

**ETUDE DU STATUT MYCORHIZIEN
D'ARBRES PRODUCTEURS DE TRUFFES,
25 ANS APRÈS PLANTATION EN MEUSE**

**STUDY OF THE MYCORRHIZAL STATE
OF PRODUCING TRUFFLE TREES,
25 YEARS AFTER PLANTATION IN MEUSE (FRANCE)**

Emmanuelle MONCHABLON, Jean-Claude PARGNEY

UMR IaM, Faculté des Sciences, Université H. Poincaré-Nancy I, B.P. 239, 54506
Vandoeuvre Cedex, France.

E-mail : pargney@sbiol.uhp-nancy.fr

RESUME

L'étude a été effectuée sur une truffière dont les plants ont été inoculés avant plantation par *Tuber melanosporum* (truffe du Périgord). La diminution de la production de truffes nous a conduit à analyser l'état de mycorhization de certains arbres (un chêne pubescent et un noisetier). Il s'est avéré que du mycélium de *Tuber melanosporum* est toujours présent au niveau des racines de ces arbres, mais de manière sporadique. Des mycorhizes de *Tuber uncinatum* et *Tuber mesentericum*, deux truffes autochtones mieux adaptées aux conditions locales, sont, par contre, plus fréquentes et majoritaires. De plus, d'autres champignons (Basidiomycètes et indéterminés) ont développé des mycorhizes. Différents facteurs expliquent la disparition de *Tuber melanosporum* : son manque de compétitivité face aux autres champignons ; la densité des houppiers entraînant une fermeture de la truffière ; les conditions climatiques locales (gel) qui entravent la fructification. Ainsi, le présent travail montre l'importance des facteurs environnementaux à prendre en considération dans la conduite d'une truffière.

Mots-clés : *Tuber*, truffière, statut mycorhizien, facteurs environnementaux.

SUMMARY

This study was carried out on a truffle bed whose seedlings were inoculated before plantation by *Tuber melanosporum* (truffle of Périgord). The decrease of truffle's production induces us to analyse mycorrhizal state on some trees (*Quercus pubescens* and *Corylus avellana*). It proved that mycelium of *Tuber*

melanosporum is always present on trees root but at a weak level of mycorrhization. Mycorrhizes of *Tuber uncinatum* et *Tuber mesentericum*, autochthones truffles better adapted to local conditions, are more frequent and majority. Moreover other mushroom (basidiomycete and unknown) developed mycorrhizes. Various factors explain the disappearance of *Tuber melanosporum* : its lack of competitiveness in face of other species ; density of trees involving a closing of the truffière ; local climatic conditions (freezing) which block fructification. In consequence, this present work shows the importance of environmental factors to take into account in the control of truffle.

Key words : *Tuber*, truffière, mycorrhizal state, environmental factor.

INTRODUCTION

La production trufficole a considérablement chuté depuis 1900 où l'on a enregistré les plus forts tonnages (plus de 1000 t). Celle-ci avait augmenté légèrement à la fin du XIX^e siècle, profitant de la recolonisation des forêts et de l'abandon des vignes en raison du phylloxéra.

La quantité de truffes récoltées baisse rapidement au cours du XX^e siècle pour plusieurs raisons : guerres, mécanisation de l'agriculture entraînant la destruction des écosystèmes naturels, évolution des mentalités avec recherche d'un profit immédiat et sûr, exode rural, évolution des paysages (abandon des pâtures et regain de la forêt apportant ainsi trop d'ombrages pour la truffe du Périgord), perte du "savoir".

En Meuse, la même tendance se dessine, même si les productions sont moins importantes. En effet, le Centre-Est de la France ne connaissait pas la culture des truffes par semis des glands de chênes tel que cela se pratiquait dans le Sud. Néanmoins, le ramassage des truffes était couramment pratiqué par piochage.

