



RAPPORT DE STAGE SUR LA MICROSCOPIE DES MACROMYCETES DU CONGO



Sydney Thony NDOLO EBIKA

Doctorant en Sciences Biologiques, Parcours : Biologie, Spécialité: Mycologie

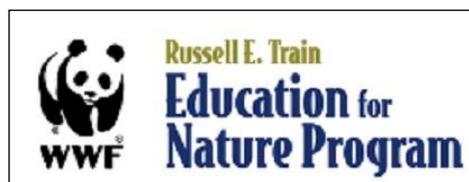
Travaux de laboratoire supervisés par Dr. Ir. Nourou S. YOROU, Faculté d'Agronomie,
Université de Parakou, République du Bénin.

Superviseur de thèse : Prof. ATTIBAYEBA, Faculté des Sciences et Techniques, Université
Marien Ngouabi, République du Congo

Co-superviseur de thèse : Dr. Ir. Nourou S. YOROU

21 décembre 2015

Thèse de doctorat financée par



Remerciements

A l'issue de ce stage au Laboratoire de recherche en Ecologie, Botanique et Biologie Végétale (LEB) qui s'est déroulé à Parakou (Bénin) du 13 septembre au 5 décembre 2015, il est de mon devoir de manifester toute ma gratitude envers toutes les institutions et les personnes qui ont contribué tant financièrement que moralement au bon déroulement de cette visite scientifique.

Au plan national, je remercie :

- ✓ Mon épouse et toute ma famille pour leur affection ;
- ✓ Mr. Richard MALONGA, Directeur de la Fondation Nouabalé-Ndoki, pour ses conseils ;
- ✓ Mr. Dos-Santos DOMINGOS, Ancien Conservateur du Parc National de Nouabalé-Ndoki, qui a toujours fait la promotion de mes travaux en Mycologie tant au plan national qu'international ;
- ✓ Les Drs. David MORGAN et Crickette SANZ, tous deux Responsables du site de recherche Goulougo Triangle Ape Project (GTAP), site dans lequel la grande partie des spécimens avait été récoltée entre 2008 et 2014 ;
- ✓ Tous mes collègues du GTAP, Messieurs Crépin EYANA AYINA, Abel NZEHEKE, Wen MAYOUKOU, Igor SINGONO, David Rostand KONI, Thierry Fabrice EBOMBI, Jean-Marie MASSAMBA, Juvey Mavéric WAWA, Séverin NDASSOBA, Marcel MEGUESSA ainsi que tous les guides de terrain et les cuisinières pour leur soutien et leur partage des connaissances sur les noms vernaculaires des champignons ;
- ✓ Mes collègues Vidrich KANDZA et Davy EKOTH (tous deux du site de recherche Mbeli Baï) et mon collègue Erlich OBECKY BAYANGA (Projet d'écotourisme du Triangle de Djéké, Mondika) pour l'intérêt particulier qu'ils ont accordé à la mycologie en discutant avec moi sur le sujet et même en partageant avec moi des images des champignons de leur zone;
- ✓ Les Profs. Arsène LENGA et ATTIBAYEBA, respectivement Coordonnateur de la Formation Doctorale Sciences Biologiques et Superviseur de ma thèse à la Faculté des Sciences et Technique de l'Université Marien Ngouabi, pour leur soutien administratif, académique et surtout pour les encouragements à poursuivre la recherche dans le domaine de la Mycologie ;

- ✓ Le Dr. Valentin S. PANGOU, Directeur du Département Forêt et Biodiversité à l'Institut National de Recherche Forestière (IRF) et Encadreur technique de ma thèse, pour le soutien administratif ainsi que les encouragements à poursuivre la recherche dans le domaine de la Mycologie.

Au plan international, toute ma gratitude est manifestée envers :

- ✓ Le Russell E. Train Education for Nature Program (WWF) pour le soutien financier qui me permet de réaliser les activités relatives à ma thèse en Mycologie ;
- ✓ Les organisateurs du « Second Summer School in Tropical Mycology and Plant-Fungi Interactions (édition 2015, Université de Parakou, Bénin) pour l'invitation et la prise en charge de mon billet d'avion Brazzaville-Cotonou-Brazzaville ;
- ✓ Le Dr. David J. HARRIS, Conservateur de l'Herbier National d'Edimbourg (Royal Botanic Garden Edinburgh, Grande Bretagne), pour le soutien multiforme qu'il n'a cessé de manifester à mon égard depuis 2006 ;
- ✓ Le Dr. Jérôme DEGREEF, Chef Section Thallophytes du Jardin Botanique de Meise (Belgique) et Encadreur technique de ma thèse, pour son soutien et encadrement en Mycologie ;
- ✓ Le Prof. Dr. Reinhard AGERER (Allemagne) qui m'avait recommandé au Dr. YOROU pour faire ma thèse sous la supervision de ce dernier;
- ✓ Le Dr. Ir. Nourou S. YOROU, Faculté d'Agronomie de l'Université de Parakou, pour avoir accepté de co-superviser ma thèse et pour l'invitation qui a permis de mener à bien ce stage sur la microscopie des macromycètes du Congo;
- ✓ Au Prof. Dr. Ir. Armand NATTA et au Dr. Ir. Honoré Samadori S. BIAOU pour l'attention toute particulière qu'ils m'ont accordée ainsi que pour les conseils qu'ils m'ont prodigués durant tout mon séjour au LEB ;
- ✓ A tous mes collègues du LEB (tous niveaux confondus) pour la confiance et les échanges fructueux pendant mon séjour au LEB ;
- ✓ Au Prof. Zhu-Liang YANG, Conservateur de l'Herbier de l'Institut Botanique de Kunming (Chine) pour ses conseils sur les observations des spécimens des Amanites ;
- ✓ Au Dr. Vladimir ANTONÍN, Département de Botanique du Musée Moravie (Rép. Tchèque) pour ses conseils sur les observations des spécimens du genre *Crinipellis* et ;

- ✓ A toute la famille DEDONUGBO pour m'avoir soutenu surtout pour les aspects culinaires.

Table des matières

Remerciements.....	i
Liste des Photos	v
Liste des Tableaux	vi
I. Contexte général et justification	1
II. Atelier Summer School 2015	1
III. Séjour scientifique au sein du LEB.....	8
III.1. Présentation du LEB	8
III.2. Macroscopie.....	9
III.2.1. Organisation des spécimens	9
III.2.2. Identification macroscopique des spécimens	10
III.2.3. Dessins macromorphologiques et équipements utilisés	11
III.3. Microscopie.....	12
III.3.1. Recueil des caractères microscopiques	12
III.3.2. Préparation des spécimens pour les observations microscopiques	13
III.3.3. Mesure des structures microscopiques.....	14
III.3.4. Dessins microscopiques	16
III.3.5. Résultats	16
III.4. Formations reçues et dispensées	17
III.4.1. Formation reçue : introduction sur NetLogo.....	18
III.4.2. Formation dispensée : Gestion des spécimens botaniques et mycologiques dans BRAHMS	20
III.5. Expérience tirée de la visite au LEB	23
Annexes : Mini rapports de quelques étudiants ayant reçu un encadrement particulier de ma part.	25
Annexe 1. Mini rapport par Mlle Gwladys O. FADEYI concernant les illustrations et la microscopie.	26
Annexe 2. Liste des espèces générée par Evans CODJIA à partir du logiciel BRAHMS	30
Annexe 3. Liste des spécimens générée par Féïçalath SEIDOU BOUKARI à partir du logiciel BRAHMS.....	32
IV. Littérature Citée	36

Liste des Photos

Photo 1: Les participants lors de la phase de terrain.....	2
Photo 2 : Deux arbres ectomycorhiziens rencontrés dans les formations végétales de la zone Soudano-Zambézienne	3
Photo 3 : Deux champignons ectomycorhiziens de la zone Soudano-Zambézienne.....	3
Photo 4: Attaque d'une plante hôte herbacée par un champignon microscopique avec formation d'une poudre noire (Charbon).....	4
Photo 5 : Attaque d'une plante hôte herbacée par un champignon très petit produisant des masses brunâtres (Rouille).....	5
Photo 6 : Vue des participants lors de la séance d'examen microscopique des spécimens.....	7
Photo 7 : Présentation du LEB.....	8
Photo 8 : Organisation des spécimens	10
Photo 9 : Matériel utilisé pour les dessins de champignons	11
Photo 10 : Dessins macromorphologiques partiels de <i>Amanita umbrina</i>	12
Photo 11 : Equipement et réactifs utilisés.....	14
Photo 12 : Adaptation d'une règle incorporée dans un oculaire du microscope	15
Photo 13 : Mesures et dessins bruts des structures microscopiques	15
Photo 14 : Mesures de 25 spores.....	16
Photo 15 : Formation sur NetLogo	18
Photo 16 : Type du modèle conceptuel (Wolf Sheep Predation) à adapter pour les <i>Ficus</i> étrangleurs et leurs plantes hôtes.....	20
Photo 17 : Formation sur BRAHMS.....	20
Photo 18 : Extrait de la présentation sur BRAHMS abordant la signification de chaque partie du nom d'une espèce	21
Photo 19: Extrait de la présentation sur BRAHMS montrant l'interface du site Tropicos avec le statut du nom de la plante.....	22
Photo 20: Extrait de la présentation sur BRAHMS montrant l'interface du site Mycobank pour les noms des champignons	23

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Lots de spécimens classés par famille.	9
Tableau 2 : Les taxa examinés lors du séjour avec le nombre de spécimens	17

I. Contexte général et justification

La visite scientifique effectuée à la Faculté d'Agronomie de l'Université de Parakou, au Bénin, s'est déroulée du 13 septembre au 5 décembre 2015. Elle s'inscrit dans le cadre de nos activités de recherche en vue de l'obtention du grade de Docteur en mycologie à la Formation Doctorale Sciences Biologiques de l'Université Marien Ngouabi (République du Congo), dont la co-supervision est assurée par l'Université de Parakou à cause de leur expertise en mycologie tropicale.

Cette visite visait deux principaux objectifs : (1) participer à l'atelier de formation sur la mycologie tropicale dénommée « Second Summer School in Tropical Mycology and Plant-Fungi Interactions » et (2) faire quelques observations microscopiques de certains spécimens que nous avons récoltés en République du Congo au sein du LEB afin d'approfondir leurs descriptions anatomiques.

II. Atelier Summer School 2015

Il convient avant tout de rappeler que depuis 2011, la Faculté d'Agronomie de l'Université de Parakou (Bénin) s'évertue à la promotion de la mycologie dans toute la sous-région Ouest Africaine à travers une série de formations intensives ciblant les étudiants et jeunes chercheurs dont les thématiques portent sur un aspect quelconque de la mycologie. Les objectifs visés par les promoteurs de ces activités sont (1) introduire progressivement des enseignements et recherches mycologiques dans les universités et centre de recherches locaux, et (2) assurer un transfert nord-sud et sud-sud durable de savoir-faire mycologique afin de perpétuer la mycologie locale. La première de cette série de formations a été organisée au Togo en 2011. L'édition de 2015, la première d'une série de 4 successives (de 2015 à 2018) et à laquelle nous avons eu l'honneur de participer s'articulait autour du thème « *Mycologie Tropicale et Interactions Plantes-champignons* ». Cet atelier avait regroupé 30 participants venus de 10 pays différents totalisant 9 universités (Allemagne, Bénin, Burkina Faso, Côte d'Ivoire, Ghana, Guinée Conakry, Niger, Pologne, République du Congo, Togo). La formation a été donnée par une équipe mixte de 6 mycologues et botanistes d'Afrique de l'Ouest et de l'Europe.

