

# Microscopie mycologique

## Les RUSSULACEAE

Marcel Lecomte,  
Valenciennes  
02 mars 2019

# **Lactaires & russules**

**Leur position dans la  
classification**



Division des **Basidiomycota** (spores portées par des basides)

classe	Sous-classe	ordre
<b>Ustilaginomycètes</b> (=Teliomycètes) → Charbons		Ustilaginales, Urocystales
<b>Urédiniomycètes</b> (=Teliomycètes) → Rouilles	<b>Urediniomycetidae</b>	Uredinales
	<b>Microbotryomycetidae</b>	
Hétéro- ou <b>Phragmobadisiomycètes</b> (basides cloisonnées ; spores secondaires)		Auriculariales, Tremellales
Groupes de transition (basides incomplètement cloisonnées ; spores secondaires)		Exobasidiales, Dacrymycetales, Syzygosporales
Holo- ou <b>Homobasidiomycètes</b> (homobaside ; pas de spores secondaires)	<b>Aphyllophoromycetidae</b> (hyménophore continu avec la chair)	Corticiales, Polyporales, Ganodermatales, Cantharellales, Clavariales, Hymenochaetales, Telephorales, Hericiales
	<b>Gasteromycetidae</b> (hyménophore interne = gléba)	Hymenogastrales, Melanogastrales, Lycoperdales, Sclerodermatales, Tulostomatales, Nidulariales, Hysterangiales, Phallales
	<b>Agaricomycetidae</b> (hyménophore différencié de la chair)	Tricholomatales, Agaricales, Amanitales, Pluteales, Entolomatales, Cortinariales, Russulales, Boletales

# Ordre : RUSSULALES

```
graph TD; A[Ordre : RUSSULALES] --- B[RUSSULACEAE]; A --- C[AURISCALPIACEAE]
```

**RUSSULACEAE**

**AURISCALPIACEAE**

# Ordre : RUSSULALES

## RUSSULACEAE

Lactarius

Russula

Zelleromyces

Macowanites

Gymnomyces



# Le genre *Lactarius*



**L. blennius**

Photo M. Lecomte - ©



**R. sanguinaria**



**Le genre Russula**

Photo M. Lecomte ©



# Le genre *Zelleromyces*



***Z. stephensii***

Photo A. Flahaut - ©



# Le genre *Macowanites*



© Miquel À. Pérez-De-Gregorio

***M. candidus***



# Le genre *Gymnomyces*

***G. xanthosporus***

*(c) Fernando Rodríguez*



# Ordre : RUSSULALES

## AURISCALPIACEAE

→ Auriscalpium

→ Lentinellus

→ Artomyces

→ Clavicornona

→ Gloiodon

→ Dentipratulum



# Le genre *Auriscalpium*

Photo F. Draye - ©



*A. vulgare*



**Le genre Lentinellus**

**L. cochleatus**



Photo M. Lecomte, 2017 - ©



# Le genre *Artomyces*

Photo P. Pirot - ©



***A. pyxidatus***



**C. taxophila**

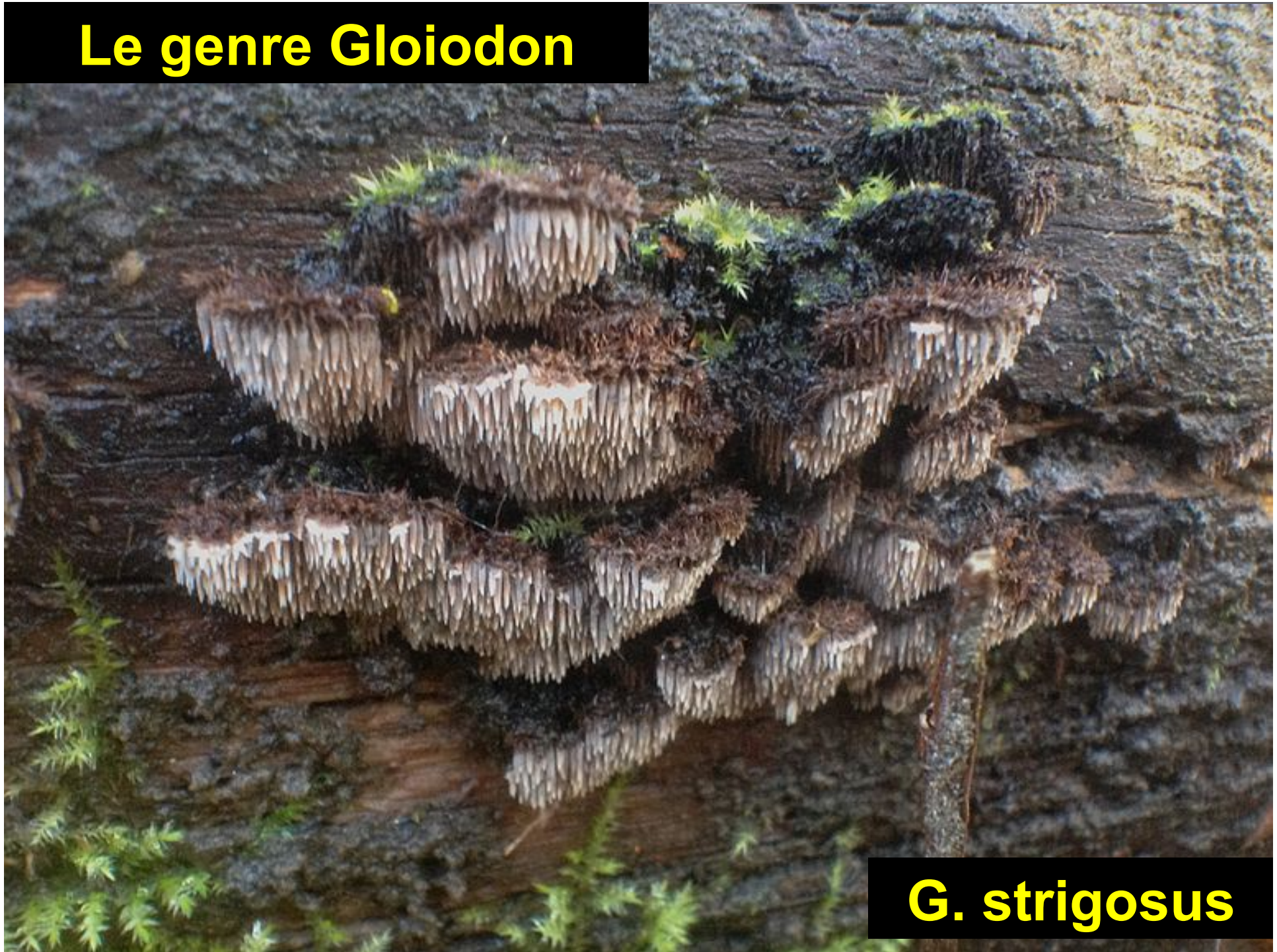


Copyright (c) 2013 Jean Claude Chasle

**Le genre Clavicornia**



# Le genre Gloiodon



**G. strigosus**



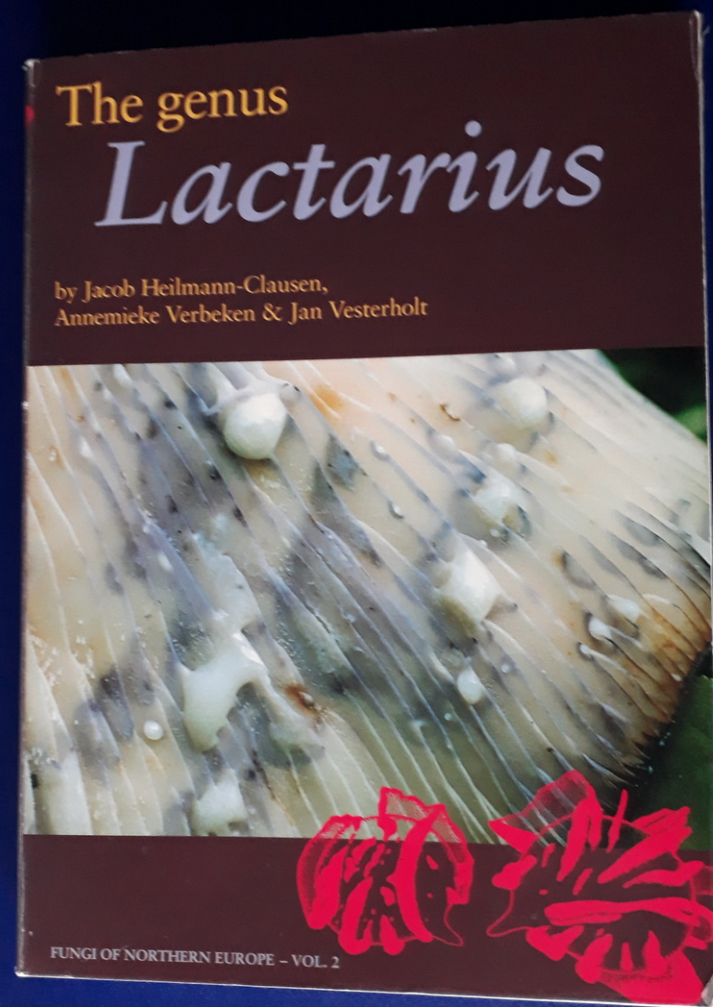
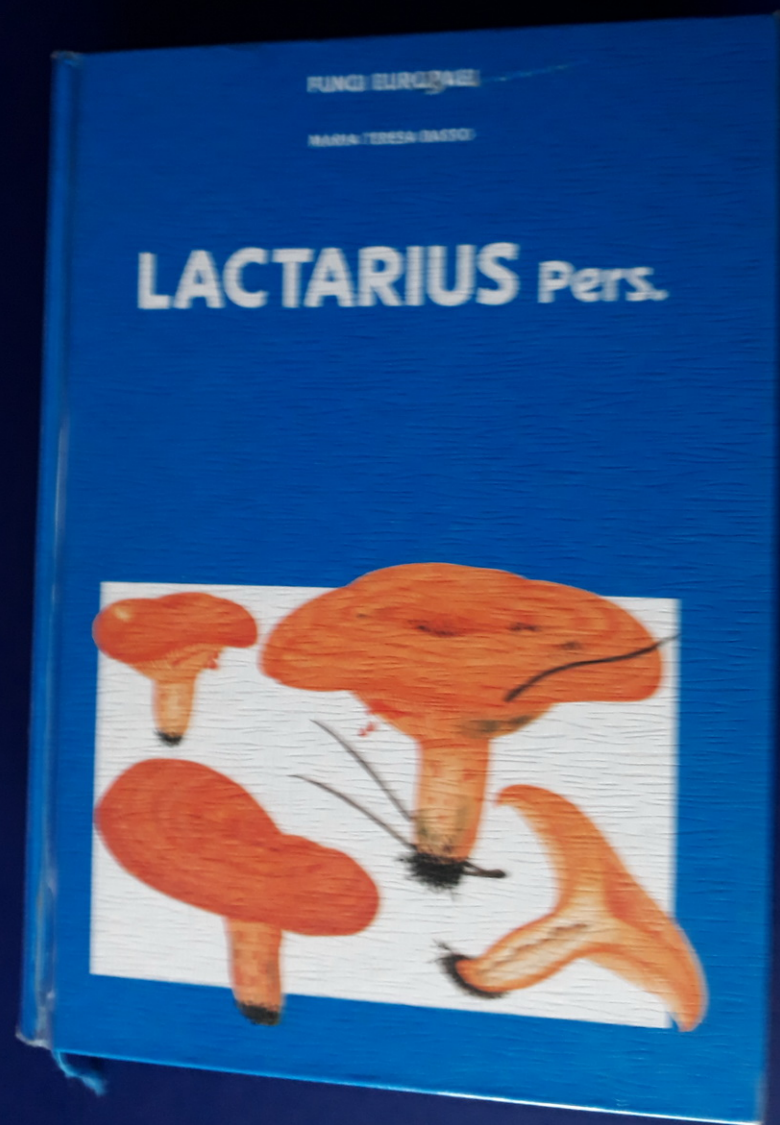
# Le genre *Dentipratulum*



***D. bialoviesense***

**Littérature  
&  
détermination**







Marcel LECOMTE  
ex-Gibrils  
celui qui aime apprendre  
est bien près de savoir!

Marcel LECOMTE  
ex-Gibrils  
celui qui aime apprendre  
est bien près de savoir!

# LES RUSSULES D'EUROPE et d'Afrique du Nord

Essai sur la valeur taxinomique et spécifique des caractères  
morphologiques et microchimiques des spores et des revêtements

par

**Henri ROMAGNESI**

Professeur agrégé au Lycée Marcelin-Berthelot  
Attaché au Muséum National d'Histoire Naturelle de Paris  
Vice-Président de la Société mycologique de France  
Lauréat de l'Institut

Préface de M. Roger HEIM

Membre de l'Institut  
Directeur honoraire du Muséum National d'Histoire Naturelle de Paris

Cet ouvrage est publié avec le concours du  
Centre National de la Recherche Scientifique

BORDAS

**BRITISH FUNGUS FLORA**  
AGARICS AND BOLETI

**9 / RUSSULACEAE: LACTARIUS**

**R.W. RAYNER**

**ASSISTED BY R. WATLING & E. TURNBULL**



ROYAL BOTANIC GARDEN EDINBURGH

2005



Mauro Sarnari  
MONOGRAFIA ILLUSTRATA DEL  
Genere  
**RUSSULA**  
in Europa  
Tomo Primo



A.M.B.  
Fondazione  
Centro Studi Micologici

Mauro Sarnari  
MONOGRAFIA ILLUSTRATA DEL  
Genere  
**RUSSULA**  
in Europa  
Tomo Secondo



A.M.B.  
Fondazione  
Centro Studi Micologici



# THE GENUS *RUSSULA* in Great Britain

with synoptic keys to species



Geoffrey Kibby

PATRICK REUMAUX  
PIERRE MOËNNE-LOCCOZ

# LES *RUSSULES* ÉMÉTIQUES

PROLÉGOMÈNES À UNE MONOGRAPHIE  
DES *EMETICINAE*  
D'EUROPE ET D'AMÉRIQUE DU NORD



# **La Détermination sur le terrain**

**Observer  
Goûter  
Renifler  
Des réactifs**



# Des réactifs macro pour lactaires

**Potasse à 10 %  
Ammoniaque  
TL4**

# Des réactifs macro pour russules

**Gaiac**

**Sulfate de fer**

**Phénol**

**Potasse**

**Sulfovanilline**

**ammoniaque**

**Et la  
microscopie ?**

**il ne faut pas se satisfaire  
d'une préparation banale  
ou bâclée ...**

**Nous allons rechercher  
la perfection pour  
obtenir l'excellence ...**

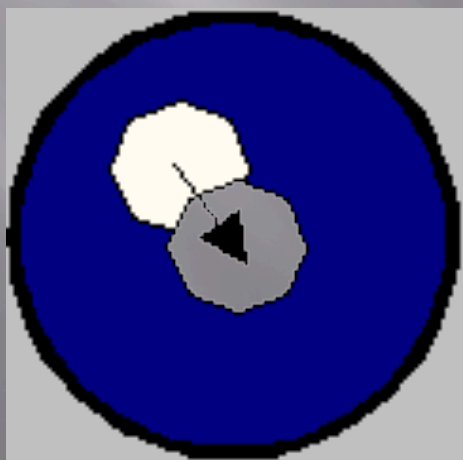
**Une notion importante :**

**Le CENTRAGE du  
Condensateur**

**PRECAUTION IMPORTANTE :**  
**à 4x, 10x, 20x,**  
**le rhéostat ne doit pas être**  
**poussé au maximum, sous**  
**peine de dommages aux yeux**



## Centrage du condensateur (condenseur)



Se positionner sur l'objectif le plus faible (4x ou 10x)

Enlever le filtre diffuseur (s'il existe)

- Fermer complètement le diaphragme de champ.
  - Centrer à l'aide des vis de centrage.
- Replacer le filtre diffuseur éventuel.



**La hauteur du  
condensateur est  
très importante !**

**Vous devez y penser sans  
arrêt :**

**+++ adapter le dosage de la lumière,  
à chaque observation**

**+++ chercher la meilleure position  
pour le diaphragme d'ouverture**

**→ Contraste maximum**

En mycologie,  
chaque fois que  
c'est possible, il  
faut **LAVER** la  
préparation !

