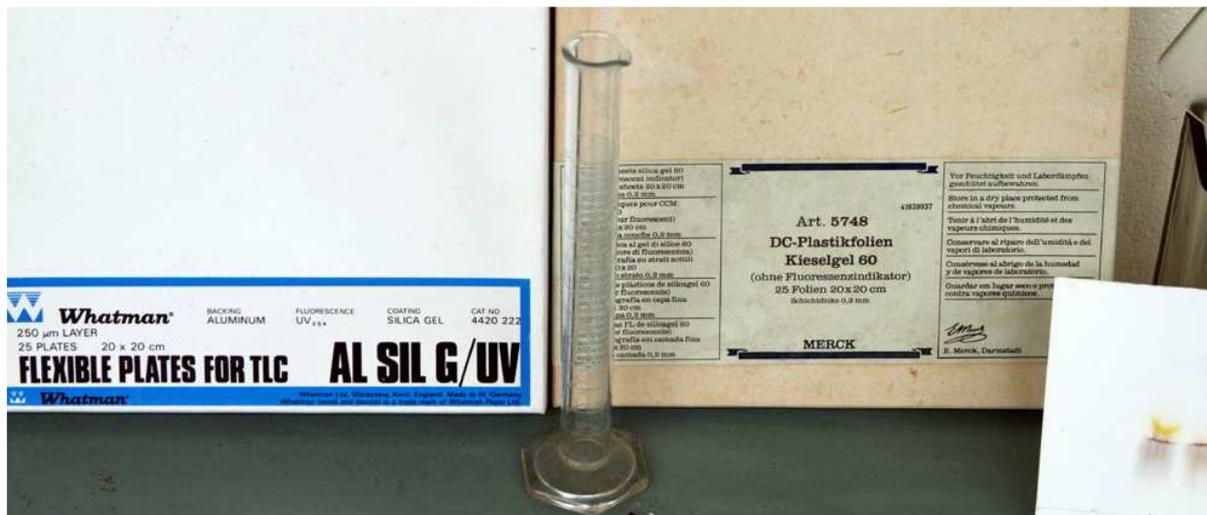


Photo 3 :



Voici ce qui est nécessaire :

- Une cuve à chromatographie en verre avec couvercle si on veut réaliser des chromatographies "universelles" car le verre n'est pas attaqué par les solvants de migration qu'on dépose au fond. Ceci dit, si on veut faire uniquement des chromatographies de pigments anthraquinoniques, une cuve en matière plastique transparente suffit, car on peut utiliser des solvants non corrosifs (je ne cite pas la marque bien connue des ménagères).
- Des pipettes Pasteur en verre pour faire les dépôts (non stériles, cela ne sert à rien).
- Une éprouvette graduée pour préparer le mélange du solvant de migration.
- Des solvants (à définir selon ce qu'on veut mettre en évidence).
- Des plaques de chromatographie 20 x 20 cm, pas en verre mais en plastique ou en aluminium, qu'on peut couper, ce qui permet de doubler le nombre d'analyses. C'est un peu cher, mais on peut faire 24 analyses au moins avec une plaque coupée en deux, ... et comme il y a 25 plaques dans une boîte...
- Une lampe UV (pas sur la photo), qui coûte environ 30 euros chez Conrad (mercure à haute pression, 220 volts, à installer dans une boîte qu'on fabrique soi-même).

(ML) : *Comment pratiques-tu pour extraire les pigments ?*

(AG) : Pour l'extraction, il faut utiliser un mortier pour broyer l'échantillon (avec un peu de sable). On transvase ensuite la poudre obtenue dans un petit tube en verre avec bouchon (dit tube à hémolyse). On ajoute du solvant (alcool) ; on agite fortement et on laisse décanter. C'est le surnageant coloré qui contient les pigments à analyser qu'on déposera sur la plaque et qu'on fera migrer.

Ensuite on séchera la plaque (emprunter le sèche-cheveux de son épouse...) et on examinera les taches en lumière visible et aux UV. Sur la photo 3, on voit des extraits de dermocybes dans les tubes, avec le surnageant clair. Le mode opératoire (déposé !) va suivre...

Il y a un tour de main à connaître : essaie de trouver quelqu'un qui puisse te faire une démonstration (il suffit de l'avoir vu faire une fois)...

(ML) : *Je suis plongé dans le catalogue de Merck-WVR Belgique et je suis perdu dans la masse des possibilités ! Je vois "plaques CCM, gel de silice 60 A, feuilles de plastique" : est-ce cela ?*

Une chambre d'observation avec lampe UV coûte plus de 1.000 €... Je suis un peu effaré par les prix.

(GF) : Bravo Alain pour la mise en œuvre de cette technique relativement récente....

- Il y a des plaques en petits conditionnements sur

http://www.sordalab.com/catalogue/produit.php?numprod=2110&request_temp=chromatographie

→ 50 plaques de silice sur polyester 40x80mm, réf 40079, pour moins de 45,00 €

- Voir aussi chez Pierron les kits pour les écoles

<http://www.pierron.fr/> → utiliser le moteur de recherche du site.

12 cuves cylindriques en polystyrène cristal, d'une parfaite transparence de 45 mm de diamètre et 120 mm de hauteur + 12 couvercles + 25 feuilles de papier chromatographique de 130 x 260 mm + un lot

de colorants alimentaires + le nécessaire à la réalisation de 1 l de phase mobile → **livré avec notice, pour moins de 30,00 €**

- Explications complémentaires (ça ne peut pas nuire !)

<http://www.ac-nancy-metz.fr/enseign/physique/CHIM/Jumber/CCM/CCMCADR.htm>

- Quelle bande de fréquence la lampe à UV ?

Une lampe UV lambda ne coûte pas cher ! Mais il ne faut pas l'acheter chez les fournisseurs de labos (voir Conrad, Selectronic, et d'autres ... selon les fréquences)

(AG) : Merck est le fournisseur le plus cher en matériel et en réactifs, il est possible de trouver beaucoup moins cher chez d'autres fournisseurs...

Ceci dit, pour ce qui nous concerne, il n'est pas absolument nécessaire d'utiliser la chromatographie en couche mince. Pour les pigments des champignons, la chromatographie sur papier suffit (elle est certes moins sensible et moins résolutive mais en général on a assez d'échantillons...). Me contacter pour les solvants.

Dans ce cas, on remplace les plaques de silice par du papier pour aquarelle (bien blanc et épais !). Ce n'est pas très cher et on peut tailler les feuilles à sa convenance. Pas besoin d'une cuve spéciale, un grand bocal fermant avec un bouchon à vis est suffisant ! Il suffit de faire des dépôts plus importants et de laisser migrer plus longtemps, c'est même plus facile à conserver ensuite après séchage.

Pour ce qui concerne la lampe UV, inutile d'acheter une lampe coûteuse ; une simple lampe à mercure haute-pression suffit ; voici la moins chère qui est parfaite car puissante :

voir www.conrad.fr Lampe vapeur mercure, lampe lumière noire, 160 W /E-27 pour 24,90 euros.

Il suffit de la placer dans un caisson avec une ouverture latérale (ou le séchoir à champignons comme je l'ai fait !) Cela convient pour les chromatogrammes, mais aussi pour les champignons frais, les lichens (indispensable pour les déterminations), les timbres-poste, les billets de banque, etc.

(ML) : *Est-il nécessaire d'acheter des plaques CCM munies d'un indicateur de fluorescence ?*

(AG) : La présence d'un indicateur de fluorescence dans les plaques nécessite pour la lecture une lampe spéciale à 266 nm ; elle permet alors de faire fluorescer le fond de la plaque, et les substances non fluorescentes qu'on a fait migrer apparaissent alors en sombre sur le fond jaune fluo de la plaque. C'est totalement inutile dans notre cas puisque justement les pigments anthraquinoniques sont fluorescents !

GENERALITES TECHNIQUES.

Voir les sites suivants en français :

<http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/lafont/chromato/A2.html>

<http://www.chez.com/dalmeyda/cours/ccm/>

APPLICATION AUX CHAMPIGNONS.

Présentation par Alain GERAULT d'une technique qu'il a mise au point, 27/08/2008.

Une très bonne étude générale figure dans le travail de R. Kühner : « *Les grandes lignes de la classification des Agaricales, Plutéales, Tricholomatales* ». Ce travail a été publié par fascicules dans le Bulletin de la Société Linnéenne de Lyon en 1978. (Pour ce qui concerne les dermocybes : 47ème année, n°8, octobre 1978.)

N.B. : cette étude figure dans « *Hyménomycètes agaricoïdes* », de Robert Kühner, 1980, 1027 pages, n°spécial du Bulletin de la Société Linnéenne de Lyon, p. 202 et 249.

Remarque : la technique que je développe s'applique aux dermocybes. Elle permet de réaliser des chromatogrammes et de les comparer, ce qui permet de voir si une « espèce » est semblable ou non à une autre. Il est également possible d'utiliser des racines d'arbres mycorhizées par un dermocybe et de produire un chromatogramme des racines broyées. En le comparant à des chromatogrammes d'espèces connues, il est possible d'identifier l'espèce qui a mycorhizé l'arbre.

MATERIEL

Cuve à chromatographie avec son couvercle.

Tubes à essai (si possible fermant avec un bouchon à vis).

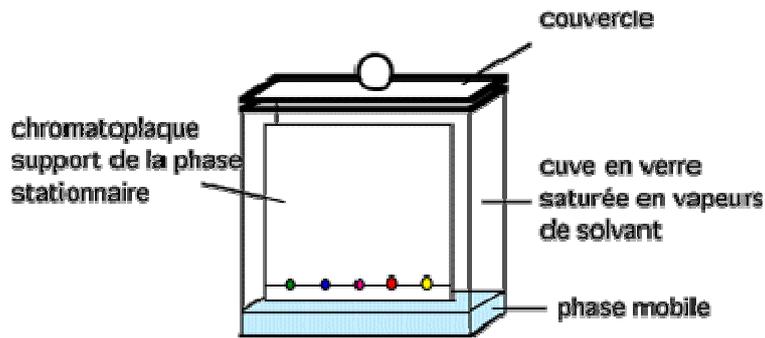
Pipettes Pasteur pour réaliser les dépôts.

Mortier et pilon, sable ou poudre de verre.

Papier pour chromatographie : peu coûteux et simple mais la séparation des pigments est moins nette qu'en chromatographie sur plaque.

Plaques pour chromatographie en couche mince (silicagel), qu'on peut découper en plaques de 10 x 10 cm.

Sèche cheveux.
Une lampe U.V.
Méthanol pur et réactifs chimiques.



Dessin de René Laffont (B.Media) – les points colorés sont les dépôts d'échantillons

TECHNIQUE

➤ Extraction des pigments :

Prendre un peu de champignon (quelques grammes), frais ou sec (dans ce cas moins), le broyer dans un mortier avec un peu de sable ou de poudre de verre (c'est plus facile !) après l'avoir humecté de méthanol (pas trop) jusqu'à disparition des fragments visibles à l'œil nu.

Transvaser la poudre obtenue dans un tube à essai (si possible muni d'un bouchon vissé).

Ajouter du méthanol (au double de la hauteur de la poudre environ).

Agiter le contenu.

Laisser décanter et se servir du surnageant pour faire les dépôts sur le papier ou sur la plaque.

➤ Préparation du solvant de migration :

Avec des plaques de silicagel, nous utilisons un solvant polaire « universel » constitué de la manière suivante :

Chloroforme/n. butanol/éthanol/acide acétique/eau (5:55:10:15:15)

Donc pour en préparer 100 ml, il faut mélanger :

Chloroforme (5 cc) - N butanol (55 cc) - Ethanol (10 cc) - Acide acétique (15 cc) – Eau (15 cc)

Un autre solvant peut être utilisé : **n. butanol/acide acétique/eau (80:10:10)**

N.B. Il en existe encore beaucoup d'autres (attention, les solvants peuvent être différents selon qu'on utilise le papier ou la plaque de silicagel comme support de migration).

Cas particulier de la chromatographie des caroténoïdes : ils ne sont pas solubles dans l'eau ; il faudra donc pour les extraire et les chromatographier, utiliser des solvants apolaires. On peut extraire à l'acétone, à l'acétate d'éthyle, au mélange acétone/éther de pétrole (5:45).

Les solvants de chromatographie peuvent être, pour les caroténoïdes :

Cyclohexane/acétate d'éthyle (75:25)

Cyclohexane/éther de pétrole/acétone (5:85:10)

➤ Dépôts, développement, chromatogrammes :

Dépôts :

On trace au crayon une ligne située à environ 1,5 cm de la base de la plaque et on inscrit les numéros des échantillons (on peut faire 5 dépôts, donc 5 chromatogrammes sur les 10 cm de la largeur d'une plaque).

Les dépôts se font avec une pipette Pasteur ; il faut déposer en plusieurs fois (sécher au sèche-cheveux entre chaque dépôt) jusqu'à avoir une tache bien colorée au niveau du dépôt.

Développement :

Après avoir séché tous les dépôts, développer dans le solvant choisi jusqu'à environ 1/2 cm du haut de la plaque, soit sur environ 7,5 cm avec une plaque de 10 x 10 cm.

Le développement consiste à faire migrer l'éluant sur la plaque. Dans les analyses habituelles de laboratoire, le principal type de développement est la chromatographie ascendante : la plaque est placée en position verticale dans une cuve et l'éluant qui en recouvre le fond monte par capillarité.

Le niveau de liquide est ajusté à environ 0,75 à 1 cm du fond de la cuve puis on introduit la plaque. Pendant le développement, la cuve doit demeurer fermée et ne pas être déplacée.

Lorsque la position du front du solvant arrive à environ 1 cm de l'extrémité supérieure, la plaque est retirée de la cuve, le niveau atteint par le solvant est marqué par un trait fin, puis la plaque est séchée à l'air libre ou à l'aide d'un séchoir.

Chromatogrammes :

Photographier (ou scanner) la plaque en lumière naturelle car les pigments apparaissent colorés naturellement (c'est leur avantage !). Mais l'exposition au rayonnement ultraviolet donne des résultats encore plus spectaculaires.

(ML) : *Justement, parle-moi de ce plus que constituent les rayons UV !*

(AG) : La fluorescence est immédiate et cesse quand on coupe la lampe UV ! (regarder dans le noir en ne regardant que la plaque et pas la lampe...). Il y a toute une gamme de couleurs et en particulier des bleus qui ne correspondent pas à une tache de couleur en lumière visible (substance fluorescente incolore : par exemple l'orellanine). Sur une plaque, on peut observer la fluorescence tant que les taches colorées en lumière visible sont nettes (plusieurs jours en général). On doit toujours observer le chromatogramme bien sec.

Les plaques doivent être conservées à l'obscurité car la lumière les décolore en quelques jours. Attention ! Les UV sont très actifs : une heure ou deux d'exposition suffisent pour détruire les substances fluorescentes.

Exposer aux UV dans une chambre noire (un carton percé suffit) et faire une photographie des spots fluorescents. Je réalise en général une photo de la plaque en lumière blanche, puis une autre sous les UV ; comme cela, pas de problèmes de conservation.

Par la suite, on aura tout son temps pour étudier les chromatogrammes en les comparant avec ceux de la collection qu'il est facile de se constituer.

Pour avoir une image nette en photo, faire la mise au point en visible (on peut utiliser une mire que l'on pose sur la plaque CCM) puis la mémoriser et faire ensuite la photo sous UV. Utiliser aussi un filtre UV sur l'objectif ; rechercher ensuite la sensibilité ISO qui ne donne pas trop de grain. Pour s'amuser, réaliser aussi des chromatogrammes de *Leproclybe* : il y a parfois des surprises (espèces qui en macroscopie semblent identiques et qui ne le sont pas en CCM...).

(ML) : *Est-il possible d'étendre cette technique à d'autres genres, comme les russules et les lactaires par exemple ?*

(AG) : Tout est possible, mais c'est plus complexe car il n'y a pas de pigments anthraquinoniques dans ces familles. On peut toutefois rechercher des acides aminés particuliers mais cela nécessite des techniques complexes et délicates (voir dangereuses) réservées aux chimistes.

J'ai oublié de te dire que les anthraquinones n'existent pas que chez les dermatocystes, contrairement à ce que l'on entend souvent dire, mais on en a trouvées aussi chez des représentants des *Telamonia* et des *Phlegmacium* (G. Eyssartier). Et dans certains groupes de tricholomes, et également un peu partout dans le domaine végétal...

Chez les lichens c'est pratiquement la règle générale (cf. les réactions chimiques pratiquées dessus ! et la définition de races chimiques chez certaines espèces) et pour la majorité des lichens, ce sont des Ascomycètes.

(ML) : *Tu m'as parlé de « kétides » ! De quoi s'agit-il ?*

(AG) Un kétide est un groupe chimique comprenant une fonction méthylène et une fonction carbonyle adjacentes, ce groupe peut se polymériser (il porte alors le nom de motif) pour donner des polykétides. Ces polykétides sont des composés très importants en biochimie en particulier des champignons (ce sont des métabolites secondaires comme par exemple certains antibiotiques).

Les octakétides et les nonakétides sont donc des polykétides respectivement à 8 ou 9 motifs kétides : -CH₂-CO-

Ces octa- ou nona- kétides sont soit accrochés quelque part sur l'antraquinone soit polymérisés dans un endroit du squelette chimique de l'antraquinone ; il faudrait avoir plus de précision.

Voir l'article suivant sur les polykétides :

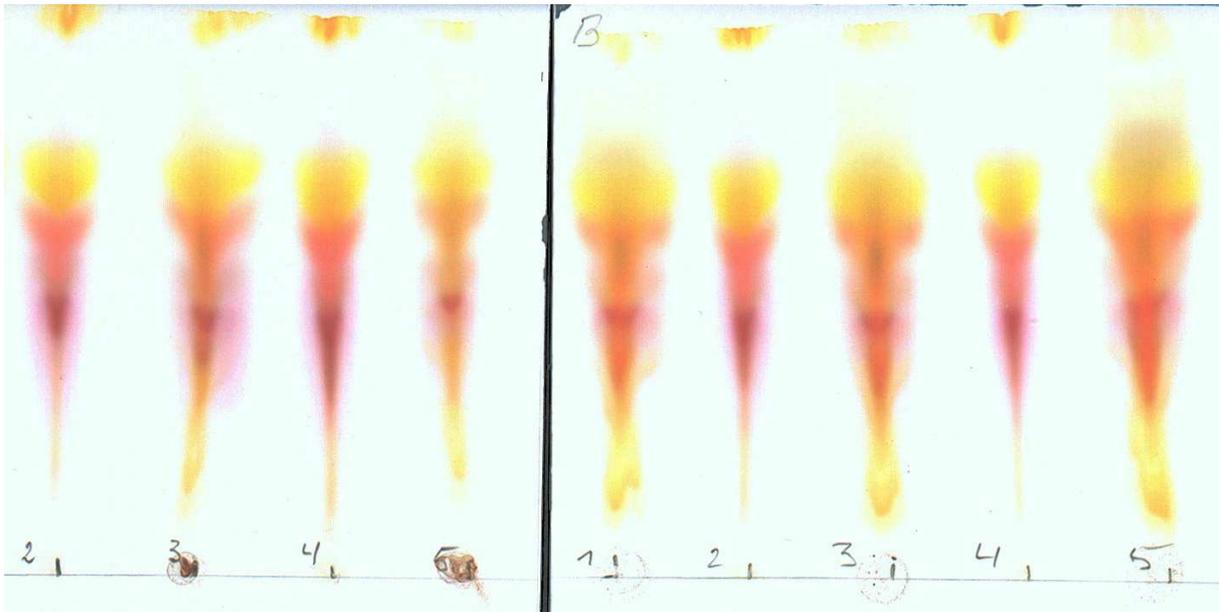
http://www.rasmusfrandsen.dk/ny_side_8.htm

Références bibliographiques

1. BEYERINCK M. W., 1889 - Z. Phys. Chem., 3, 110.
2. STAHL, 1969 - Thin Layer Chromatography, 2ed., Springer Verlag.
3. MACEK K. et al., 1968 - Bibliography of Paper Chromatography and Thin Layer Chromatography, 1961-65, supplementary volume, J. Chromatogr., Elsevier.
4. KALASZ H. et BATHORI M., 1997 - LCGC int, 10, 7, 440-445.

Expérimentations personnelles

Marcel Lecomte, 12/2009



Les références A2 – A4 – B2 – B4 concernent *Dermocybe sanguinea* (Wulf. : Fr.) S.F.Gray : on peut constater que le chromatogramme des 4 échantillons est rigoureusement identique.

Les autres références concernent *Dermocybe cinnamomea* (L. : Fr.) Fr.

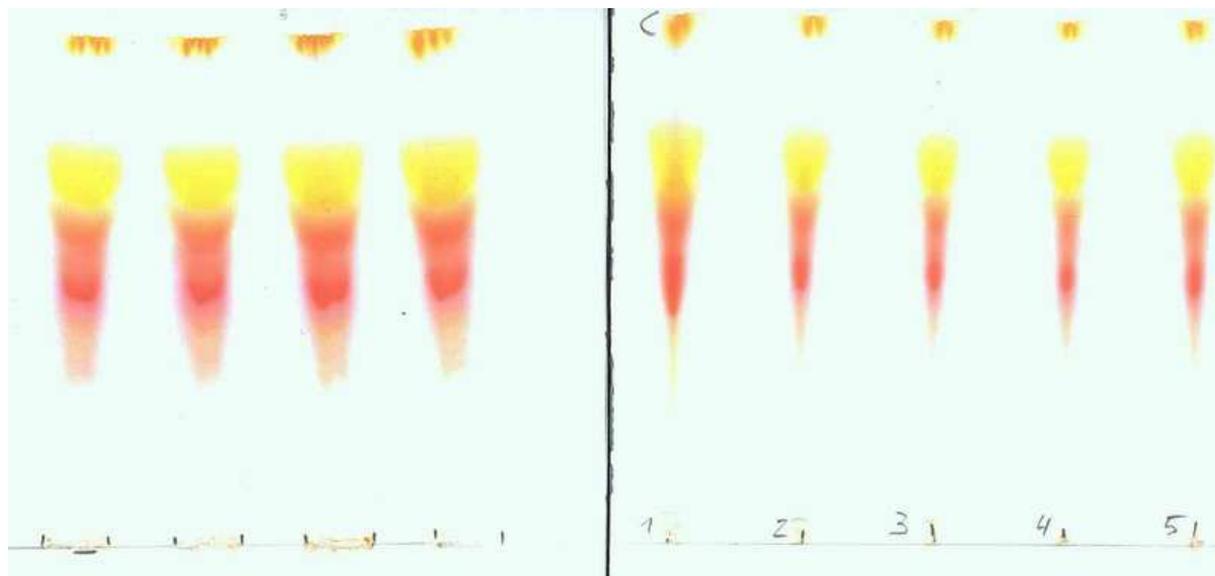
Voici une synthèse détaillée du mode opératoire que nous utilisons, après avoir sacrifié 40 plaques de silicagel en essais et erreurs, et posé nombre de questions à notre mentor.

