

CAFAM 2016

Conférence Annuelle des Fédérations et Associations Mycologiques

les 17 au 18 mai à Conol, Verrières en Forez (Loire)



De gauche à droite :

Robert CAZENAVE, Pierre-Arthur MOREAU, Yves COURTIEU, Daniel SUGNY, Yves CESTAC, Patrice LAINE, Olivier DAILLANT, Jean CHABROL, René CHALANGE, Alain FAVRE, Raphaël HERVE, Jean-Luc MULLER, Francis FOUCHIER, Jean-Paul MEYER, Gilles MABON

CAFAM 2016 organisée par la Société mycologique de France (SMF)

Secrétaire de séance : Pierre-Arthur Moreau (SMF)

Sommaire

Sommaire.....	2
Liste des participants.....	3
Ordre du jour	3
01) Mise à jour de liste de diffusion.....	4
02) Calendrier des manifestations mycologiques de l'année 2016 et des années suivantes	4
03) Présentation d'AdoniF	4
04) Avancement des travaux de la Liste rouge nationale.....	5
05) Bilan des avancées en matière de biologie moléculaire - Journée ADN à l'INRA Champenoux....	6
06) Mycoseq	6
07) Collaboration avec une équipe de chercheurs dans le cadre de la détermination rapide des échantillons par spectrographie de masse des protéines.....	6
08) Mycoliste	6
09) Mise à jour du référentiel pour la fonge de France.....	7
10) Abandon des frais aux associations.....	8
11) Point sur la lettre envoyée à l'Agence française pour la biodiversité.....	9
12) Poursuite d'un projet commun de financement FAMM/FMBDS et Université de Montpellier pour procéder à la révision de l'herbier Donadini	9
13) Point sur le projet de décret concernant les champignons commercialisables.....	10
14) Résultats d'analyse sur la radioactivité	10
15) Projet en 3 volets concernant la protection de la fonge comtoise, financée par la région en 2015, dans le cadre du fonds régional de la biodiversité.....	11
16) Bilan succinct de la CAFAM 2016.....	11

Annexes

Annexe I : Journées ADN à l'INRA de Champenoux	12
Annexe II : Application de la spectrographie de masse aux macromycètes.....	15
Annexe III : Charte d'application de la Mycoliste.....	33
Annexe IV : Réponse de la secrétaire d'état chargée de la biodiversité	36
Annexe V : Projet de révision de l'herbier Donadini	37

Liste des participants

AdoniF, Société mycologique de France, Société mycologique du nord de la France :
Pierre-Arthur MOREAU

Association Mycologique de Bigorre :
Robert CAZENAVE

FAMM : Fédération des Associations Mycologiques Méditerranéennes
Jean CHABROL et Francis FOUCHIER

FAMO : Fédération des Associations Mycologiques de l'Ouest
Raphaël HERVÉ

FMBDS : Fédération Mycologique et Botanique Dauphiné-Savoie
Yves COURTIEU et Alain FAVRE

FME : Fédération Mycologique de l'Est
Jean-Paul MEYER, Jean-Luc MULLER et Daniel SUGNY

OM : Observatoire Mycologique
Olivier DAILLANT et Gilles MABON

SMB : Société Mycologique du Béarn
Yves CESTAC

SMF : Société Mycologique de France
René CHALANGE et Patrice LAINE

Ordre du jour

Mardi 17 mai 14 h.

- Accueil - Tour de table - Présentation des participants (René Chalange)
- Présentation de l'ordre du jour (René Chalange)
- Mise à jour de la liste de diffusion (René Chalange)
- Calendrier des manifestations mycologiques 2016 et années suivantes (René Chalange)
- Présentation d'AdoniF (Pierre-Arthur Moreau)
- Avancement des travaux de la Liste rouge nationale (Daniel Sugny)
- Bilan des avancées en matière d'analyses moléculaires, journée ADN à l'INRA Champenoux (Jean-Luc Muller et Jean-Paul Meyer)
- MycoSeq (Patrice Lainé)
- 18 h 30 : Apéritif offert par la SMF

Mardi 17 mai 21 h.

- Collaboration avec une équipe de chercheurs dans le cadre de la détermination rapide d'échantillons par spectrographie de masse des protéines (Francis Fouchier)
- Mycoliste (René Chalange)
- Mise à jour du référentiel pour la fonge de France (Daniel Sugny)
- Abandon des frais aux associations (Robert Cazenave)

Mercredi 18 mai 9 h.

- Point sur le courrier envoyé à l'Agence nationale pour la biodiversité (Daniel Sugny)
- Poursuite du projet commun de recherche de financement FAMM/FMBDS et Université de Montpellier pour procéder à la révision de l'herbier Donadini (Yves Courtieu)
- Point sur le projet de décret concernant les champignons commercialisables (René Chalange)
- Résultats d'analyses sur la radioactivité (Olivier Daillant et Gilles Mabon)

- Projet en 3 volets concernant la protection de la fonge comtoise, financé par la région en 2015 dans le cadre du fonds régional pour la biodiversité (Daniel Sugny)
- Bilan succinct CAFAM 2016 (René Chalange et tous)

Mardi 17 mai 2016 : Début de la réunion

La séance est ouverte à 14 h 20 par René Chalange, président de la SMF (société organisatrice). Il excuse Daniel et Bernard Overal de la FAMB ainsi que Pascal Ducos de la SOMYLA qui n'ont pas pu adapter leurs impératifs au changement de date décidé *in extremis*.

• Présentation des participants

Chacun des 15 participants se présente.

• Présentation de l'ordre du jour

Jean Chabrol, rapporteur de la réunion de 2015 signale quelques modifications effectuées sur le compte rendu avant sa publication sur le site de la FMBDS. Tous les présents approuvent cette version publiée.

L'ordre du jour de la CAFAM 2016 est présenté et approuvé par les participants.

• 01) Mise à jour de la liste de diffusion

René Chalange présente la liste actuelle des adresses abonnées à la liste Coordination nationale, gérée par Jacques Melot (SMF). La liste contient les adresses de toutes les personnes s'étant inscrites aux éditions précédentes de la CAFAM, ainsi que celles présentes et excusées cette année. Les participants demandant des modifications les enverront par courriel à René.

• 02) Calendrier des manifestations mycologiques 2016 et années suivantes

2016 :

- JEC (Journées européennes des cortinaires) : du 28 août au 3 septembre à Borgsjö (Suède)
- SMF : du 19 au 24 septembre à Egat (Pyrénées-Orientales)
- Bellême du 29 septembre au 2 octobre
- FAMB/FMBDS : du 24 au 29 octobre à Bédarieux (Hérault)
- CEMM : du 25 au 30 septembre à Sempeyre (Val Varaita, près du Mont Viso) Italie
- Journées de Haute-Auvergne : du 27 septembre au 2 octobre à Riom-es-Montagnes (Cantal)

2017 :

- FMBDS : du 28 septembre au 1^{er} octobre à Evian (Haute-Savoie)
- Bellême : du 28 septembre au 1^{er} octobre

2018 :

- FAMB : à Egat (Pyrénées-Orientales)

2019 :

- Session conjointe FMBDS/FAMB vers La Tour-du-Pin (Isère)

• 03) Présentation d'AdoniF

AdoniF est une association Loi 1901, fondée en juin 2015, peu de temps après la CAFAM 2015. Ses statuts sont présentés ; il s'agit d'une association à vocation technique, dont les buts sont le développement d'outils informatiques à destination des mycologues, et la participation à leur utilisation. Le Conseil d'Administration est constitué de trois Membres fondateurs (AscoFrance, SMF, SMNF), représentés par leur Président, et du Bureau, constitué de 9 personnes. Les membres actifs, qui s'acquittent d'une cotisation actuellement fixée à

5 euros annuels, ont droit de vote à l'Assemblée générale. Les membres adhérents, exempts de cotisation, représentent les usagers « connectés », ayant fait la demande d'un identifiant sur le site www.adonif.fr.

La raison d'être d'AdoniF est le développement du domaine internet éponyme (www.adonif.fr), constitué de trois bases de données interconnectées : la base Inventaire où sont cataloguées les données naturalistes (au minimum : nom de genre, département, date), la base Bibliographie actuellement alimentée par Alain Delannoy et Jean-Pierre Dubus, et la base Référentiel, qui sert également d'atelier pour la mise à jour du référentiel national TaxRef.

La première Assemblée générale publique d'AdoniF aura lieu le 27 juin 2016 à Lille, à la faculté de Pharmacie. Diverses mises au point seront discutées à cette occasion. Des invitations seront envoyées aux associations et fédérations, aussi largement que possible, avec les documents (encore en préparation) de la présentation d'AdoniF à l'intention de leurs membres.

Concernant la base Inventaire, sa vocation est de servir d'interface de consultation de l'ensemble des données françaises sur les champignons. Ceci demandera la préparation de convention d'échanges de données, telles que celle déjà signée entre la SMF, Réserves Naturelles de France et AdoniF. La Fédération des Conservatoires botaniques et l'Office National des Forêts sont déjà contactés, avec un retour favorable.

L'interface de consultation et de saisie de données ne contient pas, pour l'instant de module de cartographie ; le portail de la SMNF, miroir régional de la base national, en propose une, sur la base des couches Ppige issues du partenariat entre la SMNF et la Région au titre de « pôle Fonge ». Le développement de la cartographie, déjà envisagé, se heurte à des difficultés techniques mineures, mais aussi à l'acquisition des sources (fonds de carte). L'amélioration générale de l'ergonomie du site, ainsi que l'adaptation d'une application de saisie in situ sur smartphones Apple et Windows, sont prévues pour cette année, financées par la SMNF. R. Cazenave propose de mettre à la disposition d'AdoniF une partie de la réserve acquise par la Société Mycologique de Bigorre par la vente des « Marchand ». Cette contribution, en phase avec l'esprit collaboratif qui a présidé à la création d'AdoniF, devrait permettre la réalisation de la totalité des fonctions cartographiques cet été.

La saisie des données naturalistes dans la base demandera également un budget afin de rémunérer des volontaires. Y. Sellier (RNF), dans le cadre des activités du groupe Liste rouge, suggère le recrutement de Services civils, des jeunes de moins de 25 ans pouvant être rémunérés sur des durées courtes à coût modique. La saisie des données d'archives, en particulier celles de l'Inventaire national stockées à Lille par R. Courtecuisse, a également été évaluée par Yann, qui évalue la quantité de travail à 4 ans. La question sera étudiée sérieusement avant l'assemblée générale d'AdoniF.

Y. Courtieu, pour la FMBDS, se déclare impatient de recevoir les documents d'utilisation d'AdoniF, afin de les diffuser au sein de la FMBDS. Nicolas Van Vooren, développeur de l'application Mycoflore, est pressenti pour participer activement aux projets d'AdoniF. Il sera directement contacté par P.-A. Moreau.

L'accueil réservé à AdoniF est positif, sans réserve autre que des questions, importantes, de modalités et de capacités de fourniture des données et de financement des projets.

• 04) Avancement des travaux sur la Liste rouge nationale

La méthodologie d'élaboration des listes rouges a été finalisée et présentée en 2015. Elle a été appliquée au niveau régional à travers les listes rouges Franche-Comté et Midi-Pyrénées. Il reste un énorme travail : mettre en place une base de données pour centraliser les données au niveau national et organiser la remontée des données, par exemple à partir des bases existantes comme celles des Conservatoires botaniques, ou celle des Réserves Naturelles de France, nommée SERENA.

La masse de données nécessaires à inclure dans les bases a été estimée par Yann Sellier sur la base des données papier de l'Inventaire national, conservées à Lille. Environ un million de données élémentaires ont été estimées, le recrutement de volontaires en service civique est l'option la plus réaliste pour exploiter ces données.

Une demande de subvention est en cours de préparation au niveau de la SMF en vue de numériser les données fongiques françaises. L'embauche de plusieurs personnes en service civique est envisagée pour piloter la numérisation des données, solliciter les fédérations et les associations mycologiques, dans le but de contribuer à la constitution de la base de données nationale. D'autre part, tous les mycologues qui le souhaitent pourront transmettre leurs données au conservatoire de leur région ou les saisir dans AdoniF.

