

Seite für den Anfänger 6 = Page du débutant 6 = Pagina del debuttante 6

Objektyp: **Group**

Zeitschrift: **Schweizerische Zeitschrift für Pilzkunde = Bulletin suisse de mycologie**

Band (Jahr): **95 (2017)**

Heft 3

PDF erstellt am: **15.08.2024**

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

La microscopie en mycologie

JEAN-PIERRE MONTI & YVES DELAMADELEINE

La mémoire du champignon

(suite du BSM 95(2) 2017)

C'est l'automne. Une certaine fébrilité est palpable dans la salle de détermination. Les mycologues présents sont plus nombreux que lors des soirées de ce printemps.

«Oh! Que de beaux bolets!» s'exclame-t-on, «Et ces chanterelles? D'où viennent-elles?» Mais quel champignonneur parlera de ses coins?

A. Mattör et Mike O'Log étalent leurs cueillettes. A la quantité ils ont préféré choisir des champignons d'espèces différentes avec le secret espoir d'en faire un mélange aromatique à souhait, soit quelques petits bolets, une touffe de cornes d'abondance, des pieds de mouton, trois écailleux, quelques petites amanites rougissantes et deux grandes lépiotes. Et on complètera avec deux clitocybes odorants qui apporteront cette incomparable fraîcheur anisée.

«Non, on ne peut plus le laisser passer», s'exclame une contrôleuse répondant à un mycophage qui voulait consommer le tricholome équestre (Fig. 1) qu'il avait

récolté, «On s'est aperçu qu'il provoquait des troubles gastriques chez certaines personnes. Donc il a été sorti de la liste des espèces comestibles et a rejoint celle des champignons à rejeter.»

«Dommage. Ils sont si beaux.»

«Et peut-être même qu'un jour on interdira la consommation des morilles», poursuit Gaëlle, la contrôleuse. «Lorsqu'on en mange trop on peut présenter des symptômes d'intoxication.»

Les mycophages ont le visage fermé. Plus personne ne rit. Il semble bien en effet que ces dernières années, les intolérances de la population vis-à-vis de certaines substances présentes dans l'alimentation, en particulier dans les champignons, ont augmenté.

«Manger un clitocybe nébuleux n'est pas si innocent que ça. Et si cela vous arrive, au moins pelez-le avant de le cuisiner car il semble que la substance indigeste se trouve en concentration plus élevée dans la cuticule. Mais il y a plus grave. Ce sont les conditions de conservation des récoltes. – Combien de contenus de sacs plastiques nauséabonds j'ai dû jeter

lors des contrôles, dit Gaëlle. Et pourtant il existe des espèces savoureuses parmi celles qu'on peut cultiver. Pensez aux pleurotes, champignon chinois, oreilles de Juda en plus du champignon de Paris. Et on les trouve toute l'année.»

«Chers amis, déclare le président, excusez-moi d'interrompre vos conversations mais j'aimerais vous rappeler notre exposition qui se tiendra dans un mois et vous donner quelques informations à son sujet. Bien que la question de la vente des croûtes aux champignons ait suscité un long débat lors de notre dernière assemblée, nous la proposerons encore cette année. La nouveauté c'est que nous allons créer un «coin pour les enfants» suivant en cela la demande de l'Union suisse d'encourager la relève. Axel, es-tu d'accord de t'occuper de cela?»

Axel rougit, c'est une marque de confiance que lui décerne là son président. «J'espère être à la hauteur, dit-il, «et je sais que je peux compter sur l'aide de Mike.» Et dans sa tête s'organisent déjà des idées d'activités à proposer aux enfants (à suivre).

Fig. 1 *Tricholoma equestre*

Abb. 1 Kiefernwald-Grünling *Tricholoma equestre*



JEAN-PIERRE MONTI

Observation – Explication

Force est de constater que la question la plus fréquente posée aux mycologues et dont ils débattent souvent est celle de la comestibilité d'une espèce. Si, par le passé, on décidait de la comestibilité d'une manière empirique, il n'en va pas de même aujourd'hui. Les analyses biochimiques peuvent prouver la présence ou non de substances toxiques dans un champignon.

Mais depuis peu, on prend en compte dans la prise de décision sur la comestibilité d'une espèce, des susceptibilités de quelques personnes vis-à-vis de substances allergènes qui n'incommodent pas d'autres consommateurs. Ainsi la liste des espèces déconseillées à la consommation augmente-t-elle chaque année.

Enfin, il a été démontré que des substances toxiques peuvent pénétrer dans le mycélium des champignons et s'ac-

cumuler ensuite dans les carpophores. Déjà à la fin du XX^e siècle la Société mycologique de France avait publié une mise en garde contre la possibilité d'être intoxiqué en mangeant des champignons réputés excellents comestibles. La présence de substances toxiques dans l'environnement du champignon peut rendre les fructifications nocives lorsqu'on les consomme.

En Suisse, c'est la VAPKO* qui tient à jour la liste des espèces comestibles et celle des espèces à rejeter. Elle travaille en étroite collaboration avec le Tox Info Suisse* de Zürich.

La microscopie en mycologie

Un peu d'histoire

Dès que l'Homme a acquis la technique nécessaire à la fabrication du verre, il a vite découvert que les images vues à travers ce matériau pouvaient être déformées voire agrandies. La loupe était née. Pour le microscope, il a fallu attendre la fin du 16^e siècle pour qu'en assemblant judicieusement deux loupes on obtienne une image très agrandie d'un objet. Même si la controverse n'est pas encore levée, on attribue à deux opticiens hollandais, Hans Janssen et son fils Zaccharias le montage du premier microscope composé d'un objectif et d'un oculaire.

