
Collecte des échantillons en gel de silice

- Matériel végétal : échantillons de Poaceae entières et fertiles ;
- Matériels de collecte: GPS, carnet de collecte, étiquettes, gel de silice, appareil photo ;
- Loupe à main : pour les observations des épillets sur terrain.

III.1.2. Matériels de laboratoire :

- Matériels de dissection ;
- Matériels d'observation (loupe binoculaire) ;
- Scanner pour herbiers : pour numériser des plantes vivantes ;
- Scanner pour papiers : pour numériser les dessins ;
- Documents : listes de toutes les espèces venant d'Itremo dans les études précédentes.

III.1.3. Ouvrages d'identification :

- Bosser : « Graminées des pâturages et des cultures à Madagascar », 1969
- Frits Van Oudtshoorn: "Guide to grasses of Southern Africa", 1992
- Clayton et *al.* "Flora of tropical East Africa part 1 and 2", 1970 et 1974
- Clayton et Renvoize "Genera Graminum", 1986

III.1.4. Bases de données BRAHMS (Botanical Research And Herbarium Management System)

Il s'agit d'un logiciel de base de données pour la recherche botanique et la gestion des collections. Il fournit un support complet pour l'enregistrement des collections ainsi qu'un ensemble de recherches taxonomiques et sur la biodiversité. C'est à partir des échantillons

d'herbier, des inventaires botaniques, des observations sur terrain, des collections vivantes, des banques de graines et de la littérature que Brahms contrôle et intègre des données et des images. Saisie de données rapide ou Rapid Data Entry (RDE) est le module de capture de données ou d'image de BRAHMS avec laquelle il fournit des outils pour voir, modifier, choisir, demander, faire un rapport, produire une carte, exporter et publier des données.

Toutes les données collectées durant les inventaires ont été stockées dans la base de données BRAHMS par ce module RDE.

III.2. METHODE D'ETUDE

Pour obtenir une liste élargie des Poaceae du massif d'Itremo, l'étude taxonomique est accompagnée d'une étude écologique.

Les études bibliographiques, les travaux sur les herbiers, des descentes sur terrain, les compilations des bases de données ainsi que les analyses de données ont été faites durant la réalisation de ce travail. Le résumé de la méthodologie suivie durant cette étude est présenté sur la figure 10.

III.2.1. Bibliographie

Il n'existe qu'un seul ouvrage relatif à la taxonomie des Poaceae de Madagascar. Il s'agit de celui de Bosser qui se rapporte aux Graminées des pâturages et des cultures de Madagascar (1969). La grande majorité des références disponibles sur la famille concerne beaucoup plus les régions écofloristiques ou géographiques auxquelles appartiennent Madagascar (Poaceae Sud-Africain, Flore de l'Afrique de l'Est, Flore des îles Mascareignes. Nos études bibliographiques ont eu pour principaux objectifs :

- Obtenir des informations concernant les Poaceae et les formations herbeuses à Madagascar, dans les hauts plateaux et d'Itremo ;
- Compiler les listes existantes sur les Poaceae d'Itremo ;
- Maîtriser les différentes terminologies propres aux Poaceae et se familiariser avec les caractères essentiels pour l'identification des Poaceae ;
- Déterminer les sites de collectes intéressantes.

Descente sur le terrain

Trois missions sur le terrain (deux en saisons de pluies Mars 2013 et Février 2014 et une en saison sèche Juin 2014) ont été effectuées durant cette étude pour obtenir le maximum d'échantillons.

Les descentes sur le terrain nous a permis de :