Une convention a été signée entre la SMF, AdoniF et Réserves Naturelles de France ; une autre est en cours de mise en place entre la SMF et la fédération des Conservatoires Nationaux (FCBN), pour permettre les échanges de données.

- **05) Bilan des avancées en matière d'analyses moléculaires (Journée ADN à l'INRA Champenoux)**

Les journées organisées par l'INRA et la FME en 2016 ont permis aux mycologues de connaître les avancées dans le domaine de la biologie moléculaire. Histoire et structure de l'ADN, transcriptomique (F. Le Tacon), évolution des génomes des champignons symbiotiques et saprophytes (A. Kohler, F. Martin), génomique des pathogènes (J. Duplessis), identification moléculaire et spéciation (C. Murat), séquençage à haut débit et description des communautés fongiques (M. Buée), analyse et interprétation des séquences, caractérisation des individus de *Tuber* dans les truffières (H. de la Varga).

Une prochaine édition n'est pas encore à l'ordre du jour, mais d'autres événements autour de la biologie moléculaire seront envisagés par la FME.

Le résumé des interventions se trouve en Annexe 1.

- **06) MycoSeq**

Le projet MycoSeq est un partenariat entre la Société mycologique de France et le Centre d'écologie fonctionnelle et évolutive (CEFE, Montpellier) visant à promouvoir la production de connaissances mycologiques via l'outil moléculaire, leur valorisation scientifique et leur diffusion grâce à une collaboration entre mycologues amateurs et académiques. Il propose aux membres de la SMF, sous la responsabilité de celle-ci, l'accès au séquençage de marqueurs ADN réalisé par le CEFE, à travers une convention signée le 13 décembre 2015.

Cette initiative répond à une demande croissante de la communauté mycologique d'accéder au séquençage de récoltes personnelles, mais aussi d'être accompagnée vers l'intégration des approches phylogénétiques en taxinomie fongique. MycoSeq est conçu pour répondre à cette double demande, en grande partie sur la base du bénévolat de ses acteurs et sans recherche de profit pécuniaire, les sommes perçues auprès des demandeurs permettant juste de couvrir les frais d'analyse.

Moyennant une participation aux frais de 12 euros (TTC) par séquence, les demandeurs obtiendront en retour une séquence ADN vérifiée au format FASTA et un chromatogramme au format pdf, par courrier électronique. Le demandeur pourra obtenir des conseils auprès de la commission avant la validation de sa demande de séquençage, et par la suite une aide à l'analyse, à l'interprétation et à la publication éventuelle de ses séquences. La propriété des résultats est partagée, ce qui suppose d'avoir l'accord de tous les partenaires pour l'utilisation et la publication des séquences.

La SMF encouragera vivement les demandeurs à publier leurs résultats sous forme d'articles dans le *Bulletin de la Société mycologique de France*, sans décourager pour autant la valorisation de résultats ponctuels dans les autres bulletins associatifs.

- **07) Collaboration avec une équipe de chercheurs dans le cadre de la détermination rapide d'échantillons par spectrographie de masse des protéines**

Il s'agit d'une collaboration entre la Société Mycologique de Provence et la faculté de pharmacie de Marseille (Piarroux & Normand). Les champignons dûment identifiés sont fournis aux chercheurs, qui ont développé un outil de caractérisation des espèces par spectrographie de masse des protéines (« Maldi-tof »), originellement conçu pour identifier les pathogènes humains. Les spécimens sont également séquencés pour l'ITS pour en confirmer l'identité. Plusieurs centaines de carpophores ont déjà été analysés, avec des comparaisons de mêmes spécimens au cours des 5 jours suivant la cueillette. Les résultats sont interprétables à 75 % environ, avec une variabilité entre spécimens d'une même espèce, et d'un organe à l'autre, qui rend encore difficile l'interprétation ; mais le nombre d'échantillons croissants améliore l'identification et ces résultats sont prometteurs pour l'identification d'espèces bien documentées, lorsque l'ITS ne peut pas être séquencé.

Le lendemain matin, Francis Fouchier montre d'appétissantes photos du laboratoire de pathologie de la faculté de Marseille, illustrant les protocoles d'identification des mycoparasites.

- **08) Mycoliste**

Antoine Villa, responsable des intoxications par champignons au CAP Fernand Widal de Paris, est un des initiateurs de la Mycoliste. Nous l'avons contacté suite au problème évoqué l'an dernier de la responsabilité

des mycologues déterminateurs. Il nous a répondu qu'il a contacté leur service juridique afin de répondre à notre (nos) sollicitation (s) depuis plus d'un an (faites par Jean-Pierre Fombeur, ancien médecin chef de service et membre de la commission toxicologie et prévention de la SMF) afin que les mycologues ne puissent pas être mis en cause par les déterminations sur photos. Ainsi un article de cette charte a été modifié et répond ainsi à nos demandes. Antoine a envoyé cette charte afin que nous en discutions lors de cette CAFAM. Si cette charte convient, elle sera envoyée sur Mycoliste afin que tous nos collègues puissent en prendre connaissance. Voir en Annexe 3.

D'autre part, le dépouillement des cas présentés sur Mycoliste est en cours (identification champignon par la Mycoliste + dossiers SICAP au niveau national). L'analyse des données est un travail énorme.

R. Cazenave signale l'initiative d'un ami pharmacien qui suggère de créer un réseau entre pharmaciens et mycologues, comme ressource d'information pour aider à la reconnaissance des apports du public en officine.

• 09) Mise à jour du référentiel pour la fonge de France

Suite aux évolutions récentes de la nomenclature concernant les taxons fongiques et les besoins de différentes structures de disposer de référentiels à jour (conservatoires, fédérations, associations), un point sur la mise à jour de TAXREF pour la fonge est demandé.

En effet, quand nous avons à faire une publication, le nom qui figure dans TAXREF ne correspond pas toujours aux noms parus dans des publications récentes. De même, la mise à jour des référentiels des conservatoires botaniques pour la fonge ne peut pas être faite si le référentiel national n'est pas mis à jour.

En conséquence, de nombreux mycologues commencent à utiliser d'autres référentiels pour être le plus à jour possible (Mycobank, Index Fungorum) tout en disant qu'ils ne sont pas forcément fiables à 100 %.

La version TAXREF v9.0 mise en ligne le 9 décembre 2015 n'a pas été mise à jour pour la fonge. Cette version date de 2009. C'est Régis Courtecuisse qui est la personne référente concernant la fonge de TAXREF.

Les prochaines phases concernant la mise à jour de TAXREF pour la fonge sont les suivantes :

- a) lancement de la structuration du groupe de travail **Asco** (à partir d'une base inexistante) et **Basidio** (mise à jour d'une base existante), ces deux groupes de travail allant fonctionner via **Adonif**.
- b) fonctionnement des deux groupes de travail avec pour objectif les référentiels **Asco** et **Basidio** à jour à la mi-2017.

Le groupe **Basidio** comprend, par exemple : Régis Courtecuisse et Gilles Corriol.

Le groupe **Asco** comprend, par exemple : Alain Gardiennet, François Valade et Jean-Paul Priou.

Important : le principe de travail est d'utiliser au maximum les informations provenant de Mycobank et d'Index Fungorum et de justifier les appellations quand il y aura des différences.

Un suivi des prochaines mises à jour de TAXREF pour la fonge est proposé au niveau de la CAFAM.

• 10) Abandon des frais aux associations

L'« abandon de frais » est un sujet qui avait été abordé par Jean-Pierre Augst, il y a quelques années, lors d'une CAFAM. Robert Cazenave revient sur ce thème par rapport aux difficultés rencontrées par l'Association Mycologique de Bigorre.

Rappel sur le principe :

Sous certaines conditions, un membre bénévole œuvrant dans l'intérêt et pour l'objet de son association peut présenter à celle-ci une note de frais relative à ses déplacements. Deux solutions sont possibles, ou bien il se fait payer ses frais ou bien il procède à un « Abandon de frais », c'est à dire qu'il fait cadeau à l'association de ses frais. En contrepartie, il peut déclarer aux impôts cet abandon qui pourra lui donner une réduction d'impôt correspondant à 66% du montant des frais abandonnés.

Principales Conditions :

- La possibilité d'effectuer l'abandon de frais doit être spécifiée dans les statuts ou le règlement intérieur.

- Il faut que les montants de ces frais (en dépense) et du don correspondant (en recette) apparaissent dans le budget prévisionnel et dans le bilan financier annuel.
- Le bénévole doit justifier ses frais de déplacement (factures ou autres...).
- L'association doit délivrer un reçu fiscal au donateur.
- L'association doit être reconnue d'Intérêt Général (voir article 200 et 238 bis du Code Général des Impôts).

Problématique

L'Association Mycologique de Bigorre applique l'Abandon de frais depuis quelques années considérant qu'elle rentrait dans le cadre des Association d'Intérêt Général (IG).

Dernièrement elle a voulu « officialiser » ce principe en faisant une demande Rescrit auprès des services des Impôts, afin de s'assurer qu'elle était bien reconnue d'IG comme de nombreuses autres associations mycologiques. A sa grande surprise elle a reçu une réponse NEGATIVE !!!

En réponse à ce courrier, elle a fait une demande de second examen de cette décision.

Une demande d'aborder ce sujet lors de cette CAFAM a été faite, afin que chacun apporte son expérience sur le sujet et pour que l'association puisse se préparer à ce deuxième examen.

Justification de la position en Intérêt général

La discussion a porté surtout sur l'interprétation de l'article 200-1 du CGI qui précise que la reconnaissance d'IG est réservée aux associations « *ayant un caractère philanthropique, éducatif, scientifique, social, humanitaire, sportif, familial, culturel, ou concourant à la mise en valeur du patrimoine artistique, notamment à travers les souscriptions ouvertes pour financer l'achat d'objets ou d'œuvres d'art destinés à rejoindre les collections d'un musée de France accessibles au public, à la défense de l'environnement naturel ou à la diffusion de la culture, de la langue et des connaissances scientifiques françaises* ».

Chaque caractère est analysé pour voir s'il peut être défendu par l'AMB et par conséquent par diverses Associations mycologiques qui voudraient faire une demande de Rescrit à l'avenir.

Caractère scientifique : Il est bien sûr à défendre de l'avis de tous, et les divers arguments pour appuyer ce caractère sont évoqués : Participation à divers programmes scientifiques (RENECOFOR, liste rouge régionale...), découverte de nouvelles espèces pour la région, pour la France ou tout simplement d'une nouvelle espèce pour la science, comme *Hypoxylon cazenavei*. La notion de la diffusion des connaissances scientifiques est abordée au travers des contacts avec le public. Le manque de diffusion par publication est tout de même à défendre pour les articles en cours et pour ceux écrits par certains membres ou anciens membres de l'Association (Gilles Corriol, Françoise Candoussau...).

Caractère éducatif : Le caractère éducatif de l'association est indéniable. Lors des expositions ou des sorties organisées, nous employons de nombreux moyens pour éduquer le public (oralement, panneaux pédagogiques, conférences...). Ainsi nous enseignons les bases de la mycologie et de la microscopie, la prévention des intoxications et le respect de l'environnement. Nous avons aussi organisé des journées de formation à la détermination d'espèces pour le compte de pharmaciens et de docteurs.

Caractère philanthropique : En suivant la définition de ce terme : « Générosité, désintéressement avec pour but l'amélioration de la vie d'autrui », il est certainement possible de défendre notre concours à la prévention des intoxications. En effet, nous apportons une aide de manière désintéressée à un très large public pour éviter des intoxications graves et quelques fois mortelles !! Il ne s'agit pas seulement de l'amélioration de la vie d'autrui, mais de sa sauvegarde !...

