

La microscopie des Polypores et Corticiés (« Croûtes »).

Marcel Lecomte, Jean-Marie Pirlot, Gérard Trichies (auteur également des croquis et photos)

Scientifiquement, les Polypores et les Croûtes appartiennent à la classe des Basidiomycètes, à l'ordre des Aphylliphorales¹. Ils peuvent être étudiés en toute saison, car ils se développent tout au long de l'année ; la seule manière de travailler correctement, est d'en réaliser la microscopie : sans cela, il nous paraît difficile d'arriver à un résultat probant. Si les spécimens sont séchés, ils peuvent être ramollis avec du KOH ou du rouge Congo ammoniacal.



Une belle croûte : *Phlebia subochracea*

Lorsque l'on travaille sur un polypore et qu'on ne trouve pas directement de spores, il n'y en aura pas : inutile de tenter de provoquer la sporulation ; par contre, les croûtes récoltées avec leur support peuvent parfois générer des spores si on attend quelques jours². On entendra parfois dire que ces dernières ne sont pas très attirantes ou spectaculaires³, ce qui est une erreur à notre sens.

La microscopie de ces groupes nécessite de la patience : il faut s'en armer, et d'une belle quantité de lames

couvre-objets car le débutant en cassera souvent, sur des sujets **coriaces**⁴. Le gros problème réside dans l'épaisseur des coupes qui doivent être très minces. Mais avec un peu d'entraînement, et l'aide d'une bonne lame Gillette (*nous n'avons pas signé de contrat publicitaire avec cette société ...*), nous réussissons de belles coupes. L'utilisation de la loupe stéréoscopique s'avère, à notre avis, indispensable pour les réaliser. A défaut de microtome, nous conseillons les coupes en triangle, dont on conservera ensuite la partie la plus fine.

Un beau polypore : *Hexagonia nitida*



¹ Ce terme a une utilité pratique et une connotation anecdotique, sans valeur scientifique réelle. Quant à la position systématique de ces champignons, elle est actuellement très variée (et variable, hélas !) car ils sont répartis dans un grand nombre d'ordres différents (par exemple, selon Boidin, 1998) : Athéliales, Botryobasidiales, Cératobasidiales, Hyphodermatales, Phanérochaetales et autres Phlébiales, pour n'en citer que quelques-uns.

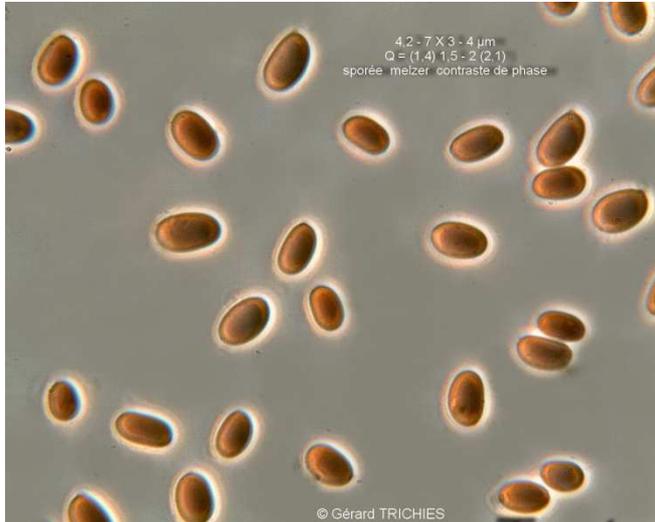
² Hormis pendant leur prime jeunesse et à leur vétusté, les Corticiés se montrent fertiles plus longtemps que les champignons charnus, car ils produisent généralement un hyménium au fonctionnement durable : les basides nouvelles se glissent entre les basides flétries et les dépassent, l'hyménium s'épaississant peu à peu (il est dit alors « crassescent »). Le basidiome est constitué d'abord d'un subiculum, couche plus ou moins épaisse d'hyphes basales le plus souvent parallèles au substrat, sur lequel se développe un sous-hyménium qui génère finalement l'hyménium fertile. Il est souvent très facile de vérifier à la loupe la présence d'éventuelles cystides émergentes : elles donnent un aspect velouté à la surface hyméniale. Si on n'observe que des hyphes dans un prélèvement correctement effectué, on se trouve sans doute en présence d'un primordium ou d'un spécimen inactif ou vétuste dépourvu de strate hyméniale. Dans ce cas, sauf exception notable, il est inutile de poursuivre toute tentative de détermination de l'échantillon.