L'atelier de 2015 visait (1) à familiariser les participants avec les différentes formations végétales, en connexion avec la distribution et l'écologie des groupes fongiques importants de même que les plantes hôtes et/ou partenaires, (2) à introduire les notions écologiques et mode de

vie des champignons de même que leur significations/importances agronomiques, forestières et environnementales, et (3) à familiariser les étudiants avec les techniques de laboratoire (microscopie et illustrations). La formation a connu deux phases majeures : une phase de terrain qui a duré une semaine et une phase de laboratoire qui a aussi duré une semaine.

Pendant la phase de terrain (photo 1), un total de neuf (09) sites (formations végétales) a été visité. La visite de ces sites avait permis aux participants de connaître les différentes formations végétales de la zone Soudano-Zambézienne et comprendre ainsi l'importance de certaines plantes des différentes formations en termes d'association avec les champignons.



Photo 1: Les participants lors de la phase de terrain. Mr. Ndolo Ebika expliquant le mécanisme d'ouverture des fleurs de *Loranthaceae* et son importance dans les clés d'identification des genres et espèces de cette famille (Site 2 : savane boisée à *Isoberlinia doka*, proche de Kota, 16 septembre 2015)

Les arbres ectomycorhiziens rencontrés dans les formations végétales de la zone Soudano-Zambézienne (photo 2), parmi lesquelles *Isoberlinia doka* et *I. tomentosa* (Fabaceae-Caesalpinioideae), *Monotes kerstingii* (Dipterocarpaceae), *Uapaca togoensis* (Phyllanthaceae), établissent des associations avec des champignons macroscopiques (photo 3) appartenant aux

genres tels que : *Amanita* (Amanitaceae), *Russula*, *Lactarius* et *Lactifluus* (Russulaceae) et *Cantharellus* (Cantharellaceae).

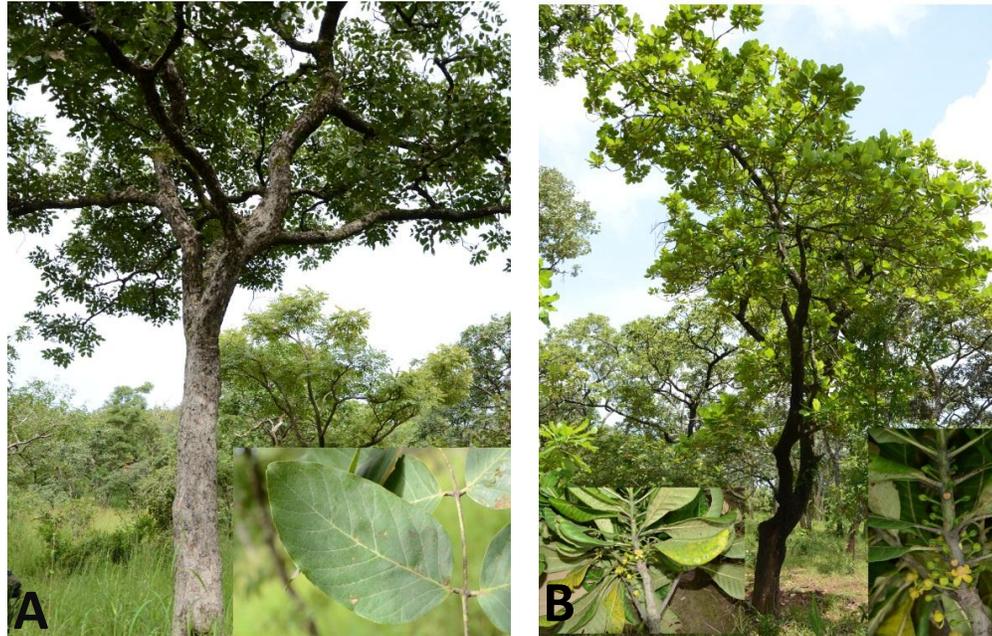


Photo 2 : Deux arbres ectomycorhiziens rencontrés dans les formations végétales de la zone Soudano-Zambézienne. A: *Isoberlinia tomentosa* (Leguminosea-Caesalpinioideae), B: *Uapaca togoensis* (Phyllanthaceae).



Photo 3 : Deux champignons ectomycorhiziens de la zone Soudano-Zambézienne. A: *Amanita subviscosa* (Amanitaceae), B: *Cantharellus addaensis* (Cantharellaceae). Source des photos: Flickr Summer School.

A côté de ces plantes ligneuses et de leurs champignons symbiotiques, les plantes herbacées appartenant surtout à la famille des Poaceae (e.g. *Andropogon spp.*, *Hyperthelia spp.*) ont aussi été introduites aux participants pour des notions de phytopathologie avec l'intervention des champignons très petits et moins développés c'est-à-dire sans un carpophore apparent. Ces Champignons attaquent dans certains cas les ovules des plantes hôtes, produisant ainsi une masse

de poudre noire qui est une maladie appelée Charbon et dont certains champignons responsables appartiennent à divers genres comme *Anthracozytis* (photo 4) entre autres. A côté de ces champignons connus sous le nom vulgaire de charbons, d'autres champignons parasites, peuvent attaquer toutes les parties non ligneuses de la plante en produisant des masses brunâtres-rougeâtres qui sont connues sous le nom de Rouille (photo 5).

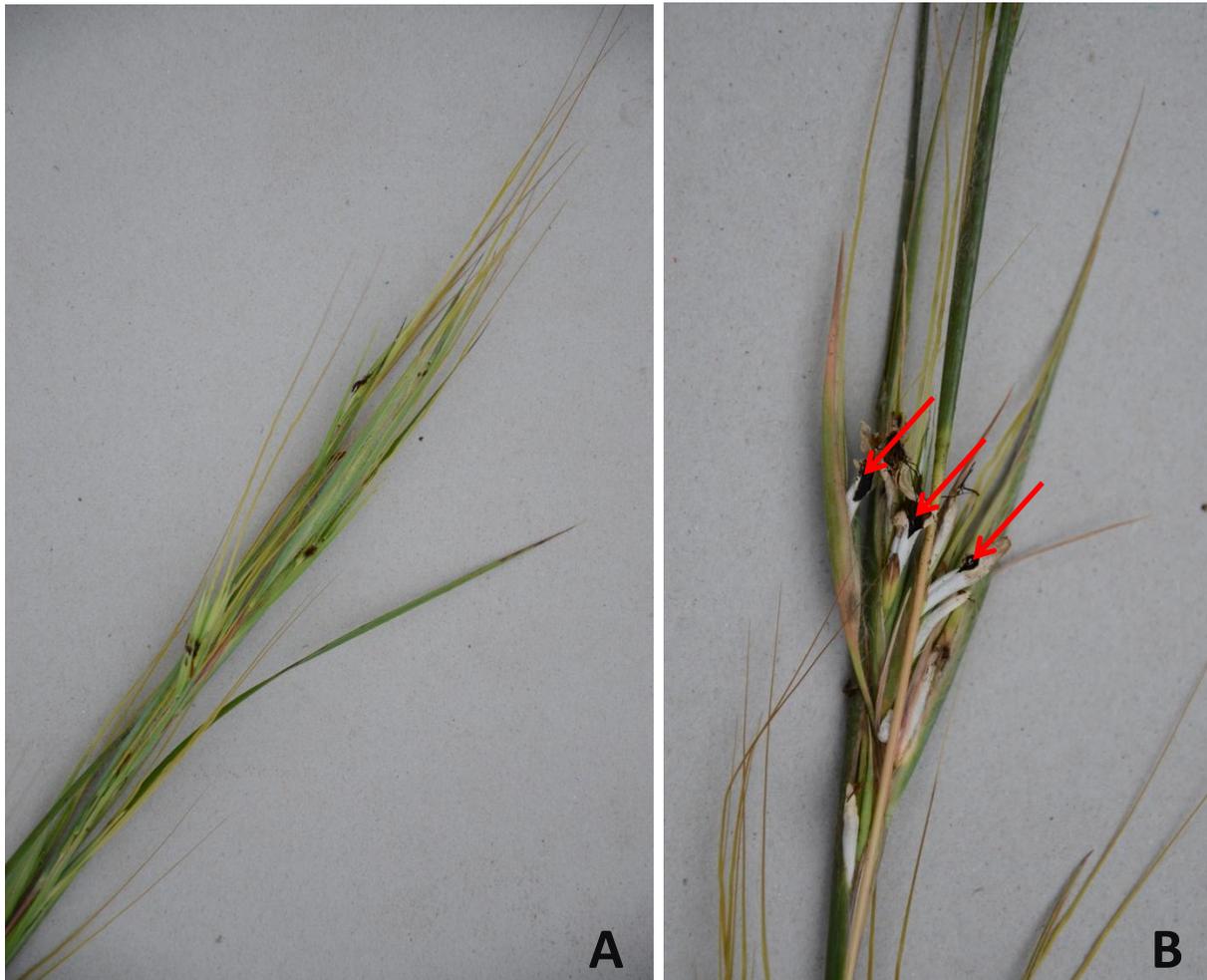


Photo 4: Attaque d'une plante hôte herbacée par un champignon avec formation d'une sorie noire (Charbon). A. Inflorescences saines de la plante hôte, *Hyperthelia dissoluta* (Poaceae); B. Inflorescences infectées par un champignon appartenant au genre *Anthracozytis*.

Des démonstrations directes en forêts accompagnées des discussions-débats ont permis aux formateurs et aux apprenants d'apprendre et de mieux comprendre les interactions écologiques entre les champignons et les plantes récoltées, la diversité biologique mais aussi fonctionnelle des champignons de même que le spectre d'hôtes (y compris presque toutes les plantes terrestres et les orchidées) et de partenaires de ces champignons dans le milieu réel, tout en abordant les

aspects chorologiques et implications sur les plans agronomiques, forestiers et environnementaux. Cette étape a été très capitale et assez pédagogique du fait simplement du caractère/esprit interactif qui a été mis en place pour faciliter les échanges d'informations entre les formateurs et leurs apprenants.



Photo 5 : Attaque d'une plante hôte herbacée par un champignon très petit avec produisant des masses brunâtres (Rouille). A. Inflorescences saines de la plante hôte, *Trachypogon spicatus* (Poaceae) ; B. Inflorescences infectées par le champignon *Sporisorium trachypogonis spicati*.

Par cette même occasion, nous avons eu l'honneur de partager avec tous les participants notre expérience et connaissance de terrain, en tant que jeune mycologue mais aussi botaniste. En particulier, nous avons exploré et expliqué la diversité, distribution et mode de vie et de croissance des *Ficus* héli-épiphytes et aussi le mécanisme d'ouverture des fleurs de *Loranthaceae* et son importance dans les clés d'identification des genres et espèces de cette famille (photo 1 ci-dessus présentée). Ce forum d'échange a été pour nous une occasion unique

de partager avec nos collègues jeunes chercheurs de la sous-région de notions essentielles en mycologie et en botanique, confirmant de ce fait de la nécessité de faciliter et de renforcer ces genres d'échange Sud-Sud.

Les participants ont aussi appris à confectionner les matériels de références, pour la réalisation de l'herbier botanique et mycologique. Une fois de retour de terrain, les apprenants étaient répartis par groupes de deux et avaient en charge la description de deux espèces de plantes et de deux espèces de champignons. Ceci a permis aux participants non seulement de développer les capacités de synthèse sur le terrain, mais aussi des compétences liées à une recherche bibliographique rapide en attendant des descriptions détaillées au laboratoire. La phase de terrain a été supportée par un total de 6 communications orales. Ces communications, fournies par les formateurs, ont abordé des aspects tels que les phytochories Soudano-Zambéziennes en rapport avec les champignons, la diversité et conservation des Macromycètes, techniques de descriptions anatomiques et morphologiques des Macromycètes, et des techniques de confection du matériel de référence.