Défense de l'environnement naturel : Cet argument peut être mis en avant lorsque des actions réelles sont mises en œuvre. Ce n'est peut-être pas généralement le cas pour nos associations... Nous œuvrons dans ce domaine au niveau éducation du public.

Une remarque est apportée par Gilles Mabon en ce qui concerne ce sujet. Il est possible de faire une demande à la préfecture pour l'obtention d'un agrément « protection de l'environnement ». Si cet agrément est obtenu, il peut certainement être utilisé pour la reconnaissance en IG.

Jurisprudence

De nombreuses associations mycologiques ont déjà été reconnues d'IG pour leur Centre des Impôts.

Ces associations fonctionnant comme l'AMB, et ayant une activité comparable, leur habilitation pourrait constituer peut-être une jurisprudence...

On peut citer entre autres : Société Mycologique de Strasbourg, Société Mycologique de la Roche sur Yon, Société Mycologique des Hautes-Alpes, Société Mycologique de l'Arbresle, Association Mycologique de Cotentin Valognes, Association Ascomycètes.

Quelques participants se proposent d'envoyer à Robert Cazenave des documents relatifs à ce sujet.

Mercredi 18 mai 2016, 9 h 15 : Reprise de la réunion

• 11) Point sur le courrier envoyé à l'Agence nationale pour la biodiversité

Suite à l'envoi début janvier 2016 de la lettre concernant la prise en compte de la fonge au sein de la future Agence française pour la biodiversité, et après quelques relances, nous avons reçu une première réponse d'Olivier Laroussinie le 2 mars, dans laquelle il dit :

Bonjour,

toutes mes excuses pour mon absence de réponse et je vous remercie beaucoup pour votre courrier et les propositions qu'il fait. Plongé dans une phase plutôt tournée vers les questions d'organisation interne, j'ai manqué d'attention pour les sujets de fond et les partenariats dont l'AFB aura besoin.

La ministre a souhaité me remplacer à la direction de la préfiguration de l'AFB par Monsieur Christophe AUBEL (directeur de Humanité et biodiversité). Je lui ai transmis votre courrier. Je crois qu'une rencontre serait utile avec l'équipe de préfiguration pour échanger sur la meilleure façon de prendre en compte la fonge et de mettre en place le partenariat entre l'agence et les organisations que vous représentez.

Le 6 mars 2016, Yann Sellier, qui a envoyé le courrier, a écrit :

Bonjour M. Laroussinie,

merci pour votre retour. Il serait effectivement intéressant de se rencontrer pour discuter de vive voix de la manière de vous accompagner (équipe AFB) dans la mise en place d'une stratégie et des moyens permettant la prise en compte de la fonge dans l'agence.

Pourriez-vous me transmettre le contact (courriel ou téléphone) de la personne avec qui fixer cette rencontre.

Suite à cela, Yann Sellier essaie de mettre en place une rencontre entre les représentants de l'AFB et des représentants du groupe de travail « Liste rouge nationale » mais pour l'instant aucune date n'est fixée.

Yann Sellier a reçu vers la mi-avril une première réponse de madame Barbara Pompili, secrétaire d'état chargée de la biodiversité (voir cette lettre en annexe 4 du compte rendu).

• 12) Poursuite du projet commun de recherche de financement FAMM/FMBDS et Université de Montpellier pour procéder à la révision de l'herbier Donadini

Deux documents (voir ci-dessous) sont projetés pour faire le point sur les projets de révision de cet herbier, projets initiés par le Président de Ascomycete.org, Nicolas Van Vooren, pour le moment encore peu finalisés, notamment sur le plan du financement à prévoir.

Yves Courtieu propose que ce financement soit partagé au plan national plutôt que supporté par les seules fédérations de la FMBDS et de la FAMM, voire la CEMM. Cette proposition d'ouverture reçoit un accueil intéressé de la part de Pierre-Arthur Moreau, lequel a participé à une réunion de travail au sujet de cet herbier (réunion dont le compte rendu fait partie des deux pièces projetées) en janvier 2015, avec les représentants de la Faculté de Montpellier, dépositaire de l'herbier Donadini.

Francis Fouchier fait part de ses informations sur le travail actuellement en cours à la faculté de Montpellier et effectué par Marie-Jo Mauruc, bénévole à l'herbier MPU de Montpellier. Ce travail est encore loin d'être terminé, notamment en ce qui concerne la numérisation des carnets et risque de durer puisque un projet en cours de numérisation de l'herbier MPU de Montpellier occupera les personnes intéressées jusqu'en 2019 (cette dernière information a été donnée par Caroline Loup, responsable de l'herbier MPU à l'université de Montpellier, peu après la CAFAM).

Il n'est pas pris de décision au sujet de ce financement, faute de temps et faute de précisions plus grandes quant à ce qu'il y aura lieu de prévoir. Les représentants de la FMBDS et de la FAMM ont convenu hors séance de refaire le point ensemble lors de la session de Bédarieux en octobre. D'ici là, les réponses de principe des autres Fédérations sur la proposition de Yves Courtieu de partager le financement devront être connues, au vu de l'état d'avancement des travaux faits à Montpellier et des projets plus précis de Nicolas Van Vooren.

Voir les documents en annexe 5.

• 13) Point sur le projet de décret concernant les champignons commercialisables

Cela fait maintenant 10 ans que nous avons été convoqués par la DGCCRF, à titre d'experts, pour la rédaction d'un projet de décret, régissant la vente des champignons sachant qu'entre autres, aucune liste nationale de champignons commercialisables n'existait, si ce n'est celle du CTCPA (Centre technique pour la conservation des produits agricoles), élaborée par ce centre lui-même. Après 6 réunions dont une avec les présidents des syndicats représentant les filières commerciales des champignons frais, des champignons en conserve, des champignons surgelés, des champignons séchés, un projet de décret a été élaboré. Depuis, la responsable que nous connaissions est partie à la retraite, et sa remplaçante après quelques temps ne semblait pas être au courant de ce qui avait été fait.

Notre groupe de travail composé de Philippe Saviuc mycotoxicologue, Jean-Pierre Fombeur ancien chef de service et mycologue et René Chalange, mycologue avait émis des réserves quant aux espèces : *Suillus granulatus*, *Russula olivacea* et *Armillaria mellea*, en fournissant des articles scientifiques montrant des intoxications, plus ou moins sérieuses avec ces champignons.

Nous avons relancé la DGCCRF chaque année, sentant que les choses ne bougeaient pas beaucoup. Celle-ci, se jugeant incompétente a saisi l'ANSES (Agence nationale de sécurité alimentaire) afin que son comité d'experts étudie les questions.

Une saisine a été demandée sur les 3 champignons incriminés pour l'évaluation des risques liés à la consommation des champignons dénommés *Suillus granulatus*, *Russula olivacea* et *Armillaria mellea*. Le rapport rendu le 29 juillet et consultable sur « ANSES saisine 2014SA0256 » comporte 12 pages avec les photos des trois espèces.

Tout y est « décortiqué » et les conclusions semblent sans appel (page 8) : « les données bibliographiques montrent que les champignons appartenant aux espèces *Suillus granulatus*, *Russula olivacea* et *Armillaria mellea* ont été notifiés comme responsables d'intoxications dans plusieurs pays (France, Italie, Etats-Unis, Suisse, Espagne). Concernant *Suillus granulatus* et *Armillaria mellea*, aucune information n'indique qu'un traitement particulier, tel qu'une cuisson prolongée ou une appertisation, permettrait d'éliminer le risque d'intoxication. Le Comité d'experts scientifiques estime que la consommation de ces deux espèces est susceptible de provoquer des intoxications, même après appertisation. En ce qui concerne *Russula olivacea*, les experts estiment que le risque d'intoxication ne peut être exclu.

Par ailleurs, les experts du CES notent que la décision n° 97 du CTCPA prévoit que ces trois champignons soient commercialisés sous forme séchée. Toutefois, en absence de données indiquant que ces trois champignons ne sont pas toxiques lorsqu'ils sont consommés sous cette forme, les experts estiment que le risque d'intoxication ne peut être exclu lorsque ces champignons sont consommés sous cette forme.

Saisine pour la liste de champignons :

L'ANSES a été saisie le 6 août 2015 par la DGCCRF et a répondu le 24 novembre pour l'institution d'un décret et d'arrêtés concernant la liste nationale de champignons sauvages pouvant être commercialisés. L'ANSES préconise que la DGCCRF revoie son texte et qu'elle précise de nombreux détails... Pour nous le travail n'est pas terminé.

• 14) Résultats d'analyses sur la radioactivité

Du fait de l'éloignement des uns et du manque de disponibilité des autres, l'Observatoire mycologique a réduit ses activités de terrain. Dans la mesure où il serait dommage que les données collectées tombent aux oubliettes, il a été décidé de maintenir l'association mais de se concentrer sur le site internet www.observatoire-mycologique.fr. Il sera mis à jour périodiquement selon l'actualité mycologique et il sera toujours possible d'y trouver les résultats d'analyses. Y figureront notamment les analyses de radioactivité 2014 et 2015. Des éléments nouveaux résultant du programme d'inventaire sur les placettes RENECOFOR seront aussi mis en ligne, ainsi que l'expérience d'intercalibration réalisée en collaboration avec la SMF et l'INRA à Nancy (nous attendons les accords des auteurs pour le rapport récapitulatif avec les exploitations statistiques).

Quelques actions en cours ont néanmoins continué sur leur lancée. Il s'agit en particulier de la collaboration avec le laboratoire d'analyses A.C.R.O. qui a réalisé des mesures de radioactivité dans le cadre de sa campagne « Tchernobyl + 30 ». Ainsi des analyses de champignons (essentiellement en 2014) et de lichens (essentiellement en 2015) ont-elles été réalisées. Les résultats bruts concernant les champignons sont en ligne et des éléments plus détaillés vont l'être sous peu. On peut en particulier retenir que les espèces

mycorrhiziennes sont encore touchées de façon notable par la contamination en césium radioactif et le principal facteur de diminution est la décroissance physique de cet élément (30 ans). Ajoutons que des prélèvements des mêmes espèces (*Xerocomus chrysenteron* et *Amanita rubescens*) ont été réalisés sur la même station à des périodes différentes de l'automne : les écarts sont parfois surprenants et dépassent les écarts interannuels. Il faudra approfondir les recherches sur la corrélation avec la teneur en eau du sol (le césium étant principalement présent sous forme de sel qui entre en solution). Les mêmes phénomènes pourraient aussi intervenir pour d'autres éléments.

• **15) Projet en 3 volets concernant la protection de la fonge comtoise, financé par la région en 2015 dans le cadre du fonds régional pour la biodiversité**

Il s'agit d'un projet élaboré par la FME en coopération avec le Conservatoire botanique national de Franche-Comté. Ce projet a été financé par la région en 2015 dans le cadre du fonds régional pour la biodiversité, avec un co-financement de la DREAL:

Volet n°1 : Intégration de données mycologiques anciennes dans la base de données du Conservatoire botanique. Il reste à saisir 80 000 données anciennes (principalement de 1950 à 2014) dans cette base de données et il est important de les transférer dans un délai assez court pour alimenter la base nationale qui servira, entre autre, à élaborer la Liste rouge des champignons de France métropolitaine. Réalisation en cours avec objectif de terminer le transfert pour fin 2016. A noter que cette base va permettre aux mycologues comtois de faire des recherches sur la fonge par commune, par espèce (répartition), etc. quand ils auront besoin de données pour écrire des articles. De même, l'édition de cartes de répartition permet de faire des analyses intéressantes. Enfin, cette base devrait faciliter la prochaine mise à jour de la Liste rouge régionale des champignons.

Volet n°2 : Etablissement de la liste des espèces fongiques déterminantes pour les ZNIEFF. Il s'agit d'établir une liste de champignons à haute valeur patrimoniale (rareté ou écologie particulière) qui servira à compléter les inventaires ZNIEFF existants ou à proposer de nouvelles ZNIEFF sur la base d'espèces déterminantes pour la fonge. La liste est terminée, elle va être présentée au conseil scientifique pour validation et remise ensuite à la DREAL. Nous n'avons pas seulement proposé une liste de taxons mais aussi une cotation de chacun d'eux car les espèces ne présentent pas toutes le même intérêt patrimonial. Délai global : 1 an.