- Nous avons réalisé des essais sur du papier bristol, à aquarelle et à dessin : les résultats sont nettement moins lisibles et interprétables, même sur des colorants alimentaires comme le bleu patenté (E131), l'azorubine (E122) et la tartrazine (E102), avec une solution saline comme éluant. Notre préférence va sans hésitation aucune aux plaques de silicagel sur support plastique.
- Une plaque de silicagel mesure 20 x 20 cm : la couper en 4 carrés de 10 x10 ; tracer une ligne légère au crayon à 1,5 cm du bas et y indiquer les zones de dépôt (1 cm de large et espacées de 0,5 cm) ; tracer une seconde ligne à 1 cm du dessus ; la zone de migration de l'éluant vaudra donc 7,5 cm.
- Nous utilisons cet éluant qui se révèle très actif pour mettre en évidence les anthraquinones des *Dermocybe* : chloroforme/n.butanol/éthanol/acide acétique/eau (5:55:10:15:15) ; en préparer 100 cc à la fois (voire 50 cc, car il ne se conserve pas longtemps). Travailler sous hotte ou dans une pièce très bien ventilée.
- Conserver l'éluant dans un flacon en verre, bien hermétique et opaque (nous l'opacifions en l'enrobant complètement de papier alu) : ainsi, il va se conserver durant 2 à 3 jours.
- Il est possible d'effectuer en série les dépôts des divers extraits avant de les révéler : ils se conservent au moins durant 24 heures.
- Utiliser une pipette Pasteur pour les dépôts.
- Dans la pratique, il faut apporter le plus grand soin au dépôt de l'échantillon : poser de très petites quantités ! La qualité du résultat dépendra directement du soin apporté à la manipulation.
- Sur une feuille de 10 cm, pour une même espèce, nous réalisons 6 empreintes colorées d'1 cm de long ; 2 empreintes avec 4 dépôts ; 2 empreintes avec 6 dépôts ; 2 empreintes avec 8 dépôts et séchage entre chaque couche. Cela permet d'évaluer quel est le nombre de dépôts qui paraît le plus explicite.
- S'il s'agit de réaliser une comparaison entre plusieurs espèces, les dépôts de chaque extrait spécifique DOIVENT ETRE REALISES sur la même plaque, dans les mêmes conditions.
- Déposer deux feuilles à la fois dans la cuve de révélation ; elles ne doivent pas se toucher ; y placer juste assez d'éluant pour un seul développement car il faudra le jeter ensuite (il faut

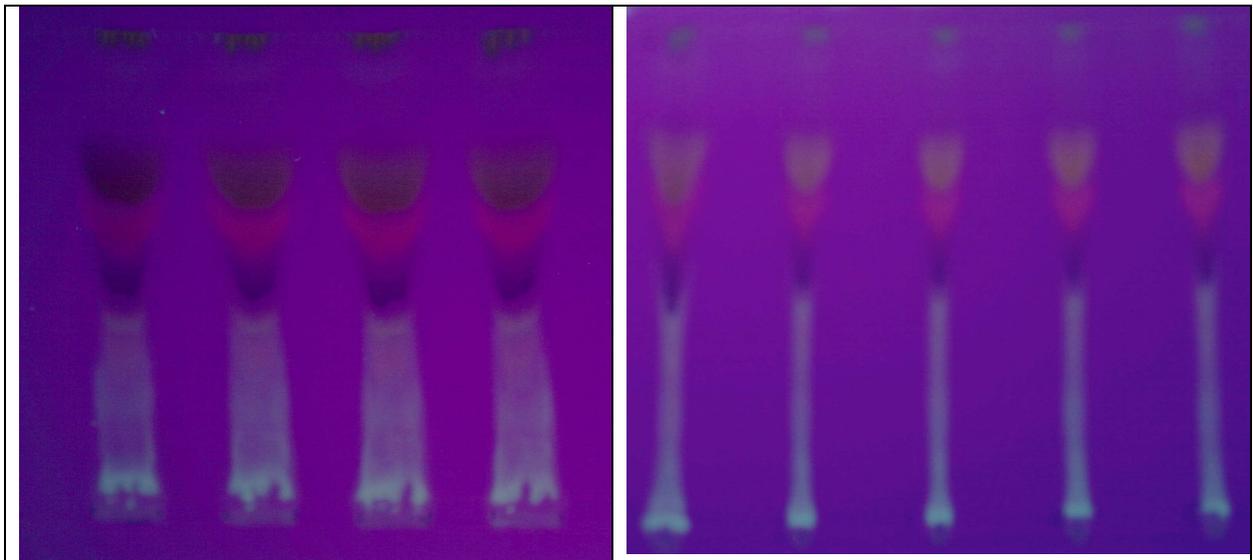
remplacer le solvant après chaque migration car l'acide et l'alcool réagissent sous l'influence de la lumière pour former un ester et les propriétés changent).

- Il faut +/- ½ heure pour que l'éluant progresse jusqu'à 1 cm du dessus de la feuille (sur 7,5 cm de haut).
- Nous séchons les plaques développées en les posant dans le bac supérieur d'un dessiccateur, à 40° C maximum, ou alors, séchage normal, à température de la pièce. Nous travaillons sous hotte afin d'éliminer les odeurs irritantes.
- Lorsque la plaque est révélée et séchée, on peut la conserver durant plusieurs jours à l'abri de la lumière, mais pas trop longtemps car il y a des oxydations à l'air. Il est conseillé de réaliser les photos en lumière blanche (ou les scans, qui ont notre préférence) le plus vite possible.
- Scannage des images avec les réglages suivants : source mate / taille : 50 % de l'échelle ou 5 x 5 cm / résolution : 1200 DPI / sauvegarde dans le format jpg., en haute qualité. Traitement avec ACDSee 6.0 : rognage de l'image pour éliminer les bordures / Brillance → OK / contraste : -5 / gamma : -1 / sauvegarde.
- Pour les photos des plaques exposées au rayonnement UV, l'exposition est variable selon la puissance de la lampe ; en général, un temps de chauffe d'une minute suffit ; si on laisse trop longtemps sous la lampe, tout est détruit par les UV.
- Nous photographions les chromatogrammes avec un reflex Canon 30D et objectif macro 100 mm ; A. Gerault utilise un Coolpix 995.
- Placer l'appareil numérique en prise de vues automatique ; effectuer la mise au point précise à l'aide d'une mire ; bien éliminer toute source de lumière parasite ; utiliser un petit réflecteur pour égaliser le rayonnement UV sur la plaque ; nous réalisons 3 photos : une en exposition automatique, une en surexposant d'1/2 unité, une en surexposant d'une unité.
- Traitement avec ACDSee 6.0 : rognage de l'image pour éliminer les bordures / Brillance → OK / contraste : -5 / gamma : + 1 / vert : + 1 / sauvegarde.

Etude comparative de chromatogrammes de *Dermocybe sanguinea*



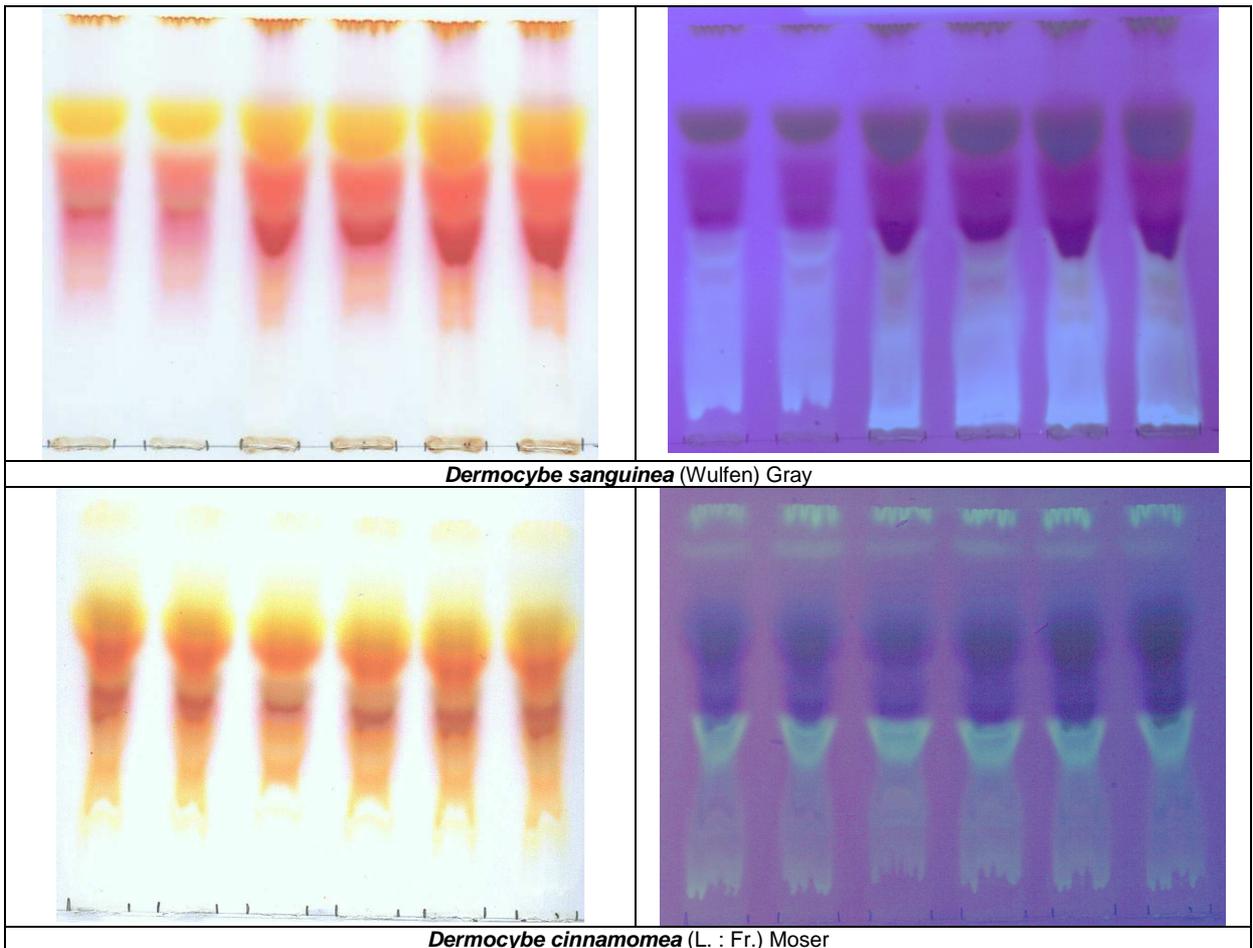
Conditions d'expérimentation : sur base de 5 couches successives, avec séchage forcé (séchoir à cheveux). A gauche, chromatogramme obtenu au départ d'un dépôt étalé sur une bande de 1 cm x 3 mm ; celui de droite résulte d'un dépôt ponctuel de 3 à 4 mm de diamètre. Séchage normal, à température de la pièce.

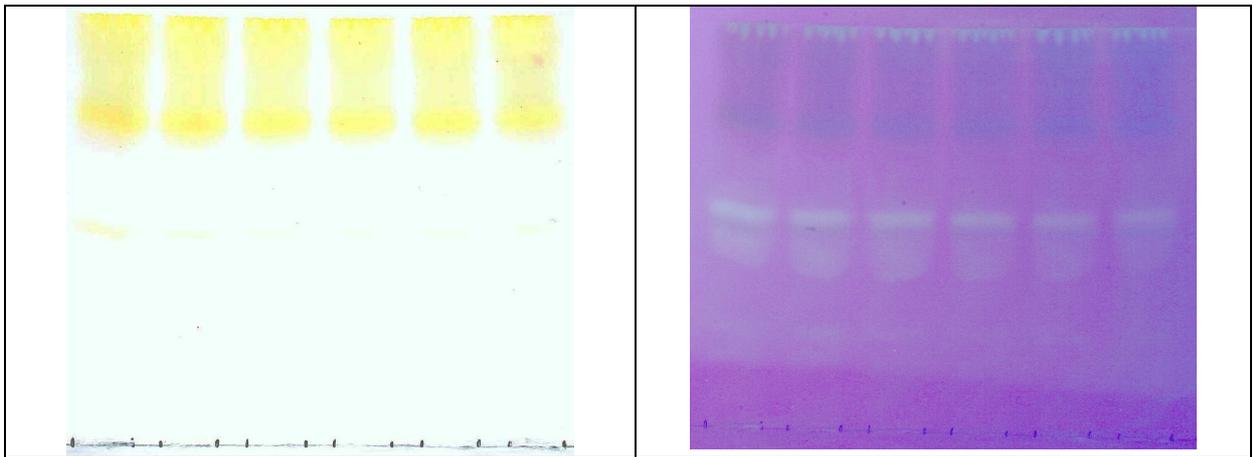


Les mêmes chromatogrammes, photographiés sous éclairage UV ; l'ultraviolet fait apparaître des couleurs non perceptibles en éclairage normal (incandescence, fluorescence ou halogène).

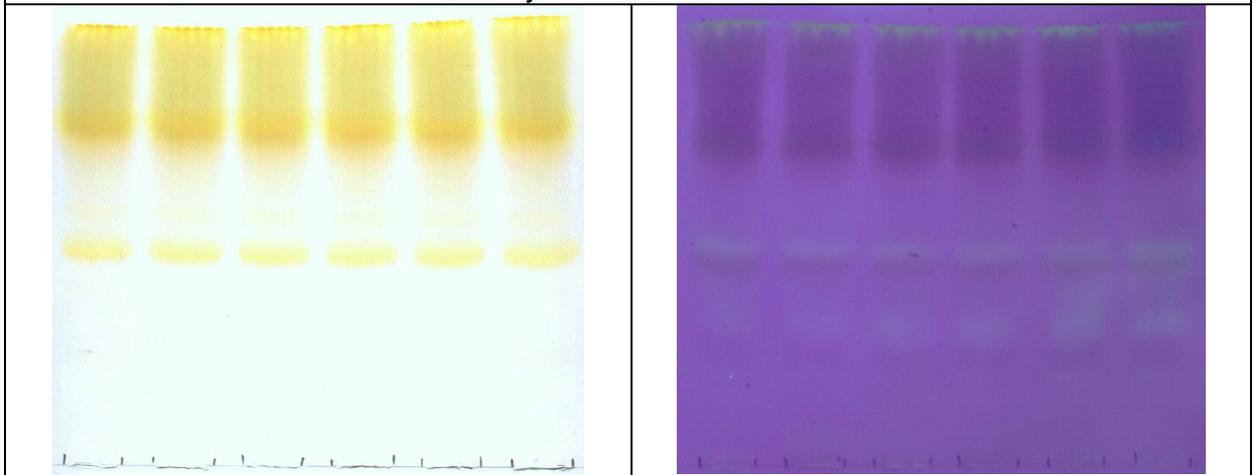
On peut constater que l'observation sous rayonnement UV apporte des renseignements précieux ; il nous paraît également plus judicieux et lisible d'effectuer un dépôt en ligne (1 cm de long) plutôt qu'un dépôt ponctuel.

Divers chromatogrammes tous réalisés dans les conditions d'expérimentation énoncées à la page précédente, et qui vont nous servir d'étalons.

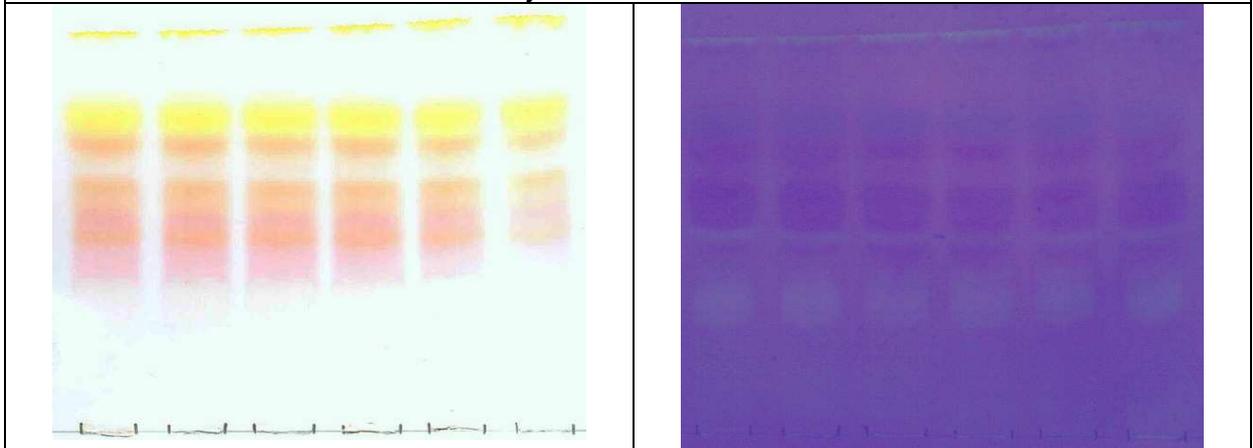




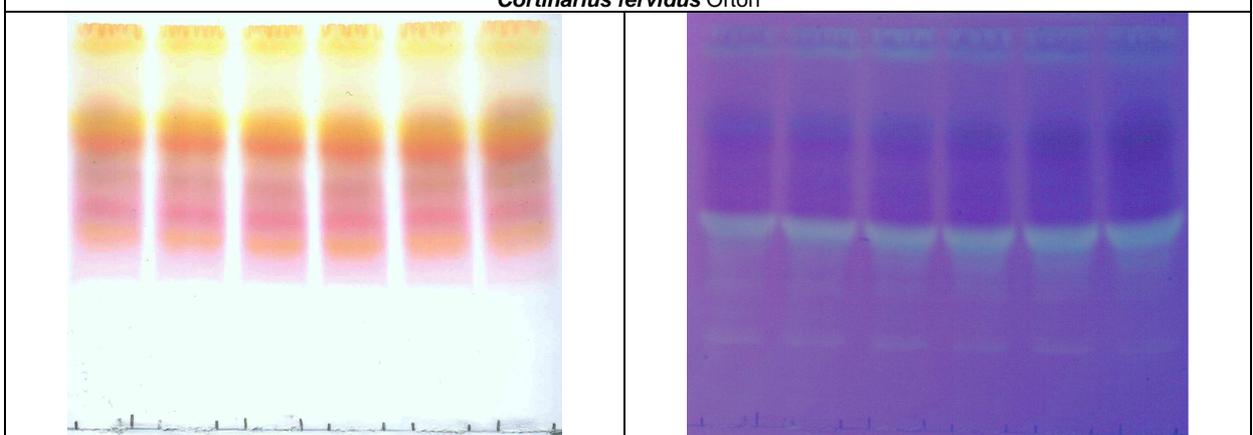
Dermocybe cinnamomeolutea Orton



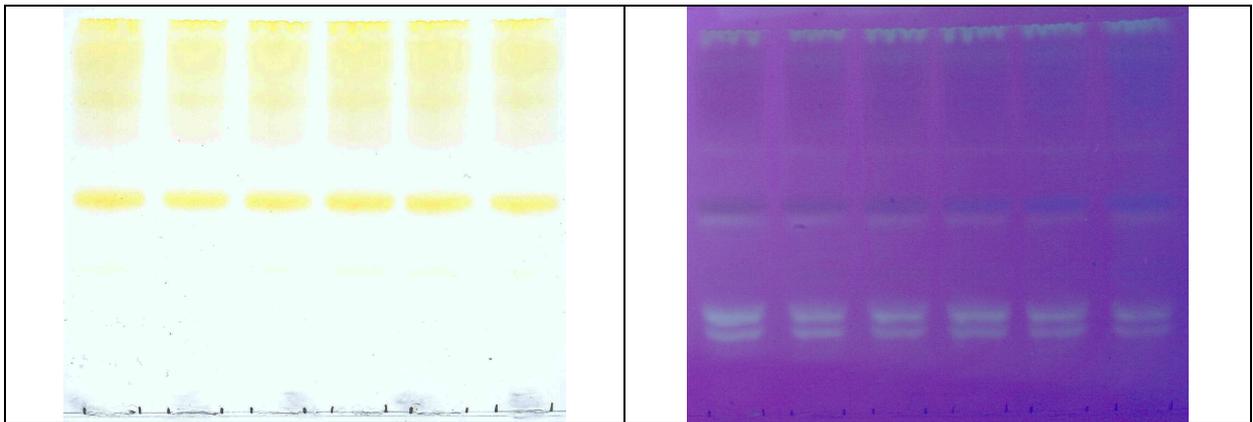
Dermocybe cinnamomeolutea Orton



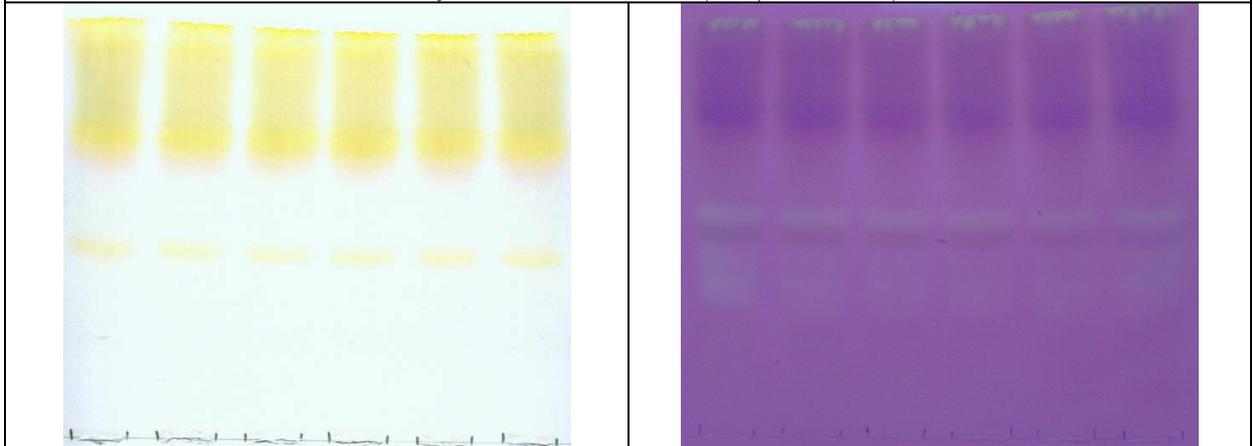
Cortinarius fervidus Orton



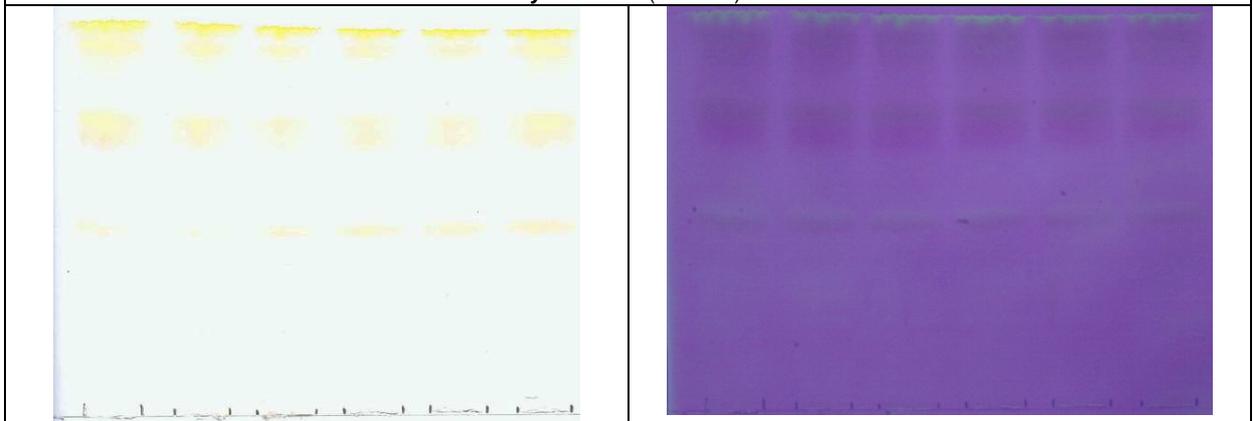
Dermocybe semisanguinea (Fr.) Moser



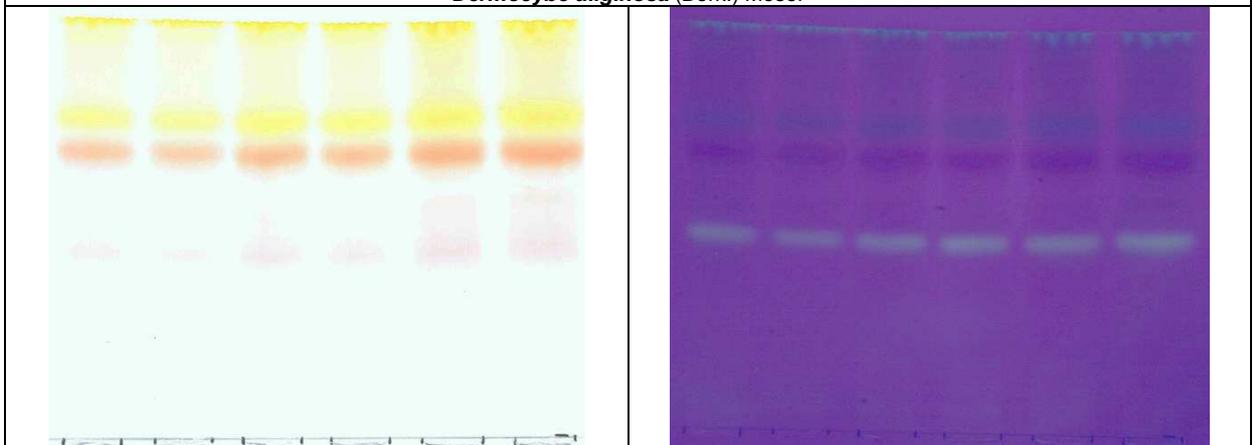
Dermocybe olivaceofusca Kühner (= *carpineti* Moser ?)



