

LES PROBLÈMES POSÉS PAR LA MYCORHIZATION CONTRÔLÉE DU CHÊNE

J. GARBAYE

La mycorhization contrôlée est une technique, en cours de développement dans de nombreux pays dont la France, qui consiste à introduire dans les plantations forestières des champignons mycorhiziens plus performants que ceux qui sont naturellement présents sur le site de plantation.

Les stimulations de croissance les plus significatives du point de vue pratique sont obtenues dans des stations où les champignons compatibles avec l'essence plantée font totalement ou partiellement défaut (remblais et autres sols perturbés, terrils de mines, régions dépourvues de forêts, landes, plantations d'essences exotiques présentant des besoins symbiotiques spécifiques).

Par contre, le succès est théoriquement beaucoup plus aléatoire lorsque l'on plante une essence dans son aire d'origine, immédiatement après coupe à blanc d'un peuplement de cette essence. Dans ces conditions, de nombreux champignons compatibles et adaptés au milieu sont déjà présents, et peuvent empêcher l'installation de ceux que l'on cherche à introduire. Cependant, toujours théoriquement, il peut se présenter des cas où la mycorhization contrôlée serait efficace : le fait qu'une microflore symbiotique est en équilibre avec l'écosystème forestier ne signifie pas forcément qu'elle soit optimale pour la croissance d'une espèce composant le peuplement végétal (ce qui intéresse le forestier) et il est peut-être possible de trouver ailleurs des souches fongiques particulièrement efficaces et suffisamment compétitives pour procurer un gain de production.

La régénération artificielle des Chênes rouvre et pédonculé dans le Nord-Est de la France représente un bon exemple de ce type de situation, et une technique permettant d'accélérer la croissance initiale des plantations serait utile. C'est pourquoi le laboratoire de Microbiologie forestière de l'INRA de Nancy explore ce domaine depuis 1979. Quatre problèmes ont été étudiés successivement :

— les symbiotes ectomycorhiziens compatibles avec les chênes au stade juvénile et leur efficacité intrinsèque en conditions contrôlées ;

- la possibilité d'introduire de façon durable des souches fongiques étrangères à la station de plantation ;
- la production de plants de Chêne mycorhizés de façon contrôlée en pépinière, avec plusieurs champignons ;
- le comportement de ces plants en forêt.

Cet article fait le point des résultats actuellement disponibles.

ÉTAT SYMBIOTIQUE NATUREL DU CHÊNE DANS LA RÉGION

Voiry (1980 et 1981) a inventorié les symbiotes les plus fréquents dans les peuplements adultes et a décrit les formes de mycorhizes correspondantes. Il a ainsi pu établir une typologie (ou classification morphologique) de ces formes, mettant en évidence la correspondance entre la structure de la mycorhize et le groupe systématique (famille ou genre) auquel appartient le partenaire fongique de l'association. Cette typologie est essentiellement basée sur des caractères externes observables à la loupe (structure superficielle du manteau, organisation du mycélium extramatriciel), ce qui permet de l'appliquer lors des prospections de routine sans avoir recours à des coupes et à des observations microscopiques poussées.

Voiry (1980) et Menez (1984) ont réalisé des inoculations en conditions semi-axéniques avec de nombreuses souches isolées à partir de carpophores. Ils ont montré que la symbiose ne s'établissait facilement sur les jeunes semis qu'avec un nombre restreint d'espèces, appartenant pour l'essentiel aux genres *Hebeloma*, *Laccaria*, *Scleroderma*, *Paxillus* et *Thelephora*.

En comparant les observations de terrain et les résultats de ces synthèses, Garbaye et al. (1986) ont en effet montré qu'un petit nombre seulement d'espèces de champignons formaient des mycorhizes, dans les conditions naturelles, avec les très jeunes chênes en pépinière et dans les régénérations naturelles. Ces résultats confirment l'importance de la notion d'addition de partenaires fongiques au cours du développement de l'arbre, telle que l'ont introduite Mason et al. (1982 et 1983). Dans le cas des chênes dans la région étudiée, les champignons du premier stade, c'est-à-dire formant des mycorhizes sur des semis de moins de trois ans, appartiennent tous aux genres *Hebeloma*, *Inocybe*, *Laccaria*, *Scleroderma*, *Paxillus*, *Thelephora*, *Tuber* et *Cenococcum*. Par l'analyse de relevés effectués sur des stations variées, les mêmes auteurs ont aussi mis en évidence que les espèces du premier stade étaient généralement peu dépendantes des caractéristiques du sol : seul *Hebeloma sacchariolens* est lié aux sols eutrophes et riches en phosphore de certaines pépinières, et *Paxillus involutus* aux sols limoneux acides.

