

Spores et réactifs ou colorants : une étape vers la détermination

Marcel Lecomte

Pour la plupart des mycophiles qui pratiquent la microscopie à fin de détermination, c'est quasi devenu un réflexe de soumettre des spores mûres à une série de réactifs ou colorants, qui vont directement orienter vers un genre précis. Cette chimie va s'attaquer particulièrement à la paroi des spores, et non à son contenu.

La connaissance du type de réaction chimique de la paroi sporique associée à la reconnaissance de la forme et de l'ornementation sporiques constituent un précieux tremplin vers une éventuelle détermination spécifique.

Il est important de toujours travailler sur des spores mûres, c'est-à-dire issues d'une sporée provoquée ou résultant de la sporulation naturelle (on récolte alors les spores sur le pied, l'anneau éventuel, ou dans la boîte de transport ...

ATTENTION ! si vous étudiez des spores, séparez soigneusement vos récoltes dès le départ (les papillotes en papier alu ou autre, à usage unique, nous paraissent tout indiquées). L'utilisation répétitive de boîtes rigides nous semble fortement déconseillée dans ce cas précis, car vous risquez très vite de retrouver, après quelques transports, 3 ou 4 spores différentes dans la même préparation...

Nous vous livrons ci-dessous une série de milieux d'observation, réactifs et (ou) colorants, qui s'avèrent incontournables pour tenter de poser une détermination du genre et de l'espèce.

+++ L'EAU

Il nous paraît impératif de toujours observer des spores d'abord dans l'eau (de préférence distillée), car elle seule peut nous donner une idée de la couleur de la spore. Si les spores claires (crème, jaunâtre) sont difficilement reconnaissables, les spores foncées par contre (rose, brun, violet, noir) sont assez faciles à appréhender.

+++ LE BLEU COTON LACTIQUE

Utilisé à chaud, il va mettre en évidence l'éventuelle **cyanophilie** de la paroi sporique, c'est-à-dire sa capacité de se colorer en bleu.

+++ LE BLEU COTON AU LACTOPHÉNOL

Le bleu de méthyle (appelé plus couramment bleu coton) au lactophénol a la particularité de teinter surtout le contenu cellulaire, ce qui en fait un colorant d'usage général. Néanmoins, il met particulièrement bien en évidence les ornements des spores chez les Ascomycètes (chez *Scutellinia*, par exemple). D'autre part, c'est aussi un réactif microchimique à proprement parler, en ce sens qu'on peut dire de certaines structures qu'elles sont **cyanophiles** si elles prennent le bleu de méthyle avec une intensité spectaculaire, ce qui est relativement courant.

REMARQUE : le bleu de méthylène est un colorant tout à fait différent du bleu de méthyle !

+++ LE ROUGE CONGO AMMONIACAL

C'est un excellent milieu pour toutes les observations courantes. On associe, dans ce cas, les qualités regonflantes et ramollissantes de l'ammoniaque, avec le puissant pouvoir colorant du Rouge Congo, qui colore particulièrement la paroi de la plupart des hyphes (facilitant ainsi l'observation des boucles) et des cellules, ce qui augmente le contraste et facilite l'interprétation. Il convient parfaitement lors de la recherche des anses d'anastomose, qu'il met admirablement en évidence. S'il s'avère très utile pour l'étude des asques, des

hyphes, des basides et des cystides, il nous paraît peu intéressant pour l'étude des spores, sinon pour ses qualités regonflantes quand on travaille sur des exsiccata. Personnellement, nous le déconseillons pour l'étude de matériel frais, alors qu'il est essentiel pour des spécimens séchés.

+++ LE ROUGE CONGO SDS (Sodium Dodécyl Sulfate) de Cléménçon

Pour étudier du matériel frais, c'est un milieu d'observation exceptionnel ; observer du matériel non séché dans du R.C. ammoniacal nous paraît peu indiqué (avis tout à fait personnel) puisque l'ammoniaque va gonfler des structures qui ont déjà leur taille normale...

+++ LE BLEU DE CRÉSYL

Sous son action, et à chaud, les parois de certaines spores vont se colorer en pourpre ou rouge : on parlera alors d'une **coloration métachromatique** (cela va se rencontrer chez notamment *Leucoagaricus*, *Leucocoprinus* et *Macrolepiota*).

+++ LE RÉACTIF DE MELZER

A base d'iode et d'iodure de potassium, Il permet de mettre en évidence le **caractère amyloïde** de la paroi en colorant en bleu (gris bleu, bleu noir) les composés glucidiques de la membrane et (ou) les ornements de certaines spores. Cette réaction est semblable à celle qui a lieu en présence d'amidon, même si les champignons n'en renferment pas.

On parlera de **caractère dextrinoïde** lorsque ces mêmes éléments seront colorés en brun rougeâtre. Les dextrines résultent de la dégradation de sucres plus complexes, proches de l'amidon).

On peut vérifier le caractère amyloïde ou dextrinoïde de manière macroscopique en déposant simplement une goutte de Melzer directement sur les lames, à condition qu'elles soient bien mûres : les couleurs mentionnées ci-dessus apparaîtront !

MISE EN PRATIQUE

- déposer simplement une goutte du milieu d'observation choisi sur la lame de verre et y placer les spores. (Ne pas faire l'inverse, car vous risquez, en déposant une goutte sur des spores, de voir rentrer une partie de celles-ci dans votre flacon de colorant, par l'effet d'aspiration, et tout votre flacon serait pollué) ;
- laisser agir le réactif ou le colorant durant 1 à 5 minutes ;
- poser une lame couvre objet à 45° puis la mettre en place ;
- éponger le surplus de liquide ;
- observer : l'immersion sera quasi toujours nécessaire, car la taille moyenne de la plupart des spores de champignons à lames est de l'ordre de 6 à 12 µ !