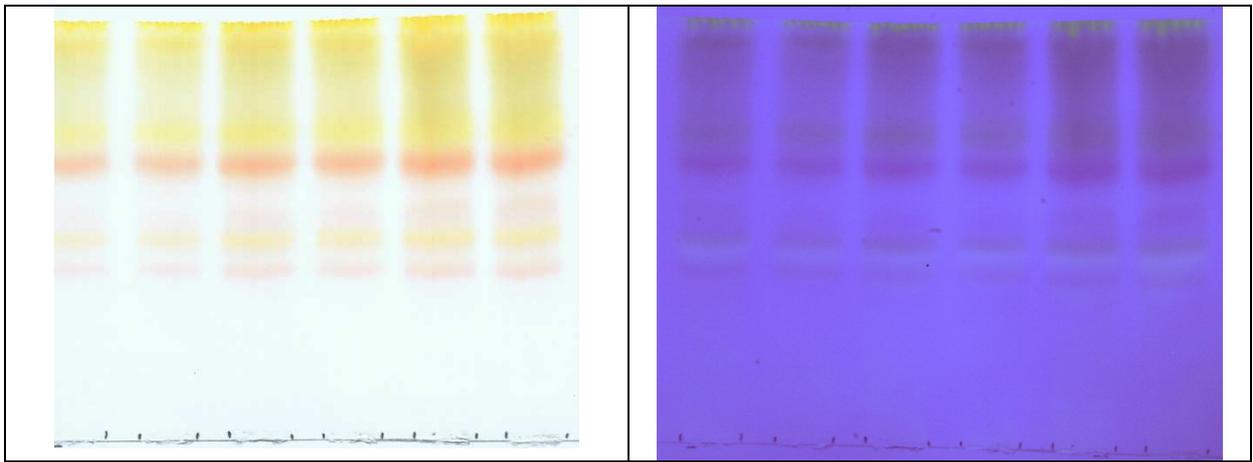
Dermocybe crocea (Schaeff.) Moser



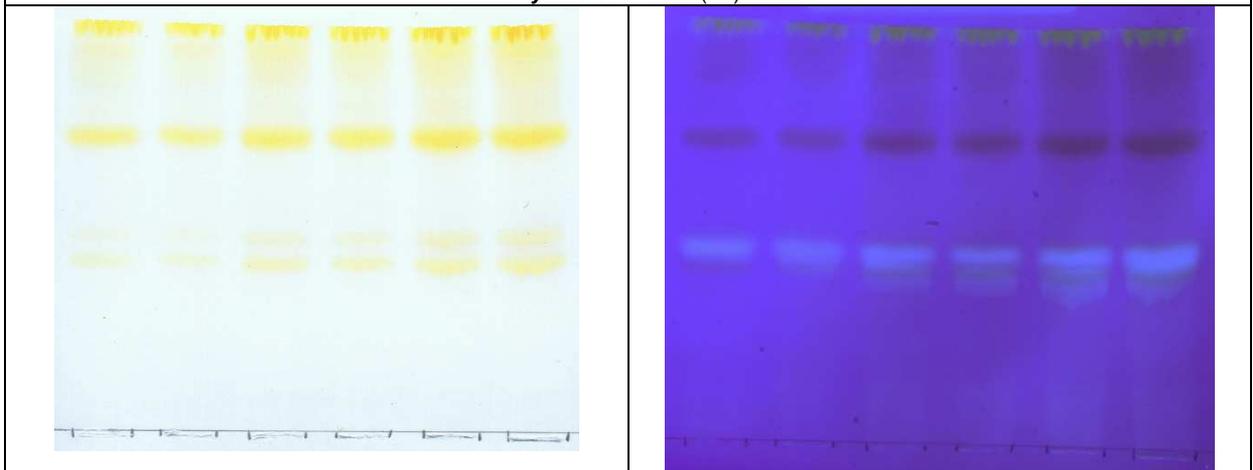
Dermocybe uliginosa (Berk.) Moser



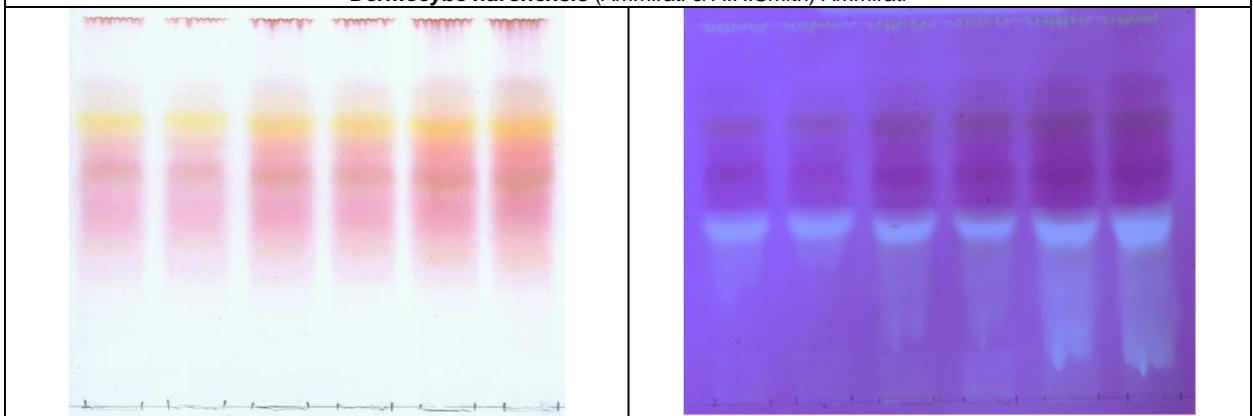
Dermocybe sommerfeldtii Hoiland



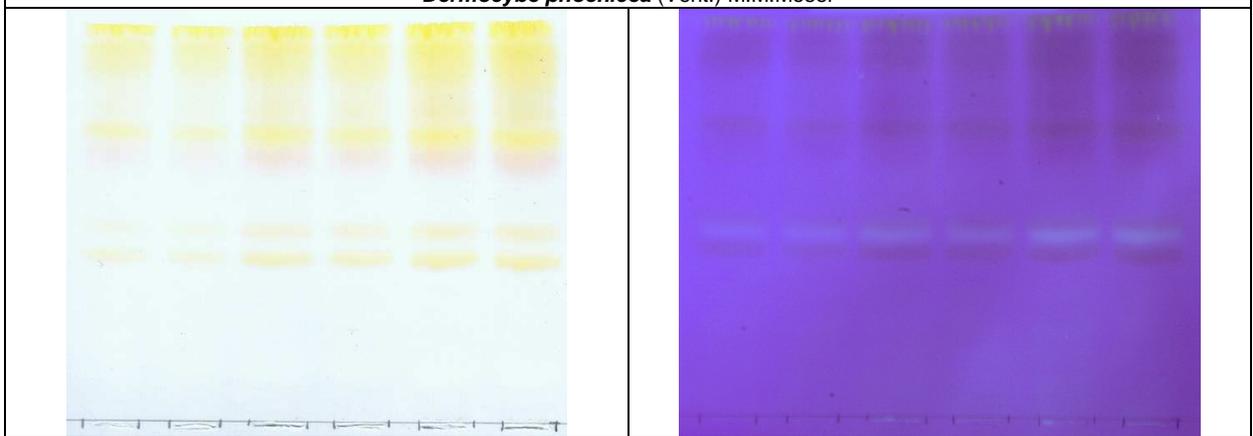
Dermocybe croceocona (Fr.) Moser



Dermocybe huronensis (Ammirati & A.H.Smith) Ammirati



Dermocybe phoenicea (Vent.) M.M.Moser



Dermocybe tubaria (Ammirati & A.H.Smith) Ammirati

Deux planches d'un de nos artistes : Jacques Gane

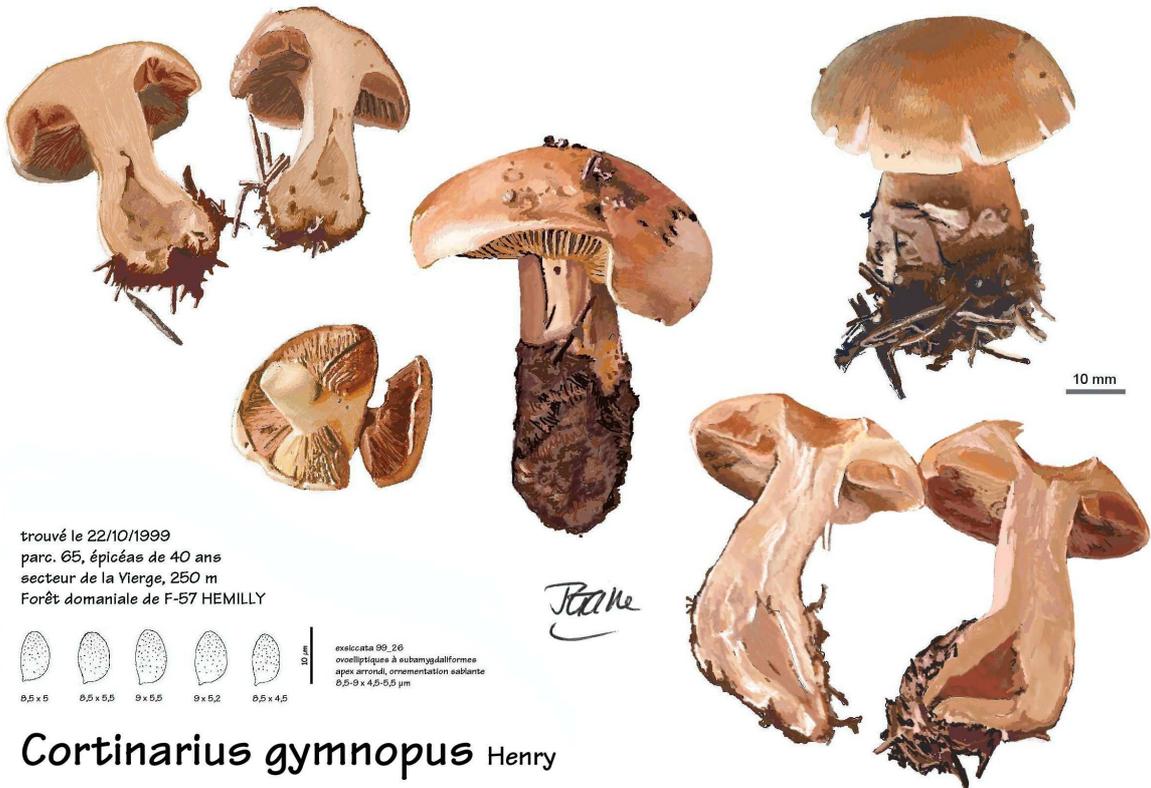


10 mm

forme élancée, récoltée le 01/06/2005
 sur le remblai du bord de route
 dans l'herbe, sous abies alba, 450 m
 F-54 PIERRE PERCEE

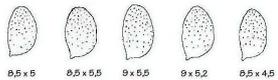
étudié par A. Ferville
 exs. AF3035

Inocybe alluvionis (Stangl & Ves.)



10 mm

trouvé le 22/10/1999
 parc. 65, épicéas de 40 ans
 secteur de la Vierge, 250 m
 Forêt domaniale de F-57 HEMILLY



exsiccata 99_26
 ovoelliptiques à eubamysidiformes
 apex arrondi, ornementation sablée
 6,5-9 x 4,5-5,5 µm

Cortinarius gymnopus Henry

Lactarius piperatus et L. glaucescens **peut-être pas si simple que cela !**

Marcel Lecomte, 2004 & 2009

La nature ne produit que des individus. C'est notre esprit qui a découvert l'espèce, pour pouvoir s'y retrouver (Georges Becker, 1905-1994)

Dans l'ordre des *Russulales*, se trouve le genre *Lactarius*, et, entre 2000 et 2004, nous nous sommes intéressés de très près à la section des *Albati*, sous-section des *Piperatini* (Fr.) Konrad, qui peut paraître bien simple, voire simpliste, puisque selon une équipe nordique (Heilmann-Clausen, Verbeken & Vesterholt) et un auteur méridional (M.T. Basso), qui viennent de publier une révision du genre *Lactarius*, elle contient seulement 2 espèces : *piperatus* et *glaucescens* !

Cela ne correspond pas à d'autres références plus généralistes il est vrai (Marchand, Bon, Courtecuisse) qui constituaient nos ouvrages de référence et nous avons tenté de comprendre, voire de dénouer cet écheveau.

Après avoir observé quelque 1.300 exemplaires frais ou sous forme d'exsiccata, et noté les observations minutieuses d'autres confrères, nous ne partageons pas cet avis, et nous allons tenter de vous expliquer pourquoi !

A. Un peu d'histoire d'abord !

Tout commence avec Elias Magnus FRIES qui, en 1821, donne dans son SYSTEMA MYCOLOGICUM (volume I, p. 76, articles 40 & 41) la description de *pargamenus* (avec « a » : il semble que ce soit une faute d'orthographe générée vraisemblablement par le mot « parchemin », dérivé altéré du latin classique *pergamenus*, qui signifie « parcheminé »), et de *piperatus*. *Agaricus pergamenus* a été décrit par Swartz en 1809 et *Agaricus piperatus* par Linné en 1753 ! Le fait que ces deux espèces soient reprises dans le Systema mycologicum de Fries (1821) fait que ces noms sont « sanctionnés » et qu'on écrira donc Swartz : Fr. et L.: Fr.

Il écrit ainsi pour *pargamenus* : « blanc, charnu, de convexe à plan déprimé, étalé, non zoné, d'aspect irrégulier, glabre ; lames adnées très étroites, horizontales, très serrées, d'un blanc de paille. Lait blanc et rare, pied glabre. Se distingue du précédent par son pied plus long, son chapeau plus mince et ses lames vraiment pas arquées ».

Tandis que pour *piperatus*, on peut lire : « chapeau blanc, compact, ombiliqué, infundibuliforme, non zoné, uni, glabre ; pied épais, dur, très court ; lamelles décourbées, étroites, se prolongeant par un filet, fourchues ».

Henri ROMAGNESI (1980 : 73) a cependant déclaré que : « ... s'il est raisonnable de se référer aux interprétations définitives de FRIES, dans HYMENOMYCETES EUROPAEI et la MONOGRAPHIA, le SYSTEMA est un ouvrage médiocre de débutant, dont l'auteur a passé le reste de sa vie à rectifier les erreurs... » (Bulletin de la SMF, 1980, t.96, fasc.1, p. 73).

Une partie des auteurs ultérieurs, et notamment QUELET, ont continué à les distinguer selon Fries, tandis que d'autres émettaient l'idée qu'une espèce pouvait varier fortement selon son âge et les conditions de poussée et niaient ainsi l'existence de deux taxons différents... Le fait de rencontrer des récoltes à lait verdissant ne semblait pas les déranger outre mesure ! Et malheureusement, la forte variabilité macroscopique des *Albati* pouvait laisser la porte ouverte à de telles suppositions.

Pour vous donner une idée de l'intérêt suscité par ces espèces, voici ce qu'écrit Robert HENRY, le célèbre cortinariologue, dans sa thèse de doctorat en médecine, le 16 décembre 1931 :

« ...si sur la tranche de section fraîche de ces deux spécimens, vous déposez une ou deux gouttes de formol, après plusieurs heures, vous ne verrez se produire aucun changement appréciable sur *L. vellereus*, alors que dans le même temps, la chair de *L. piperatus* sera devenue bleu foncé (la réaction peut s'obtenir beaucoup plus vite, en quelques minutes, en ajoutant au formol son volume d'un des trois acides : acide sulfurique, acide chlorhydrique ou acide nitrique). »

Dans le même ordre d'idée, **F. BATAILLE** avait déjà noté que si l'on place sur une lame de verre une goutte de lait de chacun des deux lactaires et qu'on touche chacune d'elle avec un agitateur trempé dans une solution de potasse, on voit que la goutte de lait de *L. piperatus* devient immédiatement hyaline alors que l'autre prend une belle couleur ocre orangé.

Puis, en 1956, Henri ROMAGNESI, publie dans le Bulletin de la SMF (tome 72, fascicule 4, p.324-328) un premier article qui modifie toutes les données.

Il fait remarquer qu'on avait peut-être eu tort de donner tant de poids à la forme du pied, à la silhouette élancée ou non de ce lactaire et que l'on aurait probablement mieux fait d'accorder plus d'importance à l'apparence du chapeau qui pour Fries était *laevis*, uni, chez *piperatus*, mais *rugulosus*, ridé et irrégulier chez *pergamenus*.

En se basant sur les caractères microscopiques et les réactions chimiques, il va mettre en évidence deux « formes » différentes :

1/ il nomme « *pergamenus* » les espèces à lames un peu rosâtres, à spores oblongues, à cuticule à peine différenciée, à lait blanc immuable au contact de la potasse.

2/ il nomme « *piperatus* » les espèces à cuticule surmontée d'un tapis d'hyphes minces, à spores subcylindriques, à lait verdissant à l'air et jaunissant au contact de la potasse.

Pour compliquer les choses, **CROSSLAND** avait décrit en 1900, son « *glaucescens* », à lait verdissant, correspondant de près avec le *piperatus* de Fries ; Romagnesi les considéra comme synonymes en laissant la priorité à *piperatus* Fries.

De son côté, Walther NEUHOFF, dans sa monographie datant aussi de 1956, décrit également deux espèces :

1/ il nomme « *piperatus* » les espèces à KOH nul

2/ il nomme « *glaucescens* » les espèces à KOH jaune, et à spores larges, subglobuleuses.

Jean BLUM publie en 1966, dans le Bulletin de la SMF, (Tome 82, fascicule 2, p. 241-247) un article intitulé « Les « Lactaires du groupe *piperatus* », qui va encore compliquer les choses !

Il s'est intéressé de très près à ce groupe et après avoir partagé durant des années la théorie de Romagnesi, il rencontre un jour le *glaucescens* de Neuhoff, à spores larges, subglobuleuses, avec une cuticule intermédiaire, c'est-à-dire présentant des hyphes épars ne formant en aucune manière un tapis épais. Il constate aussi que cette espèce a des lames qui ne sont pas du tout décurrentes, alors que le *piperatus* de Fries indique clairement une décurrence des lames.

Nous le citons : «C'est alors que le hasard nous fit découvrir dans le pays basque espagnol toute une série de récoltes, sous les chênes, ayant vraiment des lames non décurrentes, et parfois même séparées du pied par un léger sillon et évidemment, les textes friésiens, encore proches dans notre esprit, remontèrent à la surface et nous constatâmes que cette question d'insertion des lames était primordiale. Fries avait insisté, Quélet en avait fait autant, et Bataille avait même donné une clé de détermination dans laquelle il distinguait *piperatus* de *pergamenus* par ce seul caractère.

Mais nos récoltes montraient un lactaire à lait verdissant à l'air et jaunissant à la potasse, c'est-à-dire se comportant comme le *glaucescens* de Crossland ; elles bouleversaient totalement nos récentes conceptions antérieures puisqu'il en résultait que *piperatus* était le lactaire à lait immuable à KOH nul, tandis que *pergamenus* était l'espèce verdissante à KOH jaune. Mais notre surprise fut grande en nous apercevant que Fries et Quélet l'avaient noté et que cela nous avait échappé. Quélet avait écrit pour *piperatus* : chair blanche comme le lait, lamelles décurrentes, serrées... et pour *pergamenus* : chair et lait blancs, prenant à la dessiccation une teinte bleue ou vert cendré ; lamelles adnées... Et Fries cite Quélet dans ses synonymies avec ce sens-là ; bien plus, dans le *Systema*, bien longtemps auparavant, il avait été indiqué que le pied de *pergamenus* devenait finalement *coerulescens*, ce qui concorde bien.

Et dans le fond, cette solution est très normale : le lactaire courant est bien le *piperatus*, tandis que *pergamenus* est rare ; il n'est même nullement surprenant que Crossland ait pensé à une espèce nouvelle en découvrant un *piperatus* au comportement si particulier, que ce soit simplement à l'air ou au contact de réactifs comme le formol ; car certains exemplaires réagissent réellement avec une intensité surprenante.

Après maintes observations confirmant ses suppositions, il en arrive à la conclusion que macroscopiquement, cette décurrence des lames est le seul critère valable pour différencier *piperatus* et *pergamenus*.

De toutes ces observations, il tire la conclusion suivante :

- le *piperatus* de Fries, contrairement à ce que pensait Romagnesi, est l'espèce à lait blanc immuable et à lames décurrentes.
- *pergamenus* est l'espèce à lait verdissant et à lames décurrentes (Fries cite d'ailleurs Quélet dans ses synonymies et celui-ci avait écrit : « chair et lait blancs, prenant à la dessiccation une teinte bleue ou vert cendré.... »).

Dans sa monographie sur les Lactaires publiée en 1976 (Les Lactaires, 1976, p. 73-87), **J. BLUM** résume son point de vue de cette manière :

- ***piperatus* Fries** a les lames nettement décurrentes par un filet, un lait immuable et un KOH nul, des spores légèrement oblongues ; la forme type a un chapeau d'abord uni, mais plus tard souvent gercé ou crevasse concentriquement, comme frisé sur l'extrême bord de la marge... on rencontre aussi des formes à cuticule toujours lisse et non veloutée, mais irrégulière, bosselée, ruguleuse.
- ***pergamenus* Fries** a les lames s'arrêtant nettement sur le pied, un chapeau à surface vite irrégulière, un lait jaunissant au KOH et verdissant à l'air ; la chair se colore rapidement de violet puis de bleu au formol ; les spores sont larges et nettement subglobuleuses.
- ***glaucescens* Crossland** a un chapeau dur, longtemps très lisse, avec un lait verdissant à l'air et ayant, au sens de Romagnesi, des spores subcylindriques, des lames décurrentes, une chair réagissant en bleu au formol, et un lait jaune au KOH.

Voici donc enfin des éléments qui devraient permettre de se forger une idée précise du sujet ! Mais cela était trop beau et ne devait guère durer !

En 1980, Henri ROMAGNESI publie dans le Bulletin de la SMF, (tome 96, fascicule 1, p.73-95) un autre article intitulé « Nouvelles observations sur les lactaires blancs », dans lequel il rejette la nomenclature de Blum et Schäfer en ce qui concerne l'interprétation de *piperatus* Scopoli ex Fries et de *pergamenus* Schwartz ex Fries.

Il reconnaît trois espèces dans le groupe *piperatus* :

- 1/ *piperatus* Fries ss. Quélet et Bataille
- 2/ *pergamenus* Schwartz ex Fries ss. Romagnesi 1956
- 3/ *glaucescens* (Crossland) Pearson (= *piperatus* ss. Romagnesi 1956 = *pergamenus* ss. Blum)

En 1980 également, **Marcel BON** publie sa « Clé monographique du Genre *Lactarius* », dans la collection DOCUMENTS MYCOLOGIQUES, tome 10, fascicule 40, p. 13-15.

Il y distingue également très nettement *pergamenus* de *glaucescens*.

Cette clé fait encore autorité aujourd'hui auprès de beaucoup d'amateurs de lactaires !

Une citation importante et édifiante, p.14 : « Nous avons pris connaissance d'un remarquable échange de lettres entre MM. ROMAGNESI et MARCHAND, au sujet de la nomenclature de ce groupe ; les arguments développés par les deux auteurs semblent à la fois indiscutables et diamétralement opposés, de sorte qu'il est absolument impossible de donner entièrement raison à l'un ou à l'autre ; dans ce cas, il est souhaitable de choisir la nomenclature des ouvrages les plus récents (BLUM et MARCHAND), afin d'éliminer une fois pour toutes les confusions... »

Toujours **en 1980, André MARCHAND** publie le tome 6 des « Champignons du Nord et du Midi », consacré aux Lactaires et Pholiotés. Il y sépare de manière quasi indiscutable, avec une profusion de détails, les trois taxons... et tout cela semble tellement clair et précis, qu'on pourrait croire la situation réglée.

Il y écrit : « On ne doute plus qu'une suite d'intermédiaires relie *piperatus* à *pergamenus*, et que *glaucescens* représente un jalon plus repérable que les autres... »

Nous en arrivons ainsi à découvrir dans la littérature cette situation, avec une succession de taxons et d'interprétations déconcertantes (et nous pesons nos mots !) :

- *Agaricus piperatus* Scopoli (1772) : Fries (1821)
- *Agaricus pergamenus* Swartz (1809) : Fries (1821)
- *Lactarius pergamenus* (Swartz : Fries) Fries (1838)
- *Lactarius piperatus* ss. Blum, Marchand, Bon (1963), non Romagnesi (= *pergamenus* ss. Romagnesi)
- *Lactarius piperatus* (Scopoli : Fries) Persoon (= *pergamenus* ss. Romagnesi)
- *Lactarius piperatus* var. *pergamenus* (Swartz : Fr.) Quélet
- *Lactarius piperatus* var. *pergamenus* Bataille (1908)
- *Lactarius piperatus* (L. : Fries) Persoon
- *Lactarius spurius* Romagnesi (= *piperatus* ss. Quélet, Bataille, in Romagnesi 1980)
- *Lactarius pergamenus* ss. Romagnesi (1956)
- *Lactarius pergamenus* ss. Blum, Marchand, nec Romagnesi (= *glaucescens* ss. Neuhoff)
- *Lactarius glaucescens* Crossland (1900) (= *piperatus* auct. pp. ; Romagnesi 1956)
- *Lactarius glaucescens* (Crossland) Pearson (1950)

- *Lactarius glaucescens* (Crossland) Neuhoff (1956) *Lactarius eburneus* Z. Schaefer
Nous avouons notre totale perplexité, voire même notre incompréhension !

B. Nos observations personnelles !

Durant les années 2000 et 2001, la particulière abondance de lactaires du groupe *Albati*, sous-section *Piperatini*, a fait que nous avons testé en très peu de temps plus d'un millier d'exemplaires de cette sous-section provenant d'origines différentes (suite à des collectes pour des expositions, de nombreuses récoltes qui nous ont été apportées, notre participation à des Journées Mycologiques ou des Congrès divers et l'aide efficace de membres du forum Mycologia Europaea).

Pour terminer de nous décontenancer, il se fait que nous avons eu entre les mains, au Congrès de la Société Mycologique de France à Ambleteuse (2000), un spécimen à lait verdissant rapidement et très nettement **MAIS** à KOH strictement nul, dont nous avons gardé l'exsiccatum : où le placer ?

En août 2001, nous nous déplaçons spécialement dans les Alpes, suite à un échange de courrier avec Pierre-Arthur MOREAU qui nous encourage dans cette étude, et qui nous annonce avoir trouvé durant la saison 2000 quelque chose de très intéressant. Le 20 août, nous observons ensemble, dans un bois de feuillus, à 900 m d'altitude, plusieurs dizaines d'exemplaires d'un *Piperatini* qui présentent tous un lait verdissant nettement en quelques minutes, et un KOH nul.

Est-ce le *spurius* de Romagnesi, auquel bien peu de personnes croient ?