La deuxième phase de la formation s'est déroulée à la Faculté d'Agronomie de l'Université de Parakou (photo 6). Cette phase a consisté à l'examen microscopique des spécimens récoltés lors de la phase de terrain et avait pour but de familiariser les apprenants avec l'anatomie des principaux groupes fongiques. Chaque groupe d'étudiants avait en charge de faire la microscopie des spécimens qu'ils ont récolté sur le terrain et aussi de procéder aux illustrations microscopiques qui seront assorties d'un mini-rapport. Cette phase avait permis aux participants de maîtriser le mode opératoire d'une préparation à être observée au microscope, de maîtriser les différences entre les structures microscopiques des Basidiomycètes (e.g. basides, basidiospores) et celles des Ascomycètes (e.g. asques, ascospores). C'était aussi au cours de cette phase que les participants avaient été répartis en groupes de deux pour présenter deux exposés portant sur une famille de plante et sur une famille de champignon. Ici aussi, la phase de laboratoire s'est enrichie par des présentations orales, cette fois-ci par les étudiants doctorants mais aussi par les formateurs. J'ai eu l'occasion de présenter mon projet de thèse, et de recevoir de la part des formateurs et des collègues doctorants quelques conseils et orientations visant à un meilleur aboutissement de mes travaux. Parmi ces conseils figurent, par exemple, la collecte des échantillons de sol dans les placeaux et leur analyse, la mesure de la température et de l'humidité

du sol dans ces placeaux. Un total de 15 présentations orales, et des affiches ont supporté la phase de laboratoire.

Enfin, la formation mycologique édition 2015 est finie par une évaluation des apprenants précédée de celle des formateurs. Une évaluation des encadreurs avait été faite de façon anonyme par les apprenants afin de permettre aux apprenants d'exprimer leur niveau de satisfaction ou de mécontentement et aussi d'apporter des contributions pour l'amélioration des futures formations. Conformément au dépouillement public de l'évaluation, il est ressorti que dans l'ensemble, tous les apprenants ont exprimé une satisfaction totale et souhaité une répétition de ces genres de formations, sauf quelques points extérieurs au pouvoir de contrôle des organisateurs (tel que les fournitures discontinues de l'énergie électrique). Cette évaluation des encadreurs était suivie de celle des apprenants qui ont été questionnés sur différents points ou aspects discutés ou expliqués tout au long de ces deux étapes précédentes. La formation a été sanctionnée par un certificat de participation co-signé de l'université de Parakou (Bénin) et de Frankfort (Allemagne).

En résumé, le Second Summer School 2015 était un moment très important pour améliorer les connaissances en botanique, mycologie, écologie avec l'aspect interaction plante-champignon. Cet atelier, qui a regroupé plusieurs nationalités, a été aussi un cadre idéal de nouaison de contacts scientifiques entre les encadreurs et les encadrés. Dans le souci de perpétuer les acquis, il est souhaitable non seulement de répéter ces genres de formations, mais aussi de renforcer les contacts et le réseau déjà établi.



Photo 6 : Vue des participants lors de la séance d'examen microscopique des spécimens (Faculté d'Agronomie, Parakou, septembre 2015).

III. Séjour scientifique au sein du LEB

Notre visite au Laboratoire de recherche en Ecologie, Botanique et Biologie Végétale (LEB) visait spécifiquement (1) à discuter du protocole de recherche de thèse doctorale avec notre co-superviseur, Dr. Yorou, (2) à réaliser les observations microscopiques des échantillons récoltés au Congo avant et au début de notre thèse et, (3) à enrichir notre littérature en ce qui concerne la mycologie tropicale en générale.

III.1. Présentation du LEB

Le Laboratoire de recherche en Ecologie, Botanique et Biologie végétale (LEB) a été créé par arrêté rectoral No. 2335-2014/R-UP/VR-AARU/SG/AC/SA (UP, 2014) et est rattaché à l'Ecole doctorale "Sciences Agronomiques et de l'Eau" par arrêté ministériel No. 341/MESRS/CAB/DC/SGM/DGES/R-UP/SA (MESRS, 2015). Il comprend trois unités de recherche dont :



Photo 7 : Présentation du LEB. A, Edifice du LEB, B-C : espaces des étudiants et Doctorants.

1. L'Unité de Recherche en Botanique et Espèces à Usages Multiples (UR-BEUM) dirigée par le Prof. Dr. Ir. K. Armand NATTA ;
2. L'Unité de Recherche en Biologie forestière, Aménagement des forêts et Modélisation Ecologique (UR-BioME) dirigée par le Dr. Ir. Samadori S. Honoré BIAOU ;
3. L'Unité de Recherche en Mycologie Appliquée et Interactions Plantes-Champignons (UR_MASyM) dirigée par le Dr. Ir. Nourou S. YOROU.

Le LEB gère plus d'une vingtaine d'étudiants du système LMD (Licence Master Doctorat). Ceux-ci peuvent rejoindre le LEB sous deux formes : (1) le désir manifesté par l'étudiante ou l'étudiant de travailler avec un responsable des trois Unités de Recherche ou (2) par un appel d'offre lancé par LEB pour un projet donné (Biaou, comm. pers.).

Pendant notre séjour, nous avons eu à exécuter les activités décrites ci-après.

III.2. Macroscopie

III.2.1. Organisation des spécimens

Pour une bonne préservation des spécimens en cas d'absence de climatisation, du silica-gel doit être enroulé dans du papier mouchoir puis placé dans chaque sac plastique contenant le spécimen fongique (photos 8 A & B). Vu qu'un grand nombre d'échantillons est souvent disponible après une mission de terrain, il est mieux d'organiser ceux-ci par lots de familles (ou familles potentielles) ou comme inconnus (photo 8C). Le fait de classer les spécimens par lots de familles permet de mieux canaliser les observations tant macroscopiques que microscopiques en travaillant d'abord sur un taxon précis qui a des caractéristiques très précises et différentes d'un autre taxon. Le tableau 1 ci-dessous présente les données relatives à chaque lot.

Lot	Nombre de specimens	Lot (suite)	Nombre de spécimens
<i>Agaricaceae</i>	12	Pleurotaceae	8
<i>Amanitaceae</i>	28	Polyporaceae s.l.	35
Auriculariaceae	2	Rhodophyllaceae	4
<i>Boletaceae s.l.</i>	19	Russulaceae	20
Cantharellaceae	19	<i>Sarcoscyphaceae</i>	3
Clavariaceae	1	Sclerodermataceae	2
<i>Coprinaceae</i>	6	Sparassidaceae	2
<i>Cortinariaceae</i>	4	Thelephoraceae	3
Hydnaceae	2	<i>Tricholomataceae</i>	7
Hygrophoraceae	1	Tuberaceae	1
Inconnus	68	<i>Xylariaceae</i>	1
<i>Lepiotaceae</i>	9	Total général	300
<i>Marasmiaceae</i>	41		
Meruliaceae	1		
Nevrophyllaceae	1		

Tableau 1 : Lots de spécimens classés par famille.

Les familles mises en gras et en italique sont celles traitées lors de ce séjour.

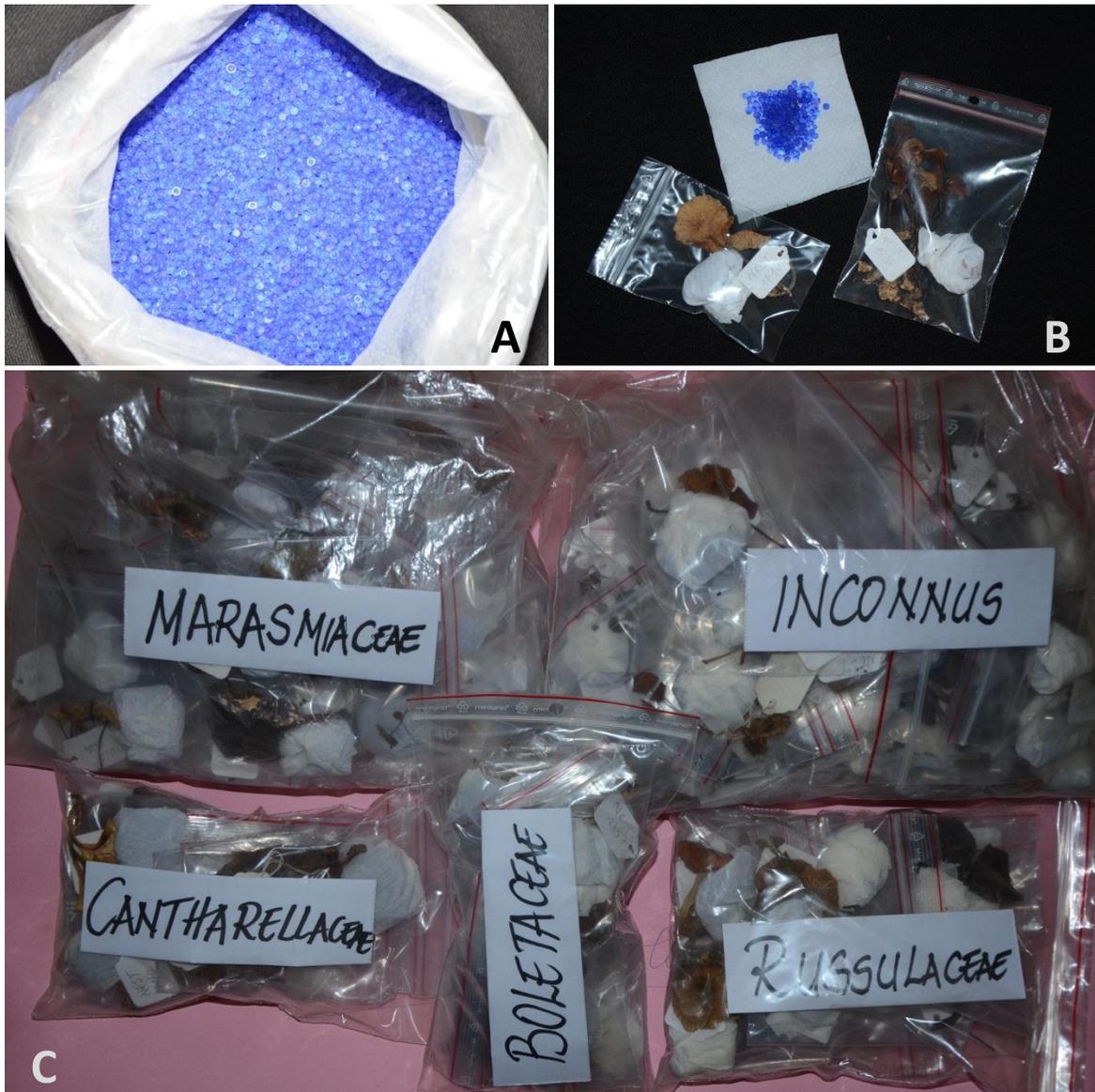


Photo 8 : Organisation des spécimens. A, Silica-gel ; B, Préparation du silica-gel et sacs plastiques contenant des spécimens et du silica-gel ; C, Lots des spécimens par familles.

III.2.2. Identification macroscopique des spécimens

La première étape dans l'identification des spécimens s'est basée sur l'observation des caractères macroscopiques : forme du chapeau; présence ou absence d'un pied, d'une volve ou d'un anneau ; le type de l'hyménophore, etc. (Lodge et al., 2004).

Les références bibliographiques les plus importantes pour l'identification des spécimens venant de la République du Congo lors de cette visite étaient les différents fascicules de la *Flore*

Iconographique des Champignons du Congo (Beeli, 1935, 1936, Heinemann, 1954), ceux de la *Flore Illustrée des Champignons d'Afrique Centrale* (Heinemann, 1986, Heinemann and Rammeloo, 1989), différents volumes de *Fungus Flora of Tropical Africa* (Antonín, 2007, 2013) et les *Champignons comestibles des forêts denses d'Afrique Centrale* (Eyi Ndong et al., 2011). L'organisation des échantillons par famille avait donc permis, en fonction du taxon à examiner, de choisir une référence précise pour procéder à l'identification macromorphologique et aussi de recenser les caractères les plus importants pour les observations microscopiques (voir tableau 2 dans la section III.3.5. résultats).

