

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
Ustilaginomycètes (=Teliomycètes) → Charbons		Ustilaginales, Urocystales
Urédiniomycètes (=Teliomycètes) → Rouilles	Urediniomycetidae	Uredinales
	Microbotryomycetidae	
Hétéro- ou Phragmobadisiomycètes (basides cloisonnées ; spores secondaires)		Auriculariales, Tremellales
Groupes de transition (basides incomplètement cloisonnées ; spores secondaires)		Exobasidiales, Dacrymycetales, Syzygosporales
Holo- ou Homobasidiomycètes (homobaside ; pas de spores secondaires)	Aphyllophoromycetidae (hyménophore continu avec la chair)	Corticiales, Polyporales, Ganodermatales, Cantharellales, Clavariales, Hymenochaetales, Telephorales, Hericiales
	Gasteromycetidae (hyménophore interne = gléba)	Hymenogastrales, Melanogastrales, Lycoperdales, Sclerodermatales, Tulostomatales, Nidulariales, Hysterangiales, Phallales
	Agaricomycetidae (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

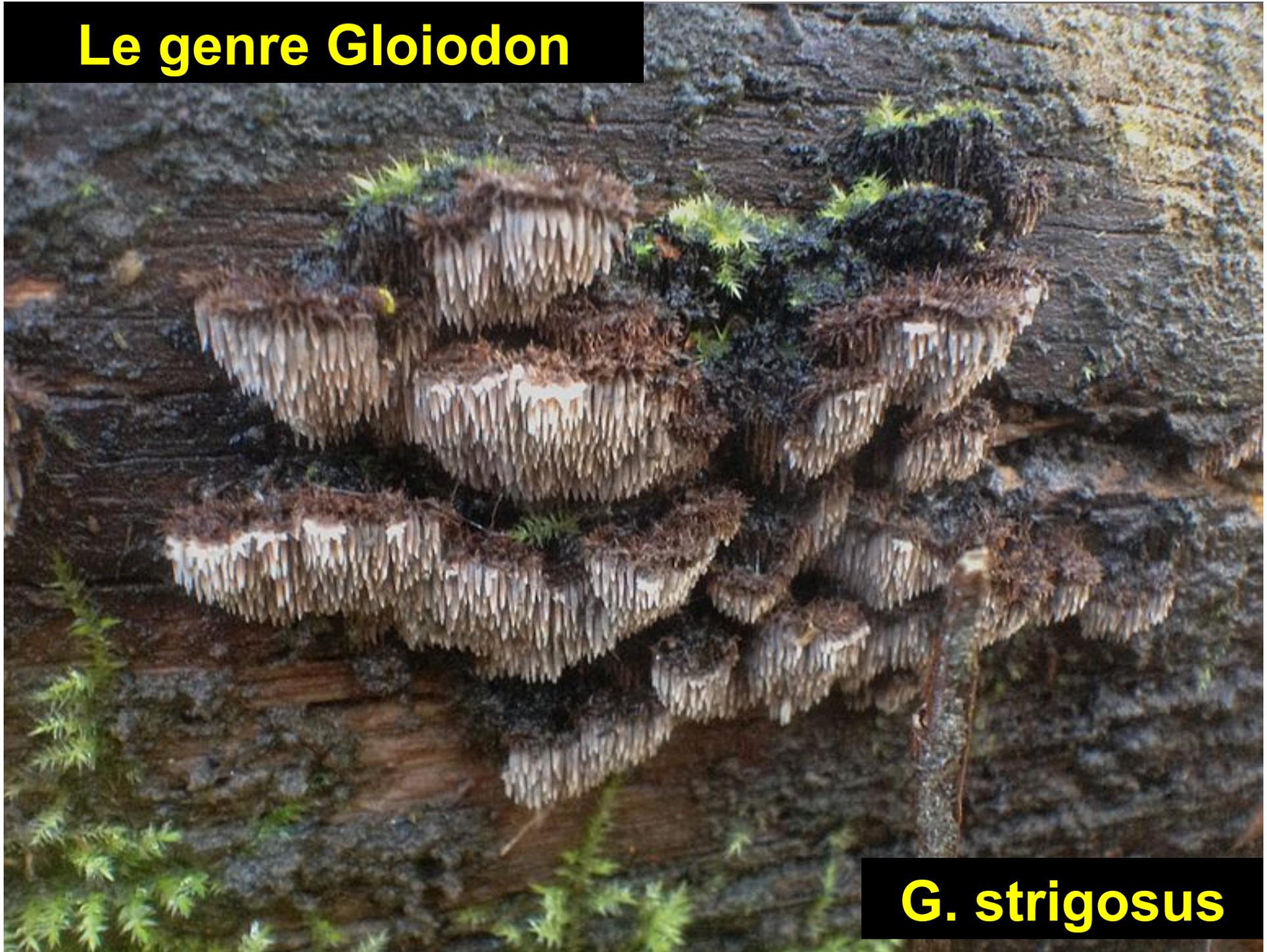
C. taxophila



Copyright (c) 2013 Jean Claude Chasle

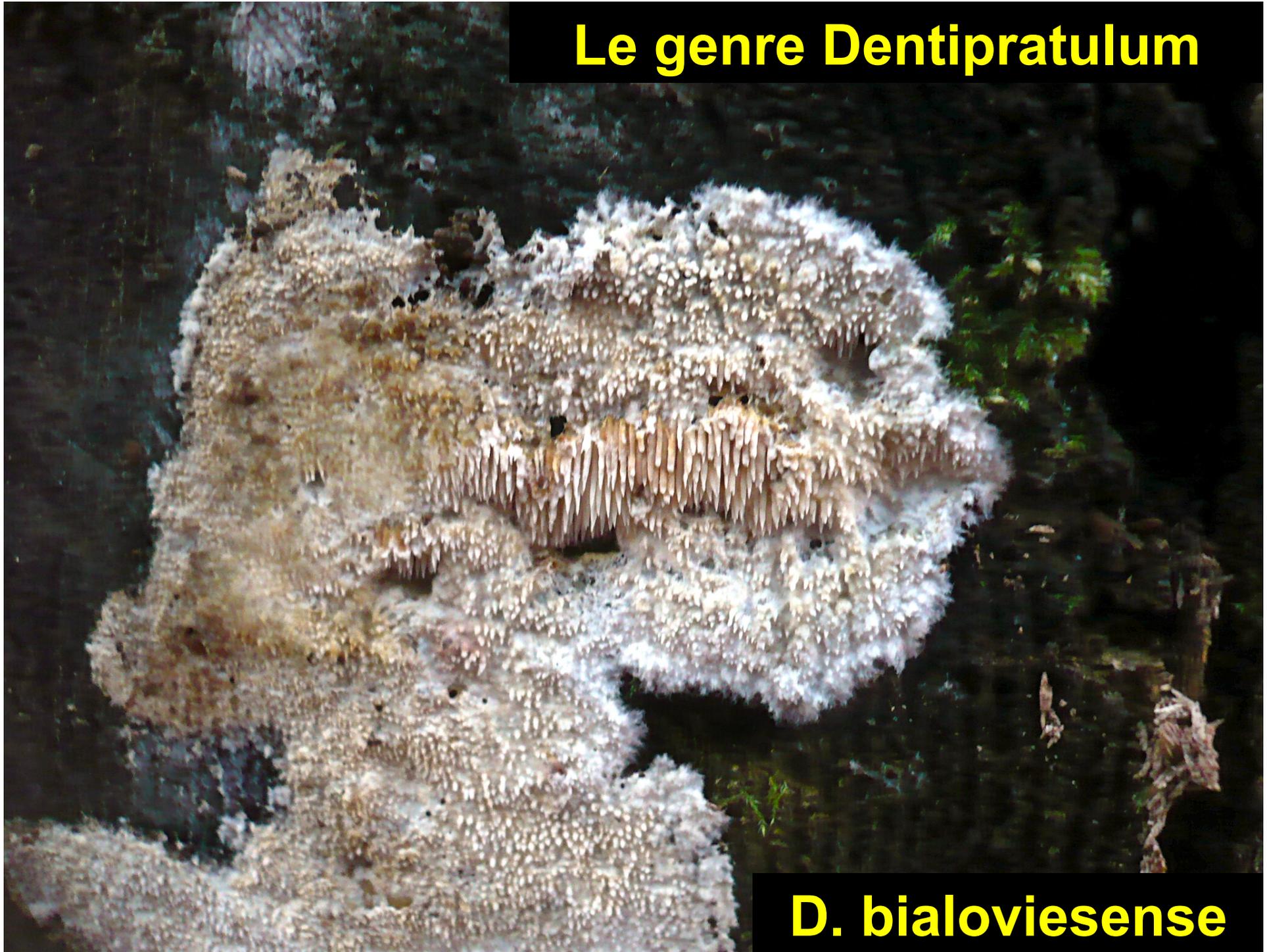
Le genre Clavicornia

Le genre Gloiodon



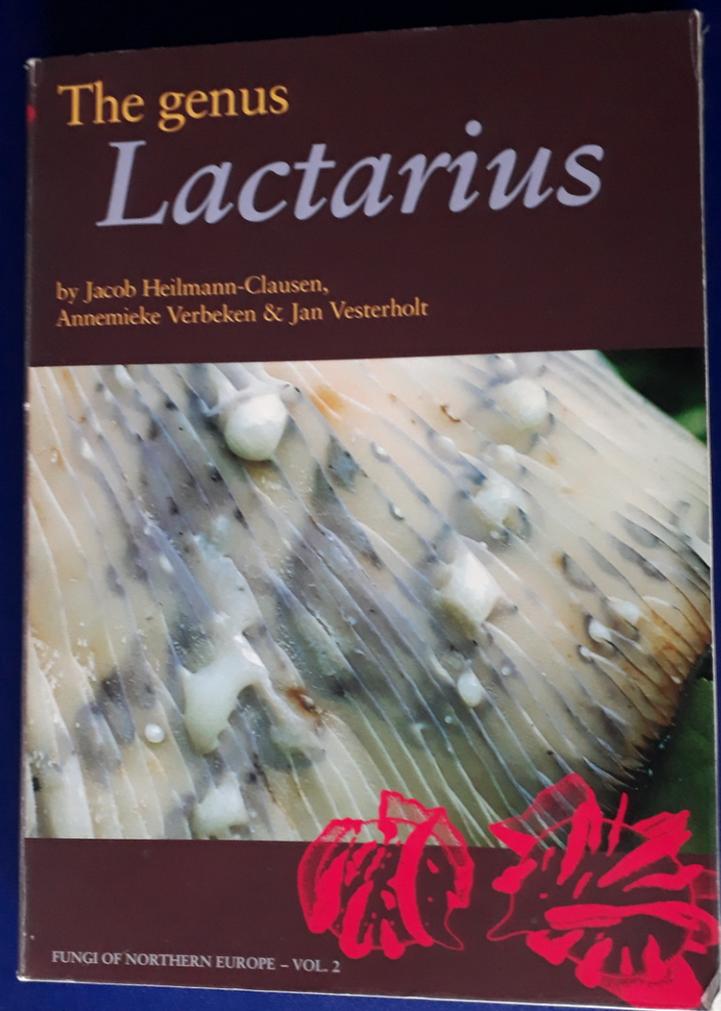
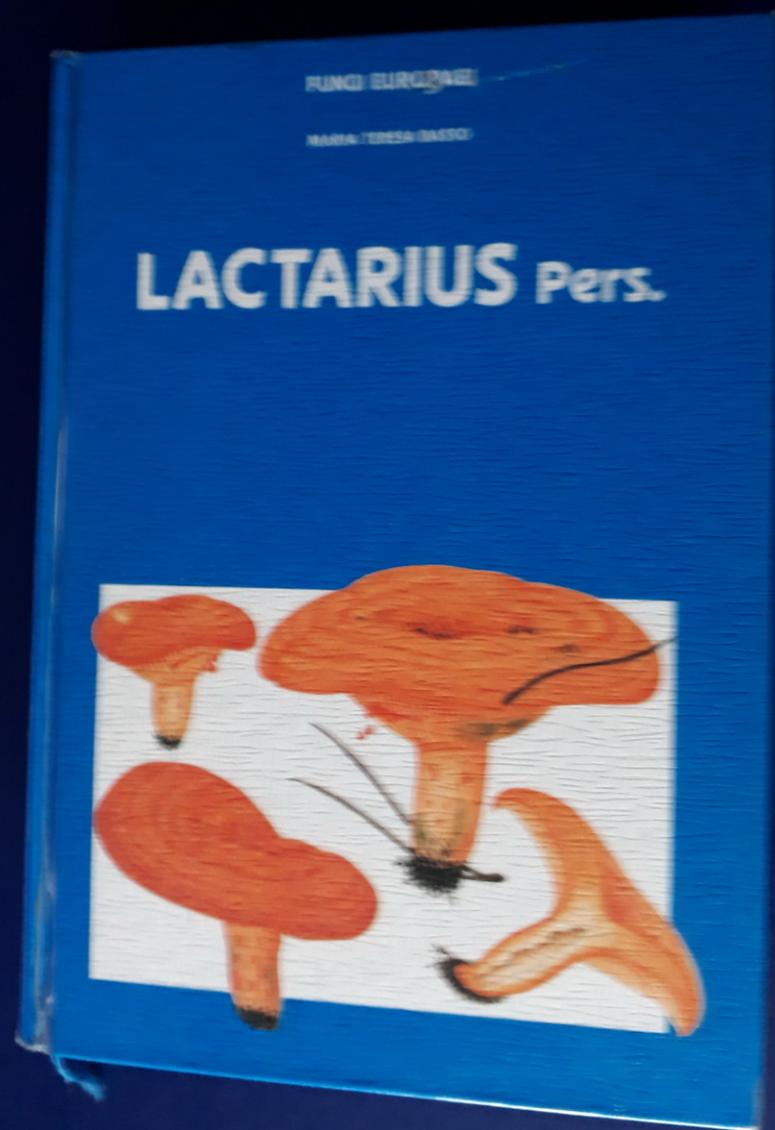
G. strigosus

Le genre *Dentipratulum*



D. bialoviesense

**Littérature
&
détermination**



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

Marcel LECOMTE
ex-Gibrals
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 ...**

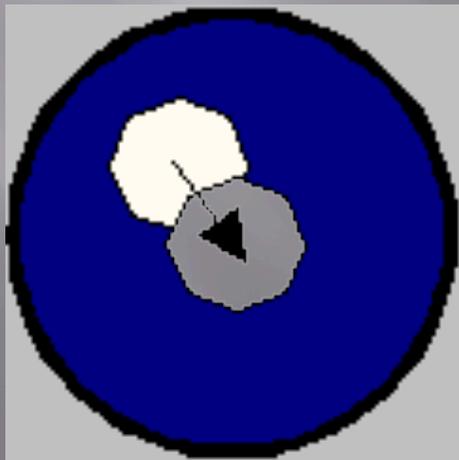
Une notion importante :

**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 cm² minimum

4

Nettoyage

2

Coloration

5

Prélèvement

3

Rinçage

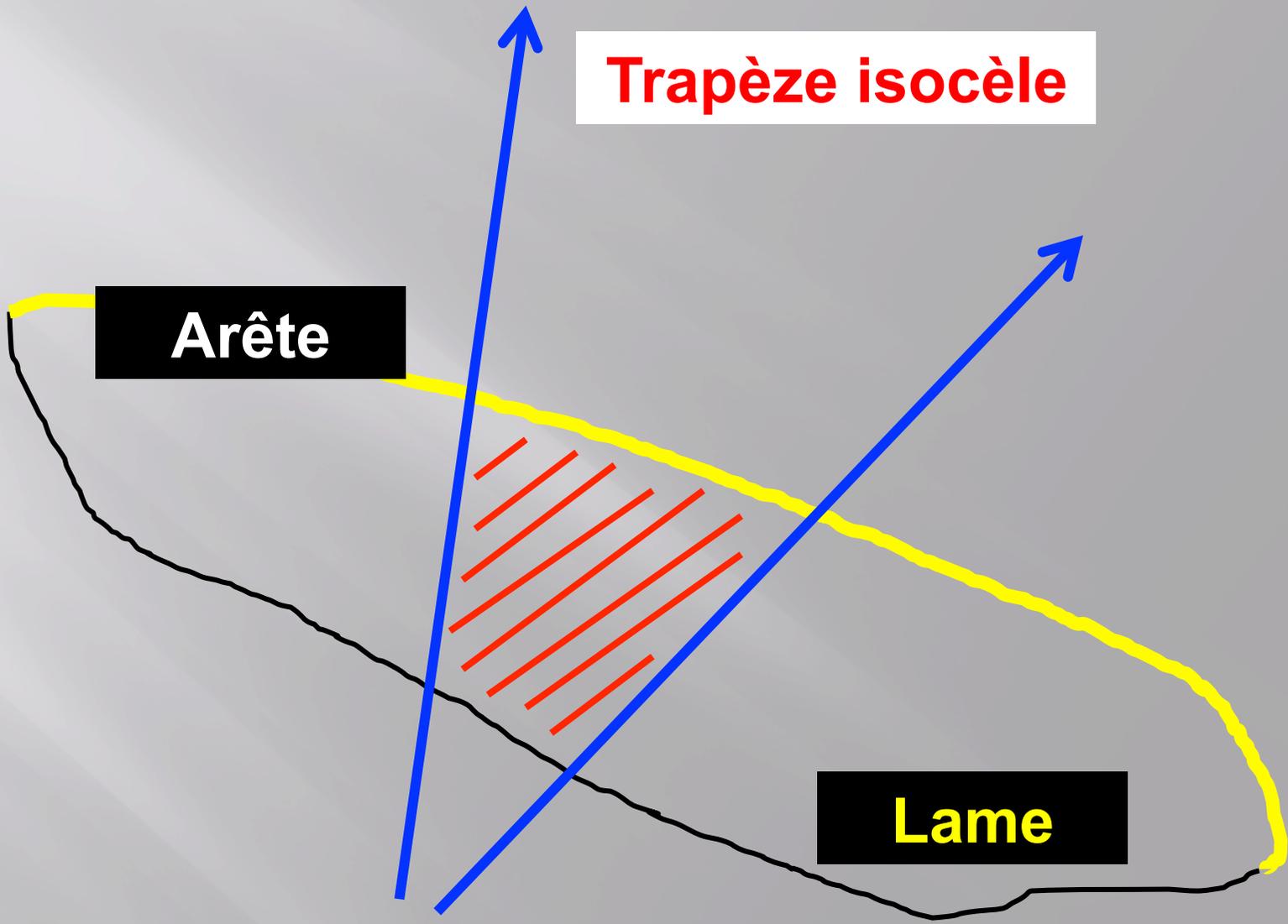
6

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
liqueur 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 - ©