En mycologie, il faut attendre le début du 19^e siècle pour que l'utilisation du microscope puisse apporter l'aide efficace

que les systématiciens utilisent encore aujourd'hui (Lucien Quélet (1832–1899) fut l'un de ces pionniers).

Utilisation des instruments d'optique en mycologie

Il est souvent très difficile de dire à quelle espèce, voire à quel embranchement appartient un être vivant (Fig. 2 et 3). Où classer ces organismes? Pour y parvenir, on utilise des clés de détermination, qui sont des questionnaires dichotomiques* plus ou moins complexes, utilisés afin d'identifier des espèces ou au moins pour les situer. Chaque domaine de la biologie possède de telles clés, tant pour la détermination mycologique, que botanique, entomologique, ornithologique et autres.

En mycologie, même avec les meilleures clés de détermination, les caractères macroscopiques des champignons ne suffisent souvent pas pour déterminer certaines espèces. Les ressemblances sont souvent telles qu'il n'est guère possible de les différencier par leurs propriétés organoleptiques*. L'étude microscopique apporte alors de plus grandes certitudes quant à l'orientation à prendre pour la détermination.

Mais parfois, certains carpophores sont si minuscules (quelques dixièmes de mm), que la microscopie est d'emblée nécessaire. Et en plus, on a souvent besoin d'une confirmation que seule la microscopie peut fournir.

Un bon microscope est un outil de travail très onéreux, que plusieurs sociétés de mycologie ont fait l'effort financier d'acheter pour le mettre à la disposition de leurs membres. Il est cependant plus facile de s'en servir si on comprend un peu son fonctionnement et si l'on débute avec l'aide d'une personne expérimentée.

En premier, il faut distinguer le microscope des loupes.

La loupe et la loupe binoculaire

Tout mycologue se doit de posséder, pour ses observations, une bonne loupe de poche qui permet un grossissement d'une dizaine de fois.

Mais une loupe binoculaire de table présente d'autres avantages: elle permet d'avoir les mains libres (pour préparer une coupe fine, par exemple) et met à disposition divers grossissements possibles, de 4 à 40 (80) fois, selon les modèles. L'éclairage se fait par-dessus et les deux objectifs se trouvent à quelques centimètres au-dessus de l'objet à observer (Fig. 4). Autre avantage, elle offre des images stéréoscopiques, c'est-à-dire en relief, car chaque oculaire reçoit l'image d'un objectif différent. L'observation peut se faire sans préparation particulière de l'objet.

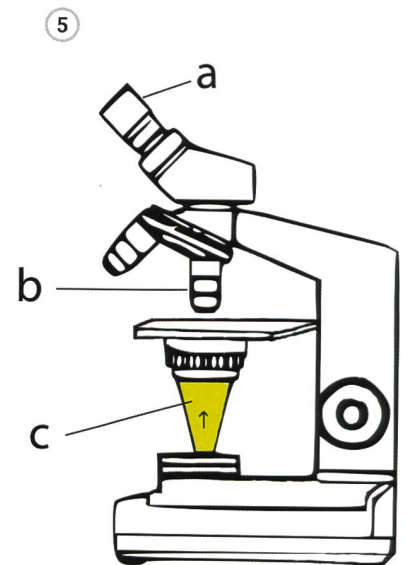
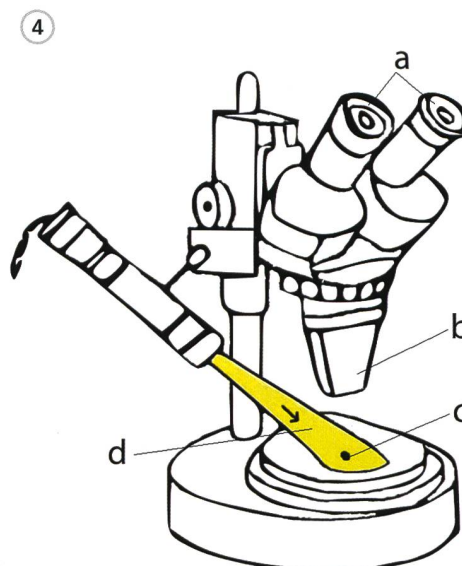
Le microscope optique

Cet instrument permet de très forts agrandissements, le plus souvent de 40 à

Fig. 2 Œufs de *Chrysopa viridissima* (Insecte); Fig. 3 *Mucor sp.* sur *Mycena zephyrus*
Abb. 2 Eier von *Chrysopa viridissima* (Insekt);
Abb. 3: *Mucor sp.* auf *Mycena zephyrus*

Fig. 4 Loupe binoculaire (= stéréomicroscope); a: oculaires, b: objectif double, c: préparation, d: éclairage par dessus;
Abb. 4 Binokular (=Stereolupe); a: Okular(e), b: Objektive, c: Präparat, d: Belichtung von oben

Fig. 5 Microscope optique; a: oculaire(s), b: objectif simple, c: éclairage par dessous;
Abb. 5 Optisches Mikroskop; a: Okular(e), b: einfaches Objektiv, c: Belichtung von unten



1000 fois, avec un éclairage par-dessous, la lumière devant traverser la préparation à observer. Celle-ci doit donc être extrêmement fine pour permettre le passage de suffisamment de lumière et pour éviter que de nombreuses couches de cellules superposées ne perturbent l'observation. L'idéal serait de pouvoir observer une seule couche de cellules, les plus petites ayant une épaisseur proche du millième de mm (Fig. 5).