³ Quand on s'y intéresse d'un peu plus près, et, a fortiori, si on le fait avec passion, on se rend vite compte que ces grands méritants, si injustement méprisés de la mycologie de salon, présentent une grande diversité d'aspect, aussi bien en ce qui concerne le relief de leurs basidiomes que les nuances de leur coloration. S'il est vrai, cependant, que beaucoup d'espèces offrent des teintes plutôt claires, il n'en reste pas moins qu'au gré des découvertes, toute la palette des couleurs peut apparaître dans ce groupe. Et d'ailleurs, entre nous, cette variabilité chromatique ou formelle est-elle vraiment plus prononcée chez les agarics ou les inocybes ? Et que dire, à ce point de vue, de la monotonie des *Hebeloma*, des *Conocybe* et autres *Galerina* ?

⁴ La plupart des espèces concernées ne le sont pas, cette épithète qualifiant une texture souple et résistante comme le cuir. Les champignons dits coriaces (majoritairement des polypores) le sont en raison de leur structure généralement (di- ou trimitique, c'est-à-dire composée d'hyphes conjonctives (ou ligatives), et aussi, le plus souvent, d'hyphes squelettiques, en plus des indispensables hyphes génératrices. Au contraire, les Corticiés sont, en majorité, de consistance plutôt tendre et fragile, quand ils ne sont pas franchement poreux ou aranéeux, à cause de leur système hyphal monomitique. Ils s'étalent comme une croûte sur leur support (ou substrat) souvent ligneux.

Deux évidences quand même :

- La littérature sur le sujet est moins accessible, car les ouvrages « grand public » ou de vulgarisation ne traitent que de la mycologie au sens populaire et traditionnel de ce terme, c'est-à-dire généralement des champignons munis d'un pied et d'un chapeau. Et la littérature spécialisée, à visée plus scientifique, n'est le plus souvent que le reflet de cette situation et son prolongement logique.
- L'identification des récoltes est plus sûre, étant basée sur des critères plus stables, le plus souvent de nature microscopique, car liés à la reproduction de l'espèce, laissant à cette fin une part moins belle à des caractères plus subjectifs, sujets à une plus grande variation car tributaires des conditions extérieures de croissance (habitus particulier, couleur, odeur...).



Spores de *Parmastomyces mollissimus*, observées dans le melzer

Le matériel et les colorants

Notre ami Gérard Trichies⁵, spécialiste français des Aphyllophorales, considère que l'utilisation du contraste de phase est indispensable. Comme colorant, il n'utilise quasi que **le réactif de Melzer**⁶, ce qui lui permet en même temps de vérifier si la réaction est amyloïde, dextrinoïde, ou nulle.

D'autres possibilités :

L'eau : pour connaître la physionomie réelle des organes.

Le rouge Congo : il est intéressant de procéder par capillarité en introduisant le colorant sur le côté de la lamelle porte-objet

et en épongeant de l'autre. Il va colorer la paroi des basides.

La phloxine B : d'abord rincer avec un peu de potasse et ensuite à nouveau par capillarité, introduire la phloxine. Remettre de la potasse pour rincer et avoir une coupe claire. La phloxine colore le cytoplasme.

Le bleu coton : utilisé pour mettre en évidence la cyanophilie éventuelle.

Le bleu de crésyl permet la mise en évidence de la paroi métachromatique des spores de certaines récoltes comme chez les *Xenasma*.

Les sulfoaldéhydes (dont la sulfovanilline et le sulfoformol), pour tester le contenu des gléocystides présentes. Ils donnent, dans certains cas, des réactions comparables à celles observées chez les Russules.

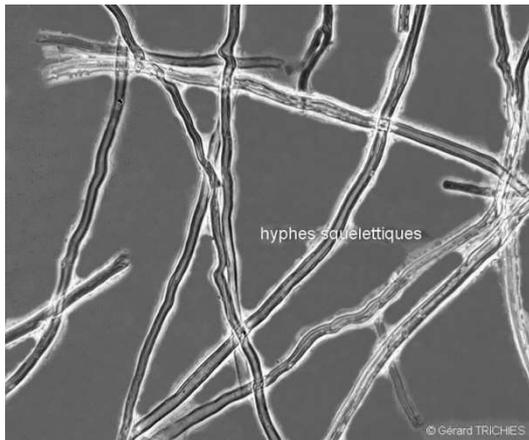


Spores de *Tomentella bryophila*

⁵ Il préfère travailler sur du matériel frais, mais constitue un herbier où figure, pour chaque récolte, un exsiccatum accompagné -sauf exception- d'une ou de plusieurs sporées recueillies sur lame en plastique. Les exsiccata comprennent l'intégrité du champignon, depuis les hyphes primordiales incluses dans le substrat jusqu'à son hyménium fertile, car ils comportent quasi toujours un morceau de substrat. Ceci va permettre, le cas échéant- en particulier pour leur examen ultérieur- de les regonfler assez facilement en les réhumidifiant par flottage dans un récipient rempli d'eau. Il est ainsi possible, dans ces conditions, de revivifier le matériel sec et même, dans certains cas, d'en obtenir une nouvelle sporée.