Volet n°3 : Etude de la fonge de 20 pelouses naturelles comtoises, ce type d'habitat figurant parmi les plus menacés de Franche-Comté (étude sur 3 ans). L'étude est conduite en partenariat entre la FME et le Conservatoire botanique. Il s'agit d'étudier 20 pelouses comtoises (échantillon représentatif) pour tenter de préciser les préférences écologiques des champignons, de caractériser le degré de naturalité des pelouses et de tenter de situer les champignons par rapport aux groupements végétaux. Nous en sommes à la sélection des 20 sites à étudier pour ensuite les proposer aux différentes sociétés de la FME situées en Franche-Comté, avec une méthodologie adaptée.

• **16) Bilan succinct CAFAM 2016**

René Chalange remercie les participants pour le bon déroulement de cette réunion. Les discussions ont été nombreuses allant souvent au-delà du sujet traité, mais en restant dans les limites des temps impartis. De nombreux participants considèrent que cette réunion est très enrichissante pour eux, permettant souvent de répondre à des questions qu'ils se posent et dont les réponses sont rarement données.

L'ensemble des participants considère que cette réunion reste indispensable et doit donc continuer. L'édition 2017 sera organisée par la FMBDS, sur le même site de Verrières-en-Forez, en avril-mai.

La séance est levée à 12 h 25.

Le compte rendu est rédigé par René Chalange, d'après les notes du Secrétaire de séance et avec l'appui de tous les participants.

Annexe 1

Journées ADN à l' INRA de Champenoux

par Jean-Luc Muller

Nous étions accueillis par le Centre Inra de Nancy-Lorraine qui est un centre qui axe ses recherches sur les écosystèmes forestiers (et associés) et sur l'ingénierie et la sécurité sanitaire des aliments.

Cette journée faisait suite aux dernières rencontres organisées en novembre 2011. Le but était de consolider les connaissances et de faire part des nouvelles évolutions dans le domaine.

Elle s'intitulait :

☛ **Les outils de la biologie moléculaire au service de l'étude des champignons**

Nous avons donc eu droit, le 21 novembre 2015, à 8 présentations effectuées par 7 chercheurs de l'Inra. Malgré un effort des intervenants pour se mettre au niveau de l'assemblée, il était difficile de bien comprendre les différents sujets traités.

François Le Tacon : L'ADN, histoire de la découverte et propriétés

Après quelques généralités sur l'ADN, sa découverte, sa structure et sa fonction, nous sommes entrés dans le vif du sujet, à savoir les gènes et le séquençage. Nous apprenons que dans le génome (plusieurs milliards de bases) tout l'ADN n'est pas exprimé et qu'il existe des séquences codantes et des séquences non-codantes. Les séquences codantes sont même en minorité, environ 5%. L'expression d'un gène conduit à la synthèse d'une protéine au travers de la transcription (ADN en ARN) et de la traduction (ARN en protéine). La régulation de l'expression des gènes intervient par le biais de modification des gènes, on dit aussi des modifications épigénétiques, notamment la méthylation.

Le séquençage de l'ADN consiste à déterminer l'enchaînement des nucléotides sur un fragment d'ADN donné. Au départ le séquençage était fait par la méthode de Sanger, mais récemment les techniques ont évolué d'une manière importante permettant d'aller à des vitesses de séquençage de 100 à 1000 fois plus rapides (Illumina) que les méthodes classiques.

Illumina, Inc. est une société américaine constituée en avril 1998, qui développe, fabrique et commercialise des systèmes intégrés pour l'analyse de la variation génétique et la fonction biologique. Grâce à ses technologies, la société fournit une gamme de produits et services qui servent les marchés du [séquençage](#), [génotypage](#) et [expression génétique](#). En 2013, cette technologie avait prétendument réduit le coût de [séquençage](#) de l'ADN à 4000 dollars, comparé à 1 million de dollars en 2007.

D'une manière pratique le séquençage procède selon la méthode suivante:

- Extraire l'ADN
- Fragmentation à l'aide d'enzymes de restriction
- Multiplication des fragments (par PCR). Ceci est très important pour obtenir un matériel suffisant pour le séquençage
- Séquençage proprement dit
- Assemblage des données

Il existe différentes méthodes. La méthode "BAC" procède par une carte génétique. La méthode Shotgun (ou aléatoire) procède par de petites séquences qui sont assemblées par la suite à l'aide d'algorithmes. La méthode "shotgun" est très rapide, mais l'assemblage peut être complexe du fait de multiples séquences répétées. Dans ce cas il est nécessaire de repasser par la carte génétique donc par la méthode "BAC".

Annegret Kohler : Le transcriptome

Pas tous les gènes ne sont actifs en même temps. L'expression d'un génome à un moment donné peut être étudié en considérant l'ensemble des ARN messagés dans une cellule (Transcriptome). Cela permet d'identifier les gènes actifs. Cela permet aussi de déterminer combien de gènes sont nécessaires pour une fonction donnée.

L'ARN est difficile à étudier contrairement à l'ADN qui est très stable. Le rôle de l'ARN est de passer le message, il est donc vite dégradé par les ribonucléases que l'on trouve partout (air, peau). Il convient donc de stabiliser l'ARN par des mesures particulières (Gants, congélation immédiate des échantillons dans l'azote liquide).

Etude de l'ARN : elle se fait à l'aide de la transcriptase inverse qui permet de convertir un fragment d'ARN en ADN complémentaire qui est lui plus stable et plus facile à étudier et surtout à multiplier par PCR.

Deux exemples sont donnés avec l'étude du transcriptome de la truffe noire et de *Pisolithus microcarpus*.

Francis Martin : Evolution des génomes des champignons symbiotiques et saprophytes

Comment utiliser la génomique pour comprendre l'évolution des champignons. Dans un gramme de sol forestier on peut trouver 100 espèces de champignons différents ainsi que des millions de bactéries. L'INRA s'intéresse aux macromycètes pour comprendre les cycles forestiers, notamment le piégeage du carbone.

Il existe un continuum entre les saprotrophes et les mycorrhiziques purs. Il existe 5 grands groupes:

- Pourriture blanche : dégrade la lignine et la cellulose
- Pourriture brune: dégrade juste la cellulose
- Décomposeurs de litières. Ceux là n'ont pas les "dents" assez dures
- Symbiotes ectomycorhiziques
- Pathogènes : détruit son hôte

On peut recréer des filiations évolutives entre les grands groupes. Les mycorrhiziens étaient les premiers.

D'abord les endomycorhiziens (400 millions d'années), puis les ectomycorhiziens (250 millions d'années), ensuite, plus récemment (50 millions d'années), sont apparus les mycorrhiziens ericoïdes.

Les ectomycorhiziens ont un petit génome (840-200 millions de bases) ce qui constitue un avantage pour le séquençage. On peut utiliser le génome comme une machine à remonter le temps (arbre de vie). Il existe un programme de séquençage international : 100 Fungal Genome Project.

Il s'agit d'une collaboration internationale coordonnée par le JGI en Californie (Joe Spatafora en est l'initiateur).

Comment expliquer l'émergence de la symbiose ectomycorhizique. Beaucoup d'avantages par rapport aux saprotrophes comme les pourritures blanches. Les ectomycorhiziens ont besoin de beaucoup moins d'enzymes. En revanche la dépendance aux éléments nutritifs est plus importante.

Claude Martin a, par ailleurs, sorti un livre avec comme titre « Tous les champignons portent-ils un chapeau – 90 clés pour comprendre les champignons ».

Sébastien Duplessis : Le génome des champignons pathogènes

Le pathogène se nourrit de son hôte. Ils sont apparus dans divers règnes. Il en existe plusieurs types:

- Nérotrophe : se nourrit de son hôte mort
- Biotrophe : se nourrit de son hôte vivant
- Hemibiotrophe : combine les deux types précédents.

Les modes d'entrée sont soit naturels, soit via une pénétration active. Pour les plantes, la maladie est une exception. Il existe des niveaux de résistance face aux pathogènes.

- Récepteurs à la surface des cellules : il s'agit de la résistance basale. Dans ce cas c'est bien souvent la chitine qui est détectée et induit une réponse. A ce stade le pathogène peut empêcher cette réponse immunitaire par les effecteurs.
- Récepteurs à l'intérieur de la cellule : dans ce cas-là, ce sont les effecteurs qui sont détectés.

Les pathogènes fongiques ont un rôle important sur l'homme comme conséquence directe sur son alimentation. La génomique comparative permet de comprendre ce qui fait un pathogène et quels sont les mécanismes évolutifs qui entrent en jeu. Ce travail est en cours et de nombreux gènes ont été identifiés mais on ne comprend pas encore bien à quoi ils servent.

Identifier de nouvelles méthodes de lutte...

L'identification de gènes codant des facteurs de virulence permet de décrypter leur rôle lors de l'interaction avec le système immunitaire de leurs hôtes et de trouver des moyens de faciliter leur détection ou de bloquer leur entrée chez leurs hôtes

Claude Murat : Identification moléculaire des espèces et des isolats

Comment se forment les espèces : une nouvelle espèce se forme lorsqu'une population se sépare en deux.

La spéciation est un processus lent mais il existe des exceptions :

Par exemple, les moustiques du métro de Londres (en moins de 150 ans, *Culex pipiens* a évolué en une nouvelle espèce *Culex molestus*)

Exemple de spéciation rapide chez les champignons, *Gastrospilus laricinus* s'est différencié de *Suillus grevillei* en 60 ans.

La notion d'espèce biologique est un des problèmes les plus importants dans la biologie de l'évolution. Il existe de nombreux concepts d'espèces (Mayden en 1997 dénombre pas moins de 22 concepts différents).

Comment peut-on identifier les espèces biologiques :

dans les années 40 on a commencé à pratiquer des tests d'inter fertilité. Mais tous les champignons n'ont pas de reproductions sexuées.

Approche par le génome :

identification phylogénétique. Un petit bout de génome est séquencé. Les espèces appartiennent au plus petit groupe (notion de cluster).

Marc Buée : Séquençage haut débit et description des communautés fongiques

... Environ 100 000 espèces de champignons ont été décrites jusqu'à présent, mais on estime que cette diversité serait comprise entre 1,5 et 5,1 millions d'espèces. Au cours des 10 dernières années, environ 1200 nouvelles espèces ont été décrites chaque année. A ce rythme, il faudrait au moins 4000 ans pour inventorier toutes les espèces fongiques par des approches basées sur l'identification de *specimen* ».

Le séquençage haut débit permet maintenant des résultats impossibles avant. Les coûts sont dérisoires et les résultats rapides. On peut analyser une population fongique donnée en prélevant directement des échantillons de sol. Ainsi on ne dépend plus des fructifications.

Séquences importantes pour l'étude :

- ADN ribosomique:
 - 18S : séquences très conservées car très réparées. Important pour séparer les genres entre eux.
 - ITS (Intergenal Transcribe Signal) : peu réparé par le système
- IGS/Microsatellites : non codant. Il n'existe pas de système SOS de réparation. Ces séquences sont très variables d'un individu à l'autre dans une même espèce.

Grâce à l'analyse du sol on peut même procéder à de la PCR quantitative.

François Le Tacon : Phylogénie moléculaire du genre *Tuber*

Beaucoup trop d'espèces décrites, plus de 636 espèces, sous-espèces ou variétés sont répertoriées dans Index Fungorum. Il en existerait beaucoup moins (entre 160 et 180 espèces valides).

Herminia de la Varga : Analyse des populations de *Tuber melanosporum* dans une truffière

Une étude a été réalisée au sein d'une truffière. Pour cela, on a étudié les individus d'une même espèce. Séquences microsatellites. On a même pu observer deux types de reproduction sexuée dans la même truffière.