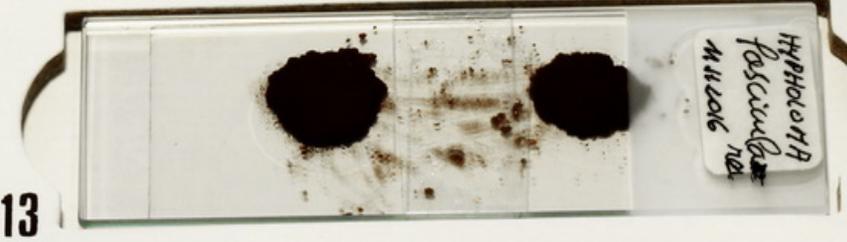
Flammulina velutipes



Photo M. Lecomte 2016 - ©

Pholiotina aporos

Photo M. Lecomte 2016 - ©

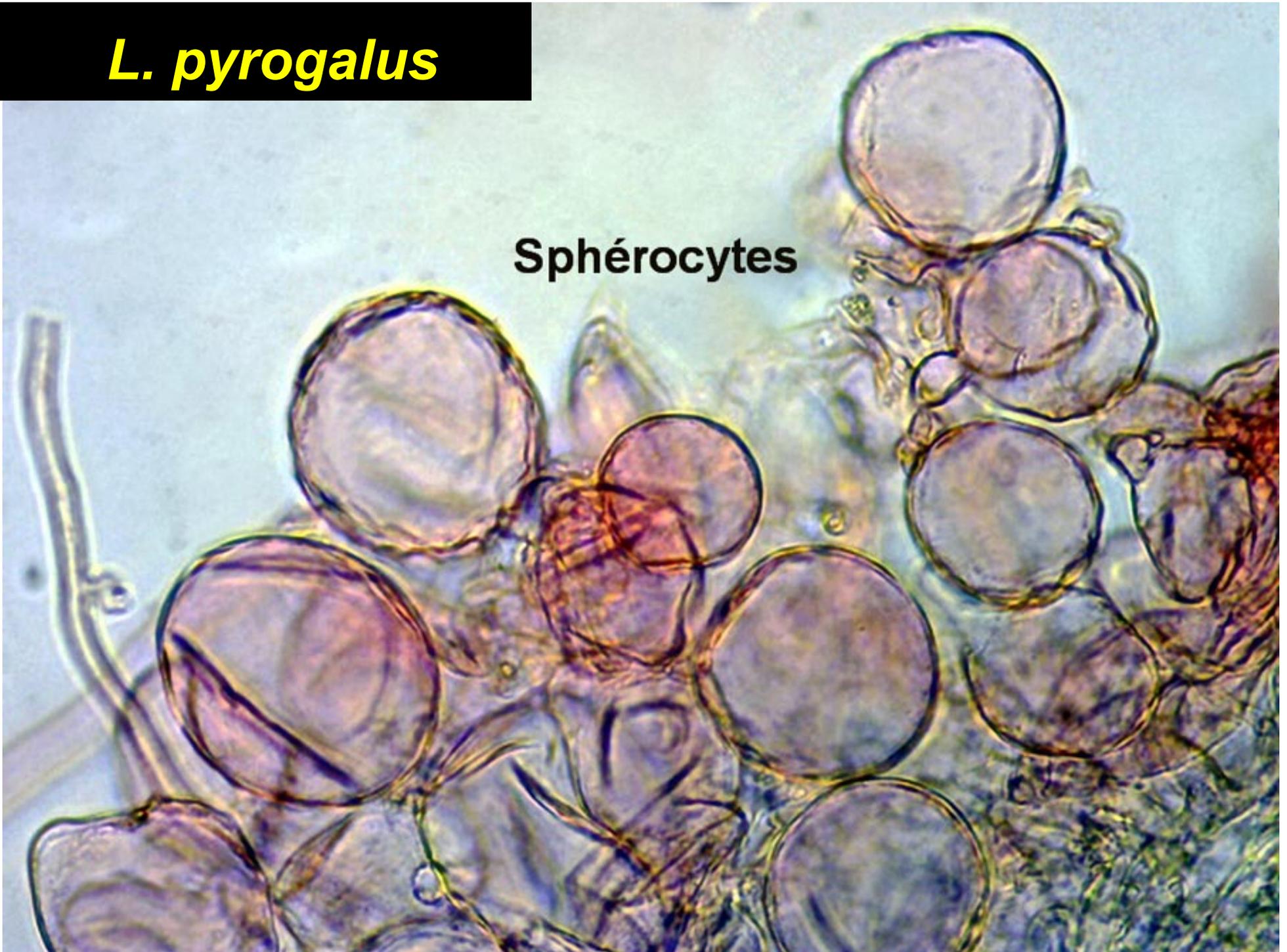


**La chair des
Russulales :**

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**

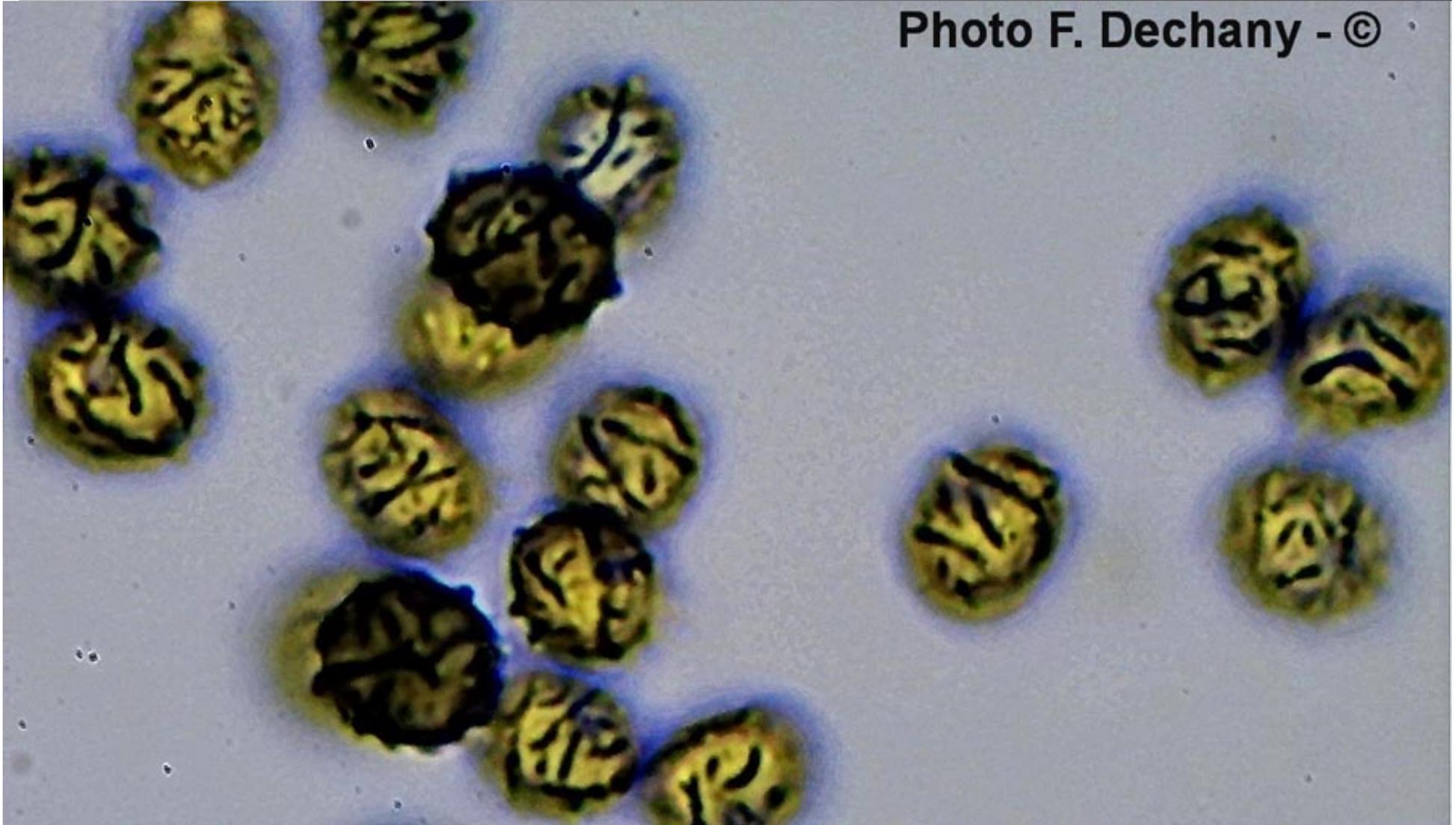
Photo M.
Lecomte - ©



***Lactarius
pyrogalus***

Lactarius blennius

Photo F. Dechany - ©



Lactarius volemus



Photo A. Flahaut ©

Russula cessans



7,60 - 8,95 / 6,30 - 7,55

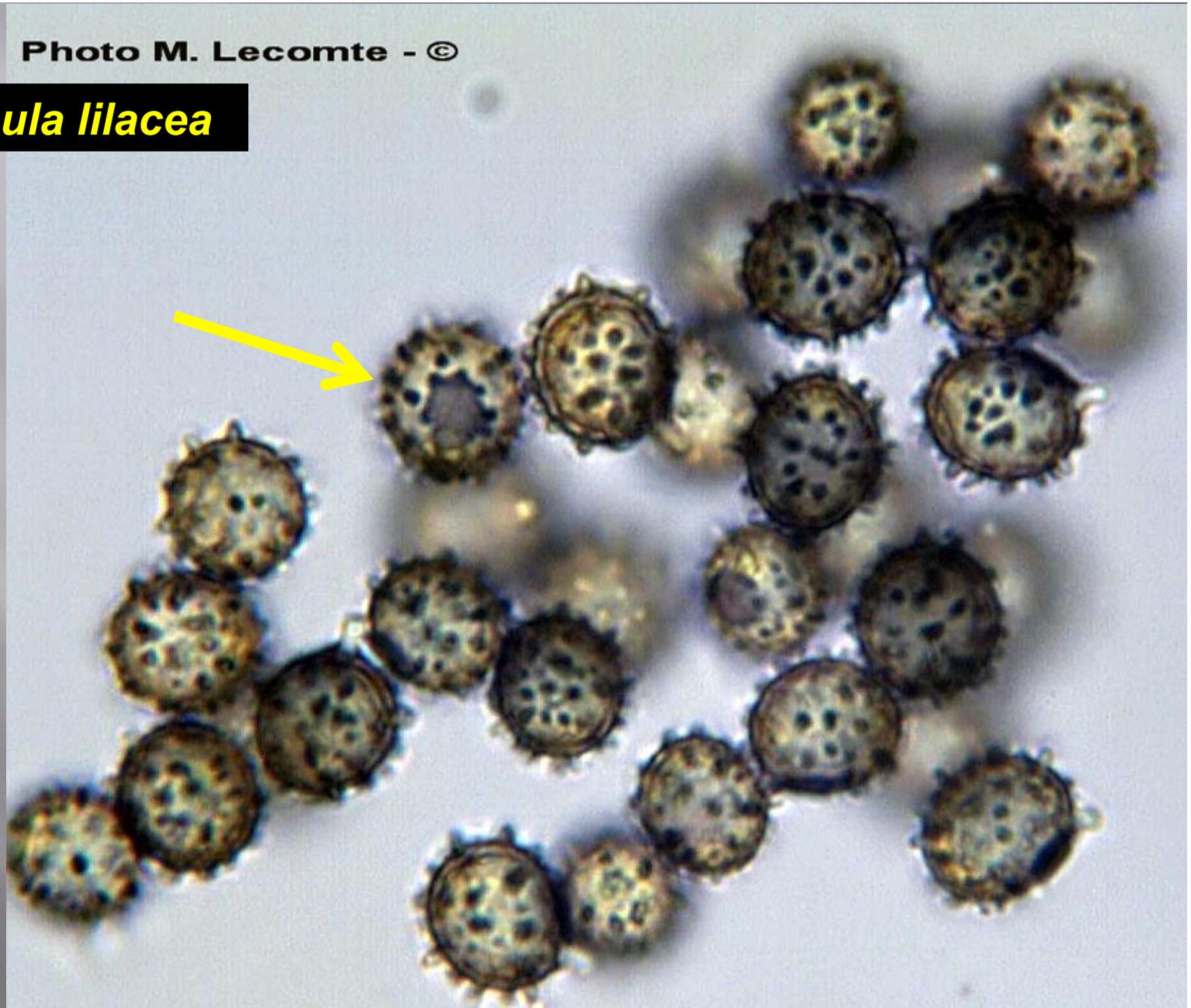
ME= 8,25 x 6,85

Q= 1,10 - 1,35

QM= 1,19

Photo M. Lecomte - ©

Russula lilacea



Russula sanguinaria

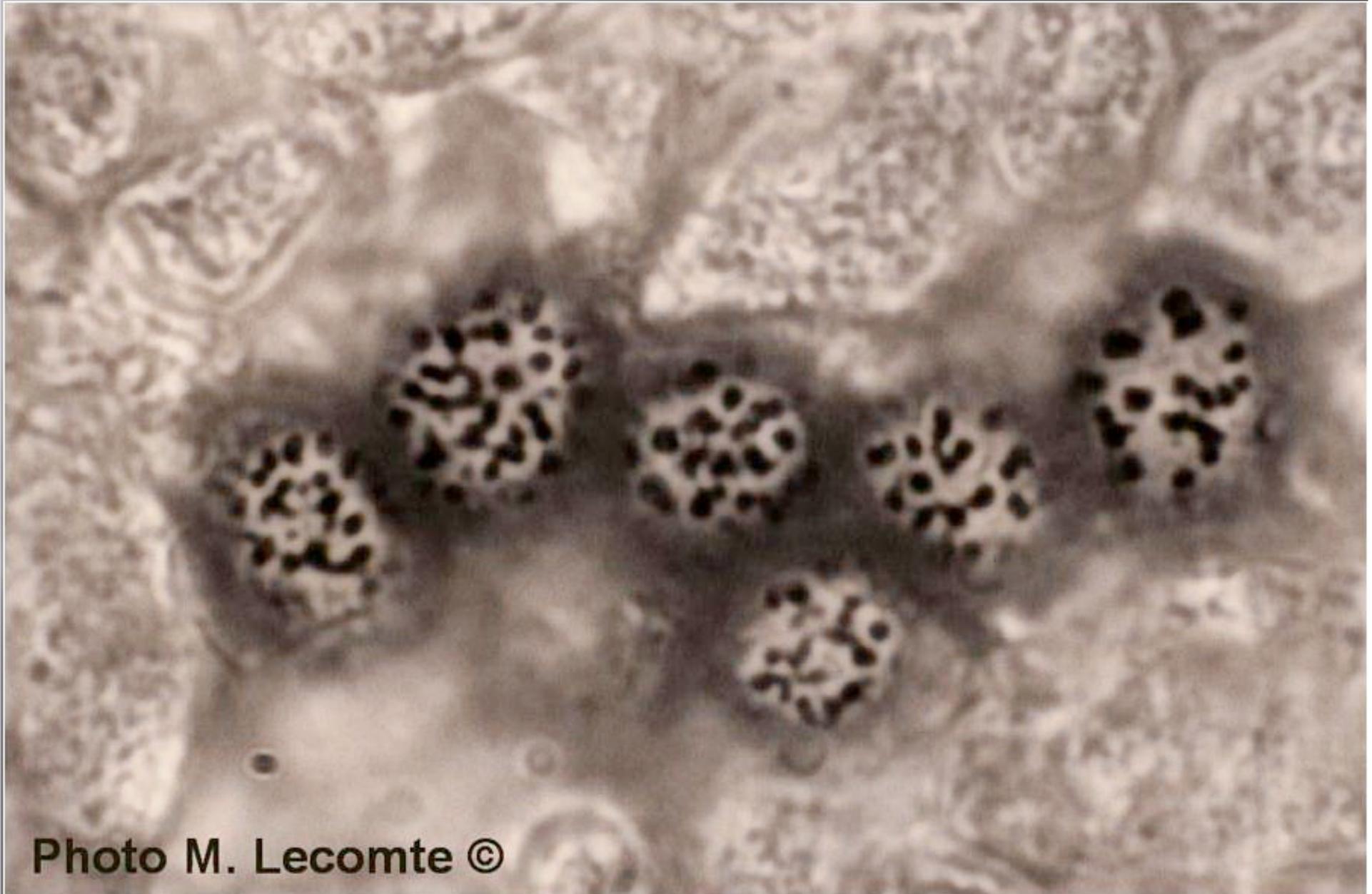


Photo M. Lecomte ©

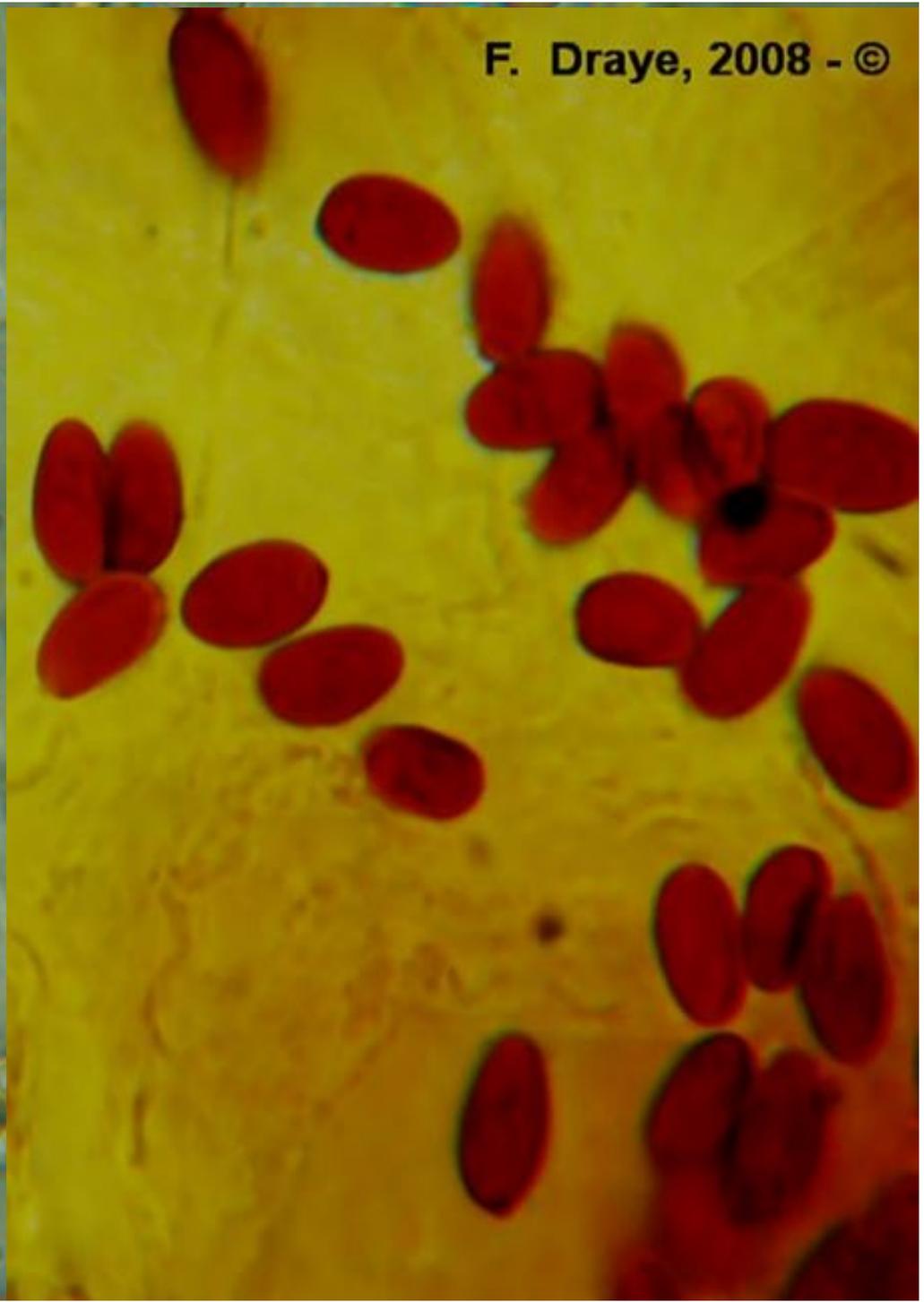
