

TECHNIQUE DE PRODUCTION DES SEMENCES DE CHAMPIGNONS
COMESTIBLES : CAS DE *VOLVARIELLA VOLVACEA* ET *MARASMIELLUS*
INODERMA

I. Y. BOKOSSA*, F. L. MONTCHO*, P. DOSSOU-YOVO*, J. C. CODJIA** & F.
MAMADOU***

*Laboratoire de Microbiologie et des Technologies Alimentaires (LAMITA), UAC,
01 BP 525 Tri postal Cotonou Rép. du Bénin ; e-mail : innobokos@yahoo.fr

** Faculté des Sciences Agronomiques/UAC, 01 BP 526 Tri postal Cotonou Rép. du
Bénin, jeanclaude.codjia@fsa.uac.bj

*** AfricaRice ; 01BP 2031 Cotonou Rép. du Bénin, m.fofana@cgiar.org

RÉSUMÉ

Afin de développer d'autres techniques de production des semences de certains champignons comestibles, il a été testé l'effet de différents substrats dont celui du sorgho, du sorgho ajouté à 10 % et 20 % de sciure de neem sur la culture de champignon *Marasmiellus inoderma* (*M. inoderma*) consommée au Bénin. L'espèce *Volvariella volvacea* (*V. volvacea*) mondialement connue pour sa comestibilité, a servi de témoin. Différents milieux synthétiques ont été ensemencés différemment avec les deux espèces de champignons. Pendant quatre semaines, il a été observé et compté le nombre de populations de germes d'organismes vivants qui y ont poussé. A l'observation et à la fin du quatorzième jour, les substrats de sorgho, avec 10 % ou 20 % de sciure de neem ont la même influence sur le développement des mycéliums. Quant aux substrats testés sur *V. volvacea*, plusieurs cas de contamination ont été enregistrés. Les résultats obtenus ne nous permettent pas de tirer une conclusion définitive, néanmoins nous pouvons dire que les substrats de riz non décortiqué (paddy) NERICA 1 et 10 % de sciure de neem avec ou sans 10 % de son de riz sont les plus appropriés au développement des mycéliums de ce champignon. De plus, il faut noter que *V. volvacea* est une souche très exigeante et très sensible aux parasites.

Mots clés : sciure de neem, paddy NERICA, champignons, *Volvariella volvacea*, *Marasmiellus inoderma*.

EDIBLE MUSHROOMS SEED PRODUCTION TECHNIQUE : CASE OF
VOLVARIELLA VOLVACEA AND *MARASMIELLUS*

ABSTRACT

This study was carried out to develop others techniques of edible mushrooms seed production. It has been tested the effect of various substratum of sorghum, and sorghum with 10 % and 20 % of sawdust on mushrooms seed *Marasmiellus inoderma* (*M. inoderma*), consumed in Benin. The specie *Volvariella volvacea* (*V. volvacea*) which is a mushroom worldwide known for its edibility were used. It was also found that at the end of the fourteenth day, the sorghum substratum; of sorghum with 10 % or 20 % of sawdust has the

same influence on the mycelium development. Several case of contamination was registered with *V. volvacea*. Thus, any discernable results could not be, nethertheless it can be concluded that the substratum of unhusked rice of Nerica 1 with 10% of sawdust with or without 10% of rice's bran were more suitable to the development of mycelium of this mushroom. Furthermore, it's necessary to note that *V. volvacea* was a very exacting stump and very sensitive to parasite.

Keywords : sawdust, unhusked NERICA, mushrooms, *Volvariella volvacea*, *Marasmiellus inoderma*.

INTRODUCTION

Les champignons sont des organismes eucaryotes à mode de vie hétérotrophe avec une nutrition qui s'effectue par absorption et une reproduction par le biais de spores (Bouchet, 1979). Ces spores produisent des mycéliums primaires qui se fusionnent entre eux pour former un mycélium secondaire qui, dans des conditions normales, produit le carpophore (Guissou, 1999). Au Bénin, l'alimentation est dominée par des mets d'origines animale et végétale.

