

Réactifs et colorants chimiques en mycologie

ATTENTION à la confusion !

Un réactif génère une réaction chimique, constante, stable et répétitive

Un colorant rend visible des éléments hyalins, en améliorant les contrastes, ou en les colorant directement : il peut être sélectif !

**Les INDISPENSABLES
sur le terrain**

Potasse (KOH)

Ammoniaque (NH₄OH)

Soluté de Gaïac

Phénol

Sulfate de fer (cristal ou solution)

La potasse

“ Potasse ” est le terme courant pour désigner l’hydroxyde de potassium (KOH), qui se présente sous forme de pastilles blanches. La potasse est fortement hygroscopique, c’est-à-dire qu’elle a une grande tendance à absorber la vapeur d’eau de l’atmosphère.

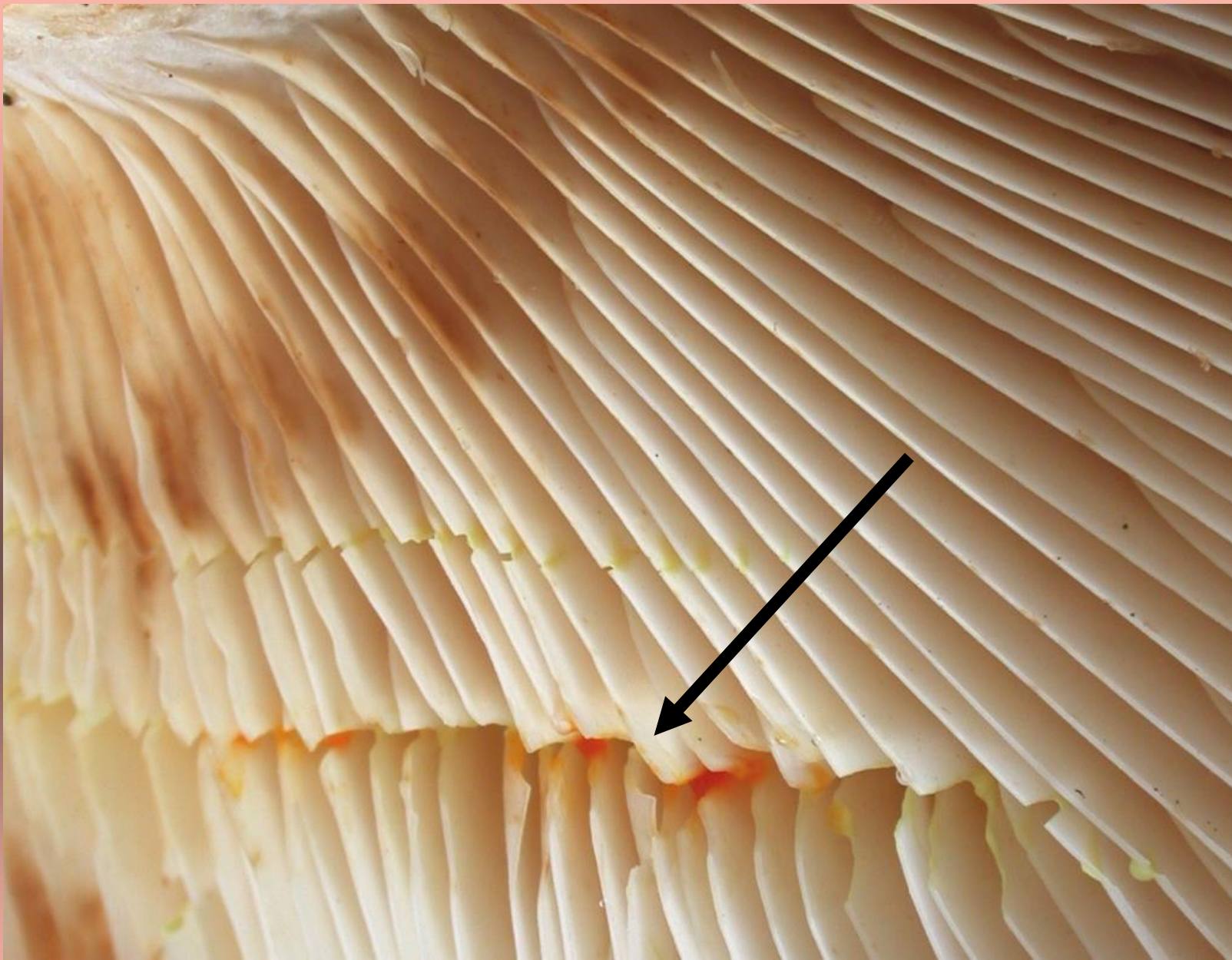
La potasse est une base : pH supérieur à 7.

Avec un produit trop vieux ou trop peu concentré, les réactions énoncées ci-dessous se marquent moins ou pas du tout.

Avec un produit trop concentré et donc trop agressif, tout finit par réagir et plus rien n’est interprétable.

La concentration en potasse à 10 % est essentiellement utilisée pour l’étude macroscopique des sporophores.

On obtient à peu près les mêmes réactions avec la soude, ou hydroxyde de sodium (NaOH)



Le lait blanc jaunissant devient orangé chez *Lactarius aquizonatus*



Réaction vive sur le chapeau de *Lactarius circellatus*



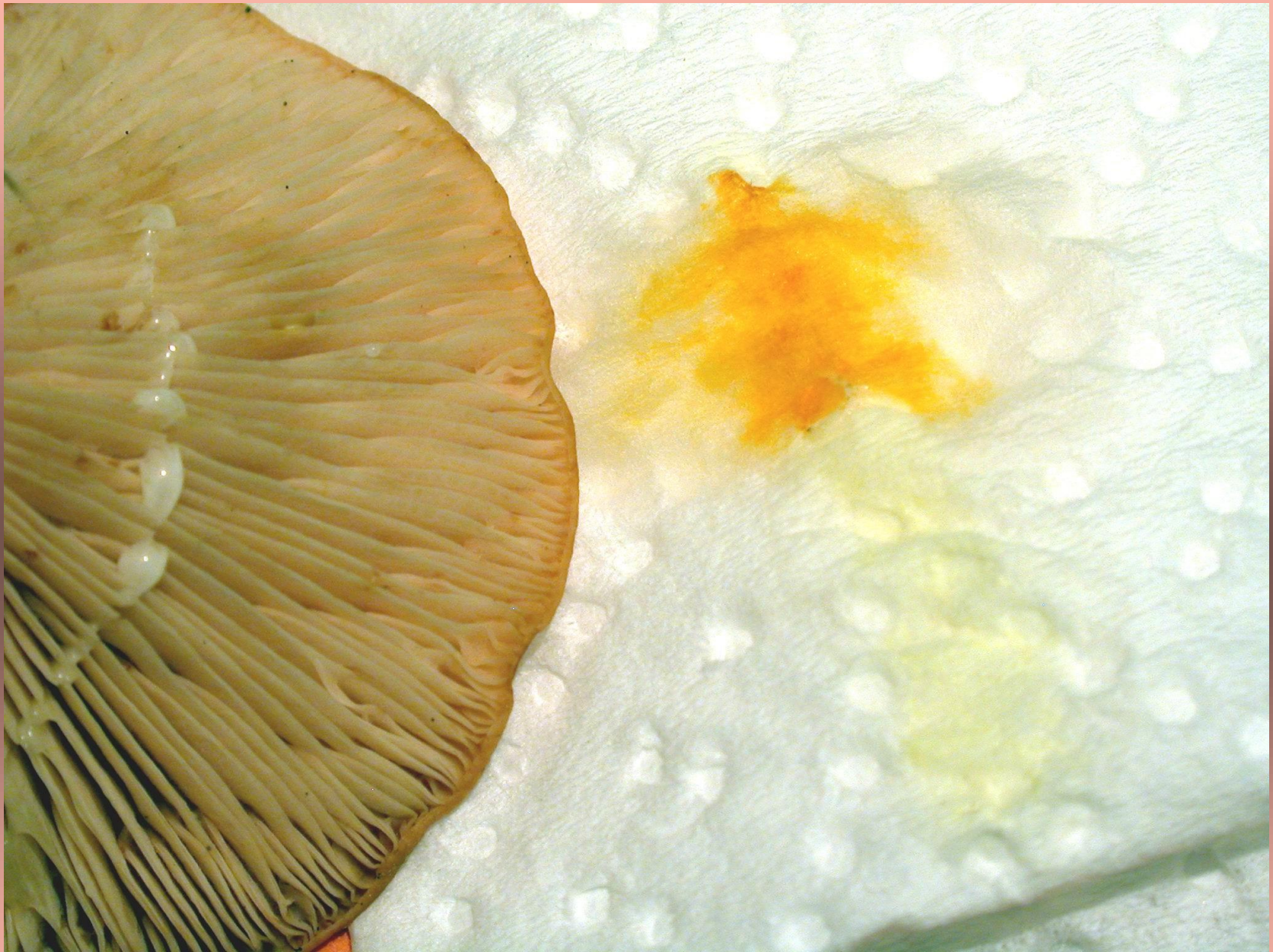
Réaction pourpre sur la cuticule de *Cortinarius elegantissimus*



Le lait blanc verdissant devient orangé chez *Lactarius glaucescens*



Réaction jaune citron vif sur la cuticule d' *Amanita virosa*



Le lait blanc jaunissant devient orangé chez *Lactarius tabidus*



Virage vers orange clair chez *Russula subfoetens*



Le lait blanc devient orangé chez *Lactarius pyrogalus*



Réaction orangé rougeâtre chez *Cortinarius largus*



Réaction rougeâtre à la base du pied de *Russula insignis*

L'ammoniaque

L'ammoniaque est une solution aqueuse concentrée d'ammoniac (NH_3), qui est un gaz à l'odeur extrêmement irritante. Les solutions commerciales contiennent généralement entre 20 et 30 % de ce gaz.