Ces observations ont continué à semer un doute certain dans notre esprit, et nous avons choisi de les classer, macroscopiquement, en 4 groupes bien distincts :

- **1. des *piperatus* incontestables**, grâce aux lames nettement décourrentes, très serrées, à reflets rosâtres et au lait non verdissant
- **2. « autre chose »** aux lames nettement décourrentes, très serrées et au lait verdissant
- **3. des exemplaires de taille moyenne (8-10 cm de diamètre), à cuticule glacée, comme micacée**, à pied court et tronconique, à lames très serrées, un peu décourrentes, et à verdissement olivâtre lent
- **4. des exemplaires nettement plus grands (10 à 15 cm de diamètre), à cuticule pruinuse** gardant l'empreinte des doigts, à pied allongé, à verdissement rapide, et à lames adnées, nettement moins serrées que les précédents

Un contrôle au KOH à 10 % , effectué sur le lait séparé de la chair (sur lame de verre...) a permis de confirmer que les groupes « 1 » et « 2 » présentent une réaction instantanée nulle (temps d'expérimentation de 10 secondes).

Les groupes « 3 » et « 4 » ont réagi immédiatement et intensément dans une gamme de couleur variant du jaune pâle à l'orange éclatant (sur la même période de 10 secondes). Selon la nouvelle classification récemment proposée par les auteurs cités au début de l'article, il devrait donc s'agir de *glaucescens* !

Nous sommes ensuite passés à un contrôle macrochimique que nous appliquons systématiquement aux lactaires, dans le cadre d'une étude en cours (ORGANOLEPTIE et CHIMIE du genre LACTARIUS).

Nous soumettons chaque espèce à une batterie de 14 tests chimiques différents, et voici ce qui en est ressorti de manière réellement discriminatoire (temps d'expérimentation de 5 minutes) :

Les spécimens regroupés par observation macroscopique en « 1 et 2 » n'ont pas réagi au formol.

Les spécimens regroupés par observation macroscopique en « 3 » n'ont pas réagi immédiatement au formol. (Voir précisions plus loin à **1).

Les spécimens regroupés par observation macroscopique en « 4 », ont réagi rapidement au formol en bleu ciel puis bleu profond (visible encore sur les exsiccata, et sur des exemplaires conservés en milieu liquide, dans le conservateur de Locquin).

Certaines petites différences peuvent se marquer au niveau d'autres réactifs, mais elles sont plus subtiles et moins interprétables sans possibilité de contestation.

Nous vous présentons ci-dessous les résultats de ces tests !

Spécimens du groupe 3

H2SO4 nul	KOH lait jaune orange vif rapide ; orangée cuticule	NaOH lait jaune orange vif rapide ; orangée cuticule	FeSO4 Chair rose orange ; chapeau bleu vert 5'	Phénol pourpre noir par- tout
acide acétique nul	NH4OH nul	Gaïac vert émeraude clair partout 1'	Formol Nul en apparence (**1)	Melzer chair ponctuée d'orangé ; cuticule nulle
odeur banale	TL4 chair vert violacé grisâtre ; cuticule nulle	Sulfovanilline chair violet clair fuchsia ; mauve cuticule	Sulfoformol Chair vert bleuté violacé ; cuticule nulle	Mouchoir non testé
lait piquant, très âcre, séchant en perles vert olive sur les lames (en 15')				

(**1) : la réaction au formol commercial (dilué à 38 %) se marque comme suit : (test effectué sur la chair du pied)

- après 15 minutes, apparition d'un léger cerne violet mauve diffus autour de la zone formolée
- après 60', le cerne est nettement marqué et de la même couleur
- après 3 heures, l'entièreté de la zone devient bleu ciel clair
- après 24 heures, le bleu s'est assombri jusqu'au bleu foncé

Spécimens du groupe 4

H2SO4 nul	KOH lait jaune orange pâle lent ; cuticule orange clair	NaOH lait jaune orange pâle lent ; cuticule orange clair	FeSO4 Chair rose orange ; cuticule nulle, rosâtre 10' et grisâtre en 4 heures	Phénol pourpre noir par- tout
acide acétique nul	NH4OH nul	Gaïac vert émeraude clair partout 1'	Formol Chair bleu clair en 5 à 10 minutes et bleu mer profond en 1 heure	Melzer nul
odeur banale	TL4 chair vert violacé grisâtre ; cuticule nulle	Sulfovanilline chair violet clair fuchsia, mais plus vive après 10', mauve foncé en 4 h ; cuticule mauve	Sulfoformol chair bleue en 15' puis bleu noir en 4h ; cuticule nulle	Mouchoir non testé
lait piquant, très âcre				

C. TESTS, MESURES et EXPERIMENTATIONS réalisés sur des exemplaires frais de *L. glaucescens*

1/ MESURE des spores :

Ces mesures ont été effectuées après sporulation sur lame de verre et coloration au Melzer.

Spores mesurées par Jean-Pierre LEGROS (30 exemplaires) : 5,5-7 x 5-6 µm

Spores mesurées par Didier BAAR (30 exemplaires) : 6-7,5 x 5,5-6 µm

Spores mesurées par Marcel LECOMTE (30 exemplaires) : 5,5-7 x 5-5,5 µm

soit une **spore moyenne de 6,4 x 5,5 µm**

Elles peuvent être qualifiées de suglobuleuses à subovoïdes.

2/ DENSITE des lames et DIMENSIONS moyennes :

Comptage des lames effectué à 1,5 cm du stipe, sur 1 cm de large, sur des exemplaires de tous âges... (E)

A représente la longueur du stipe en mm (mesures effectuées au pied à coulisse)

B représente le diamètre du stipe à son insertion avec le chapeau

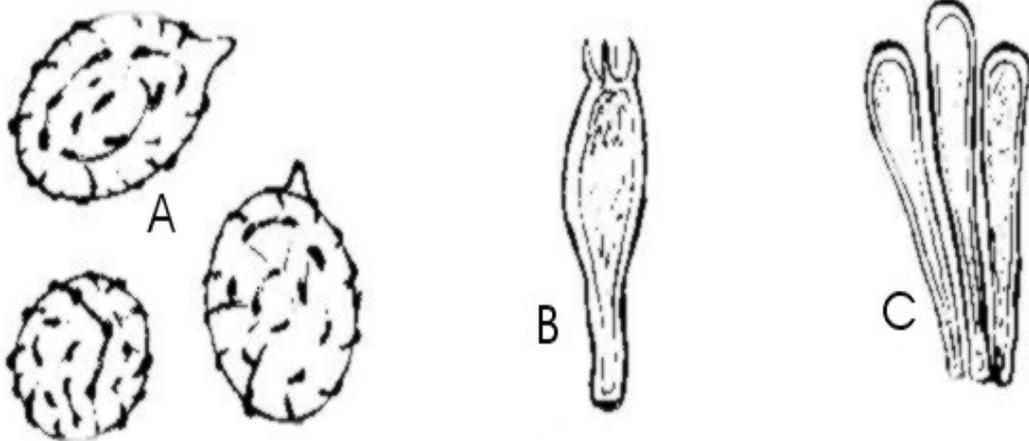
C représente le diamètre inférieur du stipe

D représente le diamètre moyen du chapeau

Exemplaires	A	B	C	D	E
1	35	21	12	75	20
2	36	22	13	64	19
3	41	20	16	79	19
4	48	19	15	68	21
5	37	20	16	80	20
6	21	14	10	37	21
7	51	19	14	74	19
8	56	20	14	80	20
9	73	26	19	116	20
10	62	26	20	89	19
11	49	20	16	92	19
12	51	19	13	74	21
13	51	20	14	87	20
14	54	23	13	61	19
15	61	22	14	72	20
TOTAL	726	311	219	1148	297
MOYENNE	48,4	20,7	14,6	76,5	19,8

3/ OBSERVATIONS microscopiques :

- un scalp réalisé au niveau de la cuticule et observé dans le chloral lactophérol et dans le Melzer laisse apparaître des hyphes de revêtement en texture emmêlée, avec la présence très nette de laticifères non affleurants, en surface
- un scalp réalisé au niveau de la cuticule et observé dans le rouge Congo, puis dans la sulfovanilline, n'a pas permis d'observer des dermatocystides
- un scalp réalisé au niveau de la partie médiane du pied et soumis à la sulfovanilline laisse apparaître des caulocystides colorées en bleu mauve foncé (SV+), avec la présence quasi nulle de laticifères affleurants (ils sont colorés en grisâtre)
- exsiccatum 2001082808 de mon herbier personnel : examen de fragments de lames regonflées au ramollisseur GDS de CLEMENCON et colorées au rouge Congo SDS
 - cheilocystides renflées en massue au sommet : 30-36 x 7,5-8,5 μm
 - macrocystides de même forme, un peu sinuées : 46-60 x 4,5-5 μm
 - PAS de pleurocystides
 - basides tétrasporiques renflées en massue : 38-45 x 8-10 μm
 - stérigmates : 2,4 – 3,2 μm de long
 - spores : 6-7 x 5,5-6 μm



A : spores 5,5-7 x 5-6 μm

B : basides 35-40 x 9-11 μm

C : cheilocystides 55-60 x 5-6 μm

4/ DESCRIPTION d'exemplaires frais :

- à l'état jeune : revêtement du chapeau blanc givré, micacé, brillant, ponctué de minuscules taches ocre jaune, visibles à la loupe
- exemplaires adultes et vieillissants : la cuticule se teinte d'ocre sale de plus en plus foncé ; la chair est jaunissante dans les morsures ; les minuscules punctuations verdissent franchement et l'aspect micacé disparaît
- le lait isolé sur une lame de verre réagit au KOH en jaune dominant, +/- orangé, mais pas franchement orange
- le lait sèche en perles vert olive clair sur les lames en +/- 15 minutes
- les lames sont décurrentes (il est parfois nécessaire d'observer à la loupe)

Devant cette manne d'observations, nous nous sommes à nouveau penché sur la littérature et avons tenté de reconstituer cette sous-section qui est supposée contenir (sous réserve de synonymie) les espèces suivantes :

eburneus Z. Schaefer (**1)	espèce peu fréquente des forêts mixtes de l'étage collinéen en Bohême (pour M.T. Basso, c'est un synonyme de <i>glaucescens</i>)
piperatus (Scop. : Fr.) Pers. (= <i>pergamenus</i> ss. Romagnesi)	espèce la plus courante, à lames extrêmement serrées
glaucescens Crossland	pour Marchand, ce serait un jalon plus repérable que d'autres entre <i>piperatus</i> et <i>pergamenus</i>
pergamenus (Sw. : Fr.) Fr.	pour Lange, il s'agirait d'une simple variété de <i>piperatus</i> , plus commune que le type, auquel elle est reliée par quantité d'intermédiaires
spurius Romagnesi (**2)	sous feuillus et pessières du Jura ; M.T. Basso le considère comme un <i>nomen nudum</i> , estimant que si on croit à des intermédiaires, (ce qui n'est pas son cas personnel), il faut publier une nouvelle espèce ou valider le taxon qui est proposé

(**1) Nous ne le connaissons pas et ne l'avons pas encore observé... mais une recherche sérieuse et approfondie est nécessaire avant de l'ignorer et de le rejeter !

(**2) Nous n'avons pas de raison de douter de son existence, puisque nous l'avons trouvé en nombre d'exemplaires, correspondant tout à fait à la description de Romagnesi

D. CONCLUSIONS

Si nous suivons notre idée jusqu'au bout, nous en arrivons aux **descriptions personnelles** suivantes :

***Lactarius piperatus* (L. : Fr.) Pers., ss. Blum, Marchand, Bon, non Romagnesi**

Chapeau de belle taille (6,7 à 14 cm de diamètre), uni, lisse, glabre, pouvant se gercer, se crevasser de manière concentrique, d'abord un peu convexe mais finissant par se creuser (ombiliqué à infundibuliforme jusqu'à 1 cm), de couleur blanchâtre mais se teintant de brun ocre en vieillissant. Lames très serrées, étroites, blanchâtres puis crème chair pâle, nettement décurrentes. Lait blanc, immuable sur les lames à la blessure, très piquant sur la langue ; KOH nul sur une lame de verre. Stipe cylindrique, 6,5 à 9,6 cm de long et 1,3 à 2,7 cm de diamètre, charnu et allongé. Chair blanchâtre, immuable au grattage et à la coupe, inodore et très poivrée. Réaction nulle au formol.

Rencontré sous *Quercus*, *Fagus*, *Carpinus*, *Picea abies*,...

Spores larges, elliptiques, 7,1-8,8 x 4,8-6,1 µm, marquées d'un fin réseau incomplet. Cystides subcylindriques à fusoides, acuminées, capitées à obtuses. Basides 4-sporiques, 42-57 x 6,9-8,1 µm. Cuticule composée en majeure partie de sphérocytes (grosses cellules arrondies) en couche épaisse ; épicutis très réduit, avec très peu ou pas d'hyphes entre les sphérocytes.

***Lactarius pergamenus* (Swartz : Fr.) Fr.**

Chapeau de belle taille (9,8-12,65-15,5 cm de diamètre), mou en surface, blanchâtre mat, velouté, pruinéux, prenant l'empreinte des doigts (c'est-à-dire se tachant de brun roux par endroits) ; à dépression assez profonde (→ 1,5 cm) et à surface irrégulière. Lames moyennement serrées, blanchâtres, horizontales, adnées, quasi libres. Lait verdissant nettement et rapidement sur les lames à la blessure ; KOH orangé vif sur une lame de verre. Le lait, isolé sur une lame de verre, bleuit également au formol en quelques heures. Dans certains cas, le lait bleuit même sans réactif. Stipe

cylindrique, charnu et allongé (6–8 cm de long, 2,5 à 3,8 cm de diamètre) parfois bulboïde à la base, blanchâtre mais brunissant ou roussissant à la manipulation. Chair blanchâtre, verdissant au grattage. Après une coupe transversale, chair bleuissant lentement et légèrement à l'air (en 2 h) puis nettement en 12 h ; le processus est accéléré et amplifié avec formol → rose saumon en 15-30 secondes puis bleu profond des mers du Sud en 5-10 minutes à 2-3 h, sur toute la coupe, et persistant même sur les exsiccata.

Spores ovoïdes à subglobuleuses, 6,1-7,2-8,4 x 5,9-6,4-6,8 µm, à réseau incomplet et petites verrues. Basides 4-sporiques, 31-47 x 7,1-8,2 µm. Cystides subcylindriques, abondantes. Présence de très nombreuses pleurocystides (64–75 x 5-6 µm) à sommet renflé. Epicutis composé d'un tapis très dense de touffes d'hyphes minces, lui donnant son aspect velouté.

***Lactarius glaucescens* Crossland.**

Chapeau de taille petite à moyenne (3,7-7,65-11,6 cm de diamètre), quasi uniformément blanc crème roux, avec des plages glacées givrées, comme micacées et brillantes ; cuticule lisse, non veloutée ; consistance ferme. Les exemplaires jeunes, à dépression quasi inexistante, sont finement ponctués d'ocre jaunâtre sur la cuticule qui présente également chez beaucoup de spécimens (à la loupe) de minuscules gouttelettes de lait séché en vert olive. Les exemplaires très vieux présentent une dépression assez marquée ; leur chair jaunit (beige jaunâtre sale) nettement dans les morsures et la cuticule tend vers un ocre de plus en plus foncé. Lames très serrées (20/cm), comme chez *piperatus*, de couleur crème chair, décurrentes au moins par un filet. Lait verdissant peu rapidement (plus de 15') et peu vivement sur les lames à la blessure, avec une teinte grisâtre sale puis olivacée ; KOH jaune orangé pâle rapide, sur une lame de verre. Le lait, isolé sur une lame de verre, ne réagit pas au formol, même après plusieurs heures. Stipe banal, de longueur moyenne (21-48,4-73 mm), rétréci à sa base (quasi conique), blanchâtre mais brunissant à la manipulation. Chair jaunâtre au grattage, verdissant lentement; réaction au formol d'abord nulle, avec ensuite un processus de coloration variant dans le temps (voir (**1) ci-dessus).

Spores subglobuleuses ou subovoïdes, de 5,5-6,4-7 x 5-5,5-6 µm, très légèrement verruqueuses, avec de fines crêtes reliées par un filet. Basides tétrasporiques de 35-40 x 9-11 µm. Cheilocystides de 55-60 x 5,5-7 µm. PAS de pleurocystides. Epicutis composé d'un tapis peu serré de touffes d'hyphes minces et enchevêtrées.

Fort de nos observations macroscopiques et microscopiques, nous avons voulu alors comparer nos observations avec la diagnose de *glaucescens* Crossland, que notre ami Paul PIROT a bien voulu nous traduire :

« Lac acre, ex alba glaucescens. Pileus carnosus, rigidus, 4 - 6 cm. latus, a convexo umbilicato depressum, levis, glaber, siccus, haud zonatus, albidus vel cremeo colore, maculis parvis ochraceo-albis ornatus, margine involuto, haud striato ; caro albida, compacta, circa 8 mm crassa, ad marginem 2 mm. crassa ; lamellae adfixae, confertae, 18-20 in 1 cm., hic inde furcatae, angustae, 1,5 mm. latae, pileo concolorae ; stipes 2,5-3 cm. longus x 1.25 cm. crassus, solidus, sursum incrassatus, levis, compactus, pileo concolor ; sporae hyalinae, globosae, minutissime echinulatae, 6-7 µm in diametro ; cystidia cylindrica vel subclavata, intus granulosa, 50-60 x 7-8 µm ; lac copiosum, acre, ex albo glaucescens »

« Lait âcre, d'abord blanc, devenant bleu verdâtre. Chapeau charnu, ferme, large de 4 à 6 cm (de diamètre), de convexe à ombiliqué déprimé, lisse, glabre, sec, non zoné, blanc ou couleur crème, orné de petites taches blanc ocre, avec la marge enroulée, non striée ; chair blanche, compacte, épaisse d'environ 8 mm, à la marge épaisse de 2 mm ; lames adnées, serrées, de 18 à 20 par cm, fourchues çà et là, étroites, larges de 1,5 mm, concolores au chapeau ; pied de 2,5 à 3 cm de long x 1,25 cm de large, ferme, épaissi au sommet, lisse, dur, concolore au chapeau ; spores hyalines, globuleuses, très finement échinulées, 6-7 µm de diamètre ; cystides cylindriques ou peu clavées, à contenu granuleux, de 50-60 x 7-8 µm ; lait abondant, âcre, blanc puis verdissant.... »

Si beaucoup d'arguments correspondent, nous nous trouvons cependant devant une contradiction terrible : le bleuissement du lait pour Crossland est nul dans notre série d'exemplaires !

Et si nous les appelons *pergamenus*, une bonne partie de la description ne correspond plus !

Tout cela nous donne fortement envie de nous ranger aux remarques émises par Lange, Kühner & Romagnesi, Marchand, dont l'idée conductrice était que *piperatus* et *pergamenus* pourraient être les repères extrêmes de la variabilité au sein de la sous-section ; ces extrêmes seraient séparés par toute une gamme d'intermédiaires dont *spurius*, *glaucescens* et peut-être *eburneus*, seraient des jalons plus évidents que d'autres... suffisamment en tout cas pour avoir été remarqués et décrits.

Nous avons ainsi constitué la clé suivante qui nous permet de clarifier nos observations personnelles !

ATTENTION ! le test au KOH est à effectuer sur une lame de verre, sur le lait séparé de la chair : la réaction jaune à orangé apparaît en quelques secondes si elle est positive !

« ...Tentée sur la chair du lactaire (la réaction...), c'est la catastrophe, car à partir d'une certaine vétusté, même les exemplaires à lait immuable et non jaunissant présentent une chair se tachant d'orangé au contact de KOH, plus ou moins selon les endroits. » (Blum)

Clé de la sous-section des PIPERATINI (Fr.) Konr.

N°	Caractères	Espèce	Voir
1.1.	lait immuable à la potasse ; lames très serrées		2
1.2.	lait jaune pâle à orange vif à la potasse ; lames serrées de manière variable		3
2.1.	chapeau blanc, taché de rouille ; chair blanche ; lait très âcre ; lames verdissant parfois dans la vieillesse	<i>piperatus</i>	
2.2.	chapeau infundibuliforme, comme glacé, micacé ; chair et lait verdissants	<i>spurius</i>	
3.1.	chapeau 10 → 15 cm, légèrement rugueux, à cuticule pruineuse gardant les empreintes des doigts ; lames adnées, horizontales à pentues, peu serrées ; chair vite vert-de-gris ; pied allongé, taché de brun roux dans la partie inférieure ; réaction vive et rapide en bleu foncé du formol sur la chair	<i>pergamenus</i>	
3.2.	Chapeau 5-6 → 8 cm, lisse, comme glacé, micacé ; lames arquées, subdécurrentes, très serrées, de couleur crème chair ; chair blanche lentement vert jaunâtre à grisâtre olive ; réaction diffuse et lente en violet puis bleu du formol sur la chair	<i>glaucescens</i>	
3.3.	Chapeau blanc convexe et déprimé, lames très serrées ; chair grisonnante dans les blessures	<i>eburneus</i>	

Les références bibliographiques de pages de certains livres les plus courants sont indiquées dans le tableau ci-joint ! Pour les autres ouvrages consultés, voir ci-dessous...

Espèce + auteur + synonymie	MB	RC	Mcd	HCVV	MTB	Pays
<i>eburneus</i> Z. Schaefer (*)	p.208	...	723	Bohême
<i>glaucescens</i> Crossland (*)	94	1511	503	250	723	B
<i>pergamenus</i> (Sw. : Fr.) Fr. (*)	94	1510	502	...	723	?
<i>piperatus</i> (Scop. : Fr.) Pers. (= <i>pergamenus</i> ss. Romagn.)	94	1509	501	248	729	B
<i>spurius</i> Romagn. (*)	p.208	Jura

MB = Marcel Bon
 RC = Régis Courtecuisse
 Mcd = André Marchand
 HCVV = Heilmann-Clausen, Verbeke & Vesterholt
 MTB = Maria Teresa Basso

Littérature consultée :

- BASSO M.T., 1999 - *Lactarius Pers.*, volume n° 7 de Fungi Europaei, Alassio, Mykoflora, 845 p., 723-735
- BATAILLE F., 1948 - *Les Réactions Macrochimiques chez les Champignons*, supplément au Bulletin de la Société Mycologique de France, 172 p., 89
- BATAILLE F., 1969 - *Les Réactions Macrochimiques chez les Champignons*, Deutschland, Cramer, 172 p., 89
- BLUM J., 1976 - *Etudes Mycologiques III : Les Lactaires*, France, Lechevalier, 371 p., 73-87 et 96-97
- BLUM J., 1966 - *Les Lactaires du groupe piperatus*, Bulletin de la Société Mycologique de France, tome 82, fascicule 2, 241-247

- **BON M.**, 1988 - *Champignons d'Europe occidentale*, France, Arthaud, 368 p. 94–95
- **BON M.**, 1980 - *Documents Mycologiques : Clé Monographique du Genre Lactarius*, France, tome 10, fascicule 40, 85 p., 13-15
- **BRESADOLA J.**, 1981 - *Iconographia Mycologica*, Italie, Candusso, volume I, 767 p., 371 (diagnose) , volume III, planche 371
- **CETTO B.**, - *I Funghi Dal Vero*
 - Lactarius piperatus*, volume 1, planche 187
 - Lactarius pergamenus*, volume 2, planche 637
 - Lactarius glaucescens*, volume 5, planche 1931
- **COLLECTIF**, 1991 - *Bolets de Catalunya, Lactarius piperatus*, tome X, planche 476
- **COURTECUISSÉ R.**, 1986 - *Clé de détermination macroscopique des champignons supérieurs des régions du Nord de la France*, Société Mycologique du Nord, 473 p., 160
- **COURTECUISSÉ R., DUHEM B.**, 1994 – *Guide des champignons de France et d'Europe*, Lausanne, Delachaux & Niestlé, 478 p., 398-399
- **COURTECUISSÉ R.**, 2000, - *Photo-Guide des Champignons d'Europe*, Lausanne, Delachaux et Niestlé, 960 p., 792, n°817
- **GERHARDT E.**, 2000 – *Hongos de Espana y de Europa*, Barcelone, Omega, 957 p., 771
- **FRIES E.M.**, 1994 - *Systema Mycologicum*, volume 1, Italie, CEMM, 621, p., 76
- **FOIERA F., LAZZARINI E., SNABL M., & TANI O.**, 1998 - *Funghi Lattari*, Italie, Edagricole, 236 p., 146-149
- **HAGARA L., ANTONIN V., BAIER J.**, 2000 - *Les Champignons*, France, Gründ, 416 p., 322
- **HEILMANN-CLAUSEN J., VERBEKEN A. & VESTERHOLT J.**, 1998 - *The Genus Lactarius*, Fungi of Northern Europe, Vol.2, 287 p., 248-251
- **HENRY R.**, 1931 - *Considérations anciennes et nouvelles sur les intoxications fongiques*, Thèse de doctorat en médecine, Besançon, J. Péquignot, 484 p., 325
- **KONRAD P. & MAUBLANC A.**, 1987 - *Icones Selectae Fungorum*, Italie, Saronno, volume 6, 558 p., 400
- **KRIEGELSTEINER G.J.**, 2000 - *Die Grosspilze Baden-Wurtemberg*, Stuttgart, Ulmer, volume 2, 620 p., 359-361
- **KUHNER R. & ROMAGNESI H.**, 1953, reprint 1984 - *Flore Analytique des Champignons Supérieurs*, France, Masson, 556 p., 473
- **LANGE J.E.**, 1994 - *Flora Agaricina Danica*, Italie, volume 2, 534, planche 171
- **MARCHAND A.**, 1980 - *Champignons du Nord et du Midi*, France, SMPM, tome 6, 291 p., 6-11
- **MONTÉGUT J.**, 1992 - *Encyclopédie Analytique des Champignons*, Volume I, S.E.C.N. Editions, 496 p.
- **NEUHOFF W.**, 1956 - *Die Milchlinge (Lactarii)*, Deutschland, Klinkhardt, 20 pl., planche 1
- **RICKEN A.**, 1980 - *Die Blätterpilze*, Italie, Candusso, 480 p., 29, planche 10
- **ROMAGNESI H.**, 1956 - *A Propos de la Monographie des Lactaires de W. Neuhoff*, Bulletin de la Société Mycologique de France, 72, (4), 324-328
- **ROMAGNESI H.**, 1980 - *Nouvelles Observations sur les Lactaires blancs (Albati Bataille)*, Bulletin de la Société Mycologique de France, 96, (1), 73-89

Lactarius intermedius* et *L. scrobiculatus **Essayons d'y voir clair !**

Marcel Lecomte

Lors du Congrès de la Société Mycologique de France à BESANCON, durant l'automne 2001, nous avons eu l'occasion de nous pencher sur près de 50 exemplaires de *Lactarius scrobiculatus* (à nos yeux), mais identifiés par les "régionaux" comme *Lactarius intermedius* (au sens de Berkeley & Broome), et effectivement assez différents du *scrobiculatus* que nous connaissons en Belgique.