Ces résultats entraînent un certain nombre de conséquences pratiques :

- Les espèces fongiques que l'on pourra introduire en pépinière par inoculation sont en nombre très limité. La sélection devra se faire au niveau des isolats, car on sait que la variabilité intraspécifique des champignons est très grande.

- *Hebeloma sacchariolens* n'est pas adapté aux objectifs de la mycorhization contrôlée car il présente une amplitude écologique restreinte et est surtout caractéristique des conditions de pépinière. Par contre, *Paxillus involutus* est bien adapté aux sols limoneux acides qui supportent une grande proportion des chênaies du Nord-Est.

- *Laccaria laccata*, *Laccaria proxima*, *Tuber albidum*, *Scleroderma* sp. et *Hebeloma crustuliniforme* sont intéressants du fait de leur grande amplitude écologique.

- Divers *Inocybe* sp. ont également une large amplitude écologique, mais sont inutilisables tant qu'on ne sait pas cultiver ce genre *in vitro*.

- *Cenococcum graniforme* et *Thelephora terrestris* sont largement représentés mais pré-

sentent peu d'intérêt pratique : la synthèse artificielle est très difficile à obtenir en pépinière avec *Cenococcum graniforme* et *Thelephora terrestris* est connu comme étant peu efficace et peu compétitif en milieu forestier.

COMPORTEMENT DE LA SYMBIOSE LORS DE LA PLANTATION

Les plants produits en pépinière, et éventuellement mycorhizés de façon contrôlée par inoculation artificielle, sont destinés à être transplantés en forêt, c'est-à-dire à subir des traumatismes racinaires et un changement brutal de milieu, et à être en contact avec une nouvelle microflore comprenant entre autres des symbiotes compétiteurs.

Il a donc été nécessaire de savoir dans quelle mesure les complexes mycorhiziens acquis en pépinière pouvaient se maintenir et se développer sur les nouvelles racines après transplantation, condition indispensable à l'expression de l'efficacité d'un symbiote introduit en pépinière.

Garbaye et Wilhelm (1984) ont procédé par enquête dans des plantations de routine en décrivant, en quantifiant et en comparant les complexes mycorhiziens des plants en pépinière, des plants transplantés en forêt, et des semis naturels sur la même station. Les résultats montrent que certains types de mycorhizes (en particulier ceux dus à *Hebeloma crustuliniforme*, *Scleroderma* sp., et *Tuber albidum*) se maintiennent effectivement plusieurs années après la transplantation. Le type de sol et la nature des symbiotes compétiteurs est un facteur important.

Des conclusions analogues ont été obtenues expérimentalement en serre par Garbaye (1984) en repiquant des semis mycorhizés de façon contrôlée dans des pots contenant le sol forestier étudié.

Ces résultats sont d'une grande importance pratique pour la suite du programme :

— Il est possible d'orienter la mycorhization des plantations même dans des conditions jugées *a priori* défavorables (plantation à racines nues et abondance de l'inoculum naturel).

— Certains symbiotes sont plus compétitifs que d'autres, ce qui constitue un critère fondamental de sélection.

— La réceptivité des sols à l'introduction d'un symbiote étranger est très variable. La sélection de souches fongiques performantes ne peut donc se faire que dans un contexte écologique précis, mais en recherchant la plus grande amplitude possible.