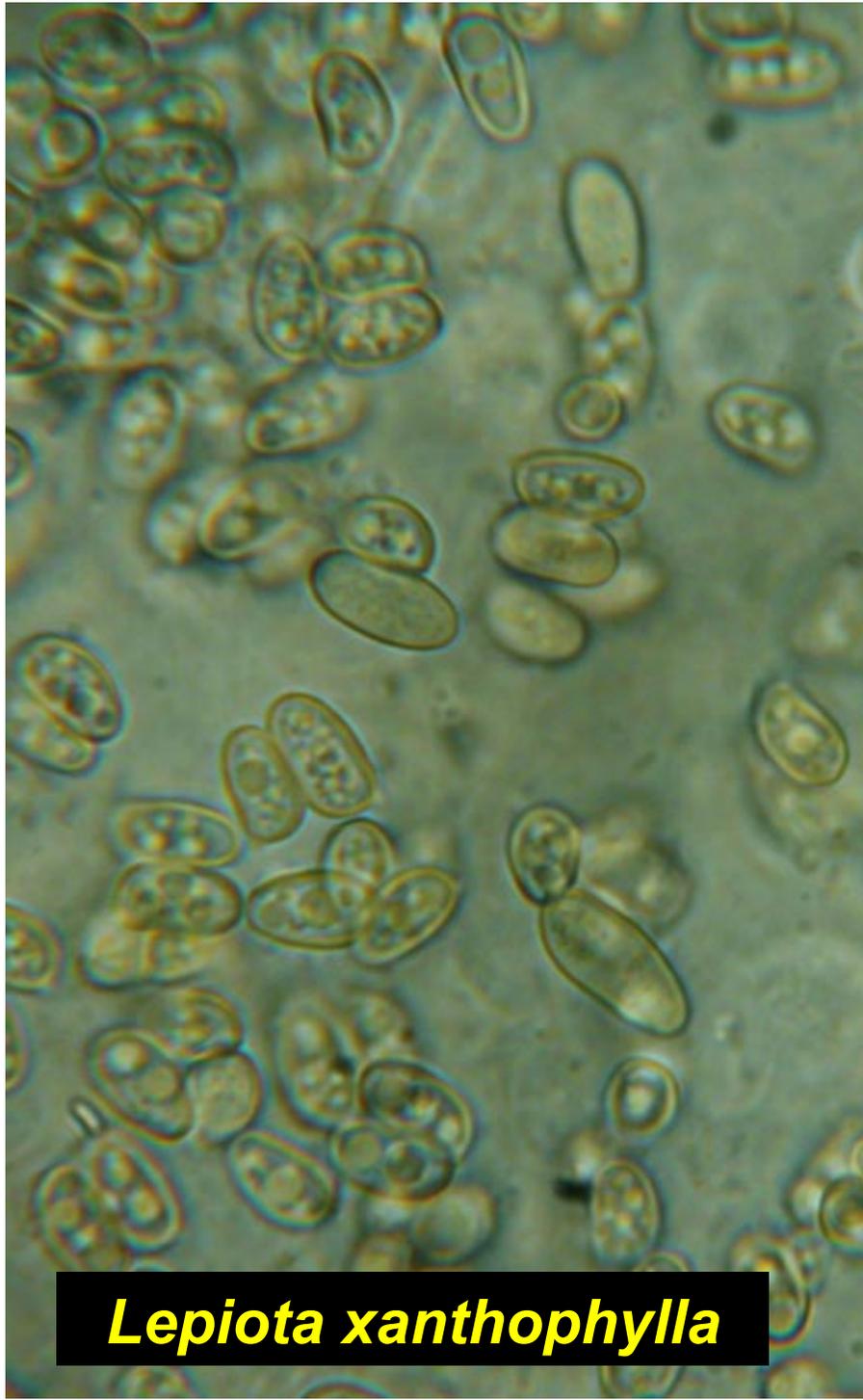
Russula violeipes



Photo M. Lecomte ©

**La réaction
dextrinoïde chez
les
Basidiomycètes**

F. Draye, 2008 - ©



Lepiota xanthophylla

**Les hyphes
laticifères chez les
Russulales**

Lactarius piperatus

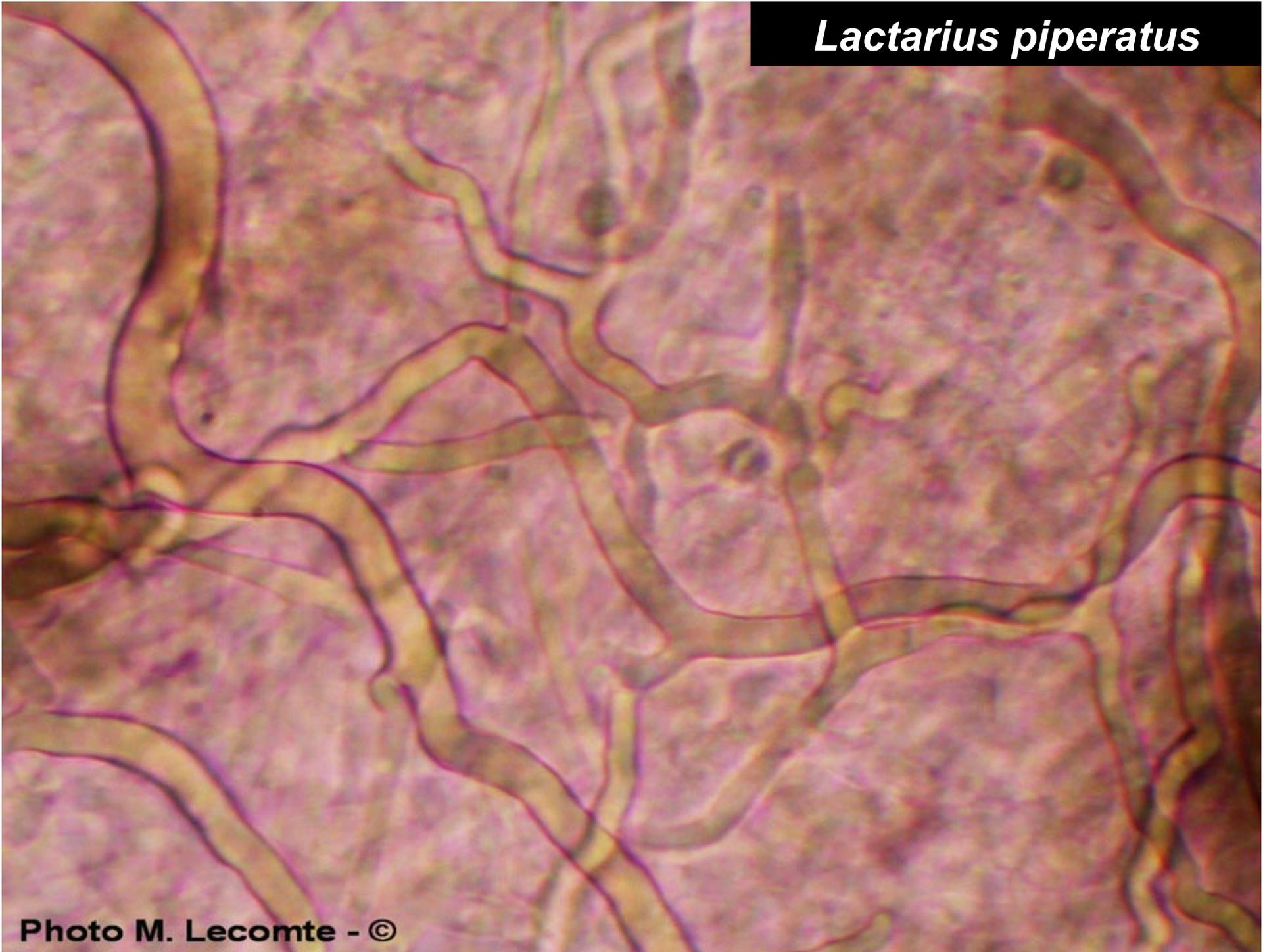


Photo M. Lecomte - ©

Lactarius vellereus

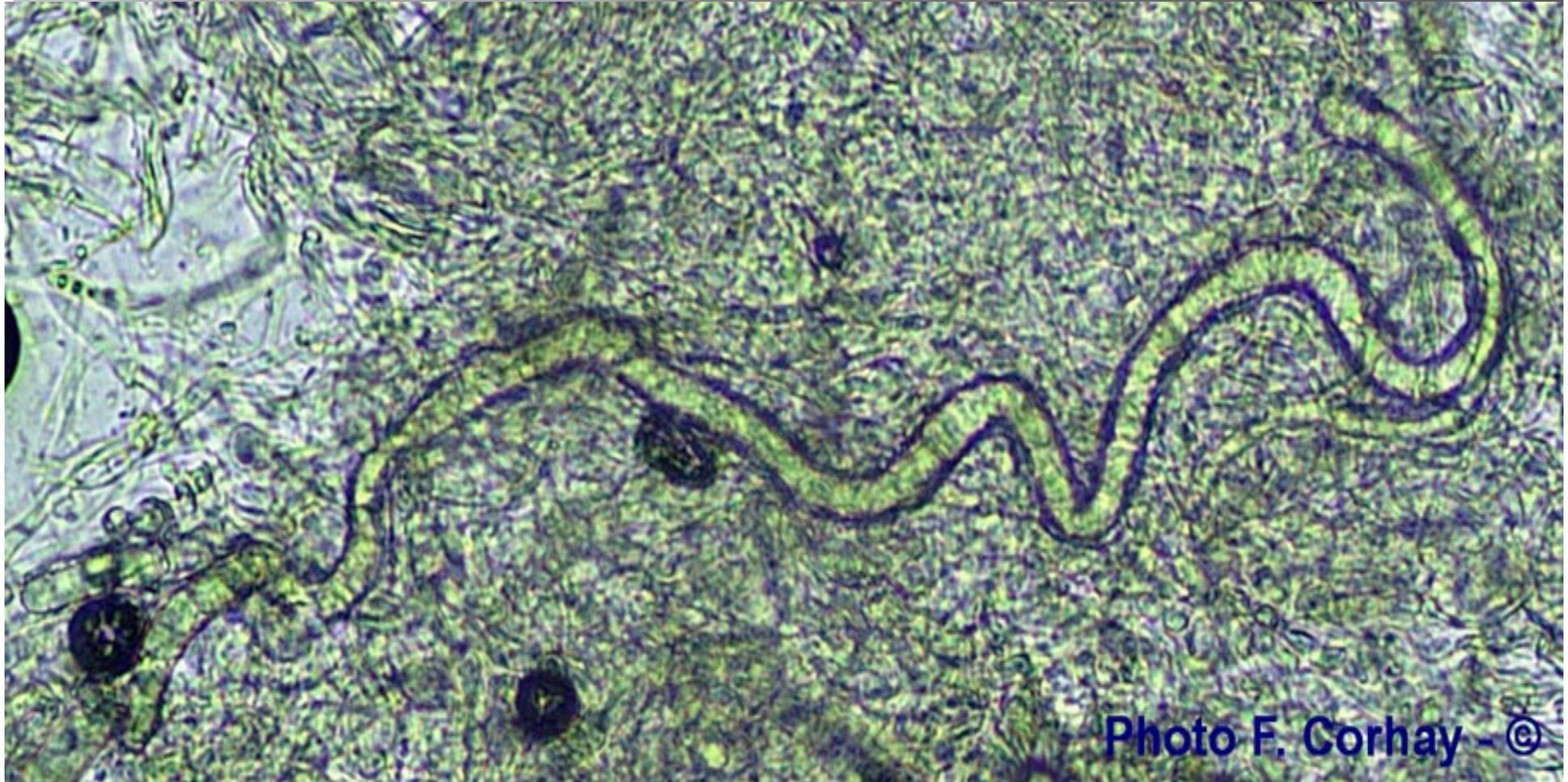
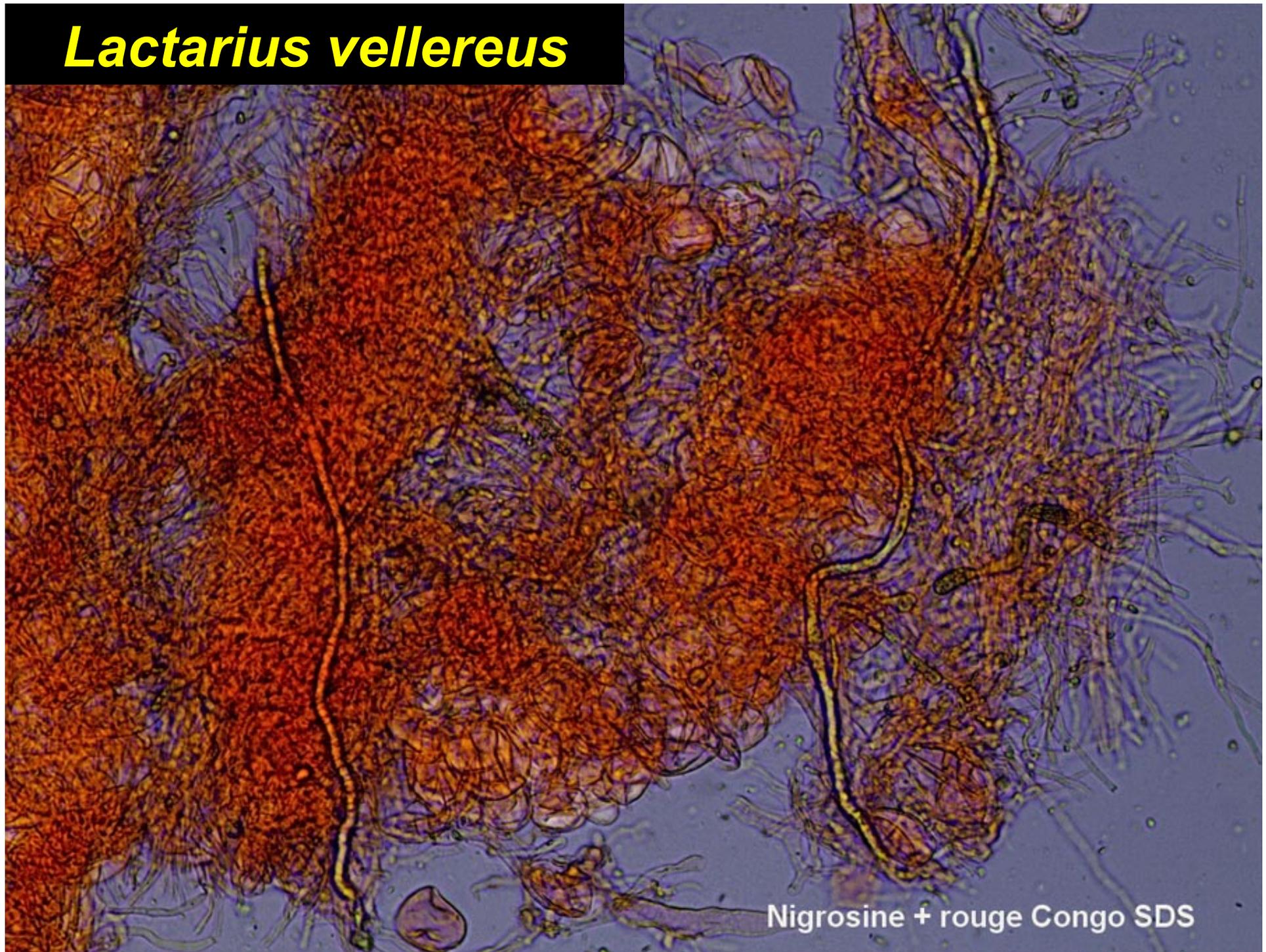


Photo F. Corhay - ©

Lactarius vellereus



Nigrosine + rouge Congo SDS

Lactarius aquizonatus



Photo M. Lecomte - ©



Photo M. Lecomte - ©

Lactarius pyrogalus



Photo M. Lecomte - ©

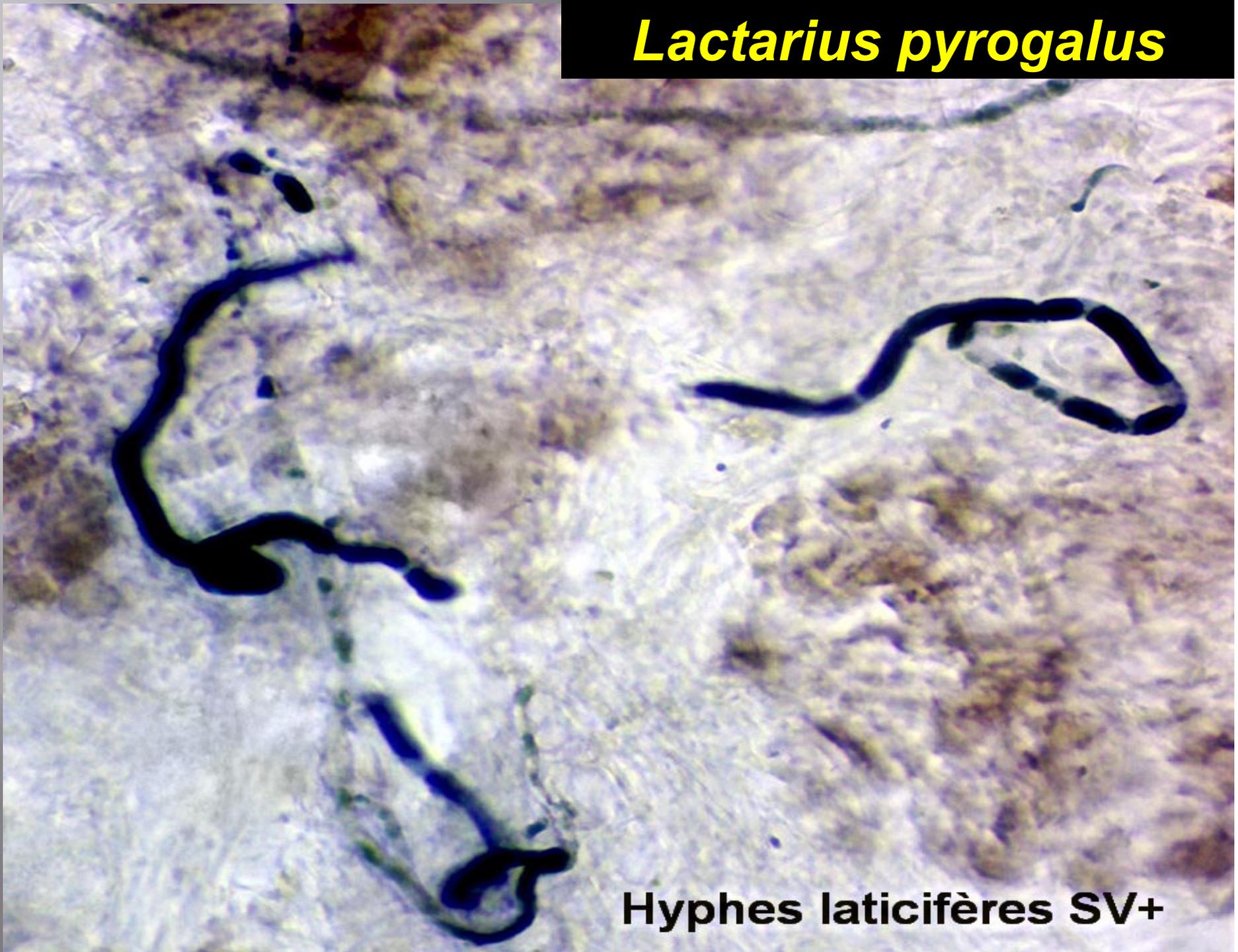
**Les réactions
sulfoaldéhydriques :
La sulfovanilline**