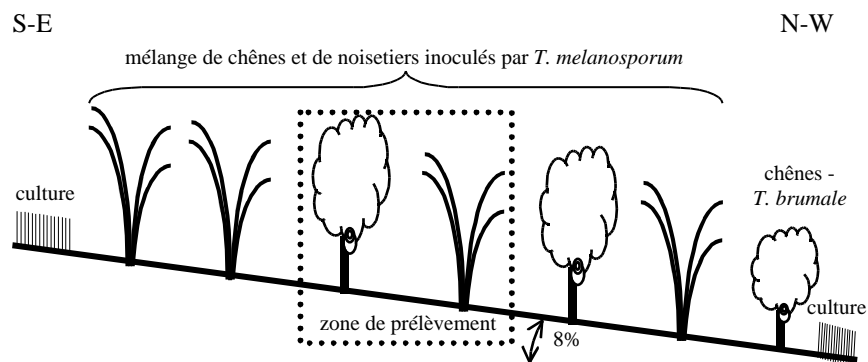
Après la deuxième guerre mondiale, naît la trufficulture moderne (CHEVALIER *et al.* 1972, CHEVALIER 1973) : des plantations de vergers truffiers sont réalisées au moyen de plants préalablement mycorrhizés avec *Tuber melanosporum* Vitt. (truffe du Périgord). Les premières plantations ont eu lieu en 1972 en France dans le Sud Est et le Sud Ouest, puis, peu de temps après, en Meuse.

Toutefois, la production obtenue n'a pas été à la hauteur de celle espérée. Si la récolte de *Tuber melanosporum* en Meuse est possible lors des années favorables (celles à hiver doux et peu précoce), d'autres truffes sont apparues dans les truffières plantées : *Tuber uncinatum* Chatin, *T. mesentericum* Vitt. et *T. brumale* Vitt. Plus de 20 ans après les plantations, différentes questions se posent : quel est l'état de mycorrhisation des arbres truffiers ? *T. melanosporum* est-elle toujours présente au niveau des mycorrhizes ? Quelle est l'importance des autres truffes et des autres champignons dans le statut mycorrhizien des arbres qui sont potentiellement producteurs ?

MATERIELS ET METHODES

1. CARACTERISTIQUES DU SITE DE RECOLTE

Nous avons travaillé sur une truffière privée appartenant à M. Ballureau et se situant à Boncourt-sur-Meuse (55). Elle avait été plantée, il y a 25 ans environ, avec des plants de chênes pubescents (*Quercus pubescens*) et de noisetiers (*Corylus avellana*) mycorhizés avec la truffe du Périgord (*T. melanosporum*), seule truffe utilisée à cette époque pour la production de plants truffiers. Ils ont été répartis sur 6 rangs, en mélange. Un septième rang a été planté plus tard avec l'association chênes-*T. brumale*, en contrebas de la truffière. La plantation est sur un terrain légèrement en pente (8%). Elle est entourée de cultures. Le profil de la truffière est le suivant :



Après quelques années de récolte sous certains arbres, la production de truffes du Périgord s'est éteinte, alors que des truffes appartenant à d'autres espèces commençaient à apparaître dans certains secteurs de la truffière.

Plusieurs arbres ont été sélectionnés au départ, mais deux seulement ont été conservés dans la suite de l'étude. Il s'agit d'un chêne et d'un noisetier possédant un brûlé et sous lesquels des truffes du Périgord ont été récoltées quelques années auparavant. Ils sont situés en position centrale de la truffière.



Pour l'analyse, des fragments racinaires sont prélevés aux quatre points cardinaux, à environ 2.5m du tronc, en bordure de brûlé (CTIFL 1998). Quatre échantillonnages ont été réalisés à différentes périodes de l'année, mais toujours au cours des saisons les plus favorables à l'identification des mycorhizes : mars 2001, juin 2001, septembre 2001 et mars 2002.

Au laboratoire, les échantillons sont momentanément conservés dans des bocaux remplis d'eau ; ceci permet au mycélium périphérique des mycorhizes et aux spores de se développer, facilitant l'identification des mycorhizes.

2. IDENTIFICATION DES MYCORHIZES

Les mycorhizes sont triées sous la loupe binoculaire. Celles de couleur jaune à brun foncé et qui portent du mycélium frangeant et notamment des spinules périphériques, sont sélectionnées. Elles sont alors observées au microscope photonique afin de contrôler la structure du manteau fongique et la morphologie des spinules. L'identification des espèces fongiques impliquées dans la constitution des mycorhizes peut se faire à la suite de ces observations. Le tableau suivant précise les caractéristiques d'identification.