Certaines espèces de champignons constituent des aliments succulents et très nutritifs pour l'homme. Elles favorisent un apport supplémentaire de protéines, de vitamines, de sels minéraux et de sucres spéciaux tels que le tréhalose et le mannitol qu'on ne rencontre nulle part que chez les champignons (OEI, 2005 ; Coutecuisse & Duhem, 1994). Par ailleurs, les fungus sont très riches en fibres et facilitent ainsi la digestion (OEI, 2005). Au Bénin, les champignons comestibles les plus appréciés sont les *Volvariella volvacea* (*V. volvacea*) et *Marasmiellus inoderma* (*M. inoderma*) (Sékpé, 2001 ; De Kesel et al., 2002).

V. volvacea est une espèce de champignon qui poussent sur le bois mort, les prairies grasses, les champs labourés, le stipe du palmier à huile (Joly, 1996 ; Sékpé, 2001 ; De Kesel et al., 2002) ; dont le rosissement des lames témoigne la présence de ces spores (Charpentier, 1971). Quant à *M. inoderma*, il était provisoirement classé dans le genre *Gerronema* à cause de ses mycéliums qui ne montrent pas une structure typique et de ses spores discrètes (De Kezel et al., 2008). Cependant, selon Singer (1986), il appartient au genre *Marasmiellus*, et à l'espèce *inoderma* à cause de son comportement grégaire et de ses lamelles relativement distantes.

Face à la déforestation de plus en plus prononcée, la cueillette des champignons dans les forêts se raréfie ; la disponibilité de milieux de

cultures (substrats) des champignons comestibles pour une production organisée pose problème. C'est pourquoi, il est indispensable aujourd'hui, de mettre au point de nouveaux procédés avec la recherche de nouveaux substrats pour la culture des champignons. En effet, une meilleure culture de champignons nécessite une disponibilité du blanc de semis et des substrats adéquats. En ce qui concerne les champignons dont la comestibilité est appréciée, la disponibilité en blanc de semis constitue un handicap pour leur production. Ainsi, dans le souci de doter la population de semences à base d'autres substrats locaux, il est impératif donc de concentrer les efforts sur la recherche de nouvelles techniques de production des semences de champignons comestibles.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Matériel

Matériel biologique est constitué de :

- * les champignons des genres *V. Volvacea* et *M. inoderma*. Ces variétés ont été récoltées dans la Commune d'Abomey-Calavi où les carpophores de *volvaire* ont été identifiés sur les sciures de teck (*Tectona grandis*) et ceux de *M. inoderma* sur les bananiers (*Musa* sp.) morts.
- * les riz non décortiqués (paddy) de NERICA 1 et de NERICA 3 qui ont été fournis par le Centre du riz pour l'Afrique (Africa Rice ex-ADRAO).
- * le sorgho (*Sorghum bicolor*) de variété rouge qui a été obtenu dans le magasin de vente de céréales à Calavi.
- * les sciures de neem (*Azadiratha indica*) qui ont été obtenues auprès des menuisiers.

Méthodes

Préparation des blancs mères

Avant la production des blancs de semis, il a été préparé les blancs mères. Tous les substrats ont été inoculés le même jour.

Les carpophores les plus jeunes de chaque variété de champignon ont été triés, désinfectés à l'alcool à 90°. A l'aide d'une lame stérile, le tissu interne du champignon est prélevé et déposé au centre de chacune des boîtes de pétri et tubes à essai contenant Malt Extract Agar (MEA), OXOID. Les boîtes de pétri et tubes à essai ensemencés de *M. inoderma* ont été incubés dans une salle climatisée à 25°C, tandis que ceux de *V. volvacea* sont

maintenus à la température de 35°C jusqu'à la colonisation complète (100%) des boîtes de pétri et tubes à essai; l'incubation dure entre trois et quatre semaines (De Kesel *et al.*, 2002 ; OEI, 2005 ; Joly, 1996).

Élaboration des blancs de semis

Avant les différents mélanges avec les autres constituants, le sorgho et les paddy Nérica sont précuits à 120°C pendant respectivement 10 min et 30 min; après, ils sont égouttés et séchés. Il a été constitué ensuite trois lots de 30 échantillons d'un kg de substrat pour *M. inoderma* et six lots de dix échantillons d'un kg de substrat pour *V. volvacea*, soit au total pour les deux champignons 150 échantillons. Le tout est stérilisé à 120°C sous pression de 1,0 bar pendant 45min. Après la stérilisation, on laisse se refroidir les substrats pendant 24 heures avant de les inoculer. Les substrats ainsi obtenus ont étéensemencés par les blancs mères sous une hotte à flux laminaire à 25°C. L'incubation est faite respectivement à 25°C pour les *M. inoderma* et à 35°C pour les *V. volvacea*.

