

Protocole d'inventaire mycologique en forêt tropicale

*Hubert VOIRY, Patrick BLANCHARD,
Eric DIAZ, Gérald GRUHN,
Olivier ROSE (ONF), Régis COURTECUISSÉ,
Pierre-Arthur MOREAU (Université de Lille)*

*Secrétaire de rédaction :
Véronique VINOT
Sous la direction du Pr COURTECUISSÉ*

N° 29 - 2016



OFFICE NATIONAL DES FORÊTS
UNIVERSITÉ DE LILLE

Les opinions exprimées dans ce document n'engagent que son auteur et ne constituent en aucune façon une prise de position officielle de l'Office national des forêts.

OFFICE NATIONAL DES FORÊTS

Pour citer ce document, tout ou partie :

Blanchard, P., Diaz, E., Gruhn, G., Rose, O., Voiry, H., Courtecuisse, R., Moreau, P-A., 2016. Protocole d'inventaire mycologique en forêt tropicale, - Les Dossiers Forestiers n°29, Office national des forêts, 114 p. N° ISBN : 978-2-84207-500-8

Ce document fait l'objet d'une traduction en anglais :

Blanchard, P., Diaz, E., Gruhn, G., Rose, O., Voiry, H., Courtecuisse, R., Moreau, P-A., 2016. Mycology inventory protocol for tropical forests. - Les Dossiers Forestiers n°29, Office national des forêts, 114 p.

Direction de la collection : Albert Maillet, directeur forêts et risques naturels.

Coordination de la rédaction : Patrice Hirbec

Collection créée par : Geneviève Rey

Mise en page : Véronique Vinot

Maquette de couverture : Cavin & Boitier

Imprimé en France (Imprimerie ONF de Fontainebleau)

Toute reproduction ou représentation intégrale ou partielle, par quelque procédé que ce soit, des pages publiées dans le présent ouvrage, faite sans autorisation de l'éditeur, est illicite et constitue une contrefaçon. Seules sont autorisées, d'une part, les reproductions strictement réservées à l'usage privé du copiste et non destinées à une utilisation collective et, d'autre part, les analyses et courtes citations justifiées par le caractère scientifique ou d'information de l'œuvre dans laquelle elles sont incorporées (loi du 1^{er} juillet 1992 - art. 40 et 41 et Code pénal - art. 425).

PROCOLE D'INVENTAIRE MYCOLOGIQUE EN FORÊT TROPICALE

*Hubert VOIRY, Patrick BLANCHARD, Eric DIAZ, Gérald GRUHN, Olivier ROSE (ONF)
Régis COURTECUISSSE, Pierre-Arthur MOREAU (Université de Lille)*

*Secrétaire de rédaction :
Véronique VINOT*

Sous la direction du Pr COURTECUISSSE

LES DOSSIERS FORESTIERS n°29

2016

Edité par l'**Office national des forêts**
2 avenue de Saint-Mandé – F – 75570 Paris cedex 12
www.onf.fr

Document réalisé grâce à la contribution financière de :



Les opinions exprimées dans ce document n'engagent que leurs auteurs et ne constituent en aucune façon une prise de position officielle de l'Office national des forêts.

Pour citer ce document, tout ou partie :

Blanchard, P., Diaz, E., Gruhn, G., Rose, O., Voiry, H., Courtecuisse, R., Moreau, P-A., 2016. *Protocole d'inventaire mycologique en forêt tropicale*, - Les Dossiers Forestiers n°29, Office national des forêts, 114 p.

Ce document fait l'objet d'une traduction en anglais :

Blanchard, P., Diaz, E., Gruhn, G., Rose, O., Voiry, H., Courtecuisse, R., Moreau, P-A., 2016. *Mycology inventory protocol for tropical forests*. - Les Dossiers Forestiers n°29, Office national des forêts, 114 p.

Collection créée par : Genevière Rey.

Direction de la collection : Albert Maillet, directeur Forêts et risques naturels.

Coordination de la rédaction : Patrice Hirbec.

Traduction : Steven Speed, ONF-International.

Mise en page : Véronique Vinot.

Maquette de couverture : Cavin & Boitier.

Imprimé en France (Imprimerie ONF de Fontainebleau).

LE MOT DE LA REDACTION

L'Office national des forêts a été créé pour garantir la gestion durable des forêts publiques qui lui sont confiées.

La préservation de la biodiversité constitue un des éléments de cette gestion durable, particulièrement dans les départements d'Outre-mer, dont la grande variété en la matière est bien connue. Pour protéger, il faut connaître, ce qui a engagé l'ONF dans une démarche de connaissance, de recensement, d'inventaire des richesses des forêts, y compris dans les DOM.

Mais pourquoi donc les champignons, auxquels le grand public s'intéresse peu, sauf s'ils présentent un intérêt culinaire ? A cette question, deux réponses peuvent être apportées :

- d'une part lorsque l'ONF gère une forêt, il s'attache à prendre en compte l'ensemble de l'écosystème, sans privilégier ni oublier telle ou telle catégorie d'êtres vivants, y compris les champignons,
- d'autre part, il existe un lien particulier entre forêts et champignons :
 - on estime que les écosystèmes forestiers accueillent 80 % des espèces fongiques, (la forêt offre sans doute aux champignons un milieu spécifique, avec un taux d'humidité important et des variations de température moins brutales qu'ailleurs).
 - les champignons sont déterminants pour assurer le bon fonctionnement des écosystèmes forestiers, leur pérennité et leur résilience : ils recyclent le bois mort, les feuilles et ainsi reconstituent la couche d'humus, ils aèrent les sols...
 - les mycorhizes s'avèrent en outre vitales pour de nombreuses espèces d'arbres. Grâce aux champignons, le forestier est ainsi dispensé d'introduire de coûteux intrants en forêt. Sans champignons pas d'arbre, et donc pas de forêt...
 - nombre d'espèces de champignons vivent dans des conditions de milieu présentant certaines particularités spécifiques et deviennent de véritables indicateurs. Ils représentent parfois les seuls vestiges visibles d'utilisations passées (pâturage, culture...), et nous renseignent alors sur l'histoire des peuplements, l'ancienneté de la forêt ou son degré de naturalité.
 - enfin, très sensibles à l'altération des milieux, les champignons constituent des espèces bio-indicatrices. Leur présence, leur état de conservation et leur dynamique aident les gestionnaires à apprécier la qualité des milieux gérés.

Depuis plus de dix ans, sous l'autorité et à l'initiative de Régis Courtecuisse, professeur au Laboratoire de pharmacie de l'Université de Lille, ancien président de la Société mycologique de France, et avec l'appui de l'ONF, des missions d'inventaire mycologique sont menées en forêts tropicales (Martinique, Guadeloupe, Guyane). Chaque mission rassemble une équipe de spécialistes universitaires et de chercheurs de renommée internationale, avec si possible la participation de membres du réseau ONF mycologie. D'autres inventaires ont également concerné La Réunion, réalisés conjointement par l'ONF et le Parc national de la Réunion.

Compte tenu des enjeux, il importe que les inventaires soient menés avec rigueur, dans le respect d'un certain nombre de consignes : géo-référencement précis des collectes et des observations, relevé des éléments du milieu naturel, enregistrement et sauvegarde de toutes les données recueillies, afin que les chercheurs disposent du maximum d'éléments pour leurs analyses, et puissent confirmer leurs hypothèses...

L'expérience acquise par ces années de prospections en forêt tropicale a permis de définir un protocole d'inventaire fongique adapté à ces écosystèmes, proposé par la présente publication, de surcroît traduite en anglais. Nul doute qu'elle intéressera un public nombreux, de chercheurs, forestiers et naturalistes.

Olivier Soulères

Chef de l'inspection générale ONF,
ancien coordonnateur Corse-DOM

RÉSUMÉ / SUMMARY

Depuis plus d'une dizaine d'années, le Professeur Courtecuisse et son équipe réalise des missions de prospections mycologiques en forêt tropicale des Petites Antilles (Martinique et Guadeloupe). Des membres du réseau mycologie de l'Office national des forêts y ont été associés. Une mission s'est également déroulée sur l'île de La Réunion. Toutes les conditions ont ainsi pu être réunies pour formaliser les pratiques et tirer parti de l'expérience acquise, dans un objectif général de transposer cette méthodologie à d'autres régions tropicales.

Le présent document rappelle dans une première partie, les particularités du règne fongique, définit les macromycètes et enfin situe le contexte mycologique tropical. En seconde partie, il présente un protocole largement inspiré de l'expérience acquise notamment aux Petites Antilles en la confrontant aux références bibliographiques connues.

SUMMARY / RÉSUMÉ

Over the last decade or more, Professor Courtecuisse and his team carried out mycological surveys in the Lesser Antilles (Martinique and Guadeloupe). Members of ONF's mycology network were associated to these surveys.

The necessary conditions required to formalize practices and learn from acquired experience are therefore presently reunited with the general objective being to transfer this methodology to other tropical regions. A mission also took place in the Reunion's island.

The first part of this document deals with the particularities of the fungi kingdom, the definition of macromycetes and lastly outlines the tropical mycology context. In the second part, a protocol largely inspired by acquired experience (notably in the Lesser Antilles) crossed with known bibliographical references is presented.

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	9
CHAPITRE 1 : LE REGNE FONGIQUE	11
I. Importance des champignons.....	13
II. Macromycètes	14
III. Catégories trophiques.....	15
IV. Méthodes de détection	15
V. Facteurs influençant la richesse fongique	16
VI. Les champignons en zone tropicale.....	17
CHAPITRE 2 : STRATEGIE D’ECHANTILLONNAGE	19
I. Rappel	21
II. Travail préalable	21
II.1. Habitats et arbres-soutiens	21
II.2. Données bibliographiques.....	22
III. Unités d’échantillonnage	22
IV. Modes de prospection.....	22
IV.1. Echantillonnage opportuniste.....	23
IV.2. Echantillonnage par transects et placeaux	23
IV.3. Echantillonnage par billons	23
V. Méthode retenue	23
V.1. Echantillonnage opportuniste	24
V.2. Champ taxonomique.....	24
VI. Utilisation des dispositifs existants.....	25
VI.1. Parcelles permanentes.....	25
VI.2. Autres dispositifs.....	26
VII. Période et périodicité	26
CHAPITRE 3 : RECOLTE, DESCRIPTION, CONSERVATION ET CULTURE	29
I. Récolte	31
II. Description (cf. annexe).....	32
III. Autres examens ou préparations.....	32
IV. Conservation.....	33
V. Mise en culture	33
VI. Identification	34
CHAPITRE 4 : ORGANISATION	35
I. Moyens humains.....	37
II. Besoins matériels.....	37
III. Résultats de l’inventaire	38
CHAPITRE 5 : BIBLIOGRAPHIE GENERALE	39
CHAPITRE 6 : BIBLIOGRAPHIE – TAXONOMIE POUR LA REUNION	43
ANNEXE : FICHES DE DESCRIPTION	47

INTRODUCTION

Ce présent projet de protocole mycologique en forêt tropicale est apparu nécessaire à la suite des prospections réalisées dans les Petites Antilles (Martinique et Guadeloupe) depuis plus d'une dizaine d'années par le Professeur Courtecuisse et son équipe. L'expérience accumulée par ces mycologues réputés dans des régions très peu explorées d'un point de vue fongique est très précieuse. Trois membres du réseau mycologie de l'Office national des forêts ont pu accompagner ces missions au cours des cinq dernières années, un membre a pu participer à deux missions en Guyane et un autre a travaillé sur les déterminations. Ce regard forestier est à même d'enrichir la démarche de ces inventaires mycologiques. Récemment, avec l'accord de la direction régionale ONF de La Réunion et du fait de l'arrivée d'un membre du réseau mycologique sur cette île, une mission associant l'animateur du réseau a pu avoir lieu. Elle s'est déroulée en partie sur un site comportant un dispositif de suivi de la forêt tropicale. Cela a permis aux équipes d'être confrontées à une nouvelle région tropicale et donc d'appréhender les questions relatives à un protocole de récolte. Les conditions sont donc à présent réunies pour formaliser les pratiques et tirer parti de l'expérience acquise, notamment par l'équipe du professeur Courtecuisse, dans un objectif général de transposer cette méthodologie à d'autres régions tropicales.

Nous avons prévu dans une première partie des rappels sur les particularités du règne fongique, de définir les macromycètes et enfin de situer le contexte mycologique tropical. En seconde partie, nous avons prévu de présenter un protocole largement inspiré de l'expérience acquise notamment aux Petites Antilles en la confrontant aux références bibliographiques connues.

CHAPITRE 1

LE RÈGNE FONGIQUE

I – IMPORTANCE DES CHAMPIGNONS

Les champignons constituent un règne à part très diversifié. Il y aurait au moins 1,5 million d'espèces (Hawksworth, 2002) et seulement 100 000 espèces ont été décrites jusqu'ici dans le monde. Ce nombre est approximatif. Quelques-uns sont unicellulaires (les levures, en particulier) mais la majorité forme des mycéliums, appareils végétatifs filamenteux, qui peuvent couvrir quelques millimètres carrés à plusieurs centaines d'hectares. La plupart des champignons sont cachés dans les substrats qu'ils occupent et restent invisibles à l'œil nu durant la plus grande partie de l'année. La majorité des espèces forme des « fructifications » (sporophores) périodiquement – c'est le cas des « macromycètes » - ou causent des symptômes visibles sur les plantes hôtes – c'est le cas de beaucoup de « micromycètes ». Seuls les sporophores en console de certains polypores *sensu lato*, dits pérennes, sont visibles pendant tout leur cycle de vie et peuvent donc subsister plusieurs années.

La dispersion des champignons est assurée par les spores microscopiques transportées par le vent ou d'autres vecteurs (animaux, eau,...). A l'échelle cellulaire, beaucoup de spores sont éjectées activement de la cellule qui les a produites à une distance très courte. A l'échelle de l'organisme, quelques espèces fongiques ont développé des mécanismes d'éjection active proportionnellement à grande distance, d'un amas de spores. La diffusion abondante de spores conduit à penser que les champignons ont des capacités de dispersion supérieures aux autres organismes pluricellulaires et cela a amené l'idée classique selon laquelle les



Chlorociboria, ©Eric Diaz, ONF.

champignons seraient ubiquistes. Mais les études récentes atténuent ou contredisent cette vision (Heilmann-Clausen, 2014). D'ailleurs les inventaires effectués en forêt tropicale montrent qu'une proportion extrêmement faible des espèces est commune avec la zone tempérée.

La vision du public, et même d'une partie de la communauté scientifique, est que les champignons sont très nuisibles du fait du caractère pathogène de certains d'entre eux. Il faut avoir à l'esprit qu'il ne s'agit que de quelques espèces qui sont effectivement très médiatisées. Citons la mэрule dont les dégâts sur les bois ouvrés sont connus et recensés depuis plusieurs siècles. Ou la chytridiomycose, maladie des amphibiens récemment découverte et arrivée au stade de pandémie mondiale, les maladies de l'orme et plus récemment celle du frêne qui déciment certains peuplements forestiers. Signalons que l'expansion de ces champignons pathogènes est renforcée par l'action de l'homme. En effet l'émergence d'une maladie fongique chez les plantes résulte d'une adéquation entre pathogène, hôte et environnement. L'introduction d'un pathogène exotique favorisée par les échanges internationaux et le changement climatique est la principale cause de l'expansion des maladies. Concernant la maladie du frêne, les recherches récentes ont montré qu'il s'agissait de l'introduction de *Chalara fraxinea* champignon venant du Sud-Est asiatique.

En situation naturelle équilibrée, les pathogènes jouent le rôle bénéfique de régulation des populations en éliminant les individus affaiblis ou blessés.

Hormis ces parasites, la majorité des champignons assurent un rôle crucial dans l'écosystème terrestre comme décomposeurs de la matière organique (fonction de recyclage) et comme partenaires symbiotiques avec presque tous les végétaux terrestres multicellulaires (mycorhizes). Les champignons saprotrophes sont spécialement prééminents dans les forêts. L'essentiel de la matière organique provient du bois composé de lignine et de cellulose que seuls les champignons peuvent décomposer efficacement.

Les champignons sont aussi impliqués dans diverses associations mutualistes complexes (avec les orchidées par exemple). Les lichens sont des champignons associés à une algue verte ou une cyanobactérie. La plupart des plantes (environ 90%) sont reliées à un réseau mycélien intimement

connecté à leurs racines pour le prélèvement d'eau et de sels minéraux. En échange, les champignons mycorhiziens reçoivent des sucres de leur partenaire. Les champignons sont aussi impliqués dans la désagrégation des roches et le stockage du carbone. Plus discrètement, les tissus de toutes les plantes vasculaires hébergent différentes communautés de champignons endophytes qui peuvent être soit mutualistes soit pathogènes. Les champignons constituent une source importante de nourriture pour de nombreux organismes dont les mammifères et les insectes. Certains sont impliqués dans la formation de micro-habitats comme les cavités dans les arbres qui sont importantes pour les oiseaux et les insectes. Les champignons peuvent constituer aussi une ressource pour l'homme. Plus de 1 100 espèces par le monde sont récoltées et utilisées comme nourriture ou comme médecine traditionnelle (Heilmann-Clausen, 2014).

II – MACROMYCÈTES

Parmi les champignons, on peut distinguer deux grands groupes morphologiques en se basant sur les caractères des sporophores : les micromycètes et les macromycètes. Ces derniers sont appelés ainsi car ils ont une « fructification » observable à l'œil nu alors que les micromycètes ou leurs symptômes sont observables uniquement à la loupe, voire au microscope. Cette distinction vient aussi du fait que les modes de prospection sont différents et les mycologues qui étudient un groupe n'étudient généralement pas l'autre. En effet pour observer les micromycètes, il faut examiner à la loupe la litière, les branches au sol ainsi que les feuilles et les tiges des branches vivantes.



Tramète rougissante, *Daedaleopsis confragosa* sur merisier.
©Patrice Hirbec, ONF.

Cette délimitation est artificielle d'un point de vue systématique car les micromycètes peuvent appartenir aux deux grandes divisions majeures de vrais champignons que sont les basidiomycètes (Basidiomycota) et les ascomycètes (Ascomycota), comme par exemple respectivement les rouilles ou les *Penicillium* mais aussi aux oomycètes comme le mildiou (exclus actuellement du règne fongique : il s'agit de Chromista, règne qui renferme également les « algues brunes »).

Nous excluons de notre protocole les micromycètes ainsi que les groupes relevant des divisions suivantes :

- les Chytridiomycota division essentiellement aquatique ;
- les Zygomycota principalement microscopiques ;
- les Glomeromycota responsables des endomycorhizes et détectables par leurs spores ;
- les myxomycètes enfin qui ont une forme macroscopique mais sont dépourvus de mycélium et ne font d'ailleurs plus partie du règne fongique. Ils sont historiquement étudiés par des spécialistes même si certaines espèces caractéristiques sont souvent connues et relevées par les mycologues ;
- les lichens qui constituent une autre spécialité à part entière étudiée par les lichénologues ;
- enfin les champignons complètement hypogés non détectables sans creuser le sol.

Nous nous intéressons donc aux macromycètes que l'on peut répartir comme suit :

- les champignons charnus à lames ou à tubes (bolets),
- les polypores (en particulier les espèces « à chapeau »)
- et les autres basidiomycètes et ascomycètes à sporophores macroscopiques. C'est ce groupe qui est prospecté par les mycologues généralistes et qui donc est ciblé prioritairement dans cette réflexion sur le protocole.

Au sens large, les macromycètes peuvent englober d'autres espèces macroscopiques mais qui nécessitent l'utilisation obligatoire du microscope pour leur détermination. Cette utilisation est malgré tout très souvent nécessaire également pour les autres groupes, si l'on veut une détermination fine et fiable. Nous prenons en compte donc chez les basidiomycètes, les espèces à sporophores en forme de croûte porée (« polypores résupinés ») ou non porée (corticés) et celles qui nécessitent obligatoirement des mises en culture pour réalisation du cycle de vie au laboratoire, préalable indispensable à toute identification : chez les ascomycètes, les Xylariales et les Hypocréales, entre autres ordres importants.

III – CATÉGORIES TROPHIQUES

Les champignons peuvent se répartir en trois grands groupes fonctionnels ou groupes trophiques : pathogènes, saprotrophes et mutualistes. Les champignons endophytes sont soit pathogènes soit mutualistes. Concernant les macromycètes, on utilise le terme de parasite plutôt que celui de pathogène et la forme de mutualisme la plus commune est l'ectomycorhize. On peut donc retenir, en pratique et pour ce qui nous concerne, les trois groupes suivants : parasite, saprotrophe et ectomycorhizien. Toutefois, les frontières entre ces groupes fonctionnels ne sont pas hermétiques et on admet de plus en plus que les macromycètes ectomycorhiziens peuvent avoir des capacités saprotrophiques. De même, certains polypores parasites sur un arbre vivant peuvent continuer à se développer sur le bois mort et donc devenir saprotrophes. L'appartenance à l'une ou l'autre de ces catégories n'est pas forcément facile à affirmer sur le terrain.

En forêt, une autre catégorisation plus pratique est faite en fonction du type de substrat sur lequel pousse le sporophore. On peut distinguer ainsi quatre grandes catégories : sol, bois mort, plante vivante et substrat animal. D'autres types de substrats pourraient aussi être listés : zones brûlées, mousses et autres champignons. Les espèces qui poussent au sol peuvent développer leur basidiome ou ascome sur l'humus, la litière ou les fruits, ou éventuellement sur la pierre, dans un cas extrême. Le substrat animal comporte les excréments et les insectes (champignons entomophiles). Les plantes vivantes comme substrat peuvent concerner des corticiés ou certains ascomycètes. Les espèces de la canopée, du fait de l'accès difficile, ne sont généralement pas étudiées sauf sur chablis récent ou sur des rameaux ou des brindilles collectés immédiatement après un orage. Les champignons sur substrat animal sont rarement pris en compte, sauf les *Cordyceps* qui se développent sur insectes (et dont les sporophores sont souvent bien visibles). Le paramètre de visibilité entre macromycètes et micromycètes intervient dans cette prise en compte sur une base artificielle et purement pratique.

Pour les macromycètes, en simplifiant, on distinguera deux grands substrats : le sol sur lequel apparaissent les espèces dites terricoles et le bois mort et l'arbre vivant sur lesquels se développent les espèces dites lignicoles. Les observations ont lieu depuis le niveau du sol.