Adresse de contact : Gérard Trichies, France - trichies.gerard@sfr.fr

⁶ (« Devant un champignon inconnu, il faut commencer par le melzer... » affirme le grand spécialiste Jacques Boidin). Cette technique permet d'éviter la coloration des éléments hyalins et offre une grande lisibilité de la préparation, en particulier dans l'appréciation de l'épaisseur des parois et des ornements éventuels des spores. Le melzer présente d'ailleurs deux autres avantages non négligeables. D'abord, comme c'est un milieu visqueux qui ne s'évapore que lentement, il procure un grand confort en autorisant une plus longue observation en continu. Mais surtout, en lumière claire (il suffit, pour ce faire, de retirer instantanément la lame de phase), il permet l'indispensable mise en évidence de l'**amyloïdie** ou de la **dextrinoïdie** de certains organes examinés : ceci est d'une importance souvent décisive dans le processus de détermination du spécimen étudié, sachant, par exemple, que seules 10% environ des espèces en cause sont concernées par l'un ou l'autre de ces deux caractères.



Techniques diverses

++ Coupe avec une lame de rasoir mécanique (de préférence sur du matériel frais, et sous la loupe binoculaire, en s'assurant bien qu'elles comportent une partie de l'hyménium).

++ Laisser mijoter la coupe dans de la potasse (KOH) à 5% ; une solution à 10% peut être aussi utilisée mais n'est pas conseillée car elle va dissoudre certains éléments comme les cristaux.

++ Après un certain moment (ne pas vouloir travailler trop vite), la propriété regonflante du KOH va agir et permettre de dissocier le prélèvement et de réaliser une première observation.

++ Pour arriver à une bonne observation, il est

impératif, en dernier ressort, de bien dissocier le fragment prélevé. Penser aussi, le cas échéant, à effectuer plusieurs prélèvements successifs, par exemple vers le centre du basidiome (partie la plus mûre) et à sa marge (où se découvre généralement le subiculum nu).

Méthode d'observation préconisée par J.M. Pirlot⁷ :

- Placer le spécimen dans du KOH.
- Introduire ensuite le rouge Congo par diffusion.
- Rincer à l'ammoniaque.
- Ensuite, faire pareil avec la phloxine (les hyphes génératrices se colorent en rose).
- Laver à nouveau à l'ammoniaque pour obtenir une préparation claire.
- Regarder avec l'objectif x40, pour avoir une vue d'ensemble, avant de passer à x100.



Les observations

Lors de l'observation microscopique, les éléments suivants vont être essentiels à noter.

Le mitisme (outre les hyphes génératrices⁸, contrôler la présence éventuelle d'hyphes squelettiques et d'hyphes conjonctives (ligatives), (ces deux dernières étant dépourvues de cloisons). Toutefois, il faut noter que la grande majorité des espèces de Corticiés ont une structure strictement monomitique.

Cela va donner lieu à divers systèmes hyphaux :

Soit monomitique : uniquement des hyphes génératrices ; soit dimitique : 2 types associés ; soit trimitique : 3 types associés.

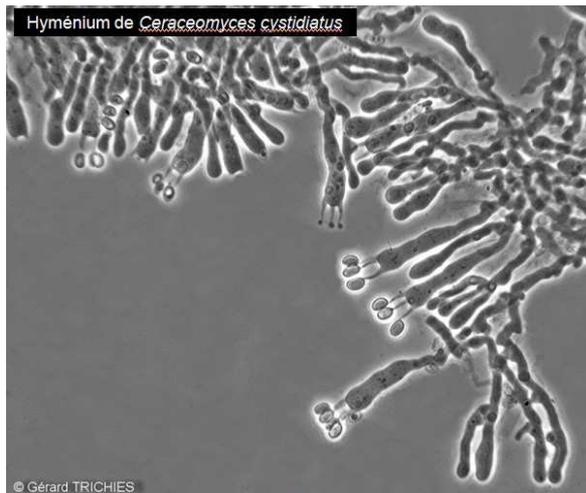
Le type de cloisons : simples ou pourvues de boucles. Noter que ces dernières peuvent être rares, localisées ou inconstantes. On sera attentif à la cloison qui peut être « fausse » ; en fait, ce qu'on voit

⁷ Jean-Marie Pirlot, rue des Bluets, 7 – B-6840 NEUFCHÂTEAU – jeanmarie@tincl.be

⁸ Les hyphes génératrices sont septées ; on va donc souvent les trouver plus en surface.

