



HAL
open science

Vers l'inoculation contrôlée des cèpes et bolets comestibles ?-

Jean-Marc Olivier, J. Guinberteau, J. Rondet, Michèle Mamoun

► To cite this version:

Jean-Marc Olivier, J. Guinberteau, J. Rondet, Michèle Mamoun. Vers l'inoculation contrôlée des cèpes et bolets comestibles ?-. *Revue forestière française*, 1997, 49 (sp), pp.222-234. 10.4267/2042/5671 . hal-03443958

HAL Id: hal-03443958

<https://hal.science/hal-03443958>

Submitted on 23 Nov 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



VERS L'INOCULATION CONTRÔLÉE DES CÈPES ET BOLETS COMESTIBLES ?

J.-M. OLIVIER - J. GUINBERTEAU - J. RONDET - Michèle MAMOUN

Parmi les champignons comestibles, les cèpes représentent des espèces que chacun voudrait voir domestiquées. La Confédération française de la Conserve et la FNSACC (Fédération nationale des Syndicats agricoles des Cultivateurs de Champignons) donnent en 1995 des estimations sur le ramassage de 2 500 tonnes de cèpes et sur la fabrication de 1 200 tonnes de conserves. Il est fort probable que ces valeurs issues de statistiques officielles incomplètes ou mélangeant plusieurs types de champignons soient très sous-estimées. L'étude de J. Rondet (1990) a donné des éléments précis pour l'estimation des récoltes dans la région Limousin-Auvergne. Leur transposition à l'échelle nationale conduit divers observateurs à estimer le ramassage entre 6 et 9 000 tonnes de cèpes frais, selon les années. Les mises en marché et les informations données par les conserveurs laissent penser que les importations seraient de même importance. Le tonnage total de cèpes frais commercialisés en l'état ou transformés en France oscillerait donc entre 10 et 15 000 tonnes, ce qui situe le chiffre d'affaires de la filière autour de 1,5 milliard de francs. Dans certaines régions comme le Limousin, le revenu procuré par le ramassage et la collecte des cèpes est devenu un élément important de l'économie locale, là où les autres sources de revenus se réduisent. Il est fréquent maintenant que cette production mycologique soit évoquée lors de projets de reboisement. Toutes ces raisons ont conduit l'INRA et ses partenaires à envisager une domestication des cèpes avec une approche à deux volets : d'une part comprendre, autant que faire se peut, la pousse naturelle source de la collecte actuelle, d'autre part et à plus long terme, essayer de construire un système de production rappelant ce qui a été fait pour les truffes, les bolets jaunes et les lactaires.

LA NOTION DE CÈPES ET L'ÉCOLOGIE DES ESPÈCES

Le terme "cèpe" a reçu une acception légale (décision n° 64, *Journal officiel* du 21 novembre 1971) ; elle limite son utilisation commerciale à deux espèces *Boletus edulis* (cèpe de Bordeaux) et *Boletus aereus* (cèpe à tête noire). Cette définition semble trop restrictive puisque deux autres espèces mériteraient d'être incluses dans les "cèpes" et le sont en fait pratiquement sur le marché : *Boletus aestivalis* = *Boletus reticulatus* (cèpe d'été ou cèpe réticulé) et *Boletus pinophilus* = *Boletus pinicola* (cèpe de montagne). *Boletus mamorensis* est aussi présent sur le marché français à partir d'importations du Maroc (Redeuilh, 1978 ; Simonini et Redeuilh, 1993). Le bolet bai (*Xerocomus badius*) n'est plus classé dans le genre *Boletus* et, malgré ses qualités gustatives, n'a pas été retenu comme "cèpe" dans la législation.

Tableau I

**Données générales sur l'écologie
des quatre espèces de Cèpes et sur les essences forestières associées**

Espèces	Noms communs	Hôtes	Écologie
<i>Boletus edulis</i>	Cèpe de Bordeaux	Conifères <i>Picea abies</i> <i>Abies alba</i> <i>Abies grandis</i> <i>Pinus uncinata</i> Feuillus <i>Quercus</i> spp. <i>Castanea sativa</i> <i>Fagus sylvatica</i> etc.	Espèce ubiquiste plutôt automnale Hygrophile Plaine et moyenne altitude
<i>Boletus aereus</i>	Cèpe à tête noire ou tête de nègre ou cèpe bronzé	Feuillus principalement (<i>Quercus</i> spp., <i>Castanea sativa</i>)	Espèce ubiquiste estivale et automnale plutôt xérophile Plaine/colline
<i>Boletus aestivalis</i> (= <i>reticulatus</i>)	"Cèpe" d'été (ou bolet réticulé)	Feuillus principalement (<i>Quercus</i> spp., <i>Castanea sativa</i> , <i>Fagus sylvatica</i>)	Espèce à dominante atlantique Printanière ou estivale Thermophile Plaine/colline
<i>Boletus pinophilus</i> (= <i>pinicola</i>)	"Cèpe" des pins de montagne	Conifères principalement (<i>Abies</i> spp., <i>Picea</i> <i>abies</i> , <i>Pinus uncinata</i> , <i>Pinus sylvestris</i>) (occasionnellement châtaigniers)	Espèce de colline et moyenne montagne Hygrophile Automnale tardive
<i>Boletus mamorensis</i>	Bolet de la Mamora	Feuillus principalement (<i>Quercus suber</i>)	Espèce d'Afrique du Nord Colline et moyenne montagne