IV – MÉTHODES DE DÉTECTION

Les macromycètes sont présents sous forme végétative (mycélium) indétectable le plus souvent sauf s'ils se présentent sous forme de sclérotés (agglomération de mycélium), d'ectomycorhizes (racines courtes gainées de mycélium), de cordons mycéliens structurés (rhizomorphes), ou de cordons simples. Ils deviennent détectables par la production de leurs basidiomes ou ascomes (sporophores). Le mot fructification est impropre, mais nous l'utiliserons cependant par souci de simplification. Parfois le mycélium est cependant repérable quand il colore le bois. Les fructifications appelées aussi sporophores ou carpophores sont les édifices macroscopiques qui portent les cellules produisant les spores du champignon. Ce sont les « champignons » dans le langage courant.

Certains macromycètes développent également des organes de reproduction asexuée appelés conidiophores ou conidiome, et qui sont parfaitement visibles à l'œil nu.

La **détection par les fructifications** est bien entendu la première méthode d'identification du champignon. Même au microscope, le mycélium ne peut pas être identifié. Les rhizomorphes en l'absence de fructifications sont impossibles à déterminer sauf exception comme les rhizomorphes d'armillaire reconnaissables au niveau du genre. De même, certains sclérotés très particuliers peuvent être identifiés. Quant aux ectomycorhizes, des identifications peuvent être réalisées par observation minutieuse à la loupe et au microscope mais c'est l'affaire de rares spécialistes.

Les **techniques de biologie moléculaire** se sont développées depuis les années 1990 pour l'identification des champignons impliqués dans les mycorhizes. Elles apportent des informations complémentaires aux études portant uniquement sur les fructifications de champignons mycorrhiziens mais nécessitent un effort d'échantillonnage conséquent (Henry *et al.*, 2015).

Une troisième technique peut être mise en œuvre pour détecter les champignons : la **culture du mycélium**.

Concernant les champignons lignicoles, les trois méthodes ont été comparées dans une étude sur le bois mort d'épicéa (Allmer *et al.*, 2006). Il s'avère qu'aucune n'est idéale. La technique par culture de mycélium comporte un biais car d'une part elle favorise les espèces qui poussent sur les milieux nutritifs et, d'autre part, il est impossible de mettre en culture tout le substrat. L'analyse moléculaire peut rendre compte des espèces abondantes dans le bois mais négliger les espèces rares. L'observation des fructifications révèle assez bien la composition mais pas l'abondance dans la pièce de bois. Elle dépend aussi des conditions météorologiques et climatiques, dont les paramètres déclenchent l'apparition des sporophores. Dans une étude du même type, Rajala *et al.* (2012) confirment que l'analyse moléculaire, en ne traitant qu'une partie du substrat, ne peut détecter l'ensemble des espèces présentes dans un volume de substrat donné. Il signale qu'un tiers des espèces relevées par les fructifications dans des billons d'épicéa n'a pas été retrouvé par le séquençage.

A cela s'ajoute le fait que toutes les espèces décrites ne sont pas séquencées et donc qu'elles ne sont pas répertoriées dans les bases de données. Cette problématique est compliquée par le fait que les bases de données disponibles au niveau mondial ne sont actuellement pas complètement fiables. A titre d'exemple, concernant les champignons pathogènes, on estime (Desprez-Loustau *et al.*, 2015) qu'il y a environ 25% d'erreurs dans la base de données NCBI (National Center for Biotechnology Information). La situation de ce point de vue est censée s'améliorer avec le temps.

Concernant les macromycètes en général, à partir d'un site d'expérimentation inventorié pendant sept ans dans le Morvan, Buée *et al.* (2011) considèrent que les carpophores constituent une assez bonne approximation de la diversité fongique. Les **relevés par fructification** constituent donc encore à l'époque actuelle une assez bonne méthode pour évaluer la présence de champignons par rapport aux techniques d'analyse moléculaire et de culture des mycéliums à partir du substrat. C'est, en routine, l'approche la plus efficace et la plus facile en termes de moyens à mettre en œuvre.

V – FACTEURS INFLUENÇANT LA RICHESSE FONGIQUE

De nombreux facteurs influencent la diversité des macromycètes sur un site forestier. Ces facteurs comprennent le type d'habitat forestier, la diversité végétale spécialement celle des plantes-hôtes, le substrat géologique, l'altitude, le type de sol et le climat. La modification du sylvofaciès influence le cortège fongique, en particulier lors de la plantation d'essences non autochtones. D'autres facteurs liés à l'activité humaine comme l'exploitation forestière et la pollution atmosphérique jouent aussi un rôle.

La présence d'essences ectotrophes c'est-à-dire susceptibles de former des ectomycorhizes avec des champignons ectomycorhiziens est un facteur de richesse fongique. Sous climat tempéré, boréal et méditerranéen, les forêts sont composées essentiellement d'arbres ectotrophes : chênes, hêtre, bouleau, pins, sapin, épicéa etc. Les cortèges fongiques associés sont bien connus car ils comportent des espèces familières dont certaines sont comestibles parmi les genres suivants : amanites, bolets, chanterelles, cortinaires, lactaires, russules, truffes, etc. (Garbaye, 2013). Les autres arbres sont dits endotrophes donc équipés des mêmes mycorhizes que la majorité des plantes herbacées et donc

associés à des gloméromycètes. Il existe des essences qui ont à la fois des ectomycorhizes et des endomycorhizes comme les peupliers ou les eucalyptus. Enfin, pour mémoire, en plus d'être associés à des champignons, certains arbres peuvent porter des nodosités et donc être associés aussi à des bactéries comme par exemple les aulnes ou certains filaos (*Casuarina*). Ces deux symbioses leur confèrent des capacités supplémentaires d'adaptation à des milieux hostiles.

Le caractère fugace des fructifications de champignons et leur apparition capricieuse font que plus on prospecte un site donné, plus on trouve d'espèces différentes. Toutefois des études montrent qu'à pression d'échantillonnage constant, le type de forêt et la diversité des arbres expliquent principalement la diversité des champignons (Mueller *et al.*, 2004).

Dans le cas d'espèces lignicoles, la connaissance de l'essence hôte est importante, surtout en zone tempérée. Des données complémentaires qui constituent le micro-habitat jouent aussi un grand rôle : type de décomposition, taille de la pièce de bois, degré de décomposition, contact au sol, situation en lisière ou en clairière (Huhndorf *et al.*, 2004).

VI – LES CHAMPIGNONS EN ZONE TROPICALE

En zone tropicale, les champignons sont généralement moins étudiés qu'en forêt tempérée ou boréale du fait du moins grand nombre de spécialistes. A cela s'ajoute les difficultés de récolte et de conservation. Dans certaines régions, il n'y a pas de tradition de cueillette et donc le grand public n'a pas de motivation particulière à s'intéresser aux champignons. Les saisons sont moins contrastées que sous les climats océaniques ou continentaux. La période a priori la plus favorable pour les observer correspond à la saison des pluies mais la phénologie d'apparition des espèces est encore mal connue. Même en saison humide les températures restent élevées et les champignons de petite taille sont rapidement sujets à la dessiccation ou au pourrissement. Par exemple, l'étude du genre *Coprinus* est impossible sans prendre des précautions particulières. En effet, les exemplaires deviennent rapidement déliquescents. Pour éviter leur dégradation rapide, il faut prévoir un stockage rapide dans une glacière.

Une autre caractéristique des forêts tropicales réside en la diversité extraordinaire des essences d'arbres et d'arbustes par rapport aux forêts tempérées ou boréales. La présence d'essences ectotrophes c'est-à-dire équipées d'ectomycorhizes est un élément à prendre en compte (Bâ, 2011). Mais si le caractère ectotrophe est un phénomène généralement connu pour les essences introduites, il l'est moins pour les essences indigènes. C'est là que le caractère ectomycorhizien du champignon peut révéler ou confirmer le caractère ectotrophe de l'essence. Rappelons que le caractère ectotrophe d'une essence peut faciliter la monodominance de cet arbre comme par exemple les forêts de Dicymbe dans le Guyana (Henkel *et al.*, 2011).



Marasmiellus, Guadeloupe. ©Hubert Voiry, ONF.

Les orchidées sont particulièrement abondantes en milieu tropical et elles peuvent être épiphytes comme d'autres plantes. Leurs mycorhizes concernent un groupe de champignons appelé autrefois *Rhizoctonia* depuis réparti dans plusieurs genres de corticiés : *Tulasnella*, *Ceratobasidium*, *Sebacina*,... Dans ce contexte, une cible de prospection pour les spécialistes des corticiés pourrait être les arbres qui portent les orchidées épiphytes (Martos, 2012). Plus rares, les orchidées non chlorophylliennes sont nécessairement associées à des macromycètes, soit ectomycorhiziens comme en forêt tempérée, soit saprotrophes. Dans le cas où ces orchidées sont en période de floraison et identifiables, cela peut constituer un terrain particulier d'observation (Martos *et al.*, 2009).

Donc, les connaissances générales des champignons en zone tropicale sont faibles et variables selon les régions. En reprenant l'exemple des départements français d'outre-mer, on peut signaler que les

Petites Antilles font l'objet de prospections depuis une dizaine d'années (Courtecuisse *et al.*, 2013). Un socle de connaissance a ainsi été établi. Par contre, la fonge de l'île de La Réunion est encore à ce jour mal connue sauf pour les aphyllophorales qui ont été activement prospectées dans les années 1980-1990 (Boidin *et al.* de 1986 à 2001 – Léger & al, 1987). Une thèse de fin d'études pharmaceutiques (Manidren, 2010) apporte également une contribution à la connaissance des champignons réunionnais.

Le nombre d'espèces de champignons escompté peut être estimé à partir du nombre de plantes vasculaires que l'on multiplie par un rapport donné. Pour les Petites Antilles qui comptent environ 3 000 espèces de phanérogames indigènes, Courtecuisse (2006) retient un chiffre allant de 7 à 10 soit une hypothèse de 20 à 30 000 champignons. Rappelons qu'en France métropolitaine, ce rapport est au minimum de 3. En effet, le nombre de taxons de plantes vasculaires est de plus de 6 000 dont 5 000 espèces naturelles spontanées d'après la flore de France (Tison *et al.*, 2014) et le nombre de champignons (tous les basidiomycètes et tous les ascomycètes) de l'inventaire mycologique national est de 18 750.

CHAPITRE 2

STRATÉGIE D'ÉCHANTILLONNAGE

I – RAPPEL

Nous nous plaçons dans le contexte de réaliser un inventaire mycologique en forêt tropicale, dans une région éloignée de la métropole, pendant une durée limitée de l'ordre d'une quinzaine de jours. Compte tenu du climat, les récoltes ont lieu pendant les matinées éventuellement élargies au début d'après-midi selon les circonstances, la distance entre le lieu d'accès au site et le site lui-même etc... Les après-midi sont réservés à leur étude, description principalement et à leur conditionnement. Donc le nombre de matinées de prospection peut être rapidement déterminé en fonction de la durée du séjour.

Les questions principales concernant les missions d'inventaire peuvent être résumées ainsi : pourquoi, où, quand et comment ? La réponse à la première interrogation renvoie à l'objectif général et les réponses aux trois autres doivent être apportées par le protocole décrit dans le présent document.

Dans un premier temps, l'objectif d'un inventaire mycologique dans les sites naturels (forêts et autres) d'une région est d'obtenir une liste de champignons la plus complète possible. Étant donné le lien étroit avec les habitats forestiers et les arbres-supports, l'objectif des récoltes est aussi d'étudier leur répartition en fonction des habitats et des arbres-supports. Cette précision est importante, car si l'on s'en tenait uniquement à l'objectif de découvrir le maximum d'espèces, on écarterait a priori certaines zones de prospection pour ne retenir que les plus prometteuses. Donc la première démarche est de définir les zones de récolte qui constitueront le meilleur échantillonnage possible de la région à prospecter. Ensuite il faut définir la période d'intervention, la périodicité, les modalités pratiques et les moyens humains et matériels nécessaires. Le champ taxonomique étudié a déjà été précisé auparavant : il s'agit des macromycètes.

II – TRAVAIL PRÉALABLE

Avant d'engager le travail d'inventaire, il est nécessaire de collecter le plus d'informations possibles concernant la région à prospecter, en particulier les renseignements sur les types de biotopes (forêt, etc.), les essences d'arbres, mais également les prospections mycologiques qui ont déjà eu lieu, et qui sont recensées dans la littérature scientifique.

II-1- Habitats et arbres-supports

Les données cartographiques et quantitatives sur les différents habitats forestiers sont bien utiles. On cherchera à se procurer une carte des habitats de la région étudiée. Ceci est généralement possible dans le cadre des collaborations avec les gestionnaires des milieux naturels. En Martinique, la thèse de Jean-Paul Fiard décrit avec précision les différents types habitats forestiers. Pour La Réunion, on retrouve ces données dans un document synthétique sur l'état des ressources génétiques forestières de l'île (Triolo, 2014). En Guyane, un catalogue des habitats forestiers vient d'être publié, résultat de dix ans d'études (Guitet *et al.*, 2015) et qui a associé différents instituts de recherche en écologie.

On se familiarisera avec la flore et en particulier avec les arbres en consultant les documents et guides et en contactant les Conservatoires botaniques. Par exemple pour les Petites Antilles, un livre récent décrit tous les arbres en fournissant des critères d'identification bien utiles sur le terrain (Rollet *et coll.*, 2010). Pour La Réunion, plusieurs sites internet sont consultables dont celui du Cirad. Les directions ONF des départements d'outre-mer éditent aussi des guides pratiques sur les arbres. Une fois sur place, le parcours des sentiers botaniques ou la visite de jardin botanique permettent de se familiariser avec la flore locale. En se rapprochant des organismes scientifiques, on cherchera à connaître les dispositifs scientifiques



Gérald Gruhn en mission en Martinique.
©ONF

existant en forêt en particulier les parcelles permanentes. L'appui de botanistes ou de forestiers locaux sur place est également un atout précieux.

II-2- Données bibliographiques

La recherche bibliographique consiste à rassembler les connaissances mycologiques sur la région de prospection. L'idéal est de disposer d'une liste de départ en faisant le bilan des données existantes. C'est un travail fastidieux qui consiste à rechercher dans la bibliographie les références de récolte de la région concernée parmi des documents souvent hétérogènes. Des synthèses existent parfois, éventuellement limitées à certains groupes taxinomiques. Pour les publications anciennes, du fait des changements nomenclaturaux, il peut être difficile d'établir la correspondance entre le nom ancien et le nom actuel d'un champignon. Le référentiel national, en cours d'élaboration pour l'outre-mer – collaboration entre R. Courtecuisse et l'INPN – facilitera cette tâche.

Ce travail préalable d'analyse bibliographique a été publié pour les champignons des Petites Antilles de façon exhaustive : Courtecuisse (2006) et Courtecuisse *et al.* (2010). Cela permet en outre de classer les récoltes futures, soit en espèces déjà répertoriées dans la région, soit en espèces nouvelles pour la région, et enfin soit en espèces nouvelles pour la science. Pour l'île de La Réunion, les aphyllophorales *sensu lato* ont été particulièrement étudiées (*op cit.*), mais il n'existe pas de liste générale bien que des éléments aient été rassemblés par R. Courtecuisse (ined.).

Dans cette phase préliminaire, un contact avec les mycologues, forestiers, botanistes ou naturalistes locaux est précieux car ils ont généralement une bonne connaissance des milieux naturels.

III – UNITÉS D'ÉCHANTILLONNAGE

L'objectif général est d'avoir une bonne représentativité des types d'habitats forestiers de la zone étudiée.

Dans une région donnée, la première démarche consiste donc à sélectionner les types de forêt. On peut retenir au minimum et schématiquement cinq grands types d'habitat sous climat tropical selon un gradient d'altitude et/ou de pluviométrie : la forêt côtière, la forêt sèche ou xérophile, la forêt mésophile, la forêt humide ou hygrophile et la forêt d'altitude. Ces grandes catégories peuvent être subdivisées par exemple si le gradient altitudinal est important comme à La Réunion ou si la nature géologique est différente. Dans chaque type, on retient au moins une zone à prospecter relativement homogène qu'on appelle unité d'échantillonnage. On ajoute par type d'habitat, des unités d'échantillonnage correspondant à des plantations d'essences exotiques. A titre d'exemple, en Martinique, il faut prendre en compte les plantations de Mahogany (*Swietenia spp.*) et à La Réunion, les plantations de *Cryptomeria* et celles d'*Eucalyptus* et rattacher ces plantations à un grand type d'habitat. Afin de définir l'ordre de grandeur souhaitable d'unités d'échantillonnage, on peut s'appuyer sur l'importance relative des surfaces des types de forêt.

Une fois défini un ordre de grandeur des unités d'échantillonnage, il faut définir les zones à prospecter en tenant compte de la réputation des sites et de leur accessibilité. Ce critère est parfois limitant en région tropicale, comme en Guyane, par exemple. Au cours d'une matinée, donc dans une zone de prospection, il est tout à fait envisageable de parcourir plusieurs unités d'échantillonnage. Après confrontation entre les zones pressenties et les unités à parcourir, une liste et une carte préalable des zones et des unités d'échantillonnage sont établies. On y précisera le territoire communal et le nom de la ou des forêts. On devra aussi tenir compte du temps dévolu à la phase terrain pendant le séjour donc du nombre de matinées de prospection pour arrêter cette liste.

IV – MODES DE PROSPECTION

Une fois choisi le site qui comporte une ou plusieurs unités d'échantillonnage, se pose la question de la modalité de prospection. Dans une synthèse bibliographique des protocoles mycologiques, Mueller *et al.* (2004) recommandent trois approches qui peuvent être combinées : une approche opportuniste, une approche par transects et placeaux et un échantillonnage d'un nombre fixé de billons pour les champignons lignicoles.

IV-1- Echantillonnage opportuniste

Cette approche est une approche naturelle chez le mycologue. Elle consiste à parcourir une zone avec attention et à récolter ou à noter tous les macromycètes rencontrés. D'après Mueller *et al.* (2004), cette approche est à considérer comme un complément indispensable aux autres méthodes basées sur des placettes car cela tient compte de la distribution aléatoire des fructifications et des espèces vues hors placettes.

IV-2- Echantillonnage par transects et placeaux

Cette approche vise à reproduire dans une unité d'échantillonnage plusieurs fois la même modalité et à obtenir des données géolocalisées. On choisit une zone homogène la plus représentative possible de l'unité d'échantillonnage dans laquelle on installe 10 transects parallèles de 100 m de long espacés de 10 m. Les transects peuvent être mis bout à bout si nécessaire. Ces lignes sont ponctuées de placeaux circulaires de 5 m² disposés tous les 5 mètres dans lesquels seront effectuées les observations. La surface totale pour 10 transects est donc de 200 fois 5 m² soit 1 000 m². Le départ des transects est matérialisé par un piquet ou une banderole. Chaque transect est numéroté ainsi que chaque placeau. La surface des placeaux circulaires est déterminée à l'aide d'une ficelle. Dans les forêts du Costa-Rica, Rossman *et al.* (1998), a prévu des transects de 245 m de long espacés tous les 50 m comportant des placeaux circulaires de 4 m² tous les 5 mètres. Cette approche permet aussi éventuellement des calculs statistiques.

IV-3- Echantillonnage par billons

L'échantillonnage par placeaux représente par site une surface assez faible (0,1 ha). Cela peut exclure les champignons que l'on rencontre sur des grosses pièces de bois du fait de la faible fréquence de ces substrats dans les placettes. Pour pallier à cela, Mueller *et al.* (2004) préconisent d'échantillonner des gros bois mort au sol de plus de 20 cm de diamètre et de plus de 2 m de long. Dans chaque site, 30 billons sont sélectionnés selon trois classes de décomposition : bois encore cortiqué, bois moyennement dégradé dans lequel le couteau ne s'enfonce pas au-delà de 2 cm et bois très dégradé. Les pièces de bois sont marquées, numérotées et cartographiées. Le bois est si possible identifié. Des mesures dendrométriques complémentaires peuvent être réalisées. En cas de pauvreté particulière en substrats de ce type, on adapte le nombre de pièces de bois.

V – MÉTHODE RETENUE

Au vu de l'expérience des inventaires réalisés en forêt tropicale notamment dans les Petites Antilles (Voiry *et al.*, 2012), la modalité par transects systématiques et placeaux nous paraît très contraignante et pratiquement impossible à mettre en œuvre dans chaque unité d'échantillonnage du fait du relief ou de la végétation basse dense. Il faut aussi souligner l'importance de la sécurité en milieu tropical du fait des difficultés de progression, des risques de glissades et de chutes et d'éventuels dangers liés à la présence de serpents ou d'insectes piqueurs. Il est donc vivement conseillé de limiter les prospections à des secteurs accessibles à pied à partir d'un chemin, de les concentrer dans les zones les moins pentues, de progresser lentement et de ne pas porter les mains dans des zones au sol n'ayant pas été soigneusement inspectées. Enfin, il est conseillé de ne pas prospecter seul.

De plus, le fait de matérialiser spécialement des transects uniquement pour des études mycologiques nous paraît peu réaliste. Nous préconisons plutôt de retenir ces principes dans des dispositifs existants liés à l'inventaire de la végétation. De même, pour la mise en œuvre de l'échantillonnage par billons.

Pour répondre à notre objectif de connaissance par type d'habitat et d'essence, nous retenons donc principalement l'échantillonnage opportuniste. En complément, nous pouvons inventorier sur dispositifs existants et de ce fait y appliquer les principes d'échantillonnage recommandés par la littérature.

V-1- Echantillonnage opportuniste

L'approche opportuniste consiste à se déplacer le long des sentiers existants qui constituent donc des transects. La prospection a lieu à l'avancement le long de ces cheminements tout en s'autorisant de temps en temps à explorer la végétation de part et d'autre. Les récoltes pourront malgré tout être géo-référencées *a posteriori* même si la précision sera inférieure à un transect linéaire de longueur connue. L'effort d'échantillonnage est conditionné par le temps disponible. Le temps consacré par jour à la prospection peut être estimé en moyenne à 4 heures. Compte tenu de la vitesse moyenne d'avancement, cela représente une longueur de transect parcourue de 8 km. On veillera à l'issue de la première visite à faire figurer sur une carte le parcours effectué et les limites des unités d'échantillonnage rencontrées.