Filtrer la solution commerciale concentrée, ou mieux encore, utiliser de l'ammoniaque destinée aux travaux de laboratoire (ne se trouve que chez les fournisseurs spécialisés).

L'ammoniaque concentrée a le pouvoir de ramollir les hyphes des champignons frais et de regonfler les exsiccata.

C'est, de plus, le solvant de colorants tels que le rouge Congo ou le vert d'anthracène.



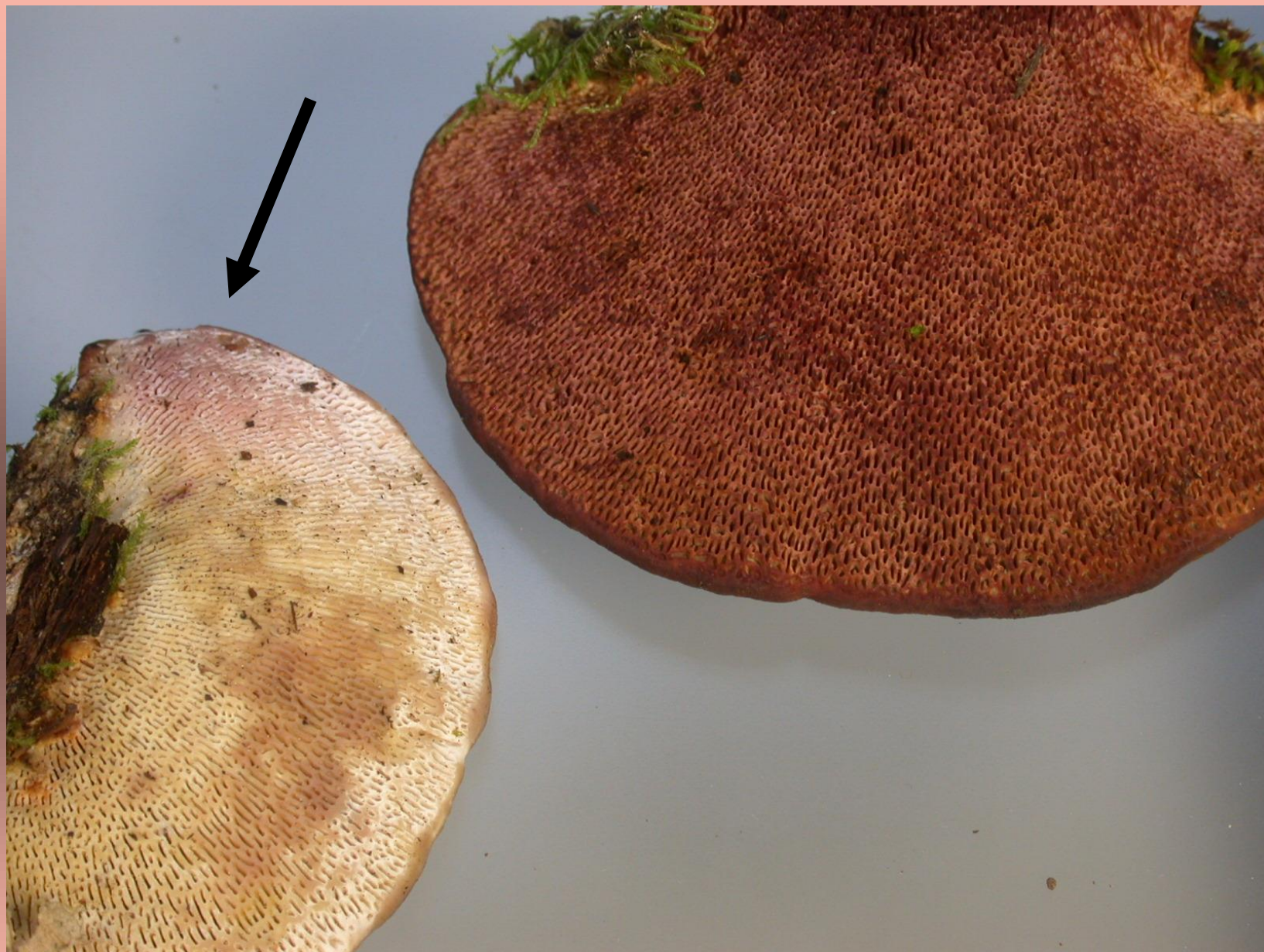
Réaction violette chez *Hapalopilus* sp.



**Réaction violette chez
*Hapalopilus rutilans***



Réaction violette chez *Lactarius necator*



Réaction violette chez *Daedaleopsis confragosa*



Réaction orange rouge chez *Xerocomus leonis*



Réaction rouge chez *Russula sardonia*

Le soluté de gaïac

La base de ce réactif est une résine extraite d'arbres d'origine américaine : le *Guajacum officinale* et le *Guajacum sanctum*.

On utilisait autrefois la solution de résine de gaïac dans différents tests biochimiques permettant de déceler la présence de sang dans les selles.

Insérer dans la fiole un barreau magnétique. Laisser une nuit sur agitateur magnétique à une vitesse modérée (250 t/min), et enfin filtrer.

D'un point de vue biochimique, la résine de gaïac met en évidence les phénoloxydases. Celles-ci sont des enzymes qui ont la propriété d'oxyder les composés phénoliques grâce à l'oxygène de l'air (O₂). Si on soumet à l'action d'une phénoloxydase (d'origine fongique) un composé phénolique qui lui est adapté, alors on obtient toujours des produits, qui peuvent être colorés ou non

Dans la résine de gaïac, le composé phénolique responsable de la réaction est l'acide β -guaiaconique, qui, sous l'action des phénoloxydases fongiques, donne un produit coloré en bleu ou en vert

Il arrive que la réaction n'ait pas lieu du tout, ou qu'elle donne une coloration jaunâtre.



Réaction vert bleuâtre chez *Russula amoenolens*



Réaction chez *Russula brunneoviolacea*

photo M. Paquay



Réaction chez *Entoloma aprile*

Gaïac vert bleuâtre



Réaction chez *Russula violeipes*



Réaction chez *Russula xerampelina*

Le phénol

Le phénol (C_6H_5OH) est un des premiers termes de la grande famille des composés aromatiques, qui sont des molécules organiques (c'est-à-dire contenant du carbone), cycliques, et dont l'odeur est souvent assez remarquable, d'où leur nom.

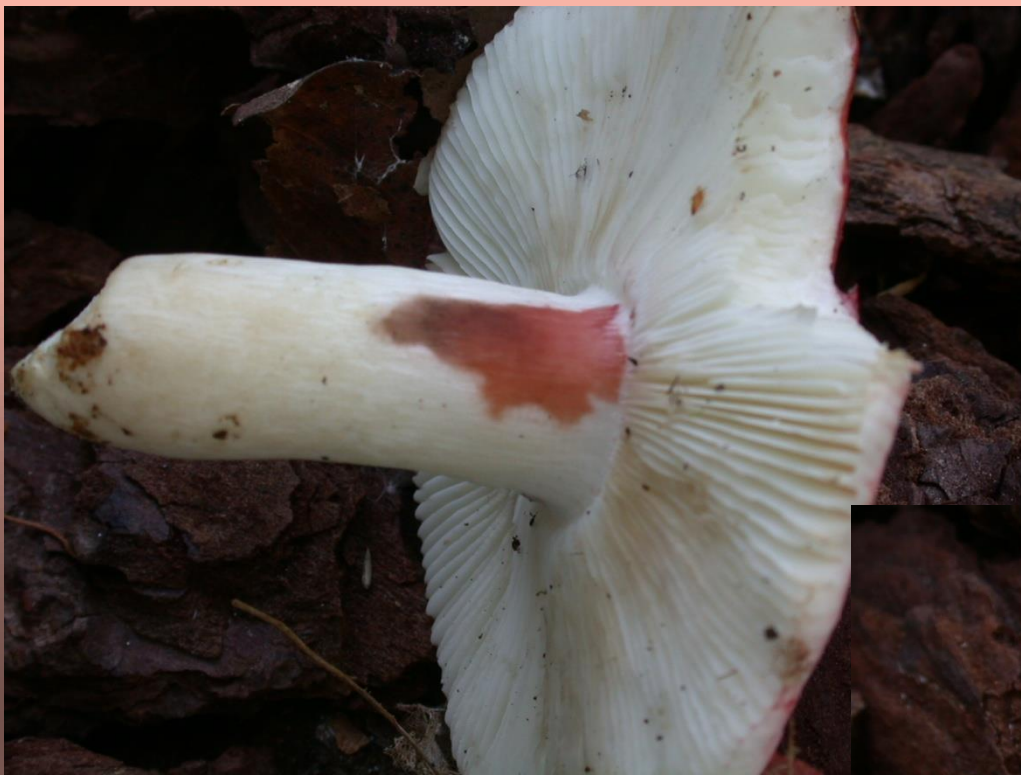
Il se présente sous forme de petits cristaux blancs, ou légèrement roses s'il est quelque peu impur (même très peu) ; son odeur est forte, caractéristique et désagréable

Le phénol provoque en général, sur la chair des champignons, des réactions brunâtres et lentes. L'absence de réaction est, avec le phénol, au moins aussi intéressante que la réaction elle-même, qui est trop banale.