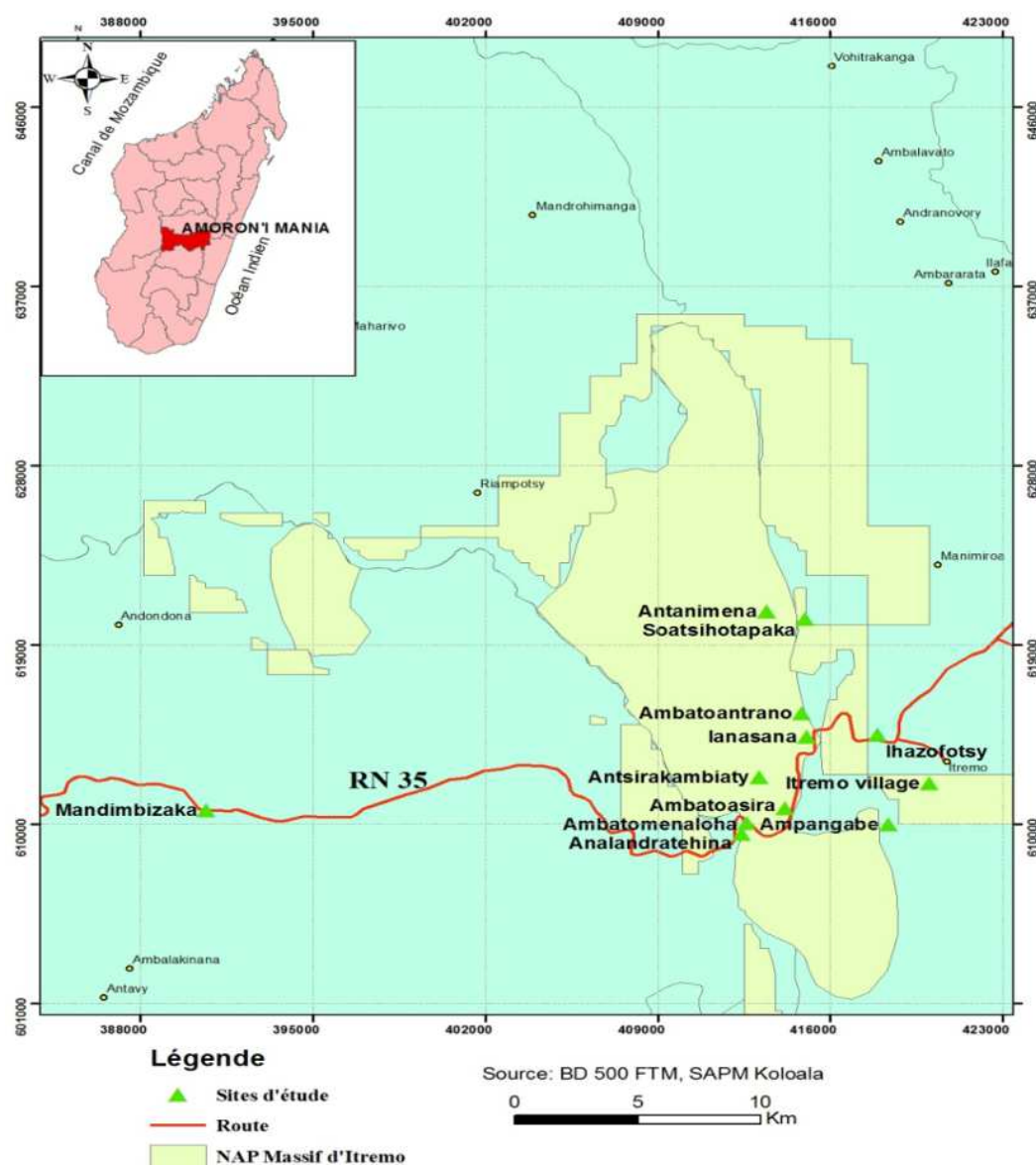
- Nous familiariser avec les Poaceae étudiés ;
- Collecter des spécimens d'herbiers pour les identifications et pour enrichir les collections d'herbiers de Poaceae malgaches en quatre duplicats destinés pour TAN et K ;
- Collecter des échantillons en gel de silice pour les futures analyses moléculaires ;
- Inventorier les espèces de Poaceae dans chaque type d'habitats ;
- Obtenir des données sur le spécimen et le milieu d'étude ;
- Connaître les habitats pour pouvoir évaluer les menaces et leur implication sur la conservation.

III.2.2.1. Collecte des herbiers

La collecte des spécimens d'herbiers a été faite au hasard, mais les conditions suivantes sont prises en compte :

- les échantillons doivent être des individus entiers, fertiles et privés d'alcool ;
- les collectes doivent être effectuées sur tous les différents types de formations végétales existants à Itremo ;
- les lieux de collecte doivent inclure autant que possible les différentes localités de la NAP ;
- les collectes doivent être faites à différentes situations topographiques: bas versant, flanc, crête.

