

## 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)

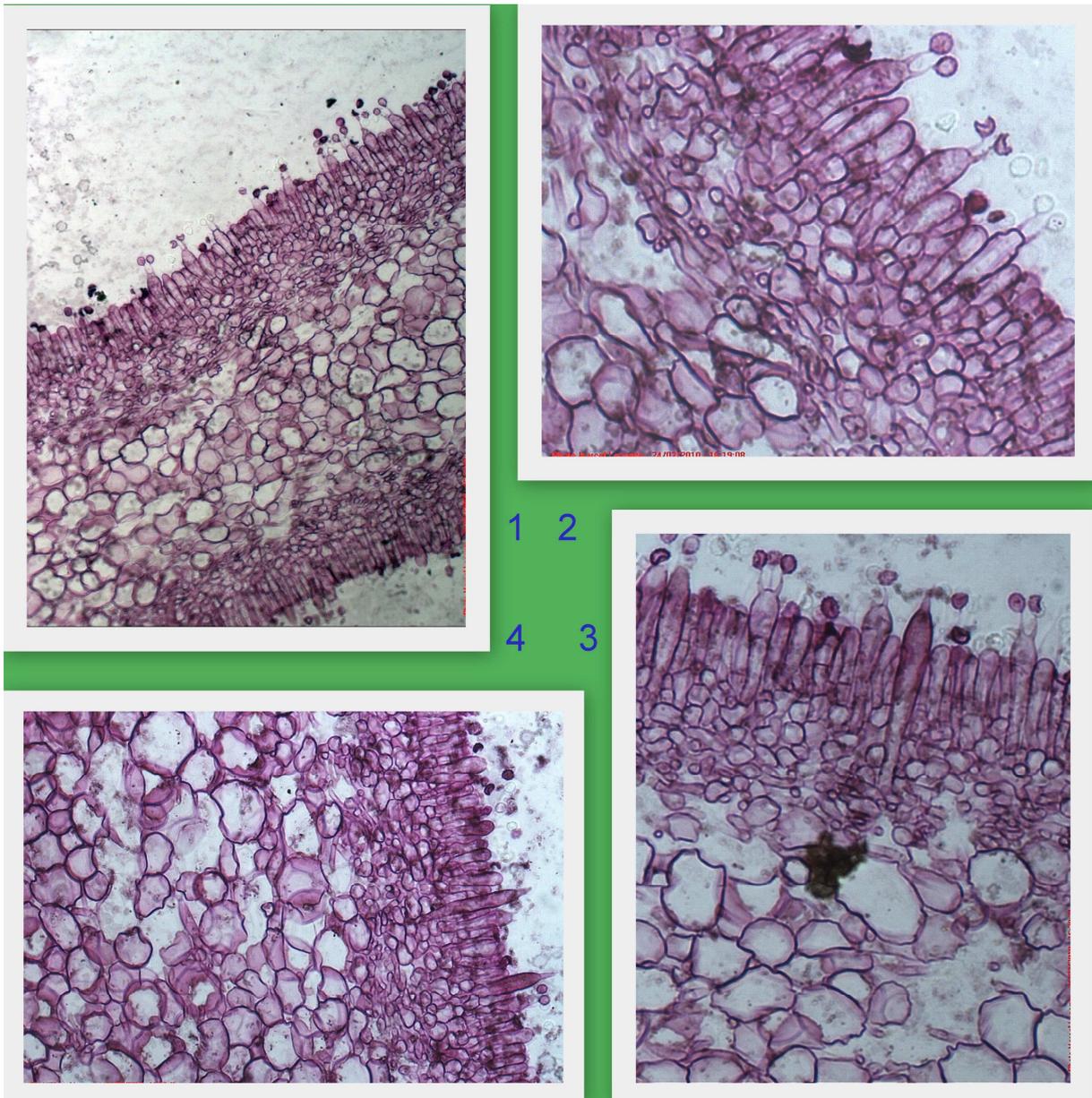
Dernièrement, nous avons eu la chance de profiter des enseignements d'un des meilleurs mycologues belges, à savoir Albert Marchal, qui a toujours été un peu avant-gardiste dans son domaine, et qui dès 1978 avait pris la peine et le temps de suivre une formation auprès de G. Cléménçon qui s'était attaqué 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  $\mu\text{m}$  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)