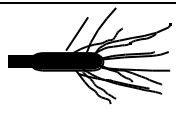
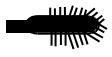


• Observation du mycélium périphérique

Présence de boucles 	Pas de boucles 	Pas de mycélium
Basidiomycète	Basidiomycète ou Ascomycète	

• Observation du manteau

Invisible (mycorhize opaque)	Pas de dessin caractéristique	Cellules polygonales	Cellules en puzzle
Champignon indéterminé		<i>T. aestivum</i> <i>T. uncinatum</i> <i>T. mesentericum</i> <i>T. excavatum</i>	<i>T. melanosporum</i> <i>T. brumale</i> <i>T. rufum</i>

• Observation de l'ornementation des mycorhizes (spinules)

<i>T. aestivum</i> <i>T. uncinatum</i> 	<i>T. melanosporum</i> Ramification du mycélium à angle droit 
<i>T. mesentericum</i> 	<i>T. brumale</i> 
<i>T. excavatum</i> 	<i>T. rufum</i> 

3. ESTIMATION DE LA DENSITE DES MYCORHIZES (CTIFL 1998)

L'importance des mycorhizes appartenant à chaque espèce est chiffrée au moyen d'une échelle de densité comme suit :

Statut mycorhizien pour chaque espèce fongique	note
Pas de mycorhize, densité nulle	0
Rares mycorhizes, densité très faible	1
Quelques mycorhizes, densité faible	2
Quantité moyenne de mycorhizes, densité moyenne	3
Nombreuses mycorhizes, densité forte	4
Très nombreuses mycorhizes, densité très forte	5

RESULTATS

1. SOUS LE CHENE

Les prélèvements effectués à différentes périodes et selon les quatre orientations (N, nord ; E, est ; S, sud ; W, ouest) donnent les résultats suivants selon les espèces (*Tuber melanosporum* ; *T. uncinatum* ; *T. mesentericum* ; *T. brumale* ; Basidiomycètes sans détermination spécifique ; champignons indéterminés) :

Mars 01	N	E	S	W
<i>T. mel</i>	1	2	4	0
<i>T. unc</i>	3	1	0	3
<i>T. mes</i>	1	1	0	0
<i>T. brum</i>	0	1	0	0
Basidio	5	5	2	5
Indéterm	1	1	0	0

Juin 01	N	E	S	W
<i>T. mel</i>	1	0	0	0
<i>T. unc</i>	3	0	0	2
<i>T. mes</i>	1	0	0	0
<i>T. brum</i>	0	0	0	0
Basidio	5	0	0	5
Indéterm	1	0	0	0

Sept. 01	N	E	S	W
<i>T. mel</i>	0	0	0	0
<i>T. unc</i>	?	?	?	?
<i>T. mes</i>	?	?	?	?
<i>T. brum</i>	0	0	0	0
Basidio	3	2	2	1
Indéterm	0	?	?	0

Mars 02	N	E	S	W
<i>T. mel</i>	0	1	1	1
<i>T. unc</i>	0	?	1	?
<i>T. mes</i>	0	1?	1	?
<i>T. brum</i>	0	1	2	?
Basidio	0	0	1	3
Indéterm	0	5	4	4

Ces tableaux montrent une forte présence de mycorhizes à certaines périodes de l'année (mars). D'autres périodes sont moins favorables à la

détermination (juin, septembre) puisque dans un certain nombre de cas il y a des incertitudes d'identification (notation : ?). Ces différences peuvent être dues à des conditions édaphiques plus ou moins favorables à la prolifération du mycélium périphérique permettant une reconnaissance aisée des mycorhizes. La présence d'un grand nombre de mycorhizes avec mycélium frangeant correspond à une période de bonne humidité, alors que l'absence d'ornementation autour des mycorhizes traduit une période de sécheresse.

Les mycorhizes appartenant à des Basidiomycètes sont très présentes, notamment à certaines périodes (mars, juin, septembre). Des mycorhizes de champignons indéterminés ont pu également être observées, parfois en abondance (mars 2002). Les différents champignons impliqués dans ces mycorhizes peuvent être plus ou moins sensibles à l'effet de sécheresse ou d'humidité édaphiques, et donc être présents alors que les *Tuber* le sont moins.

T. melanosporum, bien identifiable en mars 2001, est peu présent ensuite. *T. uncinatum* est également présent en mars et juin 2001, mais dans des orientations particulières (Nord et Ouest) ; des incertitudes apparaissent dans les autres observations. *T. brumale* est quasiment absent.