INOCULATION DES PLANTS EN PÉPINIÈRE

Les plants de Chêne sont en France pratiquement tous produits à racines nues. La grande majorité provient de pépinières classiques, sur sol naturel amendé, où les plants sont élevés en plusieurs années avec repiquage ou cernage. Cependant, une autre technique prend progressivement de l'importance : la culture sur lit de tourbe fertilisée, qui permet d'obtenir en un an seulement des plants de taille commerciale présentant une excellente reprise (Garbaye, 1986 ; Naudet, 1986). C'est ce système de pépinière (pépinière de l'Office national des Forêts de Clairlieu, près de Nancy) qui a été choisi pour la production de plants de Chêne inoculés, pour les raisons suivantes :

— la tourbe étant au départ très pauvre en éléments nutritifs et en microorganismes symbiotiques, il y est plus facile de maîtriser ces facteurs que dans un sol naturel ;

— les plants ne restant qu'un an en pépinière, les risques de contamination sont réduits ;

— une partie de la tourbe adhérant aux racines lors de l'arrachage, les mycorhizes sont moins lésées lors de la transplantation.

La dynamique de l'infection et ses facteurs limitants a été étudié en pépinière et en phytotron (Garbaye et Wilhelm, 1985) avec un inoculum mycélien d'*Hebeloma crustuliniforme*. Le succès de l'inoculation dépend du recouvrement dans le temps de deux phases distinctes : survie et croissance de l'inoculum dans la tourbe, puis présence de racines réceptives à la colonisation mycélienne et à l'infection ectomycorhizienne. Les techniques de conditionnement de l'inoculum et les interventions culturales doivent donc viser à allonger l'une et/ou l'autre de ces deux phases. Le niveau de fertilisation est le principal facteur limitant : pour permettre l'établissement massif de la symbiose, il doit être réduit au quart des quantités d'azote et de phosphore habituellement préconisées (Delran et al., 1975). Avec un champignon efficace comme *Hebeloma crustuliniforme* (Garbaye, 1963), l'effet de la symbiose compense cependant cette réduction de fertilité et la taille des plants n'est pas réduite. Le niveau de fertilisation est sans effet sur la survie de l'inoculum ; il agit seulement indirectement sur la colonisation racinaire et l'infection, en modifiant la nutrition minérale de la plante et la composition de la rhizosphère.

Un autre facteur limitant décisif est la dose d'inoculum et la façon dont celui-ci est apporté avant le semis : les meilleurs résultats sont obtenus en mélangeant l'inoculum à la tourbe, avec au moins 1 % en volume. L'infection est plus rapide et plus intense pour une dose supérieure, 10 % étant le maximum.

Le climat est également important : l'inoculation est plus efficace dans le cas des cultures sous tunnel plastique, où les basses températures de printemps sont moins limitantes pour le développement du mycélium et des racines.

L'effet de la désinfection de la tourbe préalablement au semis est toujours à l'étude et est encore difficilement prévisible. Garbaye et Perrin (1986) observent, sur une tourbe déjà utilisée un an, que la fumigation au bromure de méthyle est favorable à l'installation d'*Hebeloma crustuliniforme* et *Laccaria laccata*, mais sans effet sur l'infection par *Paxillus involutus*, rapide et abondante dans les deux substrats désinfecté et non désinfecté. D'autres expériences donnent cependant des résultats contradictoires, ce qui montre la complexité des interactions entre microorganismes dans la rhizosphère et confirme l'intérêt des recherches fondamentales dans ce domaine.

SÉLECTION DE SOUCHES FONGIQUES PERFORMANTES

Une souche utilisable avec profit dans la pratique doit satisfaire aux quatre contraintes principales suivantes :

- 1 - Aptitude à former des mycorhizes dès le stade juvénile du semis. Nous avons vu que seul un petit nombre d'espèces répond à ce critère.
- 2 - Facilité de culture *in vitro* pour la production d'inoculum mycélien. Ceci élimine non seulement les *Inocybe*, que l'on ne sait pas cultiver, mais aussi certaines espèces dont la croissance est très lente sur les milieux usuels.
- 3 - Efficacité pour la croissance de l'arbre dans une large gamme de conditions écologiques.
- 4 - Compétitivité vis-à-vis des microorganismes du sol, tant en pépinière que sur le site de plantation.

Les contraintes 1 et 2 permettent un tri rapide au laboratoire, par des observations de terrain et par des essais de synthèse en conditions contrôlées en phytotron, en serre ou en pépinière expérimentale.

