



RAPPORT DE STAGE SUR LES TECHNIQUES D'IDENTIFICATION TAXINOMIQUE ET DE GESTION DES COLLECTIONS

Du 06 novembre au 03 décembre 2016

Jardin Botanique de Meise (Belgique)



Stage effectué au laboratoire de Cryptogamie du jardin Botanique Meise/Belgique
par YIAN Gouvé Claver



REMERCIEMENTS

Ce stage de renforcement des capacités en taxonomie et en gestion des collections a été effectif grâce à l'appui financier de l'Institut Royal des Sciences Naturelles de Belgique (IRScNaB) à travers le canal du Point focal Belge pour l'Initiative Taxonomique Mondial (ITM). Ainsi, nous saisissons cette occasion pour adresser nos sincères remerciements aux différentes autorités de l'IRScNaB, notamment, le Dr Marie-Lucie SUSINI (point Focal GTI) et toute son équipe de nous avoir sélectionnés pour sur nous afin de nous permettre d'effectuer notre troisième stage.

Nos remerciements s'adressent également à tout le personnel du Jardin Botanique National, Meise, particulièrement au Dr Jérôme DEGREEF notre tuteur, Dr André De KESEL chercheur en Mycologie pour leur encadrement et assistance tout au long de notre stage.

Nous voulons remercier tous les responsables l'UFR Biosciences de l'Université Félix Houphouët Boigny notamment le Professeur KOUAMELAN Essetchi Paul Doyen de l'UFR Biosciences pour sa politique d'ouverture vers les institutions nationales et internationales afin de garantir des formations de qualités aux étudiants qu'il dirige.

Nous ne saurons oublier tous les enseignants du laboratoire de Botanique avec à leurs têtes le Professeur N'GUESSAN Kouakou Edouard, Directeur du Laboratoire de Botanique pour leur soutiens et conseils durant notre formation académique.

C'est aussi l'occasion pour nous d'exprimer notre profonde gratitude au Dr TIEBRE Marie Solange, Maître de conférence, notre directeur scientifique pour son encadrement et son soutien moral et financier qu'elle ne cessé de nous apporter.

Nous ne pourrions clore ce chapitre sans toutefois dire merci à tous nos collègues mycologues avec lesquels nous avons partagé des moments de collaboration enrichissantes, il s'agit de Bill Kasongo et Elisabeth Biringanine.

REMERCIEMENTS	I
I/ CONTEXTE GENERAL	1
II/ OBJECTIFS DU STAGE.....	1
III/ MATERIEL ET METHODES.....	2
III-1/ Matériel	2
III.1.1/ Produits chimiques utilisés pour l’identification des spécimens et leurs rôles	2
III.2/ Méthode de travail	3
III.2.1/ La microscopie et mesure des cellules à l’aide du logiciel analySIS	3
III.2.2/ Préparation des échantillons et observations microscopiques	3
III.2.3/ Montage et observation	3
IV/ RESULTATS	4
V/ REALISATION DES PLANCHES DES ELEMENTS MICROSCOPIQUES	5
VI/ DESCRIPTION SOMMAIRE DES SPECIMENS IDENTIFIES, ECOLOGIE ET IMAGES	7
CONCLUSION ET RECOMMANDATION	12
INDEX DES NOMS SCIENTIFIQUES	13

I/ CONTEXTE GENERAL

Les champignons comestibles font partis des Produits forestiers non ligneux (PFNLs) qui constituent une source de nourriture pour les êtres humains dans le monde depuis des millénaires (Malaisse *et al*, 2008). Malheureusement, la diversité de cette ressources reste peu connue surtout dans les pays du Sud particulièrement dans les pays d'Afrique subsahariens. Plusieurs raisons expliquent ce manque dans ces pays notamment en Côte d'Ivoire. Il s'agit entre autres de l'insuffisance d'expertise et de données sur les champignons comestibles sauvages. Cependant, ces champignons jouent un rôle important dans le maintien et l'équilibre des écosystèmes d'une part, et d'autres part contribuent au bien être des populations rurales sur le plan alimentaire et économique.