III.2.3. Dessins macromorphologiques et équipements utilisés

Les dessins macromorphologiques ont été faits pour quelques spécimens du genre *Amanita* en utilisant du matériel approprié (photo 9). Ceux-ci avaient d'abord été faits au crayon sur du papier blanc A3 puis transférés sur du papier calque du même format en utilisant les bics à dessins (photo 10).



Photo 9 : Matériel utilisé pour les dessins de champignons.

III.3. Microscopie

La microscopie avait constitué la plus grande partie de cette visite scientifique au Laboratoire de recherche en Ecologie, Botanique et Biologie végétale (LEB). Après avoir classé les spécimens par lots de familles (section III.2.1. ci-dessus), les différentes étapes ci-dessous ont été suivies : recueil des caractères microscopiques de chaque taxon, préparation des spécimens pour les observations microscopiques, la mesure des structures microscopiques et les illustrations (micrographes) de celles-ci.

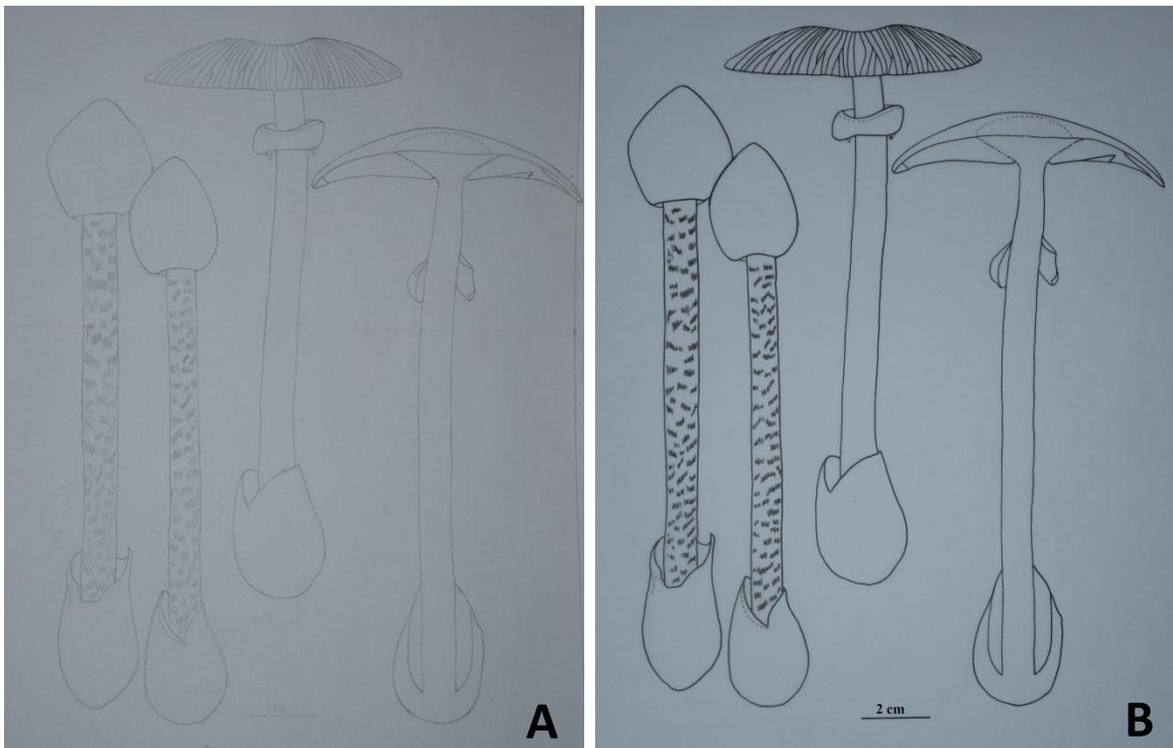


Photo 10 : Dessins macromorphologiques partiels de *Amanita umbrina* (Amanitaceae). A, dessin au crayon ; B, dessin au bic. Ces deux dessins montrent de la gauche vers la droite : deux jeunes carpophores, un carpophore adulte et une section longitudinale d'un carpophore adulte.

III.3.1. Recueil des caractères microscopiques

Chaque taxon (e.g. famille ou genre) présente des caractéristiques microscopiques qui le distingue d'un autre groupe. Pour cela, après que ces spécimens aient été classés par famille, les références ont été consultées en fonction du taxon à examiner. Le but est de compiler les caractères anatomiques les plus importants utilisés dans la littérature pour la discrimination des espèces au sein du taxon considéré, afin de pouvoir les rechercher sous le microscope. Pour les taxa qui n'ont jamais été abordés, ou qui ont été investigués sommairement, l'exercice a consisté

pour nous de proposer et de faire une compilation des caractères microscopiques qui pourront nous permettre plus tard d'assurer une démarcation nette et sans équivoque des espèces au sein de ces taxa. Pour le genre *Crinipellis*, par exemple, parmi les caractères microscopiques les plus importants, il y a : la structure des hyphes de la cuticule du chapeau et des poils du chapeau ainsi que leur réaction (changement de couleur) au KOH; la présence ou l'absence des pleurocystides et cheilocystides ainsi que leur structure (simple ou ramifiée); la présence ou l'absence des sétules (Antonín, 2013). En nous basant sur la littérature appropriée pour chaque taxon, nous avons pu compiler les informations concernant les 21 genres examinés (tableau 2).

III.3.2. Préparation des spécimens pour les observations microscopiques

III.3.2.1. Equipement et réactifs utilisés

Les observations microscopiques ont été rendues possibles grâce à l'équipement et aux réactifs de la photo 11. Le matériel utilisé pour les observations microscopiques inclut :

1. Un stéréomicroscope type Wiloskop tri-oculaire (photo 11A) qui permet de faire des observations macroscopiques approfondies, mais aussi de faire des coupes très fines de spécimens de champignons,
2. Un microscope professionnel type Leica DM 2700 (photo 11B) pour application biologique muni d'un tube à dessin qui permet (1) de faire les observations microscopiques et (2) d'illustrer les structures anatomiques grandeur nature à main levée. Le microscope est muni d'une camera type ProgRes CF qui permet de faire des photographies de préparations microscopiques,
3. Des accessoires (lames et lamelles) pour le montage des préparations (photo 11C), de même que les réactifs chimiques qui permettent de mettre en évidence le changement de coloration mais aussi d'agrandir le contraste afin de mieux cerner les contours des structures anatomiques.

Avec un tel équipement, notre institution d'accueil dispose de tout le nécessaire pour faire une description complète et détaillée qui réponde à un standard international publiable dans des revues de qualités. Nous avons profité de ce matériel pour illustrer et décrire anatomiquement un bon nombre de nos spécimens.



Photo 11 : Equipement et réactifs utilisés. A, Stéréomicroscope; B, Microscope ; C, équipement de dissection (pincette, aiguille montée et lame rasoir) et de montage de préparation (lame porte-objet et lame couvre-objet) ; D, réactifs (KOH 4%, Huile à immersion et Melzer).

III.3.2.2. Mode opératoire

Le mode de préparation des spécimens en vue de leur observation au microscope est décrit en détail dans le rapport de stage (Ndolo Ebika, 2014), téléchargeable sur le site web de l'Initiative des Champignons et des Plantes du Congo (<http://icpc-congo.myspecies.info/>), et dans le mini rapport produit par Mlle Gwladys Olyvia FADEYI en Annexe 1 de ce rapport.

III.3.3. Mesure des structures microscopiques

Les mesures de toutes les structures microscopiques observées ont été faites à l'objectif 100. L'un des oculaires du microscope est doté d'une règle graduée en micron-mètre (μm) et longue de 100 μm (photo 12). Cet oculaire tourne sur lui-même et permet de mesurer la longueur et la

largeur des structures observées. Tenant compte des caractéristiques du microscope utilisée, il est souvent nécessaire de calibrer cette échelle pour s'assurer que les mesures effectuées sont exactes et fiables. Etant donné que l'échelle de mesure au niveau de notre microscope est de 1/1, il n'était plus nécessaire pour nous d'étalonner nos observations/mesures. L'échelle de mesure incorporée dans l'oculaire de notre microscope est applicable directement pour faire des mesures directes. Les mesures des structures obtenues (longueur et largeur) ont été reportées sur le dessin provisoire de celles-ci (photo 13).

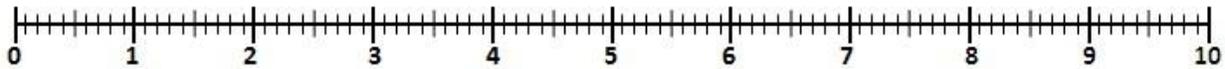


Photo 12 : Adaptation d'une règle incorporée dans un oculaire du microscope. Cette règle mesure 100 μm et les subdivisions correspondent à 1 μm chacune.

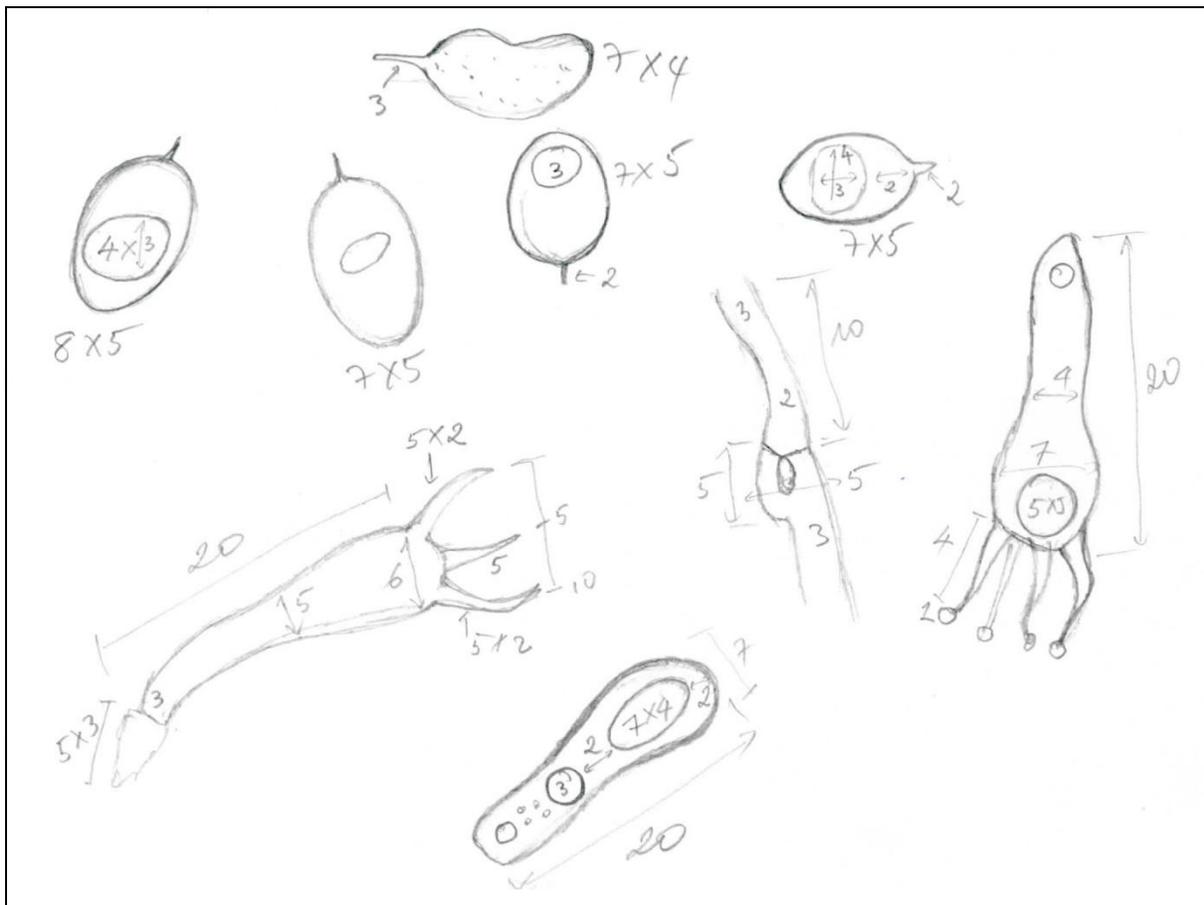


Photo 13 : Mesures et dessins bruts des structures microscopiques. *Filoboletus manipularis* (Tricholomataceae), spécimen : Ndolo Ebika, S.T. 1554.