On précisera les limites des grands types de propriété entre forêts publiques et forêts privées ainsi que l'éventuel statut de protection comme les réserves biologiques ou les zonages ZNIEFF (Zones naturelles d'intérêt écologique faunistique et floristique). Ces informations devront être reprises sur les fiches de récolte. Cette carte servira de base pour les déplacements ultérieurs.

V-2- Champ taxonomique

Le mode de prospection présenté correspond à la recherche de macromycètes en général. Les éléments à noter sont indiqués sur une fiche de récolte adaptée.



Les mycologues sur le terrain. ©Gérald Gruhn, ONF.

Dans le cas des champignons lignicoles, des renseignements spécifiques sont notés qui reprennent les recommandations de la littérature. Rappelons que les champignons lignicoles recouvrent des champignons à lames mais aussi les polypores à chapeau ou résupinés, les corticiés et des ascomycètes. En plus de l'information concernant l'unité d'échantillonnage, les informations suivantes concernant le substrat doivent être relevées : la taille de la pièce de bois, le contexte (clairière-lisière), la présence ou non d'écorce, la classe de décomposition du bois et la position par rapport au sol (voir la fiche en annexe). Pour résoudre la question d'identification du bois mort, on s'adjointra la participation d'un spécialiste local autant que possible. Dans les départements d'Outre-mer, certains personnels de l'ONF ont une très grande connaissance botanique pratique.

Les polypores *sensu lato* à chapeau ne sont généralement pas très abondants sur arbre vivant dans un site donné. Pour accroître leur représentation, on peut aussi profiter de tout déplacement même en voiture (approche opportuniste) pour repérer les consoles, identifier l'arbre support et les récolter. On notera bien-entendu l'essence et on s'efforcera de rapporter la récolte à un type d'habitat.

Les spécialistes des corticiés ou des petits ascomycètes ne suivent généralement pas le rythme des spécialistes des macromycètes, surtout s'ils font des observations après avoir retourné le bois mort. Dans ce cas, leur déplacement est limité. A propos des corticiés, on peut imaginer un déplacement sur le rythme « macromycètes » mais dans ce cas, la prospection sera ciblée sur les corticiés visibles sans déplacer le support et sur les arbres support. De plus, deux situations pourront être recherchées : les arbres porteurs d'orchidées épiphytes et la proximité d'arbres ectotrophes en vue de la recherche de corticiés ectomycorhiziens dans les habitats d'arbres correspondants, ou au voisinage d'arbres ectotrophes isolés.

VI – UTILISATION DE DISPOSITIFS EXISTANTS

En complément de l'échantillonnage opportuniste, on peut utiliser des dispositifs existants dans la région donnée pour asseoir des inventaires mycologiques. Il peut s'agir de parcelles, de transects ou de placettes. Il faut considérer ces inventaires comme des actions complémentaires qui élargissent le champ de connaissances. Dans la mesure où ces dispositifs sont visités périodiquement, ces pratiques sont consommatrices de temps et de spécialistes. Donc le principal facteur limitant à leur mise en œuvre est financier.

VI-1- Parcelles permanentes

En métropole, des parcelles permanentes de forêt ont déjà été utilisées pour étudier les champignons. Le réseau Renecofor (REseau National de suivi à long terme des ECOSystèmes FOREstiers) mis en place en 1992 contribue à une meilleure compréhension du fonctionnement des écosystèmes forestiers en rapport avec les changements environnementaux. On y étudie sur des parcelles permanentes de 0,5 ha, de nombreux paramètres physico-chimiques et biotiques. Un programme avait été mis en place à la fin des années 1990 pour y inventorier les champignons dans 13 parcelles (Moreau *et al.*, 2002). D'autres dispositifs de parcelles permanentes ont déjà été utilisés. Citons la forêt domaniale de Chaux (39), où un inventaire de la diversité fongique a été réalisé au cours des années 1997-99 dans des placeaux de 2500 m² cartographiés selon la végétation (Caillet *et al.*, 2003). En Corse, Richard (2005) a étudié dans le cadre d'une thèse de doctorat, les champignons ectomycorhiziens du Chêne vert et les ectomycorhizes sur une parcelle d'étude de 0,64 ha (40 m x 160 m) divisée en placeaux de 10 m² où la végétation avait été finement cartographiée.

En Martinique, Guadeloupe, Guyane et à La Réunion, en forêt tropicale, il existe des parcelles permanentes dendrométriques et botaniques. Tous les végétaux ligneux à partir d'un certain diamètre y ont été identifiés, mesurés et géoréférencés. Ces zones couvrent chacune une surface de l'ordre de 1 à 2 ha et peuvent constituer un terrain d'étude pour les champignons. Concernant les champignons lignicoles, si les chablis sont répertoriés et localisés, ces supports potentiels pourront aussi être inspectés et sélectionnés par classe de décomposition dans le cadre d'un échantillonnage par billon.

A La Réunion, par exemple, un test a été réalisé en mars 2015 dans la forêt de Mare Longue dans une des parcelles permanentes installées par l'Université de La Réunion. Cette parcelle de 2 ha est divisée en placeaux carrés de 100 m² où tous les végétaux ligneux de plus de 1 cm de diamètre ont été identifiés et étiquetés. En se référant au numéro de placeau, toute prospection mycologique est ainsi de fait déjà géoréférencée. De plus, on peut préciser le cas échéant les arbres les plus proches pour les champignons terricoles et le nom de l'essence pour les champignons présents sur arbre sur pied. Ce type de prospection impose de parcourir minutieusement les placeaux et de relever toutes les espèces rencontrées. Le recueil des données sur le terrain nécessite une vigilance supplémentaire afin de bien noter les localisations des récoltes et les numéros des arbres support.

Dans ce test, le temps passé sur le terrain a été de quatre matinées en moyenne à trois personnes donc a représenté un temps important. De plus, seule la moitié de la parcelle a été prospectée et certains groupes comme les pyrénomycètes et les très petits champignons à lames n'ont pas été récoltés. Une telle méthode a également été mise en œuvre aux Nouragues en Guyane (inventaire ONF dans le cadre du projet « Funguy », 2012). Un dispositif comparable existe en Martinique au Plateau Concorde sur la commune de Case-Pilote et a été parcouru quatre fois lors de plusieurs missions évoquées précédemment. Toutefois ce dispositif n'est plus entretenu à l'heure actuelle, comme cela a pu être constaté en juin 2015 (disparition partielle de la matérialisation des sous-unités).

La récolte sur des parcelles permanentes permet de fournir d'autres informations qu'un inventaire classique. Si la parcelle est divisée en placeaux de petite surface comme à Mare Longue, l'abondance d'une espèce peut être évaluée par le nombre de placeaux qu'elle occupe. La phénologie d'apparition des champignons peut être étudiée. De plus, les données mycologiques sur ces parcelles pourront être croisées avec d'autres données scientifiques (données pédologiques, données météorologiques,...) ou avec des données sur d'autres groupes taxonomiques relevés au même endroit.

Un point important à souligner est que la prospection sur parcelle permanente est différente de la prospection opportuniste. Dans la parcelle délimitée, on s'efforce de détecter toutes les espèces présentes et on vise l'exhaustivité. Mais cela nécessite alors de réunir tous les spécialistes à la même période ou de s'assurer que les intervenants pourront décrire et conditionner le maximum de récoltes. Par contre, dans une approche opportuniste, le mycologue a tendance à être guidé par la présence des champignons qui constituent ses centres d'intérêt.

VI-2- Autres dispositifs

L'existence en forêt tropicale d'autres protocoles de suivi des peuplements forestiers ou de suivis botaniques peut constituer une autre opportunité pour la mise en œuvre de protocole mycologique. Il existe en métropole pour les réserves forestières un protocole dédié au suivi des peuplements forestiers et spécialement au suivi du bois mort appelé PSDRF : protocole de suivi dendrométrique des réserves forestières (Bruciamacchie M., 2005). S'il était implanté en forêt tropicale, il serait tout à fait envisageable d'y adosser comme en métropole un protocole d'inventaire des champignons lignicoles (Voiry *et al.*, 2012). De plus cela répondrait aux recommandations de la littérature sur l'échantillonnage des champignons lignicoles. Dans le même ordre d'idée, il nous paraît aussi intéressant de réfléchir à la réutilisation de protocoles mis en place pour étudier la flore. Par exemple, en Guyane, dans le cadre du programme GuyaSpaSe, on utilise pour les inventaires floristiques des sous-placettes de 50 m x 2 m à l'intérieur de placettes de 50 m x 10 m disposées tous les 20 m le long de transects de 200 m de long. On pourrait réutiliser ce dispositif pour les relevés mycologiques sous réserve que les ressources en mycologues soient disponibles.

VII – PÉRIODE ET PÉRIODICITÉ

A la différence de la plupart des végétaux ou des lichens, les champignons ne peuvent pas être observés toute l'année ce qui rend leur étude plus difficile. Donc il faut retenir *a priori* la période la plus favorable pour observer les fructifications et retenir une périodicité pour accumuler les observations. La période optimale pour étudier les champignons en forêt tropicale est la saison des pluies. Certains auteurs recommandent de prospecter au milieu et à la fin de la saison humide (Henkel *et al.*, 2011). En fait la phénologie est variable selon les espèces. Au vu de l'expérience accumulée aux Petites Antilles et de l'expérience de Jean-Pierre Fiard, botaniste et mycologue résidant en Martinique, les poussées de début de saison des pluies comportent des dominances que l'on ne retrouve plus ensuite : beaucoup de *Marasmius* par exemple. Les connaissances sur la phénologie des champignons restent à acquérir notamment dans l'île de La Réunion.

Jusqu'alors, les prospections aux Petites Antilles ont eu lieu majoritairement en août, au milieu de la saison des pluies (hivernage) mais c'était aussi par commodité personnelle. En 2015, les missions ont été prévues en intersaison, en juin et novembre soit avant l'hivernage et après l'hivernage. Cette période de saison des pluies est surtout justifiée pour inventorier à la fois les forêts sèches et les forêts humides. Il faut aussi s'adapter aux conditions météorologiques. Par exemple, en juin 2014 comme en juin 2015, les pluies sont arrivées tardivement et il n'a été possible d'inventorier que les forêts humides. Par contre en août 2011 et en novembre 2015, les pluies ayant été abondantes avant la période d'inventaire, il a été possible de prospecter à la fois les forêts sèches et les forêts humides en donnant priorité aux forêts sèches. L'évolution du climat et les anomalies constatées dans de nombreuses régions du monde concernent aussi les zones tropicales de l'outre-mer et elles peuvent contrarier le succès de missions planifiées forcément longtemps à l'avance.

En zone tempérée, après l'expérience acquise dans les placettes Renecofor, les durées d'inventaire recommandées pour les macromycètes sont au minimum de 3 années consécutives à raison de 4 passages dans l'année au moment des poussées (Moreau *et al.*, 2002). Les autres auteurs européens recommandent aussi un minimum de 3 ans. En zone tropicale, également dans un dispositif de parcelles permanentes, Henkel *et al.* (2011) ont réalisé une étude de champignons ectomycorhiziens sur des parcelles de 1 ha pendant 6 ans en saison humide (mai et juin). La périodicité de parcours des sites étant d'une fois par semaine pendant 4 à 6 semaines, cela donne donc un ordre de grandeur d'une trentaine de prospections. Rossman *et al.* (1998) ont préconisé pour l'étude régionale des macromycètes au Costa-Rica une durée d'étude de 5 ans et une périodicité de 15 jours pendant la saison des pluies permanentes. Cela donne pour une durée de 2 mois une vingtaine de prospections sur site.

Sous climat tropical, de façon optimale, il faudrait donc prévoir en particulier pour les macromycètes lamellés pendant au moins 5 années plusieurs prospections dans l'année à une périodicité d'une semaine à quinze jours pendant la période favorable ce qui est n'est pas envisageable avec des personnes venant de métropole. Pour le moment les meilleures années ont donné lieu à deux missions et c'est la première fois en 2015 que trois missions se sont déroulées.

CHAPITRE 3

RÉCOLTE, DESCRIPTION, CONSERVATION ET CULTURE

Après avoir défini la stratégie d'échantillonnage, nous précisons le mode de récolte, de description, de conservation et le cas échéant de culture des champignons. Il faut tenir compte du fait que le temps de la mission est limité et donc que procéder à la description macroscopique et à la conservation des récoltes est prioritaire par rapport à leur identification qui se fera de retour en métropole. Cependant, dans certains cas, un matériel d'investigation plus fine (stéréomicroscope, voire microscope) peut être utile dans le cas où l'approche purement macroscopique n'est pas assez discriminante pour reconnaître de manière préliminaire les groupes d'espèces (corticés, certains Ascomycota, etc.).

I – RÉCOLTE

La question de la récolte n'est pas triviale car la qualité du matériel est importante. Nous considérons que c'est l'affaire de spécialistes. Il ne faut pas forcément récolter tous les spécimens rencontrés. On recherche des champignons en bon état, ni immatures, ni trop âgés, ni parasités. De ce fait, les spécimens visiblement en mauvais état sont à écarter. Par contre, le caractère immature des spécimens pour certains groupes (corticés, polypores) n'est pas toujours facile à détecter. Dans ce cas, un examen microscopique sommaire permet d'éliminer les récoltes stériles, qu'il ne sera pas possible de déterminer, dans la plupart des cas. Pour certaines familles comme les lamellés, il est important pour l'identification de disposer si possible de plusieurs spécimens entiers à des stades différents de développement. Cela peut entraîner une recherche approfondie d'autres champignons de la même espèce à proximité du premier trouvé tout en étant conscient qu'en forêt tropicale, on peut avoir affaire à des spécimens isolés.



Hygrocybes, Guadeloupe. ©Hubert Voiry, ONF

A la base du champignon, des éléments sont à repérer sur le terrain et le cas échéant à récolter : la présence de rhizoïdes, de rhizomorphes ou le lien avec un éventuel sclérote, voire avec des formations hypogées diverses (liées à la vie micro- ou macrobiologique souterraine). Pour les champignons lignicoles, on récolte aussi un morceau du bois et on s'efforce de l'identifier. De même il est important de déterminer le support pour les champignons qui poussent sur des rameaux ou sur les feuilles. Dans le cas particulier de champignon parasite, il faut récolter aussi l'espèce parasitée en particulier dans le cas des *Cordyceps* parasites d'insecte. Les odeurs éventuelles sont à relever sur le terrain. Les couleurs ou des caractéristiques particulières liées à l'humidité (hygrophanéité) sont aussi à noter et peuvent être fixées par des photographies *in situ*. Enfin des précautions particulières de manipulation sont à prendre pour ne pas abîmer les champignons les plus fragiles. Toutes ces recommandations ne s'appliquent pas systématiquement à chaque échantillon. D'où l'importance de faire réaliser les récoltes par des spécialistes qui selon le groupe procéderont à la récolte adéquate et noteront les éléments à relever sur le terrain.

L'équipement nécessaire sur le terrain comprend : une loupe de terrain - un outil pour couper – un emballage pour la récolte – un contenant – des étiquettes. L'outil de base est le couteau mais pour les champignons lignicoles une petite scie ou une hachette est bien utile. Nous n'utilisons pas d'outil pour creuser car nous avons exclu les hypogés. Le type d'emballage dépend des champignons étudiés. Du papier journal ou des enveloppes peuvent être utilisés pour les corticiés. Les spécimens fragiles de lamellés peuvent être emballés dans du papier aluminium ou placés individuellement dans des boîtes en plastique. Le contenant pour transporter les récoltes peut être un grand panier, une boîte de pêche ou une boîte à outils comportant des casiers. Pour éviter la dégradation rapide des champignons à lames sujets à la déliquescence, il faut prévoir un stockage rapide dans une glacière.

Un des points importants est de noter les informations sur le terrain se rapportant aux spécimens récoltés. De même, il faut bien rapporter les photographies aux récoltes. A cette fin, on peut utiliser une numérotation provisoire et étiqueter les cases de rangement ou les emballages et noter les informations sur un carnet de terrain par exemple. Dans tous les cas, il est important de traiter les récoltes rapidement et de façon idéale dans la journée tandis que tel ou tel détail est encore frais dans les mémoires.

II – DESCRIPTION (CF. ANNEXE)

La description des récoltes fraîches est une phase importante à réaliser le plus tôt possible après la récolte et avant de procéder à la conservation. Une priorité est à donner au traitement des champignons les plus fragiles et les champignons les plus susceptibles d'être modifiés par la dessiccation, donc essentiellement les lamellés. En cas de récoltes abondantes, on peut entreposer dans le réfrigérateur les récoltes qu'on ne pourra pas étudier rapidement.

Un numéro définitif doit être attribué à chaque récolte qui est conservée. Nous préconisons par exemple de retenir les 3 premières lettres de la région puis l'année, les initiales du récolteur, le mois, le jour et le numéro de récolte. Cela donne par exemple pour la journée du 20 mars 2015, la récolte n°1 sur l'île de La Réunion : REU15-XY-03-20-01.

Les critères de description des espèces sur le frais dépendent des groupes. Un vocabulaire spécifique est utilisé. Dans ce but, des fiches de description simplifiées figurent en annexe pour les groupes suivants : champignons à lames (lamellés), polypores, espèces corticioïdes, espèces clavarioïdes, espèces gastéroïdes et espèces hydnoïdes. L'idéal est que chaque groupe soit renseigné par le spécialiste du groupe. Sinon, il faut que les informations soient bien notées avec le vocabulaire adéquat pour pouvoir être utilisées par le spécialiste. Les informations comprennent la description en salle sur le frais et aussi le report des observations sur le spécimen collectées sur le terrain. Par exemple, le changement de couleur par l'humidité ou la présence de latex sont des éléments essentiels à repérer mais ne concernent que quelques espèces de champignons à lames. Des photographies montrant les caractéristiques sur le frais sont bien utiles et peuvent être réalisées à l'aide d'une caméra branchée sur une loupe binoculaire. Certains spécialistes des champignons à lames s'efforcent de reproduire sur le frais les nuances des champignons à l'aide de crayons de couleur.

III – AUTRES EXAMENS OU PRÉPARATIONS

Avant de sécher les spécimens, on peut procéder selon les groupes à des examens ou des préparations complémentaires. L'obtention de sporées est facultative pour la plupart des groupes mais est très importante pour la détermination des corticiés. En effet la description microscopique complète exige de disposer de spores à maturité pour réaliser des mesures fiables en particulier lorsque des espèces nouvelles pour la science sont susceptibles d'être découvertes. La méthode consiste à faire sporuler l'échantillon pendant une nuit sur une lame plastique. Elle est bien détaillée dans l'article de Duhem (2010).

L'utilisation d'une lame en plastique facilite les observations et les comptages ultérieurs au microscope. Il faut donc mettre en place une lame plastique dans une boîte ou dans un compartiment de boîtes. Ces dernières permettent de disposer simultanément une dizaine d'échantillons à sporuler. On place à chaque extrémité et perpendiculairement des allumettes ou un support équivalent qui permettent de caler le matériel à faible distance. L'échantillon est mis en place, partie fertile en face de la lame et posé délicatement sur les allumettes sans qu'il soit en contact avec la lame. On couvre avec le couvercle hermétique afin de maintenir dans la boîte une humidité ambiante et on laisse sporuler pendant une nuit. La réussite de l'opération n'est pas garantie pour tous les spécimens. Cela dépend de leur état, du degré d'humidité ou de l'espèce. Les échantillons qui n'auront pas sporulé seront souvent inutilisables dans l'éventualité de définition de nouvelles espèces, sauf pour des genres réputés à sporulation difficiles (espèces athéloïdes notamment). Ils peuvent néanmoins être conservés pour détermination.

Des tests macro-chimiques à l'aide de réactifs peuvent être effectués pour certaines espèces spécialement dans les genres *Russula*, *Ramaria* ou *Phanerochaete*. Ces tests sont à mettre en œuvre par des spécialistes car ils supposent qu'une hypothèse sur l'identification du genre soit émise.

Le fait de procéder à des examens microscopiques sur le frais n'est pas indispensable et est consommateur de temps. Dans le cadre des missions aux Petites Antilles, les microscopes ne sont pas transportés aussi pour des questions de logistique. La priorité est donnée à la récolte et au conditionnement des échantillons. Au cours de la mission de mars 2015 à La Réunion où un microscope avait été mis à disposition par l'Université, un examen rapide nous a permis d'avancer sur certaines récoltes. Cela nous a permis de vérifier que deux échantillons de gastéromycètes appartenaient à la même espèce ou de vérifier une hypothèse sur d'autres récoltes aux spores caractéristiques. C'est le cas du genre *Entoloma* reconnaissable à ses spores polyédriques ou du genre *Ganoderma* chez les polypores aux spores typiques. Bien entendu, il s'agit d'hypothèses de travail pour les examens futurs qui ne constituent pas des identifications complètes.

Pour les corticiés certaines réactions sont à observer sur exemplaires frais : vérifier au microscope si la réaction est amyloïde à l'aide du réactif de Melzer, ou pour certaines espèces si les éventuelles gloécystides réagissent au sulfo-aldéhyde. Il s'agit de détection de composés volatiles et donc la réaction est impossible à provoquer sur spécimen d'herbier.

Des prélèvements sur matériel frais peuvent également être envisagés en capsule appropriée, en vue de faciliter l'analyse biomoléculaire ultérieure. On utilise une capsule Eppendorf contenant un liquide tampon de type CETAB.

IV – CONSERVATION

La conservation des champignons est une étape cruciale qui permettra de les réétudier complètement au microscope en laboratoire. Pour cela, on les fait sécher à l'aide de dessiccateurs. On utilise des déshydrateurs alimentaires ou des dessiccateurs fabriqués pour les besoins à l'aide de grilles métalliques. On peut utiliser une lumière incandescente comme source de chaleur. Le point important est la température qui doit être comprise entre 45 à 60°C de façon à réduire quasiment toute humidité, tout en préservant la récolte pour une éventuelle analyse biomoléculaire ultérieure sur matériel sec. Il est souhaitable qu'il y ait un flux d'air chaud. Les gros spécimens de champignons ne sont pas séchés en entier mais on prélève pour dessiccation un morceau qui porte toutes les caractéristiques du spécimen. On peut aussi découper des tranches, qui sécheront plus facilement que l'exemplaire complet. Si l'on veut conserver en entier des polypores, il faut au préalable les faire sécher au soleil. Dans le cas de petits spécimens, il faut bien noter le numéro de récolte sur un papier ou sur une étiquette.