On nous a dit aussi que les critères morphologiques utilisés pour différencier *T. uncinatum* et *T. aestivum* ne sont pas soutenus par l'analyse moléculaire.

Pour terminer, on nous a dit également que la truffe « peut, en certaines occasions, rendre les femmes plus tendres et les hommes plus aimables ». C'est d'Alexandre Dumas.

Application de la spectrographie de masse aux macromycètes

**Application de la spectrométrie de
masse aux macromycètes : résultats
préliminaires
Procédé
MALDI-TOF**

**laboratoire de Parasitologie-Mycologie,
Hôpital la Timone, Marseille**

**Dr Anne Cécile Normand, Raphaël
Piarroux**



**Assistance Publique
Hôpitaux de Marseille**

Contexte

- Pourquoi chercher une nouvelle méthode d'identification?
- Difficulté de bien identifier un macromycète
- Raréfaction des bons mycologues
- Mauvaise identification -> intoxication
- Cas de fraudes
- Séquençage coûteux

Contexte

- La spectroscopie de masse
 - Très « à la mode » en microbiologie
 - Diagnostic d'espèce rapide, précis, peu coûteux (sauf achat de l'appareil)
 - Marche très bien sur micromycètes filamenteux
 - Limite : croissance en milieu défini, pas le cas des macromycètes

Dr Anne Cécile Normand, Raphaël Piarroux

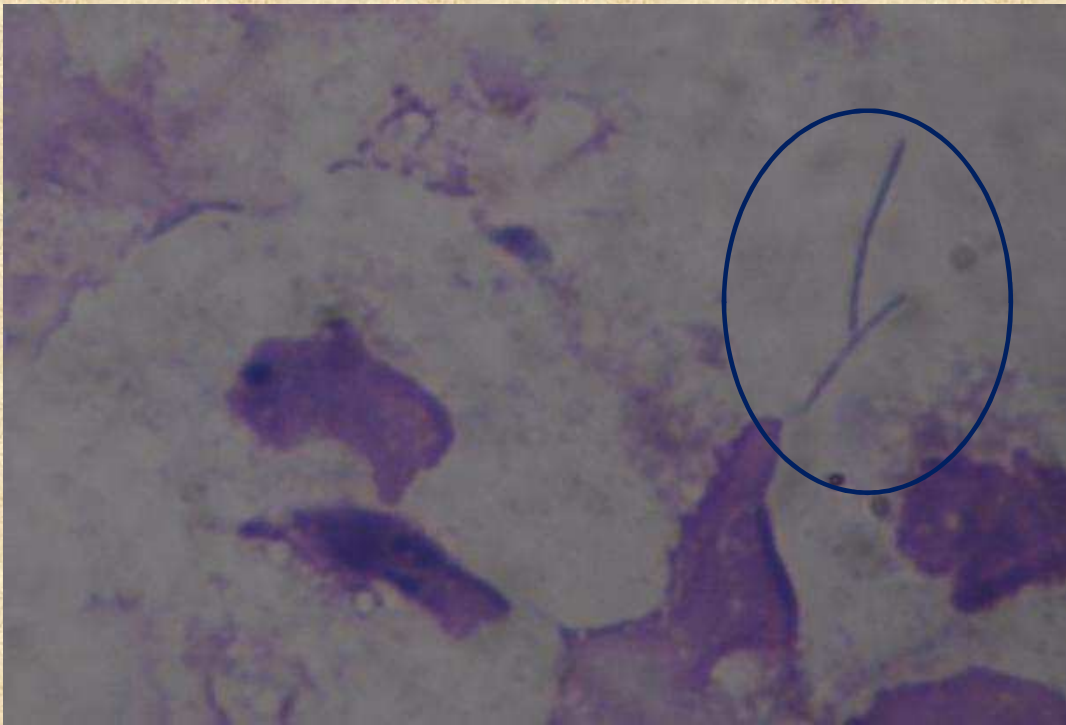
Pathogénicité humaine



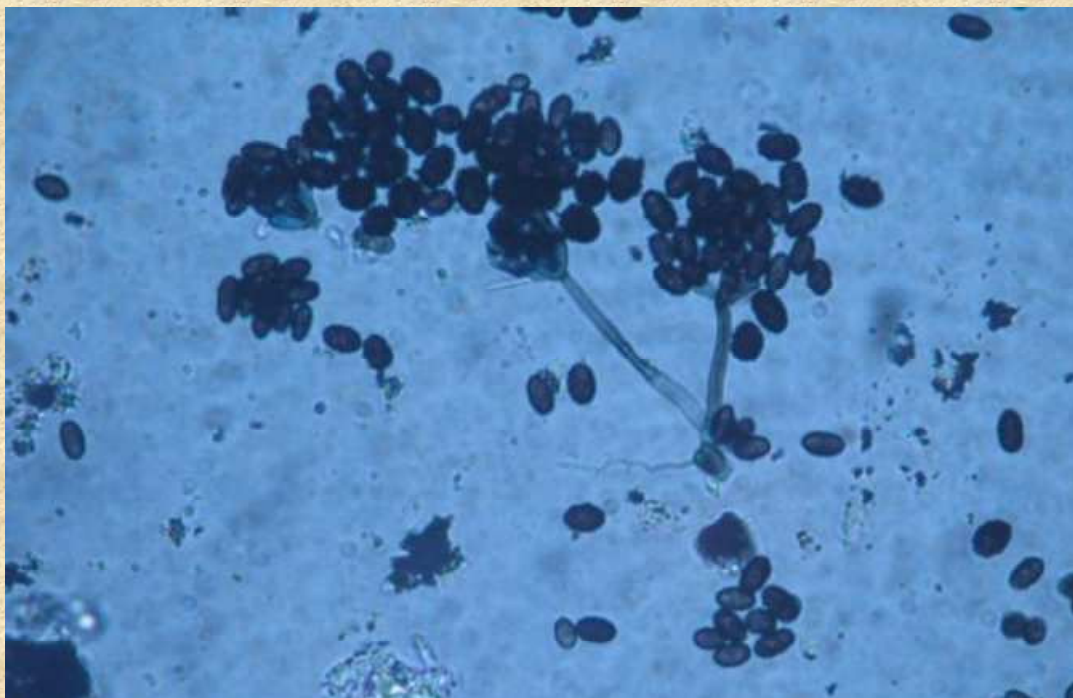


Quelles sont les méthodes d'identification

- Examen direct
- Culture
 - Aspect macroscopique
 - Aspect microscopique
- ADN
- Spectrométrie de masse

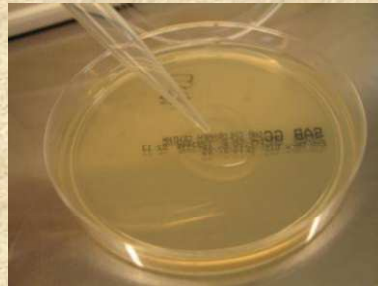
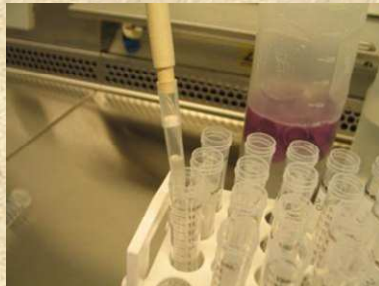


Filaments mycéliens dans une biopsie pulmonaire

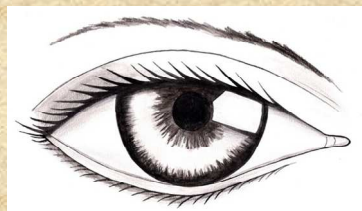


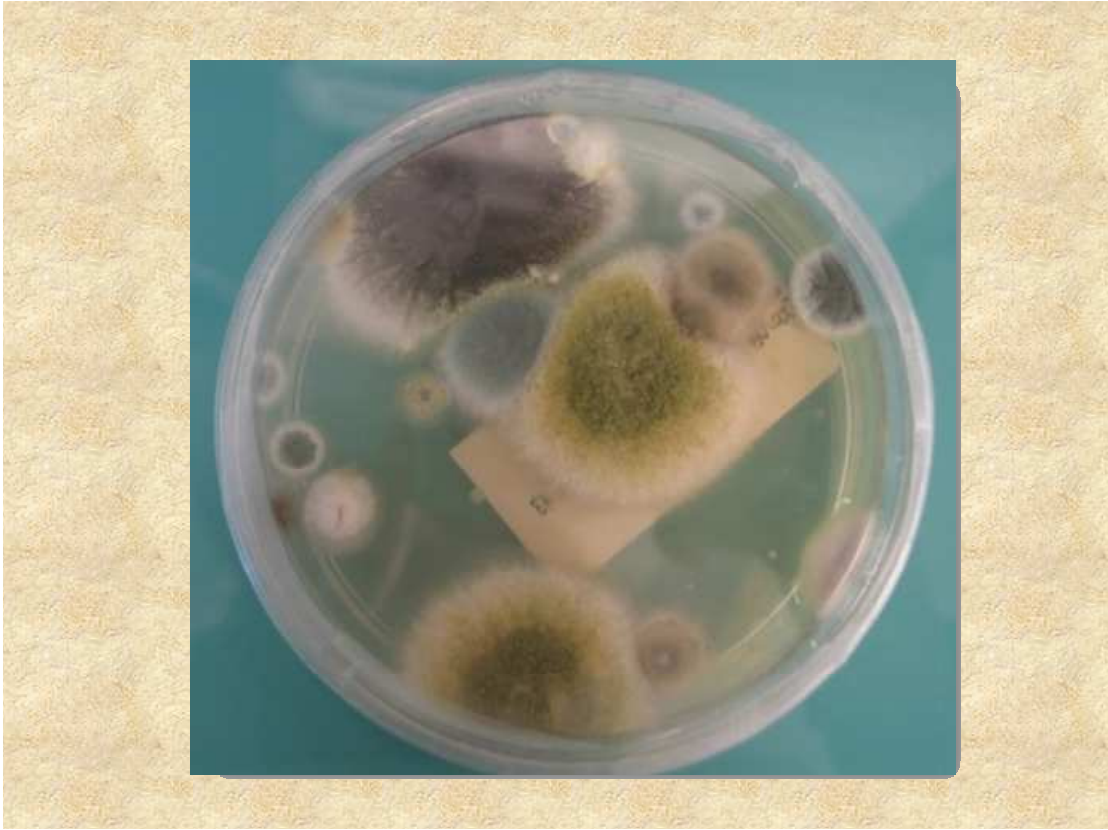
Stachybotrys chartarum (x40) sur un prélèvement mural

Culture

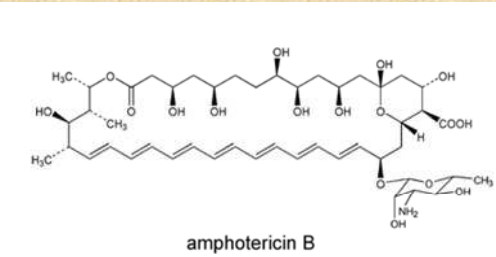
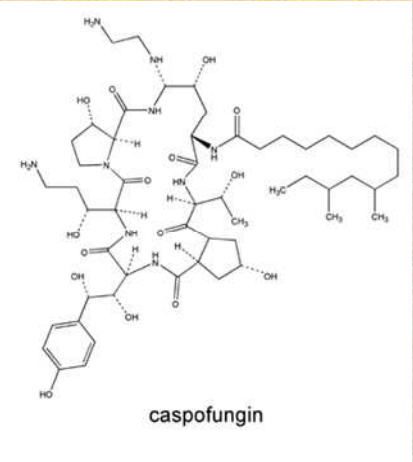
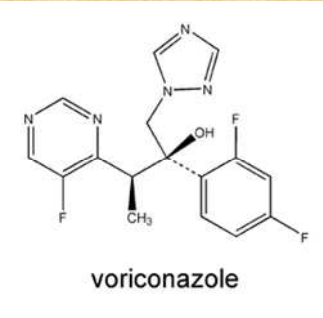