Pour les spores, au total 25, si possible, ont été mesurées et les valeurs reportées dans un cahier sous la forme (Lxl), avec L= longueur et l= largeur (photo 14). La mesure des spores n'incluait pas l'apicule. Par contre, pour les spores ornées, ces mesures incluaient ces projections. Il était prévu qu'au moins 50 spores soient mesurées par spécimens mais (1) vu la limitation temporelle de notre séjour scientifique au LEB et (2) pour couvrir un membre important de familles, nous avons ramené ce nombre à 25 par échantillon.

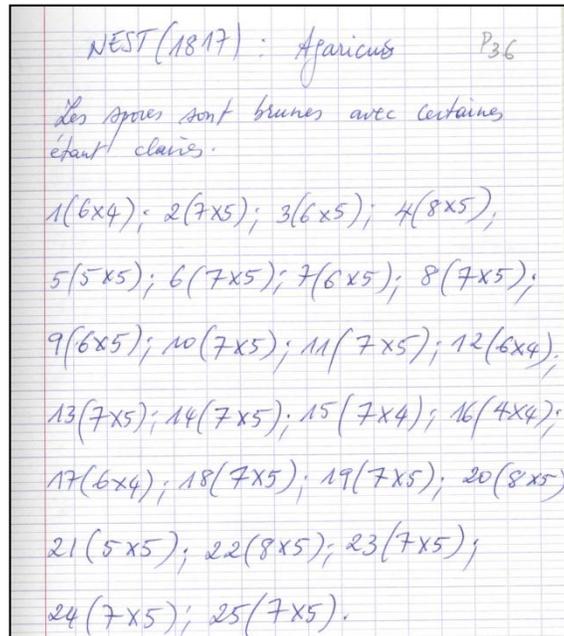


Photo 14 : Mesures de 25 spores.

III.3.4. Dessins microscopiques

En l'absence d'une ampoule au niveau du tube à dessin du microscope, les images observées au niveau du microscope ont été reproduites sur du papier A4 tout en respectant la forme générale de la structure vue à cet instrument (photo 13 ci-dessus). L'étape suivante consistera à transférer ces dessins sur du papier A3 en agrandissant ceux-ci.

III.3.5. Résultats

Au total, 300 spécimens de champignons macroscopiques récoltés en République du Congo ont été amenés au LEB pour des observations microscopiques (voir tableau 1 plus haut). De ces 300 échantillons, 100 spécimens appartenant à dix (10) familles (*Agaricaceae*, *Amanitaceae*, *Boletaceae* s.l., *Coprinaceae*, *Cortinariaceae*, *Lepiotaceae*, *Marasmiaceae*, *Sarcoschyphaceae*,

Tricholomataceae et *Xylariaceae*) ont pu être examinés et les dessins microscopiques faits. Il convient de signaler ici que ces 100 spécimens ont pu être examinés car nous avons travaillé à un rythme très accéléré de 12 à 15 heures par jour avec un maximal de six (06) spécimens quotidiennement et ce sans utiliser le tube à dessin, qui devait projeter les structures observées au niveau du microscope sur du papier pour faciliter l' car certains accessoires de ce dernier n'étaient pas disponibles. Ces dessins microscopiques nous permettront de vérifier les identifications précédemment faites uniquement à base de la macro-morphologie afin de confirmer ou de rejeter les noms scientifiques.

Au total 1142 spores ont été examinées soit un total de 2284 mesures effectuées, car pour chaque spore deux mesures (longueur et largeur) ont été faites.

Le tableau 2 ci-après montre les taxa examinés avec le nombre de spécimens par taxon

Familles	Genres	Nombre de spécimens examinés
Agaricaceae	<i>Agaricus</i>	11
Amanitaceae	<i>Amanita</i>	25
Boletaceae	<i>Afroboletus, Boletellus, Boletus, Strobilomyces, Tubosaeta</i>	9
Coprinaceae	<i>Coprinus, Psathyrella</i>	6
Cortinariaceae	<i>Cortinarius, Gymnopilus</i>	5
Lepiotaceae	<i>Lepiota, Macrolepiota</i>	7
Marasmiaceae	<i>Crinipellis, Marasmius, Trogia</i>	28
Sarcoscyphaceae	<i>Cookenia, Phillipsia</i>	3
Tricholomataceae	<i>Collybia, Filoboletus</i>	5
Xylariaceae	<i>Poronia</i>	1
Total	21	100

Tableau 2 : Les taxa examinés lors du séjour avec le nombre de spécimens.

III.4. Formations reçues et dispensées

Les visites de travail dans une structure donnée sont des rendez-vous du donner et du recevoir (Yorou, com. pers.). De plus, ayant bénéficié d'une bourse *Russell E. Train Education for Nature*

Program for current and aspiring university faculty qui supporte les efforts de ceux qui œuvrent ou comptent œuvrer à l'université dans le domaine de la conservation, le partage des connaissances est un point fondamental prôné par cette bourse. Ainsi, pendant la période que j'ai passée au Laboratoire de recherche en Ecologie, Botanique et Biologie Végétale (13 septembre au 5 décembre 2015), j'ai pris part, de façon active et en tant que formateur pour une, à deux formations intitulées « *Introduction à la modélisation avec NetLogo* » par Dr. Ir. Samadori S. Honoré BIAOU et « *Formation sur la gestion des spécimens botaniques et mycologiques dans BRAHMS* » donnée par moi-même. Sydney T. NDOLO EBIKA.

III.4.1. Formation reçue : introduction sur NetLogo

La formation sur NetLogo, un logiciel de modélisation, visait à présenter aux participants un outil devant leur permettre de pouvoir représenter un phénomène en utilisant un modèle



Photo 15 : Formation sur NetLogo. Dr. Ir. Samadori S. Honoré BIAOU introduisant la formation, (Parakou, 31 octobre 2015)

conceptuel afin de répondre à une question donnée ou de prédire comment est-ce qu'un phénomène donné pourrait se produire dans le futur. NetLogo est un environnement de Programmation pour la modélisation/simulation de phénomènes complexes impliquant plusieurs agents agissant en parallèle. Il a été utilisé avec succès pour des simulations en sociologie, biologie, médecine, physique, chimie, mathématiques, informatique, économie, psychologie sociale, etc.

C'est donc dans le cadre de la prédiction de phénomène que les interactions *Ficus* étrangleurs-plantes hôtes ont trouvé leur place et ont permis au Dr. Biaou et Mr. Ndolo Ebika de scruter la base de données de ce dernier sur les *Ficus* et leurs plantes hôtes afin de préparer un article intitulé *Modelling the relationships between hemi-epiphytic Ficus and their host trees: a case study in Republic of Congo (Central Africa)*.

La base étant encore incomplète, il faudrait encore la compléter particulièrement avec les informations sur le taux de recrutement des *Ficus* étrangleurs. Le modèle à utiliser sera celui du système dynamique « Wolf Sheep Predation » ou « Prédation Loups moutons » (photo 16). L'acquisition des informations et des connaissances sur ce logiciel (NetLogo) en général et modèle « Wolf Sheep Predation » en particulier traitant de la dynamique des populations nous permettra d'améliorer nos connaissances sur les interactions entre les *Ficus* étrangleurs et leurs plantes hôtes et prédire comment les populations de ce *Ficus* et des plantes supports pourront évoluer avec le temps. Ceci nécessitera donc l'installation des placeaux botaniques permanents où les *Ficus* et les plantes hôtes seront suivis. Les données à collecter comprendront : les diamètres (pour les plantes hôtes), les taux de recrutements et de mortalité, etc.

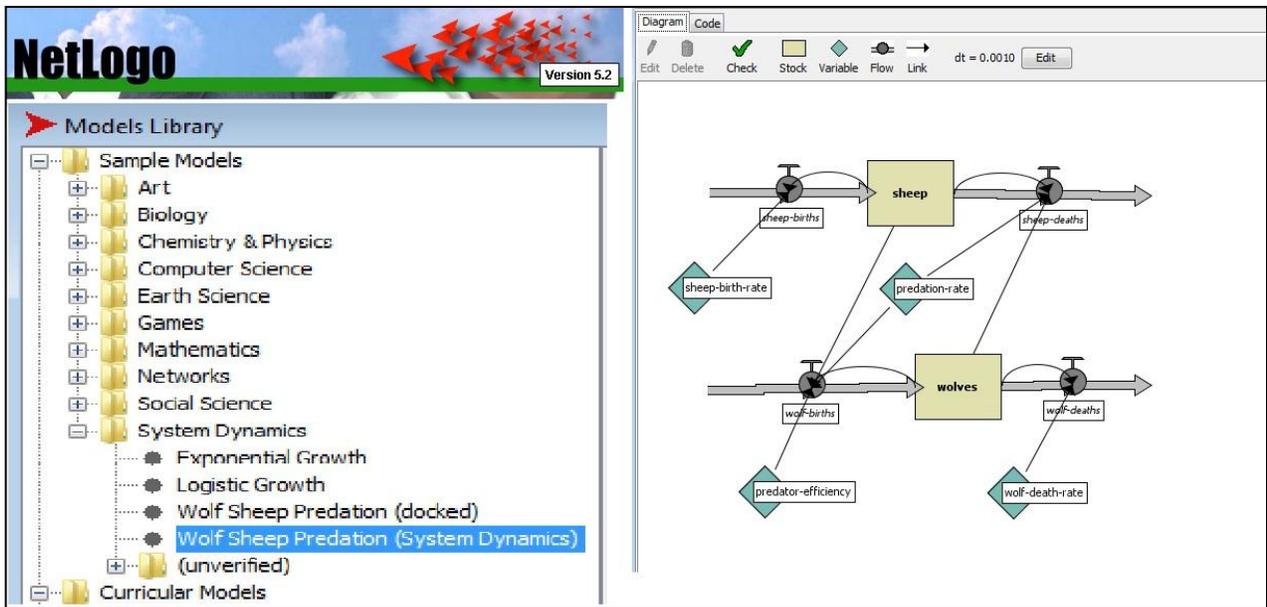


Photo 16 : Type du modèle conceptuel (Wolf Sheep Predation) à adapter pour les *Ficus* étrangleurs et leurs plantes hôtes.