Une fois les échantillons secs, on les met dans des sachets en plastique en indiquant le numéro de la récolte et on ajoute quelques grains de silicagel pour la conservation. Le silicagel absorbe l'humidité résiduelle éventuelle. On y ajoute le cas échéant la lame plastique portant la sporée du même spécimen entourée de papier. Pour toutes les récoltes et au retour en métropole pour éviter les destructions ultérieures par les insectes, il faut les placer pendant une semaine dans un congélateur en dessous de -20°C. Lors de la préparation de l'archivage au sein des collections LIP (Lille), le matériel séjourne au moins 7 jours à -80°C.

V – MISE EN CULTURE

La mise en culture est obligatoire pour certains ascomycètes, les Xylariales et les Hypocréales. En effet il est nécessaire de disposer aussi du stade anamorphe pour effectuer la détermination. Cette opération qui nécessite un équipement spécialisé est réalisée au retour en métropole. Par contre, les polypores à chapeau peuvent être mis en culture sur place pour obtenir une collection de souches. La technique consiste à prélever à l'aide d'un scalpel des petits morceaux de la chair et à les planter dans une boîte de Pétri contenant un substrat nutritif adapté. La stérilisation du scalpel est faite à l'aide d'une flamme. Dans la littérature (Lodge *et al.*, 2004), on cite aussi la possibilité de faire des cultures de champignons sur boîte de Pétri à partir de spores ou de cordons (ou rhizomorphes).

VI – IDENTIFICATION

Après cette mise en herbier, se pose la question des identifications qui n'est envisageable que si les étapes de récoltes ont été soigneusement réalisées. L'identification intervient au retour en métropole sur le matériel d'herbier. Au cours cette dernière phase, une contrainte forte est la disponibilité de spécialistes de niveau national et international, ainsi que l'accès à la documentation récente en systématique concernant les espèces tropicales. Dans cette bibliographie, rappelons qu'il est très précieux de disposer d'une liste préliminaire des champignons recensés dans la région avec le détail des références bibliographiques. Les identifications se feront avec l'aide d'outils moléculaires, le cas échéant, par comparaison des séquences nucléotidiques obtenues (après extraction de l'ADN, séquençage des fragments appropriés du génome) avec les bases de données disponibles sur Internet et traitements informatiques adéquats. Leur dénomination devra suivre les règles et nomenclatures en vigueur et les recommandations préconisées par le référentiel mycologique national (à défaut par le site Mycobank, avec une argumentation en conséquence).



Identification de récolte au microscope. ©Gérald Gruhn ONF

La détermination des champignons nécessite des examens microscopiques. L'observation des spores et des éléments fertiles et stériles nécessite un grossissement ($\times 400$ et $\times 1\,000$), avec l'usage de divers réactifs permettant diverses colorations ou la mise en évidence des réactions chimiques déterminantes. Citons de manière non exhaustive l'amyloïdie obtenue avec le réactif de Melzer et la cyanophilie avec le bleu coton. Seules quelques rares espèces sont déterminables sur le terrain. En forêt tropicale, elles sont encore moins nombreuses qu'en métropole du fait du faible niveau de connaissances. La situation est toutefois variable selon les régions. Par exemple, dans les Petites Antilles, à la suite de prospections répétées sur une dizaine d'années, un certain nombre d'espèces peuvent être nommées sur le terrain grâce à leurs caractéristiques macroscopiques désormais connues. Toutefois, il convient de rester prudent sur cette question car nous n'avons pas le même recul en forêt tropicale qu'en forêt tempérée. On connaît la finesse taxinomique nécessaire en Europe souvent confirmée voire amplifiée par les études moléculaires actuelles. Il serait particulièrement imprudent d'imaginer que les choses sont plus simples en milieu tropical. Il y a toujours le risque de tomber dans le piège des convergences morphologiques liées à l'existence d'espèces cryptiques ou « écologiques ». C'est pourquoi la conservation d'échantillons est souvent préconisée en vue d'analyses fines ultérieures, même dans des groupes que l'on pense commencer à maîtriser.

CHAPITRE 4

ORGANISATION

I – MOYENS HUMAINS

Chaque inventaire est placé sous la responsabilité d'un coordinateur présent sur place et dont la mission est multiple. Il s'occupe de déterminer les zones à prospecter et arrête un programme prévisionnel. Il facilite l'accès à la bibliographie nécessaire aux déterminations et prend contact avec les organismes universitaires pour les séquençages ADN, devenus indispensables en cas de découverte de nouvelles espèces. Il s'occupe de l'organisation matérielle de la campagne de récolte ou la coordonne en collaboration avec les contacts ou les services locaux parties prenantes de l'inventaire. Enfin, il coordonne la rédaction du rapport d'inventaire en collaboration avec les différents mycologues récolteurs participant à l'inventaire sur place, ou partie prenante à la phase d'identification qui suit la récolte. La tâche étant lourde, le coordinateur peut déléguer par exemple le programme des prospections ou l'organisation matérielle de la campagne de récolte.

Dans la constitution de l'équipe de mycologues, une complémentarité est recherchée pour couvrir la gamme de macromycètes la plus large possible et comporter les spécialités suivantes : champignons lamellés, polypores à chapeau, autres macromycètes, corticiés, polypores résupinés et petits ascomycètes. Chacun dans sa spécialité s'occupe des récoltes, descriptions et conservation en herbier.



Les mycologues à La Réunion. ©Hubert Voiry, ONF

Dans le cas particulier de l'île de La Réunion où nous bénéficions actuellement de la présence d'un forestier mycologue sur place, l'envoi de mycologues de la métropole peut être plus restreint. Les tâches logistiques et le programme d'inventaire peuvent être préparés par la personne *in situ*. On peut prévoir deux mycologues de métropole, l'un spécialisé en champignons lamellés et l'autre en aphyllophorales. Le champ taxinomique sera donc restreint aux basidiomycètes et aux macro-ascomycètes. Les tâches à réaliser seront des tâches de récoltes et de conditionnement dans les forêts sélectionnées en notant les unités d'échantillonnage. Au retour en métropole, le travail d'identification sera réparti entre les spécialistes.

Il est important de signaler qu'un de facteurs limitants de ces missions est la ressource en mycologues tropicalistes. En effet la mycologie tropicale nécessite un investissement important de la part des mycologues impliqués et un effort de formation conséquent. L'expérience prévaut, elle impose d'avoir une vision mondiale d'une spécialité, ce qui tend à multiplier considérablement le nombre de familles, genres et espèces potentiellement rencontrés. Connaissance bibliographique, expérience de récolte, et nombre important de spécimens à observer avant de se prévaloir d'une expertise, font que les mycologues tropicalistes sont rares.

II – BESOINS MATÉRIELS

En prenant l'exemple d'un projet en zone tropicale sur une durée de 15 jours, il faut prévoir l'hébergement de l'équipe de mycologues-experts, leur déplacement en voiture ou leur acheminement sur site de récolte. On utilise l'avion, l'hélicoptère ou le quad pour les missions les plus engagées en forêt tropicale profonde.

A proximité ou dans l'hébergement, les spécialistes devront disposer d'une salle équipée pour effectuer les premières observations et pouvoir trier et sécher les récoltes ou de moyens permettant le traitement des récoltes à l'abri de la pluie. Un équipement en loupes binoculaires est recommandé mais il n'est pas possible dans les missions les plus engagées. La mise à disposition d'un microscope et des réactifs utilisés en mycologie peut être très utile mais ne doit pas prendre trop de temps aux dépens des descriptions des récoltes. Les observations à la loupe ou au microscope seront

photographiées. Un réfrigérateur peut permettre de conserver temporairement un surplus de récoltes qui n'aura pas pu être traité. Plusieurs dessiccateurs sont nécessaires.

Un ordinateur portable avec connexion internet est très utile pour stocker les photographies, consulter la bibliographie, vérifier une hypothèse d'identification et contacter l'équipe restée en métropole.

À l'extrême, des missions en zones éloignées où l'électricité n'est pas accessible peuvent être envisagées. Dans ce cas, des dispositions très particulières sont nécessaires pour l'autonomie de l'équipe de récolteurs. Une méthode de séchage par gel peut être envisagée. En Guyane, des fours à pétrole peuvent être utilisés dans certaines installations plus ou moins permanentes.

III – RÉSULTATS DE L'INVENTAIRE

Les inventaires font l'objet d'un compte-rendu qui présente le contexte de l'inventaire, les participants, décrit avec le plus de précision possible le protocole mis en œuvre, rassemble des données cartographiques appropriées, liste les récoltes réalisées par groupe taxinomique, et dresse un premier bilan rapide de la campagne d'inventaire.

L'identification des récoltes peut nécessiter plusieurs mois, voire plusieurs années dans le cas de collaborations complexes. Il s'agit en particulier d'attendre d'avoir une quantité significative de matériel disponible pour tel ou tel groupe, à confronter avec le matériel accumulé par d'autres chercheurs dans d'autres régions biogéographiques. La qualité (représentativité) de l'échantillonnage est toujours un élément favorable pour la pertinence des conclusions apportées par les traitements informatiques des données moléculaires, surtout si on a pris la peine d'accumuler en parallèle de nombreuses informations sur l'écologie ou les traits de vie variés des espèces du groupe considéré. La liste de récolte pour une région donnée est présentée dans une publication séparée, ou récapitulée à l'occasion de la campagne d'inventaire suivante.

La rédaction du compte-rendu est sous la responsabilité du coordinateur de l'inventaire.

CHAPITRE 5

BIBLIOGRAPHIE GÉNÉRALE

Allmer J., Vasiliauskas R., Ihrmark K., Stenlid J. & Dahlberg A. – 2006 - Wood-inhabiting fungal communities in woody debris of Norway spruce (*Picea abies*(L.) Karst.) as reflected by sporocarps mycelia isolations and T-RFLP identification – FEMS Microbiology-Ecology-Volume 55- Issue 1- p57-67.

Bâ A., Duponnois R., Diabaté M. & Dreyfus B. - 2011 – Les champignons ectomycorhiziens des arbres forestiers en Afrique de l'Ouest – IRD Editions. Collections didactiques.

Bruciamacchie M. – 2005 - Protocole de suivi d'espaces naturels protégés – MEDD.

Buée M., Maurice JP., Zeller, B. & S Andrianarisoa S.- 2011 - Influence of tree species on richness and diversity of epigeous fungal communities in a French temperate forest stand – Fungal Ecology – Volume 4, Issue 1, p22-31.

Caillet M. & Simeray J. - 2003 – Recherche sur la sociologie des macromycètes de la réserve biologique intégrale en forêt domaniale de Chaux.

Courtecuisse R. - 2006 – Liste préliminaire des Fungi recensés dans les îles françaises des Petites Antilles : Martinique, Guadeloupe et dépendances. I – Basidiomycètes lamellés et affines (*Agaricomycetidae* s.l.) – Documents Mycologiques Tome XXXIV – p81-140.

Courtecuisse R. & Welti S. – 2013 - Liste préliminaire des Fungi recensés dans les îles françaises des Petites Antilles : Martinique, Guadeloupe et dépendances. II – Basidiomycètes non lamellés (espèces gastéroïdes, rouilles et charbons exclus) – Documents Mycologiques Tome XXXV – p47-173.

Desprez M-L. & loos R. – 2015 – La biologie moléculaire au service du diagnostic pour la santé des forêts – note de février 2015 du Département de la santé des forêts.

Duhem B. - 2010 – Eléments pour une approche de l'étude des corticiés. I. – La sporée – Bulletin de la Société mycologique de France – Tome 126, fascicule 2 – p143-160.

Garbaye, J. - 2013 – La symbiose mycorhizienne. Une association entre les plantes et les champignons. Editions Quae.

Guitet S., Brunaux O., de Grandville J.J., Gonzalez S. & Richard-Hansen C. - 2015 : Catalogue des habitats forestiers de Guyane. Editions ONF / DEAL Guyane.

Hawksworth D.L. – 2002 - The magnitude of fungal diversity : the 1,5 million species estimate revisited. *Mycological Research* 105 (12), p1422 -1432.

Heilmann-Clausen J., Barron E.S., Boddy L., Dahlberg A., Griffith G.W., Norden J., Ovaskainen O., Perini C., Senn-Irlet B., & Halme P.- 2014 – A fungal perspective on Conservation Biology. *Conservation Biology* , Volume 00, N° 0,1-8.

Henkel TW., Aime C., Chin MML., Miller SL., Vilgalys R. & Smith ME – 2011 - Ectomycorrhizal fungal sporocarp discovery of new taxa in *Dicymbe* monodominant forest of the Guiana Shield – *Biodiversity Conservation*.

Henry C., Richard F., Ramanankierana H., Ducouso M. & Selosse M-A - 2014 - Comprendre la dynamique des communautés mycorhiziennes lors des successions végétales. Première partie : méthode d'étude, caractérisations et fonctionnement. Analyse bibliographique. *Revue forestière française* LXVI – 2-2014. AgroParisTech.

Huhndorf S.M., Lodge D.J., Wang C-J & Stokland J. – 2004 - Macrofungi on woody substrata in Biodiversity of fungi – Inventory and monitoring methods – Mueller G.M., Bills G.F. & Foster M.S. - p159-163 – Elsevier Academic Press.

Lodge J., Ammirati J.F., O'Dell T.E. & Mueller G.M. – 2004 – Collecting and describing macrofungi - Inventory and monitoring methods – Mueller G.M., Bills G.F. & Foster M.S. - p 128-158 – Elsevier Academic Press.

Manidren T. – 2010 - Prodrôme à la mycologie réunionnaise. Thèse d'exercice. Pharmacie. Université de droit et de santé (Lille).

Martos F., Dulormne M., Pailler T., Bonfantès P., Faccios A., Fournel J., Dubois M-P & Selosse MA - 2009 -Independent recruitment of saprotrophic fungi as mycorrhizal partners by tropical achlorophyllous orchids. *New Phytologist* 184 : 668-681.

Martos F., Muñoz F., Pailler T., Kottke I., Gonneau C. & Selosse MA. – 2012 – The role of epiphytism in architecture and evolutionary constraint within mycorrhizal networks of tropical orchids. *Molecular Ecology* 21, 5098–5109.

Moreau PM., Daillant O., Corriol G., Gueidan C. & Courtecuisse R – 2002 - Renecofor - Inventaires des champignons supérieurs et des lichens sur 12 placettes du réseau et dans un site atelier de l'INRA/GIP Ecofor. Résultats d'un projet pilote. Editeur ONF.

Mueller G.M., Schmitt J.P., Huhndorf S.M., Ryvarden L., O'Dell T.E., Lodge D.J., Leacock P.R., Mata M., Loengrin U., Wu Q. & Czederpiltz D. – 2004 – Recommended protocols for sampling macrofungi in Biodiversity of fungi – Inventory and monitoring methods – Mueller G.M., Bills G.F. & Foster M.S. - p169-171 – Elsevier Academic Press.

Rajala T., Peltoniemi M., Pennanen T. & Mäkipää R. – 2012 – Fungal community dynamics in relation to substrate quality of decaying Norway spruce (*Picea abies* (L) Kars.) logs in boreal forests. *FEMS Microbiology Ecology* 81(2012), p494-505.

Richard, F. -2004 - Les champignons ectomycorrhiziens du chêne vert (*Quercus ilex* L.) en Corse : Diversité et rôle de la symbiose. Thèse de doctorat. Université de Toulouse.

Rossman A.Y., Tulloss R.E., O'Dell T.E. & Thorn R.G. – 1998 – Protocols for an all taxa biodiversity inventory of fungi in a costa-rican conservation area – Parkway publishers, Inc., Boone, North Carolina.

Tison J-M. & de Foucault B. – 2014 – Flora Gallica – Flore de France – Société botanique de France – Editions Biotope.

Triolo, J. -2014 – Etat des ressources génétiques forestières à l'île de La Réunion – Tome 11 - Contribution au rapport de la FAO « Etat des ressources génétiques forestières dans le monde » - Version du 14/01/2014.

Voiry H. & Gosselin F. – 2012 – Protocole d'inventaires mycologiques en réserves forestières – Retour d'expérience du réseau Mycologie de l'ONF dans les Réserves biologiques - Rendez-vous techniques – n°35 – p 68-73 – Editions ONF.

Voiry H. & Courtecuisse R. – 2012 – Cinq ans d'inventaires mycologiques en forêt de Martinique et de Guadeloupe – Premiers résultats - Rendez-vous techniques – n°36-37 – p 57-63 – Editions ONF

CHAPITRE 6

BIBLIOGRAPHIE – TAXINOMIE POUR LA RÉUNION

- Boidin J., Gilles G. 1986 – Basidiomycètes Aphylophorales de l'Île de La Réunion I. Introduction - Bull. Soc. Mycol. de France 102 (3) : 273–278.
- Boidin J., Gilles G. 1986 – Basidiomycètes Aphylophorales de l'Île de La Réunion II. Les genres Tubulicrinis, Tubulicium et Litschauerella - Bull. Soc. Mycol. de France 102 (3) : 279–290
- Boidin J., Gilles G. 1986 – Basidiomycètes Aphylophorales de l'Île de La Réunion III. Aleurodiscoideae à spores amyloïdes - Bull. Soc. Mycol. de France 102 (3) : 291–297
- Boidin J., Gilles G. 1986 – Basidiomycètes Aphylophorales de l'Île de La Réunion. IV. Les genres Epithele Pat. et Pteridomyces Jülich - Bull. Soc. Mycol. de France 102 (3) : 299–304
- Boidin J., Gilles G. 1986 – Basidiomycètes Aphylophorales de l'Île de La Réunion. V. Familles des Ceratobasidiaceae Martin et le genre Suillosporium Pouzar - Bull. Soc. Mycol. de France 102 (3) : 305–314
- Boidin J., Gilles G. 1986 – Basidiomycètes Aphylophorales de l'Île de La Réunion. VI. Le genre Cerinomyces Martin - Bull. Soc. Mycol. de France 102 (3) : 315–319
- Boidin J., Gilles G., Lanquetin P. 1987 – Basidiomycètes Aphylophorales de l'Île de La Réunion VIII - Le genre Scytinostroma Donk - Bull. Soc. Mycol. de France 103 (2) : 111–118
- Boidin J., Lanquetin P., Gilles G. 1987 – Basidiomycètes Aphylophorales de l'Île de La Réunion IX - Les genres Dichostereum Pilát et Vararia Karsten - Bull. Soc. Mycol. de France 103 (2) : 119–135
- Boidin J., Lanquetin P., Gilles G. 1987 – Basidiomycètes Aphylophorales de l'Île de La Réunion XI – compléments aux genres traités antérieurement (2^e partie) - Bull. Soc. Mycol. de France 104 (3) : 179–190.
- Boidin J., Gilles G. 1988 – Basidiomycètes Aphylophorales de l'Île de La Réunion X - compléments aux genres traités antérieurement (1^{ère} partie) - Bull. Soc. Mycol. de France 104 (2) : 59-72
- Boidin J., Gilles G. 1988 – Basidiomycètes Aphylophorales de l'Île de La Réunion XII - Le genre Subulicystidium Parmasto - Bull. Soc. Mycol. de France 104 (3) : 191–198
- Boidin J., Gilles G. 1989 – Basidiomycètes Aphylophorales de l'Île de La Réunion XIII et XIV - Bull. Soc. Mycol. de France 105 (2) : 139–150
- Boidin J., Gilles G. 1989 – Basidiomycètes Aphylophorales de l'Île de La Réunion XV – La famille des Xenasmataceae Oberw - Bull. Soc. Mycol. de France 105 (2) : 151–162
- Boidin J., Gilles G. 1991 – Basidiomycètes Aphylophorales de l'Île de La Réunion XVI - Les genres Hyphoderma, Hyphodermopsis, Chrysoderma nov. gen. et Crustoderma - Cryptogamie, Mycol. 12 (2) : 97–132
- Boidin J., Lanquetin P., Gilles G. 1993 – Basidiomycètes Aphylophorales de l'Île de La Réunion XVII - Les genres Amauromyces, Cunninghammyces et Repetobasidium - Bull. Soc. Mycol. de France 109 (2) : 93–100
- Boidin J., Gilles G. 1994 – Basidiomycètes Aphylophorales de l'Île de La Réunion XVIII - Les Sistotremataceae - Cryptogamie, Mycol. 15 : 133–139
- Boidin J., Gilles G. 2000 – Basidiomycètes Aphylophorales de l'Île de La Réunion. XIX : le genre Epithele (Pat.) Pat. 1900 - Bull. mens. Soc. Linn. Lyon 69 (9) : 193–198
- Boidin J., Gilles G. 2000 – Basidiomycètes aphylophorales de l'Île de La Réunion. XX. Le genre Hypochnicium Eriksson - Bull. Soc. Mycol. de France 116 (2) : 159–172
- Boidin J., Gilles G. 2000 – Basidiomycètes Aphylophorales de l'Île de La Réunion. XXI – Suite - Mycotaxon 75 : 357–387.
- Boidin J., Gilles G. 2001 – Basidiomycètes aphylophorales de l'Île de La Réunion. XXII. Podoscyphaceae - Bull. Soc. Mycol. de France 117 (3) : 167–172
- Boidin J., Gilles G. 2001 – Basidiomycètes aphylophorales de l'Île de La Réunion. XXIII. Aleurodiscoideae - Bull. Soc. Mycol. de France 117 (3) : 173–181

Boidin J., Gilles G. 2001 - Basidiomycètes Aphyllophorales de l'île de La Réunion. XXIV. Peniophora fulvissima, une nouvelle espèce du sous-genre Gloeopeniophora - Bull. mens. Soc. Linn. Lyon 70(10) : 269-271

Léger J.-C., Lanquetin P. 1987 – Basidiomycètes Aphyllophorales de l'Île de La Réunion VII (1) Hymenochaete Lév. - Bull. Soc. Mycol. de France 103 (1) : 19–53

ANNEXE

FICHES DE DESCRIPTION

I – COMMENTAIRES

I-1- Commentaires généraux

Nous proposons six modèles de fiches de description correspondant aux six grands groupes morphologiques suivants : lamellés (champignons à lames), polypores, espèces corticoïdes (en croûte), espèces clavaroides (en corail), espèces gastéroïdes (en boule) et espèces hydnoïdes (à aiguillons). Cela recouvre la majorité des espèces susceptibles d'être rencontrées. Ces fiches ont pour objectif de servir de « pense-bête » lors de la description macroscopique de spécimens frais, préalable au conditionnement des récoltes. On ne vise pas l'exhaustivité des observations mais plutôt une base minimale. Ces fiches pourront évoluer en fonction de l'expérience de leur utilisation. Elles ne traitent donc pas des observations macroscopiques qui pourront être faites sur le matériel sec ni des nombreuses observations microscopiques nécessaires pour l'identification des spécimens.