# COMMENT PROCEDER ?

1

Fragment de 0,5 cm<sup>2</sup> minimum

4

Nettoyage

2

Coloration

5

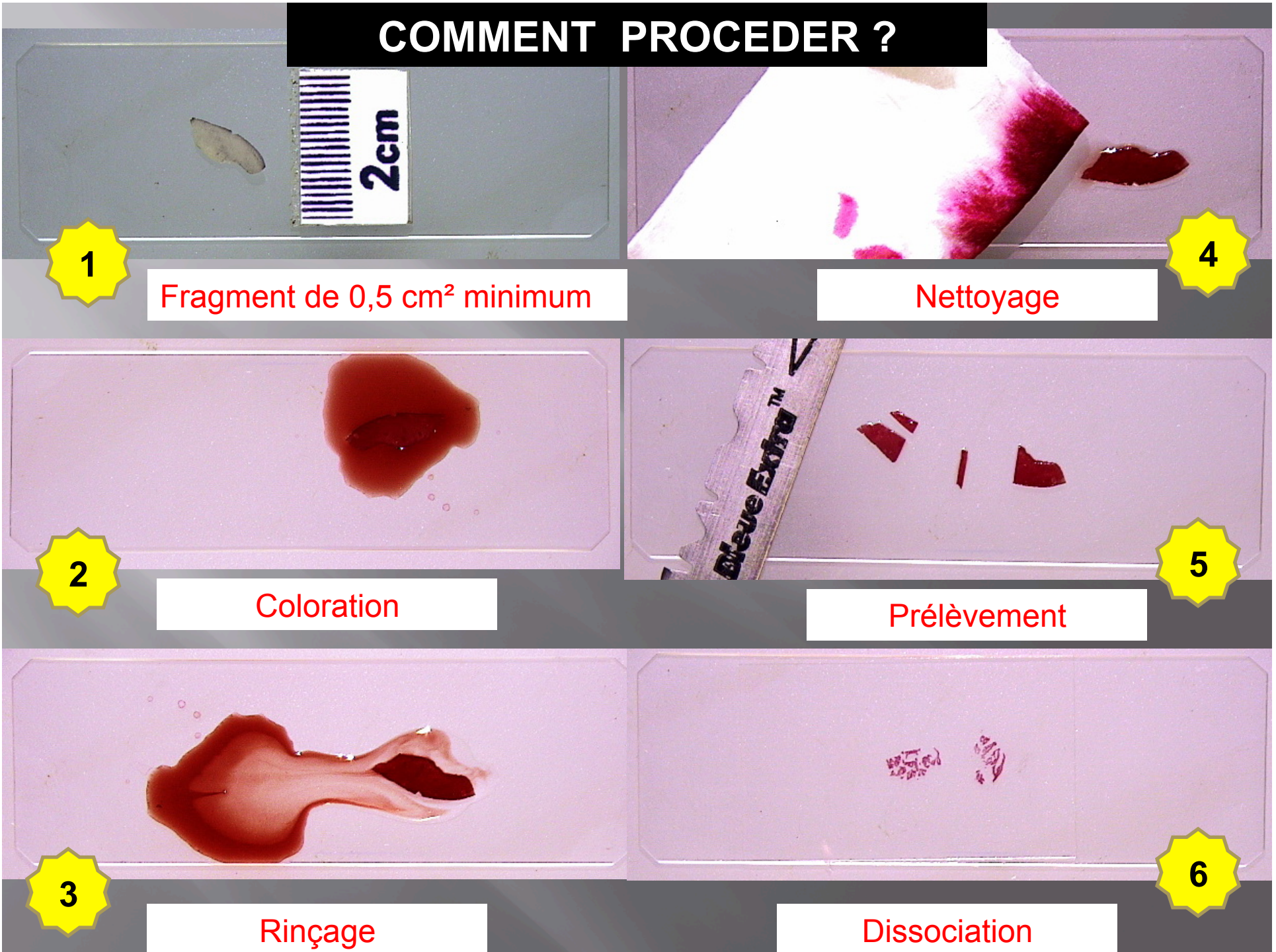
Prélèvement

3

Rinçage

6

Dissociation

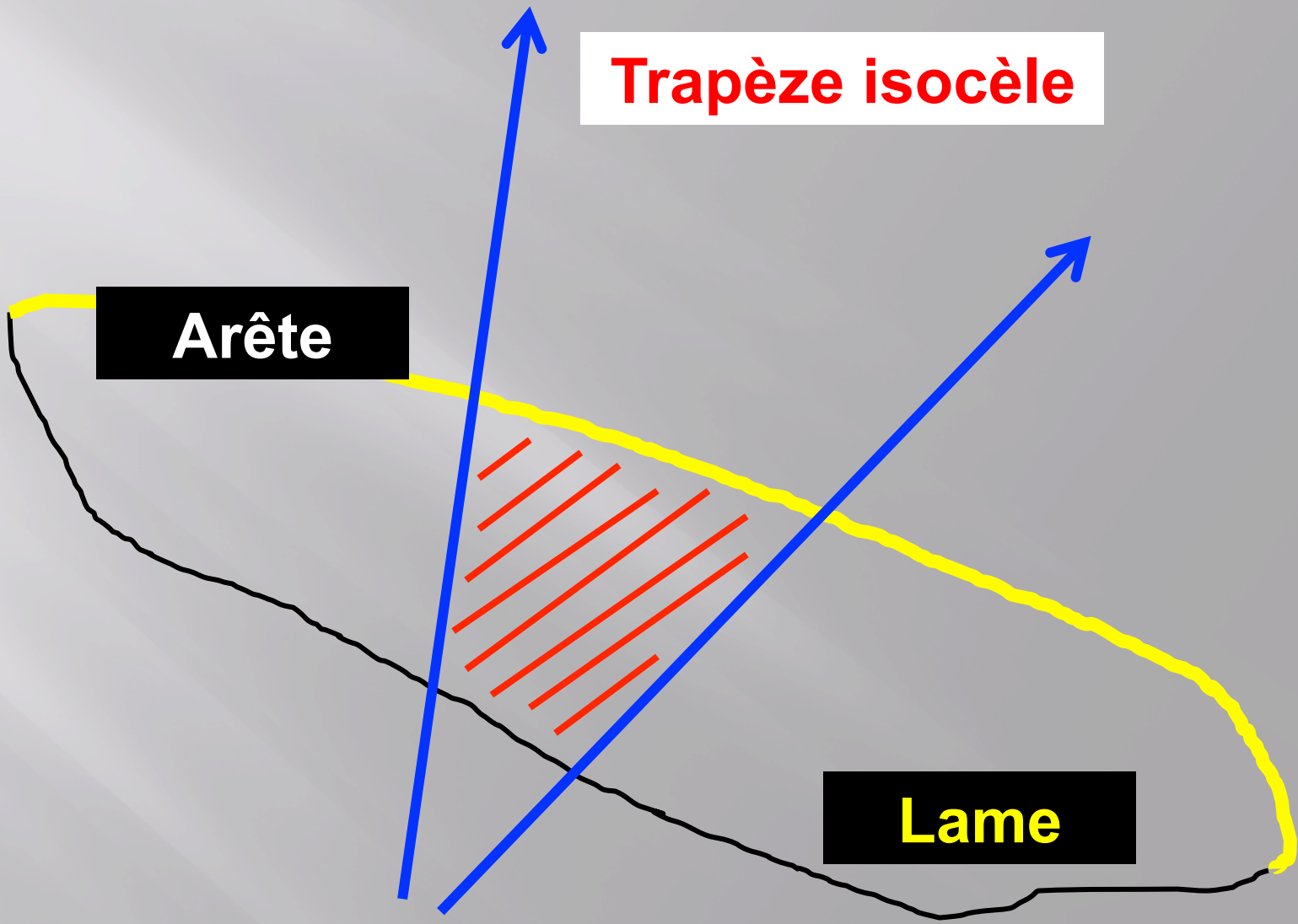




**Trapèze isocèle**

**Arête**

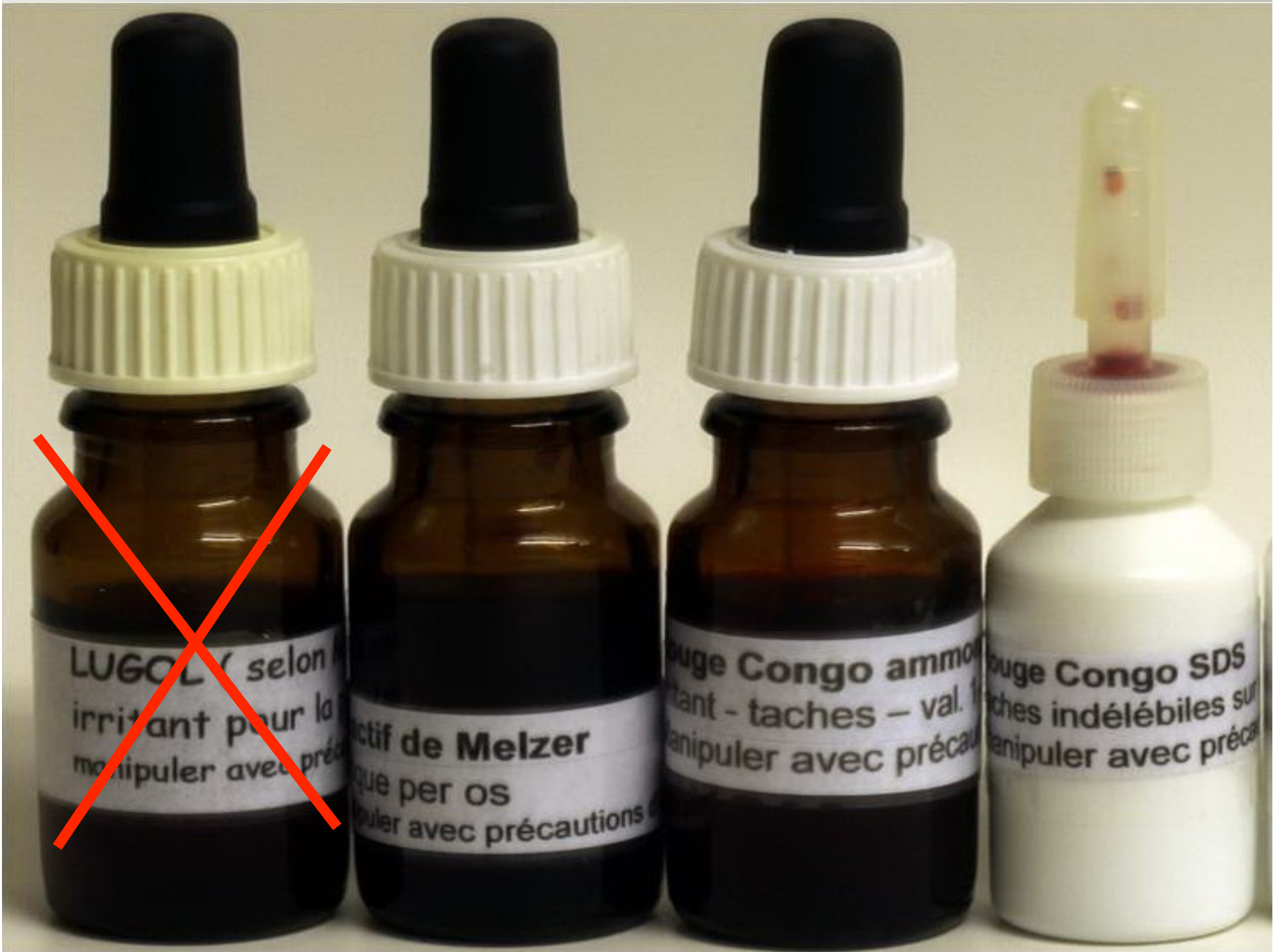
**Lame**



## **COMMENT PROCEDER ?**

- 1. Prélever un morceau conséquent du spécimen à examiner (pour faciliter les manipulations)**
- 2. Colorer durant 30 secondes à 2 minutes (contrôle à l'œil)**
- 3. aspirer le colorant avec du papier absorbant**
- 4. rincer à l'eau distillée**
- 5. aspirer l'eau de rinçage avec du papier absorbant**
- 5a. répéter (4) et (5) si nécessaire**
- 6. façonner le morceau à observer, avec une lame de rasoir (très petite taille) → taille en trapèze isocèle**
- 7. Appliquer le milieu d'observation ou de montage choisi (petite goutte) et dissocier**

**Colorants  
ou réactifs ?**



~~LUGOL (selon  
irritant pour la  
manipuler avec précaution~~

réactif de Melzer  
lique per os  
manipuler avec précautions

Rouge Congo ammoniacal - taches - val.  
manipuler avec précaution

Rouge Congo SDS  
taches indélébiles sur...  
manipuler avec précaution



# **Les milieux d'observation**

(préparations extemporanées)

# Les milieux FLUIDES



# Les milieux VISQUEUX





# **NOTRE TIERCE PERSONNEL :**

**→ EAU (bi)distillée**

- 1. Lactoglycérol**
- 2. Eau glycérinée**
- 3. Chloral lactophénol  
& lactophénol de Amann**

# Protocole d'observation de tout élément mycologique

**Matériel frais**

**ou**

**Matériel sec**

**Observer dans l'eau**

**Ramollir**

**Colorer**

**Observer dans l'eau**

**Laver**

**Colorer**

**Eau glycinée**

**Laver**

**Eau glycinée**

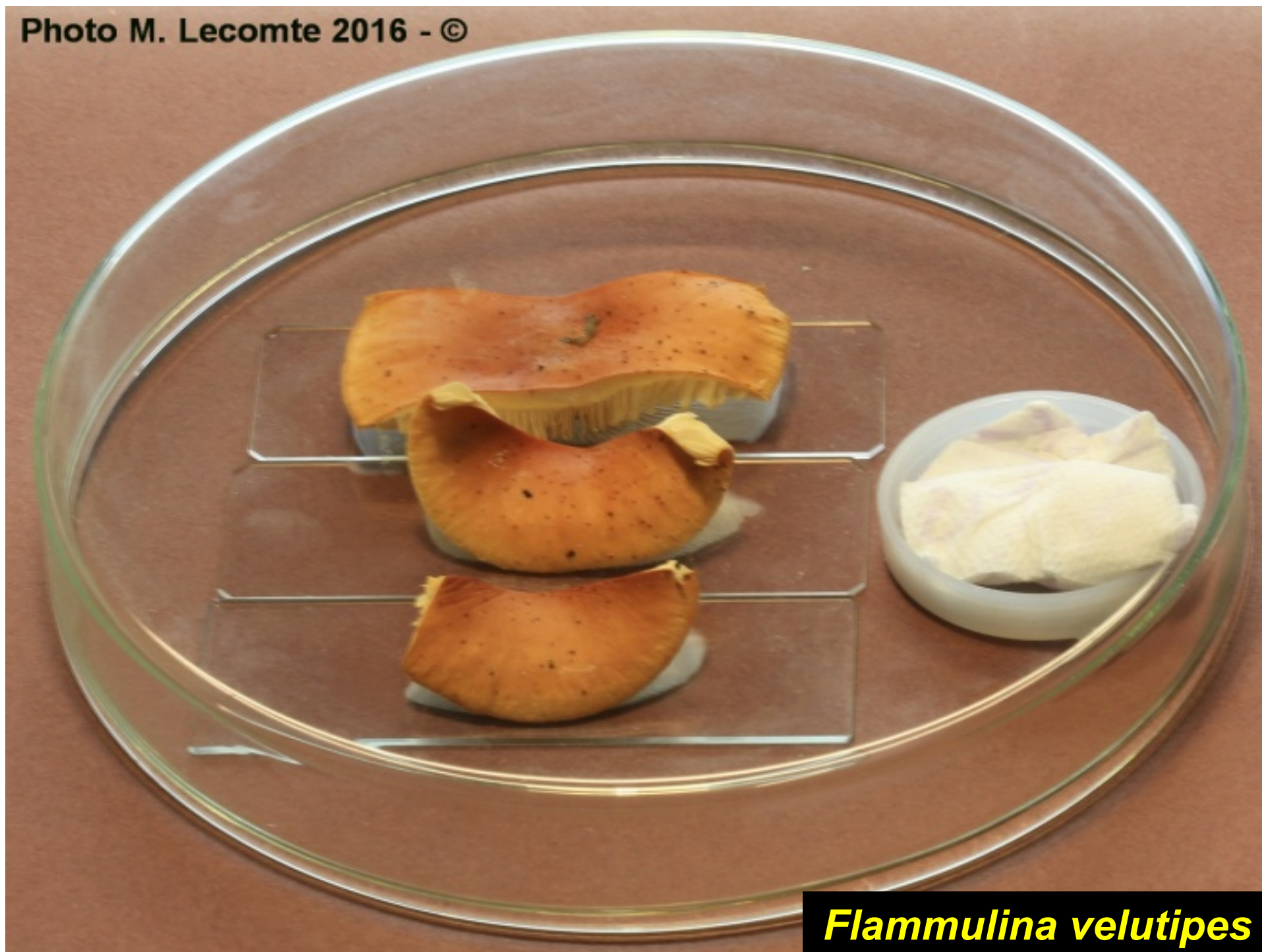


# Les Russulales

**Provoquer la sporulation  
chez un basidiomycète**



Photo M. Lecomte 2016 - ©



***Flammulina velutipes***





Photo M. Lecomte  
2016 - ©

***Flammulina velutipes***



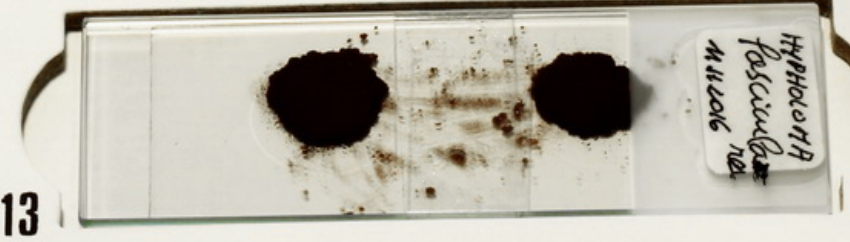
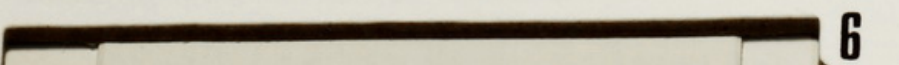


Photo M. Lecomte 2016 - ©

***Pholiotina aporos***



Photo M. Lecomte 2016 - ©



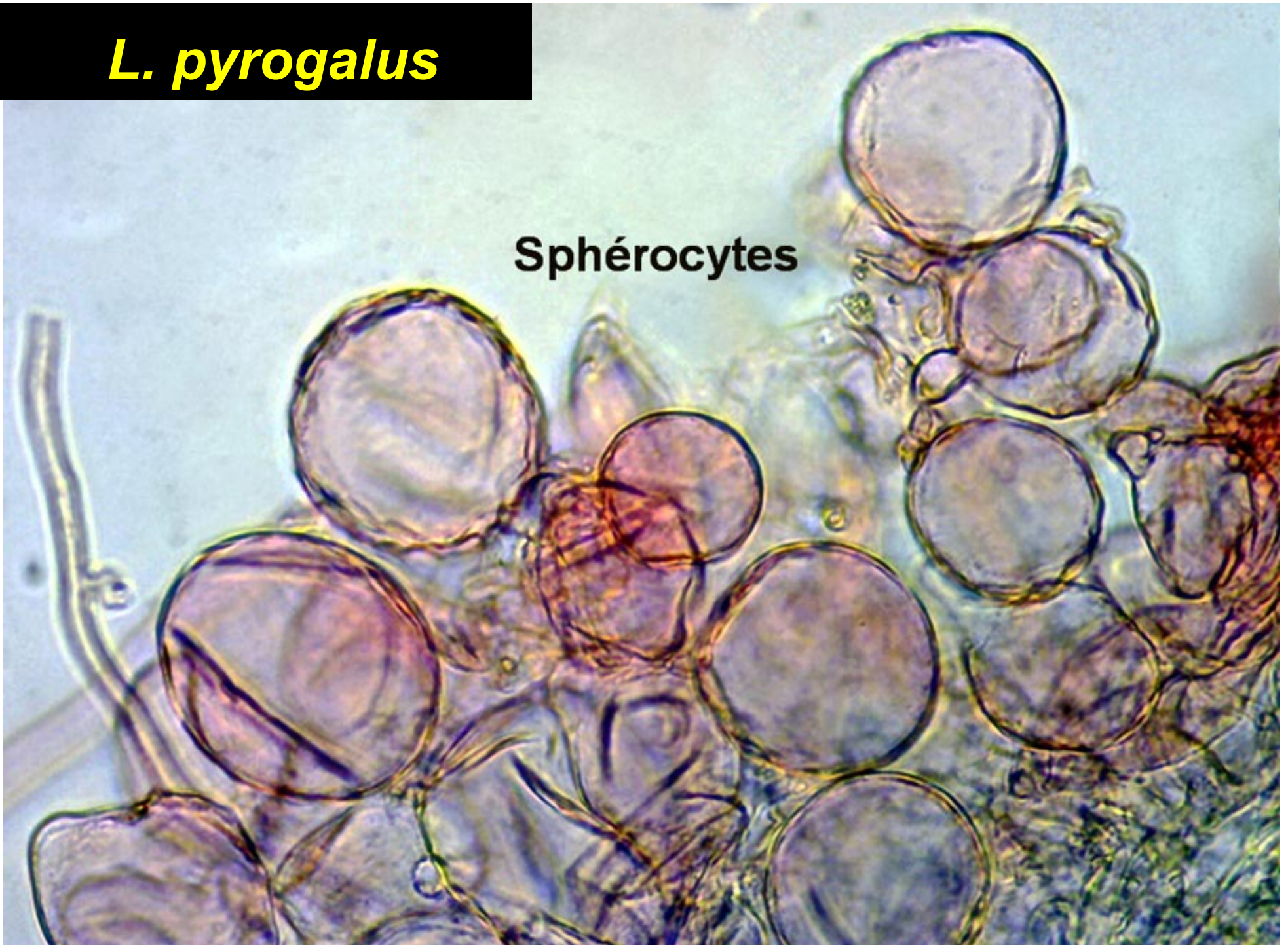
**La chair des  
Russulales :**

**les SPHEROCYTES**



***L. pyrogalus***

**Sphérocytes**







Nigrosine + rouge Congo SDS

Mélange de sphérocytes et d'hyphes dans la chair de *L. vellereus*

**Des outils de choix :**

**LES REACTIFS**

**IODES**



**Lugol en solution forte de Nicolle**  
Eau : 100 cc – iode : 1 g  
Iodure de potassium : 2 g

**IKI 1-3 selon Baral**  
Eau : 100 cc  
Iode : 1 g  
Iodure de potassium : 3 g

**Lugol en solution selon Moser**  
Eau : 150 cc – iode : 1 g  
Iodure de potassium : 2 g

**IKI 1-6 selon Baral**  
Eau : 100 cc  
Iode : 2 g  
Iodure de potassium : 6 g



**Lugol lactique**  
Acide lactique : 100 cc  
Iode : 0,5 g  
Iodure de potassium : 1,5 g

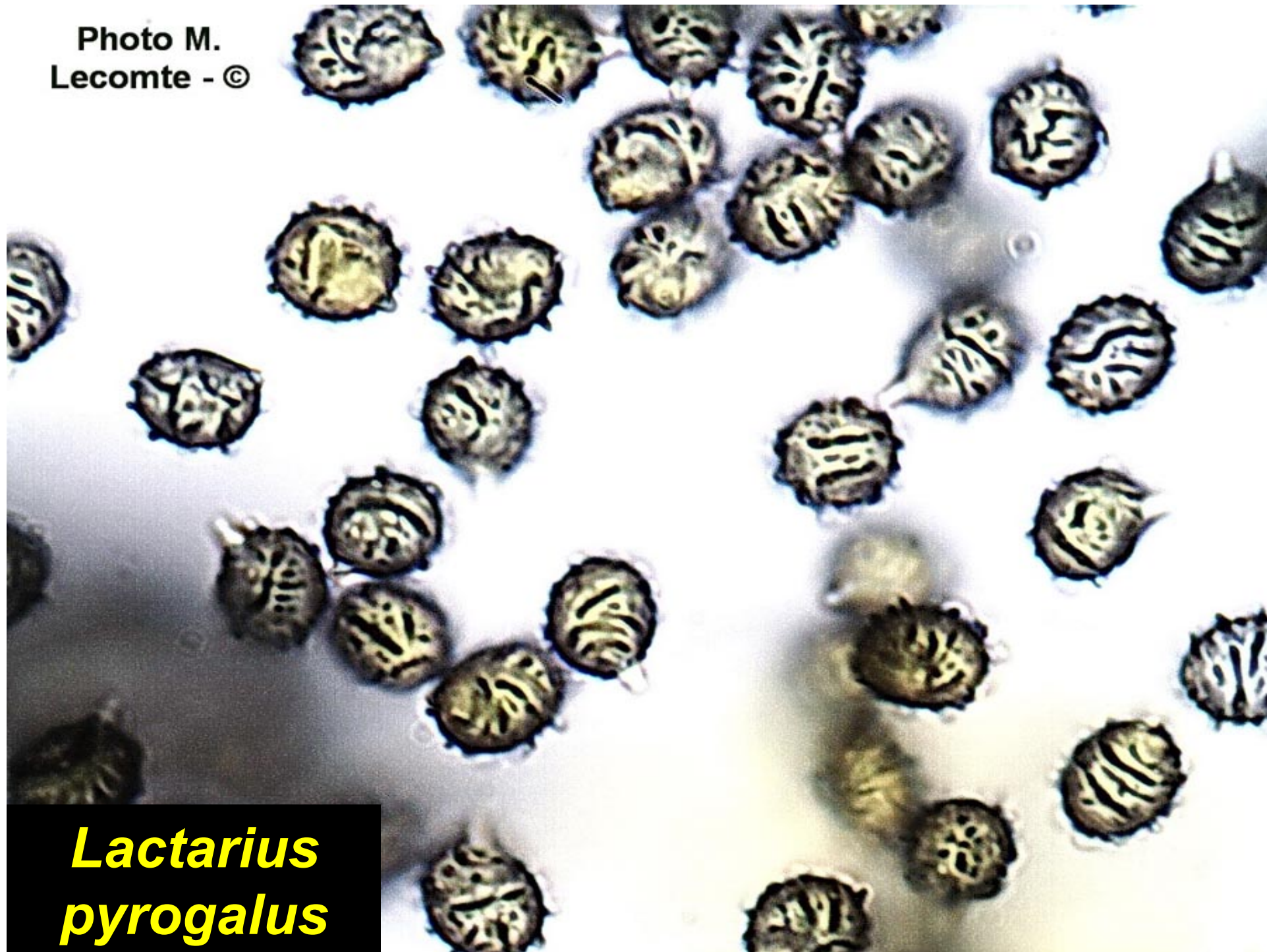
**Réactif de Melzer**  
Eau : 100 cc  
Iode : 2,5 g  
Iodure de potassium : 7,5 g  
Hydrate de chloral : 100 g