Composition des substrats

Pour déterminer la formule des substrats nous avons tenu compte de la disponibilité des composants et surtout de la dégradation du substrat par fermentation pour une bonne colonisation (croissance) par lesdits champignons. Ceci nous a permis de retenir les formules qui sont présentées dans les Tableau 1 et Tableau 2.

Tableau 1. Composition en g/kg des substrats pour *Marasmiellus inoderma*

Milieux	S ₁	S ₂	S ₃
Constituants			
Sorgho bicolore	800	900	1000
Sciure de neem	200	100	0
Bendazim	0,6	0,6	0,6
Craie	2	2	2

S1= 80 % Sorgho + 20 % Sciure de neem

S2= 90 % Sorgho + 10 % Sciure de neem

S3= 100 % Sorgho

Analyse statistique

Le logiciel Microsoft Excel XP a été utilisé pour effectuer les calculs. L'analyse de variance univariée (ANOVA) par le logiciel Statistique SPSS 12.0 a permis de comparer les moyennes relatives aux différentes variables étudiées. Le niveau de signification retenu est de 5 % ($p < 0,05$).

Tableau 2. Composition en g/kg des substrats pour *Volvariella Volvacea*

Milieux	S1N1	S2N1	S3N1	S1N3	S2N3	S3N3
Constituants						
Nérica 1	700	800	900	0	0	0
Nérica 3	0	0	0	700	800	900
Son de riz	200	100	0	200	100	0
Sciure de neem	100	100	100	100	100	100
Bendazim	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6
Craie	4	4	4	4	4	4

S1N1 = 700 g Nérica 1 + 200 g Son de riz + 100 g Sciure de neem
 S2N1 = 800 g Nérica 1 + 100 g Son de riz + 100 g Sciure de neem
 S3N1 = 900 g Nérica 1 + 0,0 g Son de riz + 100 g Sciure de neem
 S1N3 = 700 g Nérica 3 + 200 g Son de riz + 100 g Sciure de neem
 S2N3 = 800 g Nérica 3 + 100 g Son de riz + 100 g Sciure de neem
 S3N3 = 900 g Nérica 3 + 0,0 g Son de riz + 100 g Sciure de neem

RÉSULTATS

Appréciation de l'évolution du blanc mère

Les milieux de culture ont été colonisés progressivement au cours du temps jusqu'à envahissement complet par les mycéliums à la fin de la deuxième semaine. Des cas de contamination ont été constatés sur le blanc mère du *M. inoderma*. Dès la troisième semaine, une différence a été observée au niveau de *V. volvacea*. Les figures 1, 2 et 3 illustrent les proportions de blancs mères contaminées et non contaminées après inoculation.

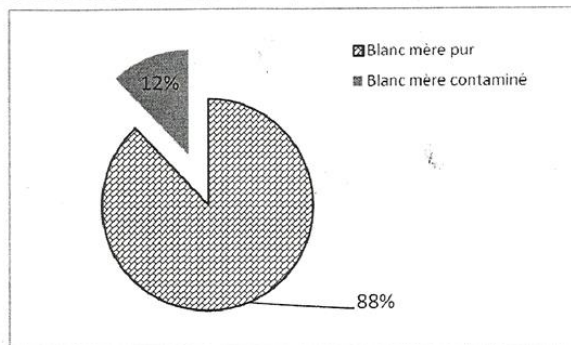


Figure 1. Proportions de blanc mère contaminées et pures de *Marasmiellus inoderma* aux deuxième et troisième semaines

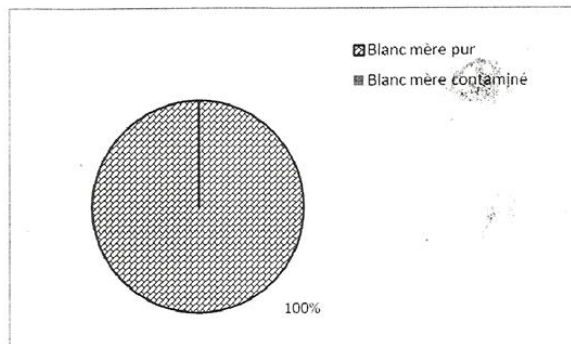


Figure 2. Proportions de blanc mère contaminées et pures de *Volvariella volvacea* à la 2^{ème} semaine