Chez les polypores, lorsqu'on regarde les hyphes près du substrat, elles sont souvent bouclées ; s'il y a des boucles, les basides sont presque chaque fois bouclées ; faire attention à l'endroit de prélèvement, car on pourrait croire qu'il y a des boucles, alors qu'il n'y en a pas ; prélever plus en profondeur. Leur diamètre varie selon l'espèce rencontrée ; elles sont souvent ramifiées. Elles peuvent être gonflées en ballon, incrustées ou non ; les cristaux ont des formes diverses : étoiles, cylindres, pointes. Les hyphes peuvent aussi former des cordons mycéliens formant comme des ficelles, qu'il est parfois impossible de dissocier dans la préparation. Elles peuvent contenir des matières huileuses (inclusions lipidiques).

alors est une image due à la rétraction du cytoplasme : elle est souvent en arc de cercle. On s'en aperçoit en regardant la paroi de l'hyphe : la cloison véritable a la même épaisseur que la cloison de l'hyphe.



Les cystides éventuelles peuvent présenter des formes remarquables et être couronnées de cristaux. Elles sont souvent déterminantes pour caractériser une espèce ou un genre tout entier. Chez les Aphyllophorales, on peut observer des cystides très diverses, beaucoup plus diversifiées que chez les Agaricales.

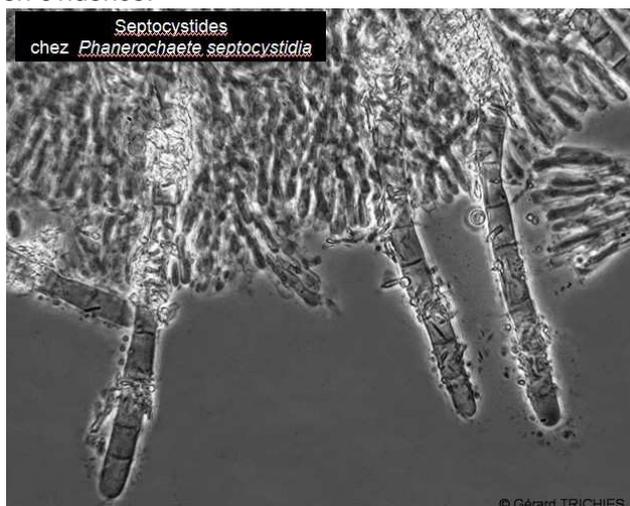
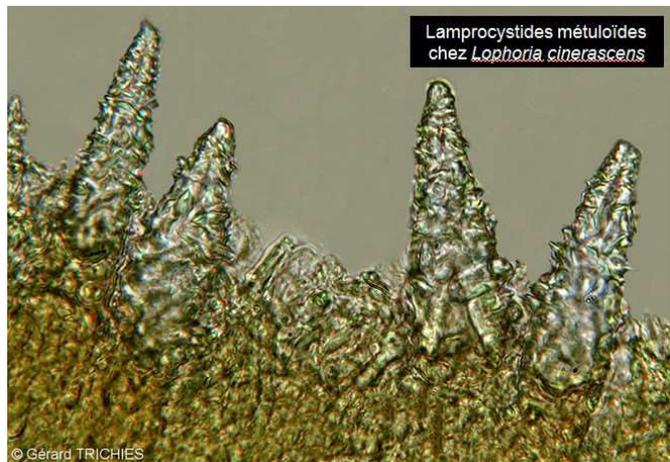
Lorsqu'on veut voir correctement les gléocystides, on utilise un sulfoaldéhyde : cela les met en évidence par rapport aux basides, en cas de réaction positive. Elles se dissolvent dans le KOH ; on les observera donc dans le melzer, ou dans l'eau.

On peut trouver aussi des cystides bouclées, contenant des gouttelettes.

sont bouclées ou non, terminales ou pleurales, situées parfois au milieu de l'hyphe, très longues, renflées, urniformes, pédicellées. Leur silhouette et leur conformation orientent souvent la détermination d'une façon rapide et décisive. Le contenu est intéressant aussi à observer : il peut être granuleux et on mettra ces granulations en évidence avec du bleu coton, si elles sont cyanophiles. Elles peuvent être monosporiques, bisporiques, tétrasporiques (en grande majorité), hexasporiques, octosporiques (genres très précis).