La profondeur de champ d'un microscope est extrêmement réduite et l'objectif doit être très proche de la préparation. Celle-ci doit donc être immergée dans un liquide, entre une lame de verre (porte-objet) et une lamelle très fine (couvre-objet), pour régulariser son épaisseur d'une part et pour ne pas souiller l'objectif, d'autre part (Fig. 6).

La préparation est obtenue par soit une coupe extrêmement fine du sujet à observer, soit par écrasement de ce dernier. La coupe fine a l'avantage de conserver l'arrangement des cellules entre elles (organisation, structure des tissus, trame), mais présente l'inconvénient de montrer souvent plusieurs couches de cellules superposées qui diminuent la netteté et la luminosité nécessaires à une observation convenable. Si l'observation de cellules

plus ou moins isolées est suffisante, on peut écraser délicatement la préparation entre les deux lames de verre.

En modifiant très légèrement la mise au point, grâce à la molette de réglage fin, on peut observer un objet dans des plans situés à diverses profondeurs.

Pour un grossissement de 1000 fois, on peut insérer entre l'objectif et la préparation, une goutte d'une huile à immersion, ayant le même indice de réfraction* que le verre de la lentille. Il n'y a de cette façon plus d'air, dont l'indice de réfraction* est différent de celui du verre, entre l'objectif et la préparation. La netteté de l'image est ainsi améliorée.

Le fait qu'il y ait souvent deux oculaires à un microscope ne change en rien ce qu'on voit, car il n'y a qu'un seul objectif et chaque œil reçoit exactement la même image que l'autre. Il est simplement plus confortable et moins fatigant de ne pas devoir constamment fermer un œil pendant la durée, parfois longue, d'une observation. Un troisième oculaire, vertical, permet l'installation d'un appareil photographique ou d'une caméra reliée à un ordinateur ou à un écran (Fig. 7).

Aussi bien pour un microscope que pour une loupe binoculaire, le grossissement obtenu s'obtient en multipliant la valeur gravée sur l'objectif par celle marquée sur l'oculaire. Par exemple, si on lit 10x sur l'oculaire et 40x sur l'objectif utilisé, le

grossissement est de $10 \times 40 = 400$ fois.

Un des deux oculaires est réglable, selon la qualité ou les défauts de vision des yeux de l'observateur. On règle d'abord la netteté pour l'oculaire non réglable avec la molette de mise au point, puis l'autre oculaire pour que chaque œil reçoive une image nette. Ce processus prend un certain temps et personnalise l'appareil.

Les microscopes électroniques

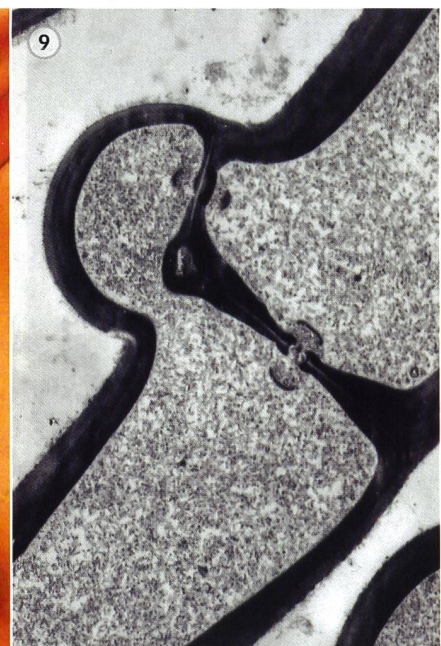
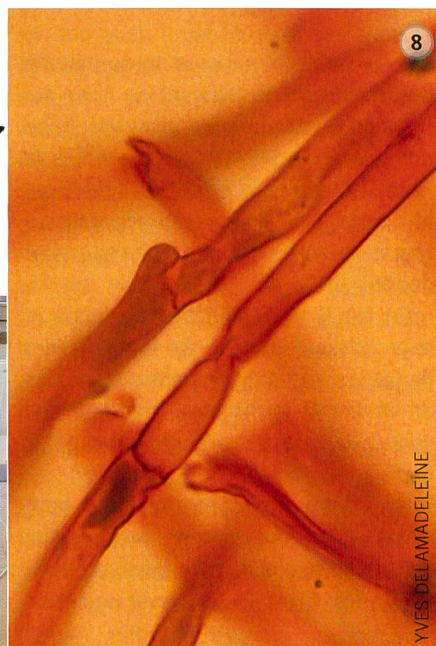
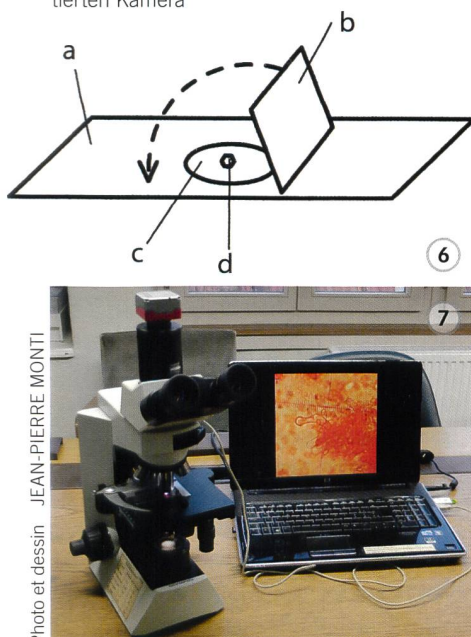
L'image que l'on voit par l'oculaire d'un microscope optique représente la lumière qui a pu traverser l'objet. Or la structure de la lumière visible ne lui permet pas de passer même s'il existe un «trou» quand celui-ci est plus petit que la structure du rayon lumineux (sa longueur d'onde). C'est pourquoi on préfère parler, en microscopie, de pouvoir de résolution* plutôt que de grossissement. La limite du pouvoir de résolution* du microscope optique est atteinte lorsqu'on dépasse un grossissement de 1500 fois environ (le diamètre du «trou» étant inférieur à 400 nanomètres*).