En microscopie, on utilise le phénol en association avec d'autres produits (acide lactique, hydrate de chloral, glycérine, etc.), et parfois avec des colorants, comme ingrédient dans de nombreux milieux de montage de grande qualité (lactophénol, chloral-lactophénol, chloral-phénol, bleu coton au lactophénol, etc.).



Réaction violette sur la chair chez *Amanita crocea*



Evolution du rose au pourpre chez *Russula emetica* var. *sylvestris*



Evolution du rose au pourpre chez *Russula emetica* var. *sylvestris*



Réaction rouge groseille sur le pied de *Russula olivacea*



photo P. Pirot

Réaction pourpre sur le pied de *Russula olivacea*



Réaction pourpre sur les lames de *Russula pseudodelica*

Le sulfate de fer

Il existe deux variétés de sulfate de fer : le sulfate ferreux, ou sulfate de fer (II), dont la formule est FeSO_4 , et le sulfate de fer (III), ou sulfate ferrique, qui répond à la formule $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$.

C'est le sulfate ferreux que l'on utilise en mycologie. Celui-ci peut être soit anhydre (libre de toute molécule d'eau), soit hydraté. C'est la forme hydratée, que l'on appelle aussi cristallisée, qui est la plus employée.

Les mycologues préfèrent utiliser le cristal de sulfate ferreux, qui s'oxyde beaucoup moins rapidement que la solution mais il y a du changement).

En effet, la solution de sulfate ferreux, stabilisée à l'acide sulfurique (P. Dufour), reste limpide et ne vire plus du vert au rouille.

Les résultats obtenus avec cette solution aqueuse sont nettement meilleurs qu'avec le cristal

Le sulfate de fer est surtout employé lors de la détermination des russules, chez lesquelles il provoque des réactions variées



Réaction vert sombre sur coupe dans *Russula pseudodelica*



Réaction rose chez *Russula foetens*



Réaction orangée chez *Russula heterophylla*

Gaiac vert bleuâtre



Réaction rose chez *Russula integra*



Réaction orange clair chez *Russula luteotacta*



Réaction orange clair chez *Russula vesca*



Réaction vert émeraude chez *Russula xerampelina*



Réaction mauve violet chez *Lyophyllum connatum*

Les INDISPENSABLES en microscopie

```
graph TD; A[Les INDISPENSABLES en microscopie] --- B[Rouge Congo]; A --- C[Bleu de méthyle]; A --- D[Réactif de Melzer];
```

Rouge Congo

Bleu de méthyle

Réactif de Melzer

Le rouge Congo

Le rouge Congo a été découvert en 1884 par un chimiste allemand, BÖTTIGER, et il n'a guère rencontré de succès dans l'industrie car il bleuissait dans les solutions acides de l'époque, utilisées pour la coloration des textiles.

La firme AGFA s'y intéressa après avoir découvert que dans une solution neutre, il colorait directement le coton, sans traitement intermédiaire ni préparatoire.

Ce colorant n'a aucun rapport avec l'ancien Congo belge, mais il se trouve que cette année là correspondait à la première exploration de cette région africaine par STANLEY et son inventeur se conforma à l'usage courant de cette époque de nommer une nouvelle substance en faisant référence à un événement important.

C'est un colorant acide, c'est-à-dire qu'il a tendance à se fixer préférentiellement sur les structures basiques. Il colore particulièrement bien les parois des cellules de champignons.

Le Rouge Congo

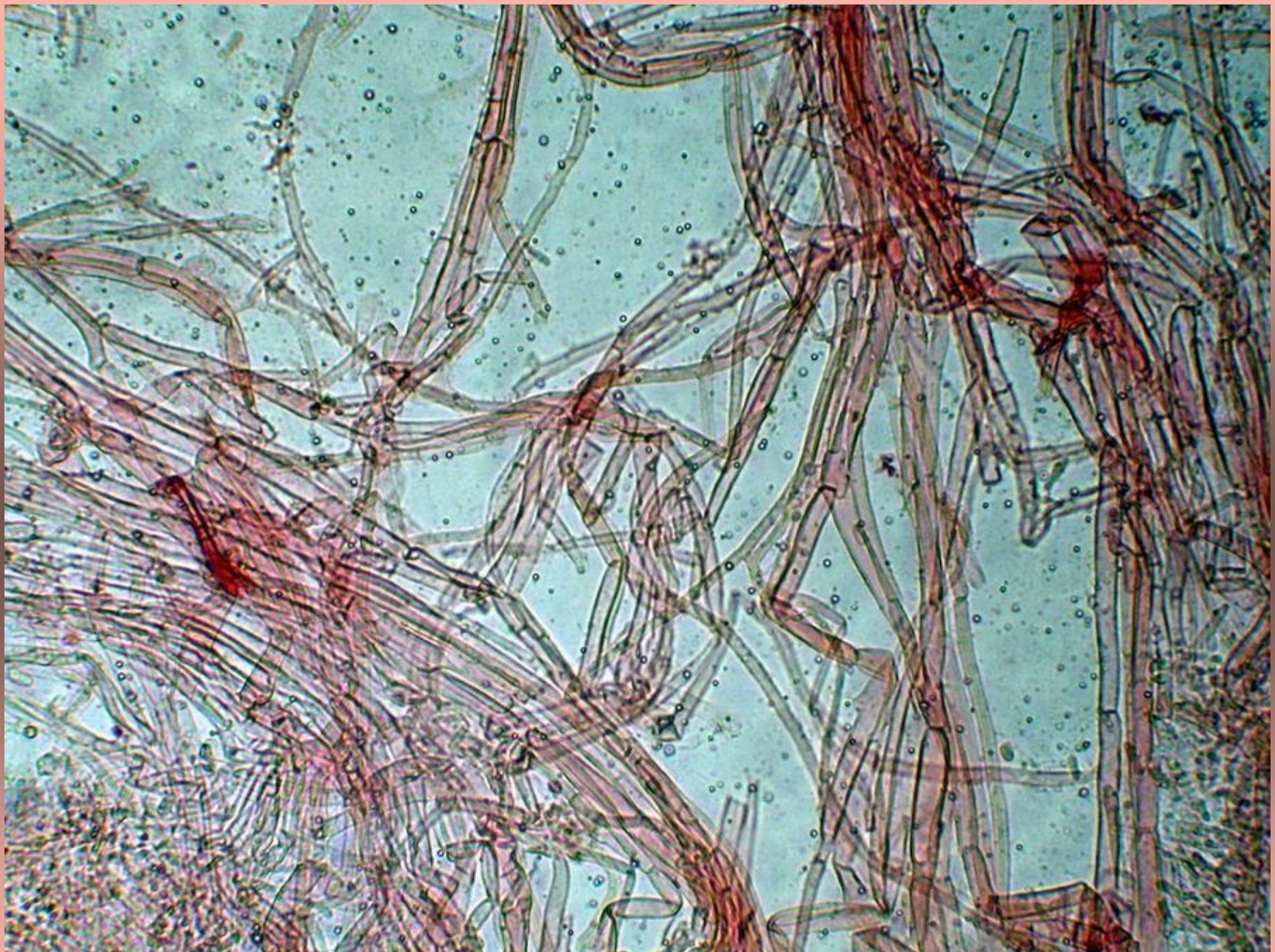
En mycologie, c'est un colorant universel convenant spécialement pour les parois ; c'est pour cela qu'il est très utilisé.

En histologie, il a été utilisé très vite avec beaucoup de succès pour la coloration des cellules éosinophiles, des dépôts pathologiques de protéines, des cellules des muqueuses gastriques, de la kératine, des os embryonnaires, du ciment des jeunes dents, des parois cellulaires d'algues filamenteuses, des polysaccharides... Contrairement à une certaine opinion, le rouge Congo n'est pas un colorant spécifique de la cellulose ou de la chitine.