La répétobaside peut se former à partir d'une ancienne baside, chez certaines espèces.

Les spores ont des formes très variées : fusiformes, naviculaires, en pépin de citron, en forme de haricot. Elles peuvent être lisses ou verruqueuses, anguleuses, réticulées. Elles réagissent aux colorants et réactifs usuels : le melzer et le bleu coton peuvent mettre les granulations en évidence.



Il est important de mesurer les spores prélevées sur des sporées préalablement obtenues. Ceci permet « non seulement de s'assurer du bon état végétatif du champignon, mais surtout est indispensable pour des mesures précises de spores projetées mûres. En effet, sur le basidiome se trouvent, à côté de nombreuses spores immatures, des spores déformées par germination et des spores étrangères. Il faut mesurer les spores bien placées de profil » (J. Boidin).

Technique utilisée par G. Trichies : les sporées sont déposées sur une lame plastique transparente (épaisseur de 0,1 à 0,5 mm), marquée à l'aide de Tippex (correcteur blanc) afin de bien repérer la face porteuse

supérieure. Si possible, obtenir 2 (ou un nombre pair) de sporées afin de pouvoir poser les 2 lames face contre face, et les enfermer dans un emballage de papier inscriptible. De cette manière, il est possible d'avoir recours à tout moment à la sporée pour un contrôle ou une vérification.

Dans l'hyménium, se trouvent les basides et parfois des éléments stériles, dont les cystides. Juste en dessous, on trouve le subhyménium, formé d'hyphe génératrices +/- enchevêtrées. En dessous du précédent, se trouve le subiculum.

On peut trouver aussi d'autres éléments hyméniaux stériles caractéristiques, comme des dendrophyses, des acanthophyses, des stéphanocystes, des dichophyses (se séparant en deux et devenant noires au KOH), des soies (asterosetae), etc.



En hommage à Claude Lejeune (* en 2010), nous vous présentons un courrier échangé le 11 décembre 2004, sur ce sujet.

« Les Corticiacées compensent l'archaïsme de leur morphologie et leurs modestes atours (c'est un euphémisme) par la beauté plastique de certaines de leurs cellules, à l'origine d'authentiques coups de foudres mycologiques et micrographiques : ces champignons scellent indiscutablement ces deux passions.

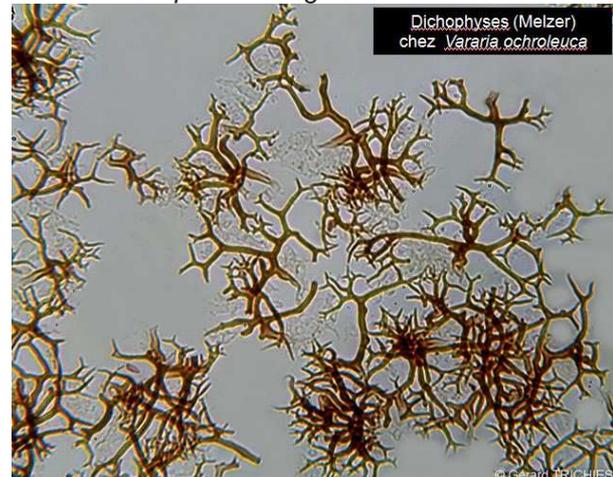
C'est sur la face inférieure du bois mort qu'on fera les plus belles récoltes. Il suffit en général de "s'attabler" à un vieux tas de bois et de le démonter en inspectant méthodiquement les morceaux : les branches du dessous, et notamment celles qui sont restées au contact du sol (humidité préservée), sont les plus

riches en croûtes.

Récolter au couteau ou à la serpette avec une tranche de substrat (en général, écorce ou bois à nu : attention, on se blesse facilement !) ; transporter tes spécimens dans du papier journal pour éviter une trop brutale déshydratation, et face inférieure maintenue dans sa position originelle⁹.

Ensuite, réhydrater éventuellement (en imprégnant d'eau le papier journal, par exemple, et en laissant la croûte y séjourner un quart d'heure) puis :

- gratter, s'il s'agit d'un Corticié pelliculaire, "crémeux" ou très finement membraneux
- réaliser une très fine coupe plus ou moins radiale si ta croûte est plus épaisse
- colorer : rouge Congo ammoniacal, ou mieux : KOH (ou soude domestique) à 5% + rouge Phloxine B ; ou, encore mieux : les deux, successivement¹⁰
- recouvrir d'une lamelle, puis écraser à la fois délicatement et fermement ta préparation (p. ex. avec la gomme emboutie sur un crayon) et observer à x 400 au minimum, puis détailler en immersion.