**Réactif de Kühner**  
Eau : 100 cc  
Iode : 1,5 g  
Iodure de potassium : 5 g  
Ac. acétique glacial : 10 cc

**La réaction  
amyloïde chez les  
Basidiomycètes**



Photo M.  
Lecomte - ©

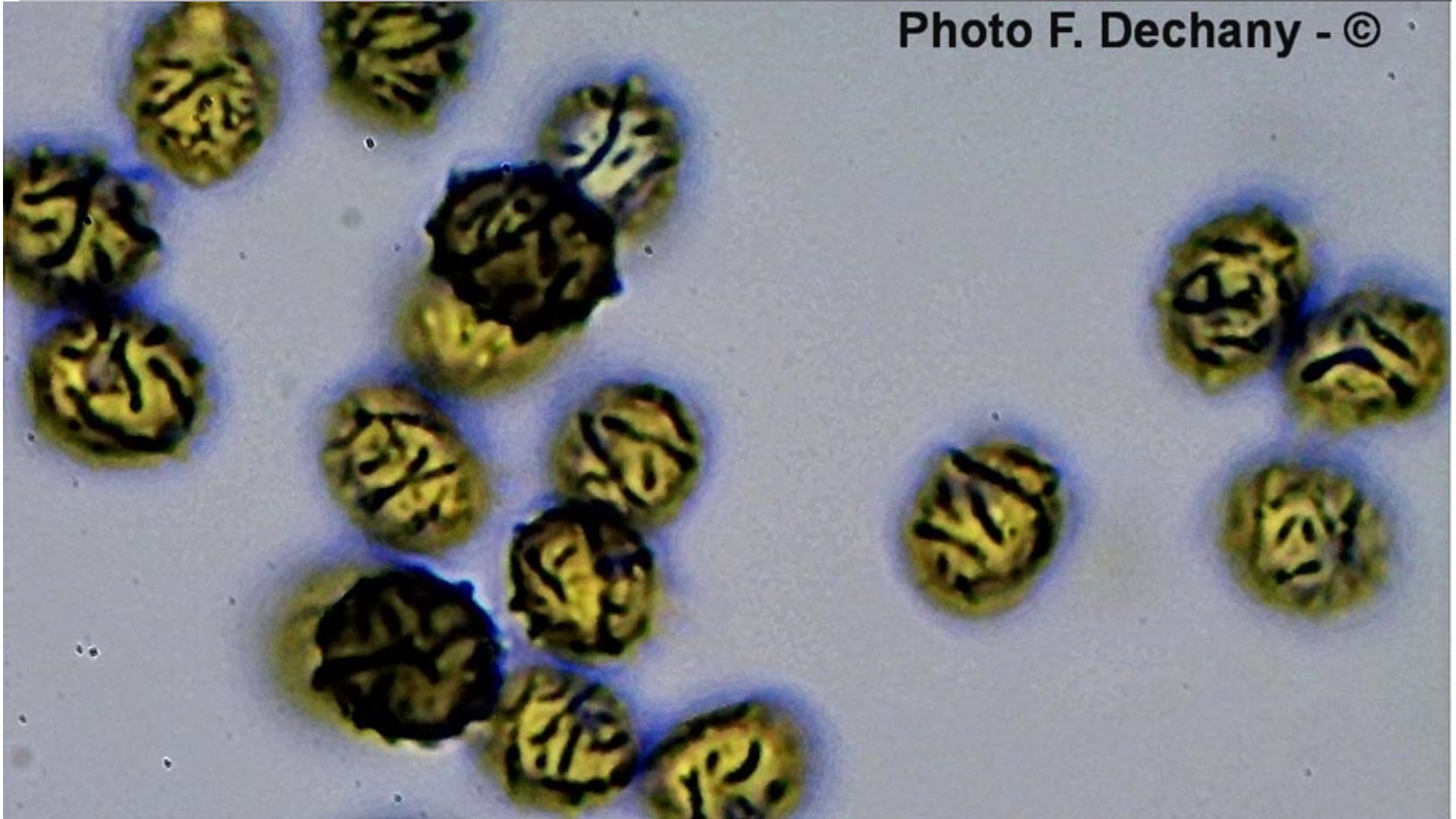


***Lactarius  
pyrogalus***



# *Lactarius blennius*

Photo F. Dechany - ©





# *Lactarius volemus*



Photo A. Flahaut ©



# *Russula cessans*



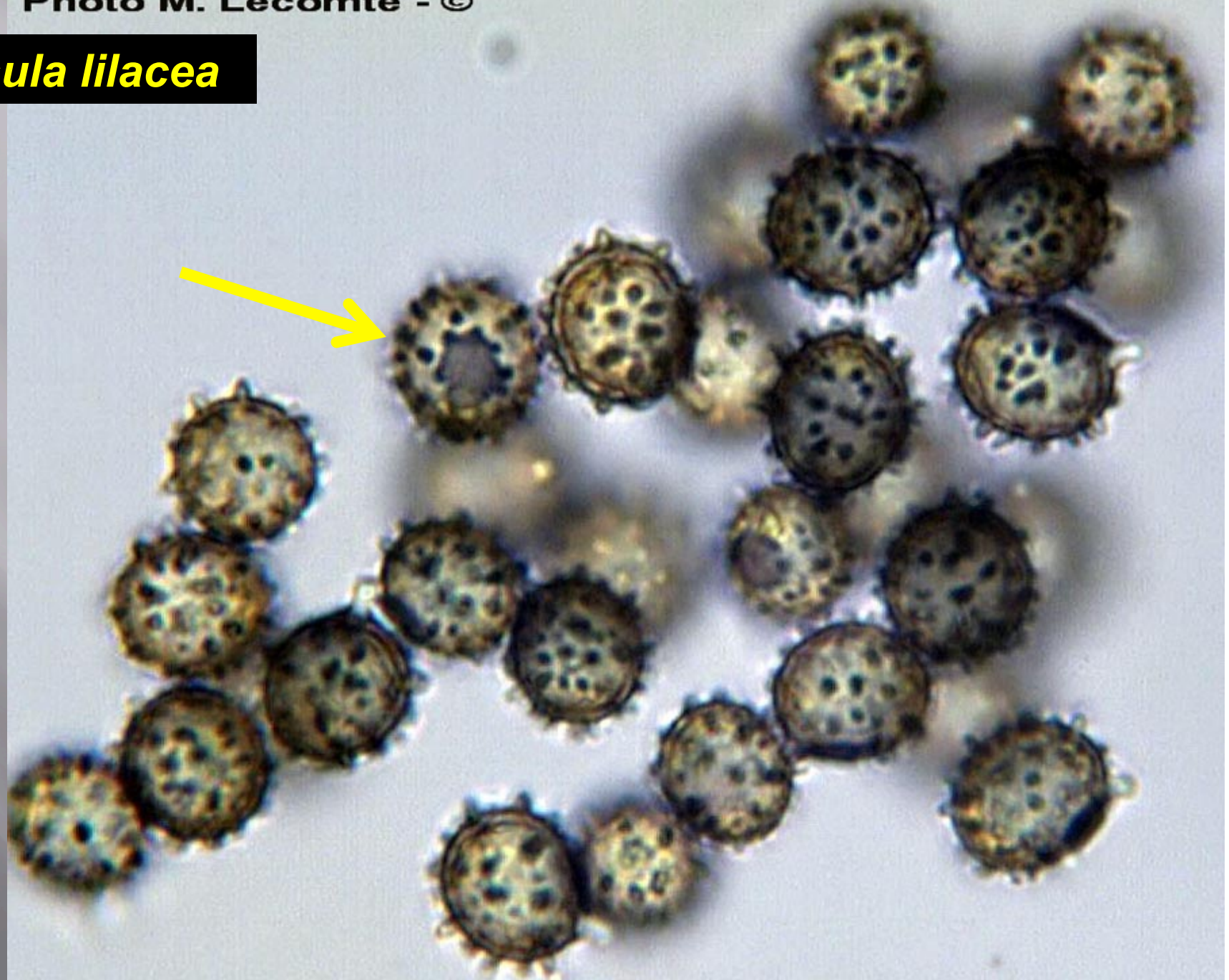
7,60 - 8,95 / 6,30 - 7,55  
ME= 8,25 x 6,85

Q= 1,10 - 1,35  
QM= 1,19



Photo M. Lecomte - ©

***Russula lilacea***





***Russula sanguinaria***



Photo M. Lecomte ©

***Russula violeipes***

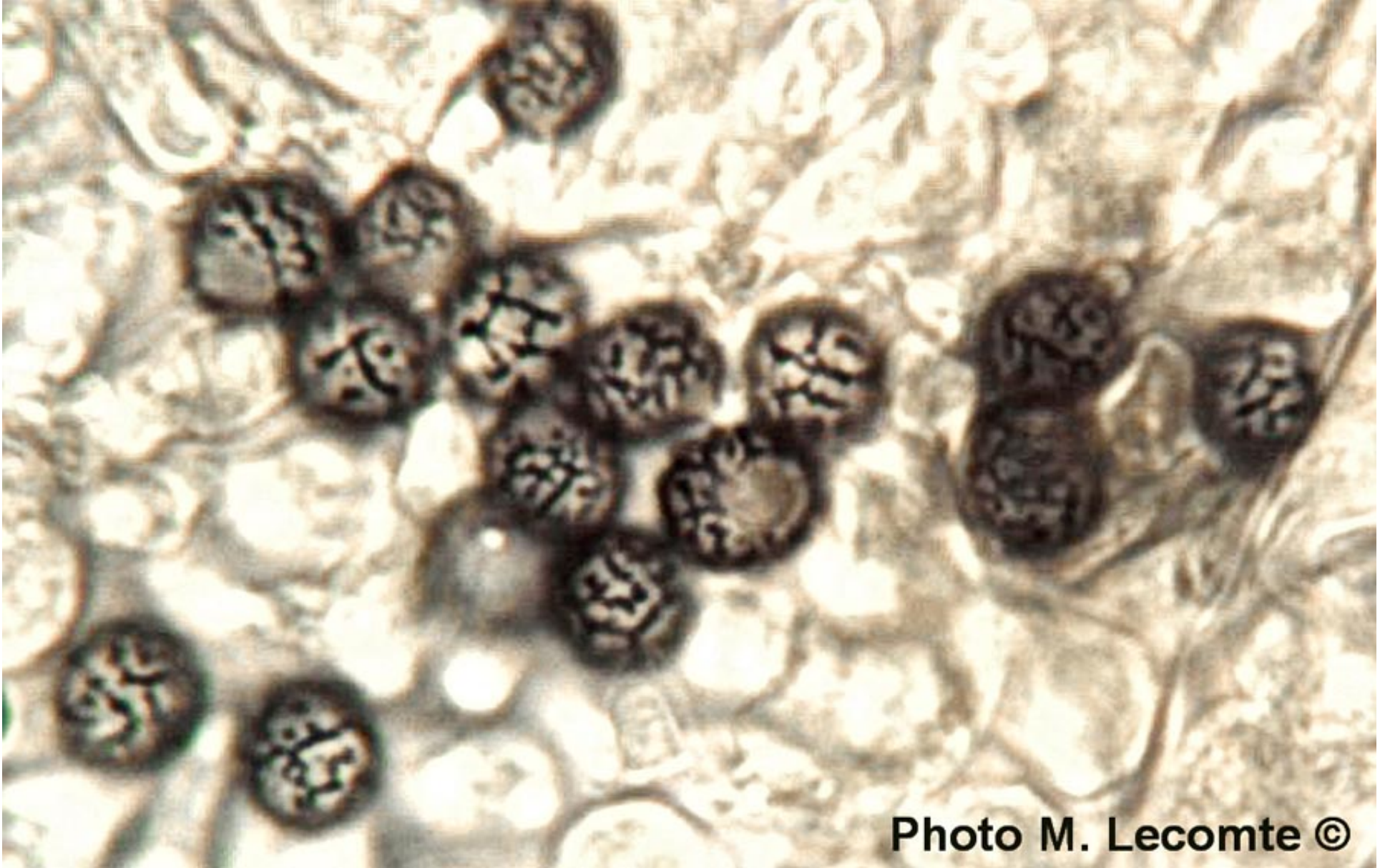
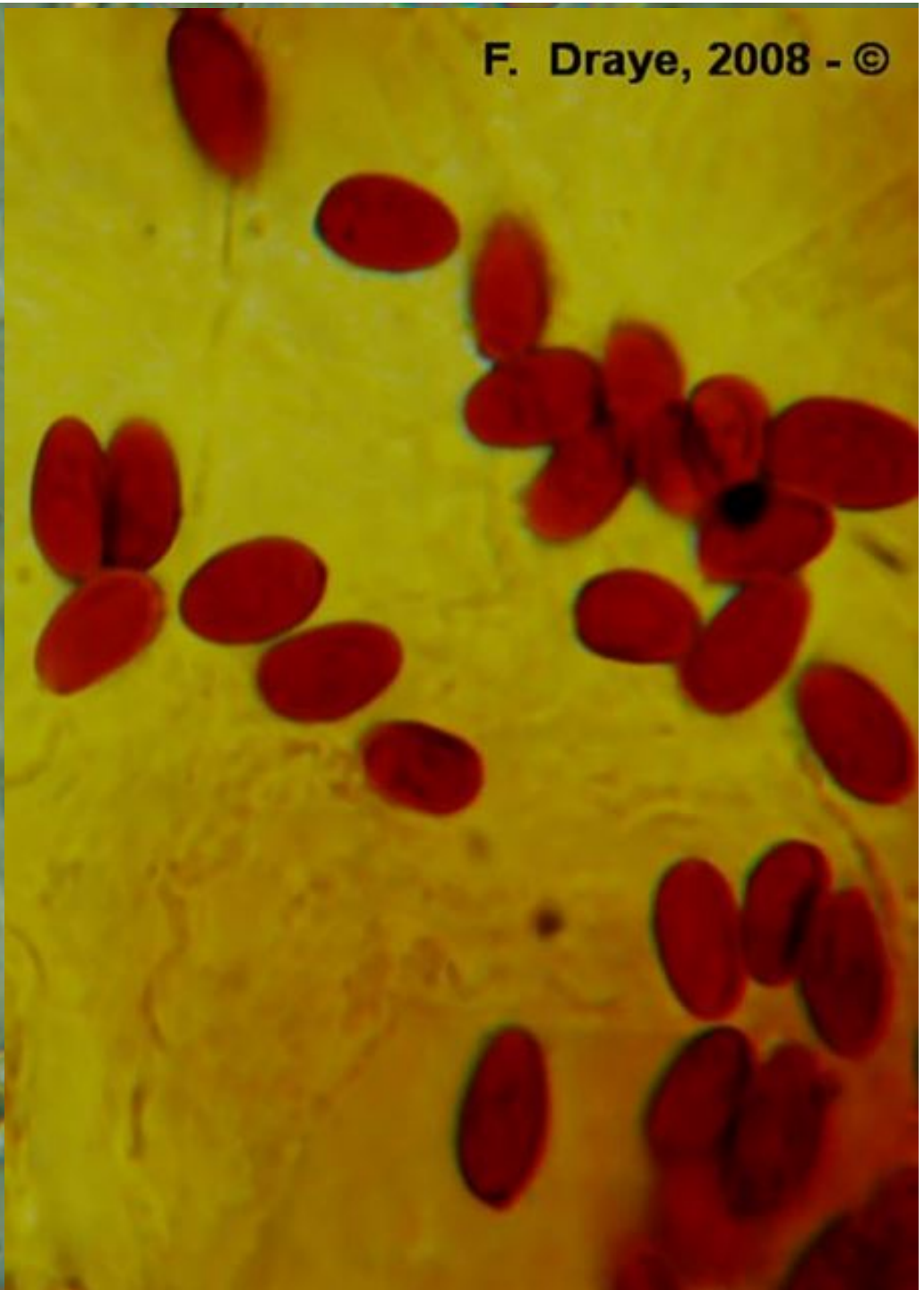
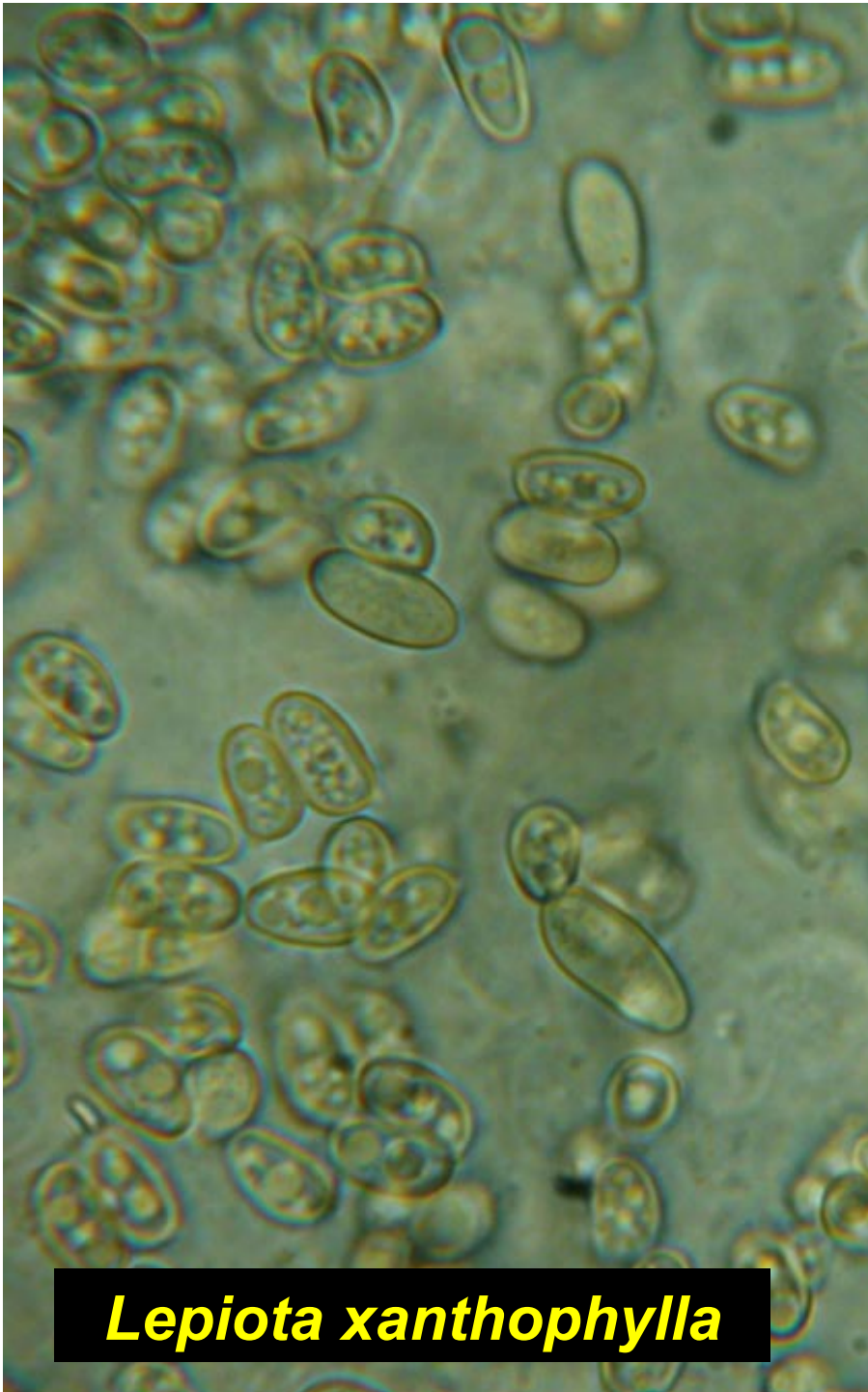