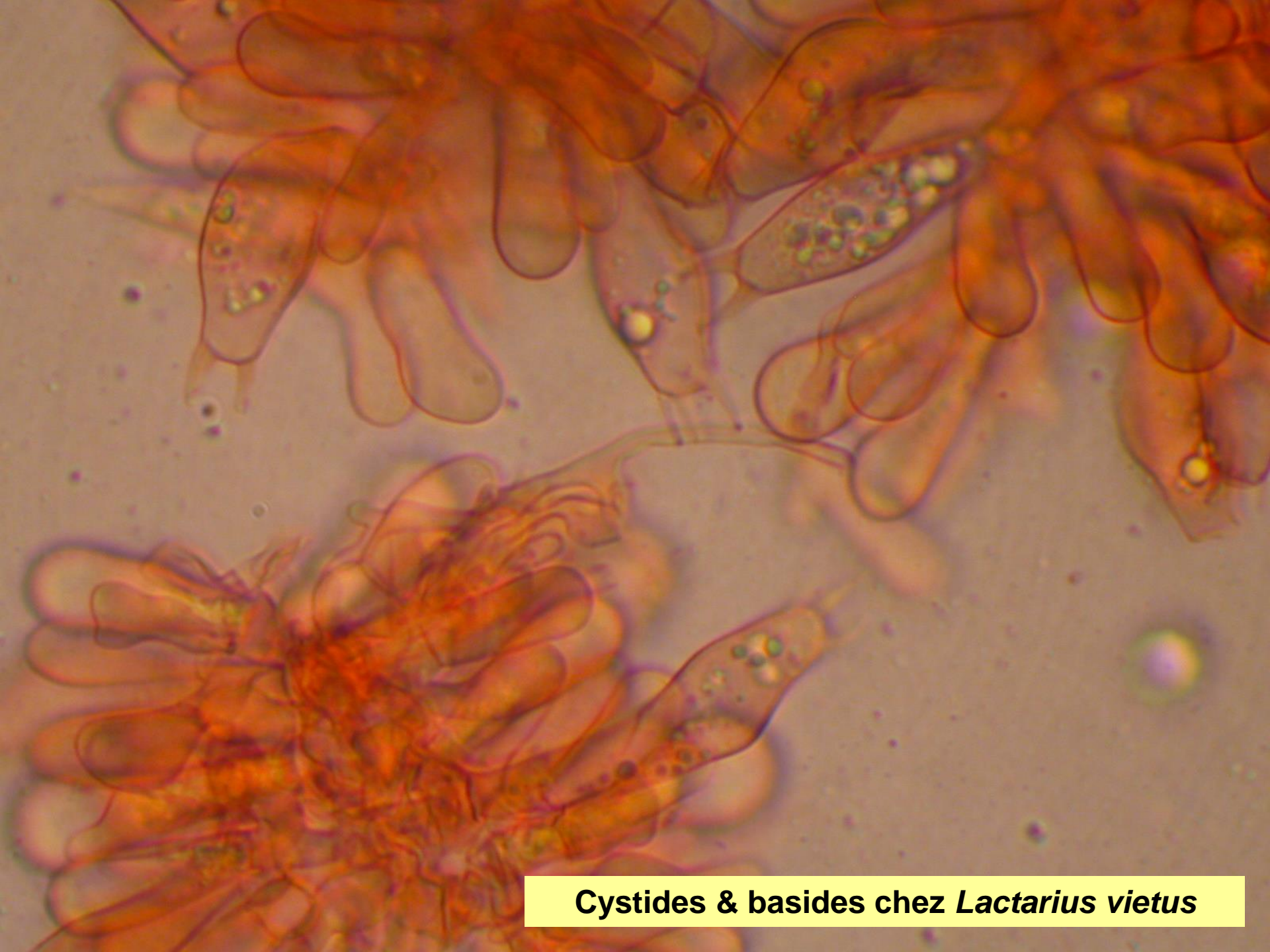
NH₄OH ?

**Le Rouge
Congo**

H₂O + SDS ?



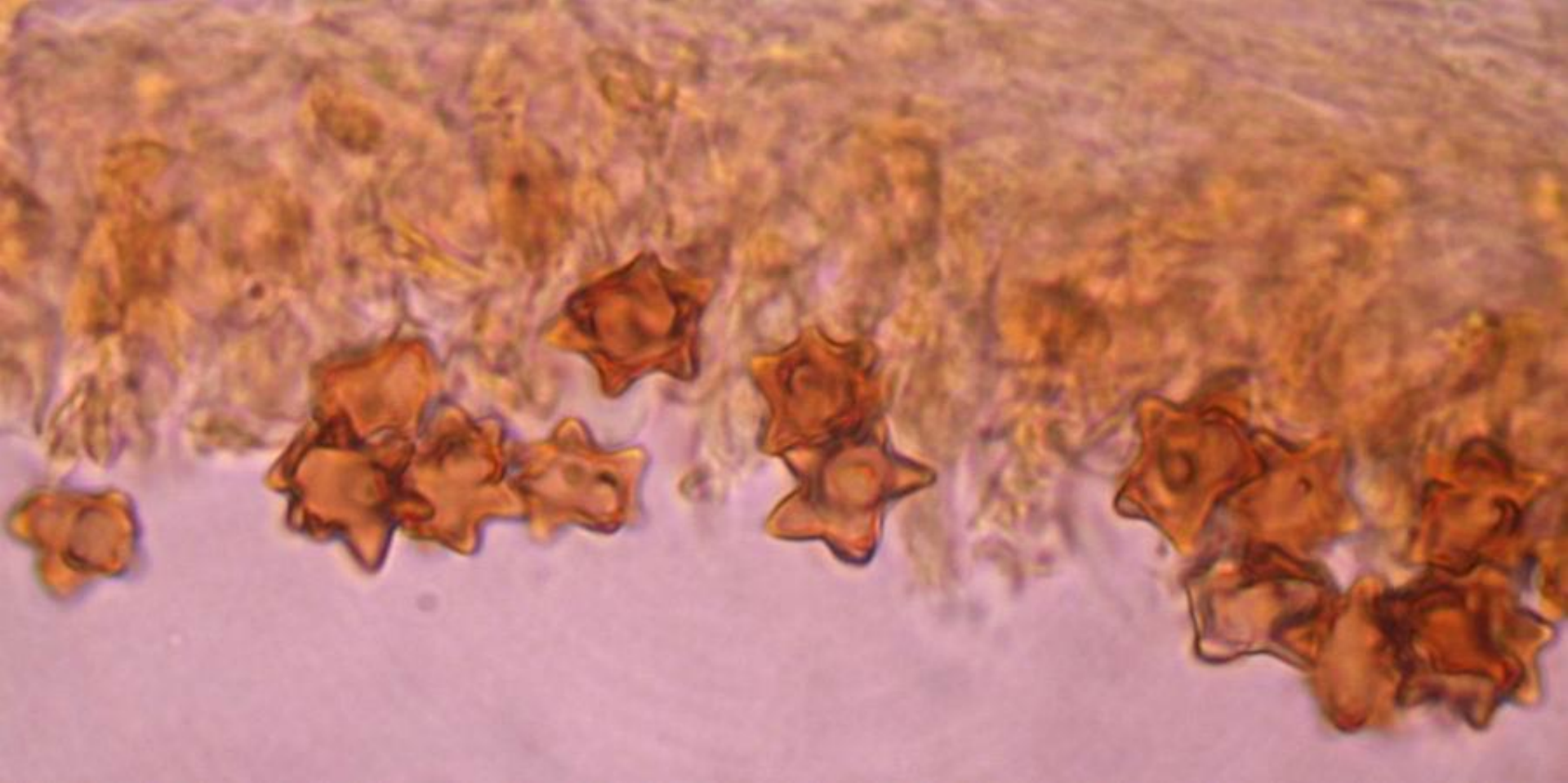
Hyphes chez Shii Take (*Lentinus edodes*)