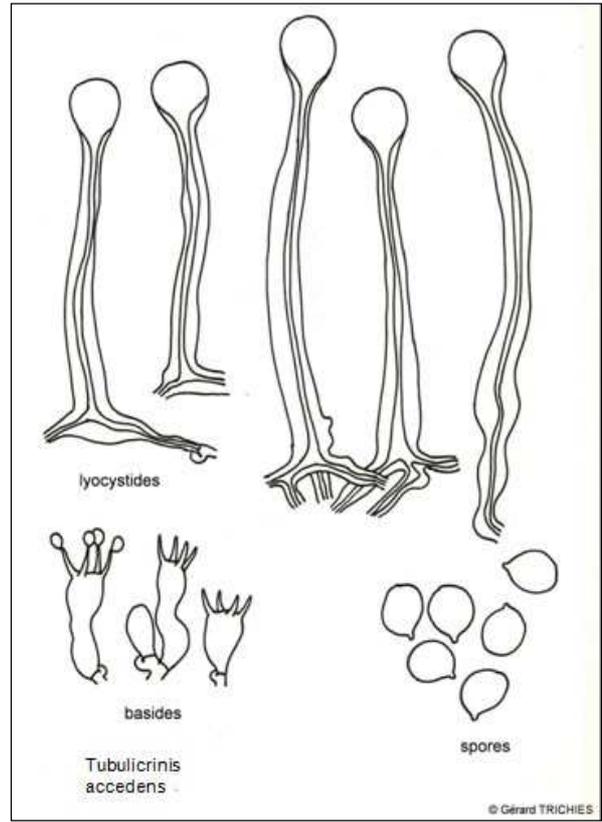
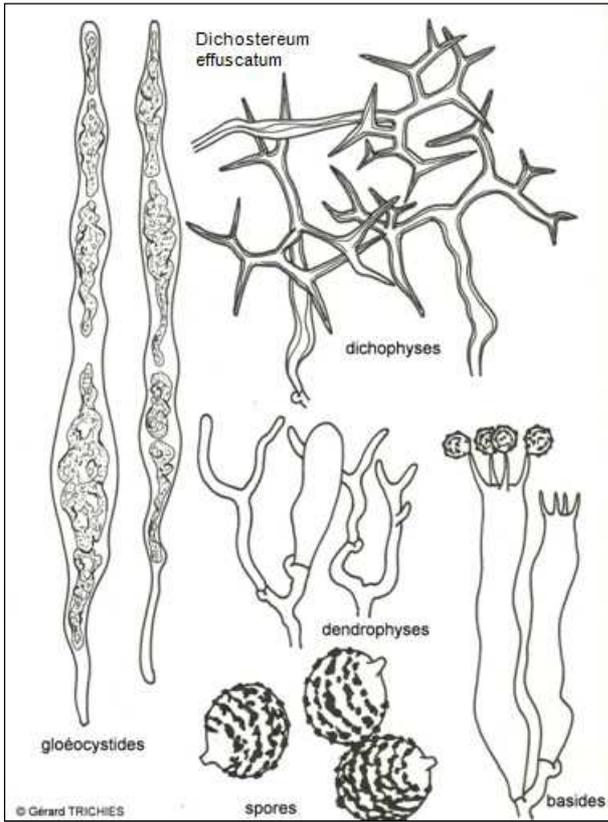
Les Corticiés ou croûtes "résupinées" (= totalement étalées sur leur support et donc privées de "chapeau" et de pied) ont une structure simple : une assise externe de cellules allongées dans le sens du support, qui se redressent progressivement et dans le prolongement desquelles s'épanouissent les basides et différents types de cystides (éléments stériles entre les basides, ou immergés dans la trame même de la croûte). Ce sont ces cystides qui peuvent être étonnamment belles : couvertes de cristaux, encapuchonnées de gros globules, gavées de sucs qui noirciront ou bleuiront dans certains réactifs, etc.

D'autres Corticiés ont évolué vers une plus grande différenciation : amorce de "chapeau" (un bout plus ou moins grand de la croûte se détache légèrement du substrat) : on dit alors qu'ils sont "étalés-réfléchis".

Ils sont primitifs, certes, mais leur rôle écologique est important (vital même) : ils sont les tout premiers à s'attaquer au bois mort, à le décortiquer et (ou) à préparer l'arrivée des autres champignons "lignivores" qui, tous armés de puissants enzymes, vont réaliser cette "extraordinaire performance biochimique" (l'expression n'est pas de moi : je suis hélas nul en chimie...) qui consiste à décomposer la cellulose et la lignine et, partant, à recycler le carbone ».

