

B. BLEU DE MÉTHYLE ACÉTIQUE

**BLEU DE MÉTHYLE (= BLEU COTON C. 4B) 0,50 à 1 g
ACIDE ACÉTIQUE CRISTALLISABLE DILUÉ AU 1/10 (10%) Q.S. 100 ml**

Solution de bleu de méthyle à 0,50 ou 1% dans une dilution au 1/10 d'acide acétique cristallisable.

Mode opératoire (opérer à froid)

Cela se passe en 2 temps.

1) Préparation de la dilution au 1/10 d'acide acétique cristallisable:

- Mettre 10 ml d'acide acétique cristallisable dans un flacon de 100 ml,
- compléter le flacon avec de l'eau distillée et agiter. Le mélange est quasi instantané, l'acide acétique étant très miscible à l'eau. La dilution est prête.

2) Préparation du réactif:

- Prendre le flacon contenant la dilution au 1/10 d'acide acétique,
 - enlever 20 à 30 ml qu'on mettra de côté dans un verre de laboratoire,
 - dans les 70 à 80 ml qui restent dans le flacon, mettre 0,5 g ou 1 g de bleu de méthyle,
 - agiter vivement (agitation favorisée par un flacon non plein),
 - compléter le flacon avec l'acide acétique dilué au 1/10 qu'on a mis de côté dans le verre,
 - agiter à nouveau,
 - laisser en contact,
 - agiter de temps en temps jusqu'à dissolution complète, ce qui se passe relativement vite, le bleu de méthyle étant assez soluble dans l'acide acétique au 1/10.
- Le réactif est prêt.

C. PRÉSENTATION DE CES RÉACTIFS

Ce sont des liquides limpides, fluides, d'une couleur bleue assez foncée, d'odeur faible, l'une (bleu de méthyle acétique) à odeur légèrement acétique, l'autre à odeur pratiquement nulle ou légère d'acide trichloracétique, à cause de leur grande dilution.

D. CONSERVATION DE CES RÉACTIFS

Longue, plusieurs années à condition de les conserver dans des flacons bien bouchés à l'abri de la lumière.

E. AVANTAGES ET INCONVÉNIENTS DE CES RÉACTIFS

R.A.S.

F. CONTRE-INDICATIONS DE CES RÉACTIFS

Toutes les réactions ne concernant pas l'étude des spores après passage à la potasse à 5%.

G. DANGERS DES BLEUS DE MÉTHYLE MICROCHIMIQUES

- Ceux de l'acide trichloracétique pour le bleu de méthyle trichloracétique et
 - ceux de l'acide acétique pour le bleu de méthyle acétique;
- en fait très atténués du fait de leur forte dilution.

De plus, étant des réactifs colorants, ils peuvent tacher peau et vêtements.

À manier par conséquent avec précaution.

H. ÉTIQUETAGE

- Étiquette → rouge.
- Contre-étiquette → rouge dangereux.
- Date d'achat ou de préparation.

Tous deux sont d'usage peu courant en mycologie, le meilleur des deux étant le bleu de méthyle trichloracétique.

I. QUALIFICATIONS ET USAGES

Réactifs de recherches spécifiques colorants (R.R.S.C^t), réservés à l'étude des spores, surtout celles de *CLITOPILUS* et d'*ENTOLOMA* (ss. lato) post action de KOH.

Vu les différents bains à faire subir au prélèvement, il est évidemment impossible de travailler sur spores de sporée. Il faut travailler obligatoirement sur hyménium, de façon à avoir un tissu cohérent.

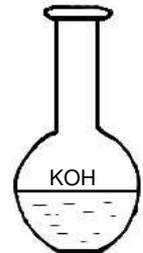
a) Réactifs à utiliser

- KOH à 5%: "gonflage" des spores fraîches ou sèches,
- eau distillée: lavage,
- bleu de méthyle (trichloracétique ou acétique): colorant et observation.

b) Technique

Préparer tout d'abord

- Une boîte de Petri (ou similaire) qu'on remplira à moitié d'eau distillée, (ou 4 ou 5 verres de montre dans lesquels on mettra 10 à 15 gouttes d'eau distillée),
- un ballon type labo dans lequel on mettra de la potasse à 5%.



Manipulations

- Prélever un morceau assez grand (0,5 x 0,5 cm au minimum ou mieux 1 x 1 cm),
- le porter dans la potasse contenue dans le ballon,
- faire agir la potasse à chaud ou à froid selon ses desiderata,
- l'action de la potasse réalisée, retirer le prélèvement avec une grande pince ou une grande brucelle ou autre objet de préhension selon l'opérateur,
- le porter dans la boîte de Petri (contenant de l'eau distillée) ou successivement dans tous les verres de montre où de l'eau distillée a été mise; bien le promener dans tout le volume d'eau afin de le laver parfaitement en opérant avec des mouvements doux pour ne pas faire tomber les spores,
- le sortir et l'essorer recto-verso sur buvard ou papier filtre,
- le déplacer sur les endroits secs du buvard pour qu'il soit parfaitement essoré,
- le porter sur une lame porte-objet,
- pratiquer:
 - soit la méthode BOIFFARD dans une goutte d'un des "bleus de méthyle",
 - soit faire des coupes ou une dilacération, et monter dans une goutte de bleu de méthyle,
- observer.

c) Résultats: + + + +

Nous n'avons que très peu pratiqué cette méthode, d'où une certaine réserve.

d) Interprétation des résultats

Les spores ayant leur endospore bien décollée, cela permet, avec la coloration apportée par le bleu de méthyle, de pouvoir faire certaines observations intéressantes.

		
Spore Normale	Décollée	Détruite
	Exospore	

e) Champignons secs

- Faire, si c'est possible, un prélèvement de lamelle directement sur l'exsiccatum; dans certains cas, on peut avoir intérêt à opérer un préregonflage de tout ou partie du chapeau, avant d'en extraire un morceau de lamelle,
 - ensuite absolument identique au frais, car la potasse utilisée regonfle l'hyménium sec.
-