Hyphes laticifères (au sens strict)

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

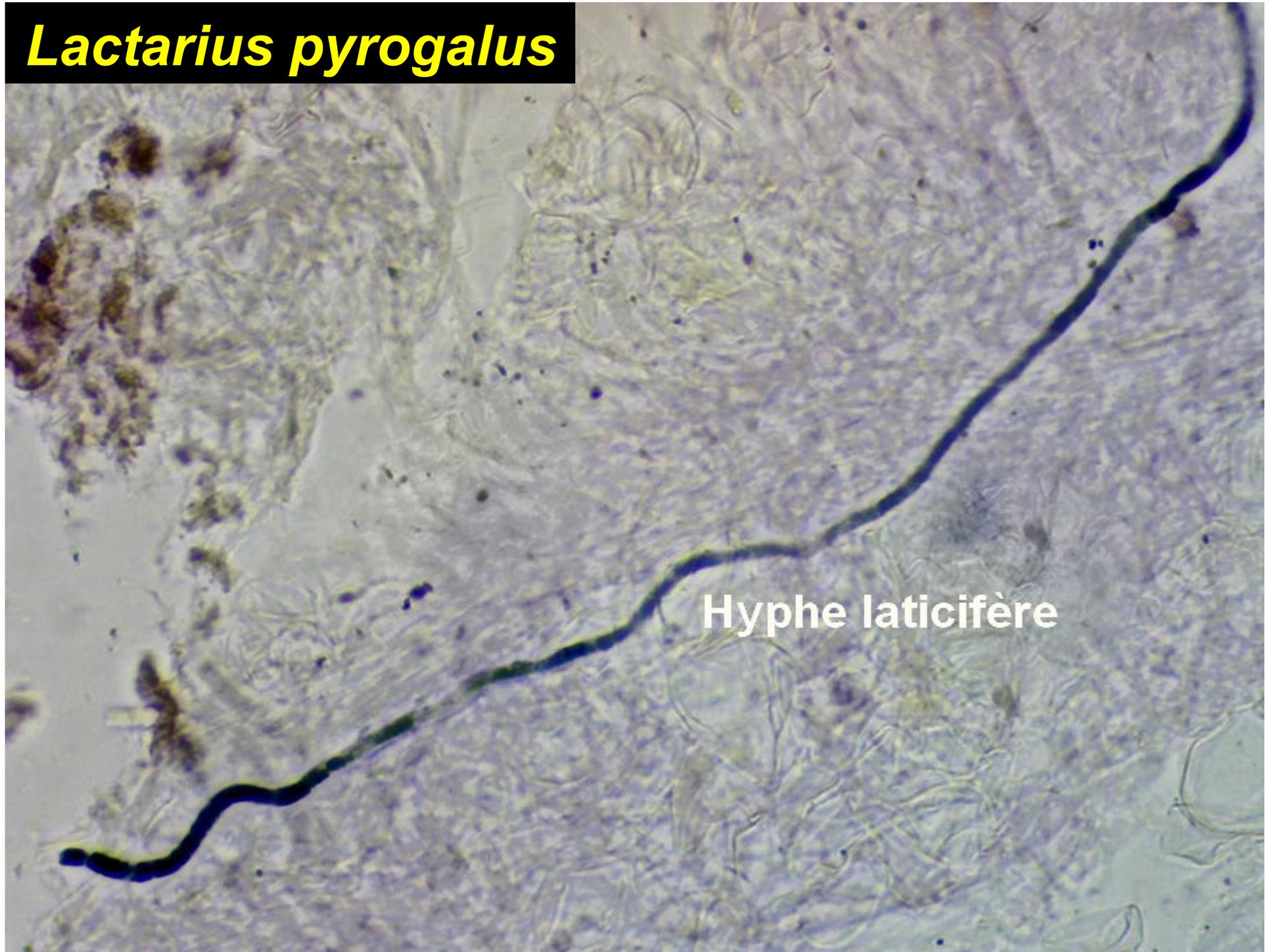
→ se colorent généralement en gris bleu à la sulfovanilline

Lactarius pyrogalus



Hyphes laticifères SV+

Lactarius pyrogalus



Hyphe laticifère

***Lactarius*
*controversus***



Hyphes gléoplères (ou glioplères, ou gloéoplères)

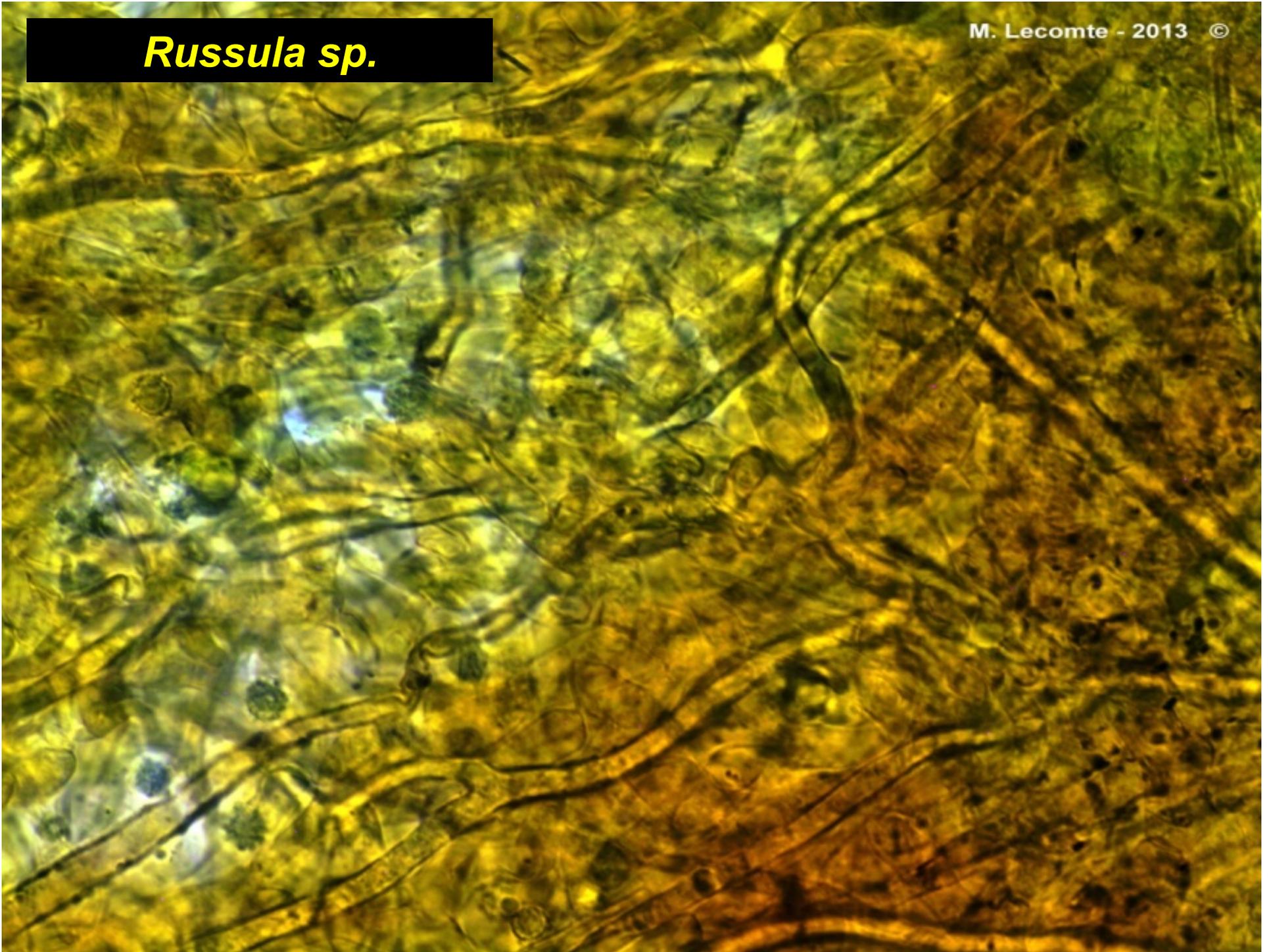
sans écoulement visible à la cassure
(notamment chez *Russula*)

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)

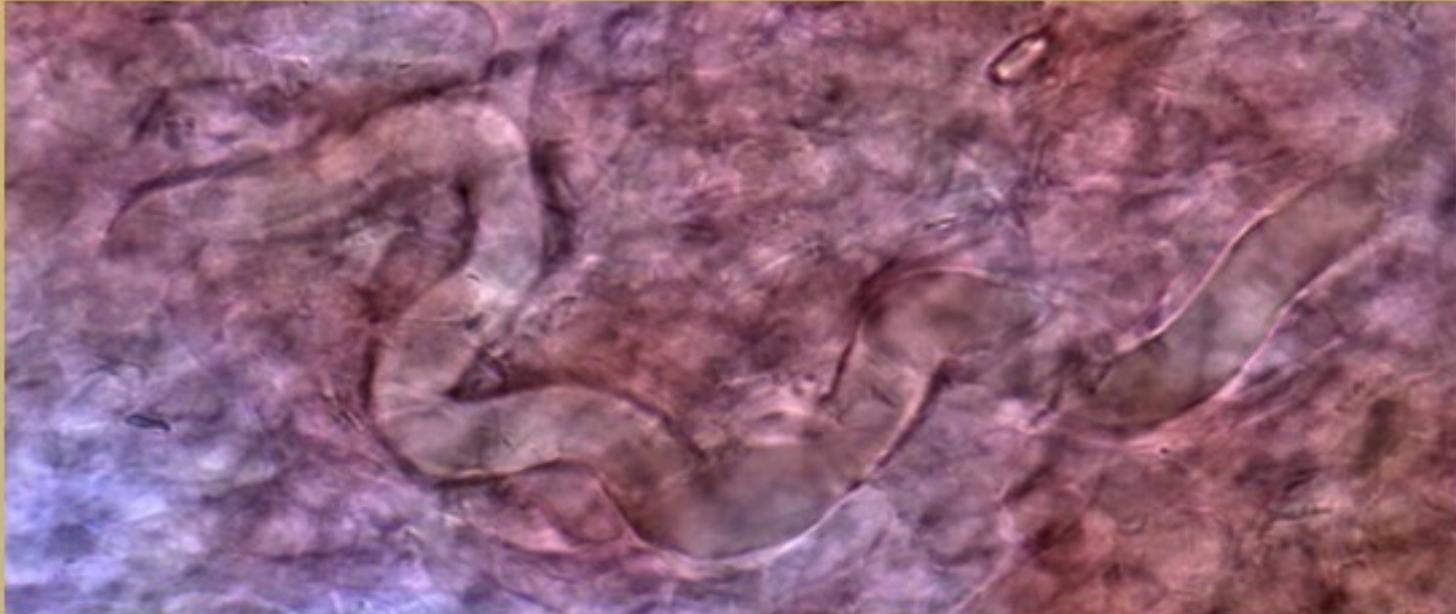
hyphes mortes, ne contenant pas de latex, à contenu huileux ou résineux, fortement réfringent, réagissant occasionnellement à la sulfovanilline ; pas de réaction au RH0 ; coloration au BC

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

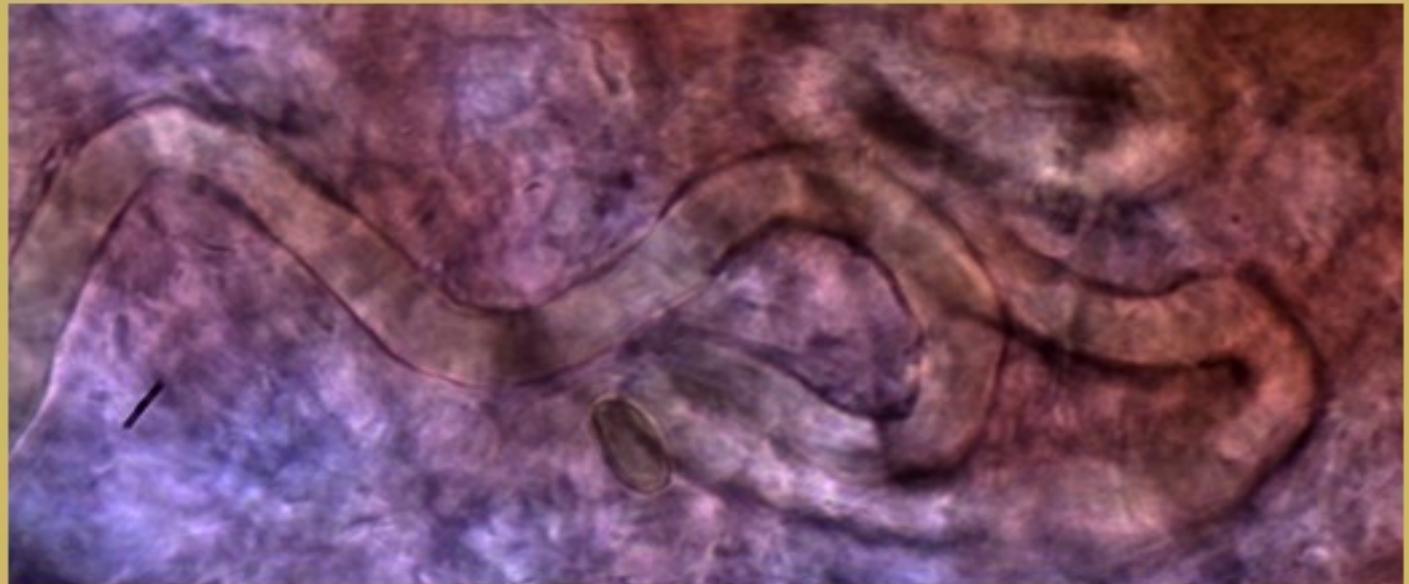
ce sont des hyphes laticifères dégénérées