Après avoir tout examiné au microscope, nous en sommes arrivés (avec la complicité de Paul Pirot et Didier Baar) à la conclusion qu'il s'agissait bien de *scrobiculatus*, mais d'une variété différant sensiblement du type, et assez semblable d'aspect à la *var. montanus* Methven, des USA (aucune trace de zonation notamment).

Tableau de synthèse des caractères observés :

<i>Lactarius scrobiculatus</i>	<i>Lactarius intermedius</i>
Chapeau	
Evidemment zoné, de couleur jaune intense. Cuticule séparable à demi.	Non ou à peine zoné, jaune uniforme, ou jaune ocre à brun, avec petits scrobicules à la marge.
Lames	
Jaunâtres, sans reflets rosés.	Avec d'évidents reflets rosâtre clair.
Stipe	
Recouvert au sommet d'une pruine blanche intense qui s'insinue entre les lames ; évidente également sur les vieux exemplaires. Scrobicules bien marqués et très nettement délimités (un peu comme chez <i>deliciosus</i>). Souvent genouillé, ferme mais vite creux.	Sommet du stipe présentant toujours une brève zone jaunâtre ; pruine fugace si elle est présente. Scrobicules s'anastomosant fortement entre eux et en arrivent à former une sorte de trame alternant creux et crêtes (*).
Latex	
très âcre et très amer et jaunit très vite (quasi instantanément, ou en 2 à 3 secondes grand maximum).	peu âcre et peu amer et semble mettre plus de temps à jaunir (de 5 à 10 secondes selon les endroits de cassure sur mon exemplaire).
Ecologie	
Sous <i>Picea abies</i> (épicéa), en altitude.	Assez ubiquiste, calciphile ; sous <i>Abies alba</i> (sapin blanc, sapin pectiné), plus généralement hêtres et conifères de montagne.
Microscopie : pleurocystides (**)	
rare à très rare, de 52-67 x 8-9 µm (mesures effectuées sur 25 exemplaires différents). Avec une grille de comptage, j'en ai trouvé 24-31 sur 100 mm ² .	nombreuses, longues et élancées, amincies au sommet, de 82-120 x 7.5-10 µm : mais nous n'avons pu effectuer ces mesures que sur un seul exemplaire. J'en ai compté 196 sur 100 mm ² .

(*) Nous en avons trouvé une excellente représentation photographique dans la revue bimestrielle de R. GALLI "I FUNGHI, DOVE...QUANDO !", n°72 de nov. - déc. 2000.

(**) Ces mesures correspondent assez à celles fournies par Maria Teresa BASSO, dans sa monographie.

MESSAGES divers reçus en réponse à une demande sur Mycologia Europaea.

Marco FLORIANI :

Tes observations sont très correctes, à mon avis. Comme je pense connaître très bien *L. intermedius*, je te propose une liste des caractères distinctifs les plus importants :

- chapeau plus clair et moins zoné chez *L. intermedius*
- scrobicules plus évidentes et complexes chez *L. intermedius*
- surface blanche du pied chez *L. scrobiculatus*, surtout à l'insertion des lames
- reflet des lames rosé chez *L. intermedius*, jaune chez *L. scrobiculatus*
- écologie: *Picea abies* pour *L. scrobiculatus*, *Abies alba* pour *L. intermedius* (écologie constante vérifiée régulièrement jusqu'à ce jour).

Microscopiquement, il y a des différences subtiles au niveau des spores, des différences un peu plus importantes au niveau des macrocystides, comme tu l'as relevé et comme décrit chez M.T. Basso. Voici un extrait de ma clé parue dans Boll. Gr. Micol. G. Bres. 41 (3) :

4. Cappello evidentemente zonato, giallo carico; lamelle giallastre, prive di riflessi rosa; gambo coperto all'apice da una densa pruina bianca che si insinua anche tra una lamella e l'altra, evidente anche negli esemplari vecchi; sotto abete rosso (*Picea abies*).

→ *L. scrobiculatus* (Scop.: Fr.) Fr.

4. Cappello non zonato, giallo uniforme, leggermente più pallido rispetto alla specie precedente; lamelle con evidenti riflessi incarnati; sommità del gambo che presenta quasi sempre una breve zona giallastra, pruina bianca, se presente, sempre meno evidente che nella specie precedente; sotto abete bianco (*Abies alba*).

→ *L. intermedius* (Krombh.->) Berk. & Br.

Traduction :

4. chapeau nettement zoné, jaune soutenu; lames jaunâtres, sans reflets roses; pied couvert au sommet d'une pruine blanche, dense, qui s'insinue aussi entre les lames, évidente aussi sur les vieux exemplaires. Pousse sous épicéa (*Picea abies*)

→ *L. scrobiculatus* (Scop.: Fr.) Fr.

4. chapeau non zoné, jaune uniforme, légèrement plus pâle comparativement à l'espèce précédente; lames avec d'évidents reflets roses; sommet du pied qui présente presque toujours une brève zone jaunâtre; si la pruine blanche est présente, elle est toujours moins évidente que chez l'espèce précédente. Pousse sous sapin (*Abies alba*)

→ *L. intermedius* (Krombh. →) Berk. & Br.

En Espagne, mon ami Javier Gomez a confirmé que ses collections sous *Abies* d'un lactaire précédemment identifié comme *scrobiculatus* correspondent réellement à *L. intermedius*.

J'ai vu dans une liste de récoltes (dans un des derniers fascicules de Belarra) des *L. scrobiculatus* signalés sous *Abies* + *Fagus*... à mon avis sans doute *L. intermedius*, tout comme le *L. 'scrobiculatus'* de Bolets de Catalunya (pl. 232)

Mieke VERBEKEN & Ruben WALLEYN :

Lactarius intermedius est strictement lié à *Abies alba*, ce qui explique qu'il ne soit pas repris dans la flore de Vesterholt et al., car *Abies* manque dans le Nord. Il diffère aussi de *scrobiculatus* par la structure des mycorhizes et le DNA (voir URSULA EBERHARDT, FRANZ OBERWINKLER, ANNEMIEKE VERBEKEN, ANDREA C. RINALDI, GIOVANNI PACIONI, ORNELLA COMANDINI - *Lactarius ectomycorrhizae on Abies alba : morphological description, molecular characterization, and taxonomic remarks.*, Mycologia 92 : 860-873.).

A notre connaissance, il n'y a qu'une seule station connue en Belgique de *L. scrobiculatus*.

Maria Teresa BASSO :

Je te confirme que je suis d'accord avec Marco, soit pour ce qui concerne les différences entre les deux espèces, soit pour l'habitat.

J'ai aussi récolté *L. intermedius* dans un bois avec *Picea abies*, mais il y avait aussi *Abies alba* et *Fagus*. Jamais récolté *intermedius* dans un bois avec seulement *Picea abies*, et jamais vu ou récolté *intermedius* dépourvu de scrobicules.... je pense qu'il s'agissait plutôt de *L. citriolens*, le plus souvent méconnu.

Je vous confirme que quand j'ai trouvé *L. intermedius*, il y avait toujours *Abies alba* dans le bois, bien qu'il s'agissait d'un bois mixte (page 428, récolte du 08/10/98).

Pour la récolte du 17/10/97 - exs 97101710 - Le Louverain, il y avait aussi *Abies alba* (écrit dans l'enveloppe de l'exsiccatum), il s'agit simplement d'un oubli.

Henri ROBERT :

je pense qu'il y a une troisième espèce qu'il faut ajouter à ce groupe *intermedius* - *scrobiculatus*, c'est *Lactarius resimus*. Ce lactaire blanc (qui ressemble étrangement à une des photos de Guy Redeuilh) jaunit en vieillissant. D'autre part, d'après mon expérience personnelle, les scrobicules de *L. intermedius* peuvent manquer totalement (de même que chez *L. deliciosus* soit dit au passage). Si un

examen attentif permet généralement de séparer ces espèces, la chose est souvent aléatoire lors d'une simple reconnaissance sur le terrain. Quant à l'écologie, j'ai noté :

- *Fagus sylvatica* + *Abies alba* pour *L. intermedius*.
- *Abies alba* + *Betula pendula* pour *L. resimus*.
- *Picea abies* pour *L. scrobiculatus*.

Miquel A. PEREZ-DE-GREGORIO :

De acuerdo con Marco. Lactarius scrobiculatus ss. "Bolets de Catalunya" es L. intermedius. En nuestra zona de los Pirineos, sólo hay Abies alba, y L. intermedius es muy abundante. Tengo varias fotos y exsicatta por si a alguien le interesa.

Aunque lo creo muy difícil, es probable que el auténtico L. scrobiculatus crezca en alguna plantación artificial de Picea abies, aunque yo no lo he visto nunca.

Traduction : « Je suis d'accord avec Marco. *Lactarius scrobiculatus* au sens de "Bolets de Catalunya," est *L. intermedius*. Dans notre zone des Pyrénées, il y a seulement *Abies alba*, et *L. intermedius* est très abondant. J'ai quelques photos et exsiccata. Bien que je le croie difficilement, il est probable que le vrai *L. scrobiculatus* pousse dans des plantations non naturelles de *Picea abies*, mais je ne l'ai jamais vu. »

Guy REDEUILH :

J'examine 2 photos prises à Besançon et nommées *intermedius* par les augures.

On remarque bien certains détails que tu signales, ainsi que Marco, notamment la teinte générale pâle, le reflet rose pâle des lames et la structure des scrobicules.

J'ajoute :

- La marge est moins poilue chez *intermedius*, mais il pleuvait, ce qui peut avoir son importance sur l'aspect macroscopique (à noter que les spectaculaires gouttes d'eau sur les lames ne sont pas dues à la pluie directe, elles étaient présentes à la récolte !)
- Le lait n'est pas vraiment jaune, il tire nettement sur le vert.

LANGUE DES BOIS

Paul Pirot

Chaque champignon est baptisé, par l'auteur qui l'a découvert et décrit dans les règles, à l'aide d'un double nom, comme pour tout être vivant. Ami lecteur, ton nom scientifique est *Homo sapiens*... Le premier élément du binôme commence toujours par une majuscule et désigne le genre ; le deuxième s'écrit toujours avec une minuscule (même quand il s'agit d'un nom formé sur un nom propre) et désigne l'espèce. Le nom de genre trouve généralement son origine dans la langue grecque, le nom d'espèce dans la langue latine.

Le latin a gardé une grande importance dans les sciences naturelles jusqu'au 20^{ème} siècle, en tant que langue de communication scientifique entre les naturalistes du monde entier : c'est en latin que doit être rédigée la **diagnose** qui accompagne toute nouvelle « naissance » parmi les champignons. Il s'agit d'un texte qui présente ce qui distingue la nouvelle espèce (variété ou forme) de ses voisines et justifie sa validation en tant que telle.

Les noms scientifiques des champignons présentent un grand avantage par rapport aux noms vernaculaires, c'est-à-dire communément utilisés par « monsieur tout-le-monde » : permettre de savoir de quel champignon on parle exactement.

Pour illustrer cela, prenons le cas du « mousseron ». Son nom vernaculaire - on dit aussi « vulgaire », dans le sens non péjoratif de « commun, répandu » - laisse entendre qu'il aime pousser dans la mousse et en rond. Mais c'est tout. Et cette dénomination ne fait pas l'unanimité, puisqu'en certaines régions de France on l'appelle braguet, courcouliette, maggin, etc. (cf. H. Romagnesi).

Actuellement, c'est *Calocybe gambosa* (Fr: Fr.) Singer qui est accepté par la communauté



mycologique internationale. En effet, même le nom scientifique de ce champignon a beaucoup « évolué », puisque c'est sous le nom de *Lyophyllum Georgii* (= de Georges) que je l'ai découvert dans le « Petit Atlas des Champignons » (tome 2) d'Henri Romagnesi... bien avant de le trouver, enfin « en vrai », dans... un bois de pins et à la mi-juin ! Il est vrai qu'il s'agissait d'exemplaires très gros, plus que matures, mais encore comestibles (comment résister ?). On était bien loin du 23 avril, date de la St-Georges, aux alentours de laquelle on pouvait, disait mon premier guide sérieux et qui fit longtemps mes délices, trouver ce

comestible « très recherché... qu'un référendum organisé par une revue mycologique a désigné comme étant le meilleur des champignons » (n°154).

Un mot d'explication s'impose, outre le fait que Romagnesi n'a pas voulu offenser Saint-Georges en lui mettant la minuscule qui pourtant convenait en fonction de ce qui a été expliqué ci-dessus !

Depuis l'internationalisation du partage des connaissances en mycologie, les spécialistes de la nomenclature, dont les règles sont à présent strictement codifiées, veillent à attribuer à chaque espèce sa paternité réelle, sur base de la loi d'antériorité valide. C'est-à-dire que c'est Fries qui a valablement appelé ce champignon *gambosus*, et que ce nom d'espèce est prioritaire par rapport aux autres qu'il a reçus d'autres mycologues postérieurs, comme *georgii* (de Quélet, puis Kühner).

Pourquoi *Calocybe* comme nom de genre ? Ici, il s'agit de classer, ce dont les hommes sont friands depuis Aristote. Alors que Fries appelait *Agaricus* la plupart des champignons à lames, la classification s'est affinée au fil des progrès des connaissances mycologiques. Avec ses spores blanches, notre champignon n'appartient pas au groupe des Agaricales (ordre) : il s'agit d'une Tricholomatacée (famille), dont le genre *Tricholoma* se caractérise notamment par des lames échancrées, donnant l'impression de laisser un « sillon » juste avant leur insertion sur le pied. Ce qui est le cas du mousseron. Pourquoi alors *Calocybe* ? Parce que les progrès de la microscopie ont permis de constater que quelques espèces de « tricholomes » avaient un revêtement piléique (peau du chapeau) d'une certaine structure, permettant de les distinguer de groupes voisins. Ici, c'est la notoriété du mycologue qui propose le nouveau genre, en l'occurrence l'Américain Singer, qui est souvent le facteur décisif pour son adoption par les spécialistes. Bref, aujourd'hui, le mousseron est considéré comme un *Calocybe* et non plus comme un *Tricholoma* ou un *Lyophyllum*, et pas comme un *Rugosomyces*, genre dans lequel on range actuellement plusieurs de ses anciens congénères...

Penchons-nous à présent sur ces mots de composition grecque et latine :

Que le mousseron soit le type même du champignon « à belle tête » n'étonnera pas celui qui le connaît bien. *Calocybe* vient en effet du grec *kalos* (beau) et *kubè* (tête). Alors que l'adjectif *kalos* n'a pas eu beaucoup de succès dans la composition des noms en français, le substantif *kallos* (beauté) a

donné calligraphie (belle écriture) ou callipyge (aux belles fesses, épithète de Vénus). On retrouve *kubè*, devenu -cybe en français, dans plusieurs autres noms de genres : *Hygrocybe*, *Inocybe*, *Clitocybe*,...

Le mousseron ou encore « tricholome de la St-Georges » (23 avril) - un autre nom qui garde un beau succès d'appellation - est une espèce dont le chapeau reste longtemps convexe, épais et ferme, tant il est charnu, car les lames sont particulièrement étroites par rapport à l'épaisseur de la chair ; ce qui participe évidemment de son succès sur le plan gastronomique, par rapport à des espèces qui ont beaucoup de lames et peu de chair, du type des grandes lépiotes ou de *Megacollybia platyphylla* (« à larges lames »), par exemple. Mais ce qui frappe encore plus chez ce charnu, c'est sa **jambe**, c'est-à-dire son pied.

gambosa est l'adjectif latin *gambosus*, au féminin (puisque les genres en -cybe le sont tous), qui signifie « au beau jarret, au mollet d'athlète ». Allusion évidente à la jambe, pardon au stipe du champignon, charnu lui aussi, comme un pied d'asperge ou un gros bâton de craie. On pense à Pierre Perret et à sa chanson sur les majorettes, qui n'ont « pas un poil de trop sur les gambettes », ni veines saillantes signes de phlébite, à l'instar du revêtement de *Pluteus phlebophorus* et consorts. Et votre esprit gambade... comme le mien, car c'est avec le mousseron qu'intervient (enfin) celui de nos cinq sens que nous utilisons le moins avec les champignons : l'ouïe ! C'est que le pied du Tricholome de la St-Georges ou mousseron est si consistant et solide qu'un des plaisirs du récolteur soigneux est d'entendre le chuintement tout particulier qu'émet le couteau sur le pied qu'il est en train de couper, à ras du sol, pour éviter de souiller la riche récolte - le mousseron est fidèle à ses stations et souvent en troupe importante - avec l'argile lourde qui englué toute sa base. Le toucher est au rendez-vous (tâtez donc ces jarrets !), l'odorat bien sûr (quelle puissante odeur de farine !), mais l'oreille est également de la fête...

Nous allons dans cet article évoquer **le langage du corps**¹.

Deux champignons printaniers nous ont suggéré ce sujet : *Auricularia mesenterica* et *Verpa digitaliformis*. Aussi bien leurs noms de genres que d'espèces évoquent des réalités corporelles ; les métaphores qui les sous-tendent sont assez claires :

Auricularia est le genre des « oreilles » : *auris* en latin signifie oreille, comme dans auriculaire, le petit doigt avec lequel on est sensé se la gratter, à moins que l'on n'estime qu'une petite spatule (miroir de dentiste) serait plus élégante : c'est ce qu'évoque l'hydne cure-oreille, *Auriscalpium vulgare*, commun sur cônes de pins.

La plus connue des « oreilles » est celle de Judas Iscariote, cet apôtre qui trahit Jésus pour 30 deniers puis s'en fut, une fois pris de remords, se pendre à... un sureau, selon la tradition ; il est vrai que c'est sur cet arbuste qu'on la trouve le plus fréquemment, même si nombre d'autres supports ont été signalés par les mycologues. L'autre « oreille » est moins commune : plus petite mais aussi plus charnue, festonnée, zonée, et surtout poilue, *Auricularia mesenterica* porte un nom d'espèce qui évoque les entrailles : *mesenterion* en grec signifie le mésentère, c'est-à-dire la membrane qui enveloppe les intestins (on retrouve la même origine – entéron = boyau, intestin – dans *Enteridium lycoperdon*, un gros myxomycète qui fait penser à un... gastéromycète (*gaster* = ventre !). Qui ne connaît *Tremella mesenterica* ? Ce champignon tremblant (en latin comme en grec) évoque, par sa consistance, aussi bien les replis intestinaux autant que la membrane qui les contient...

On remarquera que les auteurs qui ont nommé l'oreille poilue ont joyeusement et sans vergogne mélangé les étymologies grecque et latine. Il existe pourtant un genre formé sur la racine grecque de « oreille » (ous, génitif ôtos) : *Otidea*. On retrouve cette étymologie dans le genre *Pleurotus*, pour désigner une « oreille de côté » – puisque le mot grec *pleuron* signifie le flanc – en l'occurrence un pied latéral, voire un chapeau collé sur le support.



¹ Ces lignes ont fait l'objet de quelques rubriques présentées naguère dans la revue française « Spécial Champignons Magazine », qui a fait faillite sans honorer, pour les derniers numéros, la (petite) rémunération promise à plusieurs pigistes de bonne volonté. Les lecteurs du bulletin de l'A.M.F.B. sont sans doute très nombreux à n'avoir pas été abonnés à cette revue bimensuelle puis trimestrielle, puis défunte en 2007. Nous espérons que les autres nous reliront avec plaisir...



Sans être rares, les verpes sont des champignons à la forme curieuse, évoquant aussitôt un sexe masculin, surtout celle qui porte maintenant le nom de *conica*. « *Verpa* » en latin signifie pénis. Et *digitaliformis* est un nom d'espèce qui lui convenait mieux, car il décrit plus précisément la forme du pied de ce champignon, tel un « doigt » (*digitus* en latin). Quant à la partie supérieure, elle n'a rien de conique mais ressemble – à l'endroit de l'ongle du doigt – à un bonnet moyenâgeux, ou encore à un casque allemand de la 2^{ème} guerre mondiale ou... d'un fan de Harley-Davidson !

Une rapide recension le montre à l'évidence : différentes parties du corps humain sont fréquemment

utilisées pour évoquer telle ou telle caractéristique de nombreux champignons.

Il sera ici question du foie, des reins, de la peau, du sang, etc. De sexe aussi, bien entendu. Bref, on patrouillera « de la tête au pied » !

Cet été, vous observerez de nombreuses espèces à lames bien décourbées, qui ont donné naissance au genre *Clitocybe* (qui signifie « tête penchée »). Leur chapeau, assimilé évidemment à la « tête » (*kubè* en grec) du champignon, est en pente à cause de l'insertion des lames. Et il se creuse alors, par un phénomène physique très compréhensible, au point de laisser voir en son centre un nombril (*umbilicus* en latin), comme l'évoque *Clitocybe umbilicata*. Il est devenu *C. subspadicea* (cf. Champignons de Suisse, t. 3, n° 179) par le biais d'une synonymie proposée, mais c'est quand même bien lui qui a sous les lames cette ceinture blanche, caractéristique, que son nom d'antan nous rappelait si bien !



On lira ou relira avec profit et plaisir « L'intuition de la matière chez les mycologues » de Richard BERNAER, dessins d'Evelyne Ferrand, Chateauroux, 1998. S'adresser à l'auteur : le petit Bellefonds, F-36330 – Velles.



La tête est comme le sommet d'une quille : *caput, capitis* - on dit des cystides des conocybes qu'elles sont capitées - se retrouve chez *Cordyceps capitata*, ou encore *Psathyrella caput-medusae* (à tête de méduse). Quand il s'agit du mot grec, *képhalè*, comme dans encéphalite, on trouvera l'adjectif *cephalotrichus*. Celui-ci ne désigne cependant pas un chevelu (*trix* signifie poil), mais plutôt, aussi bien dans le cas d'un entolome que d'un *Hemimycena*, des « poils capités », c'est-à-dire des cellules des hyphes du revêtement du chapeau, seulement visibles sous le microscope !

Pour ce qui est de la **chevelure**, on trouvera, par exemple : *Inonotus hispidus* (à poils raides, comme une coiffure en brosse), *Psathyrella pyrrotricha*² (à cheveux de couleur rousse ou de feu : la même racine grecque est à l'origine de l'adjectif *purros* = roux et du mot *pur* = feu) ; ou encore ... toute le genre



² Plusieurs graphies pour cette espèce ou var. de *Lacrymaria lacrymabunda*, psathyrelle commune. Ses longs poils roux fauve vif sur le revêtement débordent nettement à la marge. Sans doute y a-t-il eu confusion entre *pûr* (feu) et *purros* (roux), puisqu'on trouve dans la littérature *pyrotricha*, *pyrrotricha*, *pyrrhotricha*, et même *pyrhotricha*.

Tricholoma (littéralement « marge poilue ») – ce qui est pourtant loin d'être une caractéristique frappante chez ces champignons ! *Trichoglossum hirsutum*, comme une langue (*glôssa* en grec) poilue et hirsute (on dirait rêche), nous sert de transition pour d'autres parties de la tête.



Les **oreilles** d'abord : *auris* en latin, *oûs-ôtos* en grec. Comme dans *Auricularia*, genre déjà évoqué, et *Otidea onotica*, en relation avec la forme de l'oreille de l'âne. Si l'automne est la saison de la rentrée des classes, on ne peut manquer de penser au « bonnet d'âne » que devait porter le cancre pour être stigmatisé devant ses condisciples !