Pour combler cette insuffisance et contribuer à la lutte contre la pauvreté en milieu rural, le laboratoire de Botanique de l'Université Félix Houphouët-Boigny à travers son Directeur, le Professeur N'GUESSAN Kouakou Edouard, a initié un projet de thèse de doctorat sur les champignons comestibles de région forestière de Côte d'Ivoire. C'est dans ce contexte que depuis 2014, nous avons mené plus missions de collecte de données sur le terrain afin de mieux connaître les espèces de champignons comestibles de Côte d'Ivoire, plus spécifiquement celles du sud forestier. En vue d'acquérir des connaissances pour l'identification des spécimens récoltés sur le terrain, le laboratoire a soumis un projet à l'ITM. Cela nous a valu des stages en 2014 et 2015. Dans cette même dynamique de collaboration établie entre les responsables de l'ITM et le laboratoire de Botanique, ce troisième stage de renforcement des capacités en identification taxinomique et en gestion des collections nous a été octroyé en vue de perfectionner nos connaissances dans le domaine de la mycologie

Ce stage a été effectué au jardin botanique National de Meise (Belgique) du 06 novembre au 03 décembre 2016. Au cours de ce stage, les spécimens collectés dans différents biotopes tels que les plantations, les jachères et les forêts dans la région du Gôh et des lagunes ont été identifiés.

II/ OBJECTIFS DU STAGE

Les objectifs de ce stage au jardin Botanique Meise étaient d'une part de renforcer nos capacités en taxonomie et en gestion des collections des champignons, d'autre part d'identifier nos spécimens collectés sur le terrain. Plus spécifiquement, il s'agissait :

- d'effectuer des analyses microscopiques sur les échantillons de champignons comestibles récoltés lors sur le terrain ;
- de comparer les caractères macroscopiques et microscopiques des échantillons récoltés avec ceux disponibles dans la littérature et dans l'herbier du jardin Botanique Meise ;
- réaliser des planches des cellules caractéristiques des champignons comestibles en vue de produire un article scientifique.

III/ MATERIEL ET METHODES

Ce chapitre abordera le matériel et la méthode utilisés durant le stage.

III-1/ Matériel

Le matériel technique utilisé pour l'analyse de nos échantillons se présente comme suit (annexe 1) :

- une loupe binoculaire pour l'observation du tissu à prélever ;
- un microscope avec objectif gradué équipé d'un tube à dessin connecté à un ordinateur pour l'observation des cellules ;
- une pince pour le prélèvement des tissus ;
- une lame rasoir en forme de bistouri pour la coupe fine du tissu à observer;
- des lames portes-objets (lpo) sur lesquelles les tissus sont disposés et des lames couvres-objets (lco) pour couvrir la préparation ;
- des produits chimiques (le rouge Congo ammoniacal et l'huile à immersion) pour la réalisation des différentes préparations;
- stylos à dessins pour la réalisation des planches ;
- des papiers calques et des papiers à dessins etc.

III.1.1/ Produits chimiques utilisés pour l'identification des spécimens et leurs rôles

Les cellules caractéristiques des spécimens ont été observées à l'aide du rouge Congo ammoniacal. Ce produit est le plus utilisé en microscopie pour l'identification du genre *Agaricus* (Eyi Ndong, 2011). En plus, l'huile à immersion a été utilisée pour effectuer les observations au grossissement X 1000.

➤ Rouge Congo ammoniacal

C'est une solution à 1% dans l'ammoniac dilué. Le rôle de l'ammoniac est de regonfler les cellules de l'échantillon séché. Le Rouge Congo a pour rôle de donner une coloration rouge à la membrane cellulaire.

➤ Huile à immersion

L'huile à immersion est utilisée lorsqu'on passe au grossissement x1000. Elle permet d'augmenter le pouvoir résolvant en condensant les rayons lumineux et donc permet une meilleure observation microscopique à ce grossissement.