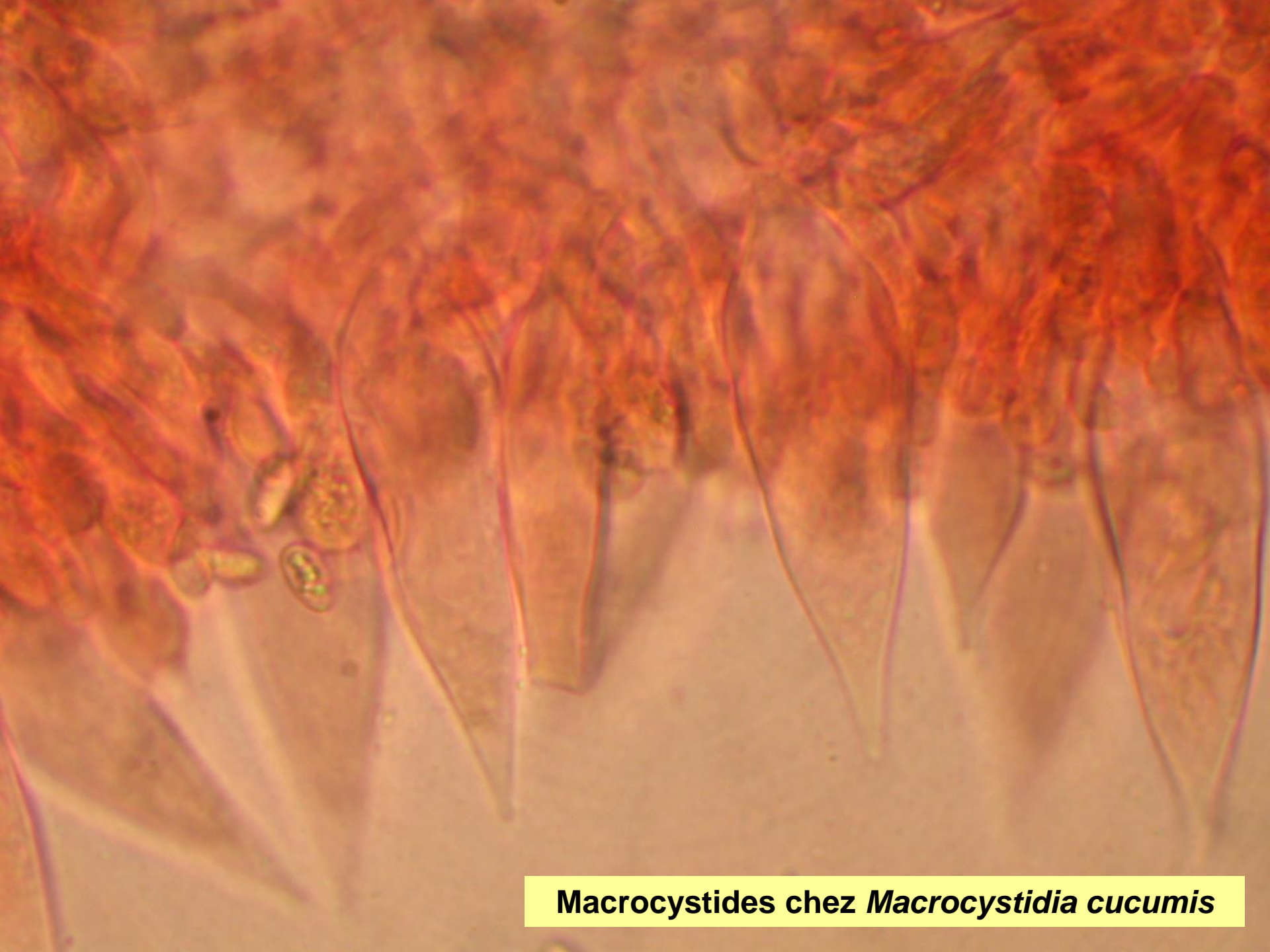
Cystides & basides chez *Lactarius vietus*