observées chez russules, bolets, armillaires, *Lentinellus*

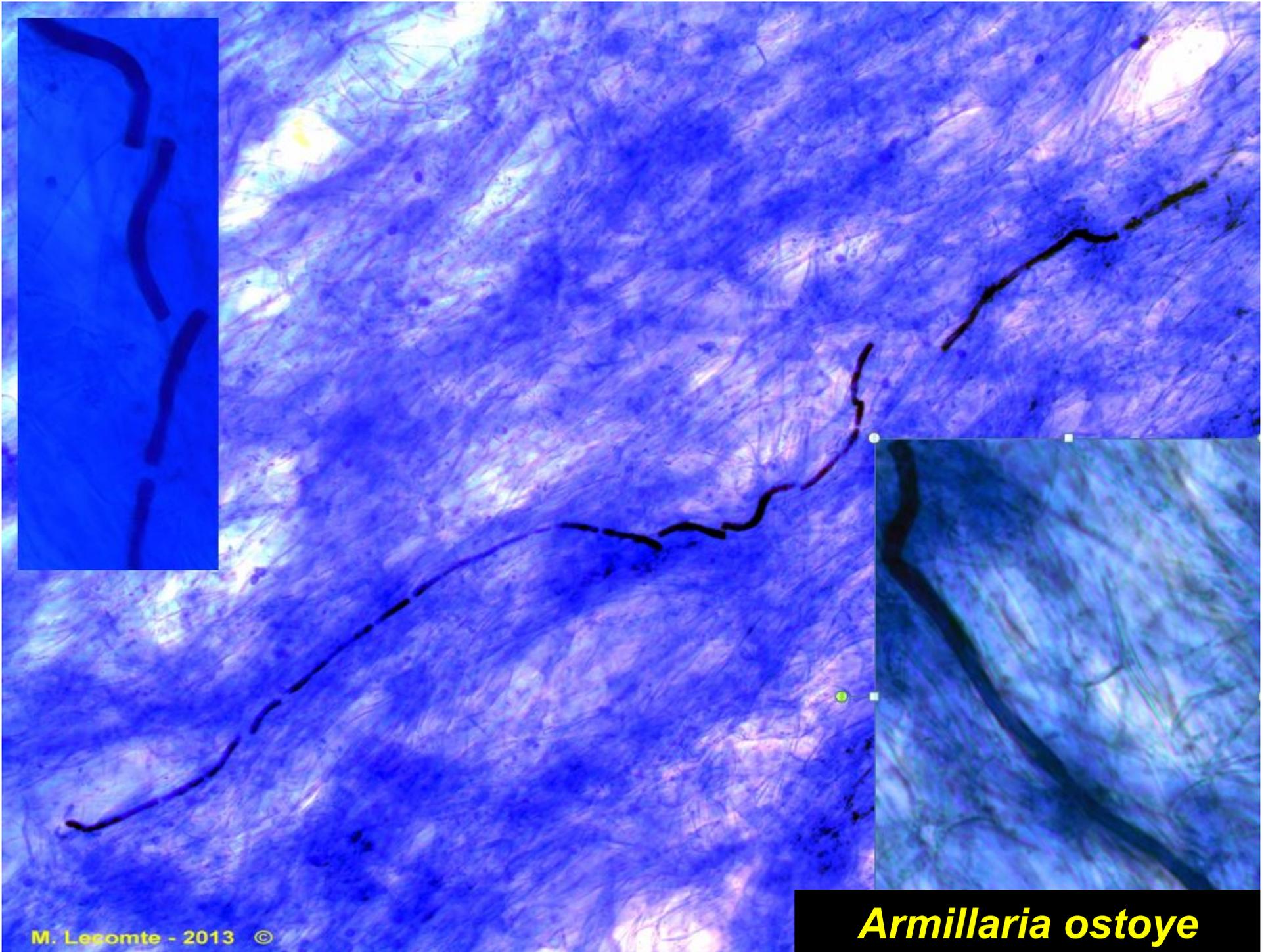
Boletus moravicus



Gross. 400x



Photos M. Lecomte

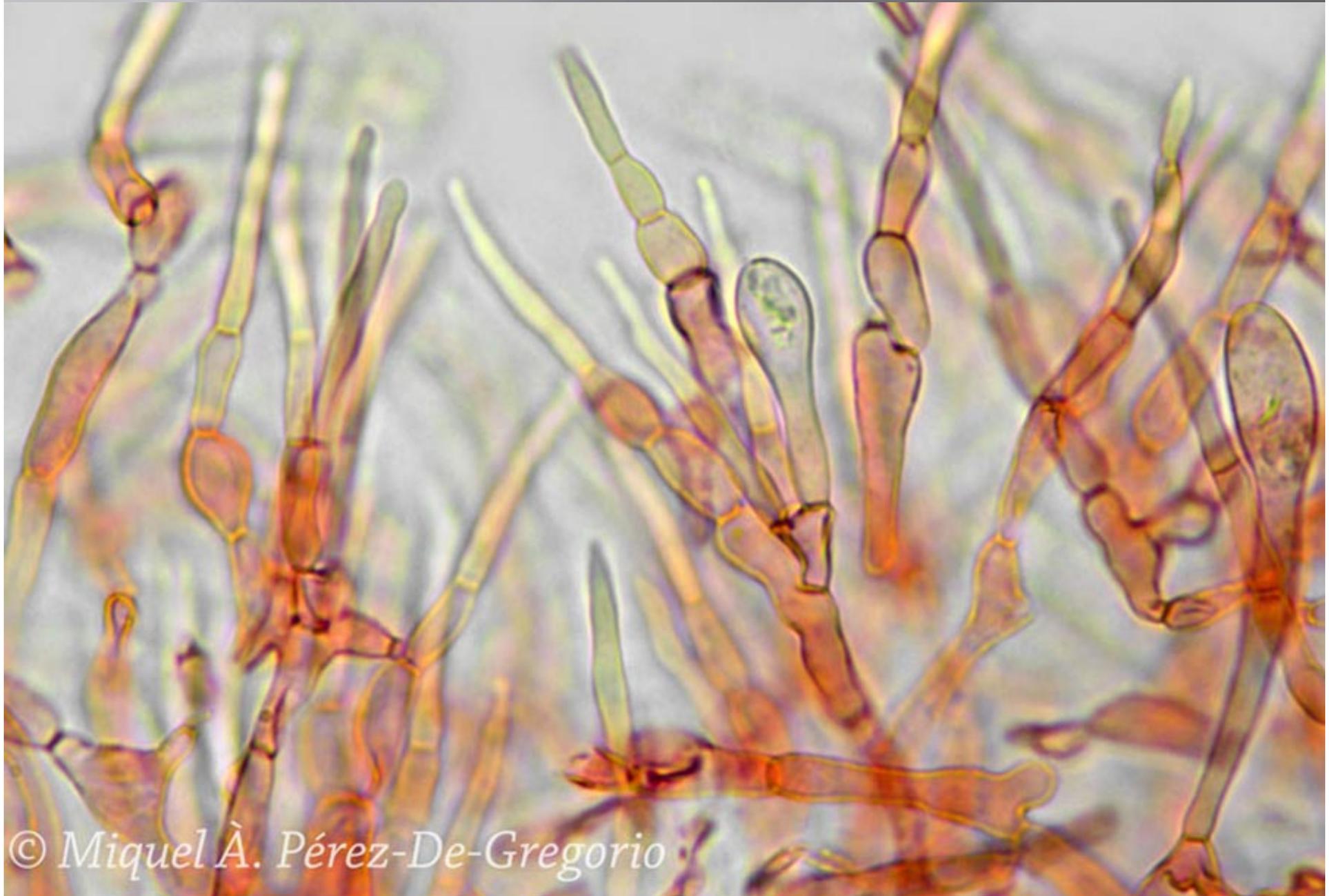


M. Legomte - 2013 ©

Armillaria ostoye

Les cuticules des russules

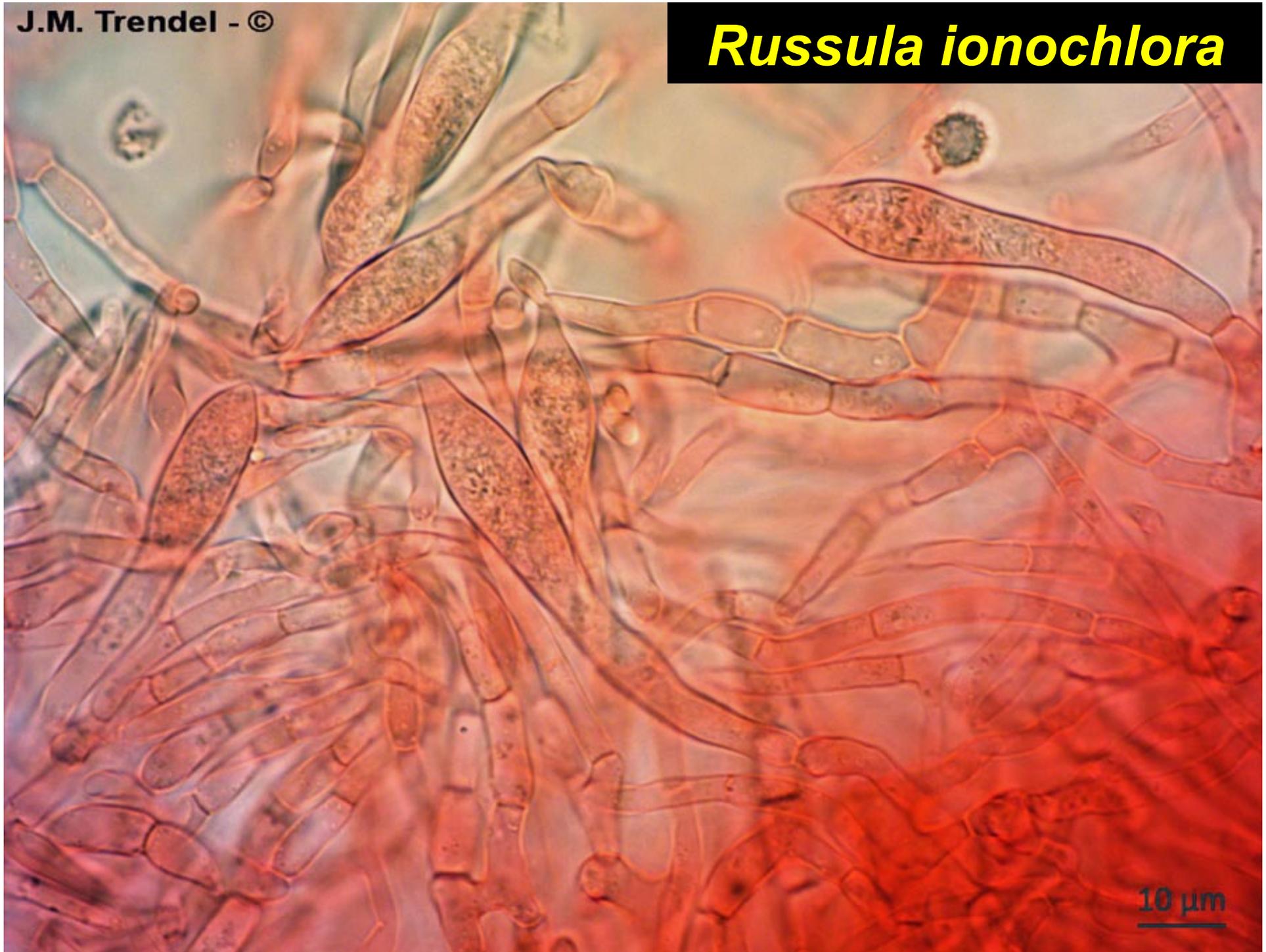
Russula heterophylla



© 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 H₂O glycérolisée

Repérer les dermatocystides et les hyphes terminales éventuelles.

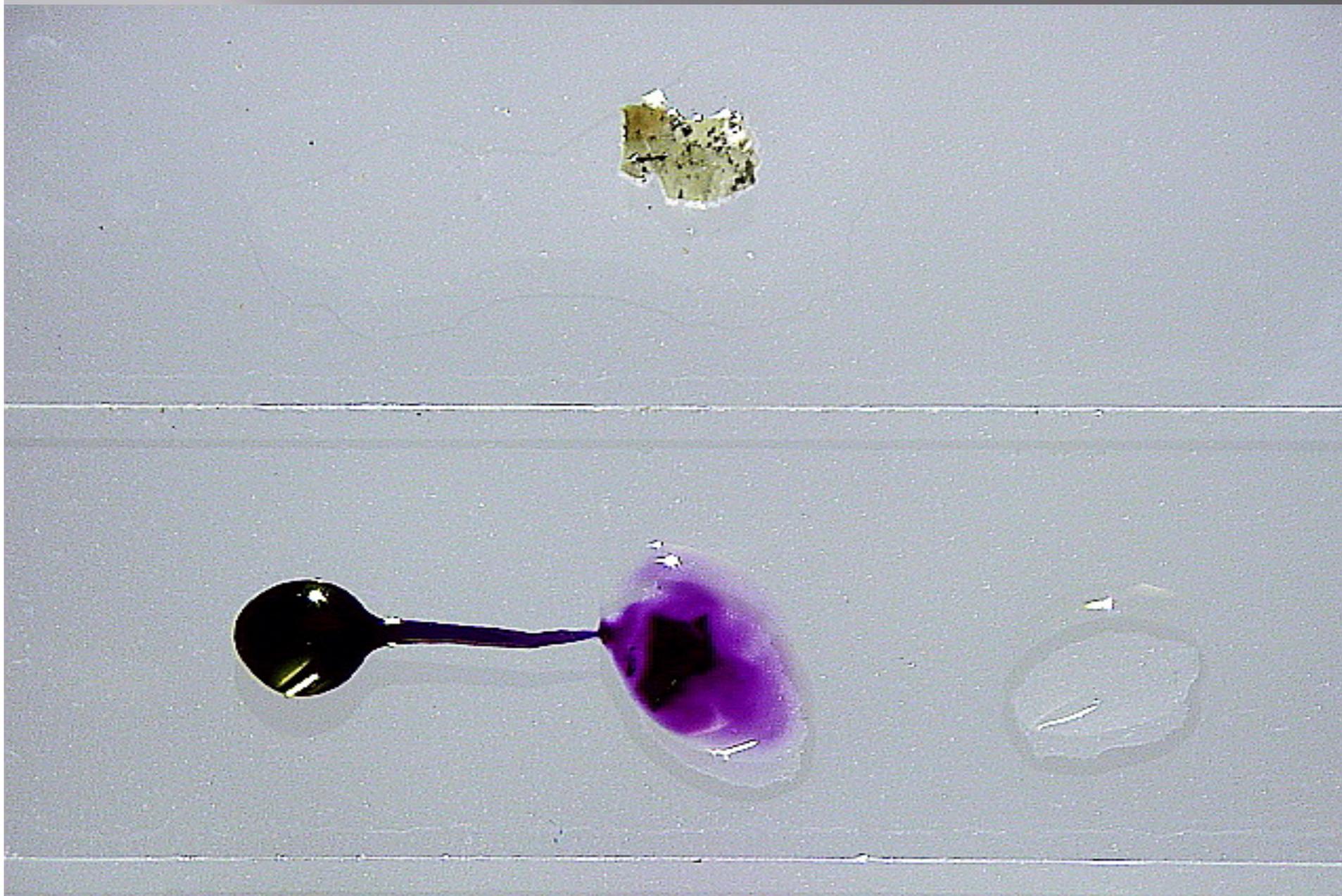
ATTENTION au sens de la préparation !

**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 %**

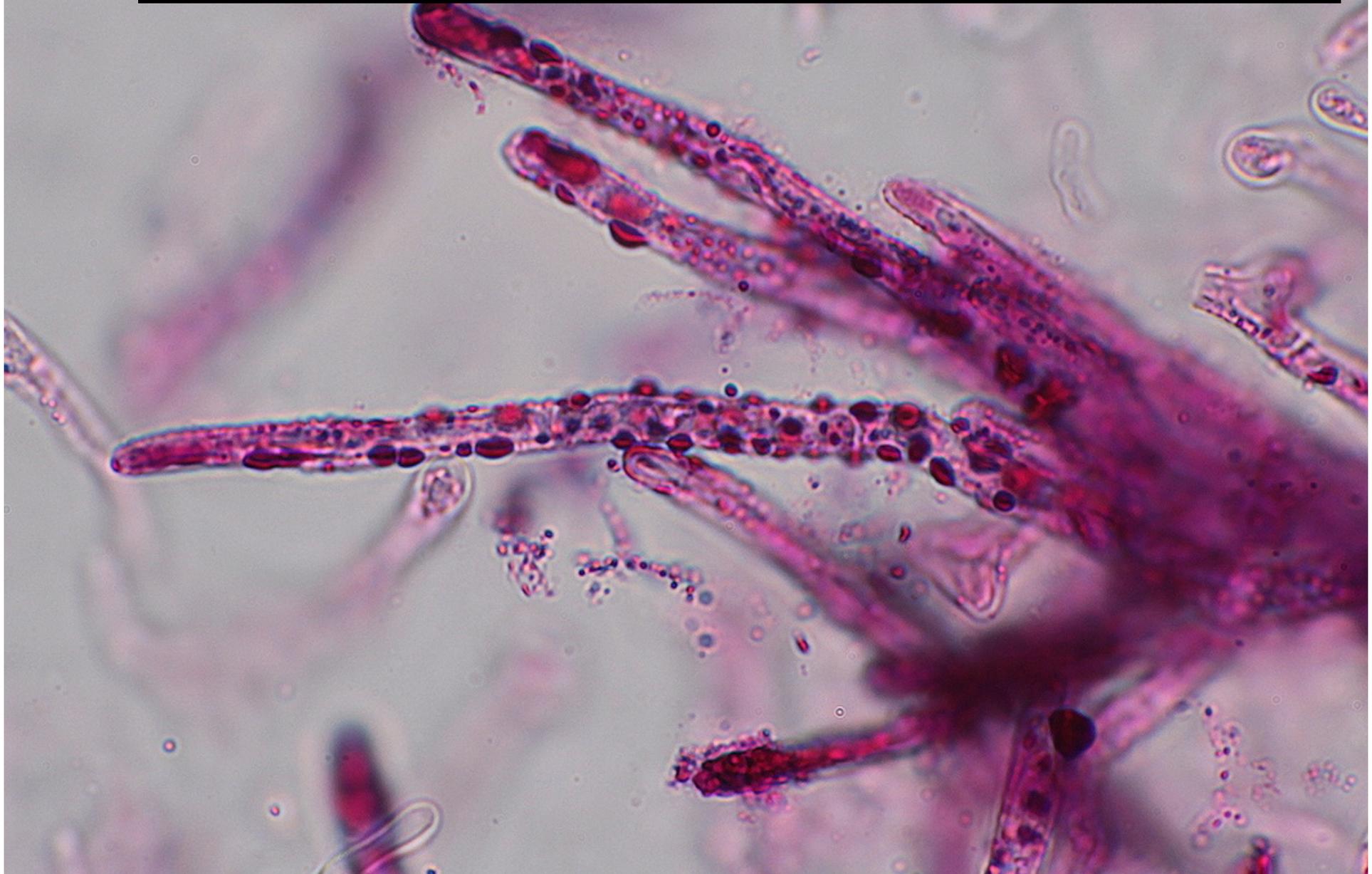
 **Rincer et observer dans l'eau**

Les incrustations acido-résistantes selon Clémentçon

- Coloration au carbolfuchsin (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