III.2/ Méthode de travail

III.2.1/ La microscopie et mesure des cellules à l'aide du logiciel analySIS

➤ **Rappel sur la microscopie**

Comme à l'accoutumé, la microscopie a débuté par une brève séance de rappel sur le mode d'utilisation du logiciel ayant servi à la mesure des spores par Dr André De Kesel et Jérôme Degreef. Il s'agit du logiciel analySIS. Tout comme le logiciel Cell[^]D que nous avons utilisé dans le cadre de notre stage en 2015, Ce logiciel permet aussi de photographier les cellules caractéristiques du sporophore, ensuite, de déterminer la longueur, la largeur, le rapport Q de la longueur sur la largeur et l'intervalle de confiance.

III.2.2/ Préparation des échantillons et observations microscopiques

L'étape de préparation des échantillons est une étape qui a permis l'observation et l'analyse des éléments caractéristiques des sporophores tels que les cystides, les spores et les éléments du pileus. En effet, l'observation a permis de voir la morphologie des cellules caractéristiques et de vérifier la présence ou l'absence de celles-ci à partir de l'observation d'une portion fine de la lamelle. Il a été également question d'observer la forme, la taille et l'ornementation des spores des spécimens collectés.

III.2.3/ Montage et observation

Avant le montage une portion de lamelle a été prélevée à l'aide d'une lame de rasoir sous une loupe binoculaire. Le tissu prélevé a été placé sur une lame porte-objet (lpo) comportant une goutte de rouge Congo ammoniacal. Ensuite, la préparation a été couverte d'une lame couvre-objet (lco). La préparation a été laissée reposer dans le Rouge Congo ammoniacal pendant quelques secondes afin de permettre l'hydratation des cellules contenues dans le tissu. Enfin, pour permettre une meilleure observation des cellules caractéristiques des sporophores, la surface de la lame couvre objet a été régulièrement et légèrement frappée avec la base d'une pince afin d'individualiser ces cellules. Après cette phase, la préparation a été posée sur la platine du microscope Olympus BX51 pour observation. L'observation a débuté avec le plus petit objet (10 x) suivi des objectifs, 40x 60x et 100x. L'observation avec

l'objectif 100x a nécessité l'utilisation de l'huile d'immersion pour une meilleur visibilité des cellules.

Après la mise au point et observation des cellules, celles-ci ont été photographiées et mesurées. Les résultats des caractères microscopiques obtenus ont été comparés avec ceux contenus dans l'herbier du jardin et dans la bibliographie mise à notre disposition afin d'identifier nos spécimens.

IV/ RESULTATS

Pour la campagne 2016, 22 spécimens ont été collectés. Sur les 22 spécimens 16 ont été identifiés grâce aux connaissances acquises durant précédents stages effectués. L'ensemble de la collection a été apporté en Belgique dans le cadre de notre stage afin de confirmer les identifications des spécimens par les spécialistes de la mycologie. Aussi, les spécimens qui n'ont pu être identifiés ont fait l'objet d'analyses microscopiques en vue d'identifier celles qui n'ont pu être identifiées sur le terrain. Au total, nous avons obtenu 18 espèces réparties entre 12 familles, (voir tableau 1).

Tableau 1 : Liste des familles identifiée avec le nombre d'espèce

Familles	Nombre d'espèces
Agaricaceae	2
Bolbitiaceae	2
Coprinaceae	2
Lyophyllaceae	2
Marasmiaceae	1
Physalacriaceae	1
Pleurotaceae	3
Pluteaceae	1
Polyporaceae	1
Psathyrellaceae	1
Schyzophyllaceae	1
Strophariaceae	1
Total :	12 18

NB : La liste complète des espèces déterminées est donnée en annexe

V/ METHODE DE REALISATION DE PLANCHES DES ELEMENTS MICROSCOPIQUES

La réalisation de la planche s'effectue selon les étapes suivantes.