Nous pouvons remarquer également que les résultats diffèrent en fonction de l'orientation. Les prélèvements effectués côtés Est et Sud, sont les moins fructueux en mycorhizes, notamment en juin et septembre. Ces orientations défavorables correspondent aux zones les moins protégées par l'ombrage du feuillage de l'arbre.

2. SOUS LE NOISETIER

Les prélèvements effectués donnent les résultats suivants :

Mars 01	N	E	S	W
<i>T. mel</i>	0	0	0	0
<i>T. unc</i>	3	3	0	1
<i>T. mes</i>	5	5	5	5
<i>T. brum</i>	0	0	0	0
Basidio	1	0	0	1
Indéterm	1	0	1	0

Juin 01	N	E	S	W
<i>T. mel</i>	0	0	0	0
<i>T. unc</i>	5	0	5	5
<i>T. mes</i>	0	0	0	4
<i>T. brum</i>	0	0	0	0
Basidio	0	0	0	0
Indéterm	0	0	0	0

Sept. 01	N	E	S	W
<i>T. mel</i>	0	0	0	0
<i>T. unc</i>	0	?	2	5
<i>T. mes</i>	0	?	5	3
<i>T. brum</i>	0	0	0	0
Basidio	4	0	0	0
Indéterm	0	?	0	0

Mars 02	N	E	S	W
<i>T. mel</i>	0 ?	1	0	0
<i>T. unc</i>	3 ?	0	5	4
<i>T. mes</i>	1 ?	3	4	5
<i>T. brum</i>	1 ?	0	0	1
Basidio	4	2	1	0
Indéterm	0	3	1	0

L'identification semble également plus favorable sous cet arbre, en début du printemps qu'au début de l'été. Il y a une forte présence de *T. uncinatum* et *T. mesentericum*. Par contre, les mycorhizes à *T. melanosporum* et à *T. brumale* se développent peu ou sont absentes. Celles à Basidiomycètes et à champignons indéterminés apparaissent à certaines périodes. Les prélèvements effectués en orientation Sud et Est peuvent être aussi fructueux que les deux autres.

DISCUSSION ET CONCLUSION

Sous les arbres analysés, peu de mycorhizes de *Tuber melanosporum* ont été trouvées. Ceci explique donc la chute, après quelques années de récolte, de la production de truffes du Périgord. Sa disparition semble liée aux conditions écologiques défavorables : un climat semi-continentale, un ombrage de plus en plus important par extension des houppiers, des gels hivernaux trop forts, la compétitivité face à d'autres champignons. Les rares mycorhizes de *T. melanosporum* sont localisées sous le chêne qui a donné encore récemment des ascocarpes de cette espèce. Peu ou pas de mycorhizes de *T. melanosporum* ont été trouvées sous le noisetier. On peut se demander si le mycélium de *T. melanosporum* a trouvé préférentiellement refuge sous le chêne plutôt que sous le noisetier et/ou si la relation *T. melanosporum*-chêne est plus pérenne que la relation *T. melanosporum*-noisetier.

Par rapport à la plantation de départ, d'autres *Tuber* se sont affirmés : *T. uncinatum* et *T. mesentericum*, qui sont deux espèces naturellement présentes en Lorraine et bien adaptées aux conditions pédo-climatiques locales. Ces espèces se sont développées en colonisant les systèmes racinaires et en produisant de plus en plus de mycorhizes, au détriment de celles réalisées par *T. melanosporum*. Le mycélium de *T. melanosporum* est peu compétitif et il peut être aisément supplanté par d'autres *Tuber* (CALLOT *et al.* 1999, FROCHOT *et al.* 1999).

Peu de mycorhizes de *T. brumale* ont été récoltées. Il s'agit pourtant d'un *Tuber* très compétitif, notamment vis-à-vis de *T. melanosporum* (CHEVALIER 1999, SOURZAT 2000). Bien que dans la truffière étudiée, des chênes inoculés par *T. brumale* aient été plantés en bas de pente de la truffière, il n'y a pas eu de contamination des rangs supérieurs par cette espèce. Le travail du sol réalisé pour l'entretien de la plantation, n'a pas permis la transmission du mycélium aux autres arbres. D'autre part, les plants de départ n'ont pas reçu de contamination parasite lors de l'inoculation (CHEVALIER comm. pers.), comme cela a pu se produire dans d'autres truffières. Régionalement, des truffes de *T. brumale* sont récoltées. Il s'agit d'ascocarpes de plus petite taille que ceux accidentellement introduits lors de l'inoculation par *T. melanosporum*. Vis-à-vis des truffes locales (*T. uncinatum* et *T. mesentericum*), *T. brumale* est très peu compétitif (FROCHOT comm. pers.).