De ce fait, les sites d'étude et de collectes sont repartis sur 12 localités et sont représentées sur la carte 3.



Carte 3 : Carte des sites de collectes des Poaceae dans la NAP (Source : BD 500FTM, SAPM Koloala)

Les informations et les données collectées pour chaque échantillon qui sont destinées à l'établissement de la base de données (Tableau 3) sont enregistrées dans un carnet de collecte.

Tableau 3 : Données collectées pour chaque échantillon

<i>Données sur le spécimen</i>	<i>Données sur le milieu</i>
- Noms scientifiques lors de pré-identification sur le terrain - Noms vernaculaires - Brève description de la biologie : port, taille, feuilles, racines, fleurs, couleurs, - Numéro du spécimen précédé du préfixe du collecteur - Noms des collecteurs	- Pays - District - Localité - Coordonnées géographiques et altitude - Date de la collecte - Habitat général où se développe le spécimen

III.2.2.2. Collecte des échantillons en gel de silice

Des échantillons placés en gel de silice (morceaux de jeunes feuilles) sont destinés aux futures analyses moléculaires

III.2.2.3. Etudes des habitats

L'étude des habitats repose sur l'étude de la composition floristique en Graminées de chaque type d'habitats existant dans la NAP du massif d'Itremo. Elle consiste à faire des inventaires des espèces rencontrés dans chaque type d'habitats en suivant la méthode standard. Il s'agit, dans chaque type de milieu identifié comme représentatif, de le parcourir et de rechercher les espèces fertiles. Si l'identification est possible, il faut noter le nom de la plante. Si l'identification comporte des doutes, il faut collecter des spécimens d'herbier. Enfin l'inventaire ne doit s'arrêter qu'une fois que l'on a certitude d'avoir listé toutes les espèces du milieu et/ ou d'avoir collecté tous les échantillons en fleur.

III.2.3. Travaux en laboratoire : Identification des échantillons

Chaque échantillon collecté fait l'objet d'identification et d'en donner la position taxonomique. Chez les Poaceae, l'identification se fait essentiellement grâce à l'étude des appareils reproducteurs, elle suit les étapes ci-dessous:

- Faire la dissection suivi de l'observation sous loupe binoculaire afin de dégager ses différents éléments constitutifs des épillets, d'étudier leurs détails et de les mesurer.

- Faire un dessin des éléments de l'épillet pour enregistrer et documenter les résultats de la dissection et l'observation.
- Utiliser des clés de détermination décrites par Bosser (1969) et Kellog (2013) et ceux présentés dans Flora of Tropical East Africa (1970 et 1974) pour sortir un nom.
- Comparer et vérifier des spécimens étudiés dans les herbiers de PBZT (TAN) et du RBG, Kew (K)
- Vérifier les auteurs et les noms synonymes des espèces sur le site web de The plant list www.theplantlist.org
- Déterminer leurs distributions sur le site web de World checklist of selected families <http://apps.Kew.org/wcsp/home.do>

Les échantillons identifiés et étiquetés sont ensuite déposés aux herbiers de TAN et K.

III.2.4. Clé de détermination

La clé de détermination des sous-familles des Poaceae d'Itremo est établie à partir de la clé des sous-familles décrites par Kellog en 2013 pour les Poaceae du monde et celle des genres est effectuée à partir de la clé des genres préétablis par Vorontsova en 2013 pour les Poaceae de Madagascar. Ces clés préexistes sont modifiées et adaptés pour Itremo après avoir vérifier les caractères décrites sur ces clés sur les échantillons.

III.2.5. Compilation des bases de données sur BRAHMS

Cette étape permet d'établir la liste des Poaceae de la NAP du massif d'Itremo qui servira non-seulement pour enrichir la flore de la NAP mais aussi de références pour les prochaines identifications effectuées à Itremo. Seuls les échantillons identifiés par des taxonomistes spécialistes en Poaceae (dans notre cas, les déterminations ont été essentiellement faites par Docteur Vorontsova, spécialiste en Poaceae de Madagascar à l'herbarium du RBG, Kew), les herbiers ayant des informations complètes sur le spécimen et le milieu sont pris en comptes dans la liste.