- **Préparation de l'échantillon**

La réalisation d'une planche passe d'abord par la préparation de l'échantillon. Ainsi, en fonction de la cellule à dessiner, le morceau de l'échantillon est prélevé sur la lamelle du sporophore. Par exemple pour l'observation des cellules du revêtement piléique, le prélèvement se fait à la surface du chapeau. Par exemple, les cheilosystides sont prélevés au niveau de l'arrête de la lamelle et les pleurocystides sont prélevés sur la face de celle-ci. Le lieu de prélèvement des basides dépend de l'espèce soumise à l'analyse. Tous ces prélèvements se font à l'aide d'une lame rasoir. Les morceaux prélevés sont posés sur la lame porte objet comportant une goutte de Rouge. La préparation obtenue est ensuite placée sur la platine du microscope.

- **Mise au point de l'objectif approprié ;**

Comme décrit ci-dessus, la mise au point commence par le plus petit objectif (10 x) jusqu'à (100 x). Le choix du grossissement est fonction de la taille des cellules à observer. Exemple : les cystides peuvent être observés aux grossissements 200 ou 400 (GX200 ou GX400) (Figure 1).

- **Dessin des cellules caractéristiques**

Le dessin est réalisé à l'aide du tube à dessin situé sur le microscope. Le dessin des cellules sera réalisé sur du papier de format A4.

- **Réalisation de la planche**

Les dessins réalisés sous microscope sont découpés à l'aide d'une paire de ciseaux et bien disposés sur du papier calque de format A3 (figure 2). Le papier calque est ensuite fixé sur papier à dessin de format A3 à l'aide de scotch. L'ensemble est posé sur une table à dessin lumineuse. A l'aide d'un stylo à dessin à encre indélébile la planche est réalisée en tenant compte de l'échelle préalablement définie (figure 3 et 4).



Figure 1 : Observation de l'échantillon préparé en vu de la réalisation a partir du tube à dessin



Figure 2 : Dessins réalisés sous microscope découpés et disposé sur papier calque format A3