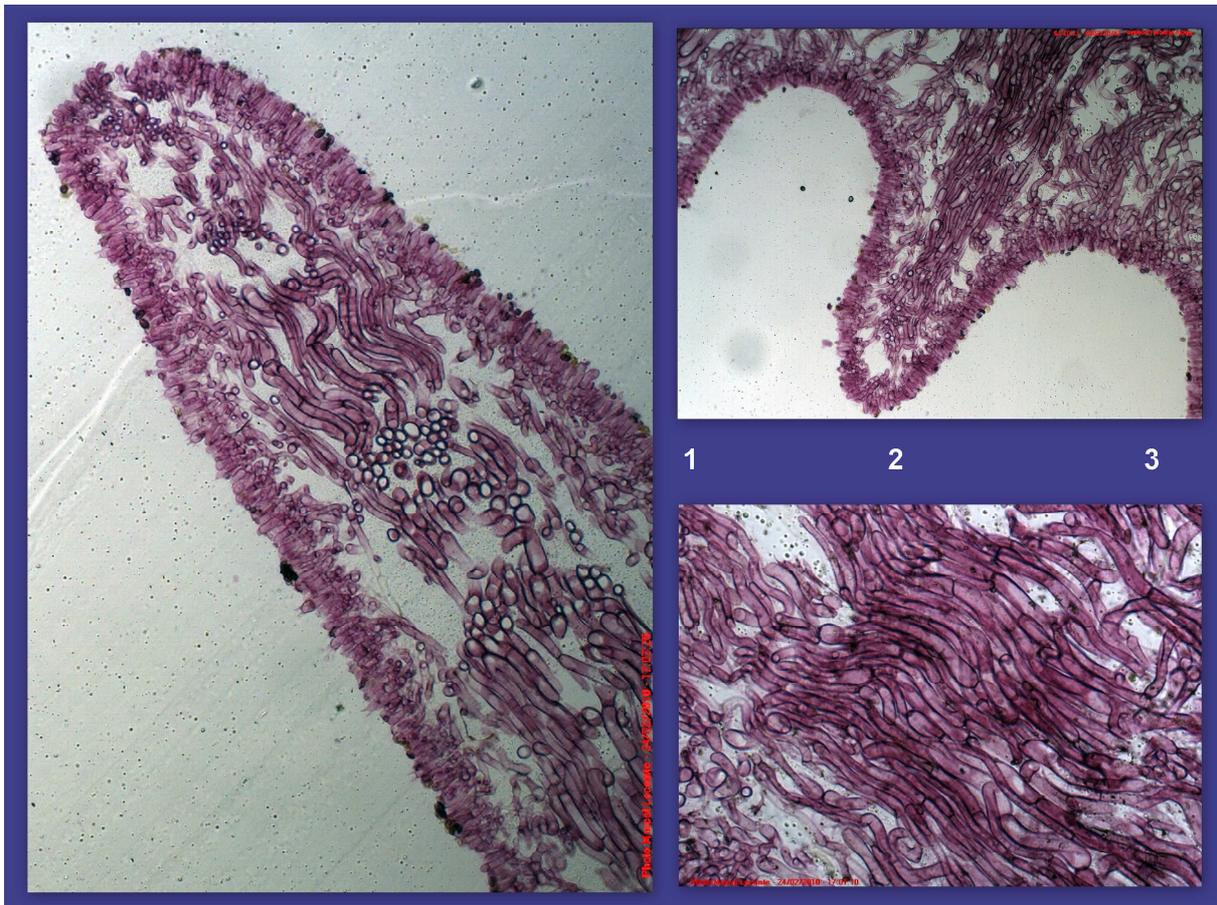
*Russula ionochlora* Romagnesi (russule verte et violette), section des *Griseineae*, est une espèce assez précoce, poussant sous feuillus, et surtout sous *Fagus* et *Carpinus*.

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 âprescente. Spores non réticulées.



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



Coupes transversales de 7  $\mu\text{m}$  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*.