- *Boletus edulis* est une espèce ubiquiste, récoltée sur la quasi-totalité du territoire français, ayant généralement une période de fructification de fin d'été et d'automne. L'espèce est associée à des peuplements de feuillus (Chênes, Hêtres, Châtaigniers...) ou de résineux (Épicéas, Sapins, Pin à crochets...). L'espèce est décrite aussi bien en plaine qu'en moyenne montagne sur une très grande diversité de sols, du sable landais au granit morvandiau ou aux schistes bretons.
- *Boletus aereus*, aux carpophores foncés, est relativement thermophile, donc plus méridional dans sa répartition ; il est fréquent sous Chênes ou Châtaigniers.
- *Boletus aestivalis*, au chapeau plus pâle que *Boletus edulis*, fructifie plus tôt en saison, d'où son nom commun de cèpe d'été. Son écologie est proche de celle de *Boletus edulis*, avec une préférence pour les peuplements de Châtaigniers ou Chênes de basse ou moyenne altitude.
- *Boletus pinophilus* est une espèce essentiellement montagnarde, plus rare en plaine, souvent associée aux Pins et Épicéas mais parfois rencontrée sous feuillus (Hêtres).

Cette rapide présentation met en évidence la complexité de la situation lorsqu'on envisage une éventuelle domestication, à savoir plusieurs espèces associées à une diversité d'hôtes, capables de croître dans des contextes pédoclimatiques variés. Les forestiers noteront qu'il n'a pas été fait allusion au Douglas (*Pseudotsuga menziesii*) comme essence associée. Les récoltes de cèpes sous cette essence sont rares et prêtent à des interprétations souvent délicates sur l'origine des fructifications du champignon.



1



2

Photo 1
Ébauche de fructification de *Boletus aestivalis* formée sur milieu gélosé Pachlewski modifié.

Photo 2
Fructification naturelle de *Boletus edulis* dans une chênaie régénérée du réseau.



3

Photo 3
Mycorhizes formées par *Boletus edulis* sur racines de *Pinus attenuata x radiata*.

Photo 4
Élevage en serre de Châtaigniers clonés et mycorhizés par *Boletus edulis*.