III.4.2. Formation dispensée : Gestion des spécimens botaniques et mycologiques dans BRAHMS

Cette formation (photo 17) visait à apprendre aux participants comment saisir les données (familles, genres, espèces, auteurs, spécimens, etc.) dans le logiciel « Botanical Research And Herbarium Management System (BRAHMS) » afin de gérer des collections d'herbier, de produire des listes des espèces ou des listes de collection (listes exsicatae). Cinq points essentiels



Photo 17 : Formation sur BRAHMS. Mr. Sydney T. NDOLU EBIKA introduisant la formation.

ont été abordés : (1) l'importance du logiciel BRAHMS, (2) les notions de taxionomie, de systématique et de nomenclature, (3) les sites web pour les noms des plantes et des champignons, (4) l'utilisation du logiciel et (5) la cartographie avec le logiciel DIVA-GIS à partir de BRAMS. Etant donné que ce sont des noms plantes, des champignons et des personnes qui seront insérés dans ce logiciel, il était très capital que des notions de base autour de ces noms soient abordées (photo 18). Parmi ces notions figuraient : la basionymie, la légitimité et l'illégitimité, la signification des symboles comme *ex* et *&*, etc. Pour ce faire, des sites web traitant des noms des plantes (cas de Tropicos <http://www.tropicos.org> et de JSTOR : <http://plants.jstor.org/>) (photo 19) et des champignons (cas de Mycobank: <http://mycobank.org/> et de Index Fungorum: <http://www.indexfungorum.org/>) (photo 20) ont été introduits aux participants afin de vérifier les notions évoquées ci-dessus et surtout de vérifier *l'orthographe des noms des espèces et leur statut*.

Notions de taxionomie, de systématique et de nomenclature (3)

Signification des noms

<u>Isoberlinia</u> Genre (Genus)	<u>doka</u> Epithète (Epithet)	<u>Craib & Stapf</u> Auteurs (Authors)
} Espèce (species)		
<div style="border: 1px solid gray; padding: 5px; background-color: #f0f0f0;"> <i>Craib et Stapf sont ceux qui ont donné pour la première fois le nom Isoberlinia doka à la plante</i> </div>		
<u>Termitomyces</u> Genre (Genus)	<u>microcarpus</u> Epithète (Epithet)	<u>(Berk. & Br.) Heim</u> Auteurs (Authors)
} Espèce (species)		
<div style="border: 1px solid gray; padding: 5px; background-color: #f0f0f0;"> <i>La présence des parenthèses () au niveau des noms des auteurs indique UN TRASFERT</i> </div>		
<div style="border: 1px solid gray; padding: 5px; background-color: #f0f0f0;"> Berk. et Br. : Agaricus microcarpus en 1871 (Berk. & Br.) = Basyonym </div>		
<div style="border: 1px solid gray; padding: 5px; background-color: #f0f0f0;"> Heim: Termitomyces microcarpus en 1942 </div>		

Photo 18 : Extrait de la présentation sur BRAHMS abordant la signification de chaque partie du nom d'une espèce.

Pour rendre plus pratique cette formation, un extrait de notre base de données sur les spécimens de plantes et de champignons contenant la date de récolte, le nom du collecteur, le numéro de

récolte, le nom scientifique, les notes de terrains, l'habitat, les points GPS et l'altitude ont été donné aux participants pour la saisie dans BRAHMS.

Après cette formation d'ensemble, d'autres étudiants avaient encore bénéficié d'un encadrement de façon individuelle et dont les mini-rapports montrant le travail accompli par ces derniers sont présentés en annexes.

The screenshot shows the Tropicos website interface. At the top, there is a header with the title "Sites web pour les noms des plantes" and two URLs: "Jstor: <http://plants.jstor.org/> ; Tropicos: <http://www.tropicos.org>". Below this is the Tropicos logo and a navigation menu with items: Home, Names, Specimens, References, Projects, Images, More, Tools. There are also links for "MOBOT Sign In | Login" and "Choose Project - English".

The main content area is titled "Name Search" and contains a search form. The "Name" field is filled with "Isoberlinia". There are buttons for "Search" and "Search Exact". Below the search form, there is a "Common Name" field and a "Group Filter" section with checkboxes for various plant groups: Dicot, Monocot, Fern, Gymnosperm, Moss, Hepatic, Fungi, Algae, and Incertae sedis. An "Export" button is also present.

The search results are displayed in a table with the following data:

Records	1 - 19 of 19	Page	1	of	1
Fabaceae	*	Isoberlinia doka	Craib & Stapf	1912	
Fabaceae	!	Isoberlinia doka	Craib & Stapf	1911	

Below the table, there is a legend: "Records 1 - 19 of 19" and "Page 1 of". A legend at the bottom explains the symbols: "!" = Legitimate, "*" = Illegitimate, "**" = Invalid, "***" = nom. rej., "!!" = nom. cons.

Photo 19: Extrait de la présentation sur BRAHMS montrant l'interface du site Tropicos avec le statut du nom de la plante. Seuls les noms ayant le signe ! c'est-à-dire légitimes doivent être utilisés.

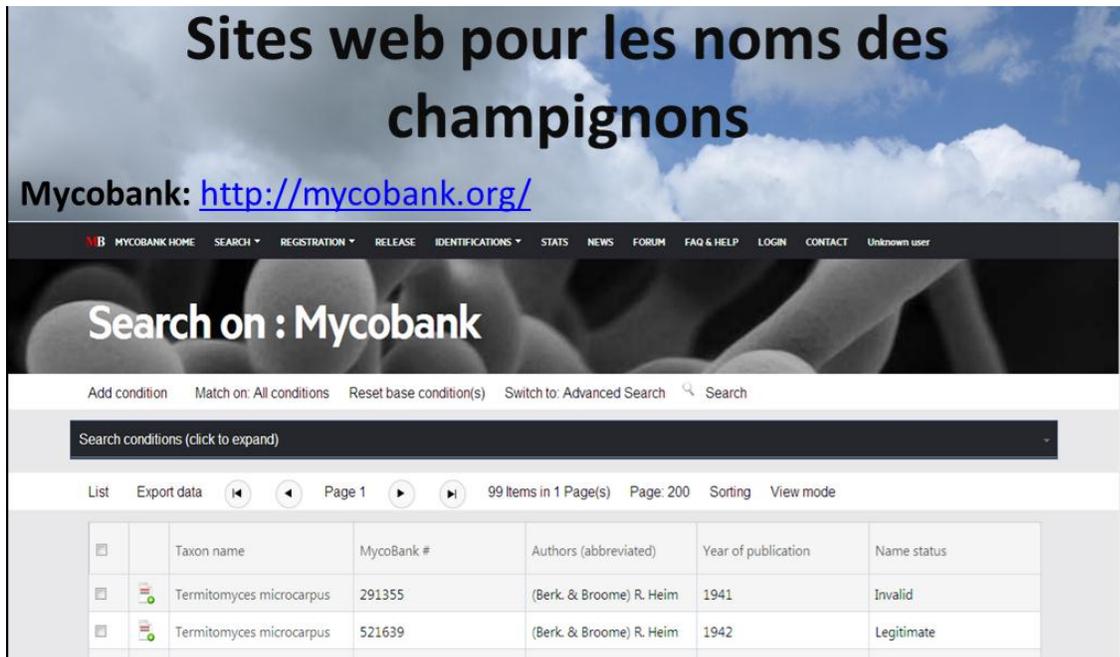


Photo 20: Extrait de la présentation sur BRAHMS montrant l’interface du site Mycobank pour les noms des champignons.

III.5. Expérience tirée de la visite au LEB

Le Laboratoire de recherche en Ecologie, Botanique et Biologie Végétale (LEB) de l’Université de Parakou a instauré un système d’encadrement des étudiants qui était très impressionnant et intéressant. Ce système consistait en ce que les Responsables du LEB aient consacré une partie très importante de leur temps pour former et préparer les premiers étudiants dans certains domaines de leurs zones d’intérêt. Le but de cette formation étant de préparer ces étudiants pour assurer la relève et surtout pour former les autres étudiants des années ultérieures. Par exemple, les étudiants en Master I & II dans le domaine de la modélisation, cartographie et biostatistique ont subi cet encadrement très spécialisé afin de pouvoir encadrer, à leur tour, les étudiants de Licence Professionnelle. Ce système permet d’une part d’alléger la tâche du Responsable dans l’encadrement des étudiants faisant leur mémoire sous sa supervision et d’autre part de permettre aux étudiants d’être impliqués dans la supervision de travaux académiques de leurs collègues.

Ce système a été très efficace surtout avec un étudiant en Master, Mr. Jacob Koundouonon MOUTOUAMA, qui a été, pendant toute la période de cette visite scientifique, la pièce maîtresse dans l’encadrement, les analyses statistiques et la cartographie de plusieurs étudiants en Licence Professionnelle et en Master.

Un tel système permet donc de garder un lien étroit entre les anciens étudiants, les motive et leur attribue une part de responsabilité dans le suivi des travaux de recherche.

En somme, notre séjour scientifique à Parakou au Bénin a été un succès dans plusieurs domaines.

- L'organisation générale du Summer School édition 2015, les interactions entre les formateurs et les stagiaires tant sur le terrain qu'au laboratoire, les interactions entre les enseignants et les étudiants nous serviront d'exemple pour des formations en Botanique et Mycologique que l'on organisera en République du Congo et dans l'encadrement des étudiants qui seront placés sous notre responsabilité;
- Cette visite nous a permis, sous la supervision du Dr. YOROU, de mener les observations microscopiques des spécimens qui constituent une partie de notre thèse notamment sur la connaissance de la diversité macrofongique de la forêt du Nord Congo. Elle nous a aussi permis d'établir un protocole pour la collecte des données (climatiques, botaniques et mycologiques) relatives à cette thèse ;
- Nous avons pu établir des collaborations avec les Enseignants-Chercheurs de l'Université de Parakou en général et les Responsables du Laboratoire de recherche en Ecologie, Botanique et Biologie végétale (LEB) en particulier, et saisi cette occasion pour nouer des contacts avec des collègues de l'Herbier de l'Institut Botanique de Kunming (Chine) et du Département de Botanique du Musée Moravie (République Tchèque). Ces collaborations viennent s'ajouter à celles qui ont été précédemment établies notamment avec l'Herbier du Royal Botanic Garden Edinburgh (Grande Bretagne) et de la Section Thallophytes du Jardin Botanique de Meise (Belgique). Nous souhaitons encore en établir d'autres avec d'autres universités et instituts de recherche. De telles collaborations auront un impact très positif sur l'étude et la documentation des Macromycètes de nos Pays, les échanges d'expérience et surtout pour l'encadrement des futurs étudiants qui s'intéresseront à nos activités. Ceux-ci trouveront déjà des laboratoires d'accueil où ils pourront passer des stages et formations.

Annexes : Mini rapports de quelques étudiants ayant reçu un encadrement particulier de ma part.

Notre séjour au LEB a été très bénéfique pour les étudiants et étudiantes en Licence Professionnelle et en Master qui ont su profiter de notre expérience en Botanique, Mycologie, gestion des données et de références bibliographiques, illustrations biologiques, etc. Ainsi, après la formation sur BRAHMS, certains d'autres eux s'étaient individuellement rapprochés de moi pour bénéficier d'un encadrement spécial en fonction de leurs besoins. Ceci faisant partie de mes activités pendant ce séjour, je leur avais donc demandé de me fournir un mini rapport qui devrait (1) me permettre d'évaluer si les notions transmises ont été bien assimilées et (2) leur permettre de faire un récapitulatif de ce que l'on avait fait ensemble.

C'est dans ce contexte que les mini rapports de FADEYI, CODJIA et BOUKARI sont ci-après présentés.

Annexe 1. Mini rapport par Mlle Gwladys O. FADEYI concernant les illustrations et la microscopie

Mlle Gwladys Olyvia FADEYI est une étudiante de la Faculté d'Agronomie de l'Université de Parakou. Elle avait soutenu son Mémoire de Licence Professionnelle en Aménagement et Gestion des Ressources Naturelles (spécialité: Mycologie) à ladite Faculté en 2014 sur le thème « *Etude ethnomycologique et identification des champignons comestibles prioritaires de la région des Monts-Kouffé (Bénin)* ». Pour cette année académique 2015-2016, Mlle Gwladys s'inscrit en Master et poursuivra ses travaux mycologiques sous la supervision du Dr. Yorou.