Les données collectées sur le terrain sont stockées dans la base de données BRAHMS. Ce sont essentiellement les données sur :

- L'échantillon d'herbier: description morphologique, habitat, collecteur, collecteurs additifs, date de collecte, numéro de chaque spécimen, personne qui a fait la détermination et l'herbarium de référence ;
- La localisation: pays, province, district, description de la localité, coordonnées géographiques et altitude ;
- La taxonomie: famille, genre, espèce accompagnée de son auteur ;
- La description de l'habitat.

Cinq extraits de bases de données sur les Poaceae d'Itremo représenté en annexe 2 ont été choisies et compilés avec la présente étude telles que :

- RDE de Kew Madagascar Conservation Centre, section Graminées avant 2013 ;
- RDE de la collection de Vorontsova et Ratovonirina à Itremo en 2012 ;
- RDE de la collection de Vorontsova et Besnard à Itremo en 2013 ;
- RDE de la collection de Ratovonirina en Mars 2012 ;
- RDE de la collection de Nanjarisoa en 2013 et 2014 ;
- Base de données des collections des Poaceae de Madagascar détenus à l'herbarium de MNHN Paris (P) via :

<http://coldb.mnhn.fr/colweb/form.do?model=SONNERAT.wwwsonnerat.wwwsonnerat.wwwsonnerat>

III.2.6. Illustration

Toutes les espèces identifiées dans la NAP doivent être supportées chacune par une description et une illustration. Les dessins effectués durant l'identification qui comportent des descriptions, sont utilisés pour cette illustration. Seuls les dessins correspondant à la description des espèces les plus représentatives et qui montrent le plus de caractères distinctifs de chaque sous-famille (excepté pour le Bambou qui est uniquement figuré par une photo), sont représentés dans le texte, le reste est représenté en annexe 5.

III.2.7. Traitement des données

❖ Analyse Factorielle de Correspondance (AFC)

L'Analyse Factorielle des Correspondances est une méthode d'analyse des données utilisée lorsque les variables à étudier sont de nature qualitative et/ou quantitative (Benzecri, 1973). Il s'agit d'une analyse de groupements ou d'associations d'éléments liés au sein d'un système quelconque. Dans cette étude, les variables sont les différents sites de relevé constitués par les habitats et les individus sont les espèces floristiques. Cette méthode a donc pour but de représenter graphiquement les relations entre les sites d'études (habitats) et les espèces floristiques et de mettre en évidence les espèces caractéristiques de chaque type d'habitat. Elle permet ainsi de catégoriser les différents groupements de Poaceae dans la NAP du massif d'Itremo.

Elle consiste à dresser un tableau de contingence sur Excel à partir des listes floristiques des différents sites de relevés. C'est un tableau à double entrée où les lignes correspondent aux espèces et les colonnes aux relevés. Les espèces présentes dans un relevé ont été codées par «1» tandis que celles qui sont absentes ont été codées par « 0 ». C'est à partir de ce tableau que le traitement de l'AFC s'est fait par l'ADE4, un logiciel spécialement conçu pour les Analyses des Données Ecologiques : méthodes Exploratoires et Euclidiennes en sciences de l'Environnement, et a donné comme résultats des graphes. L'interprétation des graphes prend en considération la proximité des points, la forme des nuages, l'identification et la signification des axes. Le codage de la présence et absence est représenté en annexe 3.

❖ Analyse en Composante Principale (ACP)

L'Analyse en Composantes Principales est une méthode d'analyse de données multidimensionnelles de nature quantitative. Elle a comme objectif de représenter graphiquement les relations entre individu-individu, individu-variable et variable-variable. Cette méthode consiste à dresser sur Excel un tableau de contingence où les colonnes sont attribuées aux variables (les facteurs écologiques) et les lignes aux observations (les relevés écologiques). Le traitement est effectué par un logiciel **R 3.1.1**. Dans cette étude, les individus sont représentés par les sites d'étude (habitats) et les variables par les facteurs étudiés (Exposition au soleil ES, degré de perturbation du site DP, altitude Al, humidité du sol HS, degré de passage de feu DF). L'ACP a été utilisé dans ce travail pour caractériser les facteurs influençant la répartition des différents groupements de Poaceae.