Dans les années 1930, Max Knoll et Ernst Ruska ont proposé un faisceau d'électrons dont l'onde associée a une longueur plus petite que celle de la lumière visible. Dès lors, le faisceau peut traverser l'objet par des trous dont le diamètre est de l'ordre du nanomètre*. Le microscope électronique à transmission (MET) était né.

Fig. 6 Préparation d'un échantillon en vue de son observation au microscope optique; a: lame porte-objet, b: lamelle couvre-objet, c: liquide de montage, d: objet;
Abb. 6 Präparat für die Beobachtung unter dem Mikroskop; a: Objektträger, b: Deckglas, c: Präparationsflüssigkeit, d: Objekt
Fig. 7 Station de microscopie munie d'une caméra; Abb. 7 Mikroskop mit einer montierten Kamera

Fig. 8 Anse d'anastomose de *Pluteus pouzarianus* vue en microscopie optique (MO)
Abb. 8 Schnalle von *Pluteus pouzarianus* unter einem optischen Mikroskop

Fig. 9 Anse d'anastomose d'*Hyphodontia floccosa* vue en microscopie électronique à transmission (MET)
Abb. 9 Schnalle von *Hyphodontia floccosa* gesehen mit einem Transmissionselektronen-Mikroskop



Vers 1965, fut commercialisé le microscope électronique à balayage (MEB) qui fonctionne aussi avec un faisceau d'électrons mais celui-ci, en rebondissant sur la surface de l'objet préalablement recouverte d'or, provoque la formation d'une image en trois dimensions. En quelque sorte, le MEB fonctionne comme une loupe binoculaire.

Les figures 8, 9 et 10 montrent une anse d'anastomose* vue par les différents microscopes évoqués ici.

Les colorants utilisés pour l'observation microscopique

On peut utiliser de nombreux colorants pour mettre en évidence les composants des cellules. Les milieux d'observation les plus utilisés sont les suivants:

L'eau permet de voir les couleurs naturelles. L'ammoniacque permet de regonfler des cellules qui ont séché, matériel d'herbier par exemple, sans modifier les couleurs. Le rouge Congo ammoniacal*, permet de contraster les parois cellulaires, qui prennent une teinte rouge. On peut ainsi mieux distinguer la forme des diverses cellules, comme les hyphes, les boucles ou anses d'anastomose*, les spores, les basides, les cystides et autres. Le bleu coton*, qui a l'avantage de ne pas sécher pendant une longue observation, colore les parois cellulaires, mais aussi leur ornementation et leur

contenu. Le réactif de Melzer est utilisé pour définir la réactivité à l'iode de certaines cellules ou parties de cellules. Par exemple on dit d'une spore qu'elle est amyloïde (réaction à l'iode identique à celle de l'amidon) lorsqu'elle prend une coloration gris-violet. Une cellule ou partie de cellule est dite dextrinoïde (réaction identique à celle de la dextrine*), si elle se colore en brun-rouge foncé.

Il existe encore bien d'autres colorants ou réactifs que l'on utilise en mycologie, pas seulement en microscopie (réactifs microscopiques) mais aussi sur des parties d'exemplaires frais (réactifs macroscopiques). La description de leurs effets ainsi que leur composition chimique sont décrites dans de nombreux ouvrages: Kühner & Romagnesi (1953), Erb & Matheis (1982), Charbonnel (1995, 2004).

Les pièges à éviter

- Ne pas casser le couvre-objet en l'approchant trop de l'objectif lors de la mise au point. Selon le liquide de montage utilisé pour la préparation, l'objectif peut alors être souillé, voire endommagé.
- Ne pas confondre l'image d'une bulle d'air avec celle d'une cellule.
- Ne pas laisser sécher la préparation avant d'avoir fini l'observation (on peut préventivement rajouter un peu d'eau sur les bords du couvre-objet).
- Faire attention aux spores parasites (provenant d'un autre champignon).
- Ne pas confondre des guttules* ou des vacuoles avec des cellules.
- Ne pas confondre des basides immatures avec des cystides.

Histoire vraie

Depuis peu sont apparus sur le marché des microscopes pouvant se fixer sur l'objectif photographique d'un téléphone portable (Fig. 11). Un objet placé à la juste distance de la lentille est éclairé par le dispositif et l'image qui apparaît sur l'écran du téléphone peut être sauvegardée (Fig. 12).