Elle s'était montrée très enthousiaste et très intéressée par les différents travaux que je menais (illustration macroscopique des champignons, préparation et observation microscopiques des spécimens, la gestion des références bibliographiques en utilisant EndNote, etc.) au LEB.



Je suis persuadé, vu la volonté et l'intérêt que Mlle Gwladys porte pour ses études et pour la mycologie, qu'un soutien et un investissement pour la formation de Gwladys par les Responsables du Laboratoire contribueraient énormément au renforcement des capacités prôné par ces derniers.

Ci-après un mini rapport produit par Mlle Gwladys sur la microscopie et les illustrations.

I. Différence entre Basidiospores et Ascospores

• Basidiomycètes

Chez les Basidiomycètes, les spores (encore appelées *basidiospores*, figures 1.B3, 1.C) produites par des *basides* (figure 1.B1) et sont fixées sur celles-ci par des structures appelées *stérigmates* (figure 1.B2).

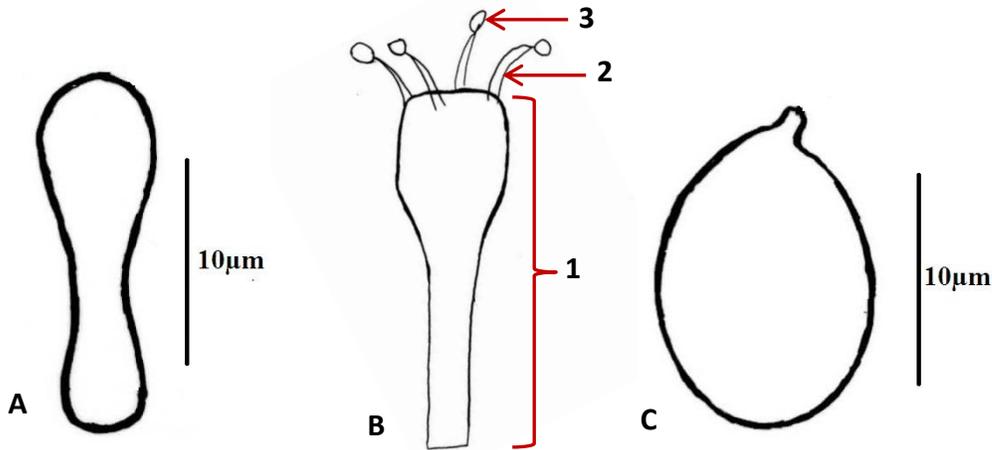


Figure 1 : Basidiole, baside et spore chez les Basidiomycètes.

Chez les basides âgées, il peut arriver que l'on trouve l'ensemble baside-stérigmates-spores mais, dans d'autres cas et surtout après libération des spores, on ne retrouve plus que des basides munis de quatre stérigmates. Les jeunes basides (*basidioles*, figure 1.A) ne possèdent pas encore de stérigmates et leur sommet est arrondi et jamais pointu.

- **Ascospores**

Chez les Ascomycètes, les spores sont produites à l'intérieur des asques (figure 2).

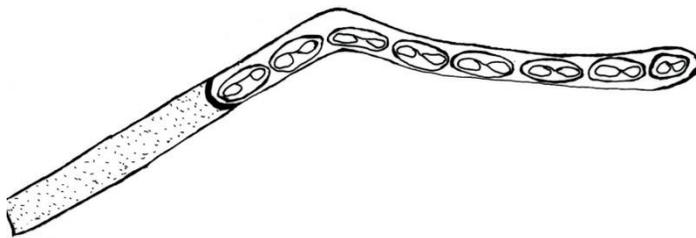


Figure 2 : Asque contenant huit ascospores.

II. Observations microscopiques des spécimens collectés par Mr Sydney Thony NDOLO EBIKA

Les spécimens récoltés ont été séchés en utilisant un réchaud à pétrole et sont conservés dans des sacs en plastique avec du silica-gel.

Cette phase nécessite plusieurs étapes qui sont les suivantes :

II.1. Observation à la loupe à dissection

- Dans un premier temps il faut mettre le spécimen au niveau de la loupe pour la distinction des lamelles ;
- Utiliser la pince pour couper une petite portion du spécimen en pleine observation ;
- Déposer une goutte d'eau ou de KOH sur la lame porte-objet ;
- Déposer ensuite la portion prélevée dans le liquide pour réhydrater et regonfler le spécimen séché ;
- Poser ensuite la lame couvre-objet sur la préparation de façon à éviter la présence de bulles d'air ;
- Utiliser du papier mouchoir propre pour aspirer le surplus du liquide de montage (eau ou KOH);
- Poser la préparation sur un support de couleur, outre que la couleur blanche (ceci permet de bien voir la préparation) ;
- Utiliser la base plane de l'aiguille montée et taper gentiment sur la préparation de façon à l'écraser sans casser la lame couvre-objet. Cette opération permet de rendre les structures à observer moins denses et distinguables les unes des autres. La portion du spécimen prélevée devrait maintenant apparaître comme une tache.

Après l'étape de l'observation avec la loupe, maintenant il est question de passer la préparation au niveau du microscope.

II.2. Observation au niveau du microscope

- A ce niveau, il faut d'abord poser et fixer la préparation sur la platine
- Allumer le microscope et augmenter légèrement la lumière;
- Positionner le plus petit objectif « **grossissement 10** » et placer la préparation de sorte que la lumière traverse celle-ci en utilisant les boutons permettant de déplacer la préparation dans les quatre directions (gauche-droite, avant-arrière);
- Utiliser le bouton macrométrique pour faire doucement monter la platine jusqu'à ce que l'on aperçoive l'image;

- Utiliser les deux boutons de la tige verticale fixée sur la platine pour faire déplacer la platine et la préparation de la gauche vers la droite et de l'avant vers l'arrière;
- Lorsque l'image des structures à observer apparaît et que l'on n'arrive pas à distinguer celles-ci les unes des autres, il faut retirer la préparation et l'écraser à nouveau avec la base plane de l'aiguille montée ;
- Lorsque l'image des structures est bien visible, passer à l'objectif suivant (**grossissement 40**). Augmenter un peu de la lumière et jouer avec la touche micrométrique pour arranger la netteté de l'image ;
- Choisir quelques structures (spore, basides, etc.) qui sont très bien distinctes et faire décaler l'objectif 40 pour passer à l'objectif 100. **Notes : Avant de positionner l'objectif 100, il faut d'abord déposer une goutte d'huile à immersion sur la préparation positionner l'objectif 100;**
- C'est à l'objectif 100 que se font les mesures et les dessins de toutes les microscopiques dont on a besoin. Il faut ici, augmenter encore un peu de la lumière et utiliser la vis micrométrique pour arranger la netteté de l'image.

III. Illustrations mycologiques

Cette partie concerne les illustrations mycologiques tant macroscopiques que microscopiques que faites par Mlle Gwladys.

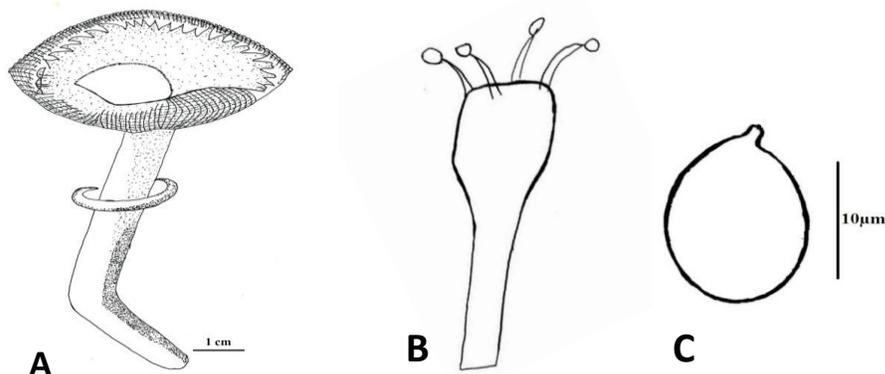


Figure 3 : Dessins mycologiques. A. dessin macroscopique (*Russula annulata*, Ndolo Ebika, S.T. 773) ; B-C. Dessins microscopiques (*Lepiotaceae*).

Annexe 2. Liste des espèces générée par Evans CODJIA à partir du logiciel BRAHMS

Mr. Evans CODJIA a soutenu son Master I en 2013 sous le thème « *Diversité et usage des champignons sauvages dans la Commune de Pobè (Bénin)* ». Mr. Codjia avait pris part à la formation sur BRAHMS et est actuellement en train de constituer la base de données des espèces macrofongiques de toute l'Afrique de l'Ouest. Ainsi, l'outil BRAHMS est d'une importance très capitale pour mener à bien sa mission. Ci-après un exemple d'une liste des espèces qui a généré dans BRAHMS.



AGARICACEAE

Agaricus aff. *bambusae* Beeli

Agaricus cf. *caribaeus* Pegler

Agaricus *goossensiae* Heinem.

Agaricus *iodolens* Heinem.&Goos.

Agaricus *subsaharianus* L.A. Parra, Hama & De Kesel

Agaricus *volvatus* Heinem.&Goos.

Langermannia *wahlbergii* (Fr.) Dring

AMANITACEAE

Amanita aff. *craseoderma* Bas

Amanita aff. *rubescens* (PersFr.) S. Gray

Amanita *afrospinosa* Pegler & Shah-Smith

Amanita *annulato vaginata* Beeli

Amanita cf. *annulato vaginata* Beeli

Amanita *aureofloccosa* Bas

AMANITACEAE (suite)

Amanita *baccata* (Fr.) Gillet

Amanita cf. *lanosa* Bas

Amanita cf. *lanosula* Bas

Amanita *craseoderma* Bas

Amanita *crassiconus* Bas

Amanita cf. *crassiconus* Bas

Amanita cf. *fulvopulverulenta* Beeli

Amanita *hemibapha* (Berk. & Br.)Sacc.

Amanita *masasiensis* Härk.&Saarim

Amanita *strobilaceovolvata* Beeli

Amanita *subviscosa* Beeli

Amanita *xanthogala* Bas

BOLETACEAE

Afroboletus *costatisporus* (Beeli) Watling

Afroboletus *luteolus* (Heinem.) Pegler & T.W.K. Young

BOLETACEAE (suite)

Boletellus linderi Sing.

Boletus cf. *lepidospora* Gilb.

Boletus loosii Heinem.

Boletus pallidissimus Watling

Leccinum rubroscabrum Heinem.

CANTHARELLACEAE

Cantharellus addaeinsis Heinem.

Cantharellus congolensis Beeli

Cantharellus conspicuous Essart.

Cantharellus loridulus Heinemann

Cantharellus platyphyllus Heinem.

Cantharellus pseudofriesii Heinem.

Cantharellus rufopunctatus (Beeli) Heinem.

Cantharellus aff. *rufopunctatus* (Beeli) Heinem.

GANODERMATACEAE

Ganoderma colossus (Fr.) C.F. Baker

HYMENOCHAETACEAE

Phellinus allardii (Bres.) Ryv.

POLYPORACEAE

Lentinus aff. *atrobrunneus* Pegler

Lentinus aff. *brunneofloccosus* Pegler

Lentinus squarrosulus Mont.

Lenzites elegans (Spreng.) Pat.

RUSSULACEAE

Lactariusacrissimus Verbeken & Van Rooij

Lactarius afroscrobiculatus Verbeken & Van Rooij

Lactarius atro-olivinus Verbeken & Walley

Lactarius aurantiifolius Verbeken

Lactarius baliophaeus Pegler

Lactarius cf. *brunnescens* Verbeken

Lactarius cf. *caperatus* R. Heim & Gooss.-Font.