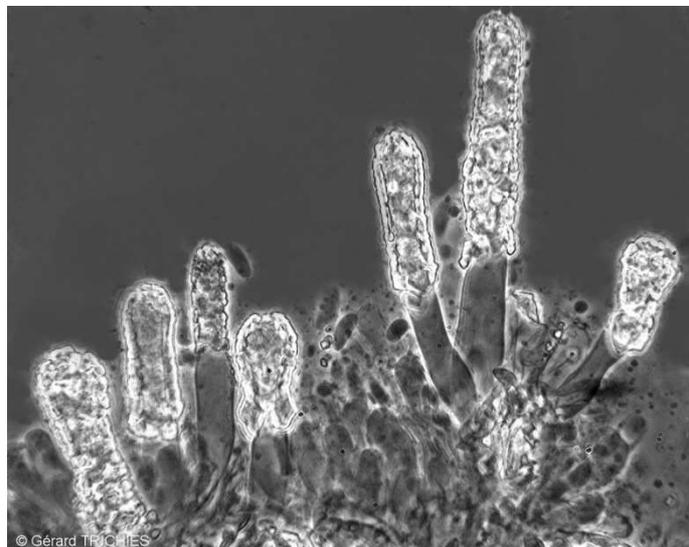
⁹ Les croûtes abandonnées un jour ou une après-midi, dans une boîte humide, continuent de se développer. Leur cellules, pratiquement réduites à leur "hyménium" (= leur surface fertile, l'usine à spores en quelque sorte) continuent de croître, en respectant le géotropisme. Les cellules d'une croûte séjournant à l'envers s'enchevêtrèrent donc cul par dessus tête.

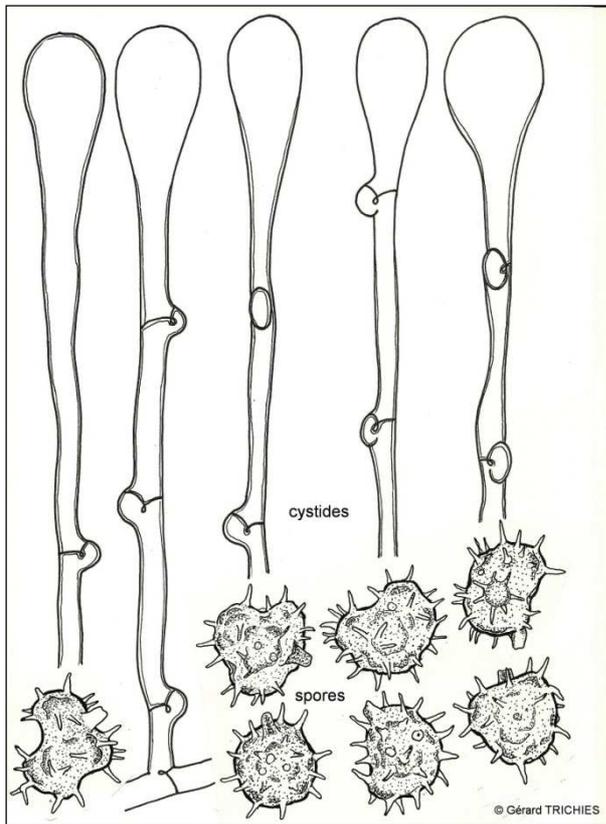
¹⁰ En mycologie, le rouge Congo est un colorant pariétal (les parois des cellules – hyphes – sont essentiellement composées de chitine). La phloxine B quant à elle colore le cytoplasme. Mais ce n'est jamais que de la « cuisine » : on peut aussi tester d'autres colorants ! La présence d'un alcali aide à regonfler et à dissocier les structures.