En fait, il s'agit plutôt d'une loupe et le grossissement annoncé est de l'ordre de 60 fois. Cet outil ne permet donc pas de vérifier la forme et la grandeur des spores d'une espèce fongique lorsqu'on se balade en forêt!

Par contre, il peut être utile aux botanistes et entomologistes* pour vérifier dans le terrain tel ou tel caractère peu visible à l'œil nu et en conserver une trace.

Lexique

N. B. Les termes déjà expliqués dans les articles précédents ne sont pas rappelés dans les suivants.

Anse d'anastomose ou boucle Excroissance qui se forme au moment d'une mitose d'une cellule dicaryotique autour de la cloison transversale et qui permet le passage du second noyau dans la cellule-fille.

Bleu coton ou bleu lactique Bleu coton dissous dans de l'acide lactique. On porte parfois la préparation à ébullition avant l'observation.

Dextrine Composé intermédiaire de la décomposition de l'amidon en glucose.

Dichotomique Qui permet de répartir des objets selon leurs caractères.

Entomologiste Naturaliste spécialiste des Insectes.

Guttule Petite goutte d'un liquide insoluble incluse dans une cellule.

Indice de réfraction Coefficient qui caractérise le comportement de la lumière quand elle passe d'un milieu dans un autre.

Nanomètre (Abrév. nm) Millionième partie d'un millimètre.

Organoleptique Qui peut être défini par nos sens (forme, couleur, odeur, goût, consistance, ...).

Pouvoir de résolution Capacité d'un instrument d'optique à montrer l'espace entre deux points très proches. Il dépend de la longueur d'onde des rayons utilisés.

Rouge Congo ammoniacal Rouge Congo dissous dans de l'ammoniacque concentré. C'est un excellent colorant de la cellulose (attention aux taches sur les habits!).

Tox Info Suisse Centre suisse d'information et de conseil médical en cas d'intoxication ou de doute. Numéro d'appel: 145.

VAPKO Association suisse des organes officiels de contrôle des champignons. Elle est affiliée à l'Union suisse des sociétés de mycologie.

Bibliographie | Literatur

CHARBONNEL J. 1995. Les réactifs mycologiques.

1. Les réactifs macrochimiques. David-Rogeat Ed., Bienne.

CHARBONNEL J. 2004. Les réactifs mycologiques.

2. Les réactifs microchimiques. David-Rogeat Ed., Bienne.

ERB B. & W. MATHEIS 1982. Pilzmikroskopie. Kosmos, Stuttgart.

KÜHNER, R. & H. ROMAGNESI 1953. Flore analytique des champignons supérieurs. Masson, Paris.

Fig. 10 Anse d'anastomose d'*Hypochnicium sphaerosporum* vue en microscopie électronique à balayage (MEB)

Abb. 10 Schnalle von *Hypochnicium sphaerosporum* gesehen mit einem Rasterlektronen-Mikroskop (REM)



Mikroskopieren in der Pilzkunde

JEAN-PIERRE MONTI & YVES DELAMADELEINE • ÜBERSETZUNG: N. KÜFFER

Das Gedächtnis der Pilze

(Fortsetzung von SZP 95(2) 2017)

Es ist Herbst. Im Bestimmungssaal ist eine beinahe fiebrige Aufregung zu spüren. Es sind viel mehr Pilzler da als im Frühling. «Oh! Was für schöne Röhrlinge! Und diese Eierschwämme! Woher stammen sie?» Aber welcher Pilzler verrät schon seine geheimen Plätzchen?!

A. Mattör und Mike O'Log breiten ihre Funde aus. Statt eine grosse Menge zu sammeln, zogen sie es vor, verschiedene Arten zu pflücken, um daraus ein schmackhaftes Mischgericht zu machen: einige kleine Steinpilze, eine Handvoll Herbsttrompeten, Semmelstoppelpilze, drei Habichtspilze, einige kleine Perlpilze und zwei grosse Riesenschirmlinge. Und als Tüpfchen auf dem i noch zwei Grüne Anis-Trichterlinge, die dem Ganzen diesen unvergleichlichen frischen Anisgeschmack verleihen.

«Nein, wir können ihn leider nicht mehr durchlassen», sagt eine Kontrolleurin zu einem Pilzler, der einen Grünling (*Tricholoma equestre*, Abb. 1) essen wollte. «Man hat herausgefunden, dass er bei einigen Personen Magenprobleme verursacht. Er wurde also von der Liste der essbaren Pilze entfernt und ist nun auf derjenigen der zu meidenden Arten».

«Schade, er ist so schön!»

«Und vielleicht wird eines Tages sogar der Konsum von Morcheln untersagt, denn bei zu grossem Verzehr kommt es manchmal zu Vergiftungssymptomen» fährt Gaëlle, die Kontrolleurin fort.

Die Pilzer machen ein versteinertes Gesicht, keiner lacht mehr. Es scheint tatsächlich, dass in den letzten Jahren Intoleranzen in der Bevölkerung gegenüber Substanzen in Pilzen zugenommen haben.

«Einen Nebelgrauen Trichterling zu essen, ist nicht so ganz ungefährlich. Und wenn Sie schon möchten, dann schälen Sie ihn vor dem Kochen, denn es scheint, dass die unverdauliche Substanz besonders in der Huthaut vorhanden ist. Es gibt jedoch Schlimmeres. Insbesondere die Aufbewahrungsmethoden der Ernten.