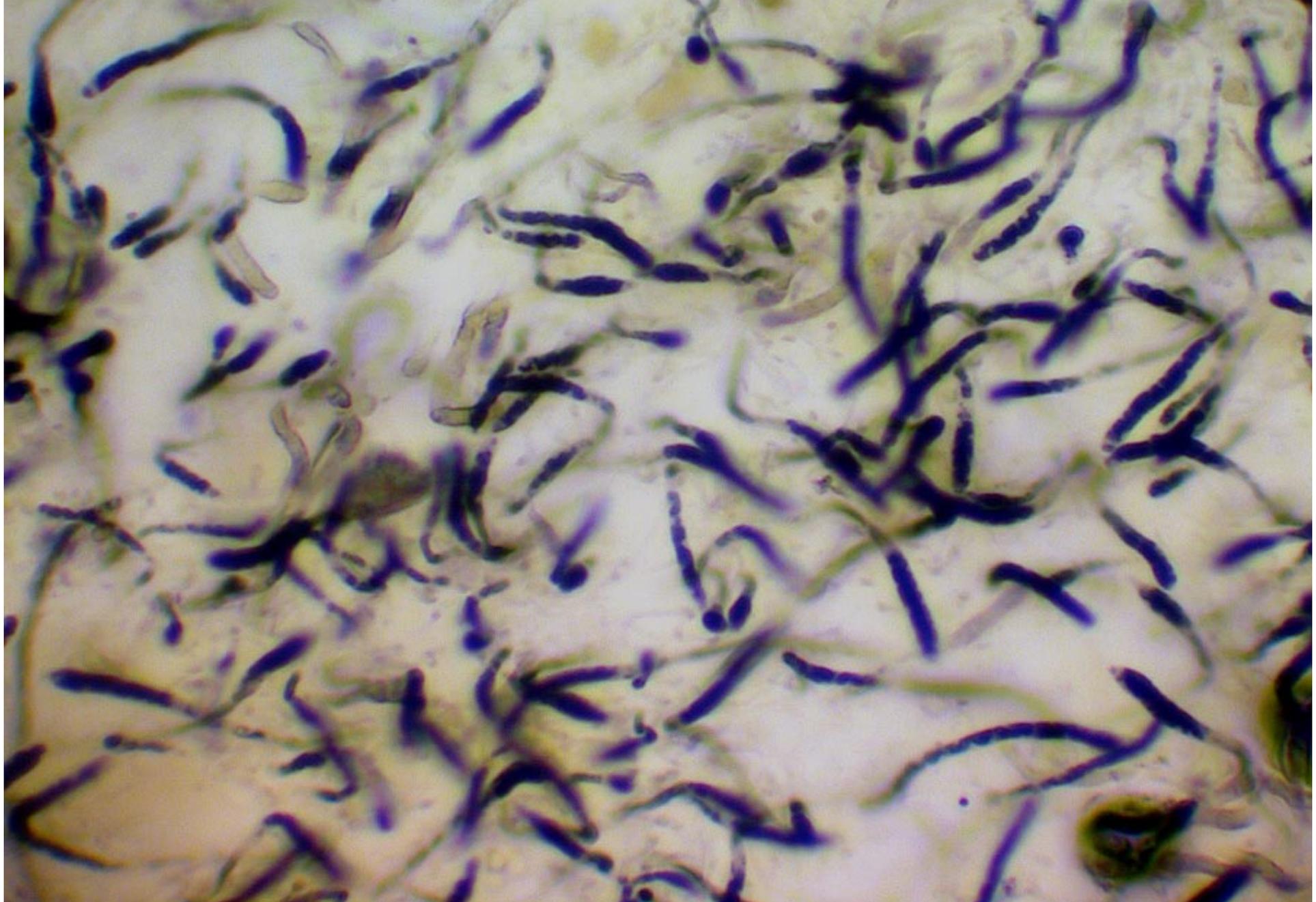
Russula emetica



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

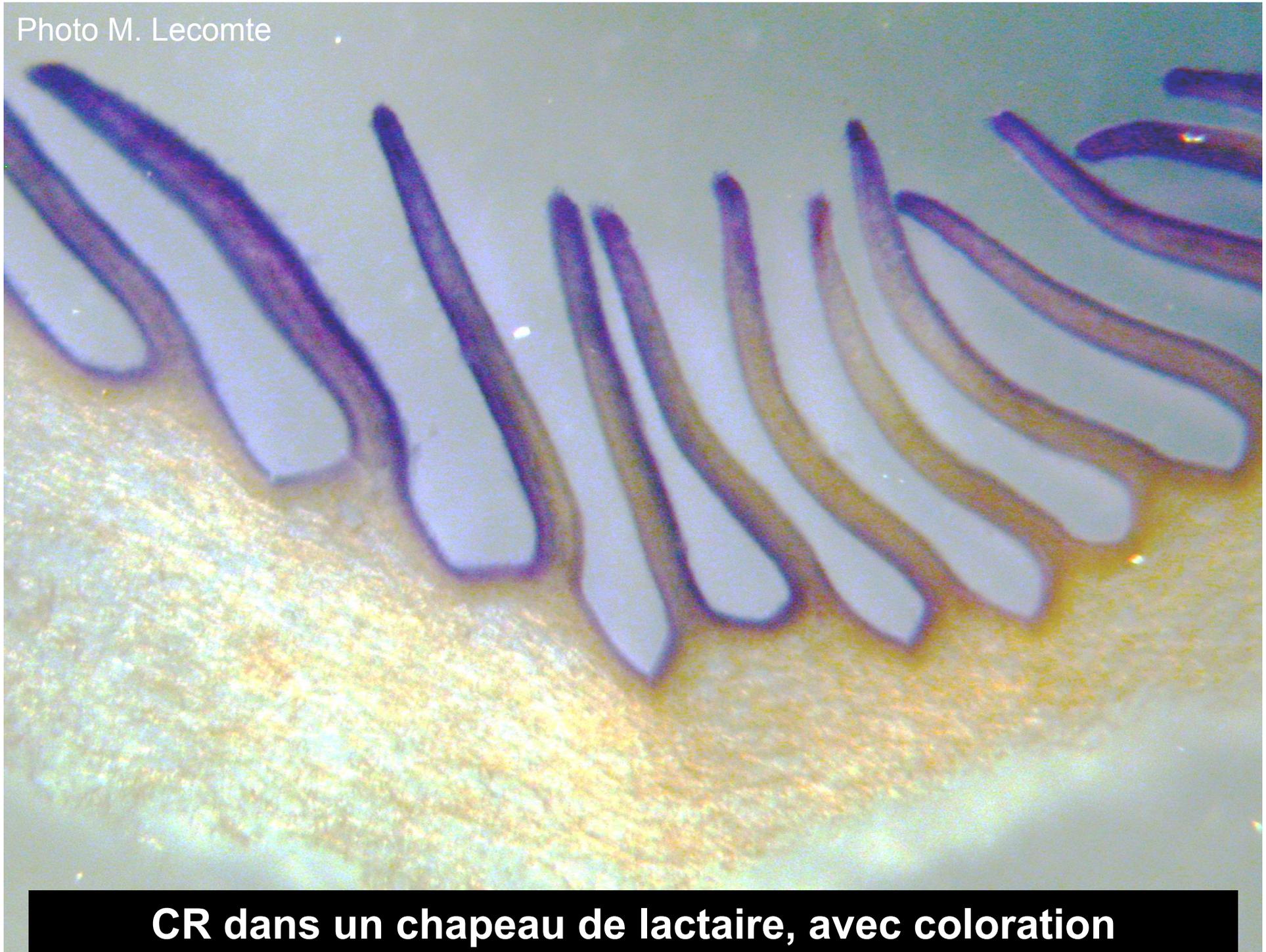


Le microtome de Ranvier

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

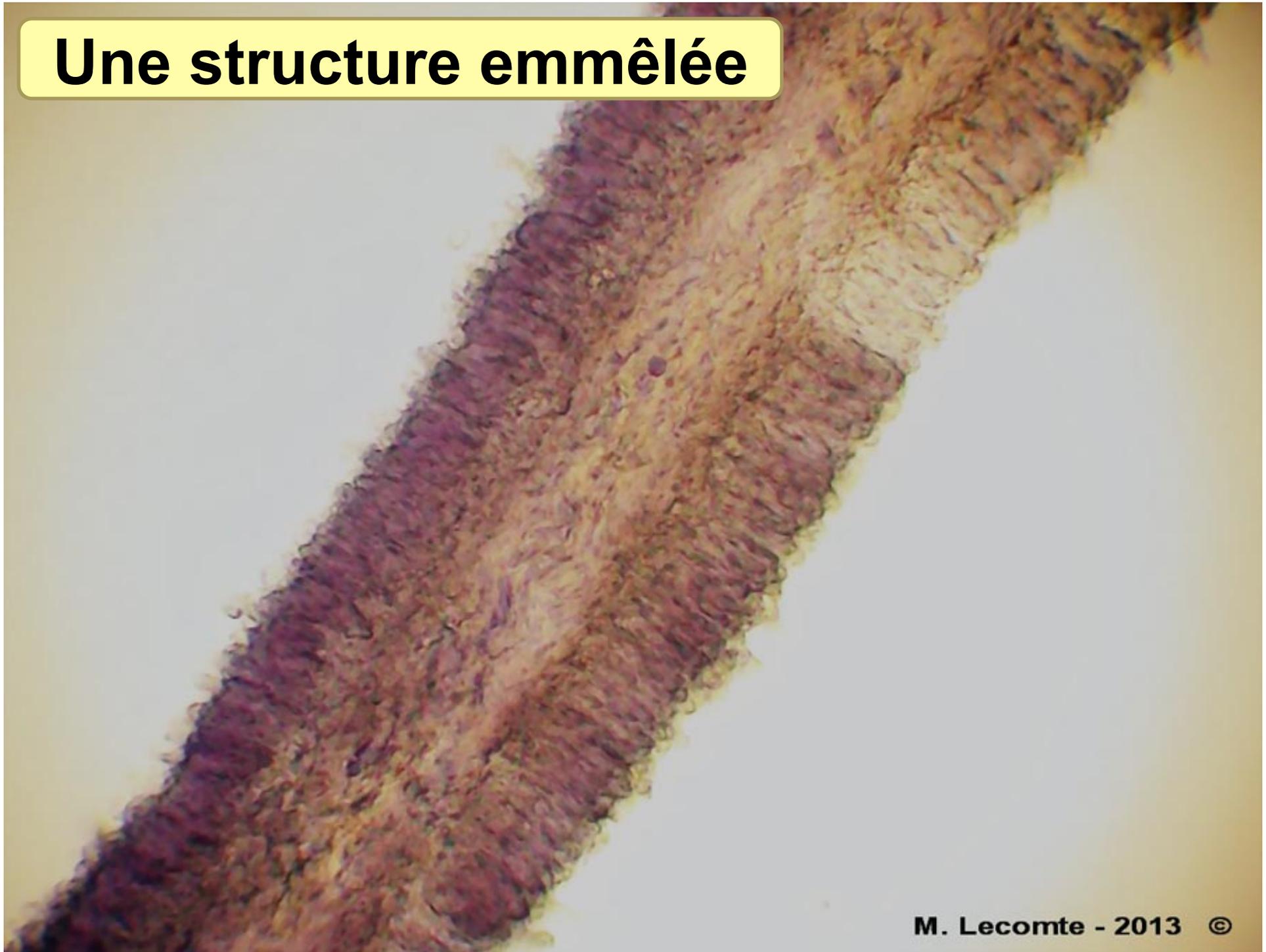


Photo M. Lecomte

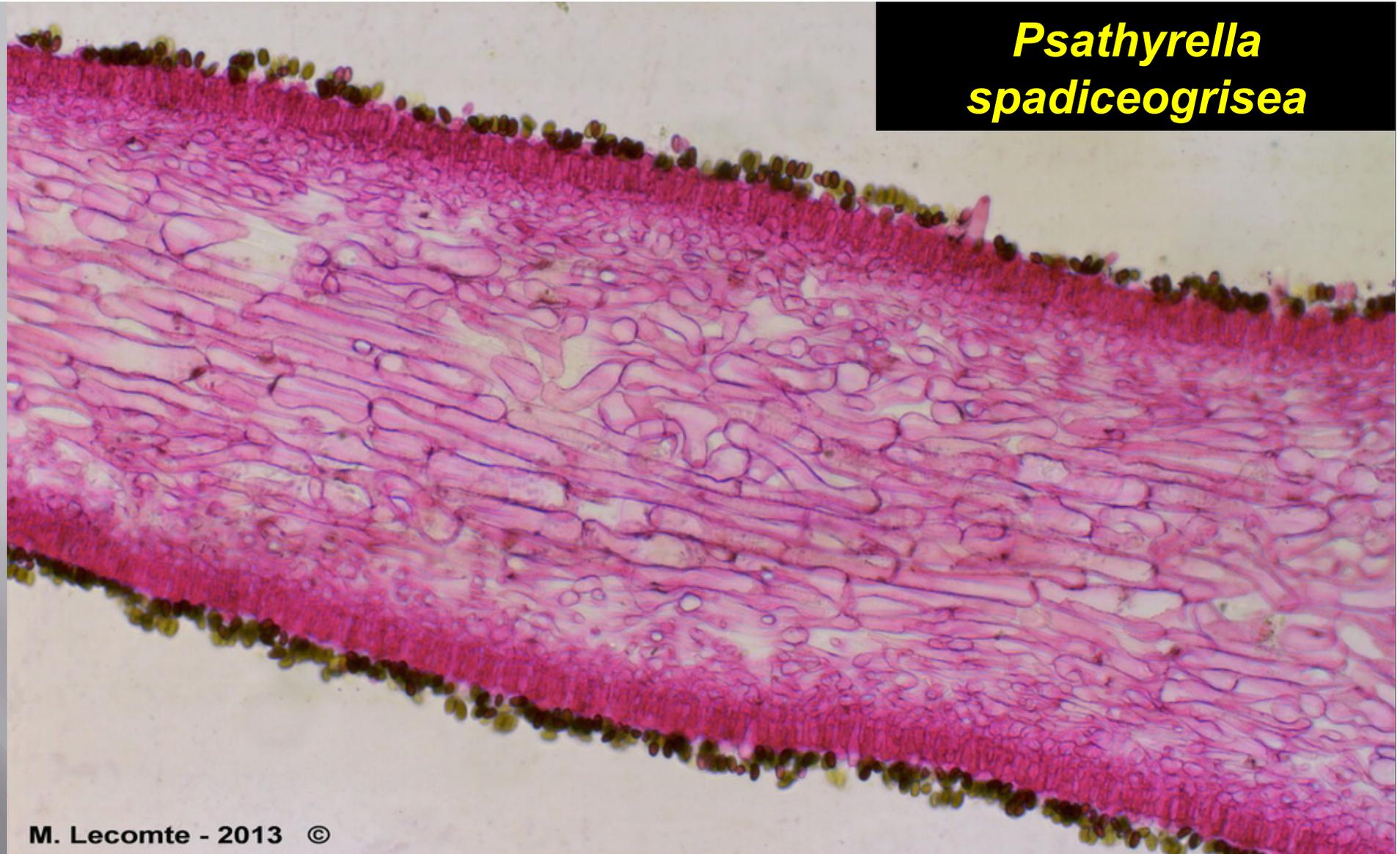


CR dans un chapeau de lactaire, avec coloration

Une structure emmêlée

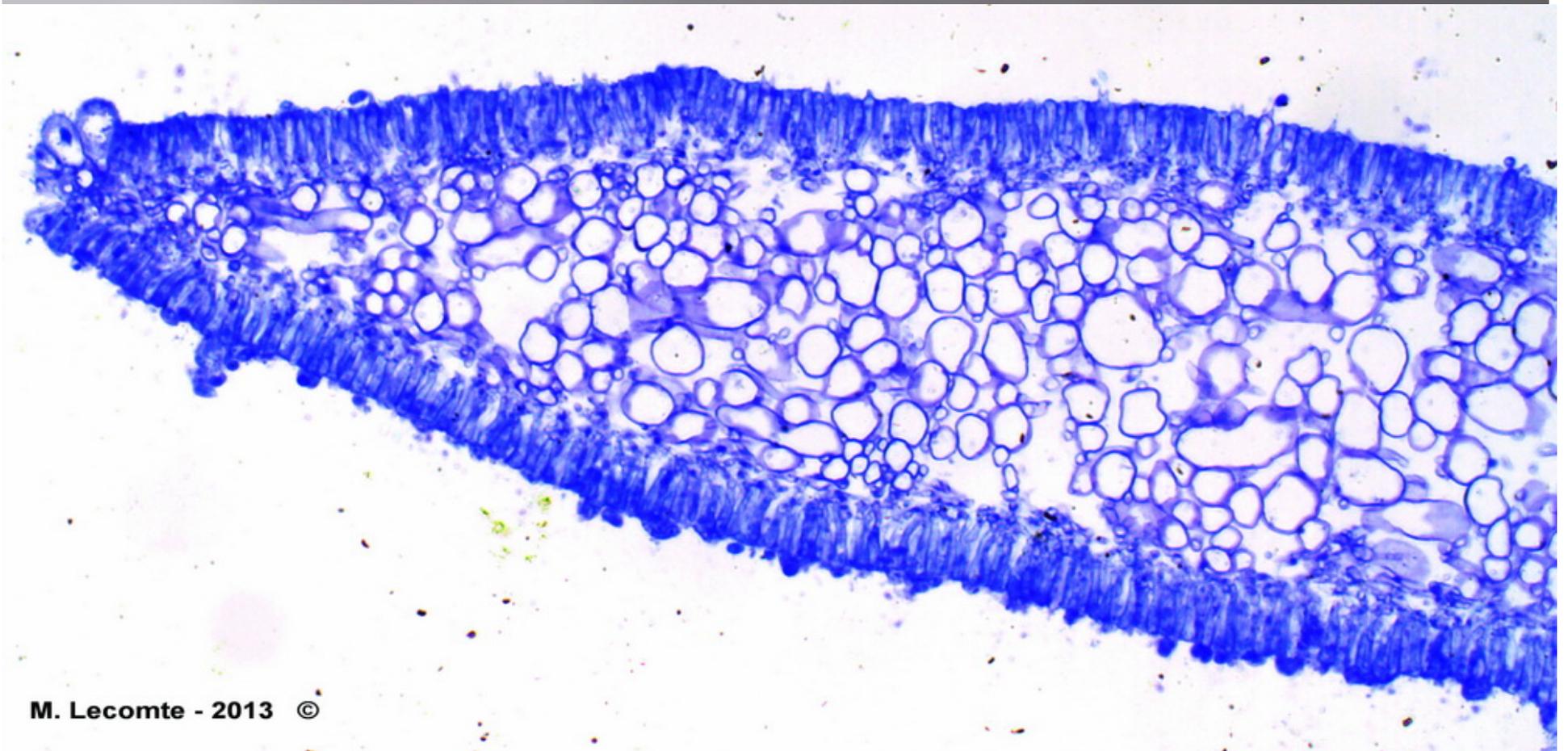


*Psathyrella
spadiceogrisea*



M. Lecomte - 2013 ©

Mycena metata



M. Lecomte - 2013 ©

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

***Russula*
*citrinochlora***



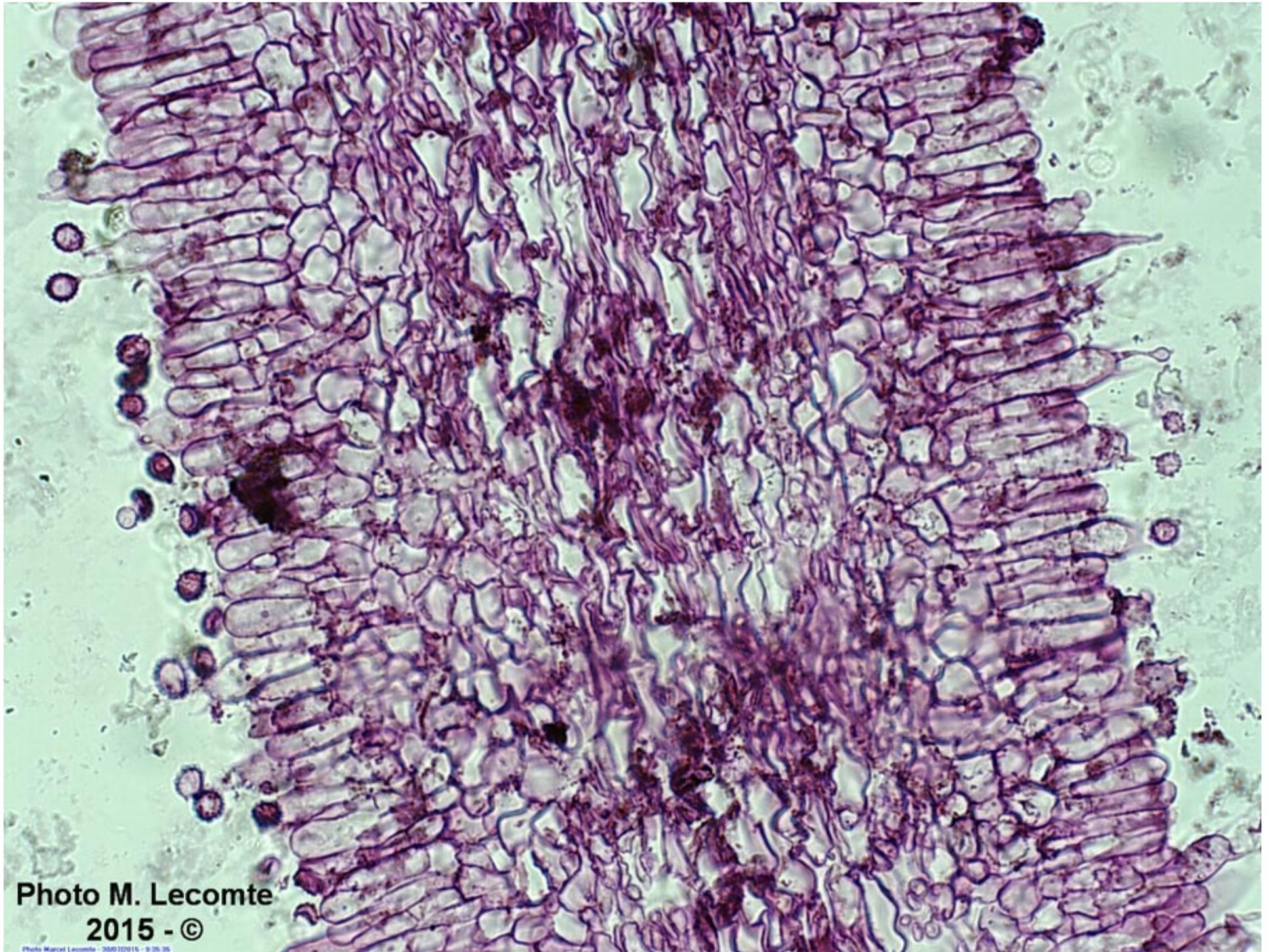
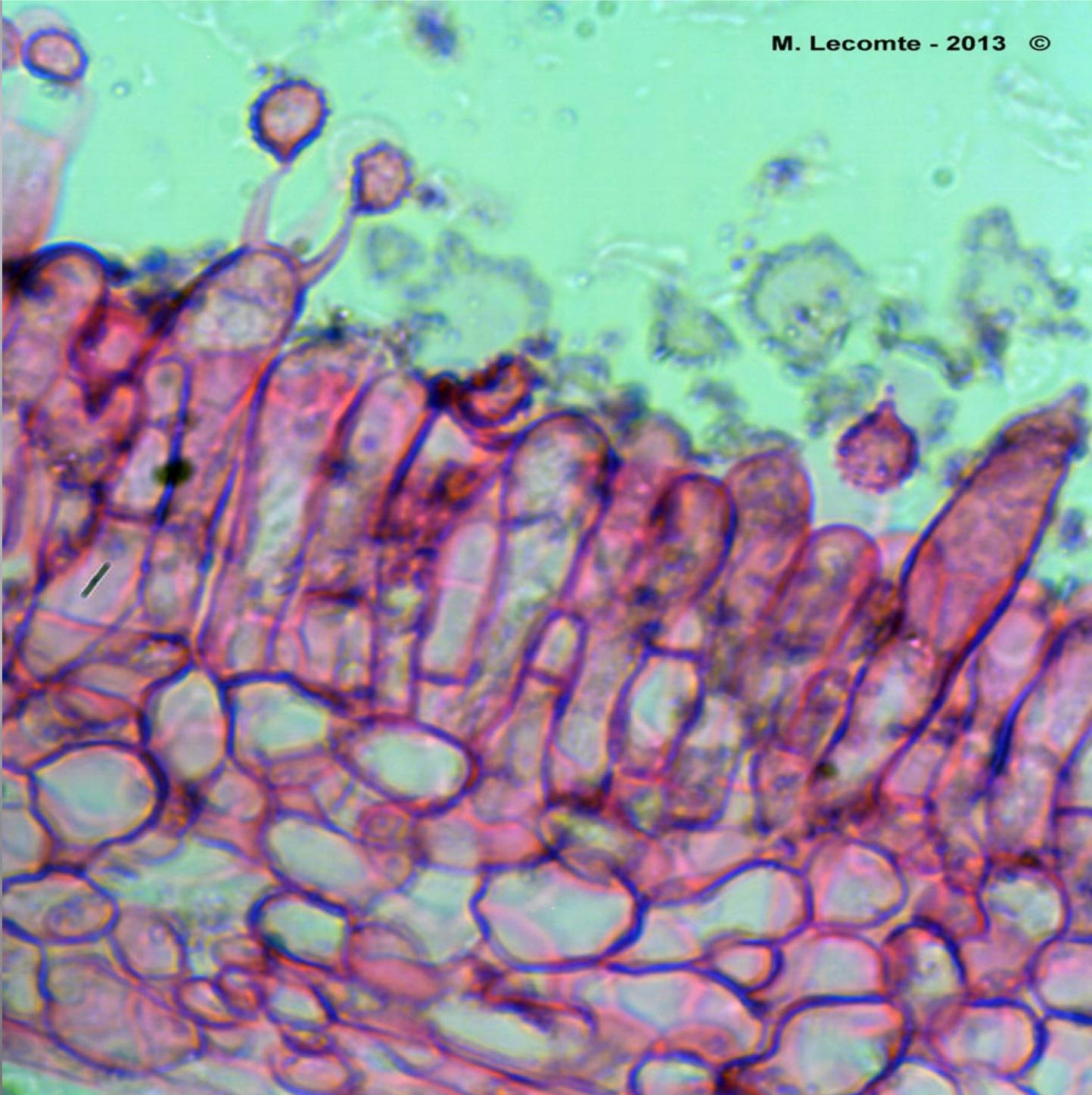


Photo M. Lecomte
2015 - ©



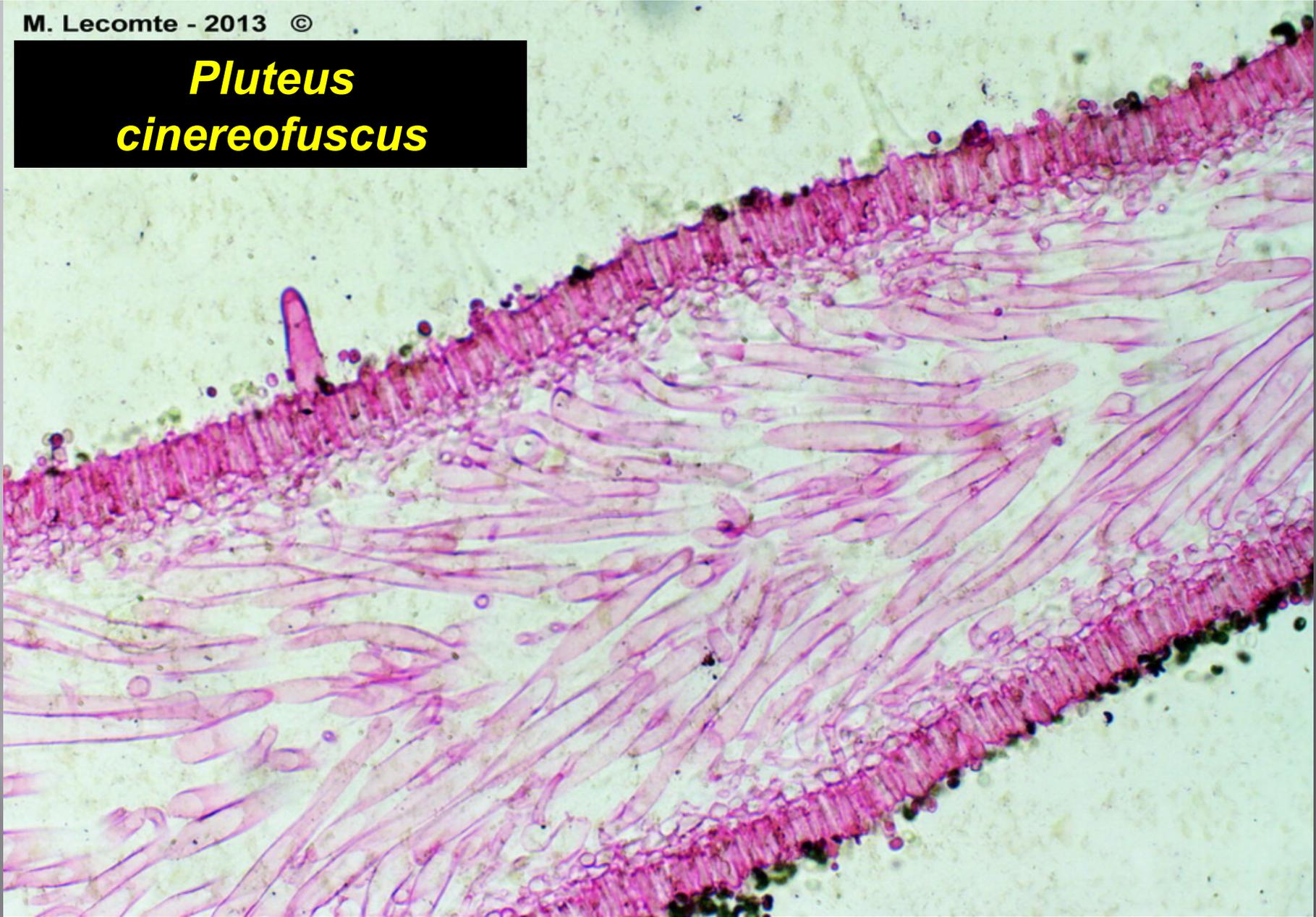