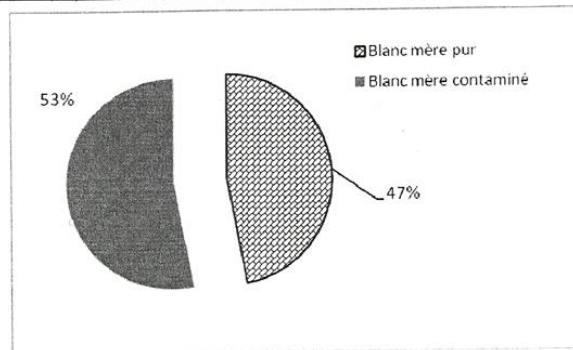


Figure 3. Proportions de blanc mère contaminées et pures de *Volvariella volvacea* à la 3^{ème} semaine

Au cours de la première semaine, aucun cas de contamination n'a été détecté au niveau des blancs mères du *M. inoderma* et de *V. volvacea*. Mais, à la fin de la deuxième semaine, 12 % des blancs du *M. inoderma* ont été contaminés tandis que les souches de *V. volvacea* sont toujours à l'état pur. Toutefois, à la fin de la troisième semaine, une différence a été observée au niveau des mycéliums de *V. volvacea*. Leur taux de contamination ayant passé de 0 à 53 % alors que les observations faites sur *M. inoderma* demeurent identiques.

Appréciation des substrats pour la culture des mycéliums de *M. inoderma*

Les divers mélanges de substrat testés pour la culture des mycéliums de *M. inoderma* ont été inoculés le même jour. Dès la fin de la première semaine, il a été constaté que 76,66 % des échantillons du lot S1 ont été colonisés. Par contre, 83,33 % des échantillons du lot S2 ont été colonisés au tiers (1/3) et les 16,6 % restant ont été colonisés aux deux tiers (2/3). Quant à S3, 80% de ces échantillons ont été colonisés aux deux tiers (2/3) et les 20 % restant ont été colonisés à moitié. Les rendements moyens de blancs obtenus par rapport à S1, S2 et S3 ont été respectivement de 46,1 % ; 52,7 % et 63,3 %. Le test t de comparaison des proportions réalisé a montré que le mélange S3 (sorgho seul) a été effectivement plus approprié au développement des mycéliums du *M. inoderma* par rapport à S2 (Sorgho + 10 % de sciure) ($p < 0,05$). De même, S2 a été plus favorable

que S1 (Sorgho + 20 % de sciure) ($p < 0,05$). Les résultats obtenus à la fin de la deuxième semaine ont montré que les substrats S1, S2 et S3 ont été entièrement colonisés (100 %) ; soit des proportions d'un kilogramme (Kg) de blanc par kilogramme de substrat testé. A la fin de la deuxième semaine, les résultats étaient devenus très surprenants, ils n'ont pas été en accord avec ceux de la première semaine car S1, S2 et S3 influent de la même manière sur la vitesse de croissance des mycéliums du *M. inoderma*. Notons que ces résultats ont été confirmés à la fin des troisième et quatrième semaines et les blancs de semis commencent à avoir une teinte jaunâtre. La Figure 4 traduit le comportement des mycéliums sur chaque substrat en fonction du temps.

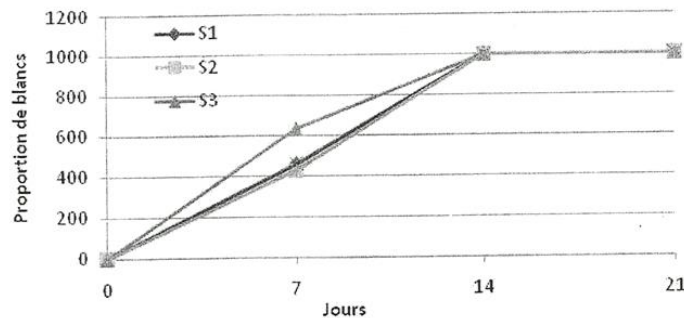


Figure 4. Comportement des mycéliums de *Marasmiellus inoderma* sur chaque substrat en fonction du temps

Légende :

S1 - 800g de sorgho plus 200g de sciure de neem
 S2 - 900g de sorgho plus 100g de sciure de neem
 S3 = 100 % Sorgho

Appréciation des substrats pour la production des blancs de semis de *V. volvacea*

La colonisation a été lente pendant la première semaine de l'incubation à cause de l'adaptation et de la sécrétion par le champignon des enzymes nécessaires pour la dégradation des éléments nutritifs (sucres) contenus dans les substrats. Mais, à la fin de la deuxième semaine, des observations ont montré des cas de contamination au niveau des échantillons (Figure 3).