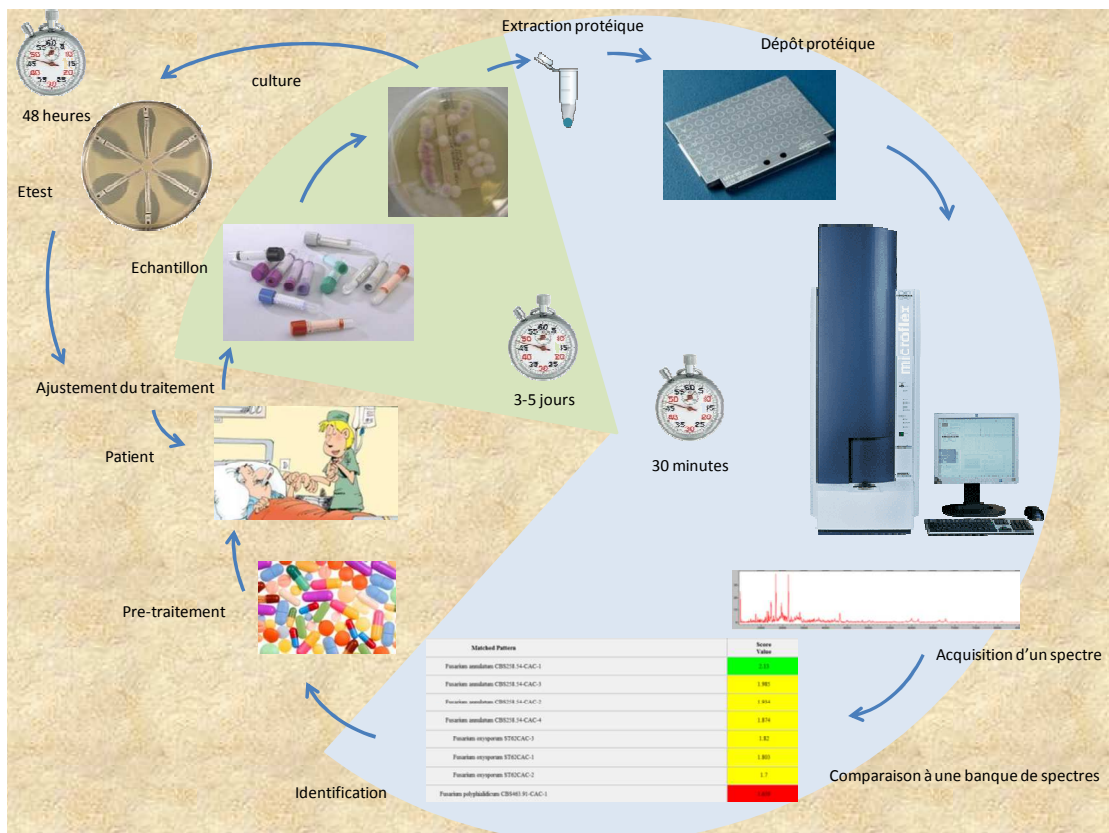
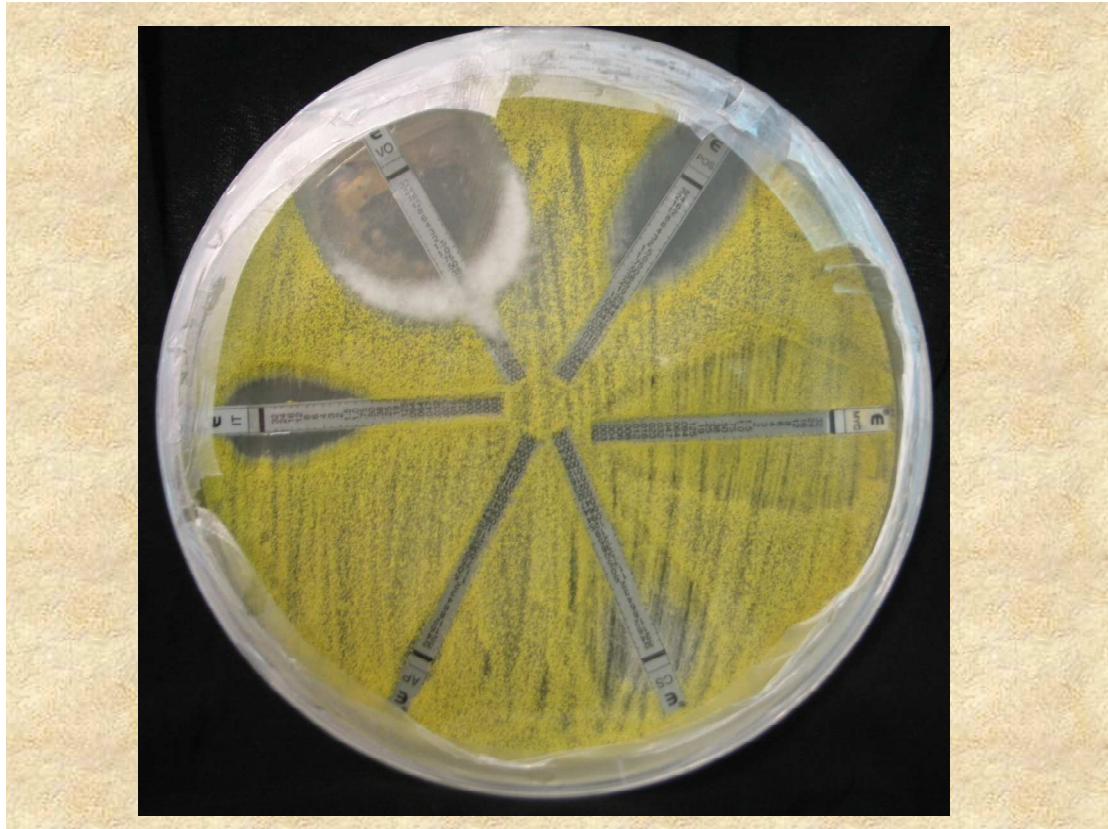
Culture-Aspect macroscopique





Culture-Antifongigramme







Projet: Application de la méthode d'identification par Spectrométrie de Masse au Macromycètes



Macroscopie et microscopie

- Exemple



Macroscopie et microscopie

Chapeau de 8-20cm de diamètres à maturité

Couleur rouge, délavée si pluie

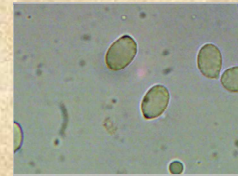
Petits restes de voile, sous formes de points blancs

Présence d'un anneau

Lames blanches, libres

Spores ovoïdes, non amyloïdes

...



Crédit photo : <http://fr.wikipedia.org>
Dr Anne Cécile Normand, Raphaël Piarroux

Les techniques d'identification

- Le séquençage

- Principe

- Régions ITS « non codante », variable entre espèces

Entre 2 séquences retrouvées quasi-intacte dans tout les eucaryotes

1 espèce <-> 1 séquence conservée

Dr Anne Cécile Normand, Raphaël Piarroux

Les techniques d'identification

- Le séquençage
 - Détermination de la séquence ADN d'un organisme
 - Comparaison à une base de données
 - Détermination de l'espèce

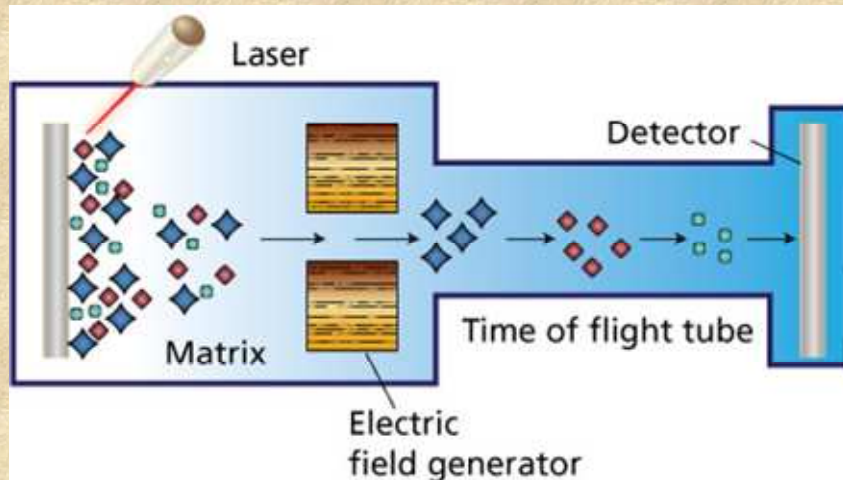
Dr Anne Cécile Normand, Raphaël Piarroux

Spectrométrie de masse

- Principe
 - 1 molécule+ 1 système d'ionisation -> un spectre spécifique
 - Par extension : un organisme = un ensemble reproductible de molécules -> un spectre spécifique

Dr Anne Cécile Normand, Raphaël Piarroux

Spectrométrie de masse



Crédit photo : sigmaaldrich.com

Dr Anne Cécile Normand, Raphaël Piarroux

Spectrométrie de masse

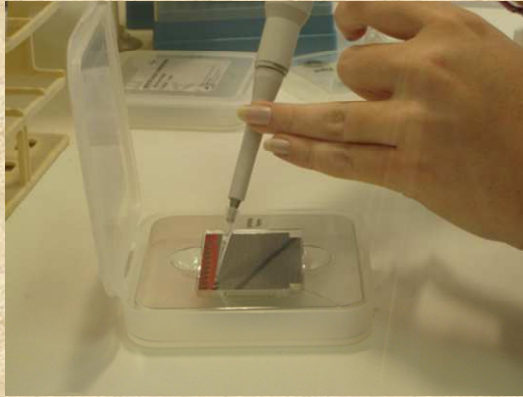
- Extraction des protéines du champignon : traitement par formaldéhyde et acétonitrile



Dr Anne Cécile Normand, Raphaël Piarroux

Spectrométrie de masse

- Dépôt sur une plaque de SM avec de la matrice



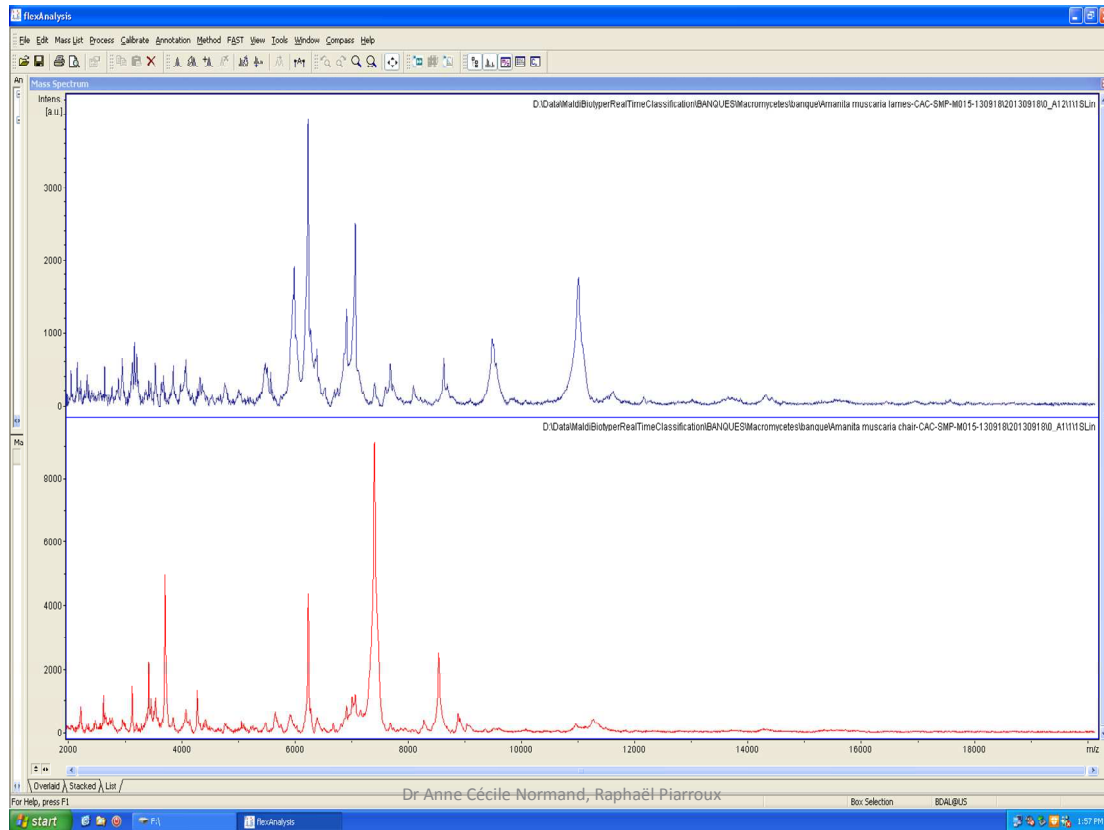
Dr Anne Cécile Normand, Raphaël Piarroux