Photos J. GUINBERTEAU



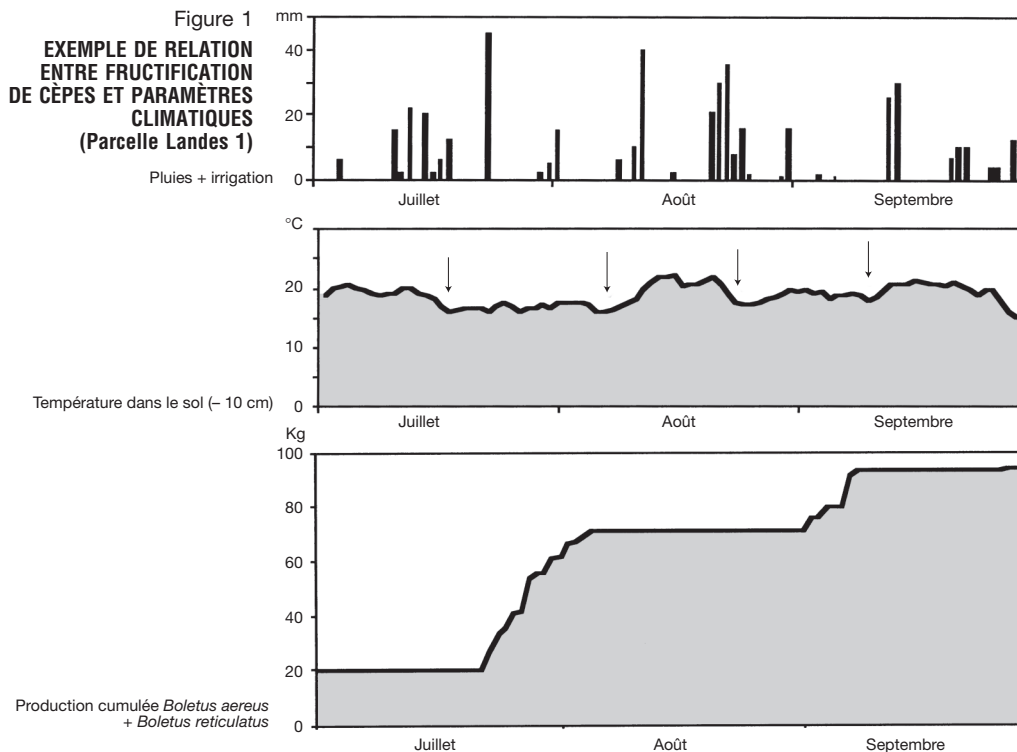
4

APPROCHE EXPÉRIMENTALE DE L'ÉCOLOGIE DES CÈPES

Il est évident pour tout observateur qu'il y a de bonnes et de mauvaises années pour la fructification des cèpes. Parmi les explications parfois savoureuses avancées par les ramasseurs (Larrère et de La Soudière, 1987), la relation avec le climat local ressort comme une constante. Pour aller plus loin dans l'analyse du phénomène, un dispositif de collecte de données agrométéorologiques a été mis en place en Aquitaine, Midi-Pyrénées, Limousin, Poitou-Charentes. Une cinquantaine de parcelles ont été choisies d'abord pour être des sites connus de fructifications de *Boletus edulis*, *Boletus aereus* ou/et de *Boletus aestivalis*. Elles sont suivies par un personnel formé, d'où le recours à l'aide d'organismes comme les Chambres d'Agriculture, les Centres régionaux de la Propriété forestière (CRPF), l'Office national des Forêts (ONF) ou les lycées agricoles. La majorité des sites est équipée de petit matériel d'agrométéorologie, pluviomètres, thermomètres (sol et air), tensiomètres..., une minorité est équipée de stations d'enregistrement, actuellement de type Humicro 2000. À côté des relevés climatiques et des analyses de sols, les pousses de champignons sont notées (dates et quantités, identification, localisation). Le contexte (précédent cultural, flore du sous-bois, autres espèces de champignons, état du peuplement forestier...) fait l'objet de relevés réguliers.

Il est trop tôt pour donner des résultats définitifs, la mise en route du réseau, son extension progressive et la formation des agents concernés ayant nécessité 5 ans. Quelques données assez précises peuvent cependant être présentées.

Sur la figure 1 (ci-dessous) apparaissent assez nettement les événements qui ont conduit à la fructification des deux espèces (*Boletus aereus* et *Boletus aestivalis*) dans une chênaie des Landes. En juillet, une période pluvieuse (80 mm) d'une semaine est suivie d'une baisse de température du sol (à - 10 cm)



de 5,6 °C ; les premiers basidiocarpes apparaissent 7 jours après, la pousse se prolongeant pendant 12 jours (avec une pluviométrie importante). Un scénario voisin se reproduit à la fin août. Dans les deux cas, une remontée des températures coïncide avec l'arrêt des fructifications. Les données collectées dans d'autres régions (Dordogne, Lot, Gironde, Tarn et Garonne) confirment ces observations pour *Boletus edulis*. Simplement, pour cette espèce un peu plus tardive, une baisse de la température pendant la phase de développement des basidiocarpes peut arrêter définitivement la production. Les résultats actuellement dépouillés peuvent être résumés ainsi :

- une pluviométrie forte, supérieure à 50 mm sur une décade, assure une humidité persistante dans le sol (tensiomètre saturé plus de 5 jours) ;
- une chute des températures, air et sol, entraîne un refroidissement du sol dans les 10 premiers centimètres ; le plus souvent, l'induction des fructifications est liée à un écart de 5 °C environ par rapport à la température moyenne initiale ; le nombre d'heures pendant lequel cet écart se manifeste doit être, en cumulé, de 20 heures pouvant se répartir sur 3 à 5 nuits ; l'analyse des situations conduit à la notion de cumul d'heures "froides" ;
- aucune fructification n'apparaît si les températures du sol sont supérieures à 20 °C ou inférieures à 10 °C pour le *Boletus edulis*, à 12 °C pour les autres espèces ;
- en général, le choc thermique a lieu pendant ou après la période de pluie ; il a cependant été observé quelques cas où la pluie a eu lieu 3 à 5 jours après la baisse de température ;
- les premiers basidiocarpes sont observés 6 à 10 jours après le choc thermique si la température est supérieure à 15 °C, 8 à 15 jours si elle est inférieure ;
- un nouvel abaissement de la température du sol d'au moins 3 °C pendant la période de fructification arrête le processus.

Pendant la période de fructification de fin d'été ou d'automne, il n'a pas été possible de distinguer nettement les événements inducteurs selon les espèces de cèpes et leur éventuelle thermophilie. Cependant, *Boletus aereus* et *Boletus aestivalis* commencent à fructifier plus tôt ; de juin à mi-août, le rôle du choc thermique semble moindre, le système semblant alors fonctionner selon le modèle *Suillus* (cf. ci-dessous) avec effet majeur de l'eau (pluies ou arrosages).

Les données ci-dessus ne doivent être considérées que comme une base qu'il faut affiner. Cependant, une comparaison est possible avec les données concernant *Suillus granulatus* (bolet jaune) pour lequel les observations ont été menées en parcelles expérimentales après mycorhization artificielle (Poitou *et al.*, 1983) et avec l'irrigation comme paramètre pilotable. Cette espèce fructifie d'avril à novembre ; les basidiocarpes apparaissent lorsque la température du sol est supérieure à 9 °C et inférieure à 20 °C. Le facteur déclenchant est une pluie ou une irrigation d'au moins 10 mm susceptible de générer une humidité durable dans la litière. Le recours à l'irrigation a permis de construire un modèle prédictif (Poitou *et al.*, 1989). Les sporocarpes sont détectés au moins 10 jours après la pluie (ou l'arrosage), leur arrivée à maturité pouvant nécessiter encore 4 à 10 jours selon la température. Contrairement aux *Boletus*, il n'y a pas pour le *Suillus* nécessité d'un véritable choc thermique, le facteur limitant étant alors la disponibilité en eau (dans une plage de températures assez large). Dans le cas des *Suillus*, une période de relaxation de 10 à 15 jours est nettement observée (temps nécessaire avant induction d'une nouvelle pousse sur la même zone). Avec les *Boletus*, l'existence d'une telle période de repos n'a pas été déterminée avec précision car le plus souvent il n'y a eu qu'une seule série d'événements favorables par parcelle pour une espèce donnée (la succession de deux espèces différentes de cèpes est par contre observée assez souvent dans la même parcelle). L'utilisation de l'irrigation en complément des pluies devrait aider, comme pour *Suillus*, à préciser les événements déclenchant la fructification des *Boletus*.