«Wie viele Plastiksäcke mit halbverfaulten Pilzen musste ich wegwerfen» meint Gaëlle, «und dabei gäbe es einige schmackhafte Arten, die es das ganze Jahr über gibt und die kultiviert werden: denken Sie an Seitlinge, Shiitake, Judasohren und Champignons.»

«Liebe Freunde» fängt der Präsident an, «entschuldigt, dass ich euch unterbreche, aber ich möchte euch an unsere Pilzausstellung erinnern, die in einem Monat stattfindet, und euch einige Informationen dazu geben. Obwohl die Frage des Verkaufs von Pilzschnitten an der letzten Versammlung grosse Diskussionen ausgelöst hatte, machen wir ihn dieses Jahr noch. Als Neuheit werden wir eine Kinderecke einrichten und damit dem Wunsch des Verbandes nachkommen. Axel, kümmerst du dich darum?»

Axel errötet leicht, denn dies ist ein Vertrauensbeweis seitens des Präsidenten. «Ich hoffe, dass ich es schaffen werde, und ich kann auch auf die Hilfe von Mike zählen.» In seinem Kopf beginnen bereits die Ideen für die Nachwuchsförderung zu kreisen... (Fortsetzung folgt).

Beobachtungen und Erklärungen

Die mit Abstand häufigste Frage an Pilzler und auch unter Pilzlern ist die nach der Essbarkeit einer Art. Früher ist man empirisch vorgegangen («try and error»-Prinzip), heute ist es ein bisschen anders. Biochemische Analysen können toxische Substanzen in Pilzen nachweisen.

Seit kurzem berücksichtigt man jedoch auch individuelle Unverträglichkeiten von nur wenigen Personen gegenüber allergenen Substanzen, die andere Konsumenten nicht bemerken. So wird die Liste der nicht zum Verzehr geeigneten Arten immer länger.

Schliesslich konnte auch gezeigt werden, dass toxische Substanzen ins Myzelium und dadurch auch in die Fruchtkörper eindringen können. Schon Ende des 20. Jahrhunderts warnte die Société mycologique de France, dass so Vergiftungen auftreten können, sogar beim

Verzehr von anerkannten Speisepilzen. Das Vorhandensein von toxischen Substanzen in der Umwelt kann also Pilze «vergiften».

In der Schweiz wird die Liste der essbaren und ungeniessbaren bzw. giftigen Pilze von der VAPKO* à jour gehalten. Sie arbeitet dabei eng mit den Tox Info Suisse* zusammen.

Mikroskopieren in der Pilzkunde

Eine kurze Einführung

Seit der Mensch Glas herstellen kann, hat er festgestellt, dass die Dinge durch dieses Material hindurch gesehen verändert oder grösser aussehen. So entstanden Lupen. Bis zum Mikroskop dauerte es dann noch bis zum Ende des 16. Jahrhunderts, als man zwei Lupen so zusammensetzte, dass ein stark vergrössertes Bild eines Objektes entstand. Die Erfindung des Mikroskops, bestehend aus einem Objektiv und einem Okular, wird zwei Holländern zugeschrieben, Hans Janssen und seinem Sohn Zaccharias.

In der Pilzkunde musste man bis zum Anfang des 19. Jahrhunderts warten, bis sich der Gebrauch des Mikroskops durchsetzte; Lucien Quélet (1832–1899) war einer der ersten, der davon Gebrauch machte.

Gebrauch optischer Instrumente in der Pilzkunde

Häufig ist es schwierig zu sagen, zu welcher Art oder gar zu welcher Gruppe ein Lebewesen gehört (Abb. 2 und 3). Um dieses Problem zu lösen, brauchen wir Bestimmungsschlüssel. Dabei handelt es sich um mehr oder weniger komplex aufgebaute dichotome* Fragen, die helfen, einen Organismus zu bestimmen oder zumindest zu platzieren. Jede Disziplin der Biologie hat solche Schlüssel, sei es Mykologie, Botanik, Entomologie, Ornithologie oder andere.

Leider reichen in der Pilzkunde die makroskopischen Merkmale nicht, um gewisse Arten sicher bestimmen zu können. Die Arten sehen sich oft so ähnlich, dass sie

nicht nur mit ihren organoleptischen* Eigenschaften auseinandergehalten werden können. Eine mikroskopische Untersuchung bringt also grössere Sicherheit bei der Bestimmung. Manchmal allerdings sind die Fruchtkörper so klein, dass von Anfang an ein Mikroskop gebraucht wird.

Ein gutes Mikroskop ist sehr teuer. Viele Pilzvereine haben welche gekauft, um sie ihren Mitgliedern zur Verfügung zu stellen. Die Bedienung ist jedoch viel einfacher, wenn man weiss, wie es funktioniert oder Hilfe einer erfahrenen Person erhält.

Zuerst muss man zwischen Mikroskop und Lupe unterscheiden.

Die Lupe und das Binokular

Jeder Pilzler benötigt eine gute Taschenupe mit einer zehnfachen Vergrösserung. Ein Tisch-Binokular besitzt gewisse Vorteile: man hat beide Hände frei (um beispielsweise einen Dünnschnitt zu machen), und es hält mehrere Vergrösserungen bereit (meist 4- bis 40-fache Vergrösserung). Die Belichtung kommt von oben und die beiden Objektive befinden sich nur wenige Zentimeter oberhalb des zu beobachtenden Objekts (Abb. 4). Weiterer Vorteil: das Binokular bietet ein stereoskopische Bild, d. h. beide Okulare zeigen Bilder von unterschiedlichen Objektiven, das Bild wird somit räumlich. Unter einem Binokular kann ein Objekt ohne spezielle Präparation beobachtet werden.