Le premier cadre et le deuxième cadre sont communs à toutes les fiches. Le premier cadre à remplir concerne l'identification et la localisation du champignon. Auparavant est attribué un numéro de récolte comme expliqué au paragraphe « Description ». Ce numéro devient numéro d'herbier quand l'espèce est conservée, séchée en « *exsiccatum* ». Concernant l'identification du spécimen, nous avons indiqué en premier le nom proposé. Ce nom n'est pas forcément celui qui sera retenu après détermination précise mais il est important de le conserver. Le champ est suivi de « identification après étude » à remplir si on aboutit à un nom différent. Le champ « récolteur » est doublé du champ « déterminateur » et aussi du champ « confirmation » si nécessaire.

Le champ concernant la localisation doit être compatible avec les bases de données naturalistes comme par exemple BDN pour l'ONF. Cela implique d'indiquer au minimum le département et la commune de situation. Ensuite, le cas échéant, le nom de la forêt, le numéro de parcelles sont à mentionner. Si on a une donnée encore plus précise, on peut la signaler dans un polygone voire indiquer les coordonnées GPS. On indiquera donc dans ce champ la précision maximale connue de la localisation de la récolte et au minimum le département et la commune de situation.

Le second cadre concerne l'écologie de la récolte. On prévoit quatre champs. En premier la notion d'habitat. On reprendra au minimum le grand type d'habitat comme nous l'avons décrit dans le paragraphe sur les unités d'échantillonnage soit par exemple la forêt littorale, la forêt sèche... En découlera naturellement le fait que la récolte est effectuée en forêt ou hors forêt. On peut être plus précis si dans la région étudiée, on peut s'appuyer sur un spécialiste des habitats. Le second champ concerne le substrat : sol, litière, bois, brindille, feuille, mousse, insecte, autre champignon... On s'efforce d'être le plus précis possible. Le champ « stade de décomposition » concerne le bois mort pour lequel il est utile d'indiquer les dimensions, la présence ou non d'écorce et le degré de décomposition. On complète, le cas échéant avec le nom de l'hôte en utilisant de préférence le référentiel taxinomique pour le groupe considéré. Il peut s'agir par exemple de l'arbre ou de la plante support, de l'arbre ou de la plante associée ou de l'insecte ou du champignon parasité.

I-2- Commentaires de la fiche « Lamellés »

La description sur le frais est très importante pour les champignons à lames en particulier la couleur car ils sont souvent méconnaissables après dessiccation. De même, il faut bien repérer sur le frais, le cas échéant, le caractère hygrophane et l'odeur. Pour des descriptions complètes de champignons à lames, le lecteur pourra se référer aux livres de taxinomie comme par exemple le guide de Courtecuisse et Duhem (2011) publié aux éditions Delachaux & Niestlé.

I-3- Commentaires de la fiche « Polypores »

En ce qui concerne les polypores, l'identification de l'hôte pour un arbre vivant ou l'essence de bois mort est une donnée très importante à recueillir. Egalement le type de pourriture occasionnée : fibreuse blanche ou brune cubique mais c'est plus difficile à observer. La fiche concerne les polypores à chapeau et parfois aussi à chapeau et à pied ainsi que les polypores résupinés. Pour ces derniers, il faut bien noter les dimensions de pores et les caractères relatifs à la marge.

I-4- Commentaires de la fiche « Clavarioides »

Ces espèces peuvent se rencontrer au sol ou sur différents substrats : bois, feuilles, rameaux etc... Nous avons indiqué la notion de fertilité à la base du basidiome car certaines clavaires « simples » ont une base stérile assimilable à un pied. Les réactions macro-chimiques concernent le genre *Ramaria*.

I-5- Commentaires de la fiche « Corticioides »

Certaines espèces corticioides n'occupent pas des substrats ligneux à la différence de la majorité des espèces de ce groupe.

I-6- Commentaires de la fiche « Hydnoïdes »

Cette fiche ressemble beaucoup à la fiche Polypores. On y a inclus les formes hydnoïdes résupinées.

I-7- Commentaires de la fiche « Gastéroïdes »

Le groupe des gastéroïdes est hétérogène (et polyphylétique). Cette fiche descriptive s'applique aux organisations les moins complexes : les genres *Geastrum*, *Pisolithus*, *Scleroderma*, *Tulostoma*... mais pas aux Nidulariales ni aux Phallales.

II – FICHES DE DESCRIPTION

Les six fiches de description sont présentées dans les pages suivantes.

N° Récolte :	Fiche Lamellés
Nom proposé :	Identification après étude :
Date de récolte :	
Localisation :	
Récolteur :	
Déterminateur :	Confirmation :

Ecologie

Habitat :	
Substrat :	Stade de décomposition :
Hôte :	

Chapeau

Diamètre :
Forme :
Marge :
Revêtement :
Couleur (du centre vers la marge) :
Cuticule, hygrophanéité, couleurs sur le sec :

Lames

Espacement :
Nombre de lamellules par lame à la marge :
Insertion :
Couleur de la lame (jeune, à maturité) :
Arête (couleur, régularité) :
Autres caractères :

Pied

Longueur, diamètre :
Forme générale :
Couleur :
Voile partiel :
Intérieur :
Consistance (fibreuse, cassant) :
Présence/absence de rhizomorphes :
Odeur :

N° Récolte :	Fiche Polypores
Nom proposé :	Identification après étude :
Date de récolte :	
Localisation :	
Récolteur :	
Déterminateur :	Confirmation :

Ecologie

Habitat :	
Substrat :	Stade de décomposition :
Hôte :	

Macroscopie

Taille :
Forme :
Couleur du chapeau :
Aspect du chapeau :
Couleur et aspect de l'hyménophore :
Dimensions des pores (nombre/mm) :
Marge (aspect, couleur) :
Pied (longueur) :
Longueur des tubes :
Chair (consistance, épaisseur, homogénéité) :
Présence/absence de rhizomorphes :
Odeur :

N° Récolte :	Fiche Clavaroïdes
Nom proposé :	Identification après étude :
Date de récolte :	
Localisation :	
Récolteur :	
Déterminateur :	Confirmation :

Ecologie

Habitat :	
Substrat :	Stade de décomposition :
Hôte :	

Macroscopie

Taille :
Forme (chou-fleur, corail) :
Couleur :
Fertilité à la base du basidiome :
Présence d'un pied :
Chair (couleur, nature) :
Forme de la ramification :
Rameaux (couleur, forme) :
Extrémités (couleur, forme) :
Présence/absence de rhizomorphes :
Réactions macro-chimiques :
Odeur :

N° Récolte :	Fiche Corticioïdes
Nom proposé :	Identification après étude :
Date de récolte :	
Localisation :	
Récolteur :	
Déterminateur :	Confirmation :

Ecologie

Habitat :	
Substrat :	Stade de décomposition :
Hôte :	

Macroscopie

Taille :
Forme :
Couleur :
Hyménophore (aspect, consistance, épaisseur) :
Adhérent au substrat :
Marge (aspect, couleur) :
Présence/absence de rhizomorphes :
Subiculum (couleur) :
Chair (consistance, épaisseur) :
Réactions macro-chimiques :
Odeur :

N° Récolte :	Fiche Gastéroïdes
Nom proposé :	Identification après étude :
Date de récolte :	
Localisation :	
Récolteur :	
Déterminateur :	Confirmation :

Ecologie

Habitat :	
Substrat :	Stade de décomposition :
Hôte :	

Macroscopie

Forme :
Taille (longueur, largeur, hauteur) :
Sphère (couleur, diamètre, aspect) :
Ouverture de la sphère (péristome) :
Epaisseur de l'enveloppe :
Couleur de la gléba (jeune, à maturité) :
Rattachement à un stroma :
Base de la sphère (pied, apophyse) :
Pied (taille, couleur, aspect) :
Présence d'exopéridium :
Présence/absence de rhizomorphes :
Odeur :

N° Récolte :	Fiche Hydnoïdes
Nom proposé :	Identification après étude :
Date de récolte :	
Localisation :	
Récolteur :	
Déterminateur :	Confirmation :

Ecologie

Habitat :	
Substrat :	Stade de décomposition :
Hôte :	

Macroscopie

Taille :
Forme :
Couleur :
Densité des aiguillons :
Longueur des aiguillons :
Marge (aspect, couleur) :
Pied (longueur) :
Chair (consistance, épaisseur) :
Présence/absence de rhizomorphes :
Odeur :

MYCOLOGY INVENTORY PROTOCOL FOR TROPICAL FORESTS

*Hubert VOIRY, Patrick BLANCHARD, Eric DIAZ, Gérald GRUHN, Olivier ROSE (ONF)
Régis COURTECUISSÉ, Pierre-Arthur MOREAU (University of Lille)*

*Editorial assistant :
Véronique VINOT*

Under the direction of Professor COURTECUISSÉ

LES DOSSIERS FORESTIERS n°29

2016

Edited by **Office national des forêts**
2 avenue de Saint-Mandé – F – 75570 Paris cedex 12
www.onf.fr

This document is realized thanks to the financial contribution of:



*The opinions expressed in this document commit only their authors.
They do not establish in no way an official stand of the National forest office.*

To quote this document, all or part:

Blanchard, P., Diaz, E., Gruhn, G., Rose, O., Voiry, H., Courtecuisse, R., Moreau, P-A., 2016. *Mycology inventory protocol for tropical forests*. - Les Dossiers Forestiers n°29, Office national des forêts, 114 p.

This document is translated in French:

Blanchard, P., Diaz, E., Gruhn, G., Rose, O., Voiry, H., Courtecuisse, R., Moreau, P-A., 2016. *Protocole d'inventaire mycologique en forêt tropicale*, - Les Dossiers Forestiers n°29, Office national des forêts, 114 p.

Collection created by: Genevière Rey.

Direction of the collection: Albert Maillet, Forests and natural risks director.

Coordination of the writing: Patrice Hirbec.

Translation : Steven Speed, ONF-International

Page layout: Véronique Vinot.

Model of cover: Cavin & Boitier.

Printed in France (Print shop ONF of Fontainebleau).

AS AN INTRODUCTION

The Forests National Office was created to guarantee the sustainable management of the public forests which are trusted to it.

The biodiversity conservation establishes one of the elements of this sustainable management, particularly in French overseas departments, where the big variety of it is well known.

To protect, it is necessary to know. That committed the ONF in an approach of knowledge, census, inventory of wealth of forests, including in French overseas departments (DOM).

But so why mushrooms in which the general public is little interested, except if they present a culinary interest ? Two answers can be brought to this question :

- on one hand, when the ONF manages a forest, it attempts to take into account the whole ecosystem, without favoring nor forgetting such or such category of living beings, including mushrooms
- on the other hand, there is a particular link between forests and mushrooms:
 - o we consider that the forest ecosystems welcome 80 % of the fungal species, (the forest doubtless offers to mushrooms a specific environment, with an important rate of humidity and temperature variations less brutal than somewhere else).
 - o mushrooms are determining to assure the smooth running of the forest ecosystems, their sustainability and their impact strength: they recycle the dead wood, leaves and so reconstitute the layer of humus, they aerate grounds ...
 - o Mycorrhizas turn out besides vital for numerous species of trees. Thanks to mushrooms, the forester is so exempted of introducing expensive inputs in forest. Without mushrooms no tree, and thus no forest...
 - o Number of sorts of mushrooms lives in environment conditions presenting certain specific peculiarities and become real indicators. They sometimes represent the only visible vestiges of past uses (pasture, culture), and inform us then about the history of the populations, the age of the forest or its degree of naturality.
 - o Finally, very sensitive to the environmental changes, mushrooms constitute bio-indicator species. Their presence, their state of preservation and their dynamics help the administrators to estimate the quality of the managed habitats.

For more than ten years, under the authority and on Régis Courtecuisse's initiative, professor in the Pharmaceutical laboratory of the University of Lille, former president of the French mycological society, and with the support of the ONF, the missions of mycological inventory are led in rain forests (Martinique, Guadeloupe, french Guiana).

Every mission gathers a team of university specialists and researchers of international fame, with if possible the participation of members of the ONF mycology network. Other inventories also concerned Reunion, realized jointly by the ONF and the National park of Reunion.

Considering the stakes, it is important that the inventories are led with rigor, in the respect of a number of instructions: geography-referencing handbook of the collections and the observations, been of the elements of the natural environment, the recording and the saving of all the data, so that the researchers have the maximum of elements for their analyses, and can confirm their hypotheses ...

The acquired experience by these years of prospecting in rain forest allowed to define a protocole of fungal inventory adapted to these ecosystems, proposed by the present publication, besides translated into English. No doubt that it will interest a numerous public, of researchers, foresters and naturalists.

Olivier Soulères

Head of the ONF' General Inspectorate,
former coordinator Corsica-DOM

SUMMARY / RÉSUMÉ

Over the last decade or more, Professor Courtecuisse and his team carried out mycological surveys in the Lesser Antilles (Martinique and Guadeloupe). Members of ONF's mycology network were associated to these surveys.

The necessary conditions required to formalize practices and learn from acquired experience are therefore presently reunited with the general objective being to transfer this methodology to other tropical regions. A mission also took place in the Reunion's island.

The first part of this document deals with the particularities of the fungi kingdom, the definition of macromycetes and lastly outlines the tropical mycology context. In the second part, a protocol largely inspired by acquired experience (notably in the Lesser Antilles) crossed with known bibliographical references is presented.

RÉSUMÉ / SUMMARY

Depuis plus d'une dizaine d'années, le Professeur Courtecuisse et son équipe réalise des missions de prospections mycologiques en forêt tropicale des Petites Antilles (Martinique et Guadeloupe). Des membres du réseau mycologie de l'Office national des forêts y ont été associés. Une mission s'est également déroulée sur l'île de La Réunion. Toutes les conditions ont ainsi pu être réunies pour formaliser les pratiques et tirer parti de l'expérience acquise, dans un objectif général de transposer cette méthodologie à d'autres régions tropicales.

Le présent document rappelle dans une première partie, les particularités du règne fongique, définit les macromycètes et enfin situe le contexte mycologique tropical. En seconde partie, il présente un protocole largement inspiré de l'expérience acquise notamment aux Petites Antilles en la confrontant aux références bibliographiques connues.

SUMMARY

INTRODUCTION.....	67
CHAPTER 1 : THE FUNGI KINGDOM.....	69
I. The importance of fungi	71
II. Macromycetes	72
III. Trophic categories.....	73
IV. Detection methods	73
V. Factors influencing fungal richness	74
VI. Fungi in tropical zones	75
CHAPTER 2 : SAMPLING STRATEGY	77
I. Reminder.....	79
II. Previous work	79
II.1. Habitats and trees – material.....	79
II.2. Bibliographic data.....	80
III. Sampling units.....	80
IV. Prospection methods.....	80
IV.1. Opportunistic sampling.....	80
IV.2. Sampling by transect and plots.....	81
IV.3. Sampling of logs	81
V. Methode retained.....	81
V.1. Opportunistic sampling.....	81
V.2. Taxonomy field.....	82
VI. Use of existing sample plots	82
VI.1. Permanent parcels	82
VI.2. Other sampling types	83
VII. Periode and periodicity	84
CHAPTER 3 : HARVESTING, DESCRIPTION, CONSERVATION AND CULTURE	85
I. Collection	87
II. Description (cf. Annexe).....	88
III. Other exams or preparations.....	88
IV. Conservation.....	89
V. The placing of specimens in culture	89
VI. Identification	89
CHAPTER 4 : ORGANISATION	91
I. Human means	93
II. Material needs	93
III. Results of the inventory.....	94
CHAPTER 5 : GENERAL BIBLIOGRAPHY.....	95
CHAPTER 6 : BIBLIOGRAPHY – TAXONOMY FOR REUNION ISLAND.....	99
ANNEXE : DESCRIPTIVE SHEETS.....	103

INTRODUCTION

This mycology protocol project for tropical forests became necessary following surveys carried out over the last decade or more in the Lesser Antilles (Martinique and Guadeloupe) by Professor Courtecuisse and his team. The experience accumulated by such renowned mycologists in little explored areas is extremely valuable from a mycological point of view.

Three members of ONF's mycology network were able to accompany these surveys over the last five years, with one member participating in two missions in French Guiana and another member working on the identification of the specific specimens collected.

This valuable forestry experience has led to the enriching of the approach undertaken for mycological inventories. Recently a mission took place in association with the network animator. The mission was made possible thanks to the agreement of the regional management unit of ONF Reunion and the arrival on the island of a member of the mycology network. The mission took place on a site which included the presence of a permanent sample plot for monitoring tropical forest growth. The mission enabled participants to be confronted with a new tropical region and therefore help them understand those questions relative to the elaboration and implementation of a tropical mycology protocol.

The necessary conditions required to formalize practices and learn from acquired experience (notably concerning Professor Courtecuisse's team) are therefore presently reunited with the general objective being to transfer this methodology to other tropical regions. The first part of this document deals with the particularities of the fungi kingdom, the definition of macromycetes and lastly outlines the tropical mycology context. In the second part, we present a protocol largely inspired by acquired experience (notably in the Lesser Antilles) crossed with known bibliographical references.

CHAPTER 1

THE FUNGI KINGDOM

I – THE IMPORTANCE OF FUNGI

Fungi make up a separate, well diversified kingdom. There are at least 1.5 million species of fungi in the world (Hawksworth), although only 100 000 species have currently been described by science. This number is of course approximate. Certain fungi are unicellular (yeasts in particular) but the majority form mycellia, filamentous vegetative structures, which can cover from several square millimetres to several hundred hectares. The majority of fungi are hidden in the substrate in which they grow, remaining invisible to the naked eye during the majority of the year. The majority of species form periodic « fructifications » (sporophores) – this is the case of « macrofungi » - which form visible symptoms on host plants – it is also the case of a lot of « microfungi ». Only sporophores and certain polypores *sensu lato*, known as perennials, are visible during their entire life cycles. These perennials may remain for several years.

Fungi dispersion is assured by microscopic spores transported by the wind or other vectors (animals, water...). At the cellular level many spores are actively ejected very short distances from the cells which produced them. At the organism scale, several fungal species have developed active ejection mechanisms covering large distances with a mass of spores. The abundant diffusion of spores leads one to think that fungi have dispersal capacities superior to other pluri-cellulaire organisms. This has led to the classic idea that fungi are ubiquitous. However, recent studies tend to contradict this vision (Heilmann-Clausen, 2014). Moreover, inventories undertaken in tropical forests show that such areas contain an extremely small proportion of species in common with temperate zones.



Chlorociboria, ©Eric Diaz, ONF.

Public perception of fungi, and even that of a part of the scientific community, is that fungi are very harmful in light of the pathogenic character of certain species. It should not be forgotten that it is only a very few species which are effectively highly publicized. Examples include dry rot fungus, with the damage caused to structural timber having been known and recorded for several centuries; chytridiomycosis, a recently discovered disease of amphibians which has reached a global pandemic stage, Dutch elm disease and more recently Chalara dieback of ash which has decimated certain forest stands. It should be mentioned that the expansion of these pathogenic fungi is reinforced by the action of man. Indeed, the emergence of a fungal disease affecting plants is a direct result of a match between pathogen, host and the environment. The introduction of an exotic pathogen favoured by international trade and climate change is the main cause of disease expansion. Concerning ash, recent research has shown that the disease is the result of the introduction of the *Chalara fraxinea* fungi originating from South-East Asia.

Under stable and naturel conditions, pathogens play the beneficial role of regulating populations by eliminating weak and injured individuals.

Apart from these parasites, the majority of fungi assure a crucial role in the terrestrial ecosystem as decomposers of organic material (function of recycling) and as symbiotic partners alongside almost all multicellular terrestrial plants (mycorrhiza). Saprotrophic fungi are especially prominent in forests. The bulk of organic material is wood, composed of lignin and cellulose, which can only be decomposed effectively by fungi.

Fungi are also implicated in diverse complex mutual associations, for example with orchids. Lichens are fungi associated with a green algae or cyanobacteria. The majority of plants (around 90%) are linked to a mycelium network intimately connected to their roots for the absorption of water and mineral salts. In exchange mycorrhizae fungi receive sugars from their hosts. Fungi are also implicated in the weathering and breakdown of rocks and carbon storage. More discreetly the tissues of all vascular plants harbour different communities of endophytic fungi which can be either

mutualistic or pathogenic. Fungi constitute an important source of food for numerous organisms including mammals and insects. Certain fungi are implicated in the formation of micro-habitats such as tree cavities which are important for specific bird species and insects. Fungi can also constitute an important resource for man with more than 1100 species being harvested and used worldwide as food or as traditional medicine (Heilmann-Clausen, 2014).

II – MACROMYCETES

Among fungi, we can distinguish two large morphologic groups based on the characteristics of sporophores: the micromycetes and the macromycetes. The latter are thus called as they have a “fructification” process which is observable by eye, whereas the fructification of micromycetes is uniquely observable by magnifying glass or microscope. This distinction also comes from the fact that prospection modes are different and that mycologists generally study only one particular group. Indeed, in order to observe micromycetes, one needs first to examine leaf litter by magnifying glass, branches on the ground and the leaves and twigs of living branches. This division is artificial from a systematic point of view as micromycetes can belong to two large major divisions of true fungi, either the basidiomycetes (Basidiomycota) or the ascomycetes (Ascomycota). For example rusts or *Penicillium*, but also oomycetes such as mildews (currently excluded from the fungi kingdom): the Chromista kingdom which also includes the “brown algae’s”.



Reddening Tramète, *Daedaleopsis confragosa* on birch.
©Patrice Hirbec, ONF.

We have excluded micromycetes from the protocol in addition to those groups under the following classes:

- the Chytridiomycota an essentially aquatic class;
- the mainly microscopic Zygomycota;
- the Glomeromycota responsible for endomycorrhizes and detectable by their spores
- the myxomycetes which have a macroscopic form without mycelium and which no longer belong to the fungi kingdom. These groups have been studied historically by specialists even if certain species characteristics are often known and identified by mycologists;
- lichens which make up another separate group in their own right are studied by lichenologists;
- finally completely hypogenous fungi detectable only by digging up the soil.