Le sol de chaque parcelle est analysé. À titre d'exemple, le tableau II (p. 227) donne les fourchettes relevées pour différents éléments analytiques dans 23 sites.

Les possibilités d'application en vue de l'amélioration de la production des champignons comestibles

Tableau II **Fourchettes de valeurs relevées dans les analyses des sols (profondeur ≈ 20 cm) de 23 parcelles de l'expérimentation Cèpes (Landes, Dordogne, Tarn et Garonne)**
Exprimés en ‰ ms (sauf pH et C/N)

Ph	4,9-5,6	P total	0,3-0,5
C/N	15,0-17,7	K ₂ O	0,07-0,11
Matière organique	24,6-39,5	CaO	0,3-0,9
N Total	0,8-1,2	MgO	0,13-0,27
P (Dyer)	0,001-0,05	Argile	92-184
Limons fins	115-305	Sables grossiers	315-400
Limons grossiers	147-220	Sables fins	153-238

Une vingt-quatrième parcelle sort nettement de ces fourchettes : C/N > 20, matière organique > 50, azote total ~ 2, P total = 0,7 et très forte fraction de limons fins > 50 %. Il faut donc se garder de toute généralisation.

La majorité de ces parcelles correspond à des sols acides relativement pauvres. Ces valeurs recouvrent les données de Poitou *et al.* (1982). Les mêmes auteurs ont analysé les zones des fructifications de *Boletus edulis* associé à *Pinus uncinata* dans les Pyrénées ; dans ce cas, des sols étaient plus acides avec C/N plus bas. Cependant, la typologie des sols de zones "à cèpes" est beaucoup moins restrictive que celles des zones truffières.

Les parcelles suivies pour les pousses de bolets font l'objet d'études complémentaires sur la flore du sous-bois et d'expérimentations sur l'entretien de celui-ci ; il n'y a pas assez de recul pour conclure, par exemple, à l'intérêt d'entretenir des plantes associées comme la Callune, les Bruyères, les Fougères ou les Fétuques. La flore fongique des parcelles est identifiée chaque année pour déterminer les espèces descriptrices de l'écosystème, les indicateurs liés à la pousse des cèpes ou les éventuels compétiteurs. Le cortège fongique rencontré dans une châtaigneraie a été décrit (Chauvin *et al.*, 1988), de même pour l'Épicéa (Le Tacon *et al.*, 1984) ou le Pin à crochets (Poitou, communication personnelle). Le tableau III (p. 228) donne l'exemple de la flore fongique observée dans trois chênaies voisines de la zone littorale des Landes. On notera la très grande diversité, avec quelques espèces souvent associées aux cèpes comme *Amanita muscaria* ou *Amanita spissa*. Le *Clitopilus* (meunier) est donné pour précéder l'apparition des cèpes ; aucun élément ne permet aujourd'hui de lui attribuer un autre rôle que celui d'indicateur phénologique. À titre de comparaison, dans le cas des essais avec *Suillus*, il a été montré qu'il pourrait y avoir compétition entre *Suillus granulatus* (espèce introduite) et *Suillus bovinus* (espèce indigène) alors que *Suillus granulatus* a cohabité pendant 14 ans avec *Lactarius deliciosus* sur la vingtaine d'arbres observés. Dans tous les cas, la démarche expérimentale à partir d'arbres mycorhizés se révèle intéressante pour suivre la dynamique de colonisation des racines par les espèces indigènes.

MYCORHIZATION CONTRÔLÉE

La mycorhization contrôlée avec les cèpes a déjà motivé de nombreuses études ; des mycorhizes ont été obtenues par différents auteurs comme Melin (1923), Tozzi *et al.* (1980), Molina et Trappe (1982), Ceruti *et al.* (1983, 1985), Zucherelli (1988), Meotto et Pellegrino (1989). Poitou à l'INRA a réussi la mycorhization de *Pinus radiata* (1982) puis de *Pinus uncinata* (1994) avec *Boletus edulis*. Bawadikji (1993) souligne l'hétérogénéité des résultats obtenus dans ses propres essais de mycorhization de *Pinus sylvestris* avec *Boletus edulis* comme dans ceux des auteurs cités précédemment. Les mycorhizations ont été obtenues facilement avec *Suillus* (Poitou *et al.*, 1982 ; Chevalier et Detolle, 1984), Lactaires (Poitou *et al.*, 1989) ou relativement facilement avec les *Tuber* (Chevalier et Grente, 1979) ; il est clair que ce n'est pas le cas avec les champignons du genre *Boletus*. Ne seront

pas traités ici les phénomènes de fructification des cèpes sans association symbiotique ; ces cas sont observés relativement souvent mais la reproduction du phénomène, hors les travaux de Granetti (1992), n'a pas fait l'objet de publications (photo 1, p. 224, jeune cèpe *Boletus aestivalis* ayant atteint 7 mm de haut sur milieu gélosé PLKO à l'INRA Bordeaux).