D'autres champignons (Basidiomycètes et indéterminés) font partie du cortège fongique. Les mycorhizes qu'ils développent avec le chêne et le noisetier sont bien présentes à certaines périodes et pourraient être compétitives vis-à-vis des *Tuber*. L'observation des mycorhizes indéterminées fausse sans doute les résultats obtenus au cours des prélèvements. L'absence de mycélium frangeant et de spinules est un handicap dans la détermination des espèces. Une reconnaissance plus précise et plus sûre peut être obtenue par identification moléculaire. Ainsi, la technique que nous avons utilisée, montre un certain nombre de limites : pour chaque arbre, seules quelques dizaine de centimètres de racines ont été prélevées, ce qui réduit le nombre des mycorhizes à observer. Cette étude n'est qu'une approche permettant d'apprécier le statut mycorhizien de deux arbres anciennement producteurs de truffes du Périgord. Elle pourrait être étendue à toute la truffière, sachant que celle-ci comporte plus de 200 arbres !

Une autre limite de l'étude est celle de la localisation précise des mycorhizes de *T. melanosporum* autour de l'arbre. En effet, SOURZAT (comm. pers.) a observé la présence de *T. melanosporum* sur des zones très localisées du brûlé formant un anneau ou une portion d'anneau autour de Chênes producteurs dans le département du Lot ; les autres espèces de truffe et les autres champignons sont par contre présents à l'extérieur et à l'intérieur de l'anneau. Une telle étude mériterait d'être effectuée en Meuse, en cartographiant avec précision la localisation des ascocarpes et celle des mycorhizes.

L'évolution de cette plantation montre l'importance des conditions écologiques à prendre en compte dans l'installation d'une truffière. Trop souvent, *T. melanosporum* a été choisi, sans tenir compte des facteurs pédo-climatiques locaux ; ceci, par méconnaissance de la culture des truffes locales (*T. uncinatum* et *T. mesentericum*) mais aussi, par absence sur le marché de plants mycorhizés par ces truffes (ce qui est le cas ici). Pourtant, elles deviennent dominantes lorsque les conditions écologiques leur sont favorables. Aussi, la diversité des truffes européennes doit permettre à chaque espèce de truffes d'être utilisée à sa juste valeur et de trouver sa place dans la gastronomie des années à venir.

BIBLIOGRAPHIE

- CALLOT G., BYE P., FERNANDEZ D., PARGNEY J-C., PARGUEY-LEDUC A., JANEX-FAVRE M-C., MOUSSA R., PAGES L., 1999 - La truffe, la Terre, la Vie, Ed. INRA, Paris.
- CHEVALIER G., 1973 - Synthèse axénique des mycorhizes de *Tuber brumale* (Vitt.), à partir de cultures pures du champignon. *Ann. Phytopa.*, **5** (2), 163-182.
- CHEVALIER G., 1999 - Du congrès de Spoleto à celui d'Aix-en-Provence : les avancées en matière de recherches sur la truffe et la trufficulture en France. *Actes du 5^{ème} congrès international, Sciences et culture de la truffe, Aix-en-Provence, Fédération Française des Trufficulteurs*, 11-15.

- CHEVALIER G., GREUTE J., POLLASEK A., 1972 - Obtention de mycorhizes de différents *Tuber* par synthèse à partir de spores en conditions gnotoxéniques. *Acad. Agri. Fr.*, 981-989.
- CTIFL, 1998 - La Truffe : guide pratique. Ed. CTIFL, Paris.
- FROCHOT H., CHEVALIER G., BARBOTIN P., BEAUCAMP F., FERRAND J-C, GRILLON J., JALADE M., MENU C., PERON P., WEHRLLEN L., 1999 - Avancées sur la culture de la truffe de Bourgogne. *Actes du 5^{ème} congrès international, Sciences et culture de la truffe, Aix-en-Provence, Fédération Française des Trufficulteurs*, 387-392.
- SOURZAT P., 2000 - Trufficulture : Résultats techniques d'exploitation. Ed. Publi Fusion, Le Montat.