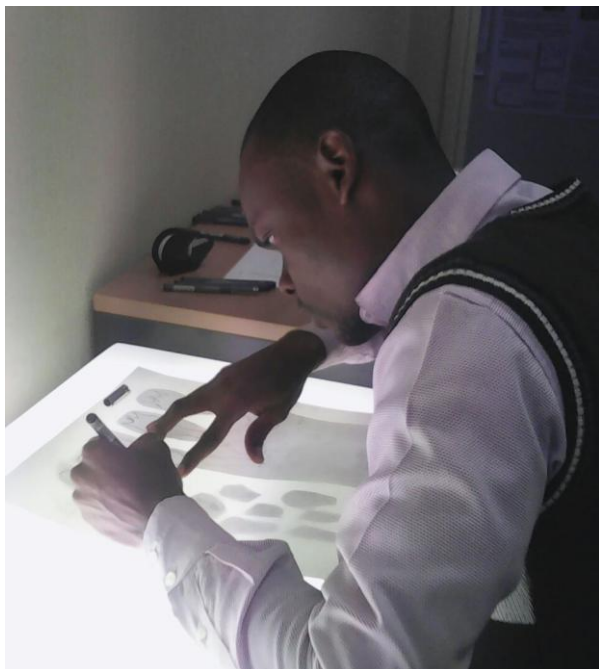


Figure 3 : Réalisation de la planche sur papier à dessin

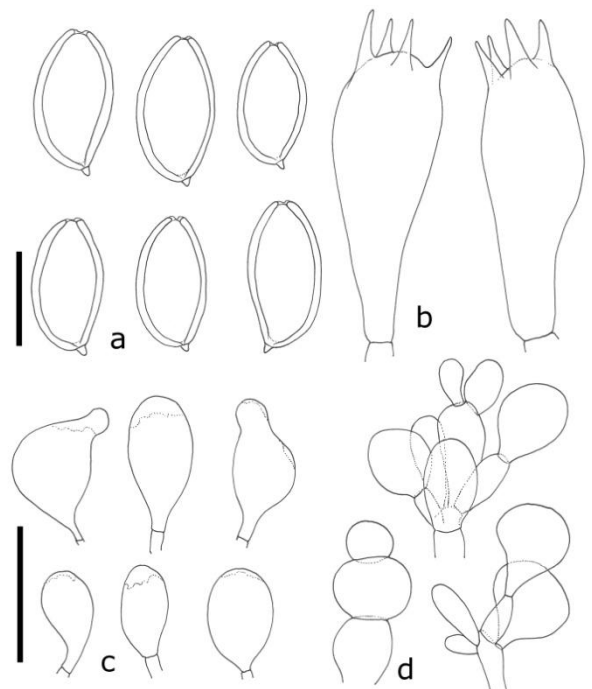


Figure 4 : Planche réalisée
a : spores ; b : basides ;
c : cystides; d: cellules piléiques

VI/ DESCRIPTION SOMMAIRE DES SPECIMENS IDENTIFIES, ECOLOGIE ET IMAGES

Les espèces décrites ici sont uniquement celles qui sont nouvelles pour notre base de données.

Pluteaceae

Volvariella sp.

Référence bibliographique : Pegler (1977) : 257

Ecologie : Espèce saprotrophe, récolté sur bois mort au stade décomposition très avancé dans la forêt classée de la Téné dans le département de Oumé.

Macroscopie : Espèce solitaire, chapeau subglobuleux, 6,3 cm de diamètre, couleur blanchâtre. Lamelles libres plus ou moins serrées, rosâtres. Stipe central, cylindrique, plein, fibreux, surface fibreux, tomenteux à la base ; 4,2 cm de long. Présence de volve.

Microscopie : Spores lisses, hyalines ellipsoïdes, à paroi plus ou moins épaisse, (6,3-)6,1-7,4-8,7(-9,1) X (5-)4,8-5,6-6,3(-6,5) μm {N=30}

Comestibilité : La comestibilité n'a pas été mentionnée par la population locale.

Spécimen YIAN149



Figure 5 : *Volvariella sp.*

Strophariaceae

Gymnopilus zenkeri (P. Henn.) Singer

Référence bibliographique : Pegler (1977) : 495

Ecologie : Espèce saprotrophe ; Elle a été récoltée sur bois mort, sous les cacaoyers dans la localité de Makoberi dans la sous-préfecture de Zikisso. Altitude : 237,20m, N 6°9.161', W 5°50.445'.

Macroscopie : Espèce grégaire, chapeau subglobuleux à plan-convexe, 2,8 à 8,4 cm de diamètre, couleur jaune-brun, squamuleux. Lamelles séparées, jaunes à rouilles. Stipe central, cylindrique, creux, chair fibreuse, surface jaune soyeux, 5,8 à 6,7 cm de long.

Microscopie : Spores présentant des petites verrues, à paroi mince, (6,2-)5,9-6,8-7,8(-8) X (3,7-)3,7-4,3-4,9(-5) μm {N=30}

Comestibilité : Espèce consommée et appréciée par la population locale.

Spécimen : YIAN 170



Figure 5 : *Gymnopilus zenkeri*
(P. Henn.) Singer



Figure 6 : Spores de *Gymnopilus zenkeri*

Bolbitiaceae

Agrocybe broadwayi (Murrill) Dennis

Référence bibliographique : Pegler (1977) : 448

Ecologie : Espèce saprotrophe, elle a été rencontrée en milieu ouvert dans un champ de riz, récoltée sur le sol riche en matière organique entre les débris de rafle de maïs et de tronc de bananier au stade de décomposition très avancé.

Macroscopie : Espèce grégaire, chapeau globuleux, convexe, plan, souvent déprimé 1,6 à 4,1 cm de diamètre, couleur jaune pale à fond blanc. Lamelles adnées, espacées jaune brun. Stipe central, cylindrique, bulbeux à la base, 2,8 à 7,4 cm de long.

Microscopie : Spores lisses, hyalines, ellipsoïdes, à paroi épaisse, pore germinatif visible, $(12,1-12,3-14,1-15,9(-15,9) \times (7,1-7,1-7,7-8,3(-8,4) \mu\text{m}$ {N=30}.

Comestibilité : Espèce consommée par la population locale.