Au cours de la troisième semaine, la contamination a évolué au niveau des échantillons. En dehors des substrats S3N1 et S2N1 sur lesquels on a observé respectivement 90 % et 80 % des échantillons contaminés, tous les échantillons des autres substrats ont été contaminés (Figure 4). Par ailleurs, les substrats S3N1 et S2N1 ont permis de constater l'évolution du blanc de semis dont la quantité progresse et atteint la moitié (500 g de blanc de semis par kilogramme de substrat) du substrat à la fin de la troisième semaine.

La Figure 4 et la Figure 5 présentent respectivement l'évolution du blanc de semis au cours des quatre semaines des tests et le comportement des mycéliums de *V. volvacea* sur chaque substrat en fonction du temps.

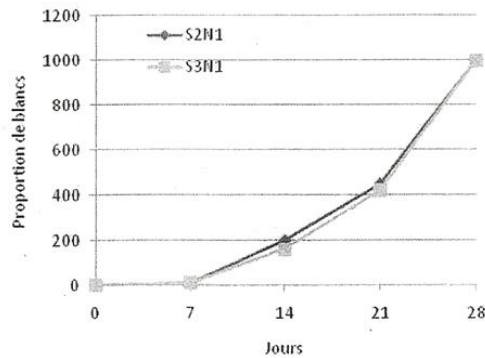


Figure 5. Comportement des mycéliums de *Volvariella volvacea* sur chaque substrat en fonction du temps

Légende :

S2N1 = 800g Nérica1 plus 100g son de riz plus 100g de sciure de neem
 S3N1 = 900g Nérica1 plus 0,0g son de riz plus 100g de sciure de neem

A la fin de la quatrième semaine, la contamination au niveau des échantillons s'est stationnée au niveau des deux substrats (S3N1 et S2N1) partiellement colonisés durant la troisième semaine. Par ailleurs, il a été remarqué une colonisation complète de ces substrats (un kilogramme de blanc de semis par un kilogramme de substrat) par *V. volvacea* et les blancs prennent une teinte rose.

DISCUSSION

Les résultats ont révélé que 12 % du blanc mère du *M. inoderma* ont été contaminés à la fin de la deuxième semaine. C'est-à-dire, tout juste après envahissement complet du milieu nutritif. Les contaminants ont été essentiellement les *Aspergillus niger*, un champignon parasite qui se développait très rapidement. Cette contamination est certainement survenue pendant l'inoculation du tissu sur milieu gélosé. Quant au blanc mère de la *Volvaire*, les cas de contamination ont été enregistrés à la fin de la troisième semaine. Le taux de contamination étant très élevé (53 %), elle ne peut être attribuée à une erreur de manipulation car celle-ci est survenue peu de temps après la colonisation du milieu nutritif. Cette différence observée chez *V. volvacea* serait due, soit à la présence des spores de champignons parasites au sein de la souche sauvage de champignon, soit à la fragilité de cette souche qui a commencé à se dégrader au cours du temps ; ce qui a favorisé le développement des champignons parasites. On peut déduire de ce qui précède qu'il ne faut pas conserver le blanc mère du *V. volvacea* sur une longue durée (au plus 15 jours) ; tandis que le blanc de *M. inoderma* peut être conservé au-delà de trois semaines.