Photo M. Lecomte ©



**La réaction  
dextrinoïde chez  
les  
Basidiomycètes**

F. Draye, 2008 - ©



***Lepiota xanthophylla***



**Les hyphes  
laticifères chez les  
Russulales**

*Lactarius piperatus*

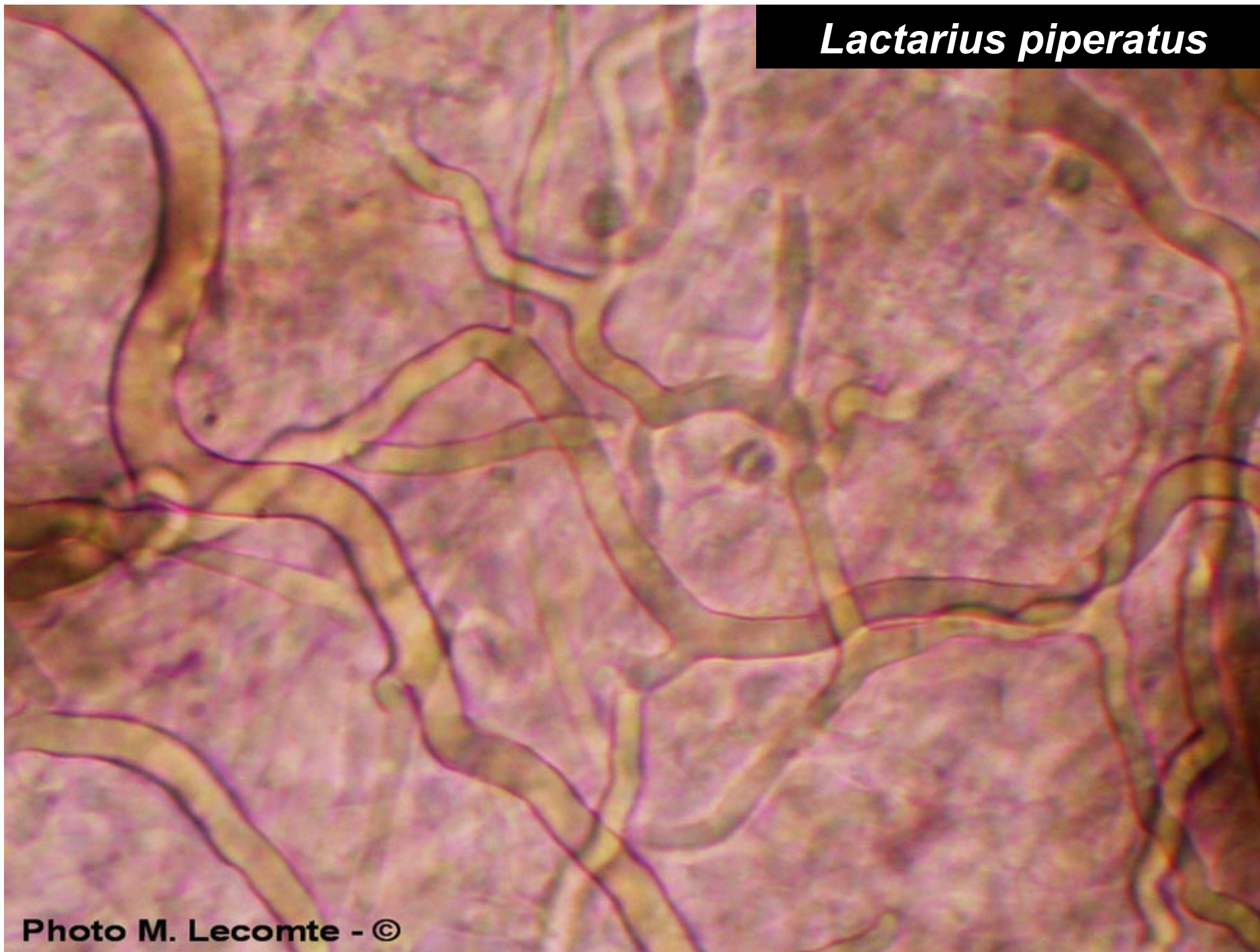


Photo M. Lecomte - ©



# *Lactarius vellereus*

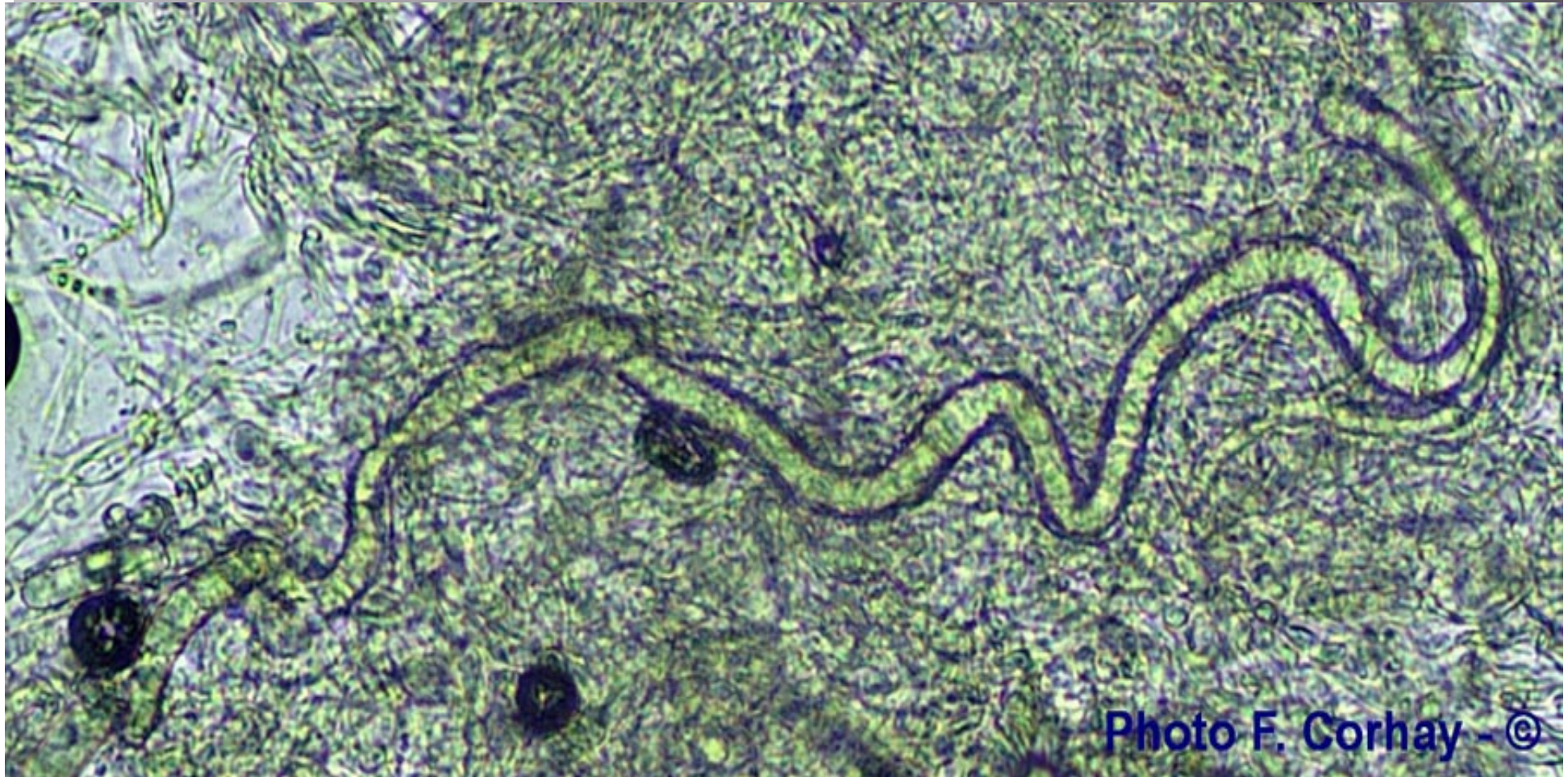
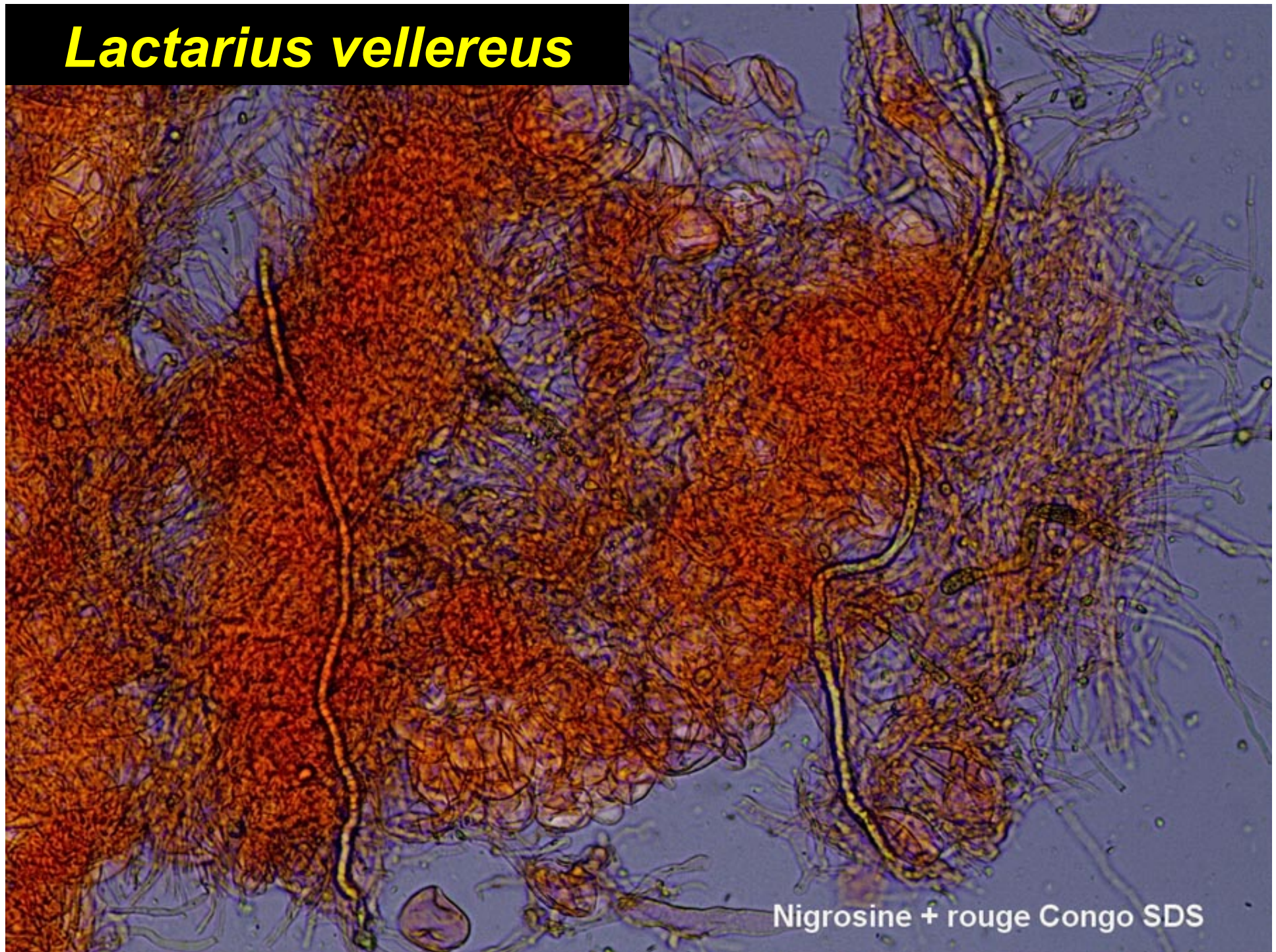


Photo F. Corhay - ©



# *Lactarius vellereus*



Nigrosine + rouge Congo SDS



***Lactarius aquizonatus***



Photo M. Lecomte - ©





Photo M. Lecomte - ©



# *Lactarius pyrogalus*



Photo M. Lecomte - ©

**Les réactions  
sulfoaldéhydriques :  
La sulfovanilline**

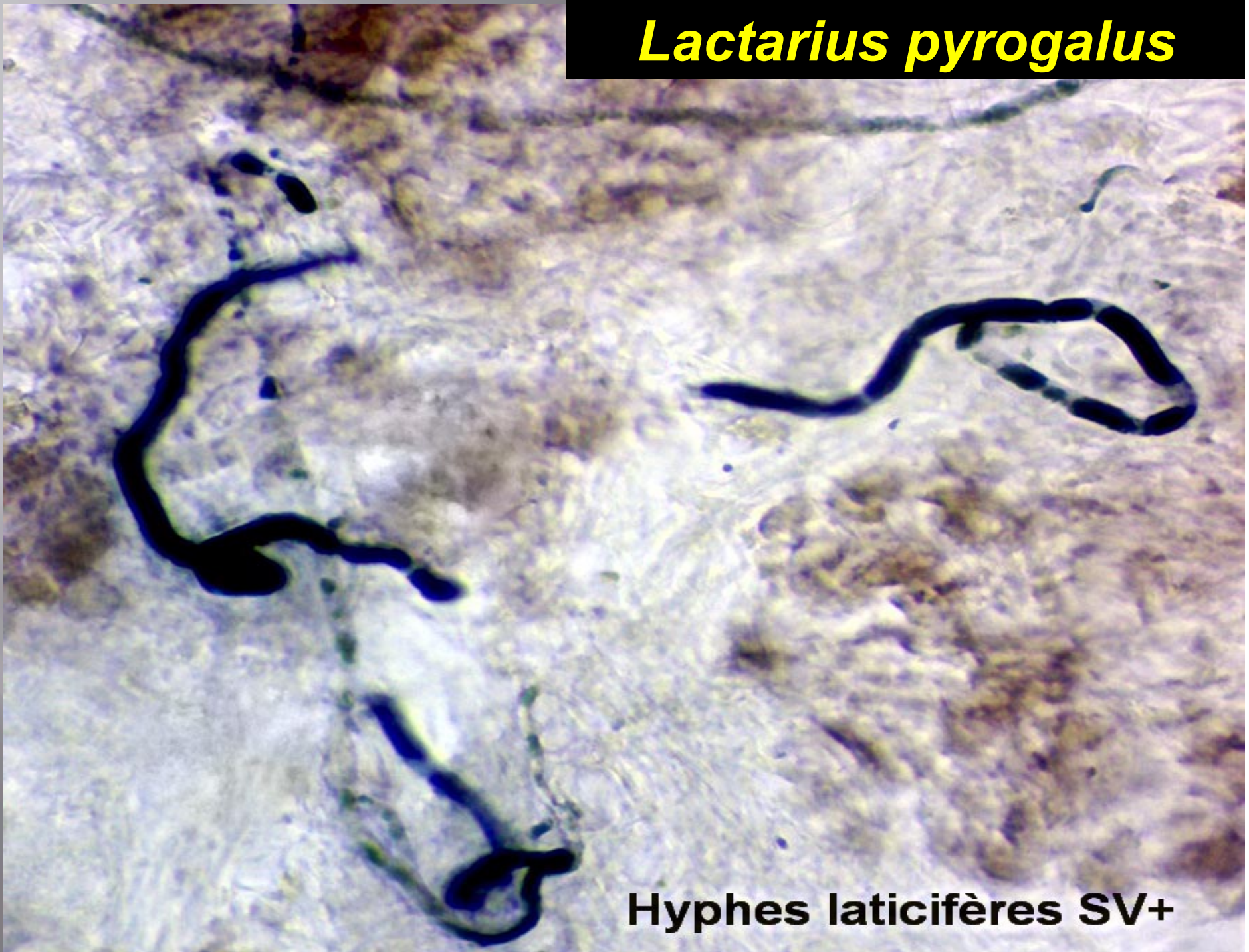


## Hyphes laticifères (au sens strict)

→ responsables de l'écoulement d'un latex résinoïde, à la cassure de la chair (*Lactarius*, *Fistulina*)

→ se colorent généralement en gris bleu à la sulfovanilline

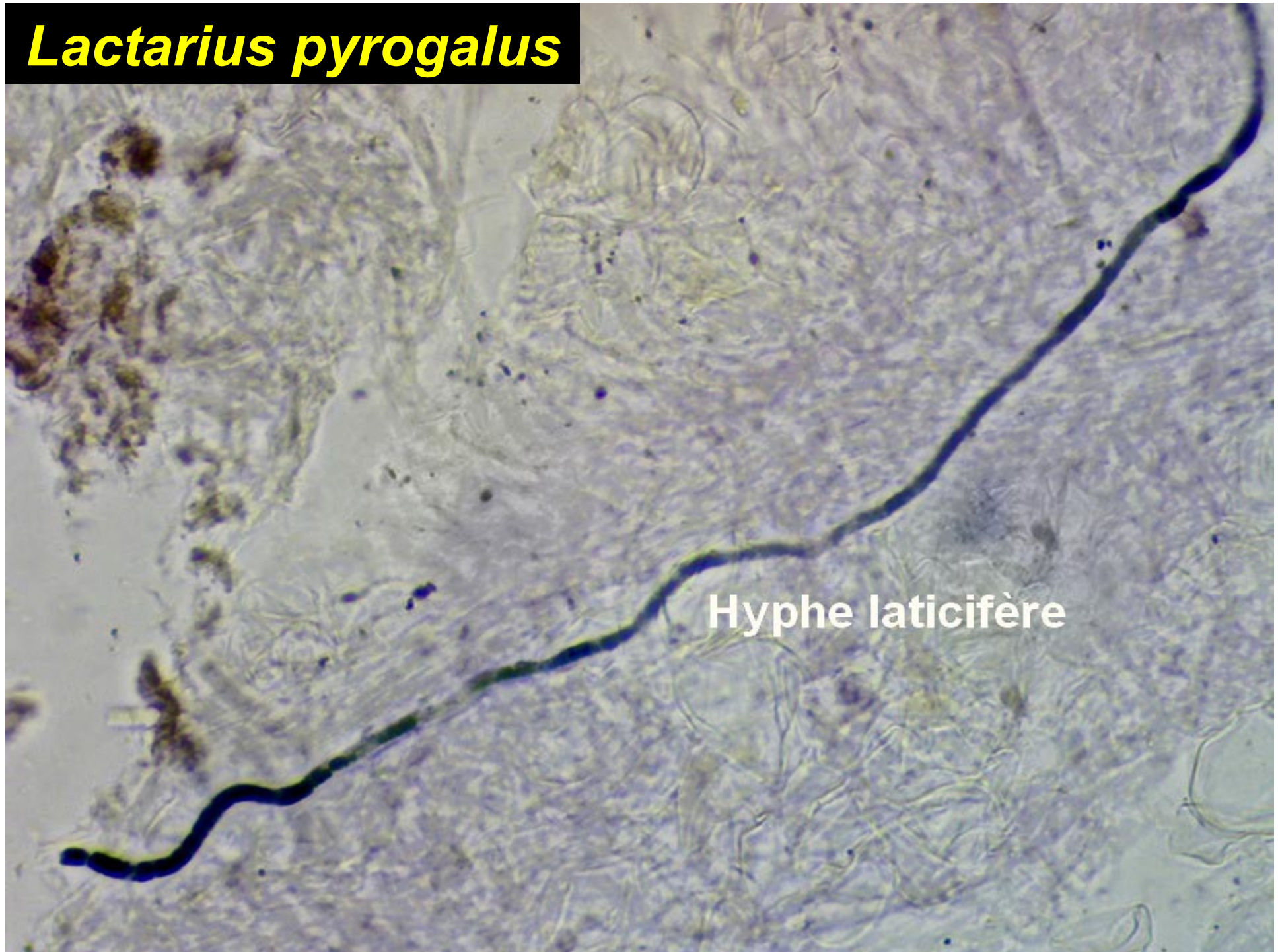
***Lactarius pyrogalus***



**Hyphes laticifères SV+**



***Lactarius pyrogalus***



Hyphe laticifère



***Lactarius  
controversus***





**Hyphes gléoplères** (ou glioplères, ou gloéoplères)

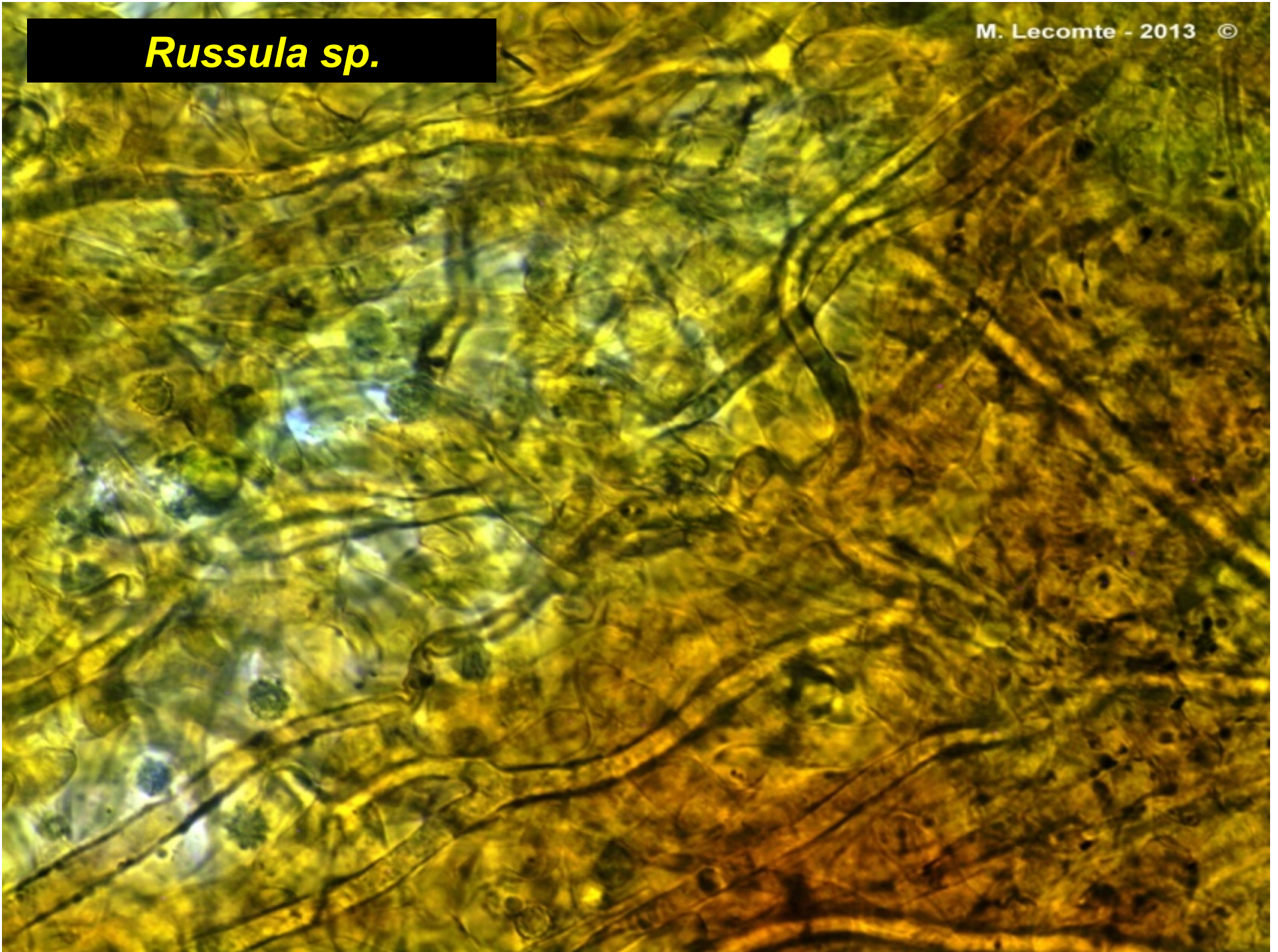
sans écoulement visible à la cassure  
(notamment chez *Russula*)

contiennent des cristaux, formant des  
paillettes, et/ou des gouttelettes plus ou  
moins réfringentes

réagissent en bleu foncé lorsqu'elles sont  
traitées avec la sulfovanilline ; ne se  
colorent pas au bleu coton, se colorent en  
rouge avec le Soudan III