Par contre, la sélection pour les caractères 3 et 4 est plus difficile, car leur expression dépend fortement des facteurs du milieu. Tant que des tests physiologiques simples ne sont pas

disponibles pour prévoir l'efficacité et la compétitivité d'une souche, des essais comparatifs en pépinière et en plantation restent indispensables.

Un premier tri est en cours, qui a permis de présélectionner un petit nombre de souches appartenant aux espèces *Hebeloma crustuliniforme*, *Laccaria laccata*, *Paxillus involutus* et *Scleroderma aurantium*. Une souche d'*Hebeloma crustuliniforme* s'est avérée à la fois efficace (Garbaye, 1983) et compétitive (Garbaye, 1984) sur un type de sol très commun dans les chênaies du Nord-Est.

Des plants inoculés et mycorhizés en pépinière de Clairlieu par certains de ces champignons font depuis peu l'objet de plantations comparatives.

PREMIERS RÉSULTATS DES PLANTATIONS COMPARATIVES

Quatre essais, portant sur le Chêne pédonculé, ont été installés de 1985 à 1988 (plantations de printemps à la densité de 4 000 plants par ha) sur des sols lessivés marmorisés à des degrés divers de la haute terrasse de la Moselle entre Épinal et Charmes (Vosges) :

Frizon 1 - 1985, sol non préparé après coupe à blanc d'un peuplement de Hêtre ; 4 traitements : témoin non inoculé mais naturellement mycorhizé par *Thelephora terrestris*, et plants inoculés et mycorhizés par *Paxillus involutus*, *Hebeloma crustuliniforme* ou *Laccaria laccata* ; dispositif en blocs complets (4 répétitions) avec des placeaux unitaires de 24 plants.

Frizon 2 - 1986, sol non préparé après coupe à blanc d'un peuplement de Hêtre ; 3 traitements : témoin, *Paxillus involutus* ou *Hebeloma crustuliniforme* ; même type de dispositif que Frizon 1.

Igney - 1987, sol dessouché et labouré ; mêmes traitements que Frizon 2 ; dispositif en lignes alternées (6 répétitions de 50 plants).

Bouxières-aux-Bois - 1988, sol dessouché et labouré ; mêmes traitements que Frizon 2 et Igney ; même dispositif qu'Igney.

En septembre 1986 (soit deux ans après la plantation), un échantillon de racine a été prélevé sur trois plants pris au hasard dans chaque traitement de Frizon 1. Les racines ont été lavées et observées à la loupe binoculaire, et les différents types de mycorhizes rencontrés ont été quantifiés suivant une échelle de notation d'abondance-répartition de 0 à 3 (il ne s'agit pas de proportions de racines courtes mycorhizées : les notes correspondant aux différents types de mycorhizes ne sont pas additives). Les résultats de ces observations (tableau I) montrent que les

Tableau I **Plantation de Frizon 1 : statut mycorhizien, 2 ans après plantation, des plants de Chêne pédonculé inoculés et mycorhizés en pépinière par *Thelephora terrestris* (témoin non inoculé), *Paxillus involutus*, *Laccaria laccata* et *Hebeloma crustuliniforme*.**

La mycorhization est notée de 0 à 3 (voir texte). Sont imprimées en caractères gras les valeurs correspondant au type de mycorhize dû au même champignon que celui introduit dans le traitement considéré

Traitements	Types de mycorhizes (*)				
	Pi.	Ll.	Hc.	Cg.	Clb
Témoin	0,2	1,3	0,2	2	3
<i>Paxillus involutus</i>	2	0,8	0,5	1,7	2,3
<i>Laccaria laccata</i>	0	1,5	0,1	2	2,5
<i>Hebeloma crustuliniforme</i>	1,3	0,5	1,8	1,3	2,3

(*) Types de mycorhizes : Pi. : *Paxillus involutus* Hc. : *Hebeloma crustuliniforme*
 Ll. : *Laccaria laccata* Cg. : *Cenococcum graniforme*
 Clb : mycorhize brune lisse ramifiée, due à un champignon non identifié.