De façon plus générale, on retrouve allusion à la racine du mot grec qui désigne l'oreille dans plusieurs genres baptisés par E. Fries, sans doute en pensant à la manière dont les gens du peuple appelaient beaucoup de champignons, qui

semblent être des « oreilles (sortant) de terre » : ainsi des psalliotes (ancien nom des agarics) ou des lépiotes. Pour les pholiotes, crépidotes et pleurotes, ou encore pour le rare et splendide *Rhodotus palmatus*, on comprend mieux, à cause de l'aspect excentré de plusieurs espèces au sein de ces genres.

Autres orifices dans la tête : le nez (*ris*, *rinós* en grec) et la bouche (*stoma* en grec). Curieusement, il n'y a guère de noms de champignons formés avec les mots qui désignent la morphologie de ces organes, mis à part le genre *Tulostoma*, qui signifie « massue avec une bouche », ce qui définit plutôt bien ces espèces de gastéromycètes avec un péridium - dont l'ouverture en « bouche » assez régulière permet l'expulsion des spores - surélevé par un pied.

Nous parlerons évidemment du nez quand nous évoquerons les sens et plus particulièrement l'odorat, qui est d'ailleurs en relation étroite avec le goût. Pour ce

qui est de la **bouche** (*os*, *oris* en latin), on la retrouve chez *Tricholoma orirubens*, qui rougit à la marge (en bordure... d'une bouche avec du rouge à lèvres ?) ; les lèvres, elles, (*labrum* en latin) s'observent chez *Anthracobia maurilabra*, un petit ascomycète poussant sur place à feu et bois carbonisé, dont la surface externe est ponctuée jusqu'à la marge de touffes de poils noirs agglutinés. Rappelons que les Maures étaient les ennemis « à peau noire » du preux Roland à Roncevaux...



Dans la bouche : la **langue** (*glôssa* en grec, *lingua* en latin). On pense évidemment aux espèces qui ont sa forme, comme les Géoglosses (langues sortant directement de la terre) et Trichoglosses (voir ci-dessus). Qu'elles soient petites et basses (*Microglossum viride* signifie « petite langue verte ») ou plus élancées (*Clavariadelphus ligula* – diminutif de *lingua*), ou encore évoquant la langue du serpent (*ophis* en grec), comme chez le *Cordyceps ophioglossoides*...

Après la tête (voir C.M. n° 54), descendons jusqu'aux **poumons** : *Pleurotus pulmonarius* est une espèce blanche, proche du très connu *Pleurotus ostreatus*, le pleurote en huître. Ces champignons à stipe latéral ou très excentré sont mis en relation avec les poumons plutôt en raison de leur forme qu'en raison de leur structure alvéolaire : cette *Auricularia delicata* tropicale, photographiée à Madagascar, est bien plus ressemblante !

Un peu plus bas, le **ventre** : ici, les espèces sont nombreuses, notamment parmi les gastéromycètes, mot qui signifie littéralement : champignons (à) ventre, association des mots grecs *gastér* (ventre) et *mukès* (champignon, que l'on retrouve dans mycologie, mycose, mycophage, etc.). On répertorie les genres *Phallogaster*, *Hymenogaster*, *Melanogaster*, qui comprennent des espèces surtout hypogées, mais toujours de





forme arrondie, avec leurs spores « dans le ventre ». Et il existe même des genres un peu « bizarres », dits sécotioïdes, parmi les Cortinariales (*Thaxterogaster* par ex.) et les Bolétales (*Gastroboletus*, par ex.).

Au milieu du ventre, le **nombril** a été beaucoup sollicité pour évoquer les champignons dont le chapeau se creuse au disque en ombilic (*omphalos* en grec, *umbilicus* en latin). Il s'agit bien sûr des genres *Omphalia* et *Omphalotus*, mais aussi de *Lactarius omphaliformis* et *Marasmius omphaliformis*, ou encore du *Clitocybe umbilicata* déjà évoqué plus haut.

Près du ventre, le **foie** : *Lactarius hepaticus* (du grec *hèpar*, d'où le français hépatite), avec presque toujours des reflets verdâtres, comme un foie un peu malade : je revois le « foie de l'alcoolique » qui ornait ma classe de 4^{ème} primaire, pour nous dissuader de sombrer dans le vice ! Cette espèce très répandue sous les pins sur sol sableux – on l'observe abondamment sur la côte ou en forêt de Fontainebleau – a le lait qui jaunit rapidement sur mouchoir blanc : peut-être ce jaunissement fait-il partie de sa carte d'identité, quand on sait que la jaunisse est une maladie du foie ! On retrouve cette connotation jaune dans un Entolome de belle couleur jeune, *Entoloma icterinum* (qu'il faut, paraît-il, appeler maintenant *E. pleopodium*, dommage) : il est vrai qu'on pense davantage à sa bonne odeur de bubble gum qu'à son rapport avec « ictere », le teint jaunâtre dû à la bile fielleuse qui passe dans les tissus... On prétend par ailleurs que la vue d'un loriot, oiseau tout jaune assez rare, guérissait de la jaunisse... mais il faut pour cela regarder plutôt en l'air qu'à ses pieds, où sont les entolomes !



Quant à la belle *Fistulina hepatica*, qu'on trouve à la base des chênes, bien connue sous le nom de « langue de bœuf » (tiens, une autre analogie avec le corps, cette fois pour la ressemblance entre sa surface supérieure et les papilles), elle est en rapport avec le foie non seulement à cause de sa couleur, mais aussi de sa structure : il faut en avoir coupé des tranches pour s'en rendre compte.



Soyons francs : la langue de bœuf poêlée n'a pratiquement aucun goût. Je vous conseille donc de l'accommoder comme suit pour la conserver. On s'en servira pour accompagner les charcuteries (toasts au pâté par exemple). Faire bouillir un mélange composé de 2/3 de vinaigre de vin blanc et d'1/3 d'eau, avec sel, poivre et aromates (thym, laurier, sauge,...). Quand le liquide est bien parfumé, y ajouter les champignons coupés en dés et laisser frémir 10'. Mettre dans un bocal les champignons avec leur liquide de cuisson. Bien fermer. Consommer un mois au plus tôt après la mise en conserve, comme des cornichons ou des petits oignons.

Non loin du foie, les **reins**. C'est de là que tire son nom *Hohenbuehelia reniformis*, en forme de rein. Mais aussi un gastéromycète plus ou moins hypogé, comme les œufs de *Phallus impudicus* (le sexe

n'est pas loin !) du genre *Hysterangium* : *H. nephriticum* a en effet la forme « en haricot » du rein. Le mot grec *néphros* se retrouve en français dans le terme scientifique « coliques néphrétiques », qui évoque les douleurs provoquées par ce qu'on appelle communément des « pierres au rein ». Je ne vous en souhaite pas !



Les champignons sont sans doute apparus, aux yeux des premiers humains qui les ont observés, comme surgis du ventre de la terre, aussi rapidement que mystérieusement, dressant fièrement leurs chapeaux au sommet de pieds qui ne servent qu'à exhausser ces porteurs de spores dont la fonction est la reproduction sexuée. Tous ceux qui s'intéressent aux récits qui font intervenir des champignons ont déjà entendu parler des vertus réputées aphrodisiaques de l'amanite tue-mouches et d'autres champignons, consommés par les adeptes de certaines religions. Et je me souviens de Georges Becker me racontant qu'il avait entendu, en patois de Montbéliard, une brave femme crier à son fils qui faisait pipi le long de la

route : « Cache-toi donc, tout le monde va voir ta chanterelle ! ».

Le **phallus**, symbole de fertilité fièrement exhibé par le dieu Pan ou plus encore par Priape – panique pour *Russula puellaris* quand elle le voit sortir du bois ! – est aussitôt suggéré à la vue de notre banal « satyre puant » (*Phallus impudicus*), que tout un chacun détermine sans risque d'erreur. Et cela même quand il se pare d'une jupe réticulée à la façon de bas résille à larges mailles, comme chez les *Dictyophora* fréquents sous les Tropiques. Les satyres, avec un y rappelons-le, étaient ces petits êtres lubriques, moitié-hommes moitié-bouquetins, qui, dans les récits mythologiques, harcelaient les jeunes filles d'une manière tout à fait « inappropriée », comme aurait dit Bill Clinton. Le « satyre des chiens », *Mutinus caninus* (*mutinus* en latin signifie pénis) est aussi très expressif, si je puis dire, malgré sa taille plus modeste. Sans doute parce que la couleur orange feu de la gléba qui entoure le sommet glandiforme laisse présager une vaillante ardeur... Roger Heim³ et après lui Guy Fourné⁴ rapportent que la fille du célèbre Darwin faisait aux satyres puants « une chasse impitoyable, pour préserver la morale des filles : armée d'un



bâton à la pointe acérée, d'un chapeau de chasse, et de gants qui la protégeaient d'une contamination pernicieuse, elle recueillait sans y toucher les *Phallus*... trop « *impudicus* » et les faisait brûler pour les soustraire aux regards curieux des pures jeunes filles ». Le genre *Verpa* est plus discret : qui sait que ce mot latin désigne le membre viril chez le poète Catulle ? Nous l'avons évoqué dès l'introduction.



Mais cela ne fait pas beaucoup⁵ : sans doute les épithètes faisant directement allusion au sexe masculin ont-elles subi une autocensure manifeste de la part des mycologues créateurs d'espèces, puisque dans un genre comme celui des inocybes, dont chacun sait que de nombreux représentants

ont une odeur manifeste de sperme, aucun ne porte un nom d'espèce qui y ferait directement allusion !

Côté féminin, la palme revient sans conteste à l'amanite vaginée (*Amanita vaginata*) : la volve (*vagina* désigne en latin le fourreau pour l'épée) qui engage le bas de son pied atténué en haut,

³ « Les champignons toxiques et hallucinogènes », Boubée, 1978.

⁴ « Pièges et curiosités des champignons », 1985, p. 147.

⁵ Dans un ouvrage aussi richement documenté que celui de Richard Berner, « L'intuition de la matière chez les mycologues » (1998), les références aux choses du sexe sont bien peu nombreuses, par rapport aux autres parties du corps.

élégant comme une jambe de mannequin, évoque le sexe de la femme (*vulva* est aussi à l'origine du genre *Volvariella*).

Les *Hymenogaster* sont des gastéromycètes qui nous rappellent que l'hymen est une membrane protectrice, évoquant aussi ce qui enveloppe le fœtus, d'où sa référence à ce qui est dans le ventre, comme nous l'avons vu.



Plus discrets sont les ascomycètes des genres *Hysterium* et *Hysteriographium* (*ustera* en grec désigne la matrice, l'utérus) : ce sont de tous petits champignons noirs, comme de minuscules grains de café – que j'aime ta couleur café ! – avec leur fente suggestive. Le mot français « hystérique » fait étymologiquement référence au sexe féminin : sans doute à cause des Bacchantes antiques, réputées pour leurs transes ou les orgies auxquelles elles étaient censées participer. Un excellent mycologue du Midi, Jean-Claude Malaval, m'a envoyé la photo d'un tout petit ascomycète, dont je parierais que vous ne retiendrez pas facilement le

nom : *Rhytidhysterium hysterinum*. C'est une sorte de pléonasme, puisque le sexe féminin y est doublement évoqué – il est vrai que la photo porte au fantasme, et pousserait à formuler l'hypothèse que l'adjectif lubrique (du latin *lubricus* qui signifie glissant) ne pouvait s'appliquer qu'à une espèce d'un genre féminin (*Leotia*). Je lis sous la plume de mon correspondant : « Je n'ai jamais trouvé ce champignon ailleurs que dans la région de Montpellier, et exclusivement sur buis. Je pense que c'est une espèce thermophile et qui pourrait être trouvée plus souvent en région méditerranéenne. Je ne l'ai trouvé ouvert qu'une seule fois, après une période de pluie. Pour effectuer mes photos, pour avoir l'hyménium bien visible, je trempe la brindille ou branche de *Buxus sempervirens* dans un récipient avec un fond d'eau pendant une nuit. C'est une espèce qui a la particularité d'être reviviscente et donc de changer de forme en fonction de l'humidité ». Vous pensez à quoi ?



Pour évoquer la **jambe**, je vous renvoie ci-dessus à notre présentation du mousseron dans l'introduction.

Le **ped** aussi est synonyme de « jouissance » (C. Duneton, La puce à l'oreille, p. 58), et désigne la bonne mesure (les 33 cm) qui sert d'étalon au style de vie moyen, au-delà duquel on vit « sur un grand pied ». C'est le cas du genre *Oudemansiella* (*O. radicata* est un des champignons les plus communs qui soient) ou *Xerula* : *X. longipes* a un pied brun hérissé de poils courts qui lui donnent un aspect velouté ; à ne pas confondre avec *X. longipes*, qui peut aussi désigner un xylaire élancé en élégante massue dont la particularité est d'apparaître - sous la loupe ! - finement craquelée au point de donner l'impression qu'elle est revêtue d'un fin bas résille... Aïe, on fantasme encore !

Ce long pied radicaire est également caractéristique de *Flammulina fennae* (cf. C.M. n°55) ou de la davantage connue et fréquente *Tephrocybe rancida*, chez qui l'odeur fut prépondérante le jour de son baptême par son auteur... L'hypholome radicaire *Hypholoma radicosum* (= *H. epixanthum*) est aussi de la famille de Berthe-aux-longs-pieds, lui qui l'enfonce au plus profond des souches pourries de conifères. Mais l'hébélome radicaire (*Hebeloma radicosum*) n'est pas en reste, et sa puissante odeur d'amandes amères ne l'a pas emporté sur le caractère radicaire de son stipe.

D'autres champignons ont été nommés à l'aide d'une caractéristique de leur pied : pour la var. *scrobipes* du lactaire zoné (*L. zonarius*), ce sont les scrobicules, sortes de petits cratères lunaires, qui ont frappé son auteur. Pour la mycène à pied scabre (*Hydropus scabripes*), c'est l'aspect rugueux, évoquant le caractère « rude au toucher » des bolets du genre *Leccinum*. Quand ce n'est pas le mot latin (*pes*, *pedis*) qui est utilisé en composition, c'est le mot grec (*pous*, *podos*), qu'on retrouve par exemple dans *Mycena galopus* (à pied contenant du latex blanc), *Russula rhodopus* (à pied lavé de rose), etc.

J'espère en tout cas que vous avez pu, à l'un ou l'autre moment de cette excursion mycologique « anatomique », prendre un peu...votre pied !

Phénologie et excursions (logiciel Mycobel)

Marcel Lecomte, Daniel Ghyselincq, André Fraiture

Chez les champignons, la phénologie est l'étude de leurs phases de développements saisonniers, de leur période de fructification. Ces développements sont liés notamment aux paramètres climatiques. C'est un élément essentiel pour la compréhension du fonctionnement des écosystèmes forestiers et en particulier pour la croissance des arbres. C'est aussi un outil de suivi de l'adaptation des végétaux aux changements climatiques.

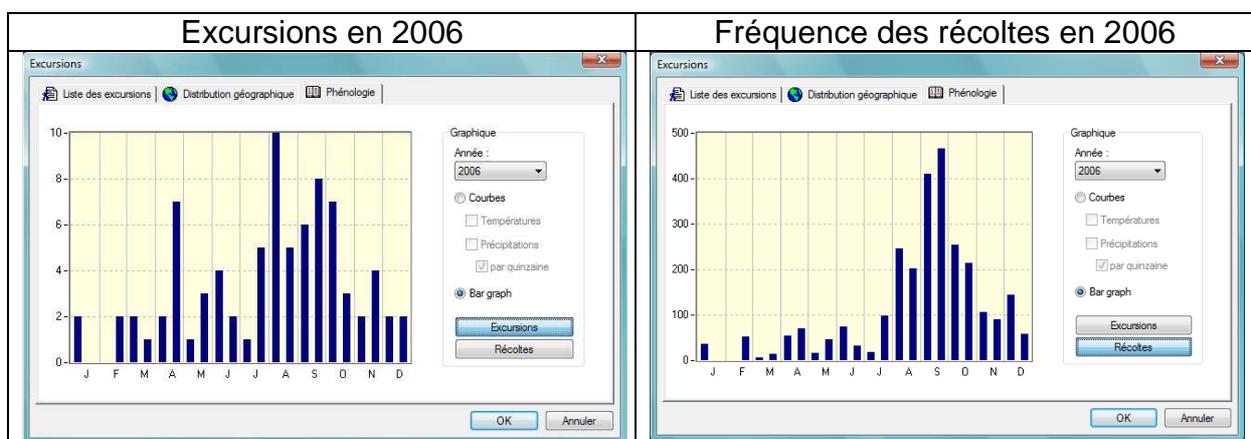
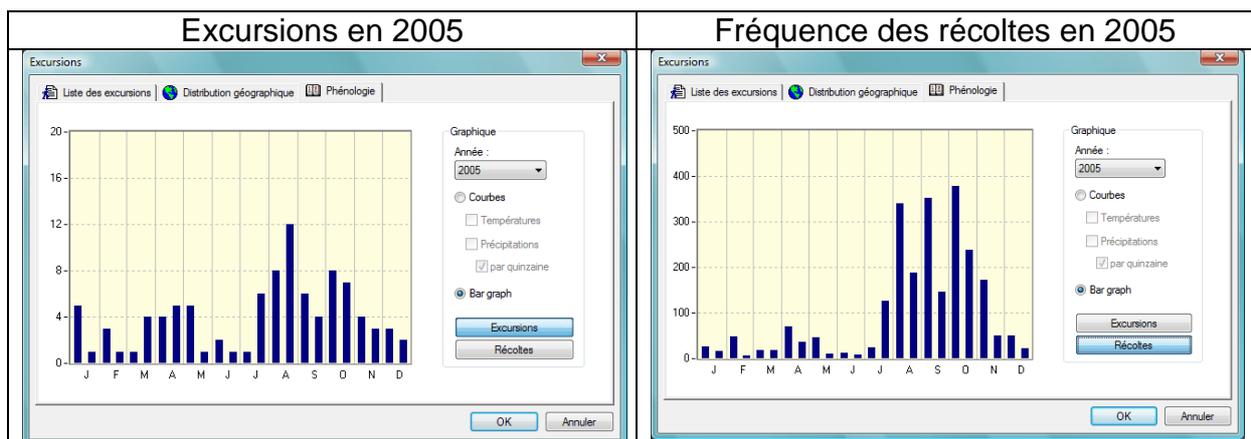
Mycobel présente maintenant 2 écrans pour chaque année : un pour la fréquence des excursions et un pour la phénologie des récoltes (c'est une nouveauté qui sera disponible dans la prochaine version).

En effet, il faut pondérer la phénologie des récoltes en la comparant avec le nombre d'excursions (cela va de soi : si pas d'excursion, pas de récolte !).

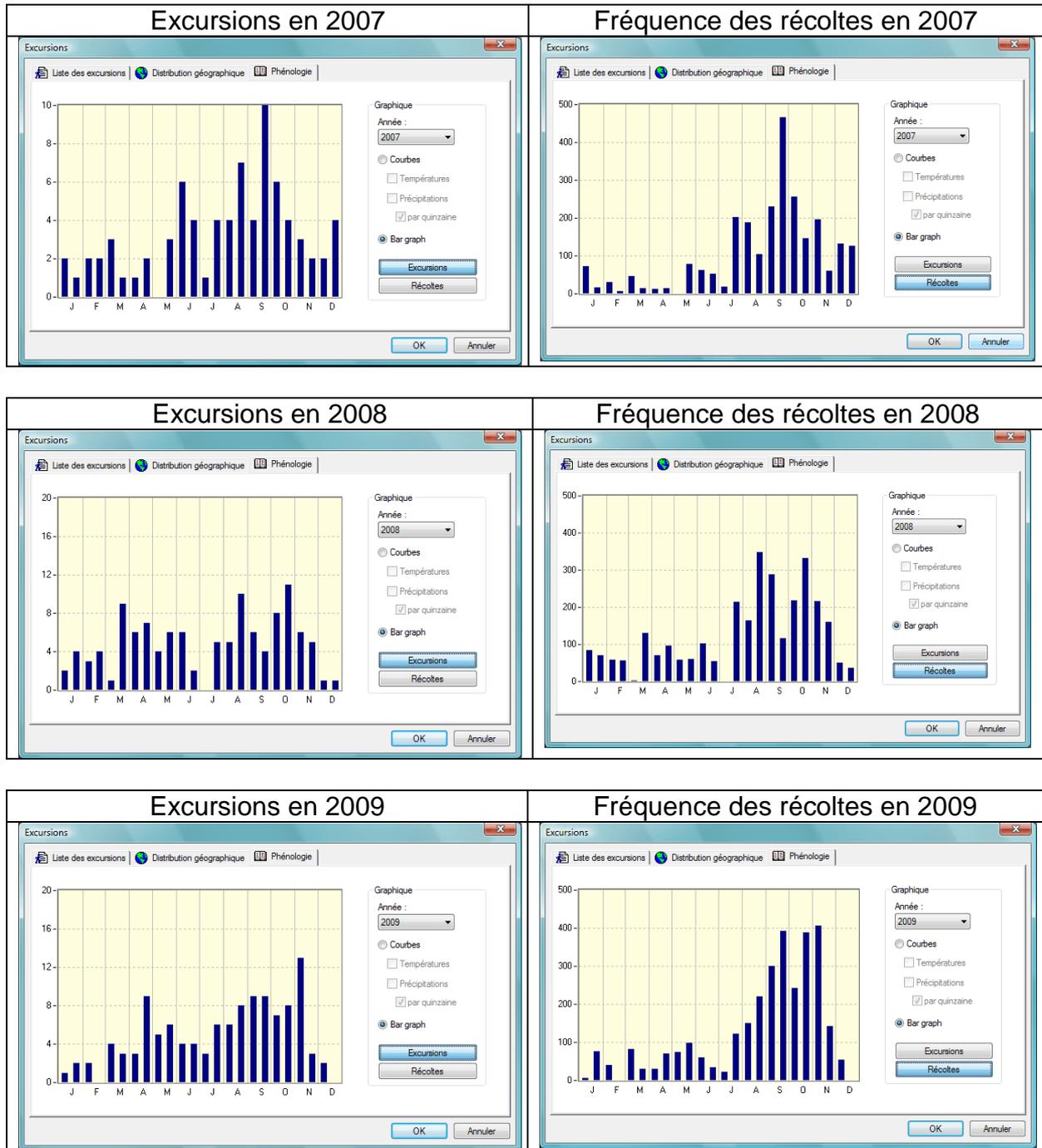
il faut prendre garde de ne pas essayer de faire dire aux données ce qu'elles ne peuvent pas dire. Les graphiques de phénologie que l'on tire de Mycobel dépendent évidemment de la présence des carpophores mais ils dépendent tout autant de la présence du mycologue ! Les carpophores auront beau être abondants sur le terrain, ils ne seront notés que si un mycologue passe par là et les encode. On a le même problème avec les cartes de distribution des espèces, qui sont bien connues pour représenter aussi la distribution des mycologues et de leurs sites favoris d'excursion. Ce n'est que lorsque l'exploration du territoire est très poussée et le nombre de données très élevé qu'on arrive à des cartes fiables (voir celles des Hollandais, par exemple).

Attention aussi au fait que l'échelle n'est pas la même pour toutes les années (l'abscisse des excursions varie) car elle est calculée automatiquement.

Chaque mois présente en ordonnée une courbe par quinzaine : il y a donc 2 « colonnes » par mois.



Un examen attentif de cette série de 5 diagrammes montre clairement que la 1^{ère} quinzaine du mois de septembre a quasi toujours été favorable durant ces 5 dernières années, et indique une poussée correcte durant cette période.



C'est l'occasion pour nous de vous rappeler d'abord l'existence de MycoBel, qui allie une grande simplicité d'emploi et une puissance de travail énorme. Apprivoisé en une heure de pratique (pour l'encodage des données), il est vraiment très simple d'emploi et très peu dévoreur de temps : c'est bien plus facile de dresser une liste en cochant une case qu'en tapant l'entièreté de deux mots latins.

Nous avons le sentiment que ce logiciel devrait être adopté par tous les mycophiles de Belgique afin d'encoder systématiquement toutes les récoltes (correctement déterminées) réalisées en n'importe quel endroit de notre pays.

Mais il faut bien réaliser qu'il est essentiel d'encoder tous les champignons observés, y compris les banalités, afin de pouvoir à la demande sortir des statistiques au niveau de la phénologie.

Les données sont très faciles à extraire d'un logiciel personnel pour être envoyées à un logiciel centralisateur d'où on pourrait alors sortir des statistiques encore beaucoup plus générales et plus complètes. Ce serait alors un jeu d'enfant de connaître la fréquence et le volume des poussées dans une zone donnée, à une date précise, en fonction d'un nombre donné d'excursions.

AIDE – MEMOIRE du « petit chimiste mycophile » !