Tableau III

Un exemple de communauté fongique accompagnant le Cèpe

Cas de trois parcelles voisines avec *Quercus robur* comme essence dominante

Genre/espèce	Nom usuel	Arbre-hôte présumé
Mycorhiziens		
<i>Amanita asteropus</i>	Amanite à bulbe étoilé	Chêne ou Pin
<i>Amanita citrina</i>	Amanite citrine	Chêne ou Pin
<i>Amanita excelsa</i>		Chêne ou Pin
<i>Amanita muscaria</i>	Amanite tue mouche	Chêne, Pin, Bouleau
<i>Amanita rubescens</i>	Amanite rougissante	Chêne ou Pin
<i>Amanita spissa</i>	Amanite épaisse	Chêne pédonculé
<i>Amanitopsis vaginata</i> var. <i>fulva</i>	Amanite vaginée fauve	Chêne ou Pin
<i>Boletus edulis</i>	Cèpe de Bordeaux	Chêne pédonculé
<i>Cantharellus cibarius</i>	Girolle ou Chanterelle	Chêne ou Bouleau
<i>Cantharellus tubiformis</i>	Chanterelle en tube	Pin
<i>Clitopilus prunulus</i>	Meunier	Chêne
<i>Cortinarius cinnamomeus</i>	Cortinaire à lames cannelle	Chêne ou Pin
<i>Cortinarius paleaceus</i>	Cortinaire pailleté	Chêne ou Pin
<i>Cortinarius torvus</i>		Chêne
<i>Hydnum repandum</i>	Pied de mouton	Chêne
<i>Inocybe asterospora</i>	Inocybe à spores en étoile	Chêne
<i>Laccaria amethystina</i>	Laccaire améthyste	Chêne
<i>Laccaria laccata</i>	Laccaire laqué	Chêne ou Pin
<i>Lactarius camphoratus</i>	Lactaire camphré	Chêne
<i>Lactarius chrysorrheus</i>	Lactaire à lait jaune	Chêne
<i>Lactarius hepaticus</i>	Lactaire couleur de foie	Pin
<i>Lactarius quietus</i>	Lactaire tranquille	Chêne
<i>Lactarius subumbonatus</i>	Lactaire ridé	Chêne
<i>Paxillus involutus</i>	Paxille enroulé	Chêne ou Bouleau
<i>Pisolithus tinctorius</i>	Pisolithe des teinturiers	Pin essentiellement
<i>Russula atropurpurea</i> = <i>krombolzii</i>	Russule lie de vin	Chêne
<i>Russula cyanoxantha</i>	Russule charbonnière	Chêne
<i>Russula emetica</i> var. <i>sylvestris</i>	Russule émétique	Chêne
<i>Russula fragilis</i>	Russule fragile	Chêne
<i>Russula nigricans</i>	Russule noircissante	Chêne
<i>Russula vesca</i>	Russule comestible	Chêne
<i>Scleroderma citrinum</i>	Scléroderme	Chêne
<i>Tricholoma album</i>	Tricholome blanc	Chêne
<i>Tricholoma fulvum</i> = <i>flavobrunneum</i>	Tricholome fauve	Chêne ou Bouleau
<i>Tricholoma sulphureum</i>	Tricholome soufré	Chêne
<i>Xerocomus badius</i> *	Bolet bai	Chêne/Pin essentiellement
Saprophytes		
<i>Calocera viscosa</i>	Calocère visqueuse	Pin essentiellement
<i>Chlorociboria aeruginascens</i>		Chêne
<i>Collybia butyracea</i>	Collybie butyracée	Chêne ou Pin
<i>Collybia maculata</i>	Collybie maculée	Chêne ou Pin
<i>Gymnopilus penetrans</i>	Pholiote pénétrante	Pin
<i>Gymnopilus spectabilis</i>	Pholiote remarquable	Pin
<i>Hypholoma fasciculare</i>	Hypholome en touffe	Chêne ou Pin
<i>Leotia lubrica</i>		Bouleau essentiellement
<i>Lycogala epidendron</i>		Pin essentiellement
<i>Psathyrella hydrophila</i>	Psathyrelle hydrophile	Chêne ou Pin

* Saprophyte ou mycorhizien.

Les possibilités d'application en vue de l'amélioration de la production des champignons comestibles

Le processus de mycorhization contrôlée requiert différentes phases :

- l'isolement, la caractérisation et la multiplication du mycélium utilisé comme inoculum ;
- la multiplication de l'arbre-hôte, si possible en essayant de réduire l'hétérogénéité des plants, d'où le recours aux semences sélectionnées, au bouturage, ou à la micropropagation lorsque cela est possible ;
- l'association des deux partenaires en conditions contrôlées, avec comme objectif d'obtenir un maximum de mycorhizes.