Spectrométrie de masse

- Après séchage, lecture par le spectromètre



Dr Anne Cécile Normand, Raphaël Piarroux




Spectrométrie de masse

- Le logiciel compare ce spectre à sa base de données...
- Et indique quel spectre a été retenu
- Le logiciel note la comparaison, entre 0 et 3 (3 = même spectre)
- Le seuil d'acceptation retenu en levures est >2
- Seuil à déterminer en macromycètes

Spectrométrie de masse

Analyte29



Analyte Name: Amanita muscaria lames-CAC-SMP-M124-131018
 Analyte Description: MSP
 Analyte ID: 908657ee-4c2b-42c3-aa76-25960a0bc0b2
 Analyte Creation Date/Time: 10/19/2013 8:44:13 AM
 Applied MSP Library(ies):
 Applied Taxonomy Tree: Bruker Taxonomy

Rank (Quality)	Matched Pattern	Score Value	NCBI Identifier
1 (++)	Amanita muscaria lames-CAC-SMP-M124-131018	3	125733649
2 (+)	Amanita muscaria lames-CAC-SMP-M015-130918	1.931	125733649
3 (-)	Amanita muscaria chair-CAC-SMP-M124-131018	1.633	125733649
4 (-)	Lactarius pubescens Lames-CAC-SMP-M090-130926	1.115	125733649
5 (-)	Lyophyllum sp. chair-CAC-SMP-M195-140209	1.028	125733649
6 (-)	Lactarius deterrimus lames-CAC-SMP-M002-130918	1.005	125733649
7 (-)	Paxillus involutus chair-CAC-SMP-M114-131007	0.962	125733649

Dr Anne Cécile Normand, Raphaël Piarroux

Résultats préliminaires

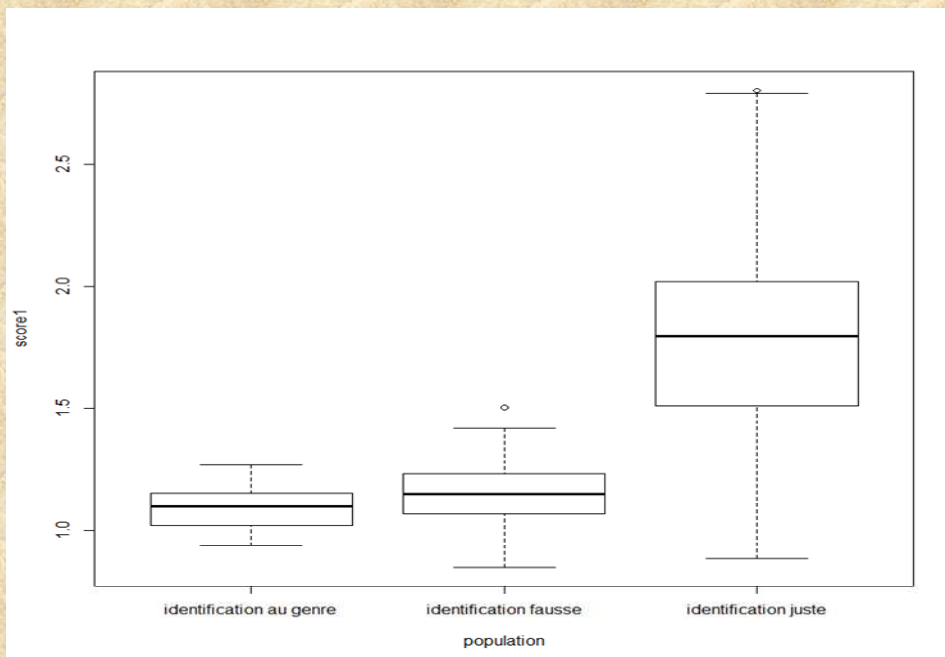
- 327 macromycètes séquencés et passé en spectrométrie de masse pour création de spectre
- 183 retenus car correspondance des identifications
 - Issus de 136 espèces
 - 102 espèces présentes 1 fois
 - 24 présentes 2 fois
 - 10 présentes 3 fois ou plus (jusqu'à 5 fois)

Comparaison de mycéliums identiques

- Pour 86 des 183 macromycètes
 - Prélèvement sur un autre sporophore de la même récolte
 - Réalisation de 4 spectres/macromycète
 - Bonne identification dans 310/344 spectres
 - 75 espèces avec 4/4 spectres
 - 2 espèces avec $\frac{3}{4}$ spectres
 - 2 espèces avec 2/4
 - 7 espèces mal identifiées

Dr Anne Cécile Normand, Raphaël Piarroux

Comparaison de mycéliums identiques



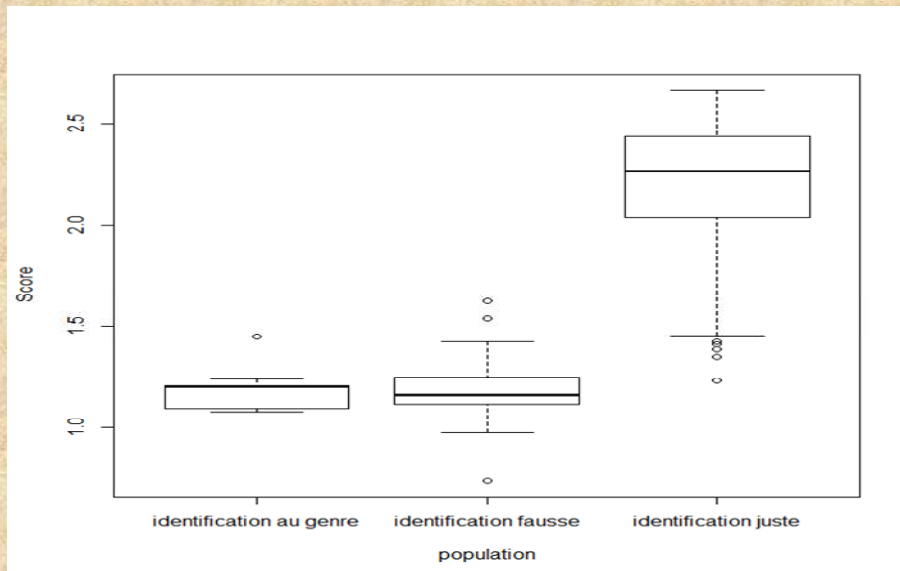
Dr Anne Cécile Normand, Raphaël Piarroux

Comparaison de mycéliums différents

- 832 spectres
 - 633 identifications correctes (76%)
 - 58 échantillon parfaitement identifié
 - 5 échantillons identifiés 8+ fois
 - 4 échantillons identifiés 5+ fois
 - 3 échantillons identifiés 4- fois
 - 15 échantillons jamais identifiés

Dr Anne Cécile Normand, Raphaël Piarroux

Comparaison de mycéliums différents



Dr Anne Cécile Normand, Raphaël Piarroux

Impact du vieillissement

- Déterminer au bout de combien de jours un échantillon n'est plus identifiable
- Test sur 2 à 5 jours (moy 4,3 jours).
- 2-3 échantillons par mycélium
- 910 spectres (9 mycéliums, 21 échantillons)

Dr Anne Cécile Normand, Raphaël Piarroux

Ouverture

- Résultats encourageants
- Augmenter les spectres devrait diminuer les échecs
- Pb du milieu non homogène -> tjrs des échecs
- Possibilité d'identifier à j+1 -> toxicologie

Dr Anne Cécile Normand, Raphaël Piarroux

Projet à court terme de Perpignan à Nice

- **Amanites et Lépiotes**
- **Sociétés Mycologiques FAMM**
- **Spectrogrammes de Masse Maldi-Tof identiques à Marseille**
- **Valider à grande échelle cette méthode**

Mycoliste : Charte d'utilisation

MYCOLISTE

Charte d'utilisation

Membres

Médecins ou pharmaciens seniors des 9 centres antipoison français.
Mycologues appartenant à une association ou une société de mycologie et désignés par celle-ci.

Sujets de conversation

Autorisés :

- toutes informations relatives au domaine de la mycologie,
- toutes données cliniques en rapport avec une intoxication potentielle ou avérée.

Bannis :

- toutes informations permettant l'identification de la victime (nom, prénom, initiales, code postal du lieu de résidence...).
- tous messages personnels ou polémiques

Règles de rédaction

Langue : français.

Langage SMS banni.

Rédaction : concise et précise.

L'aide à l'identification d'un champignon à partir d'un document photographique doit être clairement exprimée en précisant le motif de la demande (ex : patient de 32 ans présentant 3 heures après ingestion des champignons, vomissements et sueurs abondantes..).

Des informations telles que la commune de la cueillette, le lieu de cueillette, l'écologie du ou des champignons (jardin ou forêt, parc, lisière de bois, type arbre proche du ou des spécimens) peuvent appuyer et guider l'identification.

L'identification présomptive des champignons est réalisée par les mycologues à titre bénévole. Cette identification devra toujours être considérée avec prudence, compte-tenu de sa réalisation sur documents photographiques, parfois de mauvaise qualité. Par ailleurs, ces photographies sont habituellement celles des champignons restants et ne peuvent en aucun cas attester de la nature des champignons réellement ingérés.

La prise en charge médicale des personnes exposées relève de la seule responsabilité du personnel du centre antipoison concerné, et le cas échéant des professionnels de santé auxquels les patients pourront avoir été adressés. L'identification présomptive réalisée via la Mycoliste ne peut en aucun cas déterminer à elle seule la prise en charge médicale.

Documents photographiques

Ils sont à déposer dans la zone de stockage et resteront accessibles, via un lien, pendant une durée de 7 jours. Chaque photographie devra être identifiée par le nom du centre antipoison, le numéro de dossier et la date de prise de la photographie (ex : Strasbourg – 66600 – 27-02-2014). Pour chaque cas d'intoxication, 3 photographies du champignon incriminé (vue de profil, de dessus et de dessous), d'une résolution suffisante (300 ppp soit environ 2 Mo), seront fournies dans la mesure du possible. Afin de pouvoir apprécier la taille du champignon, la présence d'une règle posée à côté du champignon photographié est souhaitable.

Règles régissant l'envoi des messages

Toute personne intervenant sur la mycoliste en tant que demandeur ou répondeur doit s'identifier par son nom et son appartenance. (ex : Meyer Boris, CAPTV de..... ou association mycologique de.....). Le numéro de dossier du cas d'exposition géré par le centre antipoison devra figurer dans la partie « Objet » du courriel (ex : intoxication par champignon cas 66600*9). Les abonnés à la mycoliste seront tous destinataires de l'ensemble des échanges.

Modération de la liste

La liste n'est pas modérée c'est à dire que les messages envoyés ne seront pas approuvés par l'un des modérateurs avant diffusion. Les modérateurs pourront

cependant intervenir sur les messages après leur diffusion et les supprimer en cas de non-respect de la charte.