*Russula sp.*

M. Lecomte - 2013 ©





***Paxillus involutus***

Hyphe glioplère colorée  
au Soudan III

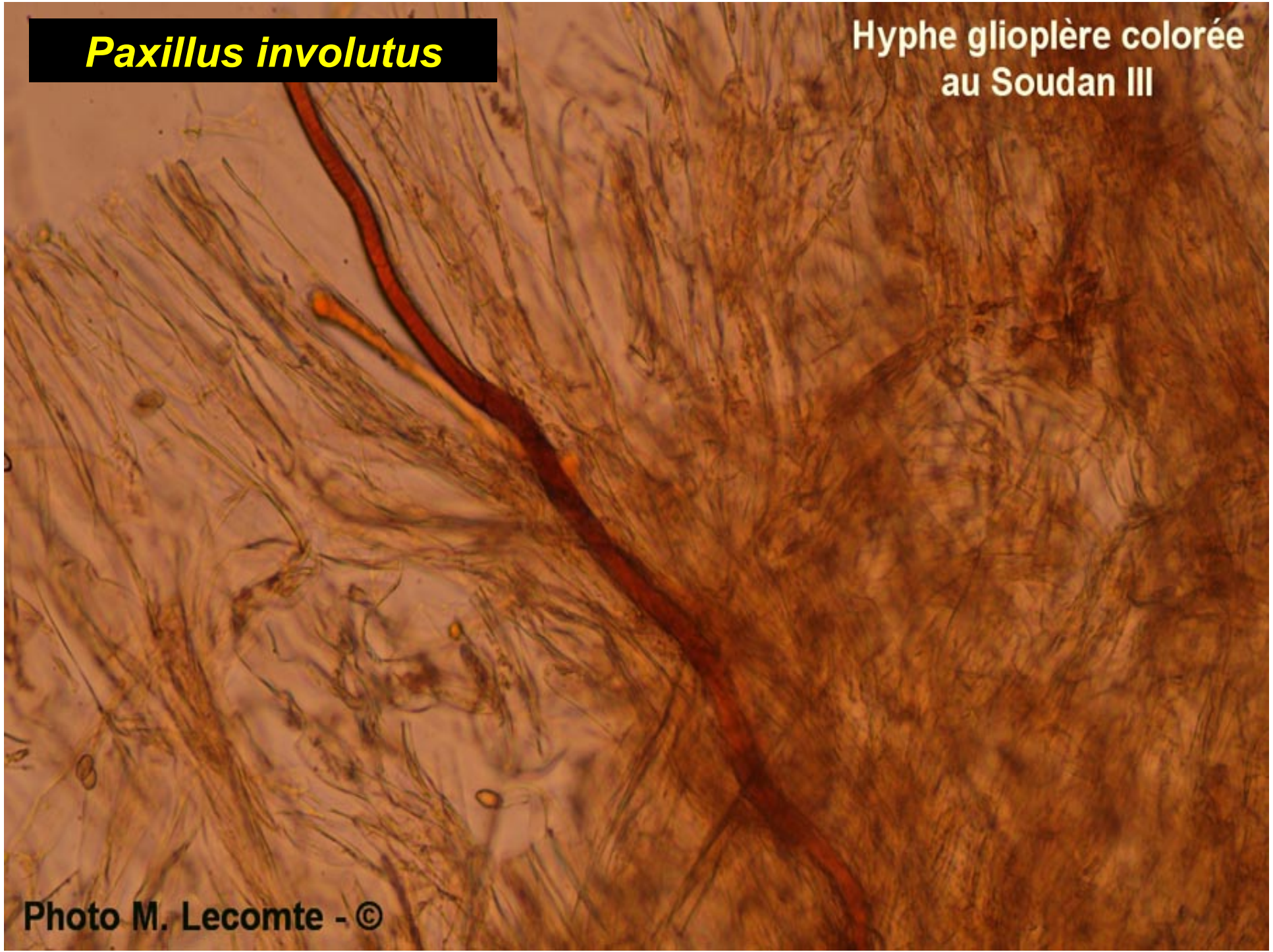


Photo M. Lecomte - ©

# Hyphes thromboplères

(correspondant aux hyphes oléifères)

hyphes mortes, ne contenant pas de latex, à contenu huileux ou résineux, fortement réfringent, réagissant occasionnellement à la sulfovanilline ; pas de réaction au RH0 ; coloration au BC

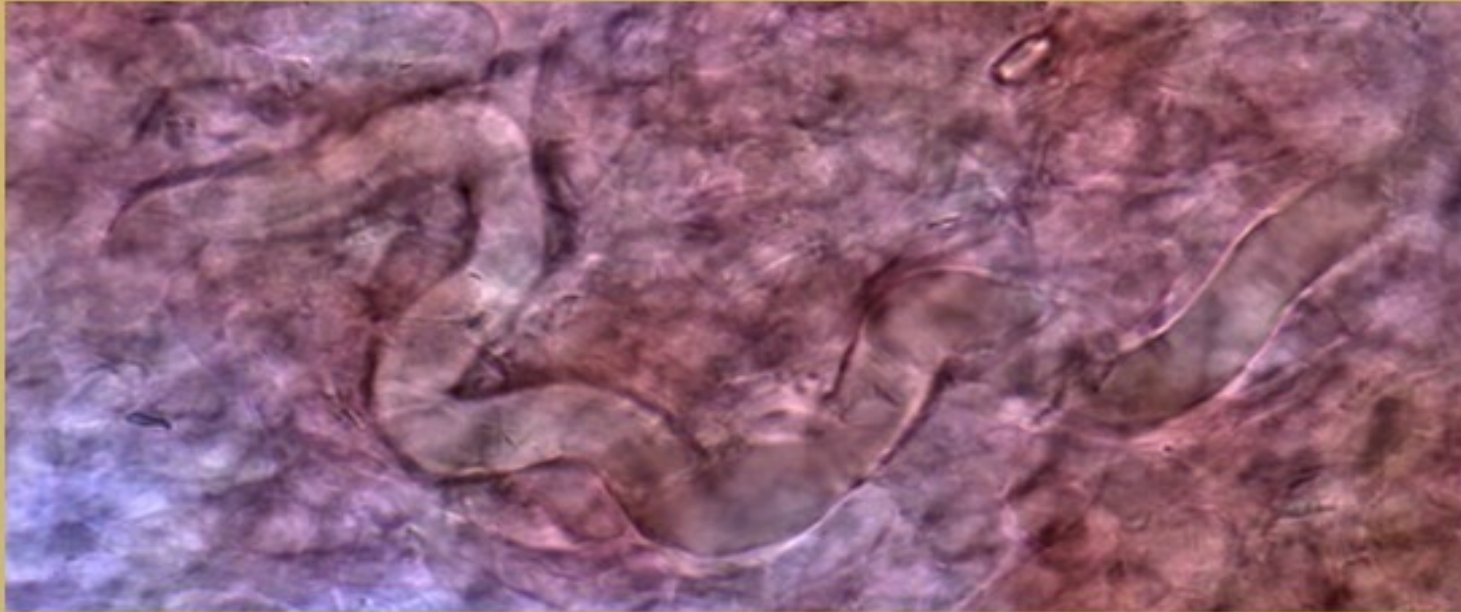
présentes chez de très nombreuses espèces, souvent plus fréquentes dans le pied

ce sont des hyphes laticifères dégénérées

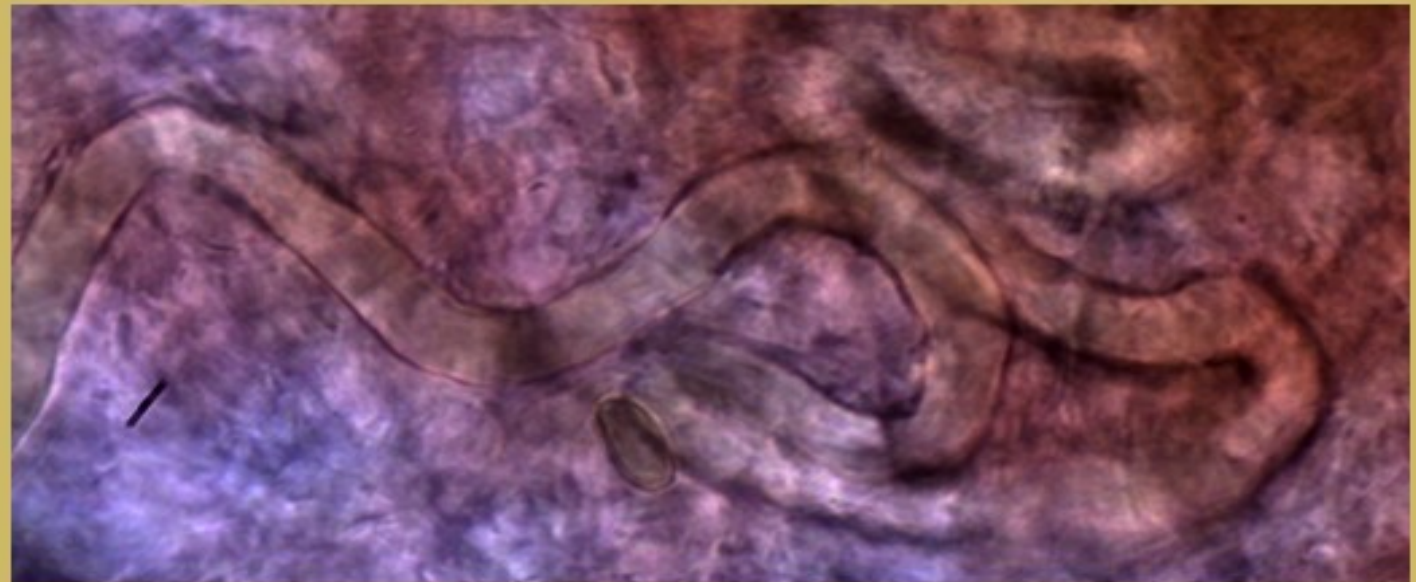
observées chez russules, bolets, armillaires, *Lentinellus*