De plus, avec les cèpes, on s'adresse à des espèces fructifiant tardivement dans un peuplement forestier (au moins 15 ans, Le Tacon *et al.*, 1984) ; en cas de plantation d'arbres mycorhizés, il faudra donc assurer la pérennité de l'association sur une longue période. Dans le cas du *Suillus granulatus* et du *Lactarius deliciosus*, la mycorhization se maintient 17 ans après plantation ; on connaît maintenant des cas de truffières plantées avec des arbres mycorhizés depuis 20 ans avec pérennité de la mycorhization. Même s'il ne faut pas rapprocher outre mesure des systèmes un peu différents, la pérennité devrait être possible à assurer ; tout cela dépend, entre autres, de la qualité de la mycorhization initiale et du potentiel compétiteur de la flore fongique indigène, de l'état nutritif du milieu, de la vitesse de développement du système racinaire, etc.

Le champignon

Le mycélium des quatre espèces de cèpes peut être obtenu par bouturage de chair de basidiocarpes jeunes ou par isolement à partir de mycorhizes ; la germination des spores est à ce jour inutilisable sur un plan pratique, faute de méthode fiable. Il en est de même pour la régénération des protoplastes obtenus à partir des zones hyméniales.

L'identification du matériel est réalisée par la taxonomie classique (Alessio, 1985) lorsqu'on dispose de basidiocarpes. En général, les critères distinctifs sont fiables au niveau interspécifique. Cependant, il y a des cas délicats ; il est aussi fréquent d'avoir à vérifier le mycélium issu de collections ou des isollements à partir de mycorhizes. L'utilisation de marqueurs protéiques a été longtemps le meilleur recours. La figure 2 (p. 230) (Fabre, 1994) donne les profils types obtenus pour distinguer les quatre espèces de cèpes à partir des protéines ayant une activité β glucosidase. Ces profils peuvent être complétés en utilisant les activités estérases. Actuellement, les marqueurs moléculaires sont de bons outils. La méthode consiste à amplifier des zones du génome codant pour les acides nucléiques constituant les ribosomes, puis à couper l'amplifiat avec des enzymes ayant des sites d'accrochages spécifiques. Des différences de tailles des fragments sont révélées par électrophorèses et permettent de distinguer les espèces à partir de la structure de cette partie du génome. Pour être plus précis, dans le cas des cèpes, il s'agit d'amplifier les zones du génome appelées ITS (*Internal Transcribed Spacer*) 1 et 2, puis d'utiliser les enzymes de type Alu I, Cfo I... D'autres techniques basées sur l'amplification au hasard de fragments du génome appelées RAPD (*Rapid Amplified Polymorphic DNA*) donnent également de bons résultats (Cameleyre, 1996).

Au niveau intraspécifique, les activités enzymatiques (par exemple, phosphoglucomutase chez *Boletus edulis*) ou les marqueurs moléculaires révèlent de fortes différences. Il existe donc une grande variabilité au sein d'une espèce donnée, mais ces différences génétiques ne peuvent, aujourd'hui, être reliées à des différences de comportements écologiques ou à une spécialisation d'hôtes.

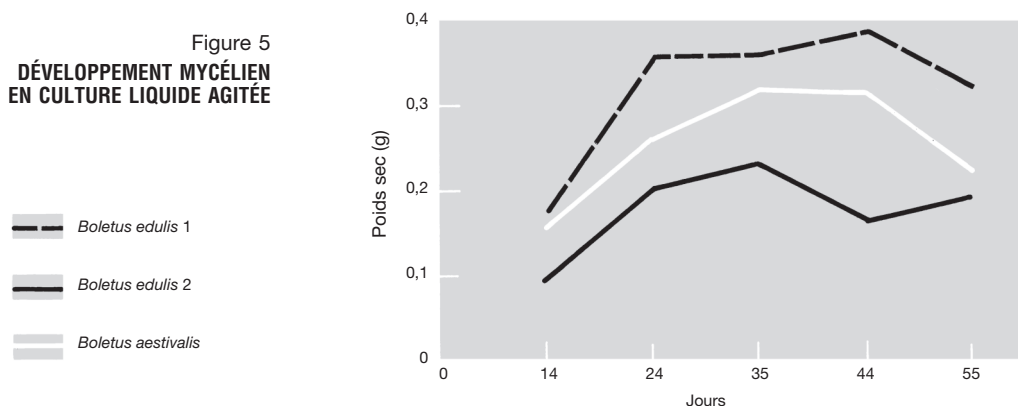
La multiplication du mycélium en vue de produire un inoculum peut être réalisée sur milieu solide (gélosé), liquide ou mixte (support perlite ou vermiculite ou/et tourbe avec solution nutritive). En pratique, les trois modes se succèdent ou se complètent au cours de la procédure (Poitou *et al.*, 1981, 1982 ; Chauvin *et al.*, 1988 ; Bawadikji, 1993...). Les figures 4 (p. 230) et 5 (p. 231) montrent que le problème n'est pas simple et qu'il y a de fortes différences de comportement tant au niveau interspécifique qu'intraspécifique.