We are therefore interested in macromycetes which can be divided as follows:

- fleshy gill or stem type mushrooms (boletes);
- the polypores (especially those with “caps”);
- other basidiomycetes and ascomycetes to macroscopic sporophores. It is this group which is studied by general mycologists, and as such, is therefore the target of the present protocol.

In the broad sense macromycetes can include other macroscopic species, however the use of a microscope is obligatory for their identification. The use of a microscope is also often necessary for other groups, if identification is to be detailed and accurate. For basidiomycetes we will take into consideration sporophore species in the form of a porated or non-porated crust (« resupine polypores» or corticies respectively), and those species which require being placed in culture under

laboratory conditions in order to fully reproduce their lifecycles. This is an indispensable prerequisite in order to ensure accurate identification: i.e. the ascomycetes, Xylariales and Hypocreales, amongst other important orders.

III – TROPHIC CATEGORIES

Fungi or mushrooms can be divided into three large functional trophic groups: pathogens, saprotrophs and mutualists. Endophytic mushrooms are either pathogens or mutualists. Concerning the macromycetes, the term parasite is used more than pathogen and the most common form of mutualism is the ectomycoriza. As far as the present protocol is concerned the following three groups can be retained: parasites, saprotrophes and ectomycorrhizas. However, the frontiers between these functional groups are not watertight and it is accepted more and more that ectomycorizal macromycetes can have saprotrophic capacities. Moreover, certain parasitic polypores on trees can continue to develop on dead wood therefore becoming saprotrophes. The membership to one or the other of these categories is not always easy to confirm in the field.

In the forest another more practical categorization is undertaken in relation to the type of substrate in which the sporophore is growing. Four large substrate categories can be distinguished: soil, dead wood, living plants and animal substrate. Other types of substrate could also be listed: burned zones, mosses and other fungi. Ground growing species can develop their basidiome or ascome in humus, leaf litter or fruits, or in extreme cases even on rocks. Animal substrates contain excrements and insects (entomophilic fungi). Living plant substrate can concern cortices or certain ascomycetes.

Canopy dwelling species are generally not studied due to difficult access. Exceptions are made in recent wind-blow or on branches or twigs collected immediately after storms. Mushrooms growing in animal substrate are rarely taken into account except the Cordyceps which develop on insects (the sporophores of which are very visible). The parameter of visibility between macromycetes and micromycetes is taken into account on a purely artificial and practical basis.

For reasons of simplification for macromycetes two large substrates are distinguished: the soil in which the species appears (termed soil borne) and dead wood and living trees on which so called lignicole species develop. Observations take place at soil level.

IV – DETECTION METHODS

Macromycetes are present in vegetative form (mycelium) and are most often undetectable except if they are present in sclerotium form (agglomeration of mycelium), ectomycorrhizas (short root sheaths of mycelium), mycelial structured cords (rhizomorphes) or simple cordons. They become detectable by the production of their basidiome or ascome (sporophores). The word fruiting body is not suitable here, but we will use it for simplicity. Sometimes the mycelium is detectable when it has the effect of colouring the wood. Fruiting bodies also called sporophores or carpophores are macroscopic structures which carry the cells producing the fungi's spores. They are known as "mushrooms" in everyday language.

Certain macromycetes also develop asexual reproductive organs called conidiophores or conidiome which are perfectly visible to the naked eye.

The detection of fruiting bodies is of course the most important method for identifying mushrooms as mycelium cannot be identified even under a microscope. In the absence of fruiting bodies rhizomorphs are impossible to identify except for the rhizomorphs of armillaria which are recognizable at the genus level. Moreover, certain very particular sclerotes can be identified. As far as ectomycorrhizas are concerned, identification can be undertaken by careful observation with a magnifying glass and or microscope, however such observation is for the most part carried out by only a few specialists.

Molecular biology techniques have developed since the 1990s for the identification of mushrooms implicated in the mycorrhizas. Such techniques bring complementary information to studies covering uniquely the fructification of mycorrhizien mushrooms, but require a consequent sampling effort (Henry *et al.*, 2015).

A third technique can be implemented in order to know mushrooms: the growing in **culture of mycelium**.

Concerning lignicole mushrooms the three methods have been compared in a study on dead spruce wood (Allmer *et al*, 2006). It turns out that none of the methods are ideal. The mycelium culture technique is biased, as on the one hand it favours those species which grow in nutritious environments and on the other hand, it is impossible to put the entire substrate in culture. Molecular analysis can reveal abundant species in wood but neglect rare species. The observation of fruiting bodies reveals composition quite well, but not abundance in any particular piece of wood. It also depends on meteorological and climatic conditions the parameters of which trigger the development of fruiting bodies. In a similar study, Rajala *et al* (2012) confirm that by treating only a part of the substrate molecular analysis can only detect the number of species present in the known volume of a given substrate. The study highlights that only a third of those species identified by the fruiting bodies in spruce logs were not found again by sequencing.

Added to this is the fact that all species described are not sequenced and therefore they are not listed in the databases. This issue is complicated by the fact that those databases currently available worldwide are not completely reliable. For example, concerning pathogen mushrooms, it is estimated (Desprez-Loustau *et al.*, 2015) that there are around 25% of errors in the NCBI data base (National Centre for Biotechnology Information). This situation is likely to improve with time.

Concerning macromycetes in general, as a result of an experimental area inventoried over a 7 year period in the Morvan, Buée *et al* (2011) considered that carpophores made up a quite large proportion of the fungal diversity present. Today **collection by fructification** still makes up quite a good method for evaluating the presence of mushrooms in comparison to molecular analysis techniques and mycelium cultures from substrates. This is routinely the most efficient and easiest approach in terms of resource use.

V – FACTORS INFLUENCING FUNGI RICHNESS

Numerous factors influence the diversity of macromycetes in a forest area. These factors include forest habitat types, vegetative diversity (in particular host plants), geological substrate, altitude, type of soil and climate. The modification of sylvo-facies influences the fungal cortège, in particular within exotic plantations. Other factors linked to human activity such as forest harvesting and atmospheric pollution also play a role.

The presence of ectotrophe species i.e. those species susceptible to form ectomycorrhizas with ectomycorrhizien mushrooms is a factor of fungal richness. Under temperate, boreal and Mediterranean climates, forests are composed essentially of ectotrophic trees: oaks, beech, birch, pines, fir, spruce etc. The associated fungal cortège are well known as they include familiar species belonging to the following genus certain of which are edible: amanita, boletes, chanterelles, cortinari, lactarius, russula, truffles, etc. (Garbaye, 2013). Other tree species are endotrophic and are equipped with the same mycorrhiza as the majority of herbaceous plants and are therefore associated with the glomeromycetes. Certain species exist which have both ectomycorrhizas and endomycorrhizas, for example poplars and eucalyptus. Finally, for reminder, in addition to being associated with mushrooms, certain trees can carry root nodules and are therefore often associated with bacteria, as for example alders and certain *Casuarina sp.* These two forms of symbiosis provide them with supplementary adaptation capacities in hostile environments.

The short lived nature of fungal fruiting bodies and their capricious appearance mean that the more one searches a given site the more different species are found. However, studies show that when sampling intensity is constant, the type of forest and diversity of tree species explains the principle reason for the diversity of mushrooms (Mueller *et al*, 2004).

In the case of lignicole species, the knowledge of host species is important especially in temperate zones. Complementary data making up the micro-habitat also plays an important role: type of decomposition, size of the piece of wood, degree of decomposition, contact with the soil, location on the forest edge or clearing (Huhndorf *et al*, 2004).

VI – FUNGI IN TROPICAL ZONES

Fungi are generally studied less in tropical zones than in temperate or boreal zones as there are fewer specialists. Moreover, to this must be added the difficulties involved with harvesting and conserving of specimens. In certain regions there is no harvesting tradition, as such there is no particular motivation for the general public to be interested in mushrooms. Seasons are less contrasting with those under oceanic or continental climates. The most favourable period for observing mushrooms coincides with the wet season, however, the phenology of the appearance of species is still poorly known. Even during the humid season temperatures remain high and small sized mushrooms can rapidly become subjected to drying out and rotting. For example, the studying of the *Coprinus* genus is impossible without first taking certain precautions. Indeed, samples become rapidly deliquescent. In order to avoid rapid degradation, quick storage needs to be organized in an icebox.

Another characteristic of tropical forests resides in the extraordinary diversity of tree and shrub species in relation to temperate or boreal forests. The presence of ectotrophic species, i.e. those equipped with ectomycorrhizas, is an element that should be taken into account (Bâ, 2011). However if the ectotrophic character is a generally known phenomena for introduced species, it is less known for indigenous species. The ectomycorrhizen character of the mushroom can reveal or confirm the ectotrophic character of the species. Remember that the ectotrophic character of a species can facilitate the monodominance of the tree, as for example in *Dicymbe* forests in Guyana (Henkel *et al*, 2011).



Marasmiellus, Guadeloupe. ©Hubert Voiry, ONF.

Orchids are particularly abundant in tropical zones and they can be epiphytes as for other plants. Their mycorrhiza concern a group of mushrooms previously termed *Rhizoctonia*, since divided into several genus of corticies: *Tulasnella*, *Ceratobasidium*, *Sebacina*... In this context a prospection target for corticies specialists could be those trees which carry epiphyte orchids (Martos, 2012). Rarer still are non-chlorophyllienne orchids which are associated with macromycetes, for example, ectomycorrhiziens in temperate forests, or saprotrophes. When orchids are flowering and therefore easily identifiable, this can constitute a particular case of observation (Martos *et al*, 2009).

Therefore, general knowledge of mushrooms in tropical zones is weak and variable according to regions. If we take the example of French overseas territories, the Lesser Antilles have been the object of field study over the last ten years or so (Courtecuisse *et al.*, 2013). The beginning of a knowledge base has therefore been established. However, the fungi of Reunion Island is still poorly known to this day, except for the aphylophorales which were actively studied between 1980 and 1990 (Boidin *et al* 1986 to 2001 – Léger *et al*, 1987). A pharmaceutical based thesis (Manidren, 2010) also contributes to the knowledge of Reunion island mushrooms.

The number of fungi species can be estimated from the number of vascular plants which is multiplied by a given ratio. For the Lesser Antilles which contains around 3 000 species of indigenous phanerogames, Courtecuisse (2006) retains a figure ranging from 7 to 10, or a hypothesis of 20 000 to 30 000 mushrooms. In Metropolitan France this relationship is a minimum of 3. Indeed, the number of vascular plant taxons is more than 6 000 of which there are 5 000 natural spontaneous species according to the flora of France (Tison *et al*, 2014). The number of mushroom species (all basidiomycetes and ascomycetes) listed by the national mycological society is 18 750

CHAPTER 2

SAMPLING STRATEGY

I – REMINDER

We place ourselves in the context of carrying out a mycological inventory in tropical forests in a region far from the metropole, over a limited duration of around fifteen days. In light of the climate, harvesting is to take place during the morning or eventually up to the beginning of the afternoon according to circumstances, the distance between access to the site and the site itself etc... Afternoons will be reserved for the studying, description and packaging of harvested material. Therefore the number of mornings set aside for collection can rapidly be determined in relation to the duration of the mission.

The principal questions related to the inventory missions can be resumed as follows: why, where, when and how? The response to the first interrogation refers to the general objective, and the responses to the three others is answered by the protocol described in the current document.

Initially, the objective of a mycological inventory within a natural site (forests and others) of a region is to obtain the most comprehensive list of mushroom species as possible. Taking into account the direct link with forest habitats and host trees, the objective of collection is also to study their distribution according to habitats and host trees. This detail is important because if we were uniquely satisfied with the objective of discovering the maximum number of species, we would have a tendency to leave out certain prospection zones in favour of more promising ones. Therefore the first step is to define the collection zones which represent the best sampling of the region to be studied. Once this has been determined, it is then necessary to define the period of intervention, periodicity, the practical modalities and the necessary human and material means. The taxonomic field to be studied has already been highlighted above and is to cover the macromycetes.

II – PREVIOUS WORK

Before beginning the inventory it is necessary to collect as much information as possible concerning the region to be studied, in particular information on the type of biotopes (forest, etc...), tree species, but also previous mycological inventories which have taken place and are covered by scientific literature.

II-1- Habitats and host trees

Cartographic and quantitative data on different forest habitats is very useful and one should always seek to obtain a map of habitats of the region to be studied. This is generally possible within the framework of collaborations with managers of natural environments. The thesis of Jean-Paul Fiard describes in detail the different types of forest habitat for Martinique. For Reunion Island this information is found in a document on the condition of the Islands genetic forest resources (Triolo, 2014). A catalogue of forest habitats has recently been published for French Guiana. This is the result of 10 years of study (Guitet *et al.*, 2015) which associated different ecology orientated research institutes. We will familiarize ourselves with the flora and in particular trees by consulting documents and guides and by contacting the Botanical Conservatories.

For example, for the Lesser Antilles a recent book describes all tree species and provides very useful field identification criteria (Rollet *et al.*, 2010). For Reunion Island several internet sites can be consulted including the CIRAD's. ONF's overseas offices also edit practical guidebooks on tree identification. Once installed, botanical trails can be followed or visits to botanical gardens carried out, therefore enabling one to become familiar with the local flora. By contacting local scientific organizations one can also gain knowledge on existing scientific forest sample plots installed, in particular those of a permanent nature. The support of local botanists and foresters will also be very precious.



Gérald Gruhn on a mission in Martinique.
©ONF

II-2- Bibliographic data

Bibliographic research consists of gathering mycological knowledge on the region to be studied. The general idea is to obtain an initial list by taking stock of existing data. This can be a tedious job consisting of searching references in the literature (among often heterogeneous documents) in relation to the collection of samples in the concerned region. Synthesis may exist sometimes, possibly limited to certain taxa. For old publications it can often be difficult to establish the link between old and current names of mushrooms due to changes in nomenclature. The national standards currently underway for French overseas territories in collaboration between R. Courtecuisse and the INPN will facilitate this task.

This bibliographic analysis work has been published in an exhaustive manner for the mushrooms of the Lesser Antilles: Courtecuisse (2006) and Courtecuisse *et al* (2010). This enables the classification of future collections either into species already described in the region, or new species for the region, and finally into species unknown to science. For Reunion Island the *aphyllophorales sensu lato* have been particularly studied. However a general list does not exist although elements have been collected by R. Courtecuisse.

During this preliminary phase, contact with mycologists, foresters, botanists or naturalists will be precious as they generally have very good knowledge on natural environments.

III – SAMPLING UNITS

The general objective is to have a suitable representation of forest habitat types of the zone to be studied. Within any given region the initial step therefore consists of selecting forest types. A minimum of five large habitat types can be retained schematically under tropical climatic conditions according to altitudinal and rainfall gradient: coastal forest, dry or xerophile forest, mesophile forest, humid or hygrophile forest and altitude forest. These large categories can be subdivided, for example if the altitudinal gradient is important as in Reunion Island, or if the nature of the underlying geology is different. At least one relatively homogeneous prospection zone is to be retained in each forest type, this zone is termed the sampling unit. Sampling units corresponding to exotic plantation species are added by habitat type. For example plantations of Mahogany in Martinique (*Swietenia spp.*) and *Cryptomeria* and Eucalyptus in Reunion Island need to be taken into consideration and attached to large habitat types. In order to define sampling unit size, we can lean on the relative importance of the surface of forest types.

Once sampling size has been defined those zones to be studied need to be identified taking into account the reputation of the sites and their accessibility. This criterion is often limiting in tropical regions, as in French Guiana for example. Within a single morning it is quite feasible to cover several sampling units in a specific prospection zone. Following on from this, between the approached zones and those sampling units still to cover, a list and map of zones and sampling units is established. The communal territory and the name of the forest or forests is specified. In order to define the list, the exact time required for fieldwork during the mission also needs to be calculated in terms of the number of mornings designated for prospection.

IV – PROSPECTION METHODS

Once the site containing one or more sampling units has been chosen, the question of the prospection method then needs to be answered. In a bibliographic synthesis of mycological protocols Mueller *et al* (2004) recommend three approaches which can be combined: an opportunistic approach, an approach by transect and plots and the sampling of a fixed number of logs for lignicole mushrooms.

IV-1- Opportunistic sampling

This is a natural approach for mycologists. It consists in covering a given zone carefully and collecting or noting all those macromycetes encountered. According to Mueller *et al* (2004), this approach should be considered as an indispensable complement to other methods based on plots, as it takes into account the random distribution of fruiting bodies and species seen outside of sampling plots.

IV-2- Sampling by transect and plot

This approach targets the reproduction of the same methods within individual sampling units and the obtaining of geo-localized data. The most representative homogenous zone possible is chosen within the area to be sampled. Within the zone 10 parallel, 100m long 10m wide transects are installed. Transects can be placed end-to-end if necessary. Circular 5m² sample plots are placed along the lines at 5m intervals, observations are made within these plots. The total surface area for the 10 transects is therefore 200 x 5m² or 1000m². The beginning of the transect is marked by a post or a banner. Each transect is numbered as is each circular plot. The area of the circular plots is determined with the help of string. In the forests of Costa-Rica Rossman *et al*, (1998) set out 245m long transects spaced at every 50 m containing 4m² circular plots every 5m. This approach also allows eventually for statistical calculations.

IV-3- Sampling of logs

Sampling by sample plot represents quite a small surface area by site (0.1 ha). This can exclude mushrooms encountered on large pieces of wood due to the fact that the substrate is poorly represented in the plots. To overcome this, Mueller *et al* (2004) recommend sampling large dead wood on the ground which is more than 20 cm in diameter and more than 2m long. In each site 30 logs are selected according to three decomposition classes: wood with bark intact, slightly degraded wood in which a knife does not sink in more than 2cm and very degraded wood. Pieces of wood are marked, numbered and mapped. If possible the wood is identified. Complementary dendrometric measurements can be carried out if required. In the case where there is a lack of substrate of this type, the number of pieces of wood can be adapted accordingly.

V –METHOD RETAINED

Taking into consideration those inventories carried out in tropical forests notably in the Lesser Antilles (Voiry *et al*, 2012), the systematic transect and circular sample plot method seem to us to be very complicated and practically impossible to implement in each sampling unit in light of the relief and low, dense vegetation. The important issue of security in tropical areas should also be underlined due to the difficulties entailed with progression, risk of slipping and falling over in addition to eventual dangers linked to the presence of snakes or stinging insects. It is therefore strongly advisable to limit prospections to those sectors accessible by foot from known trails, to concentrate in non-steep slope zones, to progress slowly and be careful not to place hands in those areas that have not been thoroughly inspected beforehand. It is not advised to carryout prospection work alone. Furthermore, the possibility of specially opening up transects for mycological studies seems not to be realistic. Rather we advise retaining these principles in existing sample plots linked to the inventorying of vegetation. This is true for the implementation of a log sampling programme. In order to respond to our objective of improving our knowledge by habitat type and species, we have therefore decided to principally retain the opportunistic sampling method. As a compliment we could inventory existing sampling plots and apply those sampling principles recommended in the literature.

V-1- Opportunistic sampling

The opportunistic approach consists of progressing along existing tracks which therefore constitute transects. Prospection takes place along these tracks whilst allowing for the exploration of vegetation on both sides from time-to-time. Observations can be georeferenced even if precision will be inferior to a linear transect of known length. The sampling effort is conditioned by the time available. Time spent per day for prospection can be estimated on average at 4 hours. Taking the average speed of progression into account, this represents a transect length of 8km. Care should be taken after the first visit to make sure that the distance covered and the limitations encountered within sampling units are recorded on a map.

The division into the large ownership types of public and private forest will be specified in addition to the eventual protection status such as biological reserves or ZNIEFF zones (Ecological, faunistic and floristic National Interest Zones « *Zones naturelles d'intérêt écologique faunistique et floristique* »). This information should be recorded on the data collection sheets. This map will serve as a base for subsequent data collection missions.

V-2- Taxonomy field

The prospection method presented corresponds to the research of macromycetes in general. Those elements to note are indicated on an adapted harvesting sheet.

In the case of lignicole mushrooms, specific information is noted which mirrors recommendations in the literature. Remember that lignicole mushrooms cover not only mushrooms with gills but also polypores with caps or resupinates, the corticies and the ascomycetes. In addition to information concerning the sampling unit, the following information concerning the substrate should be recorded: the size of the piece of wood, the context (clearing-edge), presence or not of bark, wood decomposition class and the position in relation to the soil (see the sheets in the annex). In order to resolve the question of the identification of dead wood we will include a local specialist in the team as often as possible. In the French overseas departments certain ONF personnel possess very strong practical botanical knowledge.



Mycologists in the field. ©Gérald Gruhn, ONF.

The polypores with caps *sensu lato* are generally not very abundant on living trees within a given site. In order to increase their representation we could also profit from all movements made, even by car (opportunistic approach) in order to identify the consoles, the host tree and collect them. We will of course note the species and strive to match the collected mushroom to a habitat type.

The specialists of corticies or small ascomycetes do not generally follow the rhythm of specialists of macromycetes, especially as they make observations after having returned the dead wood. In this case their movements are limited. As far as corticies are concerned, we might imagine a displacement on the rhythm of “macromycetes” but in this case prospection will be targeted on visible corticies without moving the support, and on host trees. Moreover, two situations could be researched: trees carrying epiphyte orchids and the proximity of ectotrophic trees to the seeking of ectomycorrhizien corticies in the habitats of corresponding trees, or neighbouring isolated ectrophic trees.

VI –USE OF EXISTING SAMPLE PLOTS

As a compliment to opportunistic sampling existing sample plots in the given region can be used in order to establish mycological inventories. These sample plots might consist of parcels, transects or simple plots. Such inventories should be considered as complementary actions which can further enlarge the knowledge base. To the extent where these sample units are visited periodically, these practices are both consuming in terms of time and required specialists. The main limiting factor in terms of their efficient implementation is financial orientated.

VI-1- Permanent parcels

In Metropolitan France, permanent forest parcels have already been used for the study of forest mushrooms. The RENECOFOR network (national network for the long term monitoring of forest ecosystems) established in 1992 contributes to a better understanding of forest ecosystem functioning in relation to environmental changes. Studies are carried out on numerous physical-chemical and biotic parameters within 0.5ha permanent parcels. At the end of the 1990s a programme was established to inventory forest based mushrooms in 13 parcels (Moreau *et al*, 2002). Other permanent sample parcels have already been used. We might mention the forest of Chaux (39) where an inventory of fungal diversity was carried out between 1997-99 within 2 500m² of mapped plots according to vegetation (Caillet *et al*, 2003). In Corsica Richard (2005) studied ectomycorrhizien mushrooms of holm oak and ectomycorrhizes for his PhD thesis on a 0.64ha parcel (40m x 160m) divided into 10m² plots where vegetation had been mapped in detail.