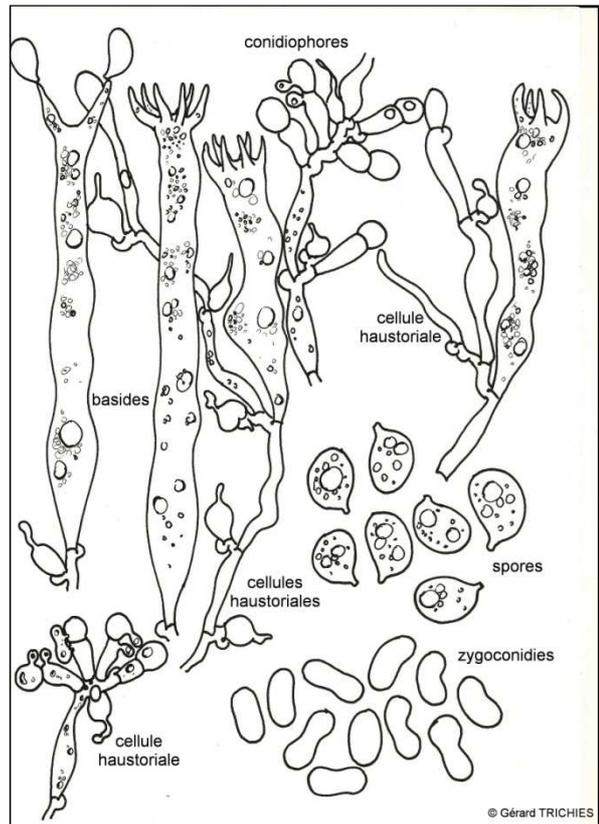
Squelettocystides chez *Cabalodontia (Phlebia) queletii*

Lamprocystides chez *Hyphoderma guttuliferum*

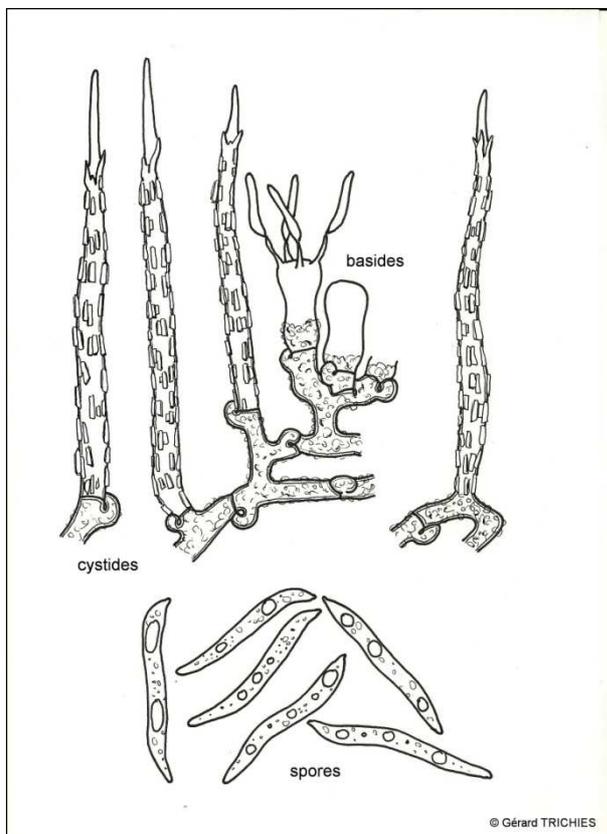




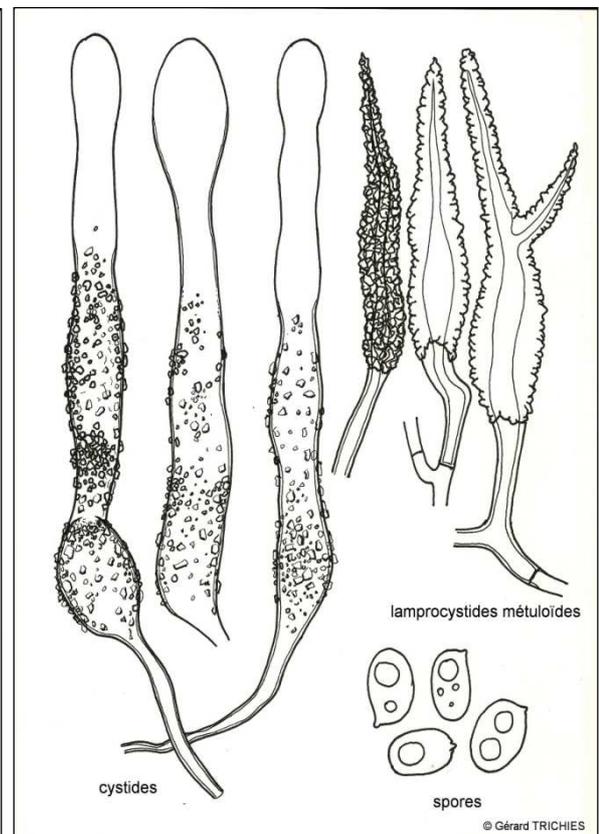
Tomentella pilosa



Syzygospora pallida



Subulicystidium longisporum



Scopuloides leprosa



Cristaux chez *Trechispora dimitica* – photo Gérard Trichies