Les possibilités d'application en vue de l'amélioration de la production des champignons comestibles

Dans l'exemple présenté sur la figure 4, la souche de *Boletus aereus* n'a pas été portée car elle ne croît pratiquement pas. Les deux isolats de *Boletus edulis* ont des vitesses de croissance qui varient pratiquement du simple au double. Pour les isolats de *Boletus aestivalis*, l'effet "température" est remarquable.

La figure 5 montre différentes cinétiques (poids secs) obtenues en milieu liquide avec des taux d'accroissement de 14,7 mg/j et 8,2 mg/j pour les deux *Boletus edulis* et 10,9 mg/j pour *Boletus aestivalis* (poids frais). La conclusion pratique est qu'à chaque souche (ou groupe de souches) il faut adapter une méthode de production d'inoculum.

Figure 5
DÉVELOPPEMENT MYCÉLIEN
EN CULTURE LIQUIDE AGITÉE



L'arbre-hôte

Pour obtenir des plantes susceptibles d'être mycorhizées, le semis a été largement utilisé et continue de l'être pour les hôtes non reproduits par d'autres méthodes (*Abies grandis*, *Pinus uncinata*, par exemple). Outre l'hétérogénéité, le principal problème est celui de la désinfection des graines résolu par trempage dans l'eau oxygénée et/ou par traitement aux ultra-sons. Le bouturage est une opération à faible rendement pour les essences qui nous intéressent mais l'efficacité a été notablement améliorée pour l'Épicéa commun (CEMAGREF), le Châtaignier (Pépinières Coulié) ou les Chênes (INRA Clermont-Ferrand). La micropropagation *in vitro* à des fins de mycorhization a été obtenue pour le Châtaignier (Strullu *et al.*, 1986 ; Chauvin *et al.*, 1988) et le Chêne pédonculé (Bawadikji, 1993).

L'association

En règle générale, que les plantes soient utilisées *in vitro* ou en conditions non axéniques, il faut qu'il y ait induction de racines secondaires avant introduction de l'inoculum. Il faut aussi qu'il y ait compatibilité entre les conditions d'enracinement et l'activité fongique (Strullu *et al.*, 1986). La mycorhization se réalise donc après transplantation dans un milieu aéré (perlite ou perlite + tourbe) avec une solution nutritive adaptée. Tous les auteurs soulignent la nécessité, à ce stade, d'un contrôle très strict des teneurs en sucres libres, en azote et en phosphore. Les travaux de Chauvin *et al.* (1989) ou Bawadikji (1993) illustrent bien les difficultés techniques rencontrées avec les *Boletus* lorsqu'on les compare, sur le même matériel végétal, avec d'autres espèces fongiques (*Amanita*, *Paxillus*, *Terfezia*...). Le choix de l'isolat de *Boletus* est primordial. La spécialisation d'une souche fongique à une essence-hôte précise est suggérée (Poitou *et al.*, 1982, 1984) mais n'a pas été montrée. Il est également curieux de constater régulièrement qu'une même souche sera mycorhizogène avec un bon rendement dans une série d'essais et ne le sera pas dans une autre série. Des différences non contrôlées dans la fabrication de l'inoculum peuvent expliquer ce fait.

À ce stade, les expériences à partir de plantes obtenues *in vitro* ou à partir de semis en conditions protégées n'ont que rarement donné des résultats supérieurs à 50 % de plants inoculés porteurs de mycorhizes de *Boletus* après un an. À cela, il faut ajouter les risques de contamination par des mycorhiziens exogènes pendant l'élevage des plants en serre. À travers notre propre expérience, le taux de perte par ces compétiteurs est supérieur à ce qui a été obtenu pour les lactaires ou les truffes. Sur résineux, on constate que les *Suillus* spp. peuvent être de redoutables compétiteurs comparés au *Scleroderma*, *Thelephora* ou *Hebeloma*.

Les contrôles de mycorhization sont réalisés entre 6 et 9 mois après apport de l'inoculum. Les mycorhizes (photo 3, p. 224) apparaissent d'un blanc nacré. Le mycélium peut être isolé de celle-ci et contrôlé (cf. ci-dessus). Les taux de mycorhization sont exprimés en nombre de plants mycorhizés par *Boletus* (en général < 30 %) et en pourcentage de racines mycorhizées/plant portant des mycorhizes de *Boletus* (rarement > 10 %). La seule exception concerne *Pinus uncinata* mycorhizé par *Boletus edulis* avec des taux de mycorhization > 90 %. À noter pour cette association qu'il y a eu un effet significatif de la mycorhization sur la croissance de l'arbre en serre puis au champ (Poitou *et al.*, 1984). Avec le Châtaignier, aucun effet de même type n'a été observé avec les bolets alors qu'il était net avec *Paxillus involutus* ou *Amanita muscaria*. Par contre, une souche de *Boletus aestivalis* stimule l'enracinement du clone S17 de *Castanea sativa* (Chauvin *et al.*, 1988).