***Boletus moravicus***

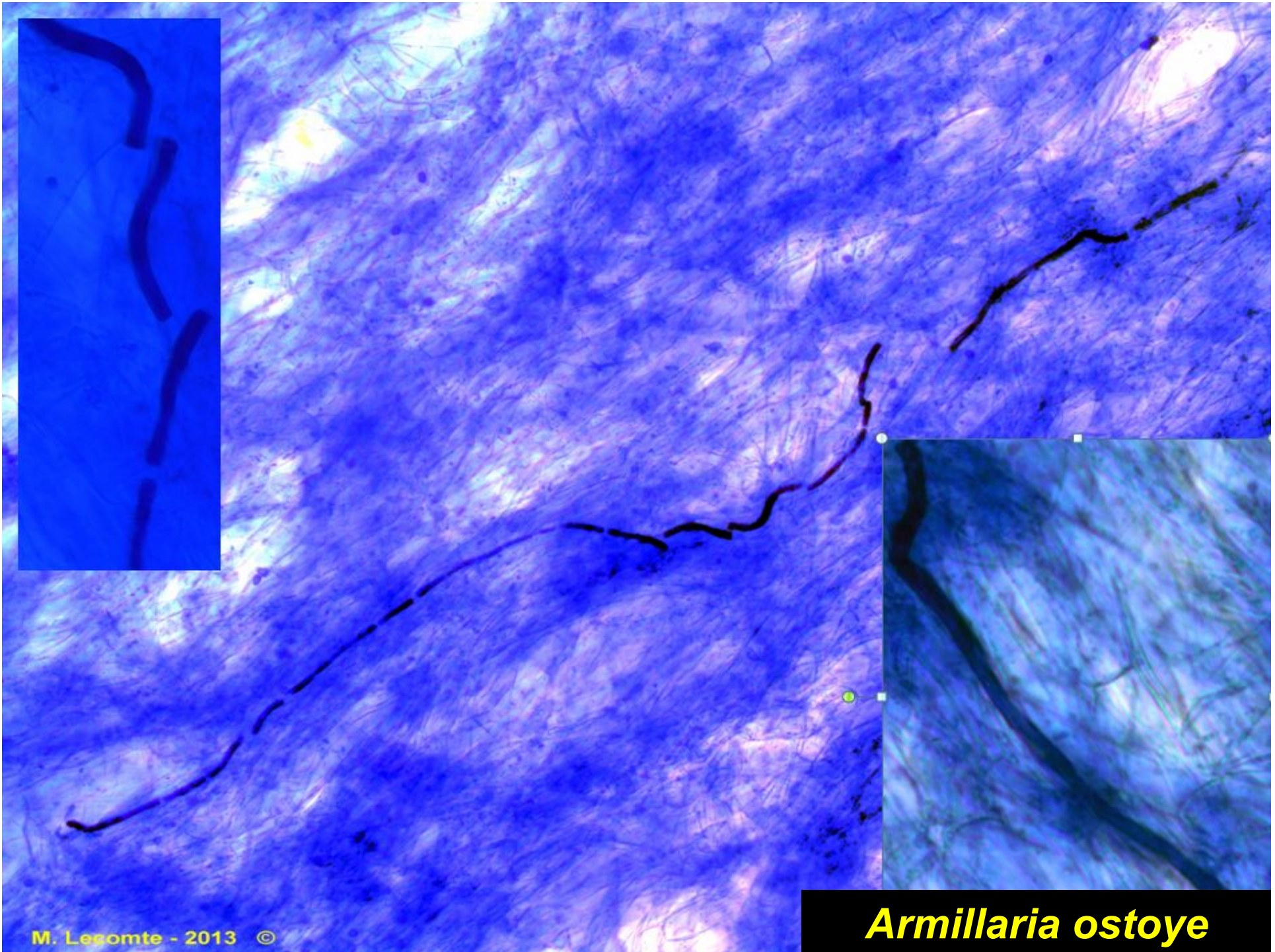


**Gross. 400x**



Photos M. Lecomte





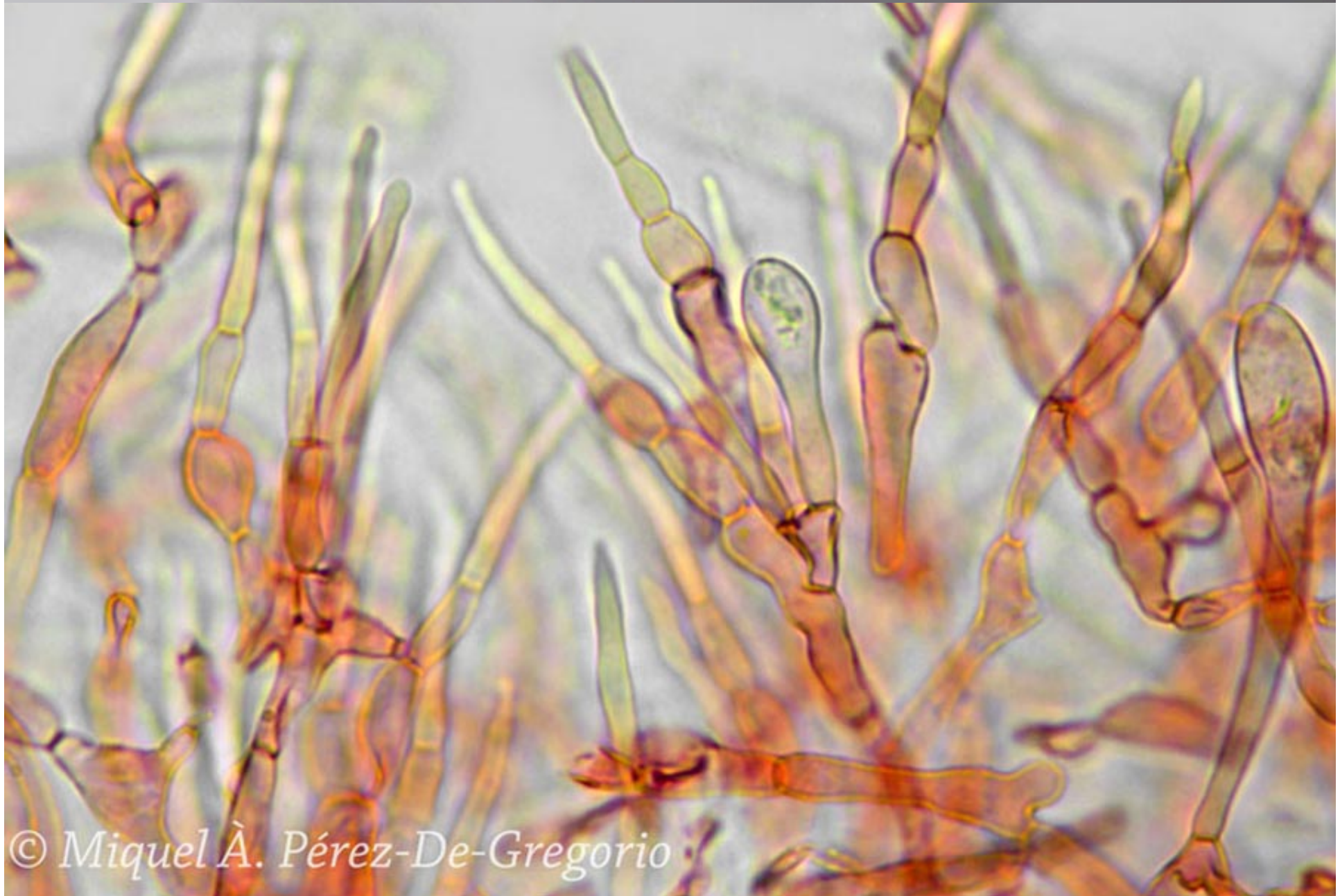
M. Legomte - 2013 ©

***Armillaria ostoye***



# **Les cuticules des russules**

# *Russula heterophylla*

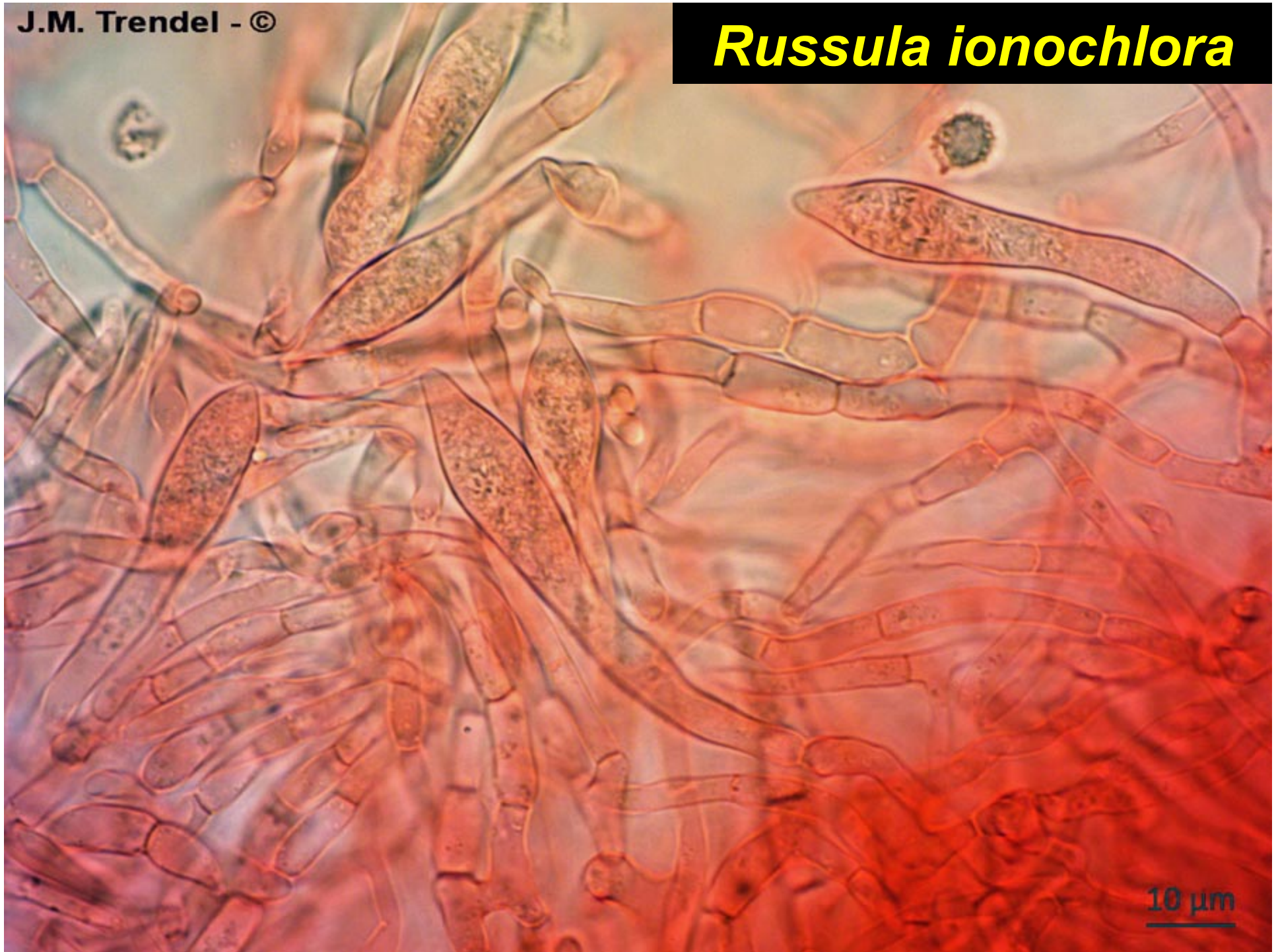


© Miquel À. Pérez-De-Gregorio



J.M. Trendel - ©

# *Russula ionochlora*



10 μm



# *Russula violeipes*



F. Draye, 2013 - ©



**Comment  
PREPARER UNE  
CUTICULE ?**

**Prélever un morceau de cuticule (par découpe ou pelage)**

**Éliminer le surplus de chair avec une lame de rasoir**

**Observer dans H<sub>2</sub>O glycérolisée**

**Repérer les dermatocystides et les hyphes terminales éventuelles.**

**ATTENTION au sens de la préparation !**



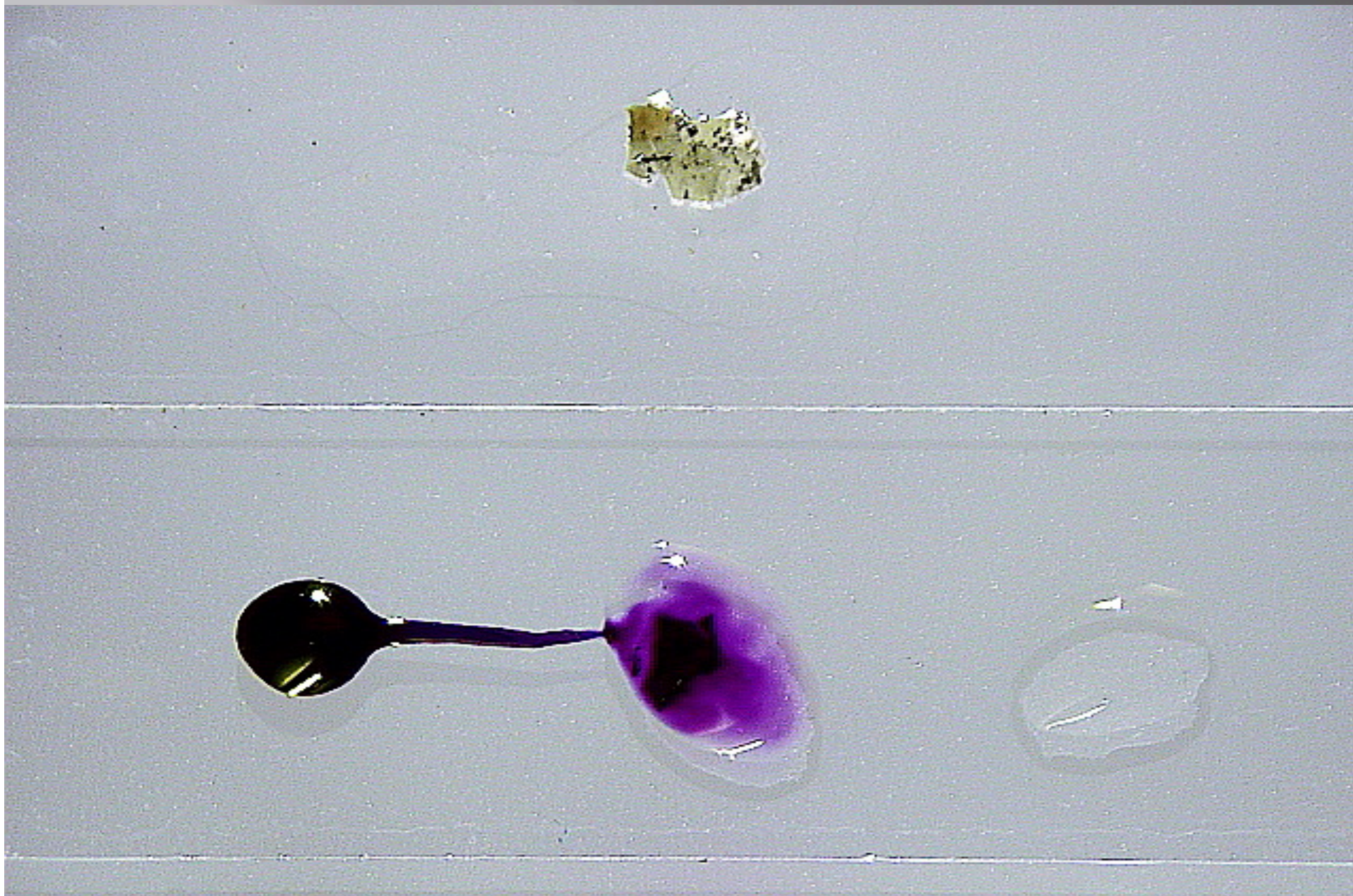
**Les incrustations  
acido-  
résistantes sur les  
hyphes  
primordiales ...**



M. Lecomte, 07/2010



# La fuchsine de Ziehl



 **Coloration à la fuchsine  
(basique) de Ziehl (10 à 20 sec.)**

 **Rincer**

 **Régresser avec HCl à 5 %**

 **Rincer et observer dans l'eau**

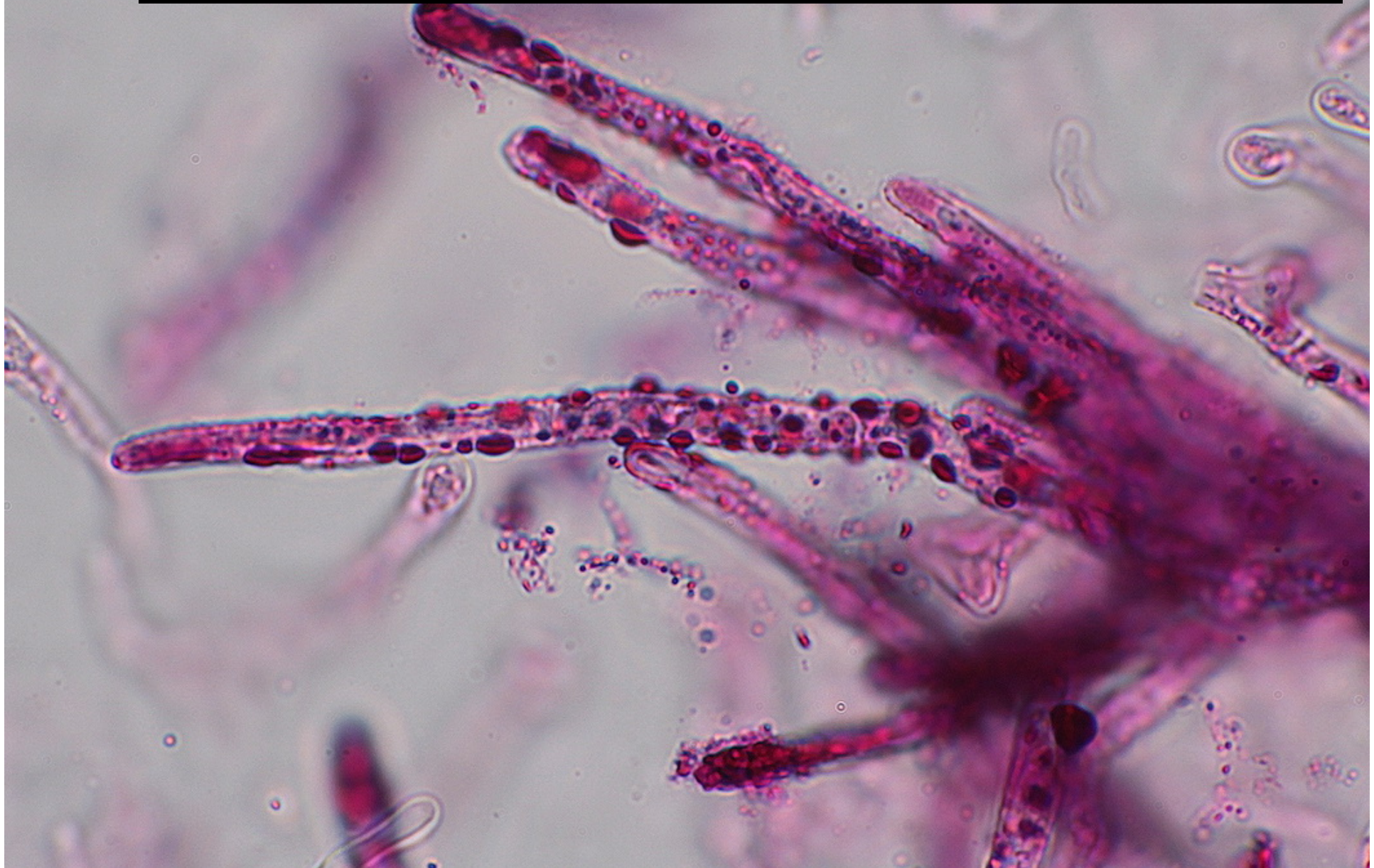


## **Les incrustations acido-résistantes selon Clémentçon**

- Coloration au carbofuchsin (5 à 10 min.)**
- Rincer**
- Régresser avec lactoglycérol**
- Rincer et observer dans l'eau**

Incrustations acido-résistantes chez *Russula risigallina*, coloration au carbolfuchsin de Cléménçon et régression au lactoglycérol

(photo C. Mertens)