Within the tropical forests of Martinique, Guadeloupe, French Guiana and Reunion Island there exist permanent dendromatique and botanical parcels. All ligneous vegetative matter of a certain diameter has been identified, measured and georeferenced. Each of these zones cover a surface area of 1 to 2ha and can constitute a good study area for forest mushrooms. Concerning lignicole mushrooms, if wind blow was localized, these potential supports could also be inspected and selected by decomposition class within the framework of individual log sampling.

In Reunion Island for example a test was carried out in March 2015 in the forest of Mare Longue in one of the permanent parcels installed by Reunion Island University. This 2ha parcel is divided into 100m² square plots within which all ligneous vegetation of more than 1cm diameter was identified and marked. By referring to individual plot numbers, all mycological prospection is therefore already georeferenced. Moreover, if necessary we can describe the closest tree for soil dwelling mushrooms and the name of the species for those mushrooms present on standing trees. This type of prospection requires thorough prospecting of plots and recording of all species encountered. The gathering of field data requires supplementary vigilance in order to note the localities of the harvested spots and the number of host trees.

In this particular test the time spent in the field was 4 mornings on average for 3 people which represents quite a significant period of time. Moreover, only half of the parcel was prospected and certain groups such as the pyrenomycetes and very small gilled mushrooms were not recorded. Such a method was also implemented in Nouragues French Guiana (ONF Inventory in the framework of the "Funguy", project 2012). A comparable sample area also exists in Martinique on the Concorde Plateau within the commune of Case-Pilote. The site was visited previously four times during several missions as mentioned. However, this sample area is no longer maintained at the present moment, as was noticed in June 2015 (partial disappearance of the material used in the sub-units).

Data collection within permanent parcels provides additional information to that collected in classic inventories. If the parcel is divided into small surface plots like in Mare Longue, the abundance of a particular species can be evaluated by the number of plots in which it is found. The phenology of the appearance of mushrooms can be studied. Moreover, mycological data on these parcels could be crossed with other scientific data (pedological data, meteorological data, ...) or with data from other taxonomic groups recorded in the same area.

An important point to underline is that the studying of permanent parcels is different to opportunistic prospection. In the delimited parcel the inventory seeks to detect all species present, and prospection is therefore of an exhaustive nature. This requires the uniting of all specialists at the same period, or assuring that participants can describe and package the maximum number of collected specimens. However, in an opportunistic approach mycologists have the tendency to be guided by the presence of mushrooms which make up their central area of interest.

VI-2- Other sampling types

The existence of other forest stands or botanical sampling areas in tropical forests can make up an additional opportunity for the implementation of a mycological protocol. For forestry reserves within Metropolitan France there exists a protocol termed PSDRF (forest reserve dendrometric monitoring protocol) dedicated to the monitoring of forest stands, and in particular the monitoring of dead wood (Bruciamacchie M., 2005). If such a protocol was implanted in tropical forests, it would be perfectly imaginable as for Metropolitan France, to add an inventory protocol for lignicole mushrooms (Voiry *et al*, 2012). Moreover, this would respond to recommendations in the literature on the sampling of lignicole mushrooms. Within the same vein, it also seems interesting to consider the reuse of protocols established to study flora. For example, in French Guiana within the framework of the GuyaSpaSe programme, 50m x 2m sub-plots are used within the interior of 50m x 10m plots. These are arranged every 20m along 200m long transects. We could reuse this sampling area for the collection of mycological data under reserve that mycological resources are available.

VII –PERIOD AND PERIODICITY

In comparison to the majority of vegetative plants or lichens, mushrooms cannot be observed all year round which makes studying them difficult, therefore the most favourable period should be retained in order to observe fruiting bodies and retain periodicity and accumulate observations. The optimal period of studying mushrooms in tropical forests is during the wet season. Certain authors recommend prospecting in the middle and end of the wet season (Henkel *et al*, 2011). Indeed, phenology is variable according to the species. In reference to experience accumulated in the Lesser Antilles, and that of Jean-Pierre Fiard resident botanist and mycologist in Martinique, mushroom growth at the beginning of the wet season is more abundant and such growth does not occur later on. For example, there are a lot of *Marasmius* at the beginning of the wet season. Knowledge pertaining to the phenology of mushrooms still remains to be acquired, notably in Reunion Island.

Up until today, prospection in the Lesser Antilles has mostly taken place in August in the middle of the wet season (winter), but this is also out of personal convenience. In 2015 missions were planned in the inter-seasonal period in June and November, or before and after winter. The wet season is particularly justified for inventorying both dry and humid forests. It is also important to adapt to meteorological conditions. For example, in June 2014 as in June 2015, the rains arrived late, and it was not possible to inventory the rain forest. However, in August 2011 and November 2015, due to abundant rains before the inventory period, it was possible to prospect both dry forests and rain forests, with priority given to dry forests. The evolution of the climate and the anomalies observed in numerous regions throughout the world, including overseas tropical zones, can hamper the success of missions planned long in advance.

In temperate zones after the experience acquired in Renecofor plots, the recommended inventory duration for macromycetes is a minimum of 3 consecutive years at a rhythm of 4 visits per year at the moment of fruiting body appearance (Moreau *et al.*, 2002). Other European authors also recommend a minimum of 3 years. In tropical zones, and equally in permanent sample plots, Henkel *et al* (2011) carried out a study in the wet season (May and June) of ectomycorrhizien mushrooms on 1ha parcels over a period of 6 years. Site prospection periodicity was once per week over a 4 to 6 week period, this resulted in a total of some 30 site visits for prospection. Rossman *et al* (1998), recommend for the regional studying of macromycetes in Costa-Rica a study duration of 5 years and a periodicity of 15 days during the permanent rainy season. This results in a 2 month duration for a total of some 20 site prospections.

Under tropical conditions, optimally, several inventories need to be planned over a period of at least five years, in particularly for gilled macromycetes. These inventories should be based on a periodicity of 1 to 2 weeks during the favourable period, this is not possible however with personnel coming from Metropolitan France. For the moment the best years have witnessed 2 missions, with 2015 being the first time that 3 missions took place.

CHAPTER 3

HARVESTING, DESCRIPTION, CONSERVATION AND CULTURE

After having defined the sampling strategy to be followed, the mode of harvesting, description, conservation, and if necessary, the growing in culture of mushrooms is outlined. It should be kept in mind that mission time is limited, therefore the macroscopic description and conservation of samples is a priority in relation to their identification which will be carried out when back in Metropolitan France. However, in certain cases, more precise material (stereomicroscope or simple microscope) can be useful in the case where the macroscopic approach is not discriminate enough to be able to recognize in a preliminary manner the group of species (corticies, certain Ascomycota, etc.).

I – COLLECTION

The question of collection is not a trivial one as the quality of material is important. Moreover, we consider that this is a specialist affair. It is not necessary to harvest all specimens encountered. Mushrooms in good condition are sought, that are not immature, or too old or invested with parasites. As such, those specimens in poor condition are to be avoided. However, the immature character of specimens for certain groups is not always easy to detect (corticies, polypores). In this case, preliminary microscopic examination permits the elimination of unnecessary harvesting of such specimens, which would not be possible to determine in the majority of cases. For certain families such as the lamelles it is important for identification purposes to possess several whole specimens at different stages of development. This can lead to the thorough searching of other mushrooms of the same species in proximity to the first specimen found. However care needs to be taken as in tropical forests it is not at all unusual to be confronted with isolated specimens.



Hygrocybes, Guadeloupe. ©Hubert Voiry, ONF

At the base of individual mushrooms certain elements should be recorded and if possible harvested: the presence of rhizoides, or rhizomorphs, or the link with eventual sclerote, or with diverse hypogaeum formations (linked to underground micro-or-macro-biological life). For lignicole mushrooms, a piece of wood is also collected and if possible identified. Moreover, it is important to identify the support for those mushrooms growing on branches or leaves. In the particular case of parasitic mushrooms, one must also collect parasite infected species, in particular in the case of *Cordyceps* a parasite of insects. Eventual odours should also to be recorded in the field whenever possible. Colours and particular characteristics linked to humidity should also be recorded, this can be done by taking *in situ* photographs. Finally, specific handling precautions should be taken in order not to ruin more fragile mushrooms. All these recommendations do not apply systematically to each sample. Hence the importance of collection being carried out by specialists who according to the group studied, will proceed with the adequate form of collection and note those elements to be collected in the field.

The necessary field equipment includes: a magnifying glass, a cutting knife, plastic bags for collected samples a container and labels. The basic tool is the knife, but for lignicole mushrooms a small saw or axe is often useful. Digging tools will not be used as we have excluded underground species. The type of packaging required depends on the mushrooms studied. Newspaper or envelopes can be used for corticies. Fragile gilled specimens can be wrapped in aluminium paper or placed individually in plastic containers. The container used for transporting collected specimens could be a large basket, a fruit box or a toolbox containing small compartments. In order to avoid the rapid degradation of gilled specimens subject to drying out, rapid storage should be undertaken in a cool box.

An important point is to record the information in the field in relation to those specimens collected. Similarly, photographs should be matched with those species collected. To do this we can use a

temporary numbering system and label storage boxes or packages and record the information in a field note book for example. In any case, it is important to treat collected specimens rapidly, ideally the same day, whilst all specific details are still fresh in the mind.

II – DESCRIPTION (CF. ANNEXE)

The description of freshly collected specimens is an important phase that should be carried out as early as possible after collection and before proceeding to conservation. Priority should be given to the more fragile mushrooms and those susceptible to being modified by drying out, these are essentially gilled species. In the case of abundant harvests, those mushrooms that cannot be treated rapidly can be left in a refrigerator.

A definitive number should be attributed to each collected set of specimens to be conserved. We propose for example, to retain the first 3 letters of the region, followed by the year, the initials of the collector, the month, day and number of the harvest. For example, for the 20th of March 2015, the harvest n°1 on Reunion Island results in: REU15-XY-03-20-01.

A specific vocabulary is used for describing species. For this purpose the simplified descriptive sheets in the annex cover the following groups: Gilled mushrooms (lamelles), polypores, corticoïde species, clavaroïde species and gastéroïde and hydnoïde species. The idea is that each group be followed by the specific specialist in the group. Otherwise, specific information needs to be noted with adequate vocabulary in order to be used by the specialist. Information includes the description in the hand and laboratory of freshly collected specimens in addition to the reporting of observations on specimens in the field. For example, the change of colour resulting from humidity, or the presence of latex are essential elements to be recorded even though they only concern a few gilled mushroom species. Photographs showing the characteristics of fresh specimens are very useful and can be carried out with the aid of a camera fixed to a magnifying glass. Certain gilled mushroom specialists strive to reproduce the subtleties of freshly collected specimens with the aid of coloured crayons.

III – OTHER EXAMS AND PREPARATION

Before drying specimens we can proceed with complementary examinations or preparations according to the groups. The obtaining of spores is facultative for the majority of groups but it is very important for the determination of corticies. Indeed, a complete microscopic description requires the availability of mature spores in order to ensure reliable observations, in particular when new species known to science are susceptible to be discovered. The method consists of collecting the spores during the night on a plastic slide. The method is covered in detail in the article by Duhem (2010).

The use of a plastic slide facilitates observations and ulterior counting by microscope. It is therefore necessary to put a plastic slide in place in a box or in a compartmental box. Such slides allow for the simultaneous disposition of around ten samples. Matches or a similar support are placed at each extremity and perpendicular, this results in the blocking of the material at a short distance. The sample is set up with the fertile part facing the slide and positioned delicately on the matches without it being in contact with the slide. It is covered with a liquid-tight seal to maintain the box under ambient humidity and allow for overnight sporulation. The success of the operation is not guaranteed for all specimens. Such success depends on their state, the degree of humidity or the species. Those samples which have not sporulated will often be unusable in the eventuality of the definition of new species except for those genus which have the reputation of being difficult in terms of sporulation (notably atheloïde species). They can however be conserved for identification.

Macro-chemical tests can be carried out for certain species with the help of reagents, especially those in the genus *Russula*, *Ramaria* or *Phanerochaete*. These tests should be implemented by specialists as it is assumed that a hypothesis on the identification of the genus is required.

The idea of proceeding to microscopic examination on fresh samples is not necessary and is time consuming. Within the framework of those missions to the Lesser Antilles, microscopes are not transported for logistical reasons. Priority is given to the harvesting and conditioning of samples. During the 2015 mission to Reunion Island, a microscope was made available by the University. This enabled us to make a rapid examination of specimens, therefore allowing us to get ahead with

certain harvests. This also enabled us to verify that two samples of gasteromycetes belonged to the same species, or to verify a hypothesis on other harvests with characteristic spores. This is the case for the *Entoloma* genus, recognizable by its polyedriques spores, or the genus *Ganoderma* in the polypore family with its typical spores. Of course, it is a working hypotheses for future reviews which does not make up a complete identification.

For corticies certain reactions should be observed on fresh samples: verify by microscope if the reaction is amyloide with the help of the reagent Melzer, or for certain species if the eventual gloeocystides react with sulfo-aldehyde. This consists of the detection of volatile compounds, the reaction of which is impossible to provoke on herbarium specimens.

Samples from fresh material can also be considered in appropriate capsules, to facilitate subsequent biomolecular analysis. An Eppendorf capsule containing a buffer liquid such as CETAB can be used for example.

IV – CONSERVATION

The conservation of mushrooms is a crucial stage which enables them to be completely restudied by microscope in Metropolitan France. This is accomplished by drying the specimens with the aid of dryers. Food dryers are used of manufactured with the aid of metallic grills. Incandescent light can be used as a heat source. The important point is that the temperature should be from 45 to 60°C, in order to reduce almost all humidity, but at the same time preserving harvested material for eventual future biomolecular analysis of dry material. It is desirable that there is a flow of hot air. Large mushroom specimens are not entirely dried, rather a piece of the mushroom which possesses all the characteristics of the specimen is removed for drying. We can also cut slices which dry more easily than the whole specimen. If we want to conserve polypores whole, they need to be dried first in the sun. In the case of small specimens, the harvesting number needs to be noted on paper or on a label.

Once the samples are dried, we place them in plastic bags which indicates the harvesting number and then add a few grains of silicagel for their conservation. Silicagel absorbs eventual residual humidity. A plastic slide surrounded by paper and carrying the spores of the same specimen, is added if necessary. Once back in the metropole in order to avoid ulterior destruction by insects, all harvested specimens should be kept in a freezer for one week at -20°C. When preparing for archiving within LIP collections (Lille), material should remain at least 7 days at -80 ° C.

V – THE PLACING OF SPECIMENS IN CULTURE

The placing in culture is obligatory for certain ascomycetes, the Xylariales and the Hypocreales. Indeed, it is also necessary to have the anamorphic stage in order to carry out identification. This operation requires specialist equipment which is carried out back in metropolitan France. However, the polypores with caps can be placed in culture on site in order to obtain a collection of strains. The technique consists in removing with the aid of a scalpel small morsels of the specimen and implanting them in a petri-dish containing an adapted nutritive substrate. The sterilizing of the scalpel is done with the aid of a flame. In the literature, Lodge et al, 2004, mention that it is also possible to grown fungi cultures in petri-dishes from spores or cordons (or rhizomporphes).

VI – IDENTIFICATION

Following the placing of specimens in a herbarium, the question of identification needs to be answered. This is only made possible if harvesting stages have been carefully carried out. Identification takes place once back in the Metropole on herbarium material. During this penultimate phase, a strong constraint is the availability of specialists at the national and international level, in addition to access to recent systematic documentation concerning tropical species. In this bibliography remember that it is very important to dispose of a preliminary list of fungi recorded in the region with the details of bibliographic references. Identification is carried out with the help of molecular tools, and where appropriate by the comparison of nucleotide sequences obtained (after extraction of the DNA sequencing of suitable fragments of the genome) with available databases on internet and adequate computer processing. Their denomination should follow the nomenclature rules and regulations currently advocated by the national mycological referential (failing that by the Mycobank site with as a consequence an argumentation).

The identification of fungi requires microscopic examinations. The observation of spores and fertile and sterile elements requires magnification (x400 and x1000), with the use of various reagents resulting in diverse colorations or the identification of critical chemical reactions. We might mention in a non-exhaustive manner the amyloid obtained with the reagent Melzer and the cyanophilie with blue cotton. Only a few rare species are identifiable in the field. In tropical forests they are even less numerous than in the metropole due to the



Identification of harvest under the microscope. ©Gérald Gruhn ONF

weak level of knowledge. The situation is variable however according to regions. For example, in the Lesser Antilles, following repeat studies over some ten years, a certain number of species can be named in the field thanks to their known microscopic characteristics. However, one should remain prudent on this point as we do not have not the same background information in tropical forests as in temperate forests. We are aware of the fine taxonomy necessary in Europe often confirmed even amplified by current molecular studies. It would be particularly imprudent to imagine that things are simpler in tropical areas. There is always the risk of falling into a trap of morphological convergences linked to the existence of cryptic or “ecological” species. This is why the conservation of samples is often preconized with the view of fine analysis at a later date, even in those groups that we feel we are starting to master.

CHAPTER 4

ORGANISATION

I –HUMANS MEANS

Each inventory is placed under the responsibility of a local coordinator. Coordinators are responsible for multiple tasks. For example, determining those zones to be studied and elaborating a provisional inventory programme. Facilitating access to the necessary bibliography for identification purposes and contacting university departments for DNA sequencing. Such sequencing has become indispensable in the case of the discovery of new species. The coordinator is also responsible for ensuring that all material is available for the inventory, or coordinates the acquisition of such material in collaboration with those local services or contacts involved in the inventory. Finally, he coordinates the elaboration of the inventory report in unison with those different mycological collectors having participated in the inventory, or those having participated in the identification phase following collection. All in all the coordinators role is quite time consuming, as such, they can delegate part of their tasks, for example, the prospection programme or the organizing of the material for the collection campaign.

In terms of the constitution of the mycological team, a certain complementarity is sought in order to ensure that the entire range of macromycetes are covered. Therefore the team should contain the following specialists: gilled fungi, capped polypores, other macromycetes, cortices, resupinate polypores and small ascomycetes. Each specialist is responsible for collecting, describing and conserving their specimens in a herbarium.



Mycologists in La Réunion. ©Hubert Voiry, ONF

In the specific case of Reunion Island where we currently benefit from the presence of a local forest mycologist, the sending of mycologists from the Metropole is not so important. The logistical tasks and inventory programme can be prepared by the person in situ. Two mycologists from the metropole could be sent, one a specialist in gilled fungi, and the other a specialist in aphylophorales. The taxonomic field will therefore be restrained to the basidiomycetes and the macro-ascomycetes. Those tasks to be completed will be the collection and conditioning of specimens in the selected forests, by noting the sampling units. Once back in the metropole, the work of identification will be divided between specialists. It is important to mention that one of the limiting factors of such missions is the lack of tropical mycologists. Indeed, tropical mycology requires an important investment on behalf of those mycologists implicated in addition to continual training.

Experience prevails, requiring the specialist to have a global vision of their specialty, which tends to greatly increase the number of families, genera and species potentially encountered. Bibliographical knowledge, collection experience, and the important number of specimens to be studied results in tropical mycologists being rare.

II –MATERIAL NEEDS

A 15 day mycological project in the tropics will require lodging of the mycologists-experts, their displacement by vehicle to the collection areas. Plane, helicopter or quads are used for those missions in deep, difficult to access tropical forests. Specialists should be provided with a nearby equipped room (or in their lodgings) enabling them to carry out initial observations and sort and dry their collected specimens. At worse means enabling specialists to treat their collected samples under cover from the rain should be provided.

Equipping teams with binocular magnifiers is recommended but it is not possible in those missions that take place under difficult circumstances in terms of terrain. The provision of a microscope and reagents used in mycology can be very useful, but their use should not take too much time, resulting

in the jeopardizing of the description of collected samples. Observations with a magnifying glass or microscope will be photographed.

A refrigerator can allow for the temporary conserving of surplus specimens collected which have not had time to be treated. Several dryers are necessary. A portable computer with internet is very useful for stocking photos, consulting the bibliography, verifying the identification of specimens and contacting the team back in the metropole.

In extreme cases, missions in remote zones where electricity is not accessible might be envisaged. In this case, very particular provisions are necessary for the autonomy of the collection team. A method of drying with gel might be envisaged. In Guyana petrol ovens can be used in certain more or less permanent installations.

III –RESULTS OF THE INVENTORY

Inventories are accompanied by a report which presents the context of the inventory, the participants, describes in detail the protocol used, assembles the appropriate cartographic data, lists those specimens collected by taxonomic group, and presents a brief initial account of the inventory campaign. The identification of collections can require several months, or even several years in the case of complex collaborations. It requires in particular the gathering of a significant amount of material for each specific group and comparison with that material accumulated by other researchers in other biogeographic regions.

The quality (representativeness) of the sample is always an important and relevant element of the findings made by computer processing of molecular data, especially if one has taken the trouble to accumulate in parallel information on ecology or various life cycle traits of species of the considered group. The collection list for a given region is presented in a separate publication, or summarized on the occasion of the next inventory campaign. The elaboration of the inventory report is under the responsibility of the coordinator of the inventory.

CHAPTER 5

GENERAL BIBLIOGRAPHY

Allmer J., Vasiliauskas R., Ihrmark K., Stenlid J. & Dahlberg A. – 2006- Wood-inhabiting fungal communities in woody debris of Norway spruce (*Picea abies*(L.) Karst.) as reflected by sporocarps mycelia isolations ant T-RFLP identification – FEMS Microbiology-Ecology-Volume 55- Issue 1- p57-67

Bâ A., Duponnois R., Diabaté M.& Dreyfus B. -2011 – Les champignons ectomycorhiziens des arbres forestiers en Afrique de l’Ouest –IRD Editions . Collections didactiques

Bruciamacchie M.- 2005- Protocole de suivi d’espaces naturels protégés – MEDD.