Spécimen : YIAN161



Figure 7 : *Agrocybe broadwayi* (Murrill) Dennis

Pleurotaceae

Pleurotus fuscusquamulosus D.A. Reid & Eiker

Référence bibliographique : Mycotaxon 66 : 137 – 152 ; (1998),

Ecologie : Espèce saprotrophe, rencontrée dans une plantation de *Tectonia grandis* dans la forêt classée de la Téné dans le département de Oumé. Elle a été récoltée sur un tronc d'arbre mort.

Macroscopie : Espèce grégaire, chapeau convexe, plan convexe à déprimé, flabelliforme, atténué à la base, squamuleux, 3,8 à 5,3 cm de diamètre, couleur ivoire à blanchâtre. Lamelles décurrentes, plus ou moins serrées, blanchâtres. Stipe absent ou très court, excentrique à latéral, 0,9 à 1 cm de long.

Microscopie : Spores lisses, hyalines, allongées cylindriques, $(11,6-14-16,3(-15,9) \times (3,8-4,4-5,1(-5,2) \mu\text{m}$ {N=27}

Comestibilité : cette espèce est consommée par la population locale.

Spécimen : YIAN153



Figure 17 : *Pleurotus fuscusquamulosus*
D.A. Reid & Eiker

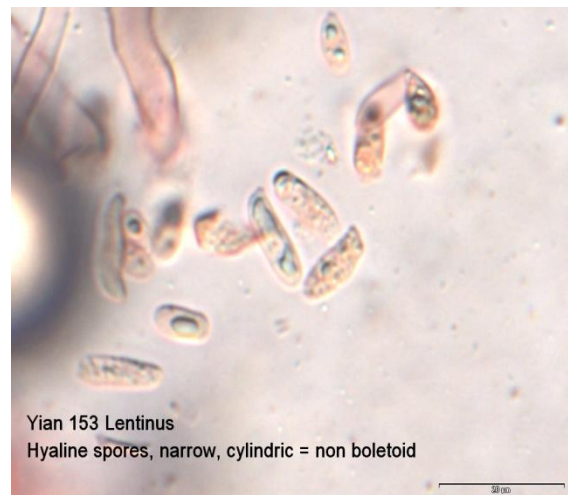


Figure 18 : Spores de *Pleurotus fuscusquamulosus*

Coprinaceae

Coprinus sp Pers. ex S. F. Gray.

Référence bibliographique : Pegler (1977) : 386

Ecologie : Espèce rencontrée dans une forêt fermée à Makobéri dans la sous préfecture de Zikisso. Elle a été récoltée sur un tronc d'arbre mort dans la localité de Bobia, sous-préfecture de Gagnoa. Altitude : 262,50m, N 6°6,382', W 5°42,328'.

Comestibilité : Espèce consommée et appréciée par la population locale.

Macroscopie : Espèce grégaire, chapeau globuleux à conique, 0,8 à 1,3 cm de diamètre, surface blanchâtre, tacheté de rouge. Lamelles serrées, brunes à noires déliquescentes. Stipe central, cylindrique, creux, fibreux, 2,7 à 3,3 cm de long.

Microscopie : Spores lisses hyalines, subglobuleux à ellipsoïdes, à paroi épaisse, (4,8-)4,6-5,3-5,9(-6) X (3,5-)3,5-4,1-4,7(-4,7) μm {N=30}.