Marcel Lecomte

Conventions :	
<ul style="list-style-type: none"> • lorsque nous parlons d'un produit à x %, cela signifie qu'il s'agit d'une solution aqueuse, réalisée dans l'eau bidistillée • lorsque nous parlons d'eau, il s'agit toujours d'eau bidistillée • Les objets colorés qui doivent être lavés, le sont dans le solvant du colorant 	
acide acétique	à 2 ou 5 %, est utilisé comme ramollisseur pour des espèces un peu coriaces
acide chlorhydrique	à 3 ou 5 %, il permet de régresser les coupes colorées à la fuchsine de Ziehl
acide sulfurique	à 50 ou 80 %, est utilisé pour les réactions sulfoaldéhydiques (vanilline, benzaldéhyde)
acide nitrique + aniline	ces 2 produits permettent de réaliser la réaction de Schaeffer sur la cuticule des agarics
alcool (éthanol ou méthanol)	<ul style="list-style-type: none"> • eau et alcool ne font pas bon ménage ! • un colorant en solution alcoolique se lave à l'alcool ; un colorant en solution aqueuse se lave à l'eau. • il est très hygroscopique (avide d'eau) : il contracte fortement les cellules (le 1/2 de leur volume) et rigidifie les tissus
ammoniaque (NH ₄ OH)	<ul style="list-style-type: none"> • concentrée, elle a le pouvoir de regonfler les exsiccata ou de ramollir les hyphes de champignons frais • elle met en évidence les chrysocystides chez certains genres (<i>Stropharia</i>, <i>Hypholoma</i>...)
ammoniaque 50 %	laver les préparations montées dans le rouge Congo ammoniacal, avant de réaliser des photos
Aquatex	milieu de montage définitif pour pièces fragiles, qui polymérise rapidement mais dont le solvant est l'eau → indispensable en mycologie
baume du Canada	résine de confère qui permet de conserver définitivement des préparations microscopiques → très gros inconvénient en mycologie : il nécessite une déshydratation complète, ce qui « ratatine » les éléments fragiles
benzaldéhyde	mélangé extemporanément avec de l'acide sulfurique 80 %, il noircit les piléocystides de certaines russules (on parlera alors de SBA+)
bleu coton lactique ou lactophénolé	<ul style="list-style-type: none"> • laver les préparations montées dans le bleu lactique, avec du lactophénol • mettre en évidence l'ornementation sporale des Ascomycètes
bleu de crésyl	excellent colorant, encore trop souvent délaissé par les mycologues ; donne d'excellents résultats pour la métachromatie
bleu de méthylène	colorant basique, ou nucléaire ; basophilie et cyanophilie sont synonymes
bleu de toluidine	excellent colorant, trop souvent délaissé par les mycologues
carmin acétique	<ul style="list-style-type: none"> • permet de mettre en évidence la sidérophilie des cystides chez les <i>Lyophyllum</i> notamment • est utilisé pour l'observation des noyaux et le comptage des chromosomes, qui sont fortement mais finement colorés.
chloral-lactophénol	permet de déshydrater les tissus aqueux en quelques minutes, sans contraction ni retrait.
éosine	<ul style="list-style-type: none"> • colorant acide ; acidophilie et éosinophilie sont synonymes • colorant plasmatique : elle colore le contenu de la cellule
formol (ou formaldéhyde)	<ul style="list-style-type: none"> • c'est un bon fixateur, mais qui durcit fortement les tissus • le formol commercial est assez impur (il contient de l'acide formique et du méthanol) et très acide (il doit être neutralisé avant emploi avec du carbonate de calcium par exemple). Il nous paraît plus indiqué d'utiliser du formol de laboratoire • la fixation par le formol renforce nettement les affinités basophiles
fuchsine de Ziehl	colore en violet foncé les incrustations acido-résistantes des hyphes primordiales de la cuticule de certaines russules

Giemsa	coloration des noyaux des hyphes du mycélium (technique assez lourde - voir H.G. Cléménçon)
glycérine	présente dans nombre de liquides d'observation, elle évite le dessèchement et améliore l'indice de réfraction optique
glycérine gélatinée	elle permet la conservation de préparations (préparations semi-définitives) et peut être colorée dans la masse
hypochlorite de soude (eau de Javel)	<ul style="list-style-type: none"> • elle permet de blanchir les coupes. L'eau de Javel est un dérivé impur de l'hypochlorite de soude, et est peu conseillée en microscopie. • ce produit a la propriété de dissoudre complètement le contenu des cellules (pratiquement, on l'utilise surtout en histologie végétale lorsqu'on souhaite ne garder que les parois des tissus) • à 50 %, il jaunit la cuticule des agarics de la section des <i>Xanthodermatei</i>
lactochloral	permet de déshydrater les tissus aqueux en quelques minutes, sans contraction ni retrait
lactoglycérol	Fortement recommandé par H. Cléménçon pour remplacer le chloral-lactophénol ou le lactophénol qui sont tous deux toxiques et corrosifs
Iugol fort de Nicolle	une ligne tracée sur l'hyménophore permet de vérifier directement si les spores sont amyloïdes
papier tournesol	<ul style="list-style-type: none"> • permet de déterminer la nature acide ou basique d'un milieu liquide (le neutre se situe à un pH de 7) • plus on tend vers 1, plus le milieu est acide : le papier est de + en + rouge • plus on tend vers 14-15, plus le milieu est basique : le papier est de + en + bleu
phloxine	colorant acide, plasmatique de la cellule
potasse (K) = hydroxyde de potassium (KOH)	<ul style="list-style-type: none"> • à 2 ou 5 % (selon la fragilité du matériel traité), elle regonfle les exsiccata ; à 10 %, on l'utilisera pour dissocier les « croûtes » et les polypores • compatible avec le rouge Congo ammoniacal • incompatible avec le rouge Congo SDS (formation d'un précipité) • à 20 % et à chaud, elle permet de regonfler les Polyporacées
ramollisseur de Cléménçon	ne s'utilise qu'avec le rouge Congo ammoniacal
ramollisseur GSD de Cléménçon	ne s'utilise qu'avec le rouge Congo SDS
regonglage des exsiccata	on peut utiliser notamment des alcalis (ammoniacque, potasse, soude) ou le lactophénol, le chloral-lactophénol, le lacto-chloral, l'acide lactique, l'hydrate de chloral, l'eau acétique à 50%.
rouge Congo	colorant les parois des cellules (boucles, hyphes, cystides, basides) → révélateur des milieux acides : il devient alors tout noir
rouge Congo ammoniacal	<ul style="list-style-type: none"> • excellent liquide d'observation pour des exsiccata ; ne pas laver les préparations à l'eau (qui provoque une cristallisation) mais à l'ammoniacque à 50 % • utilisable sur du matériel frais si on veut examiner les hyphes qui sont ramollies par l'ammoniacque
rouge Congo SDS	excellent liquide de première observation, conseillé sur du matériel frais
SDS = Sodium Dodécyl Sulfate	c'est un agent mouillant stable, un détergent industriel, qui facilite nettement la coloration ; on peut le remplacer avec un certain succès, par un bon détergent de vaisselle. Nous l'ajoutons au rouge Congo aqueux, au bleu de toluidine
soude (Na) = hydroxyde de sodium (NaOH)	elle a les mêmes propriétés que la potasse, MAIS est compatible avec le rouge Congo SDS
sulfovanilline	étude des cystides des russules et des lactaires ; mise en évidence des laticifères

Littérature consultée :

- CLEMENCON H., 2009 – *Methods for working with Macrofungi, Laboratory Cultivation and Preparation of Larger Fungi for Light Microscopy*, IHW-Verlag, 88 p.

Guttules, vacuoles et noyaux

Marcel Lecomte

Lors de préparations microscopiques, nous sommes confrontés souvent à des nécessités d'interprétation des éléments observés : ces grandes formes géométriques que nous observons (ici, à l'intérieur des ascospores), que sont-elles ? Guttules, vacuoles ou noyaux ?



Geopora arenicola – photo M. Lecomte

Des définitions d'abord :

Le noyau : en biologie, c'est un organite, présent dans la majorité des cellules, et contenant la plupart du matériel génétique de la cellule. Il a deux fonctions principales : contrôler les réactions chimiques du cytoplasme et stocker les informations nécessaires à la division cellulaire. Il a un diamètre moyen de 5 à 7 μm .

La vacuole est un organite présent dans les cellules végétales et fongiques. Elle est délimitée par une membrane ; remplie d'eau, elle contient diverses molécules dont des enzymes. Elle n'a pas de forme ou de taille particulière, sa structure variant en fonction des besoins de la cellule.

Ses fonctions générales sont :

- L'isolement de composants potentiellement nocifs pour la cellule.
- La gestion des déchets à l'aide d'enzymes de digestion, ou l'endocytose d'éléments vieillissants du cytoplasme.
- Le maintien de l'équilibre en eau.
- Le stockage permanent ou transitoire de l'eau et de molécules telles que certains pigments, des glucides, protéines et lipides.

Une guttule est une inclusion ovoïde à sphérique, de nature lipidique (graisseuse), se trouvant dans le cytoplasme de certaines cellules fongiques, et plus particulièrement dans les spores, les paraphyses, parfois dans les hyphes, basides et les cystides. On en trouve aussi dans les levures.

Dans une situation d'observation normale d'éléments fongiques placés dans de l'eau, avec un microscope à lumière incidente ou réfléchi, il est généralement impossible d'observer les noyaux des cellules. Leur mise en évidence nécessite des techniques de coloration particulières et assez lourdes.

Les GUTTULES

Afin de les différencier avec certitude, nous allons utiliser le **rouge Soudan au bleu coton lactique** ou **lactophéno**, ou le **rouge huile O** : ce sont des colorants qui mettent en évidence la présence de résidus ou d'éléments lipidiques. R. Kühner utilise le **bleu de crésyl** pour colorer en jaune doré caractéristique les lipides libres (enclaves ou exsudats).

Elles s'avèrent très importantes pour la différenciation de certains Ascomycètes.

Les VACUOLES

A nos yeux, le moyen le plus simple pour les identifier avec certitude est de **provoquer leur contraction** ; pour cela, placer les éléments à observer dans une goutte d'une solution aqueuse à 10 ou 15 % de chlorure de Na (sel de cuisine), de saccharose (sucre blanc) ou de glycérine.

Le bleu de crésyl s'utilise en solution aqueuse largement diluée ; il permet alors une coloration uniforme des vacuoles, ou la mise en évidence de granulations fortement teintées.

Les NOYAUX

Leur étude (caryologie) et la mise en évidence de leur nombre peut s'avérer très intéressante. Josserand affirme que « *leur mise en évidence est particulièrement facile dans les spores* ». Nous modérerons quelque peu cette affirmation, car la technique à mettre en œuvre est relativement longue et exigeante financièrement, si on ne dispose pas d'un laboratoire équipé, et si on compare aux observations traditionnelles qui se font directement et en vitesse dans une simple goutte de rouge Congo. En outre, il faut reconnaître que nombre de mycologues éprouvent beaucoup de difficultés à sortir des chemins battus. Retenons que les noyaux sont sensibles surtout aux colorants basiques.

La concentration de la solution de colorant a beaucoup d'importance ! Une règle à retenir : des solutions diluées agissent lentement mais de manière beaucoup plus élective !

Les types de colorants conseillés

Le mélange de Giemsa (bleu Azur-éosine-bleu de méthylène) permet une coloration des noyaux, sans autres colorations parasites. C'est de loin le meilleur colorant pour ce travail. Il existe du Giemsa « rapide » et du « lent ».

Méthode de Josserand

Pour ces manipulations à bains divers et multiples, l'utilisation de tubes de Borel est recommandée (tubes en verre avec couvercle en verre).

- prélever des spores d'une sporée
- déposer sur une lame mouillable (bien dégraissée à l'alcool) dans une goutte d'eau bidistillée
- bien mélanger puis réaliser un frottis
- après évaporation de l'eau, les spores restent collées sur la lame
- préparer des tubes de Borel identifiés ou numérotés, avec les produits indiqués ci-dessous
- observer dans l'eau ou dans une goutte d'ammoniaque
- les noyaux apparaissent dans les spores sous forme de petites masses colorées en pourpre noirâtre

HCl pur (1) chauffé à 60° 10 minutes	Eau de rinçage 5 à 10 minutes Très important pour enlever l'acidité	Ethanol à 95° ou absolu 10 minutes	Ether (2) durant 1h1/2 à 2 h	Ethanol (3) à 95° ou absolu 2 minutes	Eau de rinçage 1 à 2 minutes	Solution aqueuse de Giemsa 1 goutte par cm ³ d'eau 4 à 8 heures
Tube 1	Tube 2	Tube 3	Tube 4	Tube 5	Tube 6	Tube 7

(1) : on parle d'acide chlorhydrique pur lorsqu'il contient 36,5 g d'HCl par litre

(2) & (3) : ces étapes sont indispensables pour les spores de Russulales, mais elles seront inutiles dans de nombreux cas

Méthode de Robert Kühner

Il s'agit d'une technique sophistiquée et assez longue, mais sans grande difficulté. Elle met remarquablement les noyaux en évidence. L'auteur travaille au départ d'un morceau du sporophore.

- la fixation à l'alcool absolu ou à 95 ° n'est pas obligatoire
- immerger le fragment dans de l'acide chlorhydrique à 8 % (8,25 ml d'HCl fumant avec 100 ml d'eau bidistillée), chauffer à 55-60° C durant 8-10 minutes en moyenne (de 5 à 15 minutes selon la taille du fragment).
- éliminer la solution acide et remplacer par de l'eau froide qu'on change de 3 à 5 fois en 15 minutes
- vider l'eau et la remplacer deux fois par de l'éthanol (ou du méthanol) absolus

- vider l'alcool et déposer sur le morceau de sporophore 4 à 6 gouttes de Giemsa lent
- laisser agir le colorant durant au moins une heure
- ensuite, verser 5 ml d'eau bidistillée dans le tube et rendre homogène en inclinant et redressant doucement le tube (ne pas mélanger)
- laisser agir encore une heure
- placer le fragment coloré sur une lame de verre et le rincer à l'eau avec le jet d'une seringue (bloquer le fragment avec une aiguille montée) durant 2 à 3 secondes
- effectuer une coupe s'il s'agit d'un gros fragment
- placer sous lamelle avec de l'eau bidistillée, ou mieux encore de l'ammoniaque diluée 2x
- dissocier éventuellement par percussion, si c'est nécessaire

Le carmin acétique : (mieux encore : carmin acétique ferrique) ; La coloration des noyaux par ce moyen est une caractéristique des genres *Geopora* et *Mycena*. Cette coloration est également possible sur des exsiccata.

Méthode de Josserand et de Kühner

Pour le matériel et la préparation d'une lame, voir les recommandations ci-dessus (mélange de Giemsa).

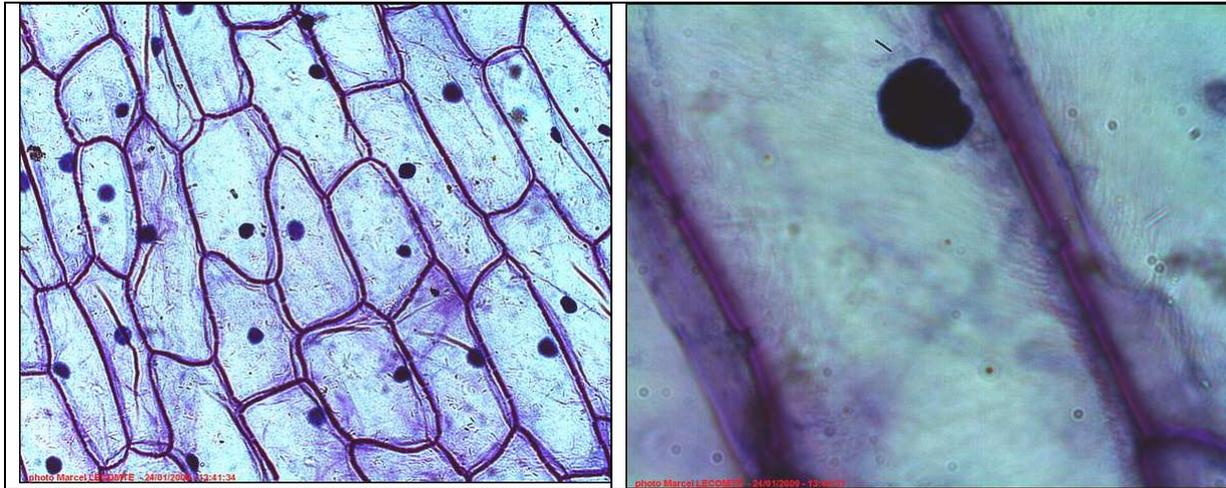
- après évaporation de l'eau, les spores restent collées sur la lame
- préparer des tubes de Borel identifiés ou numérotés, avec les produits indiqués ci-dessous
- l'opération réalisée dans le tube 1 s'appelle le mordantage ou la fixation
- observer dans l'eau ou dans une goutte d'ammoniaque à 50 %

Préférer du matériel frais	10 cc Alun de fer ammoniacal à 5 % (1) +	Eau de rinçage	Carmin acétique de Sémichon	sortir la lame du bain de colorant et y déposer à nouveau une grosse goutte de carmin acétique	10 g d'hydrate de chloral + 10 cc d'eau
Ethanol à 95° 24 heures	10 gouttes acide acétique glacial 15 à 30 minutes	passer dans l'eau une seule fois	15 à 30 minutes ou de 1 à 2 heures (R.K.)		Porter à ébullition durant quelques secondes
Tube 1	Tube 2	Tube 3	Tube 4		Tube 5

(1) On peut également utiliser le picroformol de Hollande (à base d'acétate de cuivre) comme fixateur.

On peut utiliser également avec succès l'**hématoxyline** (avec alun de fer ammoniacal), le **rouge Neutre** (laisser agir durant 24 heures), le **bleu de méthylène**, le **bleu de toluidine**, le **vert de méthyle**, l'**orcéine acétique**.

L'**orange d'acridine** est utilisé pour des colorations vitales, mais nécessite un microscope en fluorescence.



Cellules d'épiderme d'oignon, avec noyau bien visible - coloration bleu de méthylène, 40x et 100x, photo Marcel Lecomte

Bibliographie :

- AUDERSET G.**, 1987 – *Biologie végétale*, Florimontanes, 268 p., 52
- BASSO M.T.**, 2005 – *Manuale di Microscopia dei Funghi*, 303 p., 200
- CLEMENCON H.**, 2004 – *Cytology and Plectology of the Hymenomyces*, Cramer, 488 p., 17-20
- JOSSEMAND M.**, 1983 – *La description des champignons supérieurs*, Lechevalier, 156-158.
- KUHNER R.**, 1980 – *Les Hyménomycètes agaricoïdes*, n° spécial du Bul. Soc. Linnéenne de Lyon, 1025 p., 822, 1022-1025.
- LANGERON M.**, 1942 – *Précis de microscopie*, Masson, 1340 p.
- LOCQUIN M.**, 1984 – *Mycologie générale et structurale*, Masson, 551 p.
- LOCQUIN M. & LANGERON M.**, 1978 – *Manuel de microscopie*, Masson, 352 p., 224-225, 251-252, 299
- MARTOJA R. & MARTOJA M.**, 1967 – *Initiation aux techniques de l'histologie animale*, Masson, 345 p., 86-91

Une rareté : *Amanita simulans*

Marcel Lecomte & Joseph Pellicani

Cette espèce s'avère particulièrement intéressante et rare ; elle a été récoltée en pelouse, sous peupliers, le 15 septembre 2009, à la station d'épuration d'Angleur (B-4031), par Joseph Pellicani. Plus de 50 exemplaires observés. Jusqu'à preuve du contraire, elle est étroitement liée aux *Populus*. L'identification de nos spécimens avait été confirmée par René Chalange, sous le nom de *A. griseofuscescens*, au congrès de la S.M.F. (Nantes, 2009). Il nous avait également appris qu'il tenait cette identification de nos amis et autorités en la matière : Serge Poumarat et Pierre Neville, qui étaient en train de l'étudier sous ce nom de travail, non encore publié.

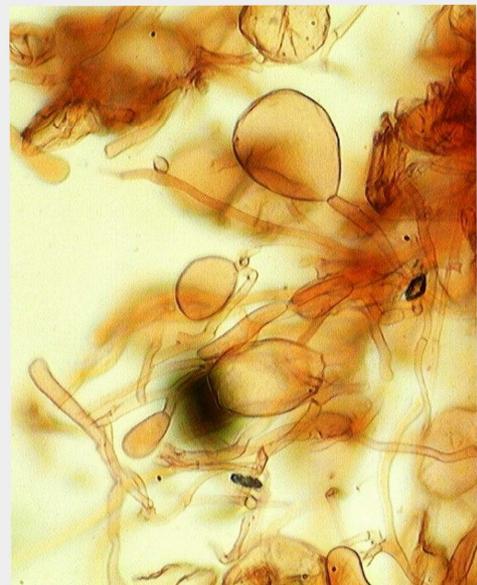
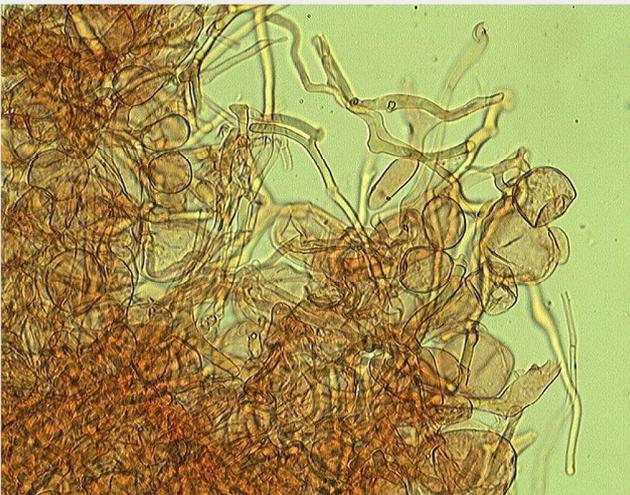
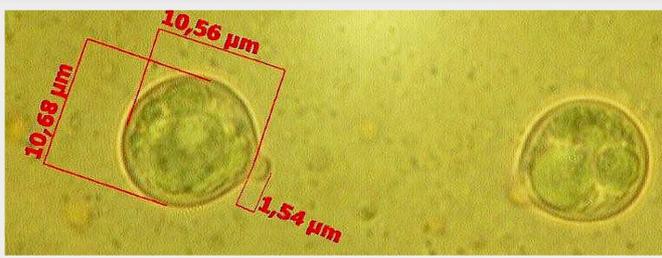
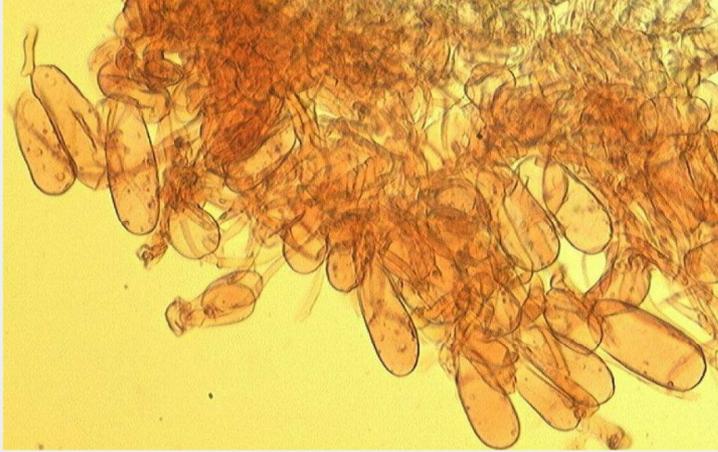


Après un nouveau contact avec S. Poumarat en février 2010, celui-ci nous apprend que cette espèce a été longuement étudiée par Mario Contu, et qu'elle a été nommée et publiée sous le nom de *Amanita simulans* Contu 2001. Pierre et Serge ayant eu accès aux fiches de travail de l'auteur, ils en ont conclu que leur proposition d'*A. griseofuscescens* est un nom à ranger aux oubliettes.

Description de nos exemplaires :

Chapeau de 10 à 12 cm de diamètre, hémisphérique au début, puis aplani, mais présentant un léger mamelon. Couleur générale dans des tons de gris. Le revêtement est sec, avec des restes de voile très épais (gris brunâtre) localisés surtout au centre. On retrouve à sa périphérie la striation classique et évidente des *Amanitopsis*.

Microscopie : Joseph Pellicani



La volve est relativement épaisse sur les jeunes exemplaires, mais devient vite fragile ; elle est blanc grisâtre, maculée de taches ocre à brunâtres ; nous avons noté que ces macules se retrouvent sur la base du pied. Il n'y a pas d'anneau. Les lames sont serrées, libres, de couleur blanchâtre, mais présentent en vieillissant des reflets grisâtres ; l'arête apparaît légèrement crénelée.

Le stipe, de couleur générale blanc grisâtre, est chiné de gris sur toute la hauteur dans sa jeunesse, puis uniquement à la moitié inférieure. Nous n'avons pas observé de bulbe, mais il s'élargit au niveau de la volve, qui se colle sur le stipe en vieillissant. Mesures : 8-10cm x 1,5-2cm.

Microscopie :

Spores rondes, globuleuses (10-11 μm), hyalines, ne réagissant pas à l'iode, ne présentant, dans la très grande majorité des cas, qu'une seule guttule ; présence d'un apicule évident de 1,5-1,9 μm . Basides mesurées à 55-65 x 12-14 μm , 4-sporiques, classiquement clavées ; nous n'avons pas noté la présence de boucles.

Le voile présente de magnifiques cellules globuleuses, quasi transparentes

Les quelques photos ci-dessus vous montrent les détails des voiles du chapeau, et de la volve, ainsi que les spores.

Commentaires :

Nous pensons que cette espèce est très méconnue et a sans doute fait l'objet de confusions (notamment avec *A. vaginata* ou *A. malleata*), si on ne connaît pas sa stricte appartenance aux *Salicaceae*, essentiellement *Populus sp.*, et plus rarement sous *Salix*. Elle est donc à rechercher avec attention !