Buée M., Maurice JP., Zeller, B. & S Andrianarisoa S.-2011 - Influence of tree species on richness and diversity of epigeous fungal communities in a French temperate forest stand – Fungal Ecology – Volume 4, Issue 1 P22-31.

Caillet M. & Simeray J. -2003 – Recherche sur la sociologie des macromycètes de la réserve biologique intégrale en forêt domaniale de Chaux

Courtecuisse R. -2006 – Liste préliminaire des Fungi recensés dans les îles françaises des Petites Antilles : Martinique, Guadeloupe et dépendances. I – Basidiomycètes lamellés et affines (*Agaricomycetidae* s.l.) – Documents Mycologiques Tome XXXIV – p 81-140

Courtecuisse R. & Welti S. -2013- Liste préliminaire des Fungi recensés dans les îles françaises des Petites Antilles : Martinique, Guadeloupe et dépendances. II – Basidiomycètes non lamellés (espèces gastéroïdes, rouilles et charbons exclus) – Documents Mycologiques Tome XXXV –p47-173

Desprez M-L. & loos R. – 2015 – La biologie moléculaire au service du diagnostic pour la santé des forêts – note de février 2015 du Département de la santé des forêts.

Duhem B. -2010 – Eléments pour une approche de l’étude des corticiés. I. – La sporée – Bulletin de la Société Mycologique de France – Tome 126, fascicule 2 – p 143-160

Garbaye, J. -2013 – La symbiose mycorhizienne. Une association entre les plantes et les champignons. Editions Quae.

Guitet S;, Brunaux O., de Grandville J.J., Gonzalez S. & Richard-Hansen C. -2015 : Catalogue des habitats forestiers de Guyane. Editions ONF / DEAL Guyane.

Hawksworth D.L.- 2002- The magnitude of fungal diversity : the 1,5 million species estimate revisited. *Mycological Research* 105 (12), p1422 -1432

Heilmann-Clausen J., Barron E.S., Boddy L., Dahlberg A., Griffith G.W., Norden J., Ovaskainen O., Perini C., Senn-Irlet B.,& Halme P.- 2014 – A fungal perspective on Conservation Biology. *Conservation Biology* , Volume 00, N° 0,1-8

Henkel TW., Aime C., Chin MML.,Miller SL.,Vilgalys R.&Smith ME -2011-Ectomycorrhizal fungal sporocarp discovery of new taxa in *Dicymbe* monodominant forest of the Guiana Shield – *Biodiversity Conservation*.

Henry C., Richard F., Ramanankierana H., Ducouso M. & Selosse M-A - 2014 - Comprendre la dynamique des communautés mycorhiziennes lors des successions végétales. Première partie : méthode d’étude, caractérisations et fonctionnement. Analyse bibliographique. *Revue Forestière Française* LXVI – 2-2014. AgroParisTech.

Huhndorf S.M., Lodge D.J., Wang C-J &Stokland J.- 2004- Macrofungi on woody substrata in Biodiversity of fungi – Inventory an monitoring methods– Mueller G.M., Bills G.F. &Foster M.S. - p 159-163 – Elsevier Academic Press.

Lodge J., Ammirati J.F., O’Dell T.E.& Mueller G.M. – 2004 – Collecting and describing macrofungi - Inventory an monitoring methods – Mueller G.M., Bills G.F.&Foster M.S. - p 128-158 – Elsevier Academic Press

Manidren, T. 2010. Prodrôme à la mycologie réunionnaise. Thèse d’exercice. Pharmacie. Université de droit et de santé (Lille).

Martos F., Dulormne M., Pailler T., Bonfantès P., Faccios A., Fournel J., Dubois M-P & Selosse MA-2009-Independent recruitment of saprotrophic fungi as mycorrhizal partners by tropical achlorophyllous orchids. *New Phytologist* 184 : 668-681

Martos F., Muñoz F., Pailler T., Kottke I., Gonneau C. & Selosse MA. – 2012 – The role of epiphytism in architecture and evolutionary constraint within mycorrhizal networks of tropical orchids. *Molecular Ecology* 21, 5098–5109

Moreau PM., Daillant O., Corriol G., Gueidan C. & Courtecuisse R -2002- RENECOFOR - Inventaires des champignons supérieurs et des lichens sur 12 placettes du réseau et dans un site atelier de l'INRA/GIP ECOFOR. Résultats d'un projet pilote. Editeur ONF

Mueller G.M., Schmitt J.P., Huhndorf S.M., Ryvarden L., O'Dell T.E., Lodge D.J., Leacock P.R., Mata M., Loengrin U., Wu Q. & Czederpiltz D. – 2004 – Recommended protocols for sampling macrofungi in Biodiversity of fungi – Inventory and monitoring methods– Mueller G.M., Bills G.F. & Foster M.S. - p 169-171 – Elsevier Academic Press

Rajala T., Peltoniemi M., Pennanen T. & Mäkipää R. – 2012 – Fungal community dynamics in relation to substrate quality of decaying Norway spruce (*Picea abies* (L.) Kars.) logs in boreal forests. *FEMS Microbiology Ecology* 81(2012), p494-505

Richard, F. -2004 - Les champignons ectomycorhiziens du chêne vert (*Quercus ilex* L.) en Corse : Diversité et rôle de la symbiose. Thèse de doctorat. Université de Toulouse.

Rossman A.Y., Tulloss R.E., O'Dell T.E. & Thorn R.G. – 1998 – Protocols for an all taxa biodiversity inventory of fungi in a Costa Rican conservation area – Parkway publishers, Inc., Boone, North Carolina

Tison J-M. & de Foucault B. – 2014 – Flora Gallica – Flore de France – Société Botanique de France – Editions Biotope

Triolo, J. -2014 – Etat des ressources génétiques forestières à l'île de la Réunion – Tome 11 - Contribution au rapport de la FAO « Etat des ressources génétiques forestières dans le monde » - Version du 14/01/2014

Voiry H. & Gosselin F. – 2012 – Protocole d'inventaires mycologiques en réserves forestières – Retour d'expérience du réseau Mycologie de l'ONF dans les Réserves biologiques - Rendez-Vous Techniques – n°35 – p 68-73 – Editions ONF

Voiry H. & Courtecuisse R. – 2012 – Cinq ans d'inventaires mycologiques en forêt de Martinique et de Guadeloupe – Premiers résultats - Rendez-Vous Techniques – n°36-37 – p 57-63 – Editions ONF

CHAPTER 6

BIBLIOGRAPHY – TAXONOMY FOR REUNION ISLAND

- Boidin J., Gilles G. 1986 – Basidiomycètes Aphylophorales de l'Île de la Réunion I. Introduction - Bull. Soc. Mycol. de France 102 (3) : 273–278.
- Boidin J., Gilles G. 1986 – Basidiomycètes Aphylophorales de l'Île de la Réunion II. Les genres Tubulicrinis, Tubulicium et Litschauerella - Bull. Soc. Mycol. de France 102 (3) : 279–290
- Boidin J., Gilles G. 1986 – Basidiomycètes Aphylophorales de l'Île de la Réunion III. Aleurodiscoideae à spores amyloïdes - Bull. Soc. Mycol. de France 102 (3) : 291–297
- Boidin J., Gilles G. 1986 – Basidiomycètes Aphylophorales de l'Île de la Réunion. IV. Les genres Epithele Pat. et Pteridomyces Jülich - Bull. Soc. Mycol. de France 102 (3) : 299–304
- Boidin J., Gilles G. 1986 – Basidiomycètes Aphylophorales de l'Île de la Réunion. V. Familles des Ceratobasidiaceae Martin et le genre Suillosporium Pouzar - Bull. Soc. Mycol. de France 102 (3) : 305–314
- Boidin J., Gilles G. 1986 – Basidiomycètes Aphylophorales de l'Île de la Réunion. VI. Le genre Cerinomyces Martin - Bull. Soc. Mycol. de France 102 (3) : 315–319
- Boidin J., Gilles G., Lanquetin P. 1987 – Basidiomycètes Aphylophorales de l'Île de la Réunion VIII - Le genre Scytinostroma Donk - Bull. Soc. Mycol. de France 103 (2) : 111–118
- Boidin J., Lanquetin P., Gilles G. 1987 – Basidiomycètes Aphylophorales de l'Île de la Réunion IX - Les genres Dichostereum Pilát et Vararia Karsten - Bull. Soc. Mycol. de France 103 (2) : 119–135
- Boidin J., Lanquetin P., Gilles G. 1987 – Basidiomycètes Aphylophorales de l'Île de la Réunion XI – compléments aux genres traités antérieurement (2^e partie) - Bull. Soc. Mycol. de France 104 (3) : 179–190.
- Boidin J., Gilles G. 1988 – Basidiomycètes Aphylophorales de l'Île de la Réunion X - compléments aux genres traités antérieurement (1^{ere} partie) - Bull. Soc. Mycol. de France 104 (2) : 59-72
- Boidin J., Gilles G. 1988 – Basidiomycètes Aphylophorales de l'Île de la Réunion XII - Le genre Subulicystidium Parmasto - Bull. Soc. Mycol. de France 104 (3) : 191–198
- Boidin J., Gilles G. 1989 – Basidiomycètes Aphylophorales de l'Île de la Réunion XIII et XIV - Bull. Soc. Mycol. de France 105 (2) : 139–150
- Boidin J., Gilles G. 1989 – Basidiomycètes Aphylophorales de l'Île de la Réunion XV – La famille des Xenasmataceae Oberw - Bull. Soc. Mycol. de France 105 (2) : 151–162
- Boidin J., Gilles G. 1991 – Basidiomycètes Aphylophorales de l'Île de la Réunion XVI - Les genres Hyphoderma, Hyphodermopsis, Chrysoderma nov. gen. et Crustoderma - Cryptogamie, Mycol. 12 (2) : 97–132
- Boidin J., Lanquetin P., Gilles G. 1993 – Basidiomycètes Aphylophorales de l'Île de la Réunion XVII - Les genres Amauromyces, Cunninghammyces et Repetobasidium - Bull. Soc. Mycol. de France 109 (2) : 93–100
- Boidin J., Gilles G. 1994 – Basidiomycètes Aphylophorales de l'Île de la Réunion XVIII - Les Sistotremataceae - Cryptogamie, Mycol. 15 : 133–139
- Boidin J., Gilles G. 2000 – Basidiomycètes Aphylophorales de l'Île de la Réunion. XIX : le genre Epithele (Pat.) Pat. 1900 - Bull. mens. Soc. Linn. Lyon 69 (9) : 193–198
- Boidin J., Gilles G. 2000 – Basidiomycètes aphylophorales de l'Île de la Réunion. XX. Le genre Hypochnicium Eriksson - Bull. Soc. Mycol. de France 116 (2) : 159–172
- Boidin J., Gilles G. 2000 – Basidiomycètes Aphylophorales de l'Île de la Réunion. XXI – Suite - Mycotaxon 75 : 357–387.
- Boidin J., Gilles G. 2001 – Basidiomycètes aphylophorales de l'Île de la Réunion. XXII. Podoscyphaceae - Bull. Soc. Mycol. de France 117 (3) : 167–172
- Boidin J., Gilles G. 2001 – Basidiomycètes aphylophorales de l'Île de la Réunion. XXIII. Aleurodiscoideae - Bull. Soc. Mycol. de France 117 (3) : 173–181

Boidin J., Gilles G. 2001 - Basidiomycètes Aphyllophorales de l'île de la Réunion. XXIV. Peniophora fulvissima, une nouvelle espèce du sous-genre Gloeopeniophora - Bull. mens. Soc. Linn. Lyon 70(10) : 269-271

Léger J.-C., Lanquetin P. 1987 – Basidiomycètes Aphyllophorales de l'île de la Réunion VII (1) Hymenochaete Lév. - Bull. Soc. Mycol. de France 103 (1) : 19–53

ANNEXE

DESCRIPTION SHEETS

I – COMMENTS

I-1- General comments

We propose six model description sheets corresponding to the following six large morphological groups: lamelles (gilled mushrooms), polypores, corticoide species (in crust), clavaroide species (corals), gasteroide species (balls) and hydnoide species (needles). These data collection sheets cover the majority of species likely to be encountered. The objective of these sheets is to act as a reminder during the macroscopic description of fresh specimens prior to conditioning collected samples. We are not targeting total exhaustibility of observations, but more a minimum base. These sheets could evolve as a result of experience and utilization. Therefore they do not cover macroscopic observations which can be done on dry material, nor the numerous microscopic observations necessary for the identification of specimens.

The first and second sections are common to all sheets. The first section to complete concerns the identification and the locality of the mushroom. Prior to completing this section a collection number is attributed as explained in the paragraph « Description ». This number becomes the herbarium number when the species is conserved, dried in «exsiccatum». Concerning the identification of the specimen, we have indicated at the top of section 1 the proposed name. This name is not necessarily the one which will be retained after precise determination, but it is important that it is conserved. The section is followed by «post study identification» which should be filled out if we arrive at a different name. The line « collector » is backed up by the line « determiner » and also « confirmation » if necessary.

The section concerning locality must be compatible with current naturalist data bases such as BDN for ONF for example. This implies that at least the department and the common position should be indicated. Following this the name of the forest and the number of the parcel should be mentioned if appropriate. If we have very precise data it can be highlighted in a polygon, and or its GPS coordinates can be indicated. Therefore in conclusion, in this section we highlight the maximum precision concerning the localisation of the collected specimen, with the minimum amount of information being the department and the common position.

The second section concerns the ecology of the collected specimen. We have provided four fields. The first one being the notion of the habitat. We record at least the large type of habitats as described in the paragraph on sampling units, for example, coastal forest, dry forest... We will naturally mention the fact that the collecting of samples has taken place either in or outside the forest. We can be even more accurate if in the region studied we are able to rely on a habitat specialist. The second section concerns the substrate in which the mushroom is growing: soil, leaf litter, wood, twigs, leaves, moss, insects, other mushrooms ... We will try to be as precise as possible. The line « stage of decomposition » concerns dead wood for which it is useful to indicate the dimensions, the presence or not of bark and the degree of decomposition. The section is completed if appropriate with the name of the host by preferably using the taxonomic reference for the considered group. The host might include for example, the supporting tree or plant, the associated tree or plant or the parasited insect or mushroom.

I-2- Comments : Gilled mushroom sheet

Description of fresh specimens is very important for gilled mushrooms in particular colour as they are often unrecognisable after drying. Moreover, hygrophane and odor characteristics should also be recorded in the field if appropriate. For the complete description of gilled mushrooms, the reader can refer to a number of taxonomy books, for example the guide by Courtecuisse and Duhem (2011) published by the editor Delachaux & Niestlé.

I-3- Comments : Polypore sheet

Concerning polypores, the identification of the host for a living tree or the species of dead wood is a very important parameter to be collected. Additionally the type of rot observed is also important although it is more difficult to observe: white fibrous or brown cubic for example. The sheet concerns polypores with caps and sometimes also cap and foot in addition to resupine polypores.

For the latter, the dimensions of pores and the relative characteristics of the shape of the cap should also be noted.

I-4- Comments : Clavaroide sheet

These species can be found in the soil or on different substrates: wood, leaves, branches etc... We have indicated the notion of fertility at the base of the basidome as certain « simple » clavaires have a sterile base assimilated to a foot. Macro-chemical reactions concern the genus *Ramaria*

I-5- Comments : Corticioides sheet

Certain corticiode species do not occupy ligneous substrates in contrast to the majority of species of this group.

I-6- Comments : Hydnoides sheet

This sheet is very similar to the Polypore sheet. We have included the hydnoide and resupine forms.

I-7- Comments : Gasteroides sheet

The gasteroide group is heterogeneous (and polyphyletic). This descriptive sheet applies to the least complex organisms: the genus *Geastrum*, *Pisolithus*, *Scleroderma*, *Tulostoma*...but not Nidulariales or Phallales.

II – DESCRIPTIVE SHEETS

The six descriptive sheets stand in the following pages.

Harvesting N°:	Gilled mushroom sheet
Name proposed :	Post study identification:
Date of collection :	
Locality :	
Collectors name:	
Determiner:	Confirmation:

Ecology

Habitat :	
Substrate :	Stage of decomposition :
Host :	

Cap

Diameter :
Form :
Margin :
Coating :
Colour (from the centre towards the edge) :
Cuticle, hygrophany, colours when dry:

Gills

Spacing
Number of lamellules by gill on the cap :
Insertion :
Colour of gills (young, to maturity) :
Ridge (colour, regularity) :
Other characteristics:

Foot

Length, diameter:
General form:
Colour :
Partial veil:
Interior:
Consistency (fibrous, brittle) :
Presence/absence of rhizomorphes :
Odour:

Harvesting N°:	Polypore sheet
Proposed name :	Post study identification:
Collection date :	
Locality :	
Collectors name:	
Determiner :	Confirmation :

Ecology

Habitat :	
Substrate :	Stage of decomposition :
Host :	

Macroscopy

Size :
Form :
Colour of cap :
Aspect of cap :
Colour and aspect of the hymenophore:
Pore dimension (number/mm):
Marge(aspect, colour) :
Foot (length):
Length of tubes:
Skin (consistency, thickness, homogeneity) :
Presence absence of rhizomorphes :
Odour :

Harvesting N°:	Clavaroides sheet
Proposed name :	Post study identification:
Collection date :	
Locality :	
Collectors name:	
Determiner :	Confirmation :

Ecology

Habitat :	
Substrate :	Stage of decomposition :
Host :	

Macroscopy

Size :
Form (cauliflower, coral) :
Colour :
Fertility at the of the basidiome :
Presence of a foot :
Skin (colour, nature) :
Form of the ramification :
Branches (colour, form) :
Extremities (colour, form) :
Presence/absence of rhizomorphes :
Macro-chemical reactions:
Odour:

Harvesting N°:	Corticoides sheet
Proposed name :	Post study identification:
Collection date :	
Locality :	
Collectors name:	
Determiner :	Confirmation :

Ecology

Habitat :	
Substrate :	Stage of decomposition :
Host :	

Macroscopy

Size :
Form :
Colour :
Hymenophore (aspect, consistency, thickness) :
Adherent to the substrate :
Marge(aspect, colour) :
Presence/absence of rhizomorphes :
Subiculum (colour) :
Chair(consistency, thickness) :
Macro-chemical reactions :
Odour :

Harvesting N°:	Gasteroides sheet
Proposed name :	Post study identification:
Collection date:	
Locality :	
Collectors name :	
Determiner :	Confirmation :

Ecology

Habitat :	
Substrate :	Stage of decomposition :
Host :	

Macroscopy

Form :
Size (Length, width, height) :
Sphere (colour, diameter, aspect)
Opening of the sphere (peristome):
Thickness of the envelope :
Colour of the gleba (young to maturity) :
Attachment to a stroma :
Base of the sphere (foot, apophysis) :
Foot (size, colour, aspect) :
Presence of exoperidium :
Presence/absence of rhizomorphes :
Odour :

Harvesting N°:	Hydnoides sheet
Proposed name :	Post study identification:
Collection date :	
Locality :	
Collectors name :	
Determiner :	Confirmation :

Ecology

Habitat :	
Substrate :	Stage of decomposition :
Host :	

Macroscopy

Size :
Form :
Colour :
Density of needles :
Length of needles :
Marge (aspect, colour) :
Foot (length) :
Skin (consistency, thickness) :
Presence/absence of rhizomorphes :
Odour :

Dans la même collection

- N° 1 Le Balbuzard pêcheur - Etude de la population nicheuse en région Centre
- N° 2 XI^e Congrès forestier mondial - Contributions des personnels de l'Office national des forêts
- N° 3 Un massif forestier et son histoire : la forêt de Saint-Antoine
- N° 4 Foresterie internationale - Textes de base et références à l'usage des forestiers francophones
- N° 5 Lexique des arbres forestiers du Cambodge
- N° 6 Le Genévrier thurifère (*Juniperus thurifera* L.) dans le bassin occidental de la Méditerranée : systématique, écologie, dynamique et gestion
- N° 7 Les statistiques forestières - Catalogue des sources de données anciennes 1800-1950
- N° 8 Évolution hydrographique et hydrogéologique en plaine de la Hardt et en plaine de l'III
- N° 9 Les invertébrés dans l'écosystème forestier : expression, fonction, gestion de la diversité
- N° 10 Sylvo-pastoralisme : l'expérience du Haut-Verdon
- N° 11 Connaissance et gestion durable des dunes de la côte atlantique
- N° 12 Régime forestier - Regards sur la forêt communale
- N° 13 Coléoptères saproxyliques et valeur biologique des forêts françaises
- N° 14 La bécasse des bois (*Scolopax rusticola*)
- N° 15 Effets de l'exploitation forestière sur la qualité des sols
- N° 16 La forêt face au changement climatique - Adapter la gestion forestière
- N° 17 Le voyage des plantes - Actes du colloque de Pézanin
- N° 18 Les mammifères forestiers (Actes du XXVIII^e colloque francophone de mammologie de la SFEPM - 21-22-23 octobre 2005 à la Bergerie Nationale de Rambouillet (78))
- N° 19 L'étude des insectes en forêt : méthodes et techniques, éléments essentiels pour une standardisation : synthèse des réflexions menées par le groupe de travail "Inventaires entomologiques en forêt" (Inv.Ent.For.)
- N° 20 Sociétés bocagères et pratiques forestières : L'exemple de la forêt de Saint-Sever XVII^e-XIX^e siècles
- N° 21 Effets des interventions sylvicoles sur la diversité génétique des arbres forestiers
- N° 22 Les amendements calco-magnésiens en forêt - Impact sur le fonctionnement de l'écosystème
- N° 23 Louis de Froidour - (1626 - 1685) Notre héritage forestier
- N° 24 Histoire et traditions forestières - Colloque HisTraFor 2012
- N° 25 Évaluation patrimoniale des populations de pin à crochets aux Pyrénées
- N° 26 Histoire et traditions forestières - 2^e colloque HisTraFor 2013
- N° 27 Histoire et traditions forestières - 3^e colloque HisTraFor 2014
- N° 28 Histoire et traditions forestières - 4^e colloque HisTraFor 2015

Ces ouvrages sont disponibles dans le point de distribution suivant :

- Office national des forêts - Département recherche, développement & innovation - Boulevard de Constance - 77300 Fontainebleau



DIRECTION FORÊTS ET RISQUES NATURELS
2, avenue de Saint-Mandé - 75570 Paris cedex 12 - FRANCE
Tél : (33) 1 40 19 58 00 - Fax : (33) 1 40 19 78 03
www.onf.fr