Das optische Mikroskop

Dieses Instrument ermöglicht sehr grosse Vergrösserungen (meist 40- bis 1000-fach) mit einer Lichtquelle von unten, die das zu beobachtende Objekt durchdringen muss. Dieses sollte also sehr dünn sein, damit genügend Licht durchdringt und nicht zu viele (verschiedene) Zellschichten die Beobachtung stören. Ideal wäre eine einzige Zellschicht, die sind allerdings extrem dünn (gegen Tausendstel-Millimeter) (Abb. 5).

Das Sichtfeld eines Mikroskops ist stark reduziert. Das Objektiv muss sehr nahe an der Probe sein. Diese muss in einer Flüssigkeit zwischen einem Objektträger und einem Deckglas liegen, um seine Dicke auszugleichen und nicht das Objektiv zu beschmutzen (Abb. 6).

Ein Präparat kann entweder mit einem sehr feinen Schnitt oder als Quetschpräparat gemacht werden. Ein Dünnschnitt hat den Vorteil, dass Lage, Struktur und Form der Zellen untereinander erhalten bleiben, jedoch den Nachteil, dass oft mehrere Zellschichten übereinanderlie-

gen und so Klarheit und Helligkeit beeinträchtigen. Wenn es reicht, mehr oder weniger isolierte Zellen zu beobachten, dann kann man ein Quetschpräparat herstellen, indem man Pilzmaterial sanft zwischen Objektträger und Deckglas zerquetscht.

Indem man den Fokus fein verändert, können verschiedene Ebenen in einem Präparat gesehen werden.

Bei einer 1000-fachen Vergrösserung muss man zwischen das Objektiv und dem Präparat einen Tropfen Immersionsöl tröpfeln, das denselben Brechungsindex* besitzt wie die Linse. So ist keine Luft mehr zwischen Objektiv und Präparat; Luft besitzt einen ganz anderen Brechungsindex als Glas. Die Schärfe des Bildes kann so deutlich verbessert werden.

Ein Mikroskop hat oft zwei Okulare, dies ändert aber nichts daran, was man sieht, denn jedes Auge erhält exakt das gleiche Bild aus dem einzigen Objektiv. Es ist einfach bequemer und weniger ermüdend, nicht die ganze Zeit ein Auge geschlossen halten zu müssen. Ein drittes, vertikales Okular ermöglicht die Installation einer mit einem Computer oder einem Bildschirm verbundenen Kamera (Abb. 7).

Die Vergrösserung errechnet sich aus der Multiplikation der Zahl, die auf dem Objektiv eingraviert ist und derjenigen auf dem Okular. Dies gilt sowohl für ein Mikroskop als auch für das Binokular. Beispiel: wenn auf dem Okular 10x steht und 40x auf dem Objektiv, dann beträgt die Vergrösserung $10 \times 40 = 400x$.

Eines der beiden Okulare ist justierbar, je nach Qualität oder Erfordernissen des Betrachters. Zuerst soll die Schärfe des nicht verstellbaren Okulars eingestellt werden, danach das andere Okular, damit jedes Auge ein gleich scharfes Bild erhält. Dieser Vorgang braucht einige Zeit und personalisiert das Gerät.

Die Elektronen-Mikroskope

Beim Bild, das man durch ein Okular eines Mikroskops sehen kann, handelt es sich um das Licht, das durch das Präparat hindurchscheinen konnte. Die Struktur des sichtbaren Lichts erlaubt es ihm, nicht durch kleine «Löcher» zu dringen, wenn diese kleiner sind als die Amplituden der Lichtwellen. Deswegen spricht man in der Mikroskopie lieber von Auflösung als von Vergrösserung. Die Grenze der Auflösung eines optischen Mikroskops wird erreicht, wenn eine 1500-fache oder höhere Vergrösserung überschritten wird (wenn der Durchmesser des «Lochs» kleiner ist als 400 Nanometer*).

In den 1930er-Jahren entwickelten Max Knoll und Ernst Ruska ein Strahlenbündel, dessen Elektronen eine kleinere Amplitude als sichtbares Licht besitzen. Seit diesem Zeitpunkt gibt es Wellen, die durch «Löcher» dringen können, die um einen Nanometer gross sind. Das Transmissionselektronen-Mikroskop (TEM) war erfunden.

Gegen 1965 wurde das Rasterelektronen-Mikroskop (REM) kommerzialisiert, das auch mit einem Elektronenbündel funktioniert: Es werden Elektronen auf eine vorher mit Gold überzogene Fläche geschossen, dabei entstehen dreidimensionale Bilder. In gewisser Weise funktionieren REM wie ein Binokular.

Die Abbildungen 8–10 zeigen eine Schnalle mit Hilfe der hier vorgestellten Mikroskop-Typen.

Färbemittel, die beim Mikroskopieren gebraucht werden

Verschiedene Färbemittel können eingesetzt werden, um Zellmerkmale zu betonen. Die am häufigsten gebrauchten sind: Die natürlichen Farben sieht man mit **Wasser**.