mycorhizes indigènes dominantes (sur les plants témoins) sont un type brun lisse très ramifié (Clb) et celles dues à *Cenococcum graniforme* et *Laccaria laccata*. Des carpophores de cette dernière espèce étaient d'ailleurs visibles dès la première année au pied de nombreux plants dans tous les traitements des quatre expériences. La souche de *Laccaria laccata* introduite n'a pas augmenté sensiblement le niveau de mycorhization par cette espèce. On remarque également que *Thelephora terrestris*, qui constituait l'essentiel de la mycorhization des plants témoins en pépinière, a complètement disparu. Ceci correspond bien à ce que l'on sait de ce champignon, qui est surtout adapté aux conditions des pépinières. Par contre, il est clair que les deux autres champignons introduits (*Paxillus involutus* et *Hebeloma crustuliniforme*) se sont maintenus et continuent de coloniser les nouvelles racines deux ans après la plantation. L'observation de la mycorhization n'a pas encore été effectuée dans les autres essais.

Chaque année, la hauteur totale et l'accroissement en hauteur de l'année ont été déterminés pour chaque plant dans les quatre dispositifs, les derniers résultats disponibles étant ceux de 1988. Le traitement statistique de ces données par analyse de variance révèle seulement trois cas où l'introduction d'une souche fongique étrangère à la station a procuré un gain significatif de croissance :

Frizon 1 - *Paxillus involutus* sur l'accroissement de deuxième année (gain de 25 %) ;

Bouxières-aux-Bois - *Paxillus involutus* sur l'accroissement de première année (gain de 40 %) ;

Bouxières-aux-Bois - *Hebeloma crustuliniforme* sur l'accroissement de première année (gain de 15 %).

Ces effets statistiquement significatifs, intéressants au plan biologique, sont insignifiants du point de vue pratique et ne se traduisent pas encore par un gain de hauteur totale. Il est trop tôt pour avoir une vue cohérente des résultats et les mesures se poursuivent. Cependant, à Frizon 1, on remarque une concordance logique entre l'effet positif de l'introduction de *Paxillus involutus* et la persistance de ce champignon sous forme de mycorhizes. De la même façon, toujours à Frizon 1, on ne saurait s'attendre à un effet de *Laccaria laccata*, déjà bien représenté dans la microflore indigène. Les résultats sont plus difficiles à interpréter dans le cas d'*Hebeloma crustuliniforme* : à Frizon 1, ce champignon a bien été introduit avec succès (en terme de compétitivité, ce qui confirme les résultats des enquêtes et des essais en pots rapportés plus haut), mais il est sans effet sur la croissance malgré une efficacité intrinsèque déjà démontrée (Garbaye, 1983). Le même *Hebeloma crustuliniforme* procure un effet positif à Bouxières-aux-Bois, sans que l'on sache encore dans quelle mesure il s'est maintenu.

CONCLUSIONS

L'ensemble de ces résultats montre qu'il est possible de modifier le statut ectomycorhizien des plantations de Chêne par inoculation des plants en pépinière dans le Nord-Est de la France, alors que les conditions étaient *a priori* très défavorables du fait de l'abondance de l'inoculum naturel à l'équilibre. Il est donc tout à fait possible de sélectionner des champignons suffisamment compétitifs vis-à-vis des symbiotes indigènes pour persister plusieurs années. On remarque d'ailleurs une bonne concordance entre les résultats des enquêtes de terrain et ceux des plantations comparatives, par exemple en ce qui concerne le maintien de *Paxillus involutus* après plantation.

Cependant, les quelques souches fongiques utilisées jusqu'à présent sont loin de procurer des gains de croissance significatifs pour la pratique forestière. Il est clair que les efforts de recherche doivent porter sur des plantations comparatives réalisées avec des souches beaucoup plus nombreuses et d'origines diverses.

Enfin, une telle technique ne peut avoir d'avenir que si les techniques d'inoculation en pépinière sont assez bien maîtrisées pour produire des plants massivement mycorhizés par les champignons introduits.