Lactarius chamaeleontinus R. Heim

Lactarius cocosmus (Van de Putte & De Kesel) Van de Putte

Lactarius goossensiae Beeli

Lactarius cf. *latifolius* Gooss.-Font. & R. Heim

Lactarius longisporus Verbeken

Lactarius melanogalus R. Heim ex R. Heim

Lactarius miniatescens Verbeken & Van Rooij

Lactarius nudus R. Heim

Lactarius pelliculatus (Beeli) Buyck

Lactarius pseudogymnocarpus Verbeken

Annexe 3. Liste des spécimens générée par Féïçalath SEIDOU BOUKARI à partir du logiciel BRAHMS

Mlle Féïçalath SEIDOU BOUKARI est une étudiante en Licence Professionnelle, Option : aménagement et gestion des ressources naturelles à la Faculté d'Agronomie de l'Université de Parakou. Elle préparait son mémoire sur le thème : « *Contribution à l'élaboration d'un plan d'aménagement du jardin écologique de Sépounga dans la commune de Tanguiéta* »



au Bénin. Après avoir mené des inventaires botaniques dans dix (10) placeaux de 50 x 50 m dans ledit jardin, Mlle Boukari avait ramené des spécimens mais qu'elle ne savait quoi faire avec. C'était donc après la formation sur BRAHMS qu'elle avait encore retrouvé l'utilité de ses spécimens.

Ci-après la liste des spécimens produite à l'issue de son travail avec BRAHMS.

Seidou Boukari, F 1	<i>Combretum collinum</i> Fresen.
Seidou Boukari, F 2	<i>Combretum collinum</i> Fresen.
Seidou Boukari, F 3	<i>Aspilia ciliata</i> (Schumach.) Wild
Seidou Boukari, F 4	<i>Ipomoea coscinosperma</i> Hochst. ex Choisy
Seidou Boukari, F 5	<i>Aspilia angustifolia</i> Oliv. & Hiern
Seidou Boukari, F 6	<i>Ficus glumosa</i> Delile
Seidou Boukari, F 7	<i>Siphonochilus aethiopicus</i> (Schweinf.) B.L. Burt
Seidou Boukari, F 8	<i>Tephrosia flexuosa</i> G. Don
Seidou Boukari, F 9	<i>Maytenus senegalensis</i> (Lam.) Exell
Seidou Boukari, F 10	<i>Cyanotis longifolia</i> Benth.
Seidou Boukari, F 11	<i>Lannea acida</i> A. Rich.

Seidou Boukari, F 12	<i>Grewia cissoides</i> Hutch. & Dalz.
Seidou Boukari, F 13	<i>Asparagus africanus</i> Lam.
Seidou Boukari, F 14	<i>Cymbopogon giganteus</i> Chiov.
Seidou Boukari, F 15	<i>Entada africana</i> Guill. & Perr.
Seidou Boukari, F 16	<i>Pandiaka angustifolia</i> Hepper
Seidou Boukari, F 17	<i>Terminalia avicennioides</i> Guill. & Perr.
Seidou Boukari, F 18	<i>Indigofera dendroides</i> Jacq.
Seidou Boukari, F 19	<i>Haumaniastrum caeruleum</i> (Oliv.) P.A. Duvign. & Plancke
Seidou Boukari, F 20	<i>Crotalaria macrocalyx</i> Benth.
Seidou Boukari, F 21	<i>Costus spectabilis</i> K. Schum.
Seidou Boukari, F 22	<i>Gardenia aqualla</i> Stapf & Hutch.
Seidou Boukari, F 23	<i>Pericopsis laxiflora</i> (Benth.) van Meeuwen
Seidou Boukari, F 24	<i>Curculigo pilosa</i> (Schumach. & Thonn.) Engl.
Seidou Boukari, F 25	<i>Brachiaria perrieri</i> A. Camus
Seidou Boukari, F 26	<i>Grewia bicolor</i> Juss.
Seidou Boukari, F 27	<i>Vernonia purpurea</i> Sch. Bip. Ex Walp.
Seidou Boukari, F 28	<i>Sapium grahamii</i> (Stapf) Prain
Seidou Boukari, F 29	<i>Pennisetum polystachion</i> (L.) Schult.
Seidou Boukari, F 30	<i>Combretum molle</i> R. Br. ex G. Don
Seidou Boukari, F 31	<i>Flacourtia indica</i> Willd.
Seidou Boukari, F 32	<i>Cienfuegosia heteroclada</i> Sprague
Seidou Boukari, F 33	<i>Spermacoce stachydea</i> DC.
Seidou Boukari, F 34	<i>Ceratotheca sesamoides</i> Endl.
Seidou Boukari, F 35	<i>Desmodium gangeticum</i> (L.) DC.
Seidou Boukari, F 36	<i>Lepidagathisanobrya</i> Nees

Seidou Boukari, F 37	<i>Schweinckia americana</i> L.
Seidou Boukari, F 38	<i>Mnesithea granularis</i> (L.) de Koning & Sosef
Seidou Boukari, F 39	<i>Crinum distichum</i> Herb.
Seidou Boukari, F 40	<i>Microchloa indica</i> (L. f.) P. Beauv.
Seidou Boukari, F 41	<i>Hibiscus asper</i> Hook. f.
Seidou Boukari, F 42	<i>Chasmopodium caudatum</i> (Hack.) Stapf
Seidou Boukari, F 43	<i>Echinops longifolius</i> A. Rich.
Seidou Boukari, F 44	<i>Ipomoea coscinosperma</i> Hochst. ex Choisy
Seidou Boukari, F 45	<i>Siphonochilus aethiopicus</i> (Schweinf.) B.L. Burt
Seidou Boukari, F 46	<i>Vigna luteola</i> (Jacq.) Benth.
Seidou Boukari, F 47	<i>Ipomoea barteri</i> Baker
Seidou Boukari, F 48	<i>Gnidia kraussiana</i> Meisn.
Seidou Boukari, F 49	<i>Cyanotis longifolia</i> Benth.
Seidou Boukari, F 50	<i>Haumaniastrum caeruleum</i> (Oliv.) P.A. Duvign. & Plancke
Seidou Boukari, F 51	<i>Fimbristylis filamentosa</i> (Vahl) K. Schum.
Seidou Boukari, F 52	<i>Spermacoce stachydea</i> DC.
Seidou Boukari, F 53	<i>Chlorophytum pusillum</i> Schweinf. ex Baker
Seidou Boukari, F 54	<i>Cyphostemma sokodense</i> (Gilg & Brandt) Desc.
Seidou Boukari, F 55	<i>Stereospermum kunthianum</i> Cham.
Seidou Boukari, F 56	<i>Kohautia grandiflora</i> DC.
Seidou Boukari, F 57	<i>Flueggea virosa</i> (Roxb. ex Willd.) Voigt
Seidou Boukari, F 58	<i>Eriosema griseum</i> Baker
Seidou Boukari, F 59	<i>Gardenia ternifolia</i> Schumach. & Thonn.
Seidou Boukari, F 60	<i>Securidacar longipedunculata</i> Fres.
Seidou Boukari, F 61	<i>Commelina</i> cf. <i>rubulata</i>

Seidou Boukari, F 62	<i>Tinnea barteri</i> Gürke
Seidou Boukari, F 63	<i>Dioscorea lecardii</i> De Wild.
Seidou Boukari, F 64	<i>Mukia maderaspatana</i> (L.) M.Roem.
Seidou Boukari, F 65	<i>Tragia vogelii</i> Keay
Seidou Boukari, F 66	<i>Ipomoea coscinosperma</i> Hochst. ex Choisy
Seidou Boukari, F 67	<i>Ipomoea heterotricha</i> Didr.
Seidou Boukari, F 68	<i>Crinum zeylanicum</i> (L.) L.
Seidou Boukari, F 69	<i>Chamaecristamimosoides</i> (L.) Greene
Seidou Boukari, F 70	<i>Biophytum petersianum</i> Klotzsch
Seidou Boukari, F 71	<i>Urena lobata</i> L.
Seidou Boukari, F 72	<i>Crinum nubicum</i> (A. Chev.) L.S. Hannibal
Seidou Boukari, F 73	<i>Bridelia scleroneura</i> Müll. Arg.
Seidou Boukari, F 74	<i>Tacca leontopetaloides</i> (L.) Kuntze
Seidou Boukari, F 75	<i>Trichilia emetic</i> Vahl
Seidou Boukari, F 76	<i>Tephrosia bracteolate</i> Guill. & Perr.
Seidou Boukari, F 77	<i>Commiphora africana</i> (A. Rich.) Engl.
Seidou Boukari, F 78	<i>Aspilia rudis</i> Oliv. & Hiern
Seidou Boukari, F 79	<i>Sida urens</i> L.
Seidou Boukari, F 80	<i>Dombeya quinqueseta</i> var. <i>senegalensis</i> (Planch.) Keay
Seidou Boukari, F 81	<i>Brachiariafalcifera</i> (Trin.) Stapf
Seidou Boukari, F 82	<i>Combretum molle</i> R. Br. ex G. Don

IV. Littérature Citée

- ANTONÍN, V. (2007) Monograph of *Marasmius*, *Gloiocephala*, *Palaecephala* and *Setulipes* in Tropical Africa. *Fungus Flora of Tropical Africa*, 1, 200.
- ANTONÍN, V. (2013) Monograph of *Crinipellis* and *Chaetocalathus* in Tropical Africa. *Fungus Flora of Tropical Africa*, 3, 1-41.
- BEELI, M. (1935) *Amanita* et *Volvaria*. *Fl. Icon. Champ. Congo*, 1, 1-27.
- BEELI, M. (1936) *Lepiota* et *Annularia*. *Fl. Icon. Champ. Congo*, 2, 29-45.
- EYI NDONG, H., DEGREEF, J. & DE KESEL, A. (2011) Champignons comestibles des forêts denses d'Afrique centrale: Taxonomie et identification. *Département de Cryptogamie*. Meise, Jardin botanique national de Belgique.
- HEINEMANN, P. (1954) *Boletineae*. *Fl. Icon. Champ. Congo*, 3, 51-80.
- HEINEMANN, P. (1986) *Agariceae (Agaricaceae)*. *Fl. Ill. Champ. Afr. Centr.*, 12, 249-262.
- HEINEMANN, P. & RAMMELOO, J. (1989) *Tubosaeta (Xerocomaceae, Boletineae)*. *Fl. Ill. Champ. Afr. Centr.*, 14, 321-335.
- LODGE, D. J., AMMIRATI, J. F., O'DELL, T. E. & MUELLER, G. M. (2004) Collecting and describing macrofungi. IN MUELLER, G. M., BILLS, G. F. & FOSTER, M. S. (Eds.) *Biodiversity of Fungi Inventory and Monitoring Methods*. Amsterdam, Boston, Heidelberg, London, New York, Oxford, Paris, San Diego, San Francisco, Singapore, Sydney, Tokyo, Elsevier Academic Press.
- MESRS (2015) *Arrêté ministériel portant création de l'Ecole doctorale "Sciences agronomique et de l'Eau" à l'Université de Parakou*, N° 341/MESRS/CAB/DC/SGM/DGES/R-UP/SA, MESRS, Cotonou, Bénin, 3p.
- NDOLO EBIKA, S. T. (2014) Rapport de stage sur les techniques d'identification des champignons au Jardin Botanique National de Belgique (16 Septembre - 1 Octobre 2013).
- UP (2014) *Arrêté rectoral portant création de laboratoires de recherche dans les domaines "Sciences agronomiques et de l'Eau" et "Sciences économiques et de gestion" à l'Université de Parakou.*, No. 2335-2014/R-UP/VR-AARU/SG/AC/SA, RECTORAT, Parakou, 2p.