Mit **Ammoniak** können getrocknete Zellen wieder in ihre natürliche Form gebracht werden, beispielsweise Herbarmaterial.

Ammoniakhaltiges Kongorot ermöglicht, Zellwände hervorzuheben; sie verfärben sich rötlich. So können verschiedene Zellformen besser auseinandergehalten werden, wie beispielsweise Hyphen, Schnallen*, Sporen, Basidien, Zystiden und andere.

Mit **Baumwollblau** werden Zellwände, aber auch ihre Ornamentation und ihr Inhalt gefärbt. Es hat den Vorteil, dass es während einer langen Beobachtung nicht austrocknet.

Mit **Melzers Reagens** testet man die Affinität zu Jod von gewissen Zellen oder Zellteilen. Beispielsweise spricht man von einer Spore, sie sei amyloid (d. h. sie zeigt die gleiche Reaktion auf Jod wie Stärke), wenn sie in Melzers Reagens eine grauviolette Farbe annimmt. Eine Zelle oder ein Zellteil nennt man dextrinoid (d. h. sie zeigt die gleiche Reaktion auf Jod wie Dextrin*), wenn sie eine dunkle braunrote Farbe annimmt.

Es existieren noch viele weitere Färbemittel oder Reagenzien, die in der Mykologie eingesetzt werden, nicht nur in der Mikroskopie (mikroskopische Reagenzien), sondern auch an Frischmaterial (makroskopische Reagenzien). Ihre

Wirkung und Zusammensetzungen werden in zahlreichen Werken beschrieben: Kühner & Romagnesi (1953), Erb & Ma-theis (1982), Charbonel (1995, 2004).

Zu vermeidende Stolpersteine

- Das Deckglas nicht zerbrechen, wenn man es zu sehr auf den Objektträger drückt. Je nach Flüssigkeit kann das Objektiv nass oder gar beschädigt werden.
- Eine Luftblase nicht mit einer Zelle verwechseln.
- Das Präparat nicht eintrocknen lassen, bevor die Beobachtung fertig ist (man kann beispielsweise vorsorglich ein paar Tropfen Wasser auf dem Rand des Deckglas tröpfeln).
- Achtung mit Sporen anderer Pilze!
- Nicht Guttulen* oder Vakuolen mit Zellen verwechseln.
- Nicht unreife Basidien mit Zystiden verwechseln.

Pilzfacts

Seit kurzem gibt es auf dem Markt Mikroskope, auf denen man die Kamera eines Mobiltelefons fixieren kann (Abb. 11). Wenn ein Objekt in der richtigen Distanz von der Linse beleuchtet wird, erscheint das Bild auf dem Display und kann so gesichert werden (Abb. 12).

Es handelt sich eher um eine Lupe; die höchste Vergrößerung ist ungefähr 60-fach. Dieses Instrument ermöglicht also, Grösse und Form von Pilzsporen im Feld zu bestimmen!

Allerdings kann es für Botaniker und Entomologen* nützlich bei der Bestimmung im Feld sein.

Wörterbuch

Bemerkung: In früheren Folgen erklärte Begriffe werden nicht wiederholt.

Auflösung Fähigkeit eines optischen Instruments, den Abstand zweier sehr nahe liegender Punkte zu zeigen. Er hängt von der Wellenlänge der verwendeten Strahlen ab.

Baumwollblau (oder Laktoseblau): In Milchsäure gelöstes Baumwollblau. Manchmal erhitzt man das Präparat vor der Beobachtung.

Brechungsindex Zahl, die das Verhalten von Licht beschreibt beim Durchgang von einem Material in ein anderes.

Dextrin Zwischenprodukt beim Abbau von Stärke in Glukose.

Dichotom ist ein Bestimmungsschlüssel, der auf jeder Stufe immer zwei Möglichkeiten kennt.

Entomologe Biologe, der auf Insekten spezialisiert ist.

Guttule Kleines Tröpfchen einer unlöslichen Flüssigkeit in einer Zelle.

Kongorot (ammoniakhaltig) In konzentriertem Ammoniak gelöstes Kongorot. Es ist ein ausgezeichnetes Färbemittel von Zellulose (Achtung vor Flecken auf den Kleidern!)

Nanometer (Abkürzung: nm) Millionstel Teil eines Millimeters.

Organoleptisch was mit unseren Sinnen wahrnehmbar ist (Form, Farbe, Duft, Geschmack, Konsistenz usw.)

Schnalle Auswuchs, der sich im Moment der Mitose einer dikaryotischen Zelle um eine Quersepte herum formt und die den Übergang des zweiten Zellkerns in die Tochterzelle ermöglicht.

Tox Info Suisse Schweizerisches Zentrum für medizinischen Rat und Informationen zu Vergiftungen aller Art. Telefonnummer: 145.

VAPKO Schweizerischer Verband der offiziellen Pilzkontrollorgane. Sie ist Mitglied des VSVP.

Fig. 11 Disposition d'un microscope sur un téléphone portable
Abb. 11 Mikroskop mit einem darauf montierten Mobiltelefon



Fig. 12 Image de la surface porée de *Polyporus tuberaster* obtenue avec un microscope monté sur un téléphone portable
Abb. 12 Bild der Porenoberfläche von *Polyporus tuberaster*, aufgenommen mit einem Mobiltelefon montiert auf einem Mikroskop