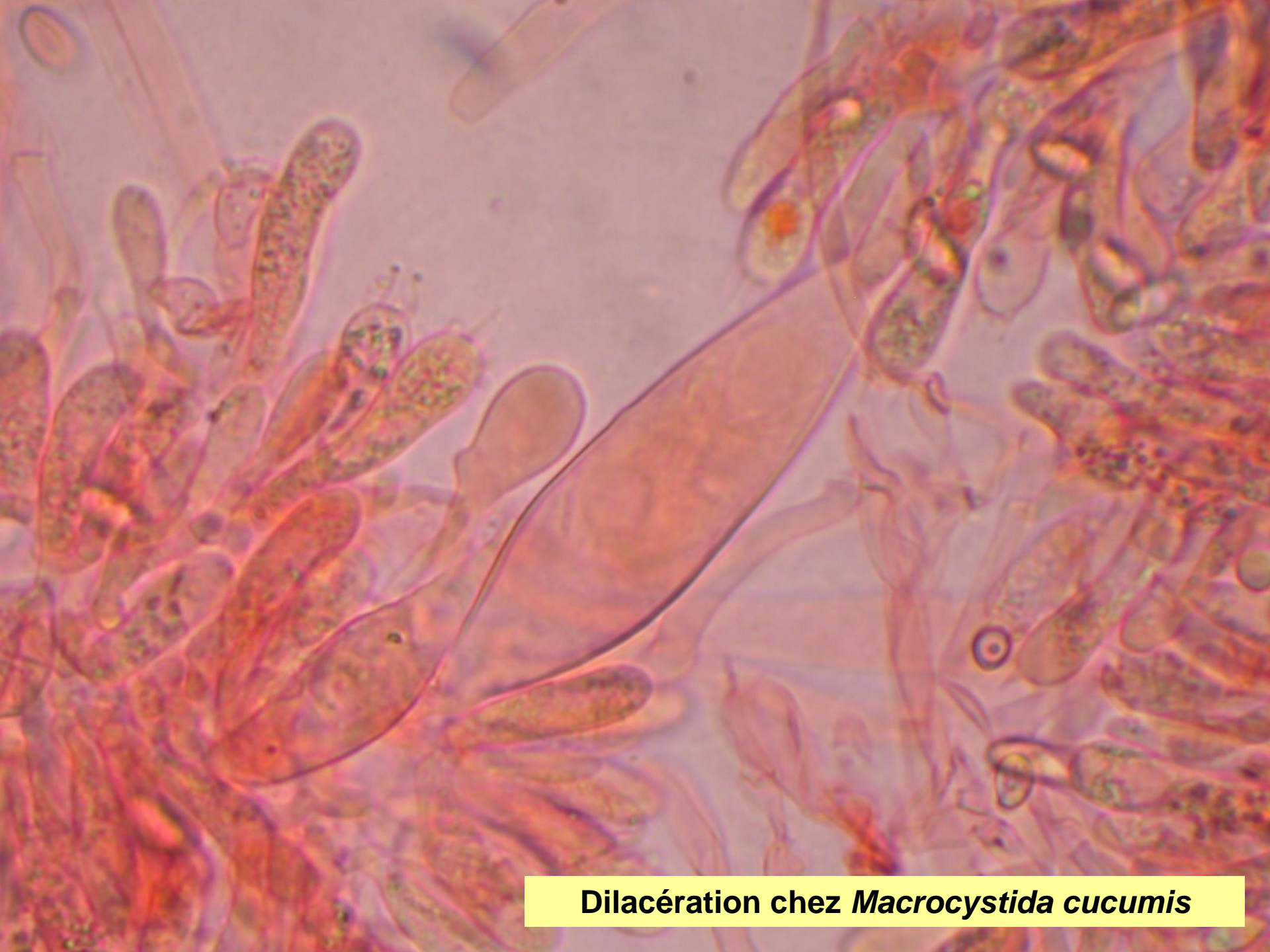
Spores chez *Volvariella gloiocephala*



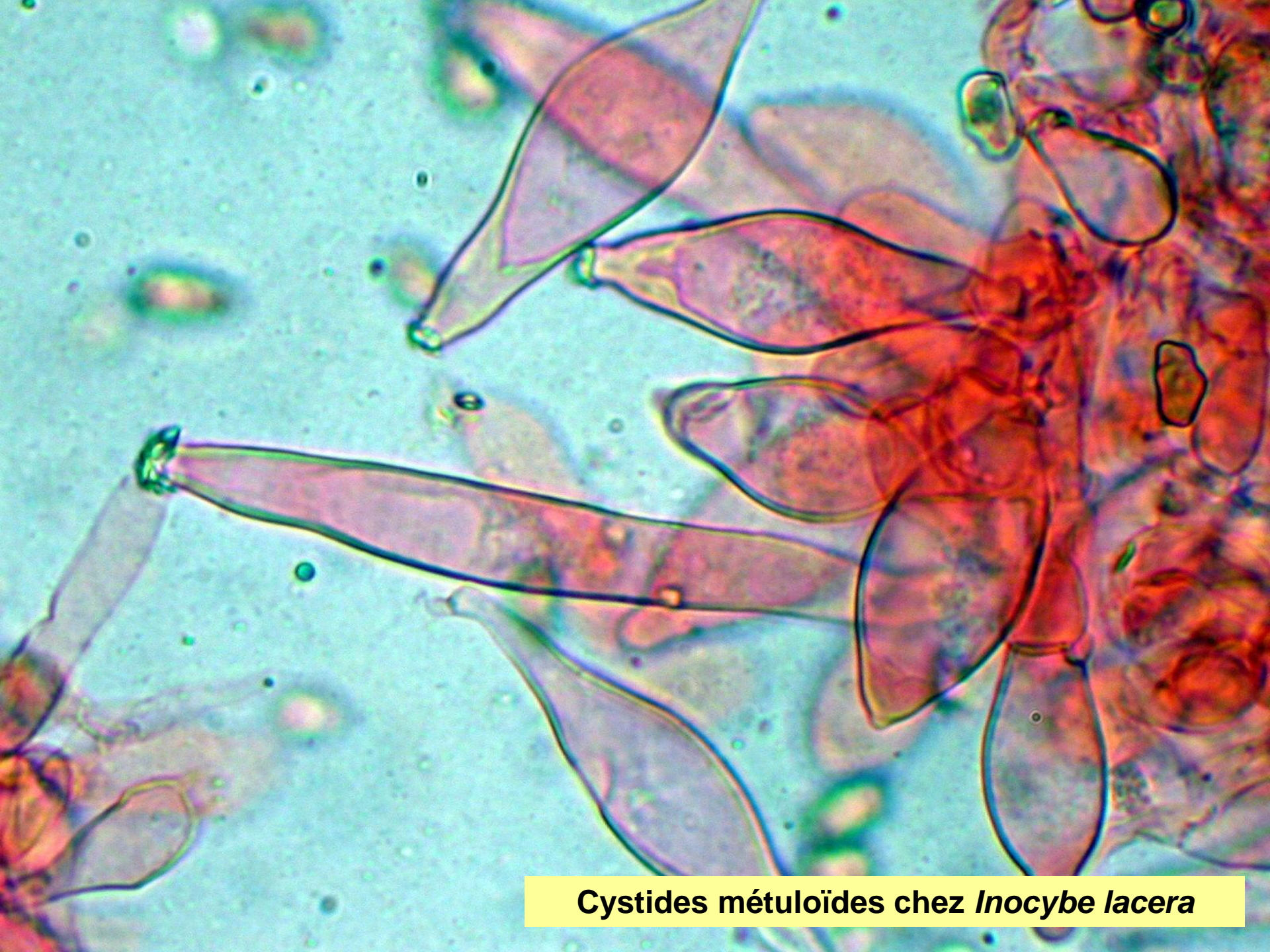
Spores chez *Inocybe asterospora*



Macrocytides chez *Macrocytidia cucumis*



Dilacération chez *Macrocystida cucumis*



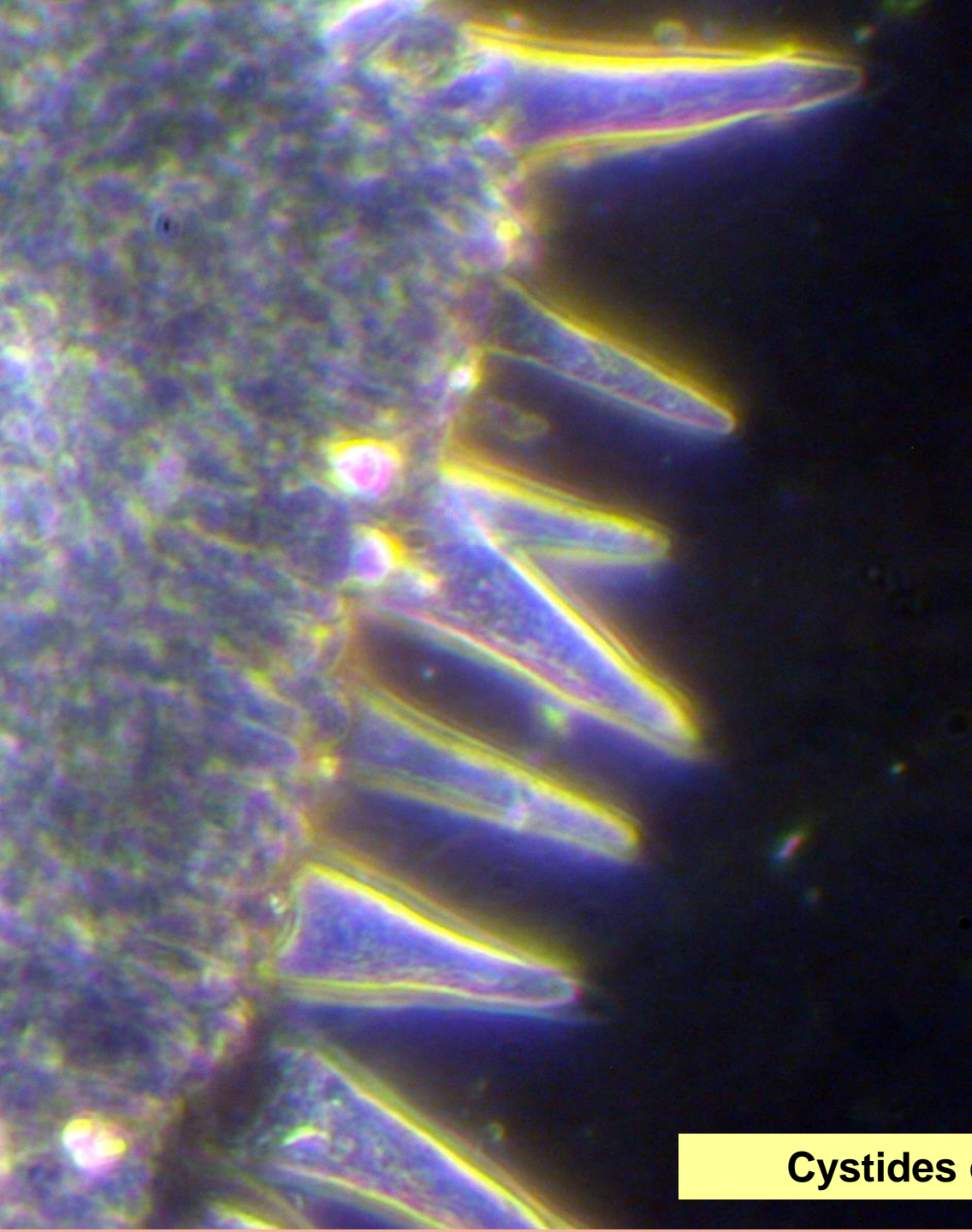
Cystides métuloïdes chez *Inocybe lacera*



Cystides métuloïdes chez *Inocybe margaritispora*



Spore chez *Cortinarius subbalbeatus*



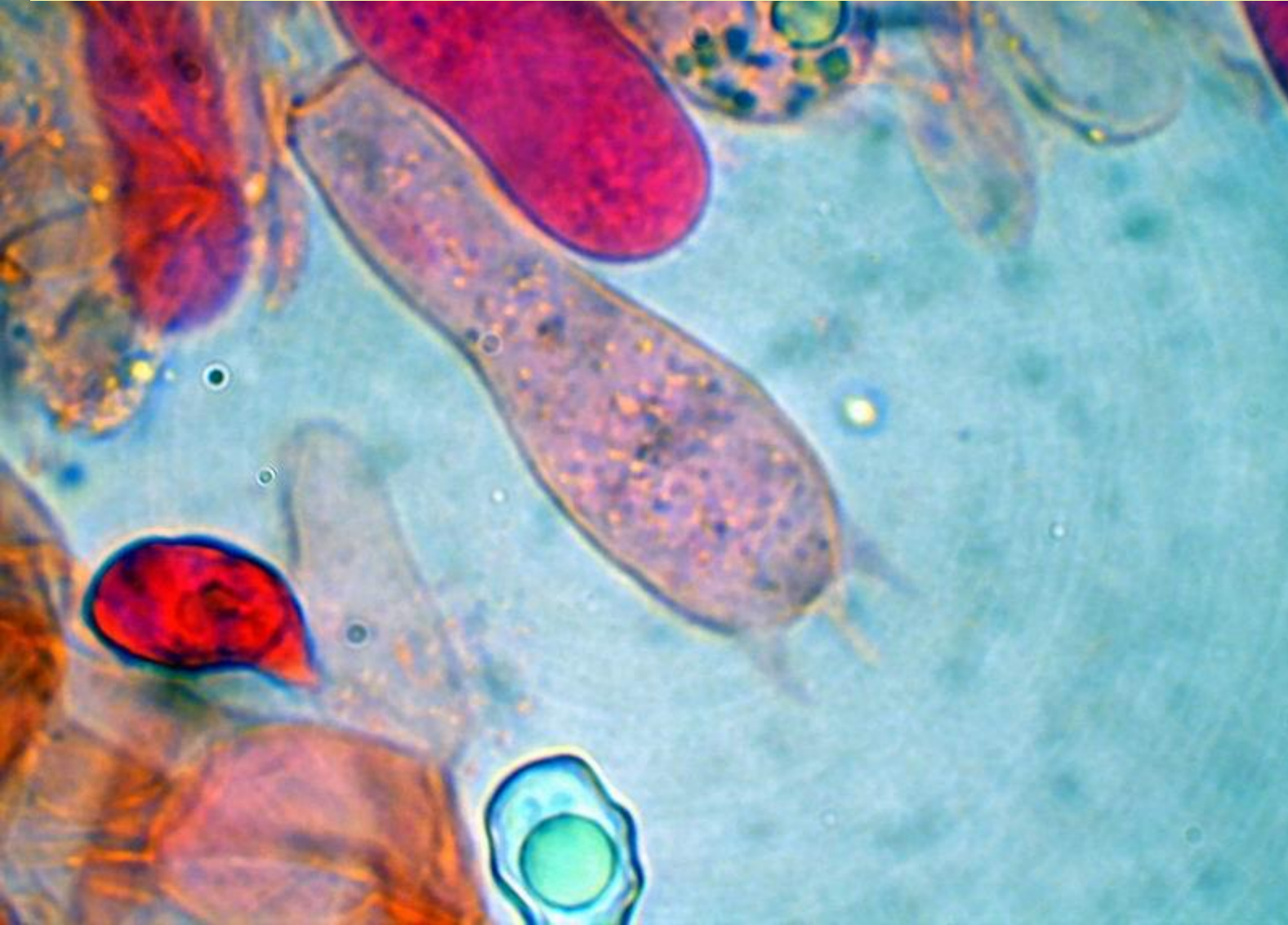
Cystides chez *Strobilurus tenacellus*



Éléments constitutants d'un Ascomycète type (photo D. Baar)