A microscopic image of a cross-section of Tubaria hiemalis. The image shows a dense, parallel arrangement of elongated, pinkish structures, likely representing the fruiting body or a specific tissue layer. The structures are arranged in a regular, parallel pattern, characteristic of a trame parallèle.

Tubaria hiemalis

M. Lecomte - 2013 ©

Une trame parallèle

***Pluteus
cinereofuscus***



Une trame bilatérale

Exercice :

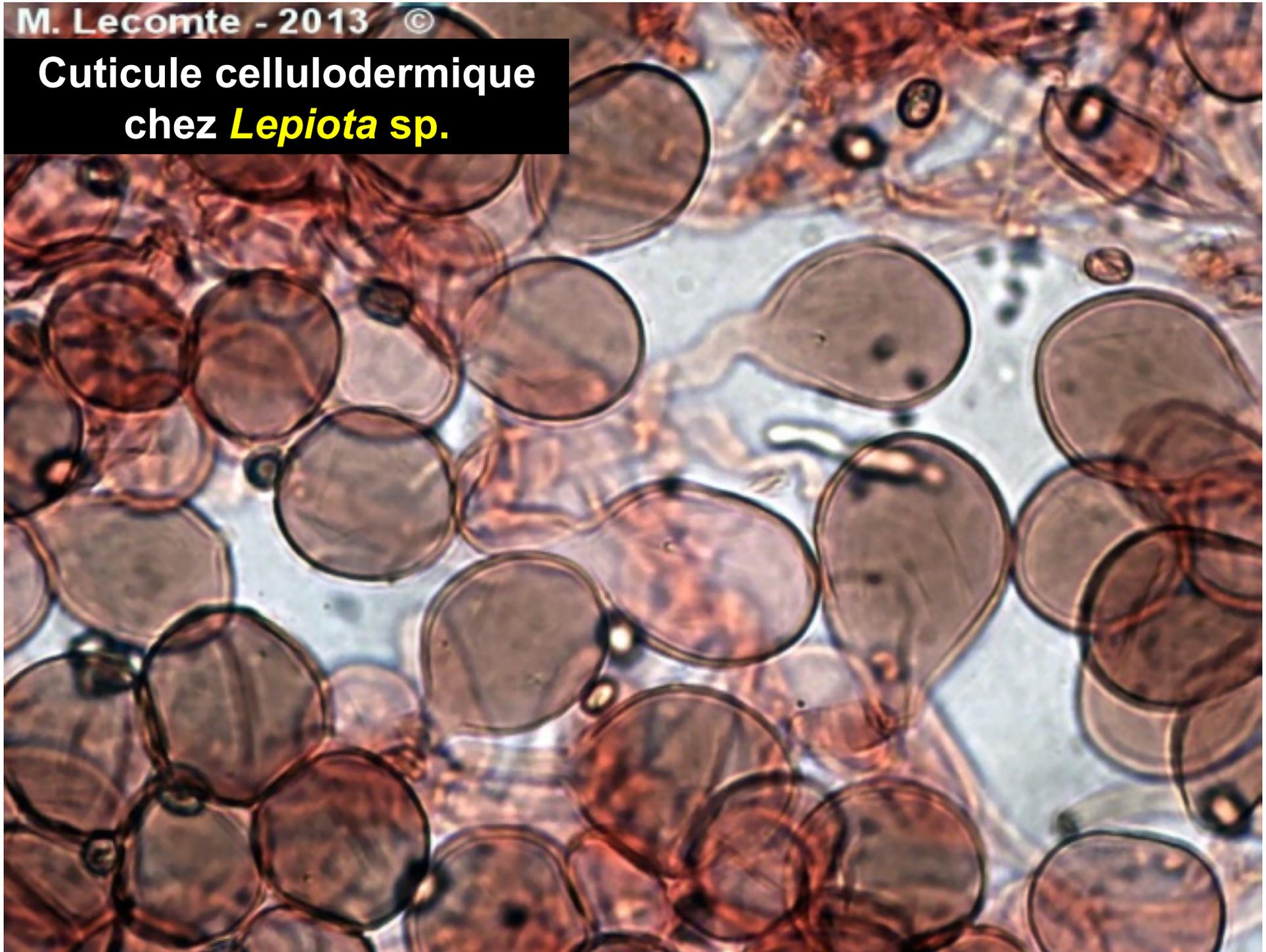
Essais de coupes avec votre matériel (en réaliser une 20taine)

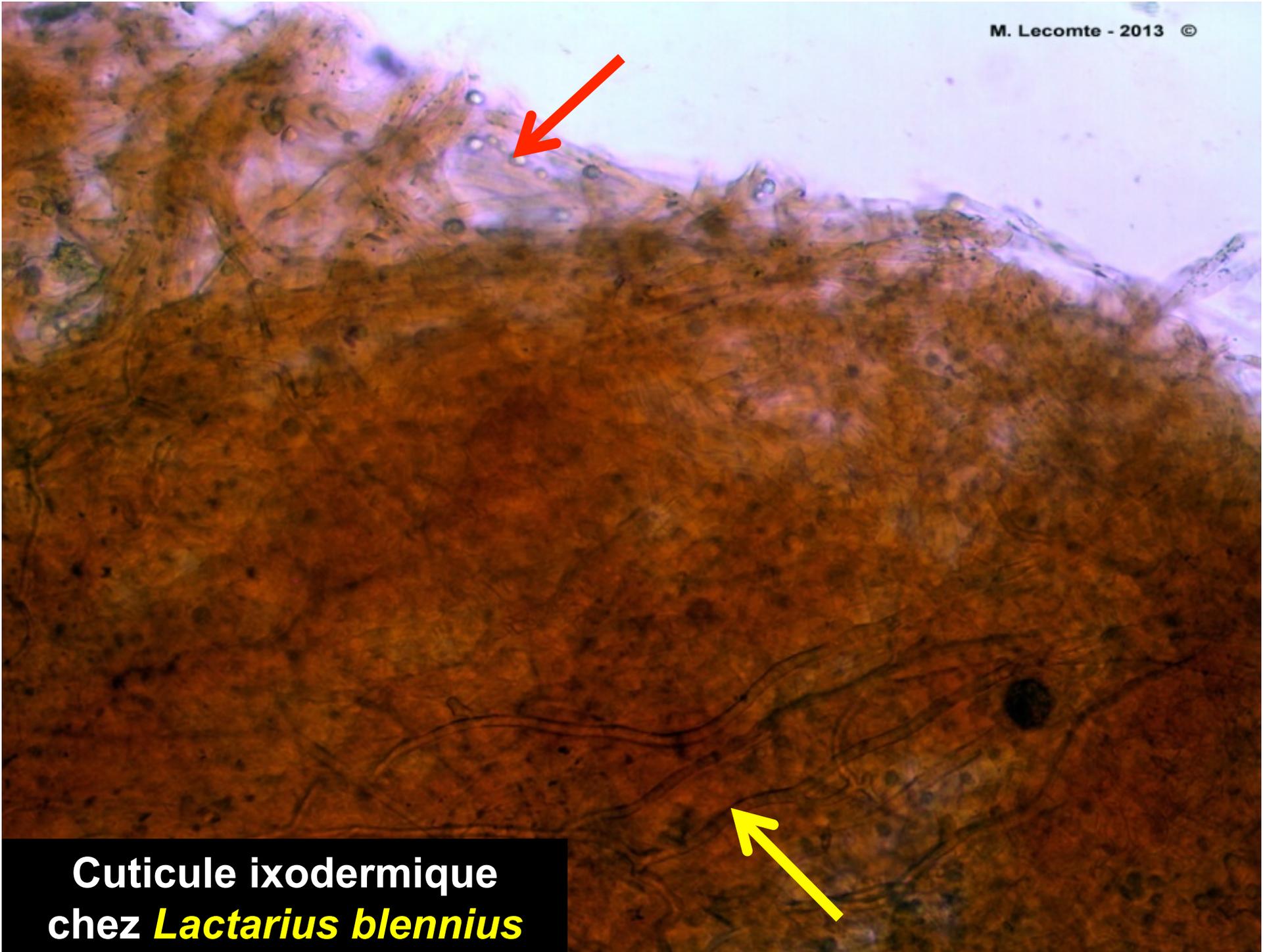
- + les poser dans une goutte d'eau (loupe)**
- + choix de la coupe la plus fine**
- + choix du colorant**
- + rincer abondamment**
- + choix du milieu d'observation**
- + observer et déterminer le type de trame**