Les tendances observées dans la Figure 5 ont montré que S1, S2, et S3 ont influencé différemment sur la vitesse de croissance du champignon et que le substrat S3 a été plus favorable que S2 et S2 plus favorable que S1. Cependant, à la fin de la deuxième semaine, S1, S2 et S3 ont présenté le même aspect et ses résultats ont été confirmés le 21^{ème} jour. La lenteur de la croissance observée au niveau de S1 et S2 pourrait s'expliquer par la présence de sciure dans ces substrats. Cette sciure a été essentiellement composée de lignine, difficilement dégradable par les champignons. A partir de la 2^{ème} semaine, cette sciure a été complètement dégradée et disponible dans le milieu, ce qui a favorisé la croissance rapide des mycéliums. S1, S2 et S3 auraient les mêmes influences sur le développement des mycéliums. Certes, les trois substrats ont été convenables, mais il a été préférable d'utiliser S2 qui a représenté le substrat contenant du sorgho plus 10 % de sciure de neem, car d'après OEI (1993), le blanc sur céréale est plus vigoureux et perceptible aux contaminations, alors que le blanc sur sciure peut être conservé à une température plus élevée et pendant plus de temps. Ces résultats ont été en conformité avec le travail effectué par Azanlin (2005) sur certaines

espèces de pleurotes, mais la croissance a été plus rapide au niveau du *M. inoderma* qu'au niveau des *Pleurotus* sp.

Le jaunissement du blanc aux troisième et quatrième semaines a indiqué la présence des spores de champignon. Plusieurs cas de contaminations ont été enregistrés à ce niveau. Les résultats obtenus au cours de cette expérience ne nous ont pas permis de donner une conclusion définitive ; mais, toutefois, on pourrait dire que les nombreux cas de contaminations enregistrés pourraient être causés par une contamination non remarquable du blanc mère. Le paddy Nérica 1 a été plus convenable à la culture des mycéliums de *V. volvacea* que le paddy Nérica3. Les mélanges S3N1 et S2N1 ont permis d'avoir une bonne qualité de blanc mère de cette variété de champignon. La coloration rose observée pendant la quatrième semaine a indiqué la présence des spores de *V. volvacea*.

CONCLUSION

La culture des champignons au Bénin peut-être soutenue par la disponibilité des substrats et des déchets agro-industriels. Aussi, pour un bon développement de cette culture, il s'avère indispensable de produire des blancs de semis de qualités et en quantités, en faisant des essais sur plusieurs résidus agricoles. Ceci peut également favoriser la baisse du coût de revenu des blancs de semi. Cette étude a permis de conclure que le *M. inoderma* est une espèce de champignon peut exigeante vis-à-vis du substrat et son blanc s'obtient sur une courte durée. Elle a également permis de montrer que les mélanges sciures et sorgho sont favorables à la production de blanc de semi du *M. inoderma*. L'espèce *V. volvacea* est apparue comme une variété de champignon très exigeante vis-à-vis du substrat et très sensible aux parasites.

REMERCIEMENTS

Nous remercions le Centre International d'Eco Développement Intégré – CECODI, une ONG basée dans la ville d'Abomey-Calavi au Bénin, pour avoir mis à notre disposition son centre pour faire les expériences.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AZANLIN M. 2005. Valorisation des sciures de bois dans la production des carpophores de champignons comestibles ; Mémoire de Maîtrise de géographie, UAC, FLASH, 69p.
- BOUCHET P. 1979. Abrégé de la cryptogamie. Edition Masson. 20-131.
- CHARPENTIER J. L. 1971. Champignon de couche. Edition Paris. 8-120.
- COUTECUISSE R. & DUHEM B. 1994. Guide des champignons de France et d'Europe. 479 p.
- De KEZEL A., GUELLY A. K., YOROU N. S. & CODJIA T. J. C. 2008. Ethymological notes on *Marasmiellus inoderma* from Benin and Togo (West Africa).
- De KESEL A., CODJIA T. J. C. & YOROU S. N. 2002. Guide des champignons comestibles au Bénin. 274 p.
- GUISSOU M. L. 1999. Contribution à l'étude des champignons macroscopiques dans quelques localités du plateau central au Burkina Faso. Thèse de Doctorat soutenue à l'Université de Ouagadougou, Faculté des sciences et techniques /Laboratoire de Biologie Végétale. 71 p.
- JOLY P. 1996. Comment cultiver les champignons. Rustiqua. 9-17 et 120-123.
- OEI P. 2005. La culture des champignons à petite échelle. CTA, Paris.
- OEI P. 1993. La culture des champignons. CTA, Paris. 318 p.
- SEKPE F.C. 2001. Essai de culture des champignons sur résidus du palmier à huile. Mémoire de maîtrise soutenu à l'UAC/FLASH Bénin. 4-54.
- SINGER R. 1986. The Agaricales in modern taxonomy. 4th ed. Koenigstein, Koeltz Scientific Books.