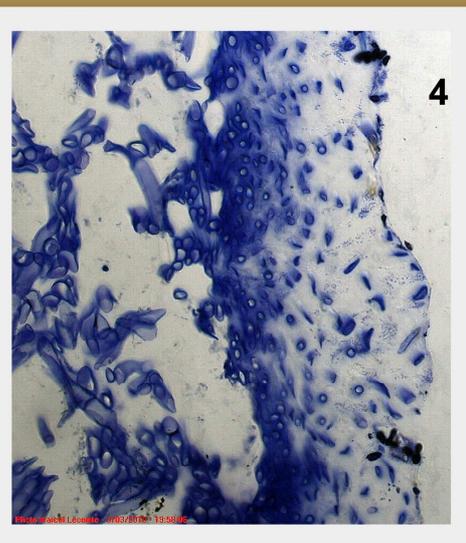
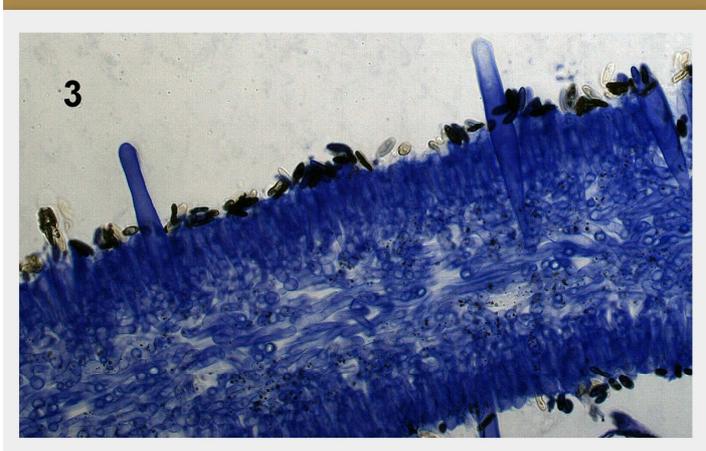
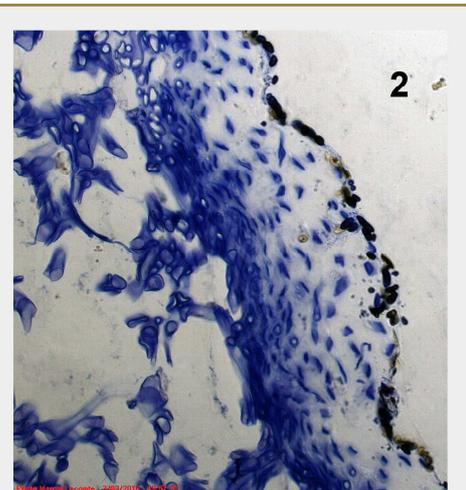
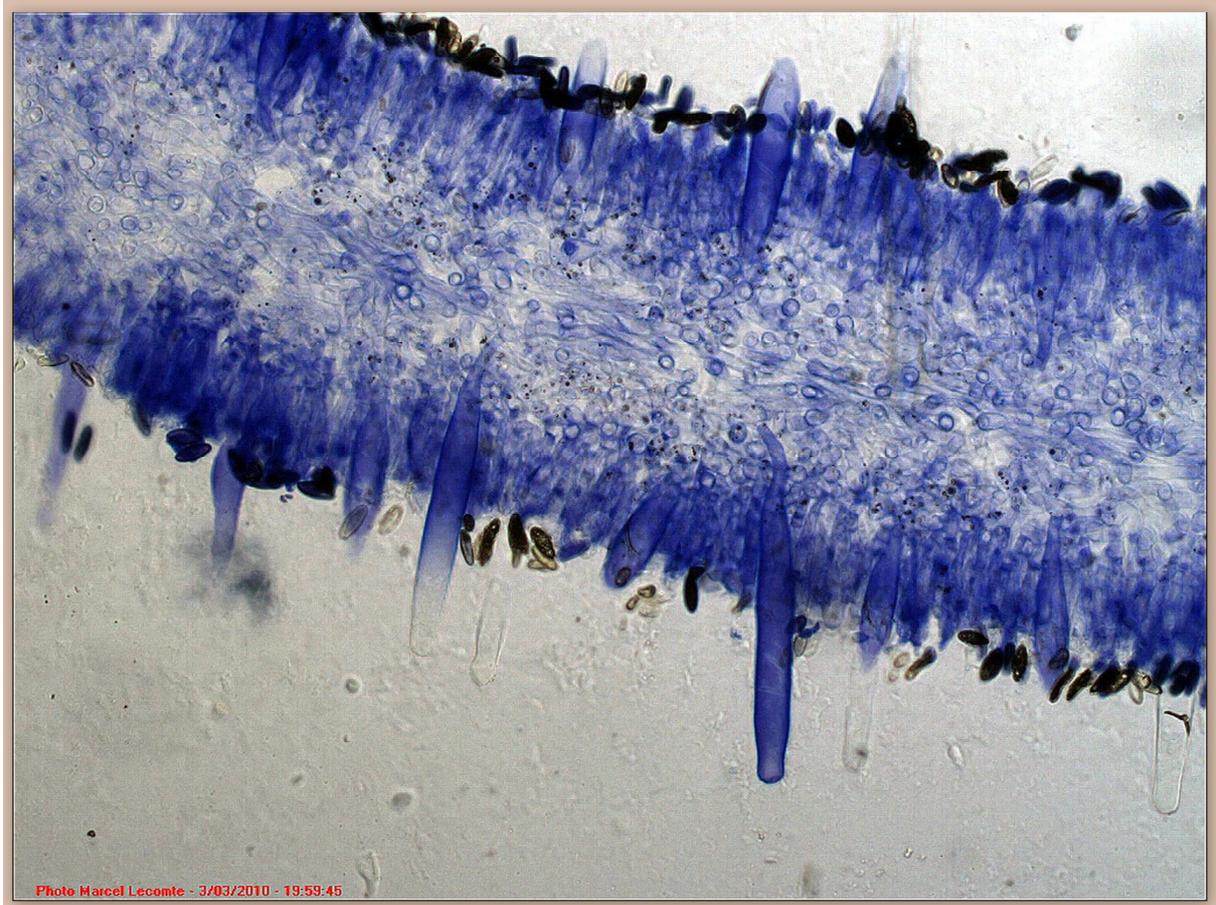


Photo 1 : détail d'une macrocystide de *C. ochraceus*. Photos 2 & 4 : coupes transversales de cuticule, montrant la couche de gélin qui couvre le chapeau. Photo 3 : coupe transversale de lame montrant la trame et les macrocystides. Noter la présence de nombreuses spores. (Préparations : Albert Marchal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