**Les types
de
CUTICULES**

M. Lecomte - 2013 ©

Cuticule cellulodermique
chez *Lepiota sp.*





Cuticule ixodermique
chez *Lactarius blennius*

Cuticule trichodermique chez
L. aurantiofulvus

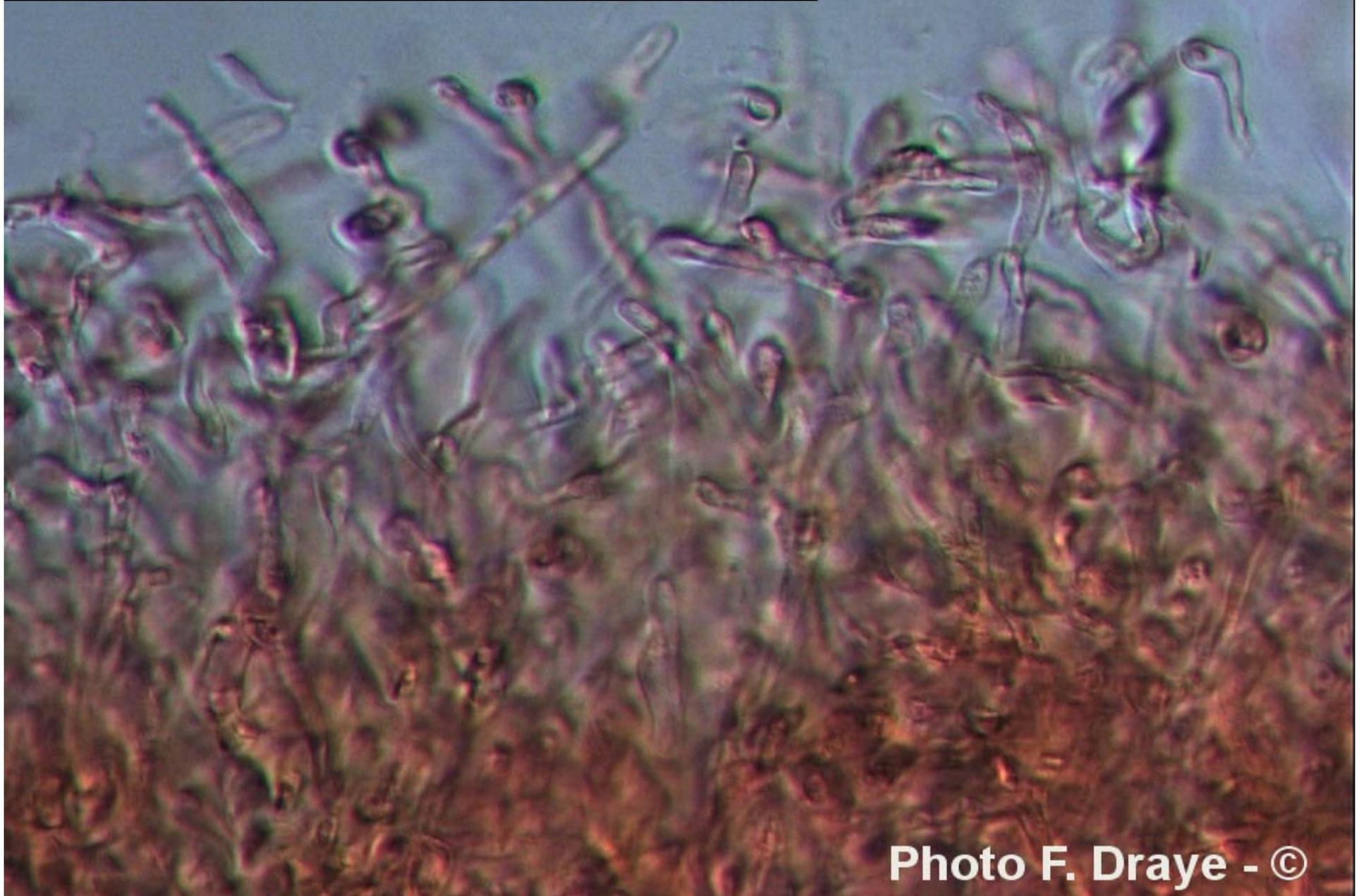
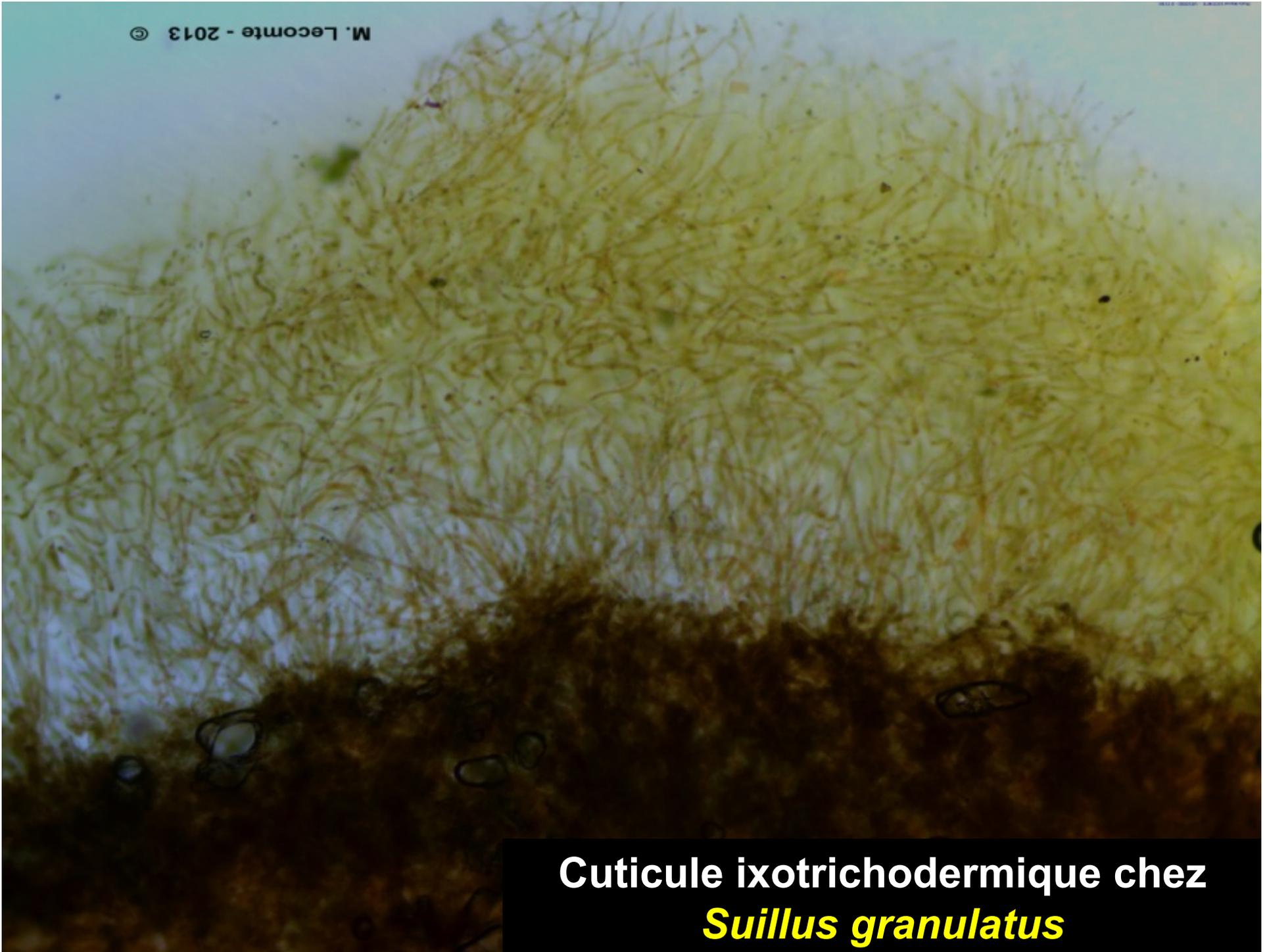


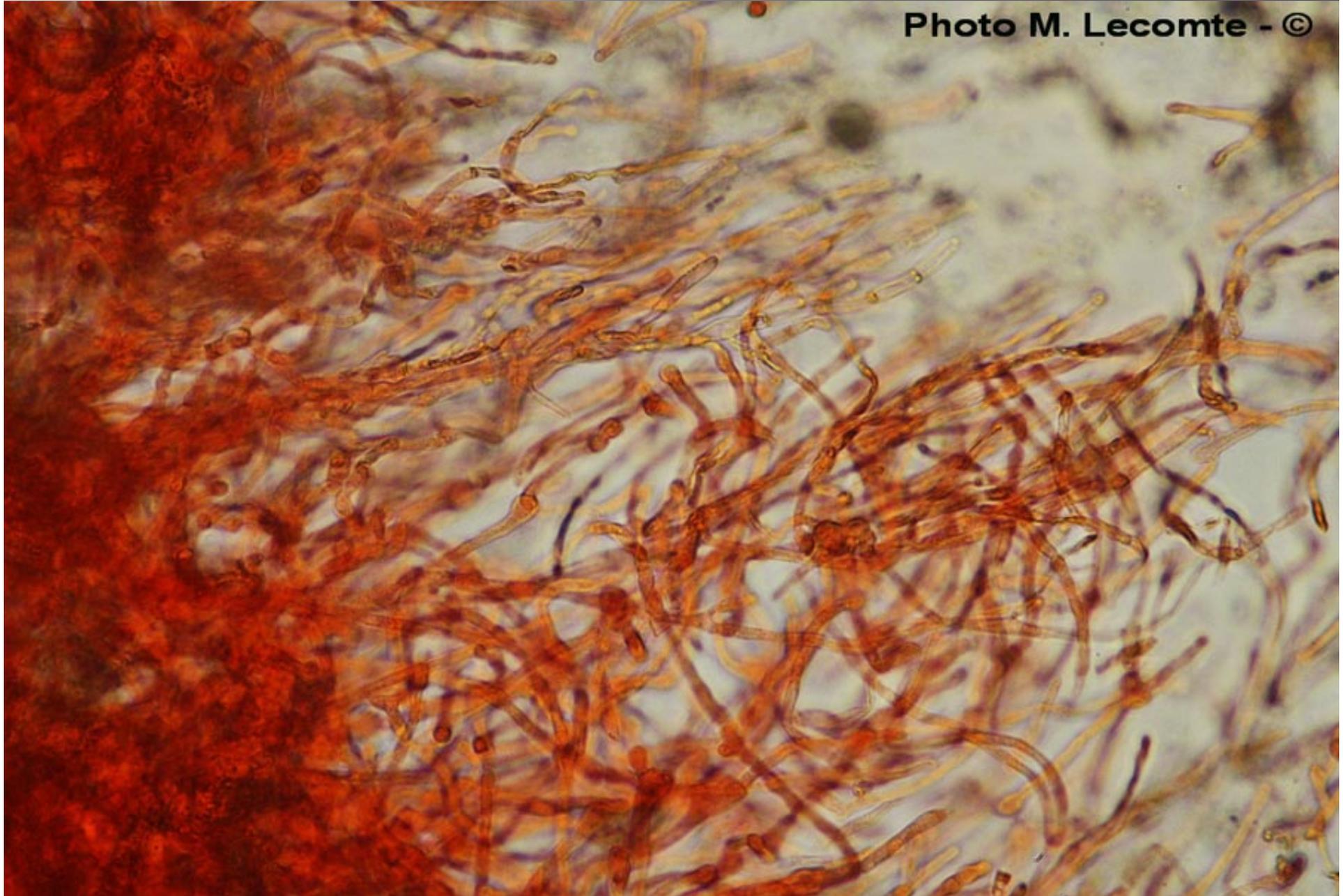
Photo F. Draye - ©

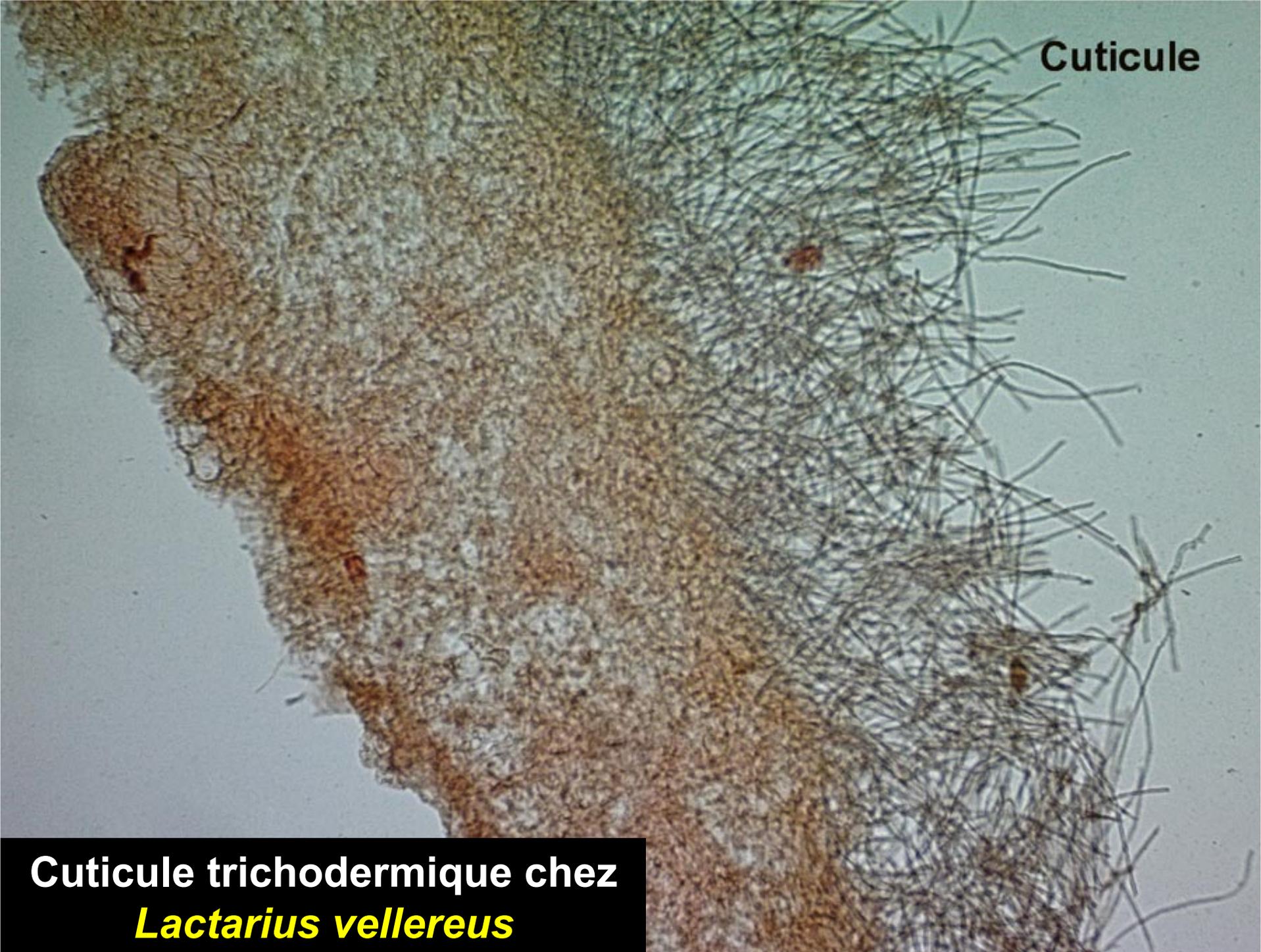


Cuticule ixotrichodermique chez
Suillus granulatus

Cuticule trichodermique chez *Lactarius pallidus*

Photo M. Lecomte - ©



A microscopic image showing a cross-section of a trichodermic cuticle. The top layer is a thin, brownish cuticle. Below it is a dense layer of long, thin, needle-like trichomes. The bottom layer consists of a thick, brownish, fibrous material. The word "Cuticule" is written in the top right corner.

Cuticule

Cuticule trichodermique chez
Lactarius vellereus

**Mes livres
de référence
en
microscopie**

Ed. 2004

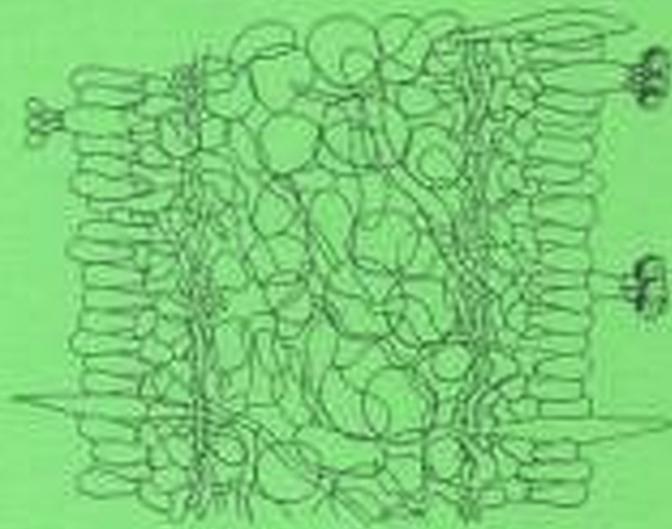
Bibliotheca Mycologica

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

2nd 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



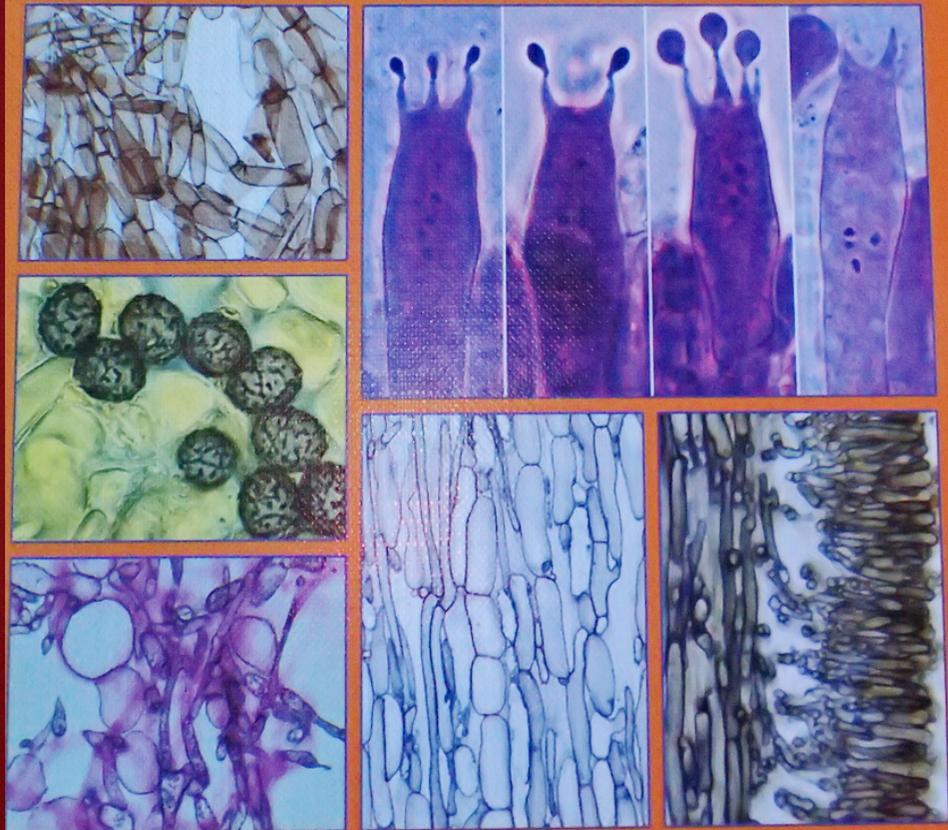
IHW-Verlag
2009

Ed. 2009

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

HEINZ CLÉMENÇON

Großpilze im Mikroskop

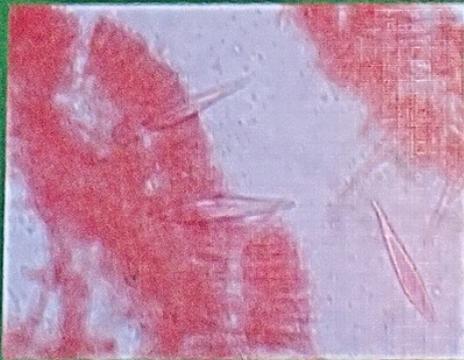


2012

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^o

Ed. 1942

M. LANGERON

PRÉCIS
DE
MYCOLOGIE



COLLECTION DE PRÉCIS MÉDICAUX
MASSON & C^o

Ed. 1945

Une synthèse actualisée de tout cela :



MICROSCOPIE ET CHAMPIGNONS - MARCEL LECOMTE

MICROSCOPIE & CHAMPIGNONS

MARCEL LECOMTE

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





FIN