**SBA+ ou SBA- ?  
La réaction  
sulfobenzaldéhydique  
sur les  
dermatocystides**

Photo Dany Joubert



**Dermatocystides d'une russule traitées au sulfobenzaldéhyde**



***Russula emetica***

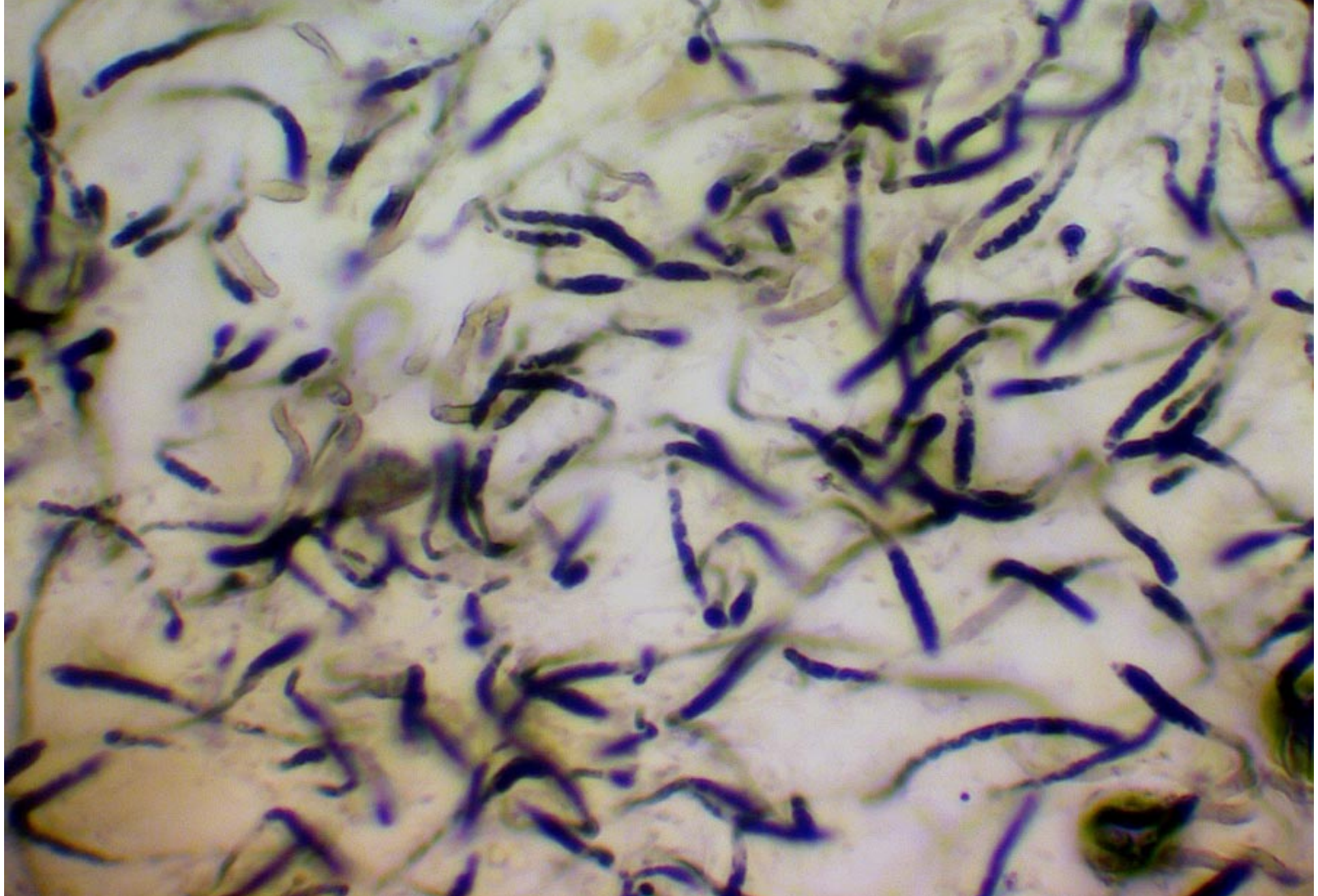




***Russula sanguinaria***

M. Lecomte - 2014

©





***Russula luteotacta***

Photo M. Lecomte - ©





# *Russula parazureaa*



Photo M. Lecomte - ©

Photo Marcel Lecomte - 21/06/2010 - 12:07:00



**Vous avez dit  
trame ?**



**Nous allons devoir réaliser des coupes aussi fines que possible ! .... Pas évident au début ...**





Photo M. Lecomte



**Le microtome de Ranvier**

**Support de lame amovible, pour microtome  
automatique.**





Photo M. Lecomte



**CR dans un chapeau de lactaire, avec coloration**



# Une structure emmêlée





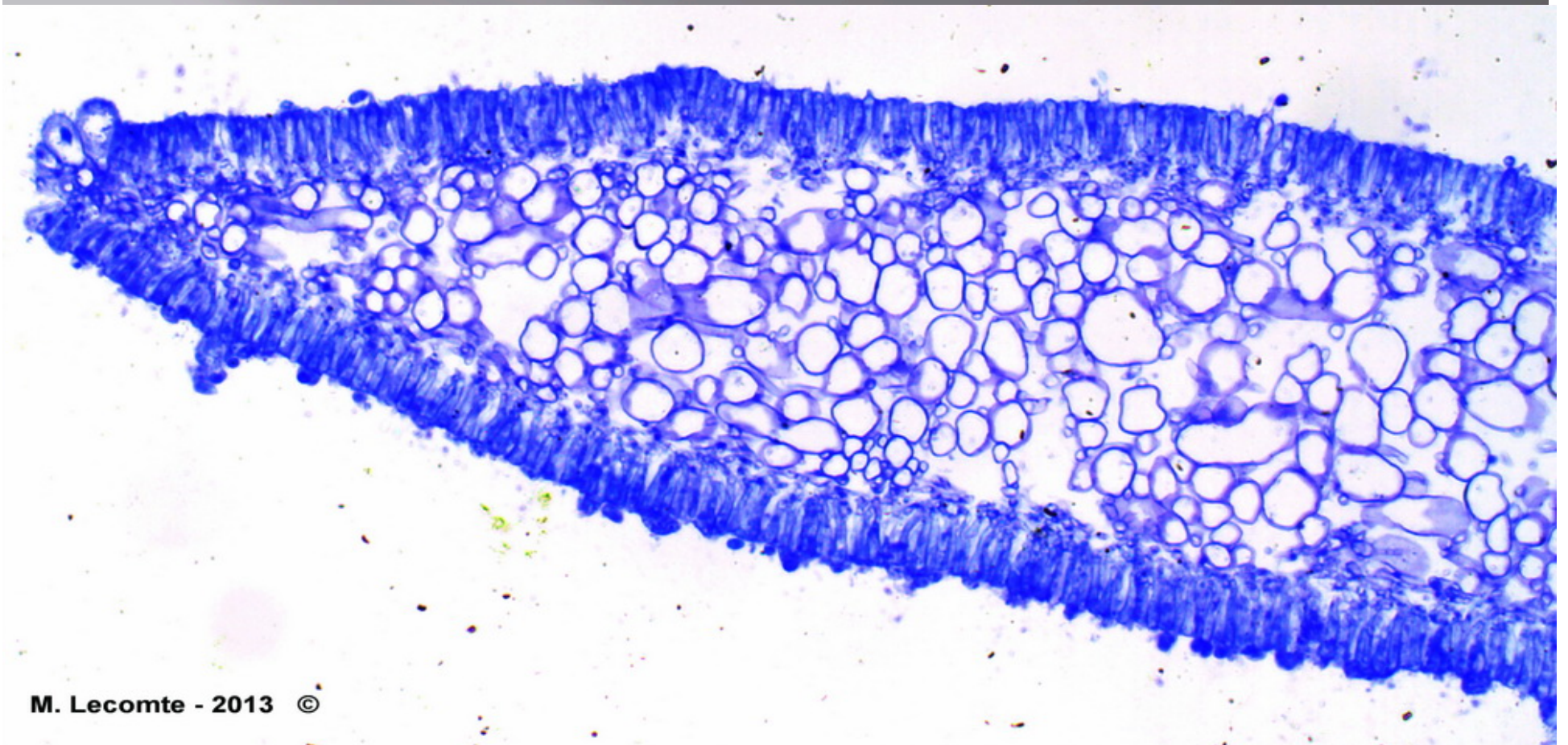
*Psathyrella  
spadiceogrisea*



M. Lecomte - 2013 ©



*Mycena metata*



M. Lecomte - 2013 ©

**Une trame à structure cellulaire  
dite à sphérocytes**



***Russula  
citrinoclora***





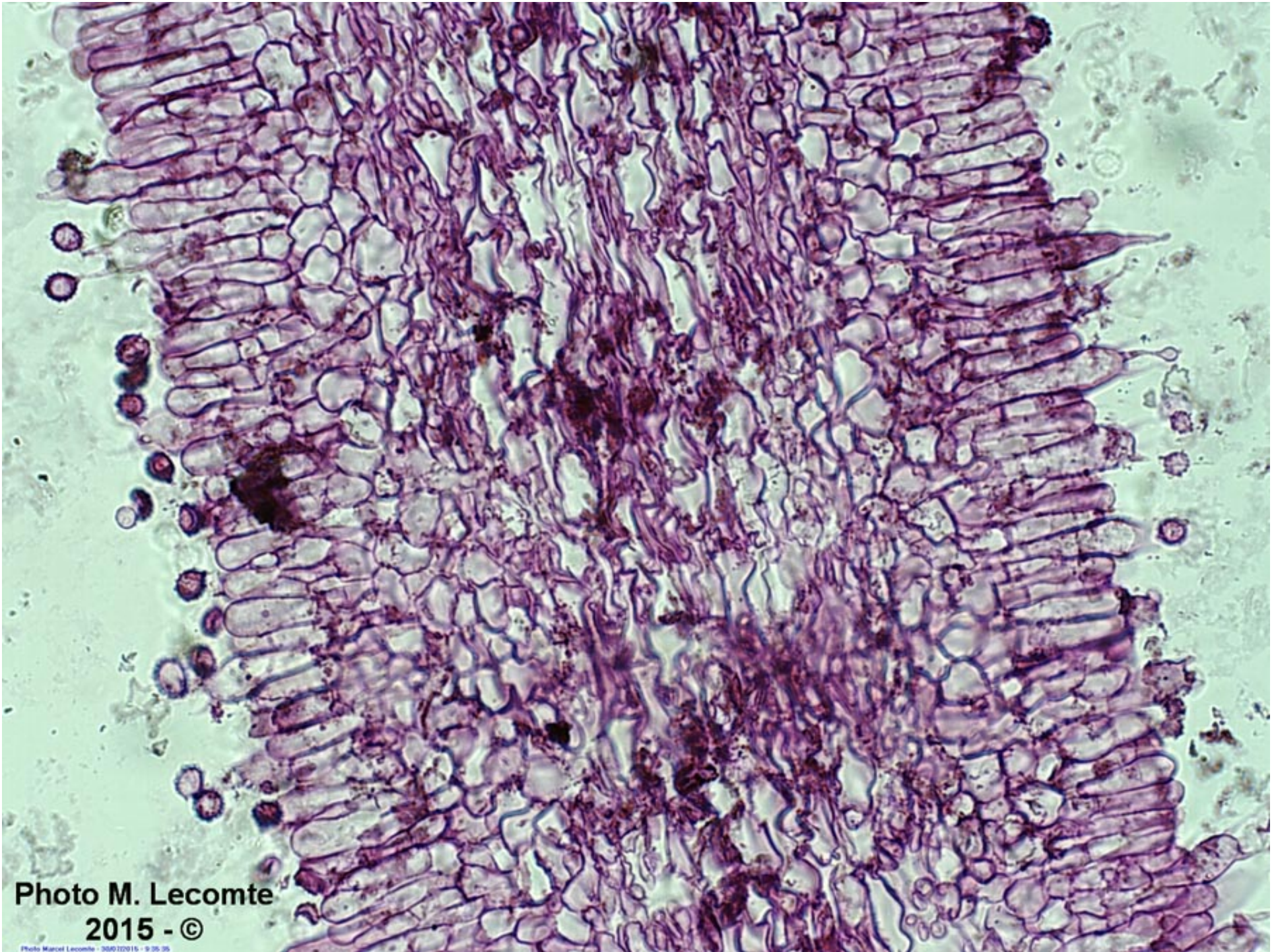
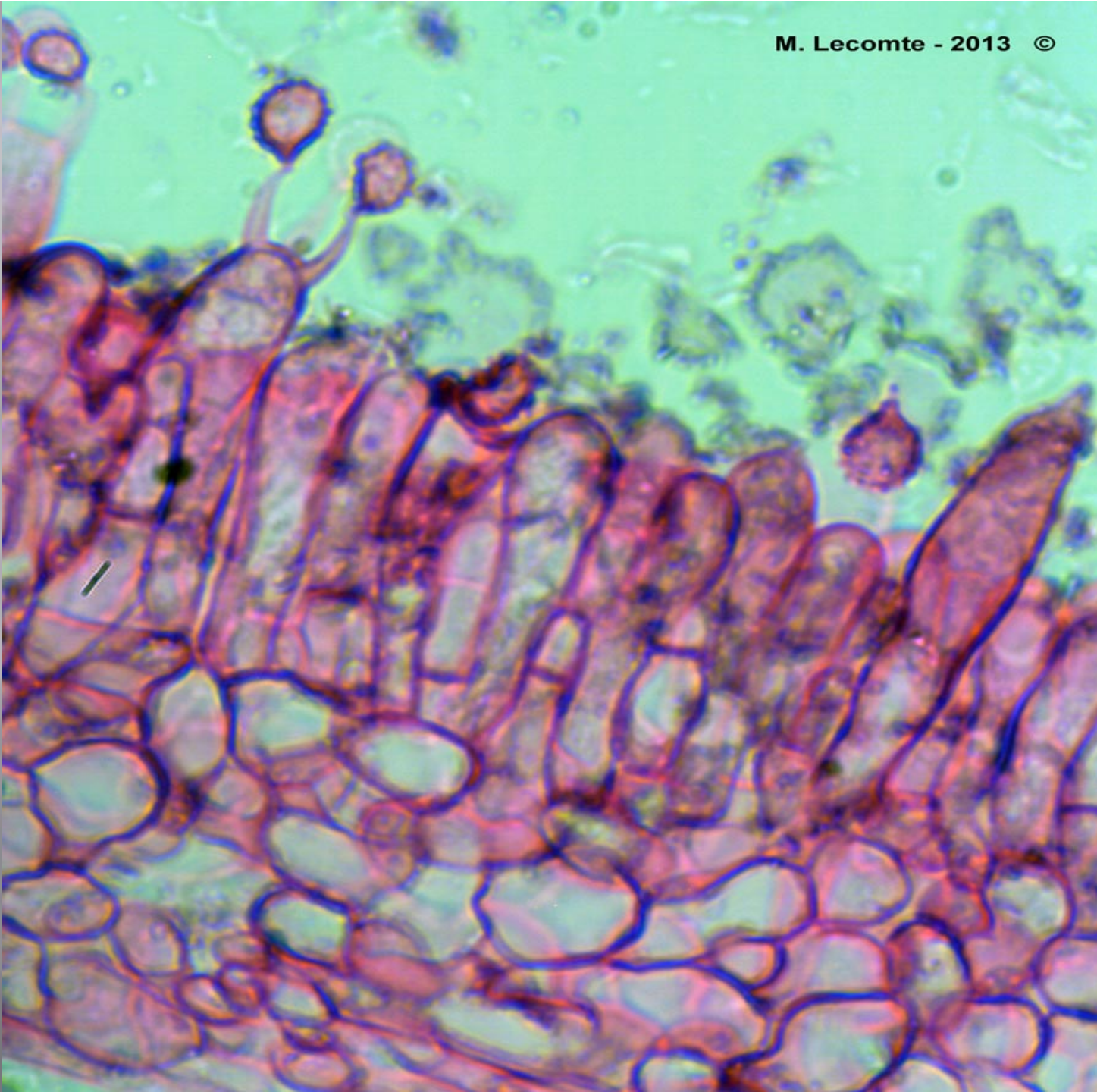


Photo M. Lecomte  
2015 - ©









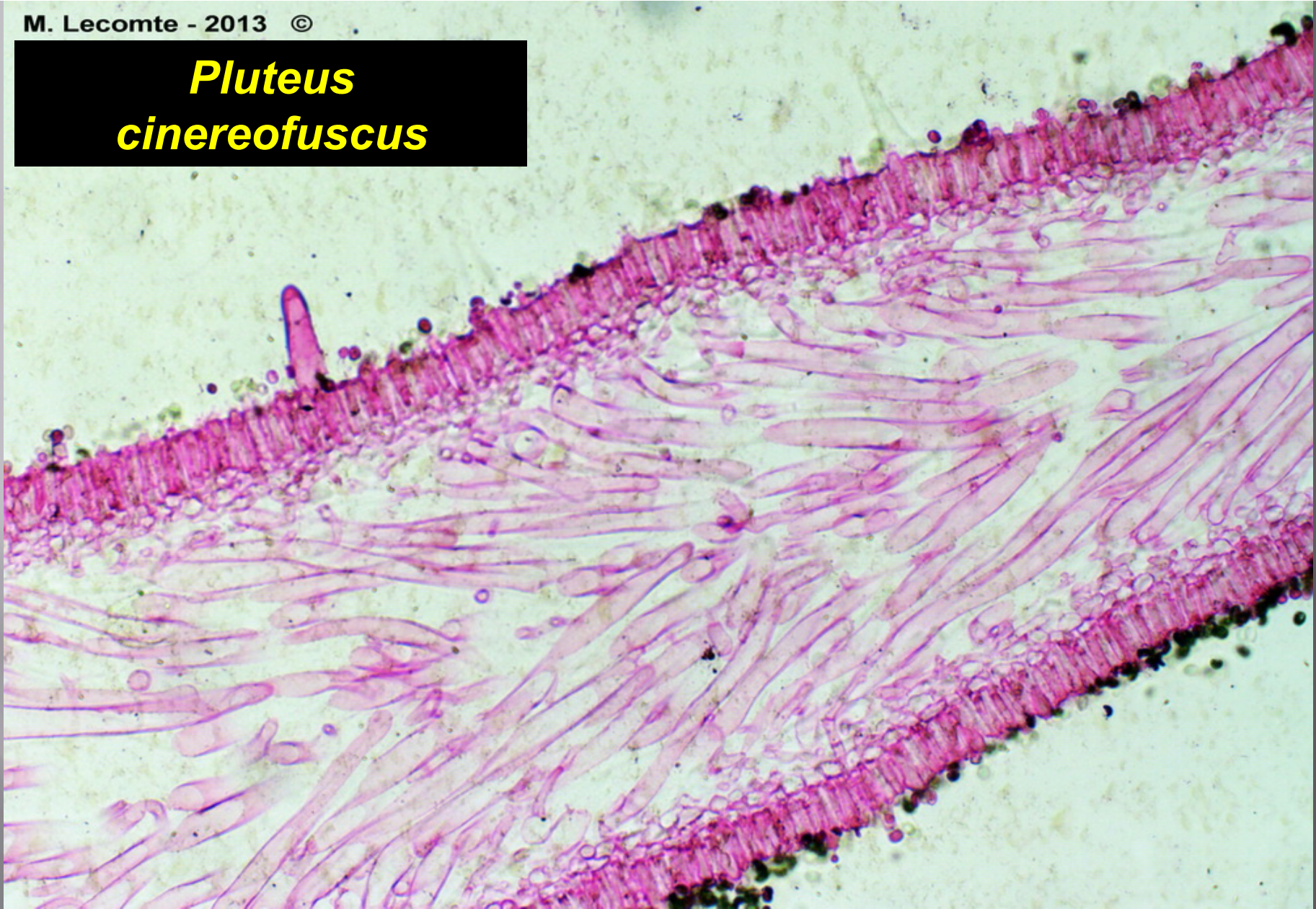
*Tubaria hiemalis*

M. Lecomte - 2013 ©

**Une trame parallèle**



***Pluteus  
cinereofuscus***



**Une trame bilatérale**

## **Exercice :**

**Essais de coupes avec votre matériel (en réaliser une 20taine)**

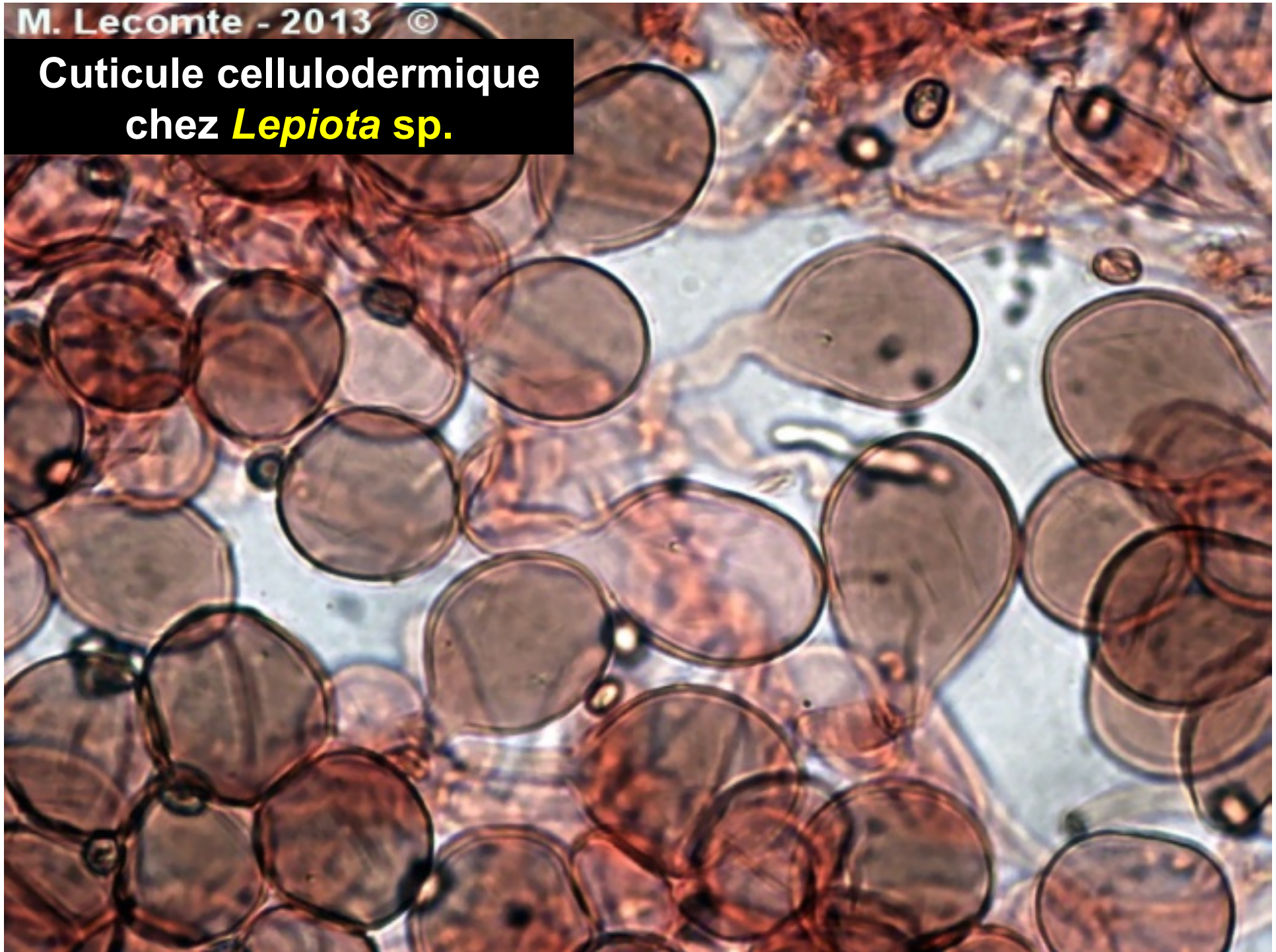
- + les poser dans une goutte d'eau (loupe)**
- + choix de la coupe la plus fine**
- + choix du colorant**
- + rincer abondamment**
- + choix du milieu d'observation**
- + observer et déterminer le type de trame**