Une combinaison heureuse :

Rouge Congo + Phloxine B



Le bleu de méthyle

C'est un colorant acide, plasmatique

Il est plus connu sous l'appellation de bleu coton, qui est un des multiples bleus de méthyle

ATTENTION à ne pas confondre avec le bleu de méthylène

Une combinaison heureuse :

Bleu de méthyle + Acide lactique

+ phénol

=

Bleu coton lactophénol



indice de réfraction amélioré



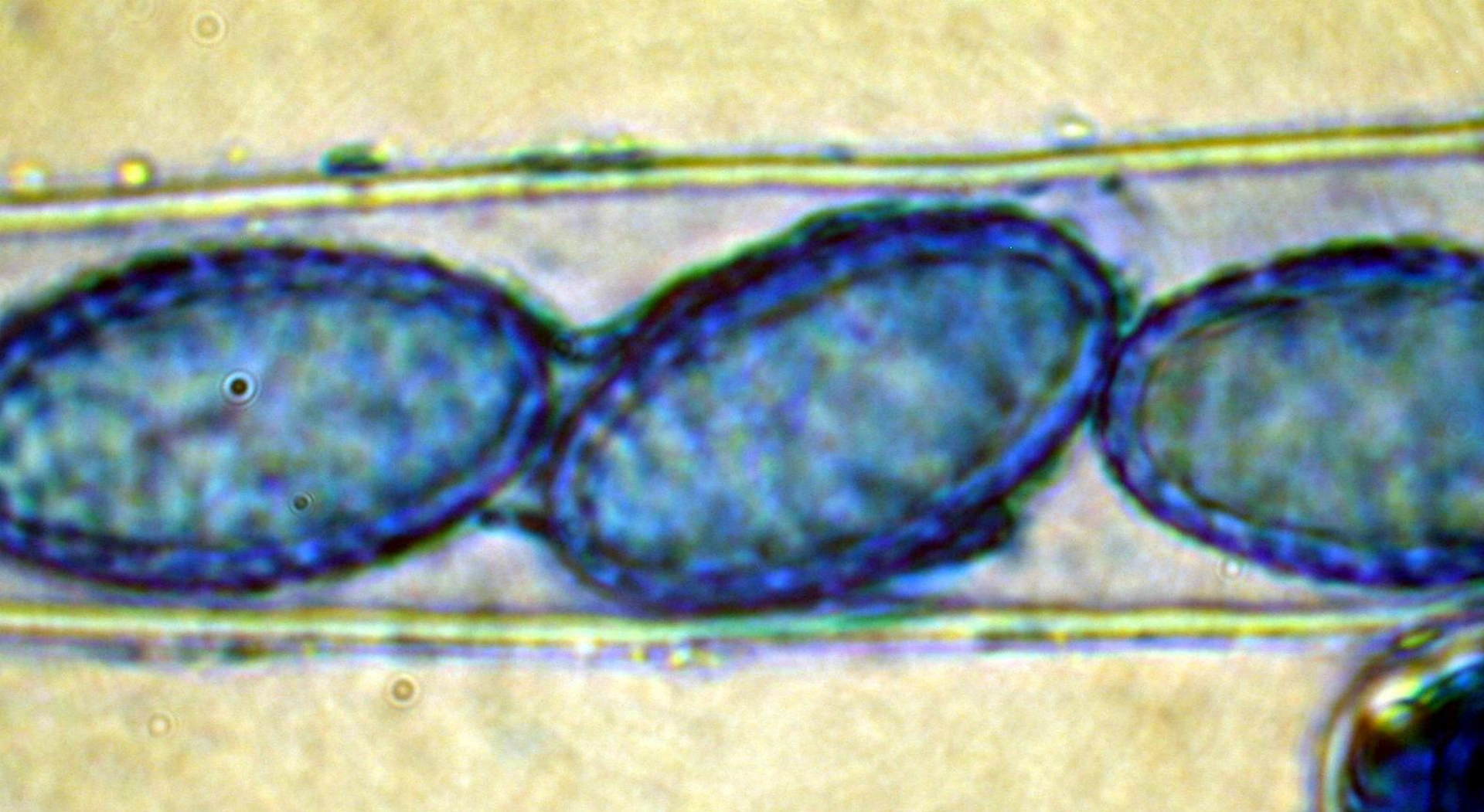
pas d'évaporation (préparation semi-permanente)



Ascomycète type au bleu coton



Peziza badia



Peziza vesiculosa

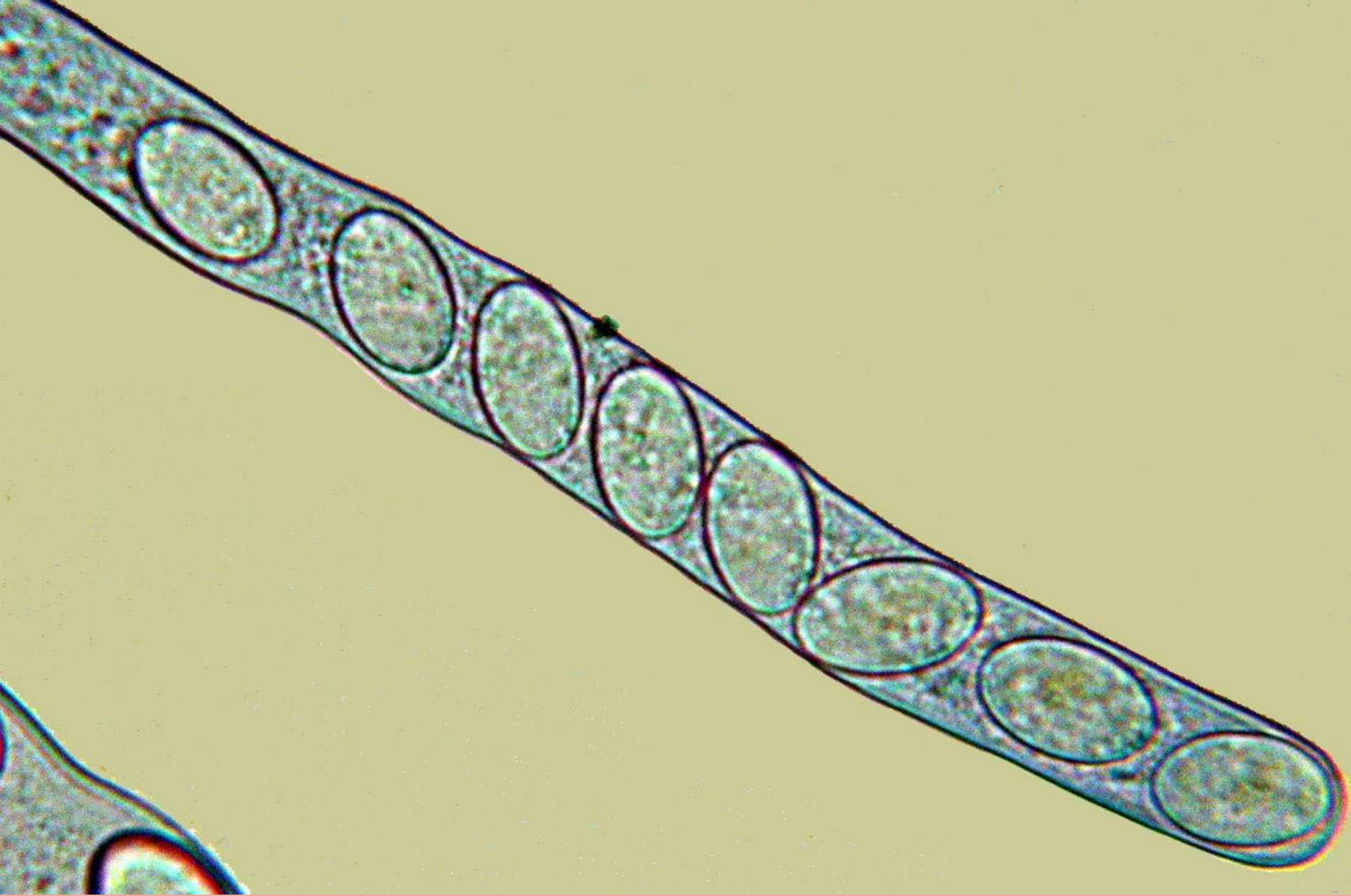


photo F. Draye

Verpa conica

Le réactif de Melzer

Vaclav MELZER était un mycologue tchèque, originaire de Bohême, (1878-1968). Il a étudié les russules avec son compatriote, ZVARA.