Spécimen : YIAN169



Figure 19 : *Coprinus sp*

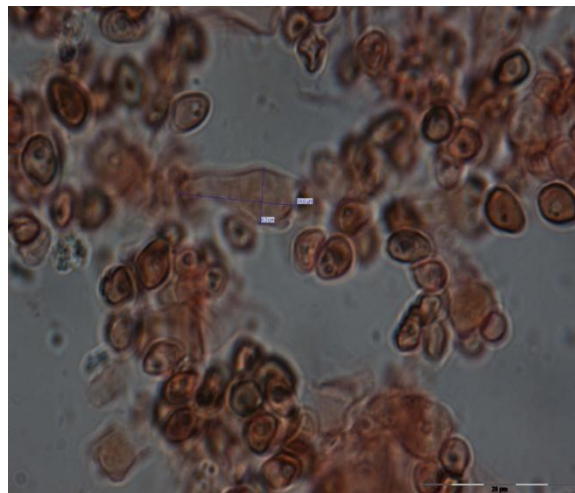


Figure 20 : Spores de *Coprinus sp*

CONCLUSION ET RECOMMANDATION

Cette campagne de collecte de données des champignons comestibles effectuée dans la région dans la zone forestière de la Côte d'Ivoire, a permis d'identifier 12 familles réparties en 18 espèces. Cependant, beaucoup reste à découvrir par rapport à la diversité mycologique que regorge cette région de la Côte d'Ivoire. Ainsi pour mieux connaître les champignons de la Côte d'Ivoire en général et plus particulièrement les champignons de cette région, nous préconisons que :

- les futures études soit orientées dans les régions Ouest et Est de la Côte d'Ivoire de mettre en évidence les différentes espèces endémiques à ces régions de la Côte d'Ivoire;
- des essais de culture de champignons sauvages comestibles peu connus puis les vulgariser auprès des populations locales afin de contribuer à la lutte contre la pauvreté.

INDEX DES NOMS SCIENTIFIQUES

<i>Volvariella sp</i>	8
<i>Gymnopilus zenkeri</i>	9
<i>Agrocybe broadwayi</i>	10
<i>Pleurotus fuscusquamulosus</i>	11
<i>Coprinus sp</i>	12

ANNEXE

Annexe 1: Liste globale des taxons analysés

Numéros de collection	Familles	Genres	Espèces
YIAN162	Agaricaceae	<i>Leucocoprinus</i>	<i>L. cretatus</i>
YIAN166	Agaricaceae	<i>Leucoagaricus</i>	<i>L. cf. americanus</i>
YIAN171	Agaricaceae	<i>Leucoagaricus</i>	<i>L. cf. americanus</i>
YIAN176	Agaricaceae	<i>Leucoagaricus</i>	<i>L. cf. americanus</i>
YIAN161	Bolbitiaceae	<i>Agrocybe</i>	<i>A. broadwayi</i>
YIAN172	Bolbitiaceae	<i>Agrocybe</i>	<i>A. broadwayi</i>
YIAN169	coprinaceae	<i>Coprinus</i>	<i>Coprinus sp</i>
YIAN155	Lyophyllaceae	<i>Termitomyces</i>	<i>T. letestui</i>
YIAN158	Lyophyllaceae	<i>Termitomyces</i>	<i>T. letestui</i>
YIAN174	Lyophyllaceae	<i>Termitomyces</i>	<i>T. meduis</i> R. Heim & Grassé in Grassé & Heim
YIAN160	Marasmiaceae	<i>Marasmiellus</i>	<i>M.inoderma</i>
YIAN175	Marasmiaceae	<i>Marasmiellus</i>	<i>M.inoderma</i>
YIAN178	Marasmiaceae	<i>Marasmiellus</i>	<i>M.inoderma</i>
YIAN153	Pleurotaceae	<i>Pleurotus</i>	<i>P. fuscusquamulosus</i>
YIAN163	Pleurotaceae	<i>Pleurotus</i>	<i>P. tuberregium</i> (Fr.) Fr.
YIAN177	Pleurotaceae	<i>Pleurotus</i>	<i>P. flabellatus</i> (Berk. & Br.) Sacc.
YIAN149	Pluteaceae	<i>Volvariella</i>	<i>sp.</i>
YIAN164	Polyporaceae	<i>Lentinus</i>	<i>L. squorrosulus</i> Mont.
YIAN167	Psathyrellaceae	<i>Psathyrella</i>	<i>P.tuberculata</i>
YIAN165	Schizophyllaceae	<i>Schizophyllum</i>	<i>S. commune</i>
YIAN170	Strophariaceae	<i>Gymnopilus</i>	<i>G. zenkeri</i>