J. GARBAYE
Laboratoire de Microbiologie forestière
CENTRE DE RECHERCHES FORESTIÈRES (INRA)
CHAMPENOUX 54280 SEICHAMPS

Remerciements

Ces travaux ont été partiellement financés par la Direction technique de l'Office national des Forêts. Les enquêtes dans les plantations de routine, les essais en pépinière et les plantations comparatives ont été grandement facilités par la compréhension et la collaboration des agents de terrain, et par la mise à disposition de parcelles par la Direction régionale Lorraine de l'Office national des Forêts. Enfin, les pépinières Naudet, Clémendot, Prou et Kappel ont bien voulu permettre des études dans leurs planches de Chêne.

BIBLIOGRAPHIE

- DELTRAN (S.), GARBAYE (J.), LE TACON (F.). — Production rapide de plants feuillus sur tourbe fertilisée : nouveaux résultats. — *Revue forestière française*, vol. XXVII, n° 6, 1975, pp. 437-448.
- GARBAYE (J.). — Compétitivité des champignons ectomycorhiziens. Premiers résultats et application à la sélection de souches pour la mycorhization contrôlée du Hêtre et du Chêne rouvre dans le Nord-Est de la France. — *Revue forestière française*, vol. XXXVI, n° 1, 1984, pp. 33-43.
- GARBAYE (J.). — Effet du champignon ectomycorhizien *Hebeloma crustuliniforme* sur la croissance du Chêne et du Hêtre. — *Revue forestière française*, vol. XXXV, n° 1, 1983, pp. 21-26.
- GARBAYE (J.). — Premiers résultats de recherches sur la compétitivité des champignons ectomycorhiziens. — *Plant and Soil*, 71, 1983, pp. 303-308.
- GARBAYE (J.). — La Production rapide de plants feuillus sur tourbe fertilisée : les bases de la technique. — *Revue forestière française*, vol. XXXVIII, n° 3, 1986, pp. 213-219.
- GARBAYE (J.), MENEZ (J.), WILHELM (M.-E.). — Les Mycorhizes des jeunes chênes dans les pépinières et les régénérations naturelles du Nord-Est de la France. — *Oecologia Plantarum*, 7 (21), n° 1, 1986, pp. 87-96.
- GARBAYE (J.), PERRIN (R.). — L'inoculation ectomycorhizienne des plants feuillus sur tourbe fertilisée : résultats sur Chêne pédonculé avec quatre souches fongiques. — *European Journal of Forest Pathology*, 16, 1986, pp. 239-246.
- GARBAYE (J.), WILHELM (M.-E.). — Facteurs limitants et aspects dynamiques de la mycorhization contrôlée de *Fagus sylvatica* par *Hebeloma crustuliniforme* sur tourbe fertilisée. — *Annales des Sciences forestières*, vol. 42, n° 1, 1985, pp. 53-68.
- GARBAYE (J.), WILHELM (M.-E.). — Influence de la mycorhization acquise en pépinière sur la mycorhization de jeunes plantations de Chêne. — *Oecologia Plantarum*, 5 (19), n° 2, 1984, pp. 151-161.
- MASON (P.A.), LAST (F.T.), PELHAM (J.), INGLEBY (K.). — Ecology of some fungi associated with an aging stand of birches (*Betula pendula* and *Betula pubescens*). — *Forest Ecology and Management*, n° 4, 1982, pp. 19-39.
- MASON (P.A.), WILSON (J.), LAST (F.T.). — The concept of succession in relation to the spread of sheathing mycorrhizal fungi on inoculated tree seedling growing in unsterile soil. — *Plant and Soil*, 71, 1983, pp. 246-247.
- MENEZ (J.). — La Mycorhization contrôlée du Chêne : éléments pour la sélection de souches fongiques. — Nancy : INRA, 1984 (Document à diffusion limitée).
- NAUDET (V.). — Production de plants de Hêtre sur tourbe et sous tunnel : aspects économiques. — *Revue forestière française*, vol. XXXVIII, n° 3, 1986, pp. 220-225.
- VOIRY (H.). — Classification morphologique des ectomycorhizes du Chêne et du Hêtre dans le Nord-Est de la France. — *European Journal of Forest Pathology*, 11, 1981, pp. 284-299.
- VOIRY (H.). — Les Ectomycorhizes du Chêne et du Hêtre : possibilités d'application pratique. — Nancy : INRA, 1980 (Document à diffusion limitée).