Les modérateurs peuvent désabonner un membre :

- dont l'adresse est toujours en erreur
- qui ne respecte pas la charte d'utilisation de la mycoliste
- qui ne respecte pas, lors des échanges, les règles de politesse et de courtoisie qui s'imposent

Annexe 4

Réponse de Barbara Pompili, secrétaire d'état chargée de la biodiversité

MINISTÈRE DE L'ENVIRONNEMENT, DE L'ÉNERGIE ET DE LA MER
EN CHARGE DES RELATIONS INTERNATIONALES SUR LE CLIMAT

La secrétaire d'État
chargée de la Biodiversité

Paris, le

Réf : D16006424

Monsieur,

Par courrier électronique du 23 mars dernier, vous m'avez fait part du besoin de prise en compte de la fonge dans les politiques environnementales et au sein de la future Agence française pour la biodiversité.

Je vous remercie pour votre courrier et votre proposition de réunion au siège de la Société Mycologique de France. Mon emploi du temps actuel, avec l'examen parlementaire du projet de loi pour la reconquête de la biodiversité, de la nature et des paysages, ne me permet pas de vous recevoir. Monsieur Loïc AGNES, conseiller gestion des espèces animales et végétales, connaissance et recherche de la biodiversité, prendra contact avec vous dès que possible, car le sujet que vous abordez nécessite une attention particulière.

Les champignons autrefois classés parmi les végétaux constituent aujourd'hui un règne à part. A la tête du Secrétariat d'État chargée de la biodiversité, je suis bien au courant de la nouvelle systématique des êtres vivants, et j'ai demandé à mes services de veiller à ce que, chaque fois que cela sera possible, la fonge soit distinguée de la faune et de la flore sauvages.

Je vous prie d'agréer, Monsieur, l'expression de ma considération la meilleure

Condiolant
Barbara POMPILI

Copie à : Monsieur Christophe AUBEL, directeur de l'installation de l'Agence française pour la biodiversité

Monsieur Yann SELLIER
coordinateur de la liste rouge française
en mycologie environnementale
9 rue de la Salamandre
62110 VOUNEUIL SUR VIENNE

Projet de révision de l'herbier mycologique Donadini

Projet de révision de l'herbier mycologique Donadini

– Réflexions préliminaires –
N. Van Vooren

Jean-Claude Donadini (1939-1987) est incontestablement l'un des mycologues français ayant le plus œuvré pour l'étude des Pézizales dans la deuxième moitié du XX^e siècle. Ses contributions pour les genres *Peziza*, *Discina-Gyromitra*, ou *Greletia* (actuellement *Smardaea*) font encore autorité. Décédé prématurément, il a laissé à la communauté mycologique un peu plus de **80 articles** — la liste complète est fournie dans le bulletin de la FAMM n° 32 lui rendant hommage — et a publié une **soixantaine de taxons nouveaux** (voir liste en annexe), seul ou en collaboration. Il a principalement prospecté deux grands secteurs en France : la Provence et les Alpes du Dauphiné-Savoie.

Son œuvre, réalisée dans un temps relativement court (quatorze années), est prolifique, mais incomplète. Dans beaucoup de ces articles il évoque tel ou tel aspect de ses recherches à publier, telle espèce à décrire, etc. et la plupart de ces éléments n'ont pas vu le jour. Reste aussi **son herbier**, conservé dans les collections de l'université de Montpellier. Il contient plusieurs milliers de spécimens, contenant non seulement les types des noms de taxons publiés, mais aussi beaucoup de récoltes restées sans nom...

Objectifs du projet

Compte tenu de l'importance de l'herbier Donadini, tant quantitativement que qualitativement, il nous semble qu'un projet de révision de cet herbier permettrait non seulement sa valorisation par l'identification la plus complète possible des spécimens le composant, mais aussi permettrait de compléter le travail entrepris par J.-C. Donadini pour une meilleure connaissance des Pézizales du bassin méditerranéen, mais aussi de l'arc alpin. La publication des résultats de cette révision offrirait un outil utile à la communauté mycologique s'intéressant aux discomycètes en France, mais aussi partout en Europe autour de la Méditerranée et dans la zone d'influence des Alpes.

La perspective de mise en lumière de taxons inédits serait aussi un apport pour la connaissance de biodiversité fongique méditerranéenne et alpine.

Travaux envisagés

Le projet s'articulerait en cinq étapes :

- 1) Rangement/étiquetage des échantillons de l'herbier ;
- 2) Numérisation de la documentation manuscrite de Donadini (carnets) ;
- 3) Dépouillement bibliographique des travaux de Donadini pour un rapprochement avec les échantillons ou les données manuscrites ;
- 4) Révision à proprement parlé des spécimens de l'herbier ;
- 5) Rédaction et publication des résultats de la révision.

Partenaires du projet

Nous proposons que le projet soit porté conjointement par la FAMB (Fédération des Associations mycologiques méditerranéennes) et par la FMBDS (Fédération mycologique et botanique Dauphiné-Savoie), les deux fédérations qui couvrent les territoires de prospection de Donadini. Nous pensons également que ce projet est susceptible d'intéresser la CEMM (Confédération européenne de mycologie méditerranéenne) et bien entendu l'Université de Montpellier. Le partenariat à monter entre ces différentes organisations doit permettre de rechercher les financements — publics et privés — nécessaires à la réalisation du projet. Les aspects logistiques devront également être validés par les parties prenantes du projet.

Durée du projet

A ce stade des réflexions, nous estimons la durée du projet entre 12 et 18 mois. L'objectif est de pouvoir débiter dès le printemps 2015 pour une publication des résultats à l'horizon fin 2016.

Évaluation financière du projet

À ce stade, il est difficile de réaliser une estimation précise. Celle-ci devra être produite dans le montage des dossiers de financements. On peut néanmoins penser, compte tenu de la durée, qu'elle se situera dans une fourchette allant de 54 à 70 K€.

Intervenants sur le projet

Les étapes 1 et 2 devraient être confiées à l'université de Montpellier via un poste de vacataire. A noter qu'un travail d'inventaire des carnets de Donadini a déjà été entamé par Marie-Jo Mauruc (retraîtée de cette université) et pourrait servir de point de départ aux phases initiales.

Les étapes 3 à 5 seraient confiées à Nicolas Van Vooren, spécialiste des Pézizales, à l'initiative de ce projet.

ANNEXE : liste des taxons nouveaux publiés par Donadini

Taxon name	Authorship	Year	MB #	Name status
<i>Discina geogenia</i>	Rahm ex Donadini	1985	261379	Legitimate
<i>Discina microspora</i>	Donadini	1985	106066	Legitimate
<i>Greletia</i>	Donadini	1980	2134	Legitimate
<i>Greletia reticulosperma</i>	Donadini, Rioussset & G. Rioussset	1986	128588	Legitimate
<i>Gyromitra martinii</i>	Donadini & Astier	1974	314833	Legitimate
<i>Gyromitra megalospora</i>	Donadini & Rioussset	1976	314834	Legitimate
<i>Helvella asteri</i>	Korf & Donadini	1973	315070	Legitimate
<i>Helvella dalgeri</i>	Donadini	1985	104893	Legitimate
<i>Helvella semiobruta</i>	Donadini & Berthet	1976	315086	Legitimate
<i>Hypotarzetta</i>	Donadini	1985	25721	Legitimate
<i>Hysterangium pterosporum</i>	Donadini & G. Rioussset	1979	295516	Legitimate
<i>Inocybe pisciodora</i>	Donadini & Rioussset	1975	315872	Legitimate
<i>Parascutellinia fuckelii</i>	Donadini & Svrček	1985	105603	Legitimate
<i>Peziza alborosea</i>	Donadini	1980	113032	Legitimate
<i>Peziza apiculata</i> var. <i>flavobrunnea</i>	Donadini	1977	348577	Legitimate
<i>Peziza aquatilis</i>	Berthet & Donadini	1978	319458	Legitimate
<i>Peziza azureoides</i>	Donadini	1982	110004	Legitimate
<i>Peziza badiofuscoïdes</i>	Donadini	1979	113301	Legitimate
<i>Peziza badioides</i>	Donadini	1979	113302	Legitimate
<i>Peziza berthetiana</i>	Donadini	1985	105660	Legitimate
<i>Peziza buxoides</i>	Donadini	1979	113311	Legitimate
<i>Peziza chryso-olivascens</i>	Donadini	1979	113303	Legitimate
<i>Peziza coquandii</i>	Donadini	1985	128589	Legitimate
<i>Peziza echinophora</i>	Donadini	1982	110005	Legitimate
<i>Peziza flos-nivium</i>	Donadini	1978	110244	Legitimate
<i>Peziza fortoulii</i>	Donadini & Neville	1978	110237	Legitimate
<i>Peziza granularis</i>	Donadini	1978	110242	Legitimate
<i>Peziza lilacinoalba</i>	Donadini	1979	113306	Legitimate
<i>Peziza lundellii</i>	Donadini	1982	110006	Legitimate
<i>Peziza luticola</i>	Donadini	1982	110007	Legitimate
<i>Peziza martinii</i>	Donadini	1985	104911	Illegitimate
<i>Peziza merdae</i>	Donadini	1978	110238	Legitimate
<i>Peziza muscicola</i>	Donadini	1977	319478	Legitimate
<i>Peziza ninguis</i>	Donadini & Trimbach	1978	110239	Legitimate
<i>Peziza nivis</i>	Donadini	1979	113307	Legitimate
<i>Peziza pseudoammophila</i>	Bon & Donadini	1978	110240	Legitimate
<i>Peziza pseudoammophila</i> var. <i>bonii</i>	Donadini, Rioussset & G. Rioussset	1978	117169	Legitimate
<i>Peziza pseudoampelina</i>	Donadini	1979	113308	Legitimate
<i>Peziza pseudoanthracina</i>	Donadini	1982	110248	Legitimate
<i>Peziza pseudovesiculosa</i>	Donadini	1978	110243	Legitimate
<i>Peziza pseudoviolaacea</i>	Donadini	1979	113309	Legitimate
<i>Peziza sublaricina</i>	Donadini	1984	107112	Legitimate
<i>Peziza subuliginosa</i>	Donadini	1984	107113	Legitimate
<i>Peziza uliginosa</i>	Donadini	1982	110249	Illegitimate
<i>Peziza violacea</i> f. <i>terricola</i>	Donadini	1979	118229	Legitimate
<i>Pseudoplectania ericae</i>	Donadini	1987	130551	Legitimate
<i>Pulparia verrucispora</i>	Donadini & Monier	1976	322085	Legitimate
<i>Sclerogaster porquerollensis</i>	Donadini & Rioussset	1979		
<i>Sclerogaster rhizopogon</i>	Donadini, Rioussset & G. Rioussset	1979		
<i>Scutellinia barlae</i> f. <i>aurantiaca</i>	Donadini	1983	118034	Legitimate
<i>Scutellinia rotundisperma</i>	Donadini	1983	109240	Legitimate
<i>Scutellinia trechisperma</i>	Donadini	1983	109241	Legitimate
<i>Scutellinia trechisperma</i> f. <i>macropilifera</i>	Donadini	1983	118018	Legitimate
<i>Scutellinia trechisperma</i> f. <i>micropilifera</i>	Donadini	1983	118019	Legitimate
<i>Scutellinia trechisperma</i> f. <i>nigromarginata</i>	Donadini	1983	118020	Legitimate
<i>Scutellinia trechispora</i> var. <i>macracantha</i>	Le Gal ex Donadini	1983	117050	Legitimate
<i>Scutellinia trechispora</i> var. <i>peniculospora</i>	Donadini	1983	117051	Legitimate
<i>Thecotheus kimbroughii</i>	Donadini	1985	543200	Invalid
<i>Trichophaea paraphysincrustata</i>	Donadini, M. Torre & Calonge	1988	132182	Legitimate
<i>Tuber borschii</i> var. <i>riousssetorum</i>	Donadini	1979		
<i>Tuber malenconii</i>	Donadini, Rioussset, G. Rioussset & G. Chev.	1979	325082	Legitimate
<i>Urnula helvelloides</i>	Donadini, Berthet & Astier	1973	325339	Legitimate