Notons qu'il existe également *A. simulans f. alba* Contu 2001.

Nous avons consulté le dernier travail de P. Neville et S. Poumarat, paru dans *Fungi Non Delineati*, où les auteurs développent cette espèce en long et en large.

D'après les auteurs, cette espèce a été trouvée en Belgique en 2004, par Ruben Walley, et avait fait l'objet d'une discussion sur le forum *Mycologia Europaea*. Notre trouvaille pourrait être la seconde pour notre pays.

Bibliographie :

NEVILLE P. & POUMARAT S., 2009 – *Quelques espèces nouvelles ou mal délimitées d'Amanita de la sous-section Vaginatinae*, 1^{er} complément à AMANITEAE, *Fungi Europaei* n°9, *Fungi Non Delineati*, Pars LI-LII, 200 p., 103-115



Il y a « microscopie » et « microscopie » ...

Marcel Lecomte

Cette rubrique, essentiellement photographique, va nous permettre d'aborder la microscopie sous deux angles radicalement différents.

La très grande majorité des mycologues pratique ce que nous appelons une microscopie de routine qui, il faut bien l'avouer, est souvent mise en œuvre de manière très légère, sans guère d'application. Elle permet bien évidemment d'observer les éléments essentiels qu'on souhaite observer, à savoir généralement les basides, les cystides, les spores, et parfois des éléments de la cuticule. Elle s'avère nécessaire et suffisante lorsqu'il s'agit simplement d'effectuer un contrôle ou d'aider à une détermination ; même si le niveau de qualité reste basique, on arrive le plus souvent à donner des réponses aux questions posées. Certaines photos, souvent manipulées avec des logiciels de retouche, fourniront même de très bons documents. Mais de tout cela, il ne restera aucune trace tangible (sinon une image numérique) qui pourrait servir de fondement à un futur travail didactique.

Une petite minorité de passionnés a choisi de se tourner vers une autre microscopie, beaucoup plus technique, qui demande du temps, du soin, de la minutie, une période d'apprentissage parfois décourageante, et un tour de main qui ne peut s'acquérir qu'après de multiples manipulations.

Le montage de préparations définitives va permettre de conserver durant très longtemps des traces du travail réalisé. La chimie a réalisé d'immenses progrès durant ces trois dernières décennies en plaçant à notre portée des complexes chimiques qui polymérisent très vite, en conservant la structure des éléments observés ; le dernier venu sur le marché s'appelle Aquatex, et son solvant est l'eau, ce qui bien évidemment le rend très attirant pour s'attaquer à des éléments aux parois fragiles qui se déforment très facilement et qui ne résistent pas à l'agression de produits déshydratants tels le xylol ou l'éthanol à 95° ou absolu ; ces derniers produits font partie de la palette des outils nécessaires pour l'inclusion dans la paraffine et l'utilisation de milieux de montage comme le baume du Canada, le Neo-Entellan, l'Histolaque, et autres milieux dont le solvant est d'origine dérivée du benzène.



coupe transversale (5 µm d'épaisseur), réalisée dans le chapeau de *Marasmiellus ramealis* et colorée à la fuchsine basique, mettant en évidence la trame de la chair, et la zone hyméniale qui couvre deux lames et une lamelle (préparation & photo M. Lecomte)

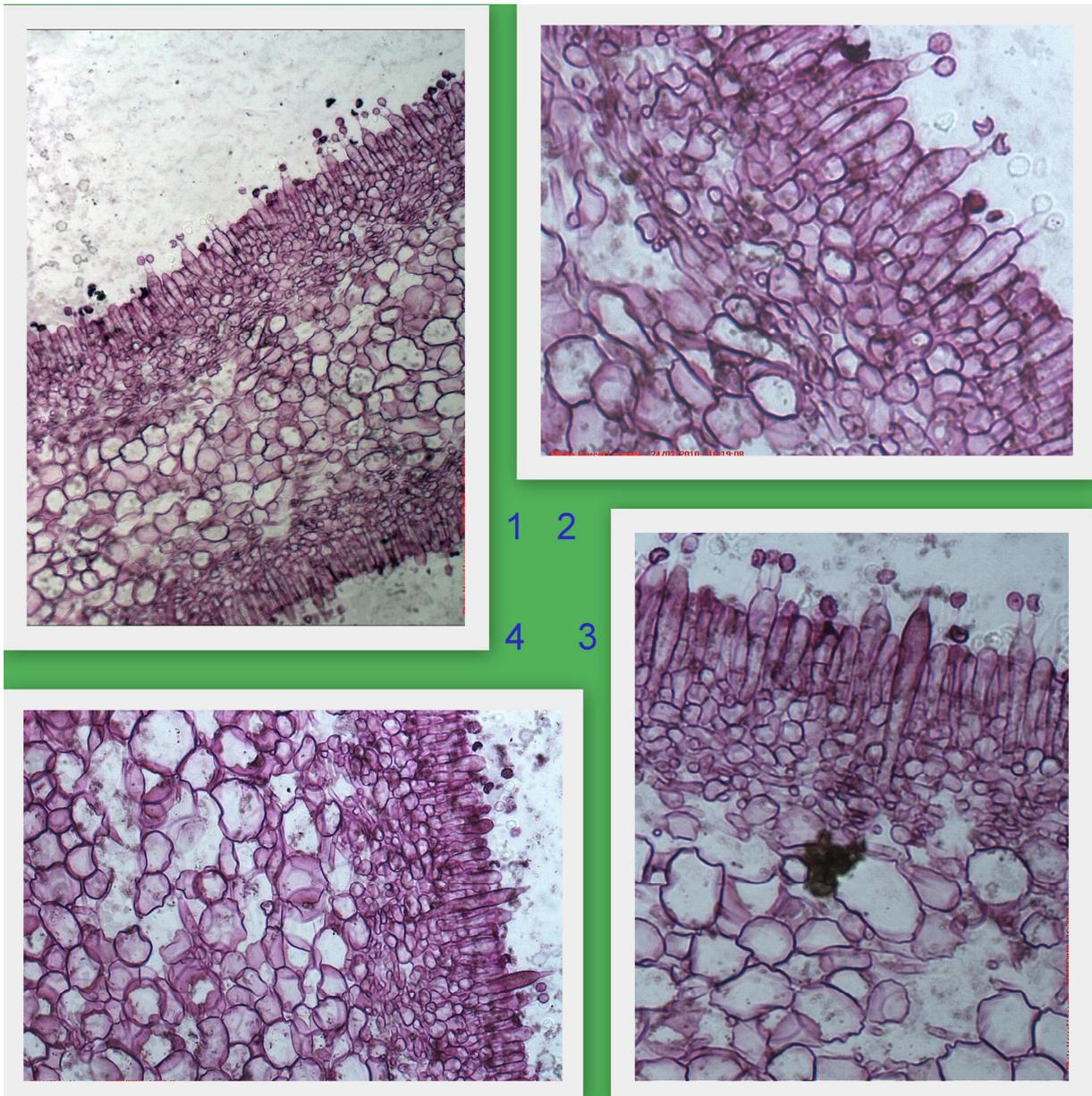
Dernièrement, nous avons eu la chance de profiter des enseignements d'un des meilleurs mycologues belges, à savoir Albert Marchal, qui a toujours été un peu avant-gardiste dans son domaine, et qui dès 1978 avait pris la peine et le temps de suivre une formation auprès de G. Cléménçon qui s'était attaqué à l'époque à l'inclusion de pièces mycologiques dans de

la résine synthétique polymérisée. Une explication détaillée de cette technique fait l'objet d'un article qui paraîtra dans le prochain bulletin de l'A.M.F.B., et je ne vais donc pas entrer ici dans le détail.

Il a pris la peine de me consacrer le temps nécessaire à l'acquisition de cette technique, assez rébarbative au départ, mais extrêmement séduisante au vu des résultats obtenus.

Les blocs d'inclusion réalisés dans la résine vont permettre l'utilisation d'un microtome automatique et la réalisation de coupes fines (entre 5 et 15 microns), très régulières, dont les éléments sont remarquablement conservés dans leur état d'origine, et mis en évidence par une coloration adéquate.

Nous vous en livrons ci-dessous quelques exemples destinés à vous sensibiliser à cette technique !



Coupes transversales de 10 μm d'épaisseur réalisées dans une lame de *Russula ionochlora*, et colorées à la fuchsine basique alunée, à 0,01 %, durant 12 heures.

Photo 1 : trame caractéristique d'une lame de Russulale, avec présence de nombreux sphérocytes.

Photo 2 : hyménium avec basides ornées de stérigmates et de spores encore en place ; les basides sont 4-sporiques, mais il n'est pas possible de voir les 4 stérigmates sur des coupes aussi fines ; présence également de basidioles et de cystides banales.

Photo 3 : baside avec 3 stérigmates et présence de 2 macrocystides, dont une bien acuminée.

Photo 4 : comme la n°3, elle montre que les macrocystides sont très longues et prennent naissance profondément dans la chair, ce qui est difficile à mettre en évidence lors d'une observation de routine. (photos Marcel Lecomte)

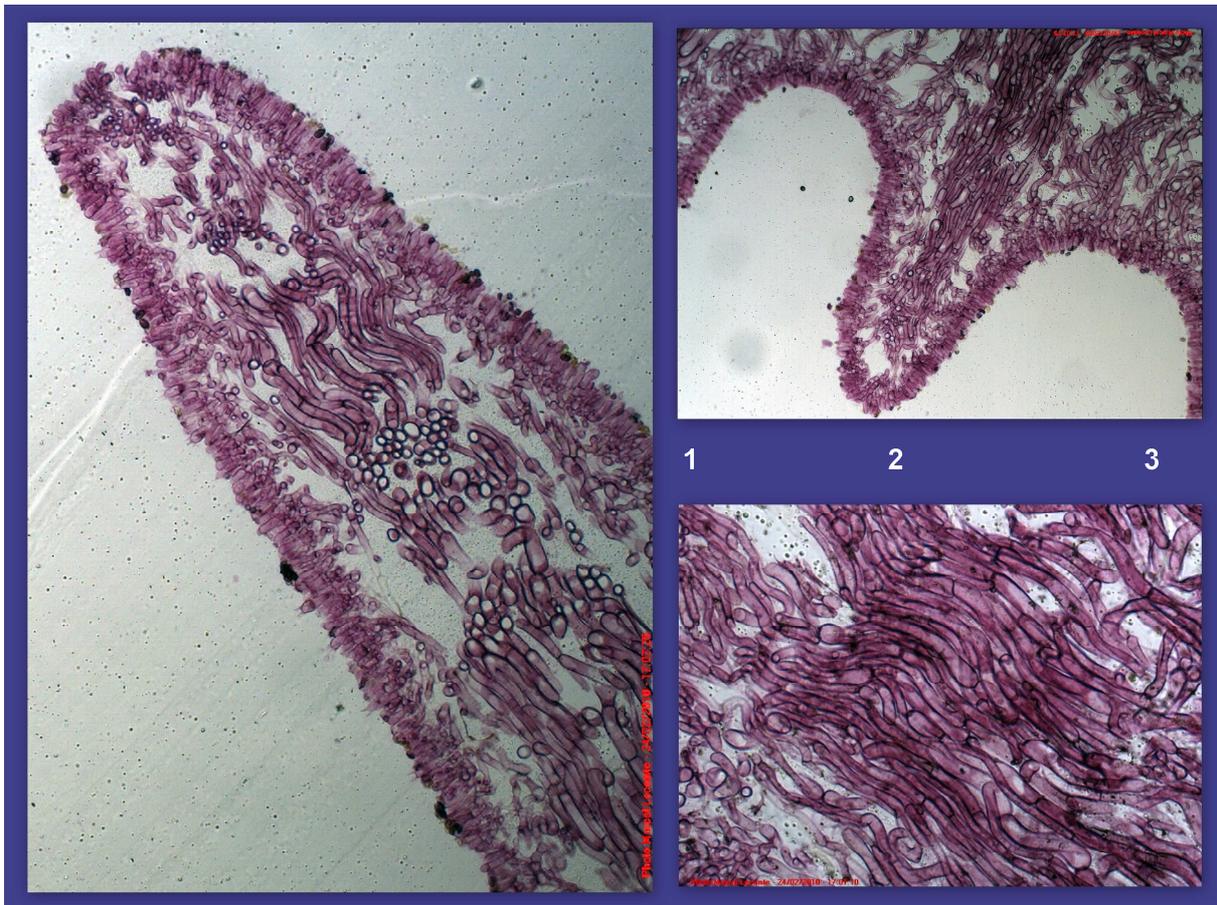
Russula ionochlora Romagnesi (russule verte et violette), section des *Griseineae*, est une espèce assez précoce, poussant sous feuillus, et surtout sous *Fagus* et *Carpinus*.

De taille modeste (7 cm de diamètre au maximum), elle se caractérise par un chapeau à marge nettement striée, cocardé de gris verdâtre au centre, avec présence de tons lilacins +/- diffus.

Sporée II, fer orangé ou rose faible, gaïac lentement vert odeur légèrement fruitée, saveur âcrescente. Spores non réticulées.



Photo Yves Deneyer, avec l'aimable autorisation de l'auteur.



Coupes transversales de 7 μm d'épaisseur réalisées dans une lame de *Tubaria hiemalis*, et colorées à la fuchsine basique alunée, à 0,01 %, durant 8 heures.



Tubaria hiemalis Romagnesi ex Bon -
Photo Yves Deneyer, avec l'aimable autorisation de l'auteur.

T. hiemalis appartient à l'ordre des Cortinariales, famille des *Crepidotaceae*.

C'est une espèce hivernale, qui affectionne les endroits découverts, et pousse sur des débris divers. Nous l'avons récoltée le 10 décembre 2009 sur sol gelé, et elle pousse déjà, ce 03/03/2010, après six semaines de neige.

C'est une espèce courante, à lames brun rouille, concolores au chapeau, qui a la marge striée.

Chroogomphus ochraceus (Kauffm.) O.K. Miller (= *Gomphidius ochraceus* Kauffm.) est une espèce très intéressante. Elle a été récoltée par A. Marchal, 16/9/78 à Virelles (B-6461) au lieu-dit Blaimont, et se trouve dans son herbier sous le n° 78.029. A l'époque, il s'est rendu compte tout de suite qu'il ne s'agissait pas de *C. rutilus* et avait pensé à *C. helveticus*.

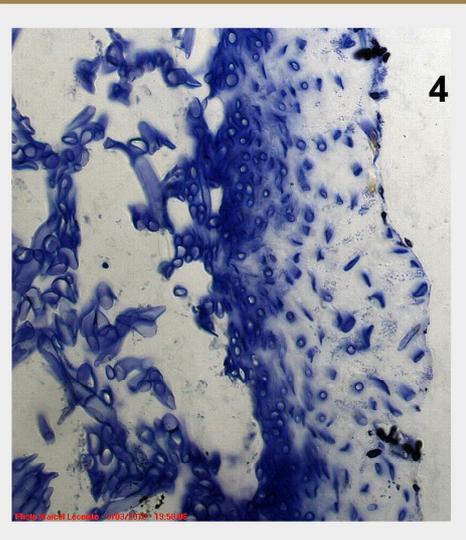
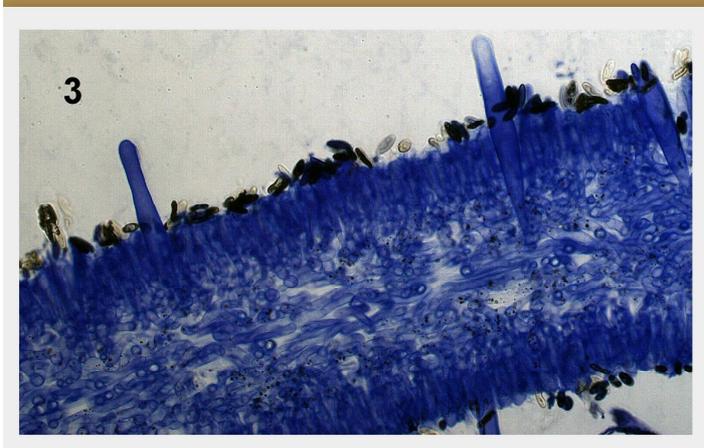
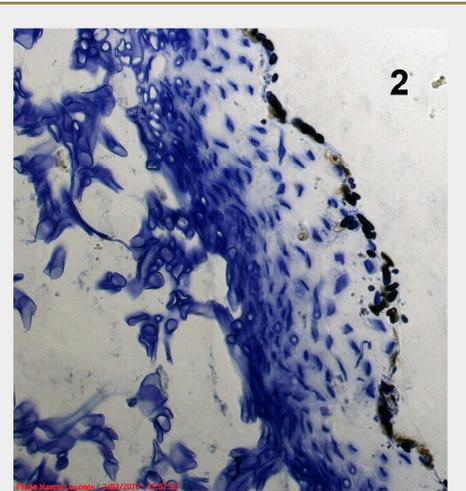
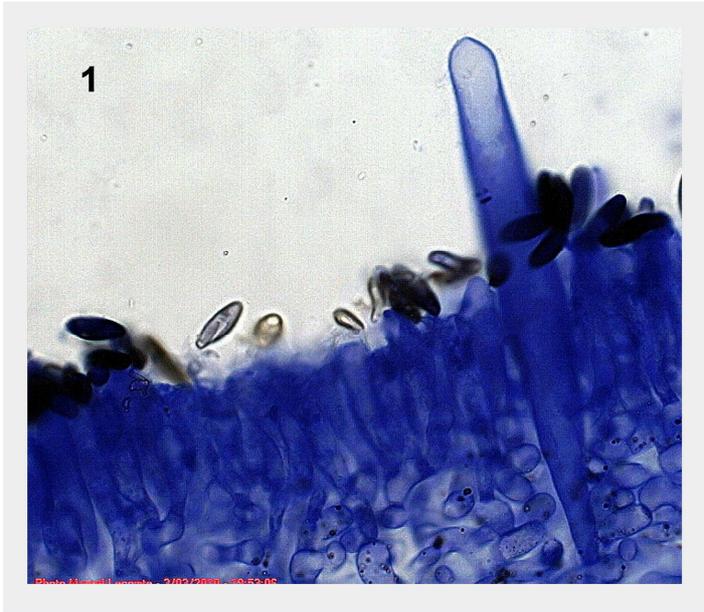
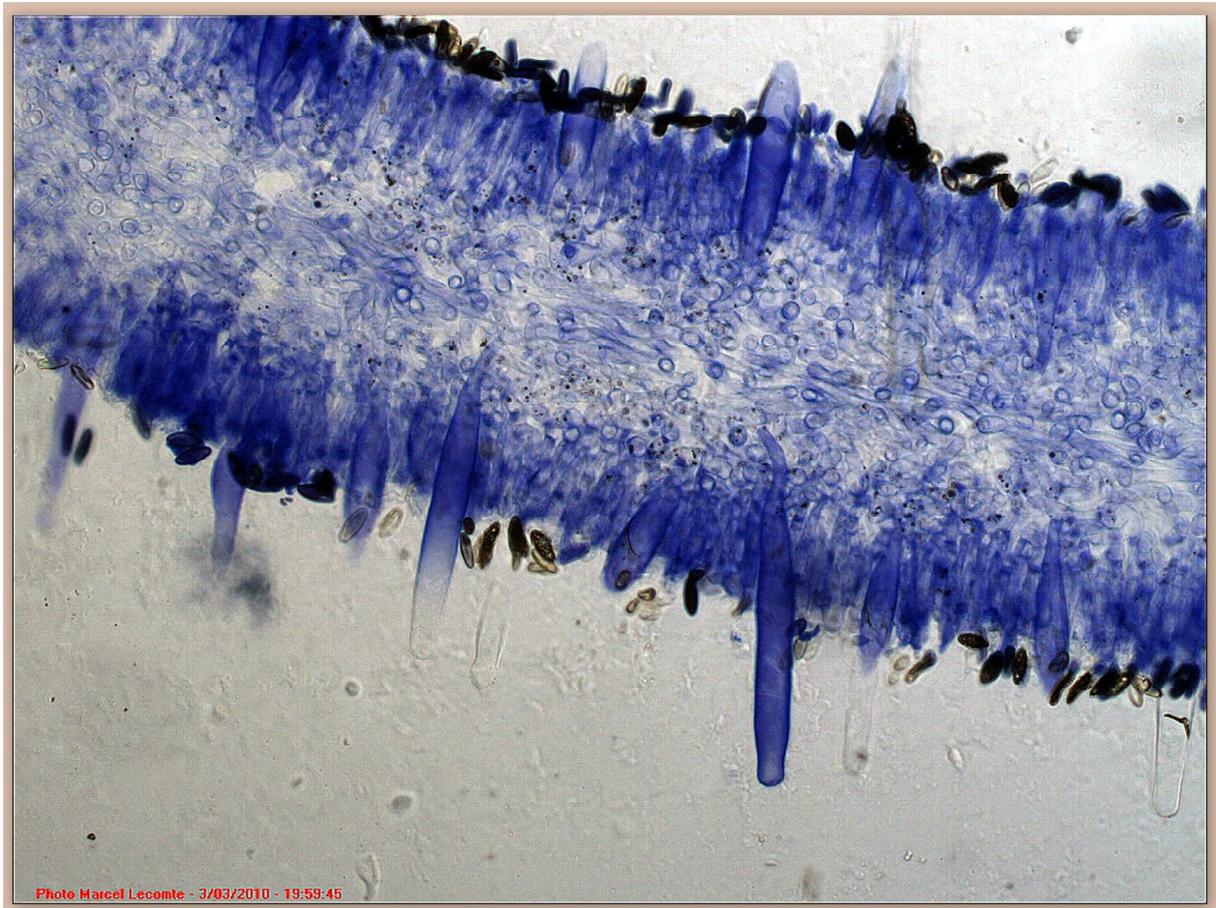


Photo 1 : détail d'une macrocystide de *C. ochraceus*. Photos 2 & 4 : coupes transversales de cuticule, montrant la couche de gélin qui couvre le chapeau. Photo 3 : coupe transversale de lame montrant la trame et les macrocystides. Noter la présence de nombreuses spores. (Préparations : Albert Marchal ; photos : Marcel Lecomte)

Je le cite : « ...j'ai donc envoyé à Orson K. Miller, le spécialiste mondial du genre, un exsiccatum et quelques diapositives ; il m'a répondu qu'il s'agissait de *C. ochraceus* ; il préparait à cette époque une monographie mondiale du genre ».

Les photos ont été réalisées au départ d'une préparation qui est vieille de 32 ans à ce jour, et qui montre la qualité de conservation de cette méthode d'inclusion.



Coupe transversale de lame : on remarquera notamment sur les 2 macrocystides inférieures, qu'elles sont directement générées par des hyphes longitudinaux de la trame. Présence de cystides et de spores.

1er NUMERO SPECIAL du bulletin de l'A.M.F.B. :
un fascicule de 110 pages, consacré à la microscopie,
qui a été publié à l'occasion du séminaire organisé en mars 2009.
Il est abondamment illustré de photos en couleurs.

- Remis de main à main (lors d'un congrès ou autre activité), il vous coûtera 15,00 €
- Pour un envoi en Belgique, supplément de 7,00 € de frais postaux
- Pour un envoi en Europe, supplément de 11,00 € de frais postaux

Vous avez la possibilité de vous abonner à l'Association des Mycologues Francophones de Belgique (AMFB).

Pour 2011, nous avons malheureusement dû porter le montant de la cotisation à 7,00 € par an, car nous avons perdu notre sponsor qui imprimait gratuitement notre revue (revue comprise si nous pouvons vous la remettre en mains propres), à verser pour la Belgique sur le compte 068-2486436-62, à l'adresse suivante :

A.M.F.B.
rue Basse Chaussée, 117
B-5022 COGNELEE/NAMUR (Belgique)

Pour des virements internationaux simplifiés :
code IBAN : BE51 0682 4864 3662, code BIC : GKCCBEBB

Afin de favoriser une dépense minimale, nous avons choisi de moduler la cotisation de différentes manières :

Le bulletin 2008/01 compte 79 pages (5 €)

Le bulletin 2009/02 compte 71 pages (5 €)

Le bulletin 2010/03 compte 76 pages (5 €)

- *Si vous les recevez de main à main (lors d'un congrès ou autre activité), ils vous coûteront le prix indiqué ci-dessus.*
- *Pour un envoi en Belgique, supplément de 7,00 € (frais postaux)*
- *Pour un envoi en Europe, supplément de 11,00 € (frais postaux)*

Vous avez aussi la possibilité de faire l'acquisition d'un fascicule de 110 pages, consacré à la *microscopie*, et qui a été publié à l'occasion du séminaire organisé en mars 2009. Il est abondamment illustré de photos en couleurs.

- *Si vous le recevez de main à main (lors d'un congrès ou autre activité), il vous coûtera 15,00 €*
- *Pour les frais postaux, voir rubrique précédente.*



Notre partenaire, Hainaut Développement, continue à nous soutenir pour l'organisation du congrès des Russulales en 2010, et des Journées Européennes des Cortinaires en 2011.

Editeur responsable : A.M.F.B. (Association des Mycologues Francophones de Belgique)
Rédacteur en chef : Marcel Lecomte
Publié le 10 avril 2010