Le réactif de Melzer est un liquide épais composé d'iode, d'iodure de potassium, d'hydrate de chloral et d'eau.

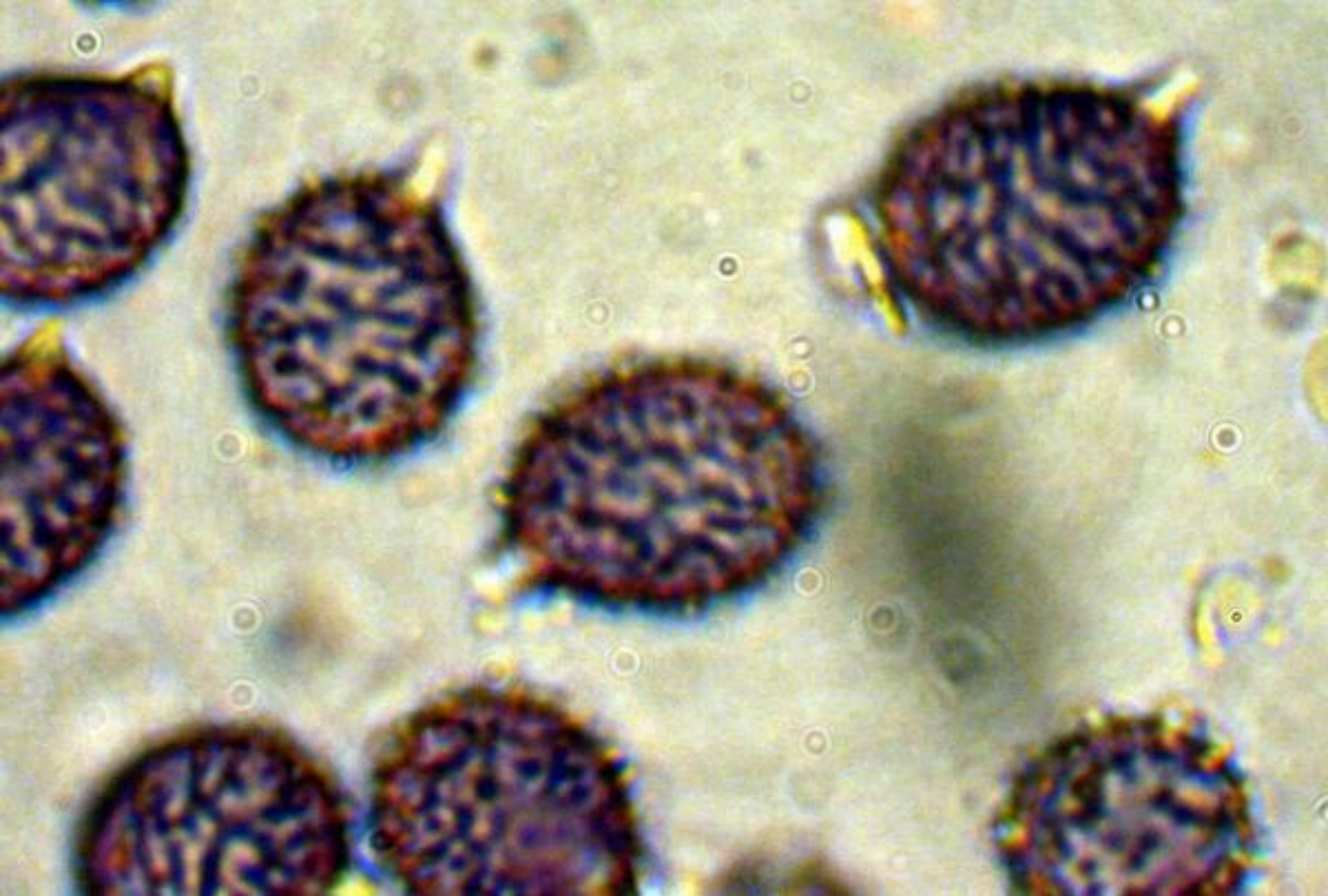
Le constituant le plus important de ce réactif est l'iode, qui a la propriété de se fixer sur certains glucides (sucres).

Le réactif de Melzer est un des milieux de montage les plus utiles pour la microscopie. En effet, c'est un réactif vis-à-vis duquel les éléments observés peuvent avoir trois comportements différents : ou bien ils sont iodo-négatifs, ou bien ils sont soit amyloïdes, soit dextrinoïdes.

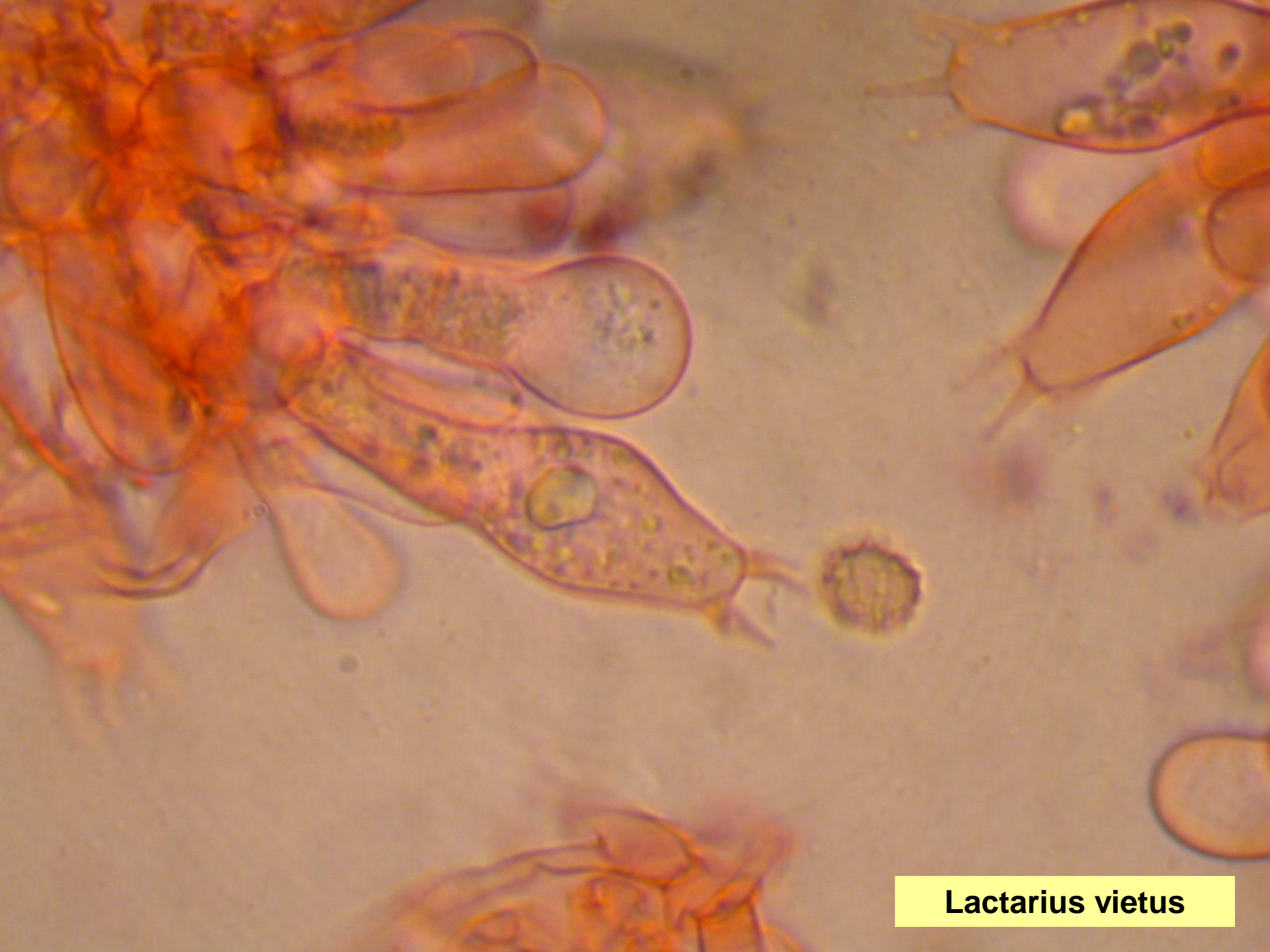
L'iodo-négativité correspond à l'absence apparente de réaction : les cellules se teintent de jaune brunâtre, qui est la couleur du réactif.

Des éléments amyloïdes prendront une coloration gris bleu ardoise, voire noire. La réaction amyloïde signale généralement la présence d'amidon.

Des cellules dextrinoïdes se teinteront de brun rouge foncé ; la réaction dextrinoïde révèle le plus souvent les dextrines (glucides amorphes, résultant de la dégradation de l'amidon par hydrolyse).



Lactarius evosmus



Lactarius vietus



Lactarius luridus

FIN

<http://www.champignons-passion.be>