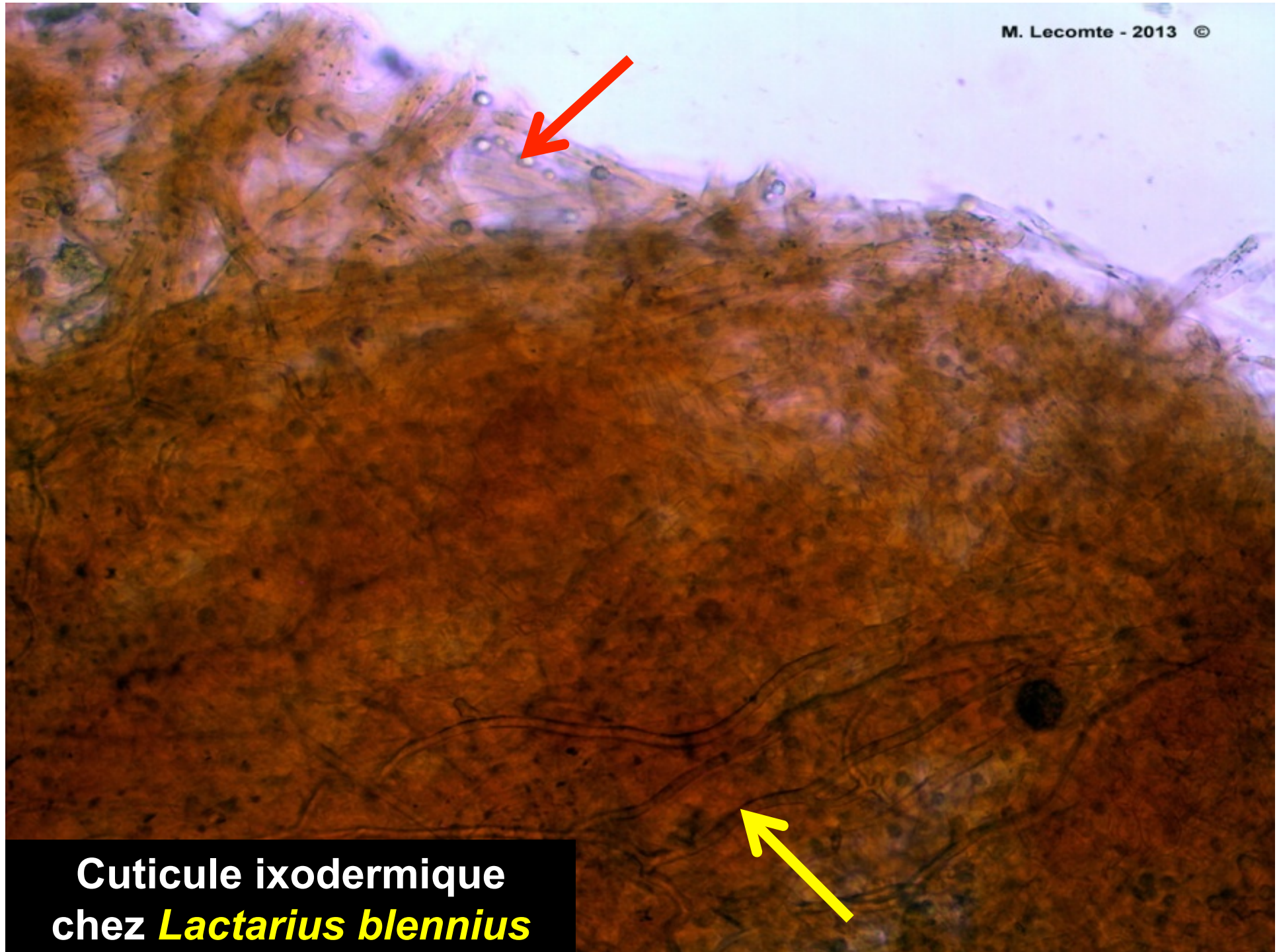
**Les types  
de  
CUTICULES**

M. Lecomte - 2013 ©

**Cuticule cellulodermique**  
chez *Lepiota sp.*







Cuticule ixodermique  
chez *Lactarius blennius*



Cuticule trichodermique chez  
*L. aurantiofulvus*

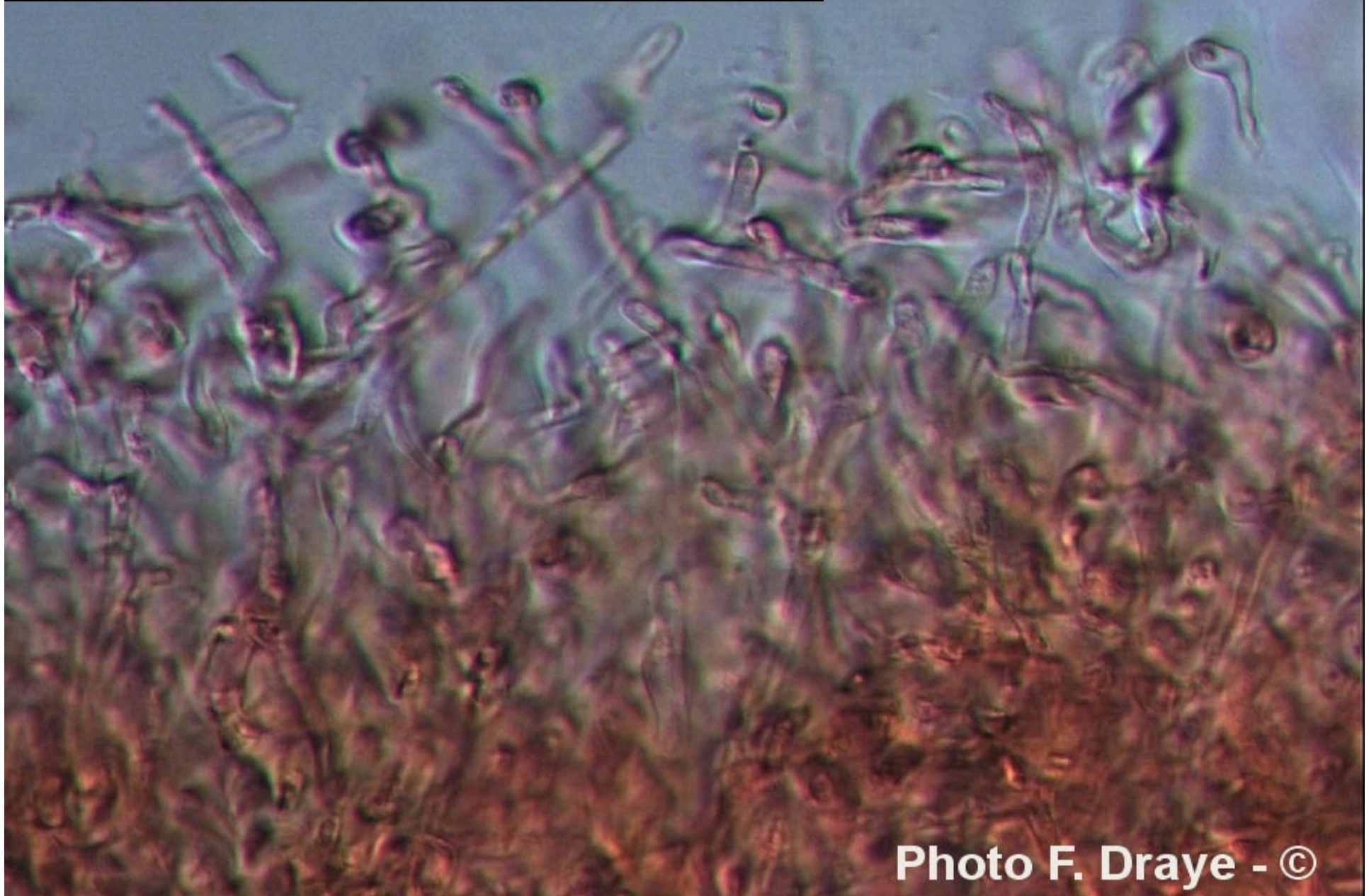
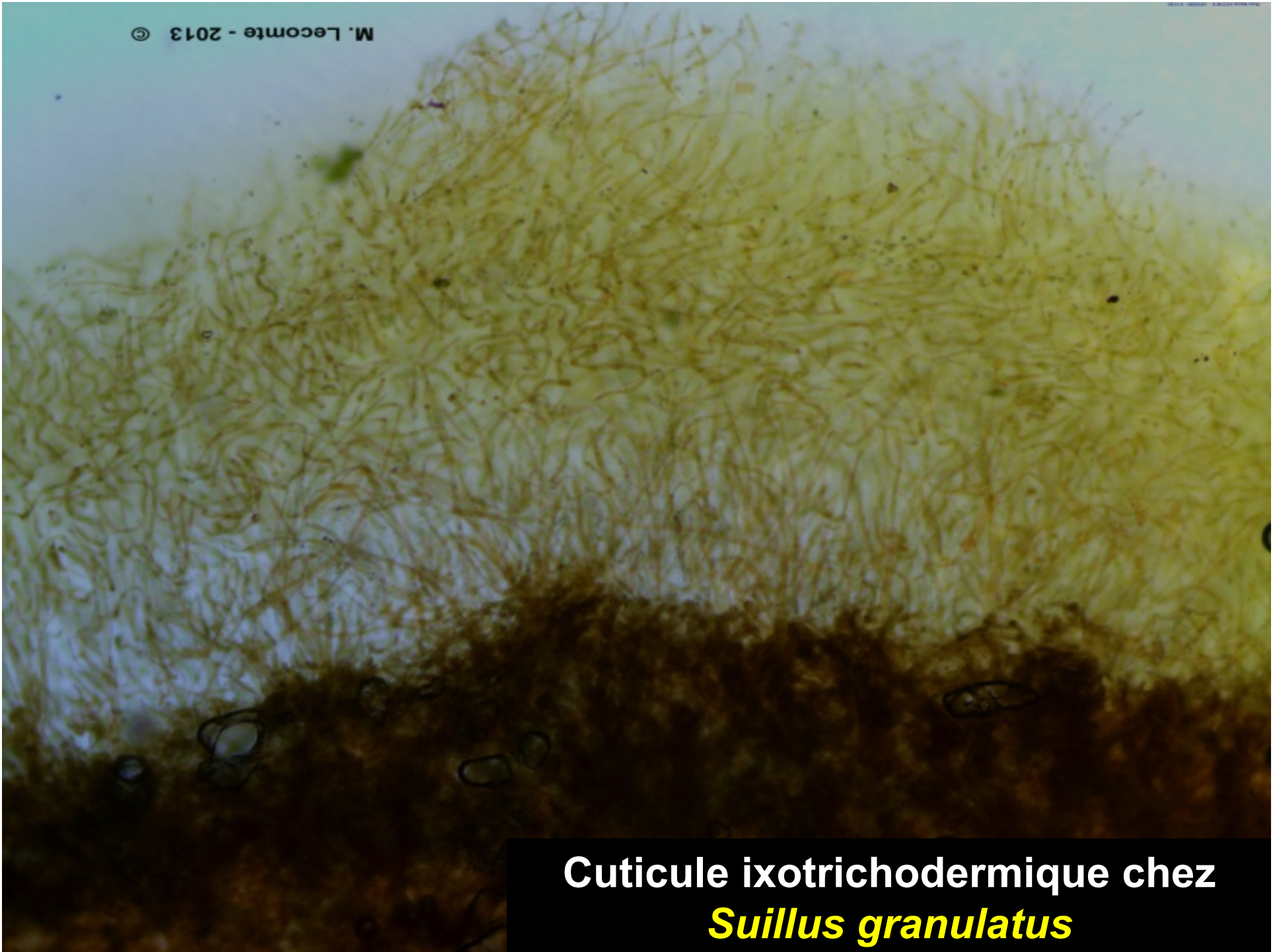


Photo F. Draye - ©



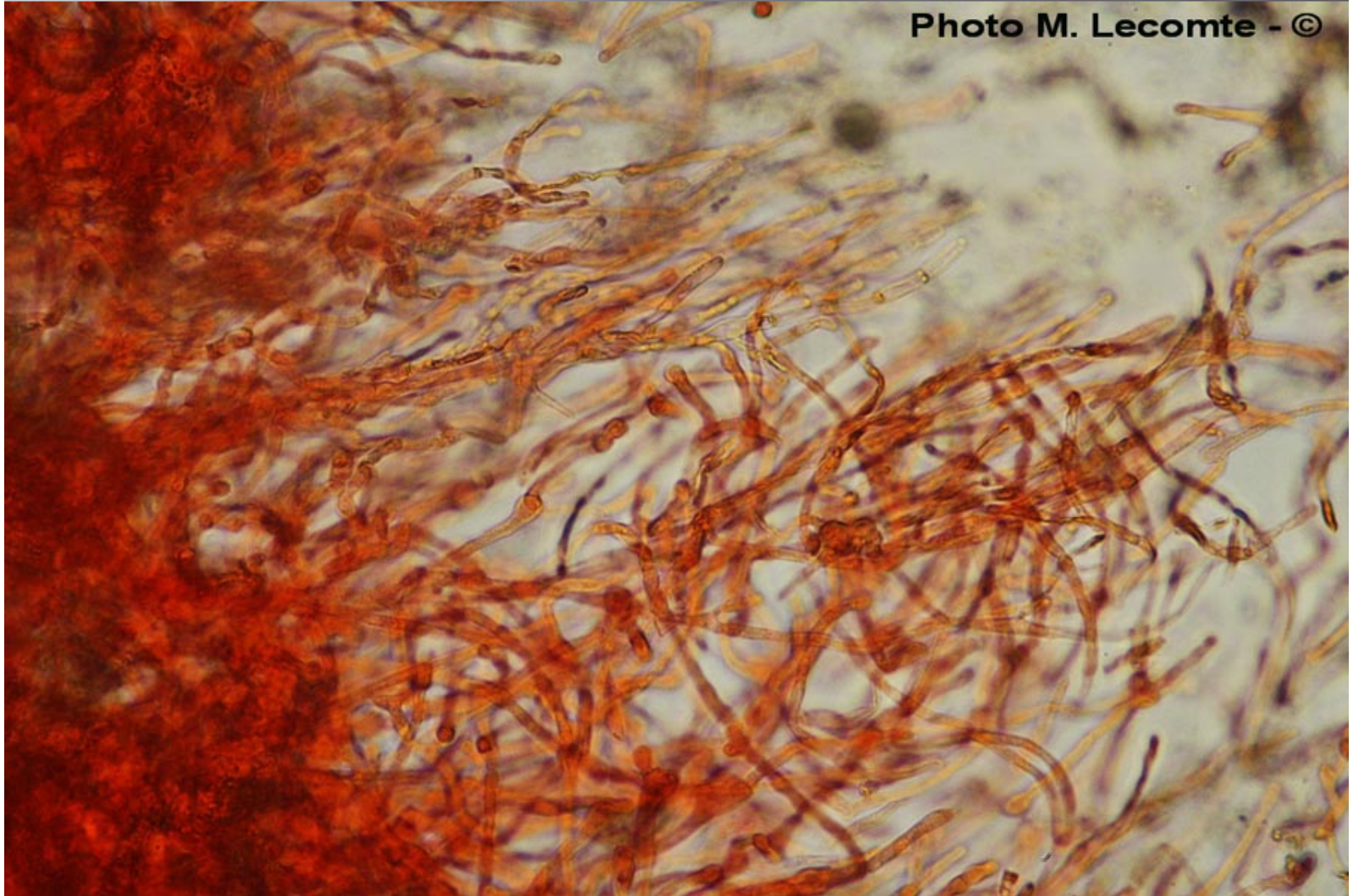


Cuticule ixotrichodermique chez  
*Suillus granulatus*

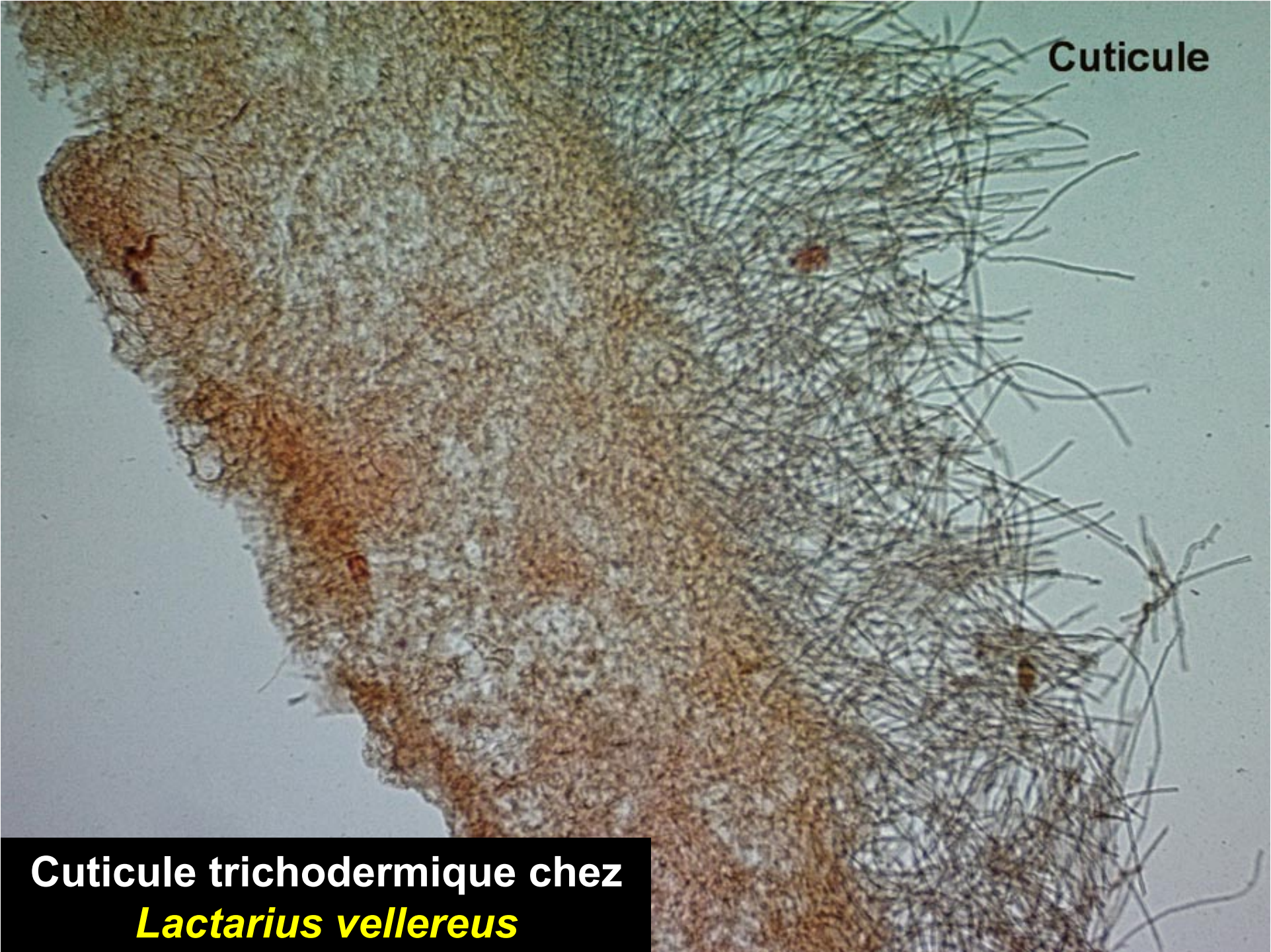


# Cuticule trichodermique chez *Lactarius pallidus*

Photo M. Lecomte - ©





A microscopic image showing a cross-section of a trichodermic cuticle. The cuticle is a thick, multi-layered structure. The outermost layer is a dense, fibrous network of long, thin, needle-like trichomes (hairs) that are oriented in various directions. Below this trichodermic layer is a more compact, multi-layered cuticle. The overall appearance is that of a complex, protective barrier. The label 'Cuticule' is positioned in the upper right corner of the image.

Cuticule

Cuticule trichodermique chez  
*Lactarius vellereus*

**Mes livres  
de référence  
en  
microscopie**



Ed. 2004

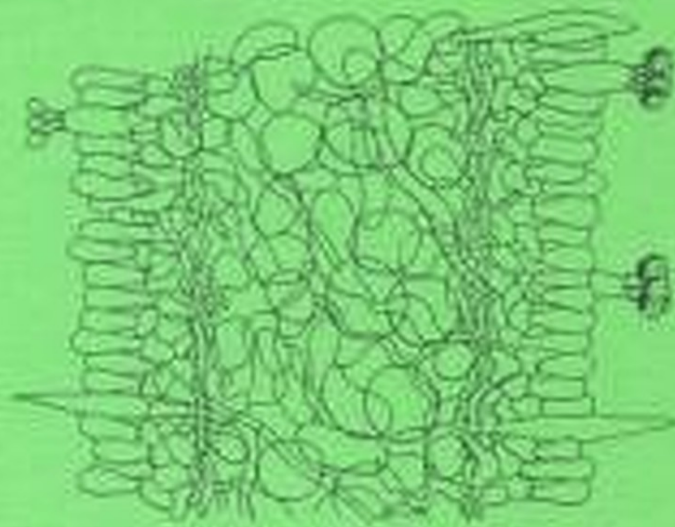
Bibliotheca Mycologica

Volume 199

Heinz Clémenton

with the assistance of Valerie Emmett and Ernest E. Emmett

# Cytology and Plectology of the Hymenomycetes



J. CRAMER in der Gebrüder Borntraeger Verlagbuchhandlung  
BERLIN · STUTTGART 2004

Ed. 2012

Heinz Clémenton

with the assistance of Valerie Emmett and Ernest E. Emmett

# Cytology and Plectology of the Hymenomycetes

2<sup>nd</sup> revised edition



J. Cramer

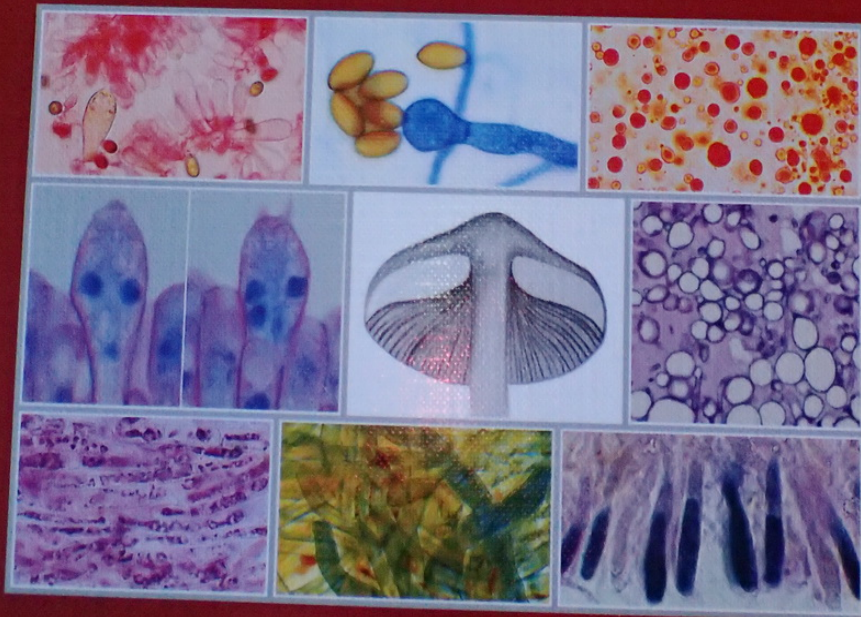
in der Gebrüder Borntraeger Verlagbuchhandlung



HEINZ CLÉMENÇON

# Methods for Working with Macrofungi

Laboratory Cultivation and Preparation of  
Larger Fungi for Light Microscopy



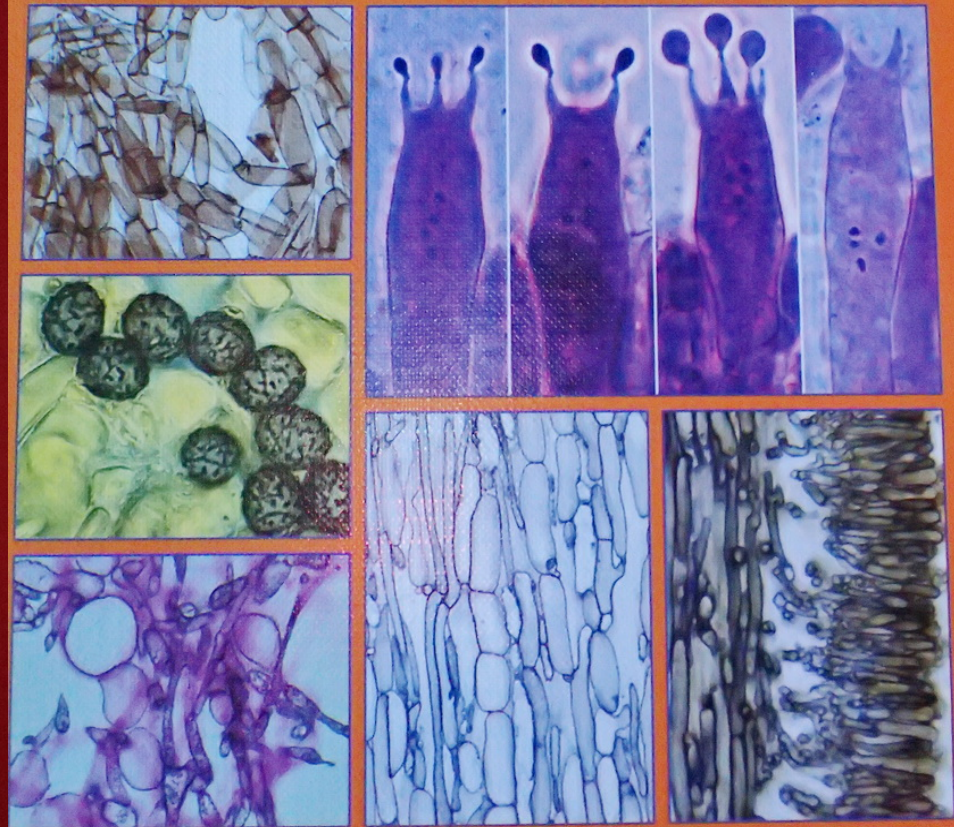
IHW-Verlag  
2009

Ed. 2009

Deutsche Gesellschaft für Mykologie  
Beiheft zur  
Zeitschrift für Mykologie **Band 12**

HEINZ CLÉMENÇON

# Großpilze im Mikroskop



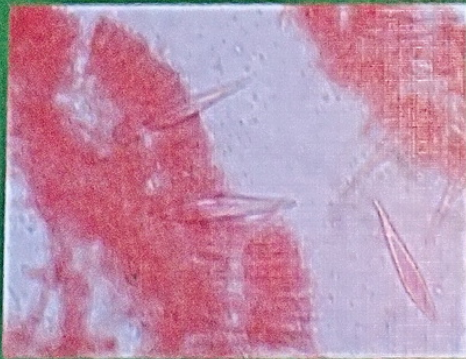
2012

Ed. 2012



Maria Teresa Basso

# Manuale di Microscopia dei Funghi

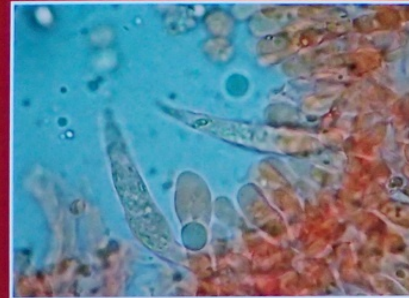


Libreria Mykoflora  
Alassio

**Ed. 1999**

Maria Teresa Basso

# Manuale di Microscopia dei Funghi vol. 2



Libreria Mykoflora  
Villanova d'Albenga

**Ed. 2012**



M. LANGERON

---

PRÉCIS  
DE  
MICROSCOPIE



COLLECTION DE PRÉCIS MÉDICAUX  
MASSON & C<sup>o</sup>

Ed. 1942

M. LANGERON

---

PRÉCIS  
DE  
MYCOLOGIE



COLLECTION DE PRÉCIS MÉDICAUX  
MASSON & C<sup>o</sup>

Ed. 1945



Une synthèse actualisée de tout cela :



# MICROSCOPIE & CHAMPIGNONS

MICROSCOPIE ET CHAMPIGNONS - MARCEL LECOMTE

MARCEL LECOMTE

Éditeur responsable : A.M.F.B. (Association des Mycologues Francophones de Belgique)  
Auteur : Marcel Lecomte  
Publié le 15 janvier 2017





**FIN**