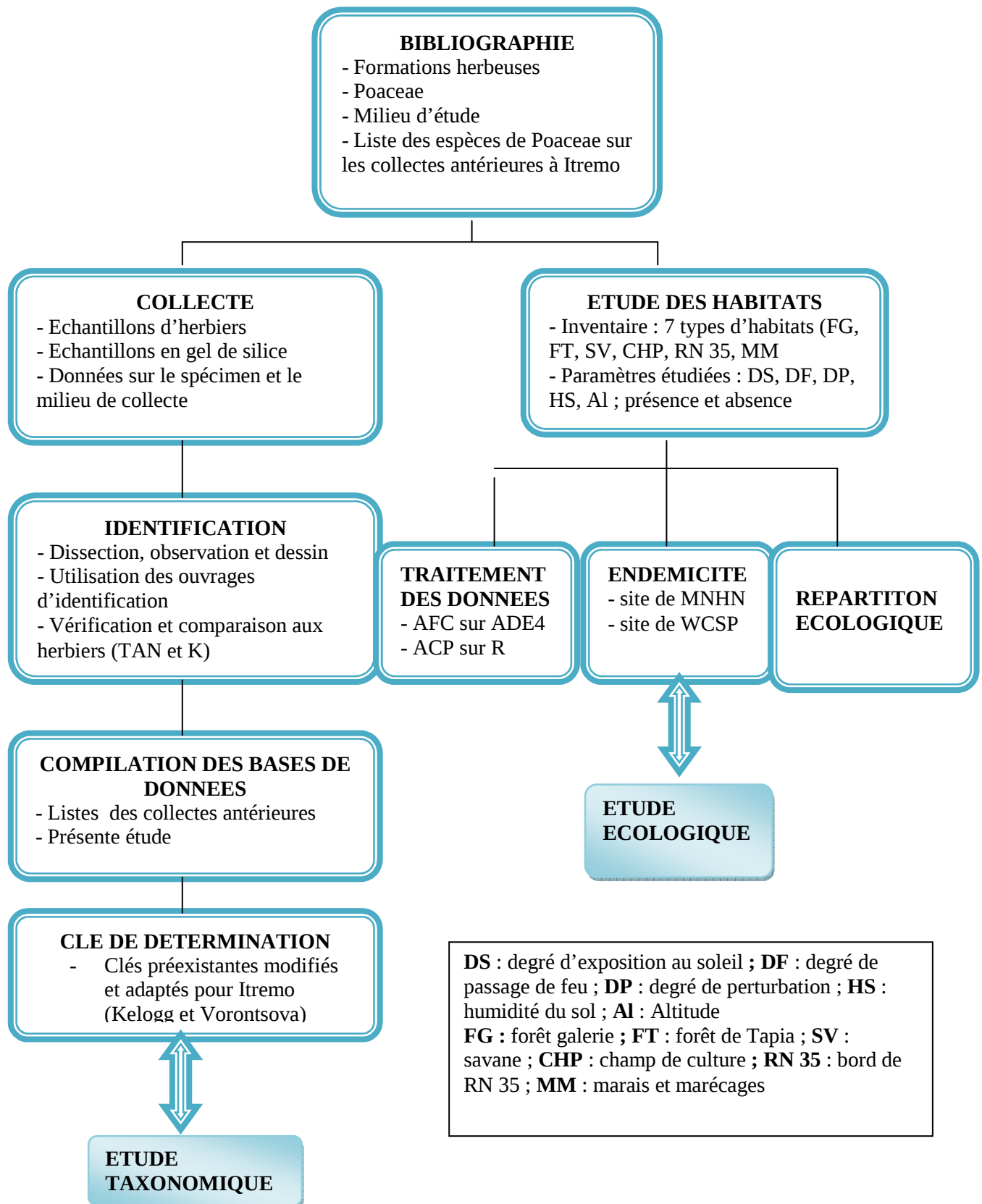


Figure 10 : Diagramme récapitulatif de la méthode d'étude