En ce qui concerne les essais de l'INRA, les plantations à partir d'arbres mycorhizés sont les suivantes :

— 3 parcelles (Pyrénées-Atlantiques) totalisant 0,8 ha sur pelouses alpestres avec *Pinus uncinata* associé à *Boletus edulis*, plantées depuis 1984, soit 80 arbres en place. Les effets mentionnés ci-dessus sur la croissance des arbres ont été confirmés *in situ* ; à ce jour, aucune fructification du cèpe n'a été enregistrée ;

— 1 parcelle (Dordogne) avec des clones de *Castanea sativa* et d'hybrides *crenata-sativa* (CA15, CS74...) mycorhizés avec *Boletus edulis*, *Boletus aestivalis*, soit 50 arbres (plantation jeune sur précédent céréales, 1994-1995).

À cela s'ajoutent les essais limités avec *Pinus radiata*, *Pinus radiata x attenuata*, *Abies*, Chêne, Châtaignier. Les bases écologiques présentées dans la première partie de l'article seront appliquées dans ces parcelles pour aider à la fructification.

CONCLUSIONS

L'état de la situation amène à une certaine prudence en matière de prévision sur la domestication des cèpes. L'acquisition de données écologiques et physiologiques plus précises va certainement aider à prendre en compte la composante mycologique dans la gestion de territoires à forte vocation forestière, comme le Limousin, l'Auvergne, le Morvan, les Vosges... La plantation d'arbres mycorhizés demeure du domaine expérimental. Les rendements de mycorhization obtenus par les différents auteurs restent assez faibles, même si chaque laboratoire progresse dans une certaine discrétion vers des résultats plus applicables sur le plan économique. De toute façon, le choix des souches, la qualité de l'inoculum, les conditions de réalisation de l'association restent des éléments à améliorer. Les éventuelles relations avec les micro-organismes de la rhizosphère (BAM, cf. article Garbaye *et al.* dans ce numéro, p. 110) n'ont pas été précisées pour les cèpes. Enfin, pratiquement rien n'est connu sur les relations entre le champignon introduit précocement et le cortège fongique qui s'établit après la plantation. Or, la domestication du cèpe n'a d'intérêt qu'avec la fructification, attendue 10, 15, voire 20 ans après la plantation.

Les possibilités d'application en vue de l'amélioration de la production des champignons comestibles

Les Associations créées dans différents départements du Sud-Ouest avec l'aide des collectivités territoriales sont des supports actifs pour ces études. L'accord passé entre l'INRA et Mycoplant (regroupant trois pépinières) permettra les optimisations et changements d'échelle concernant la mycorhization. Un gros effort expérimental est indispensable et nécessite la collaboration de tous les partenaires potentiels.

J.-M. OLIVIER - J. GUINBERTEAU - Michèle MAMOUN
Station de Recherches sur les Champignons
INRA
BP 81
F-33883 VILLENAVE-D'ORNON CEDEX

J. RONDET
LYCÉE AGRICOLE - LEGTA
11 bis, promenade des Acacias
F-65500 VIC-EN-BIGORRE

BIBLIOGRAPHIE

- ALESSIO (C.L.). — *Boletus* Dill. ex L. *In* : Fungi Europei 2 / Biella Giovanna Ed. . — 1985. — 705 p.
- BAWADIKJI (A.H.). — Essais de mycorhization contrôlée entre quatre cèpes et quelques essences forestières. — Montpellier : ENSA, 1993. — 305 p. (Thèse).
- CAMELEYRE (I.). — Contribution à l'étude du cycle biologique de la truffe noire du Périgord. — Bordeaux : Université Bordeaux 2, 1996. — 150 p. (Thèse).
- CERUTI (A.), CERUTI SCURTI (J.), TOZZI (M.). — Mycorrhizal synthesis between *Boletus aereus* and *Quercus pubescens*. — *Allionia*, vol. 26, 1983, pp. 5-17.
- CERUTI (A.), TOZZI (M.), REITANO (G.). — Mycorrhizal synthesis between *Boletus aereus* and *Castanea sativa*. — *Allionia*, vol. 27, 1985, pp. 5-9.
- CHAUVIN (J.-E.), GUINBERTEAU (J.), SALESSES (G.). — Mycorhization *in vitro* de clones de châtaigniers. *In* : 8^e Coll. Rech. Fruit. / CTIFL Ed. . — 1988. — pp. 137-149.
- CHEVALIER (G.), GREUTE (J.). — Application pratique de la symbiose ectomycorhizienne : production à grande échelle de plants mycorhizés par la truffe. — *Mush. Sci.*, vol. 10, n° 2, 1979, pp. 483-505.
- CHEVALIER (G.), DETOLLE (M.). — Obtention de bolets de Pin (*Suillus collinitus*) en pot sur plantules de Pin d'Alep. — *Agronomie*, vol. 4, 1984, p. 211.
- FABRE (K.). — Étude de la variabilité génétique des cèpes par la recherche de marqueurs moléculaires. — Université Aix-Marseille 2, 1994. — 45 p. (Mémoire DESS Biotechnologie).
- GRANETTI (B.). — Alcuni aspetti della fruttificazione *in vitro* di *Boletus aereus*, *B. edulis* e *B. reticulatus*. — *Annali Facoltà di Agraria*, vol. 44, 1992, pp. 1001-1011.
- LARRÈRE (R.), de la SOUDIÈRE (M.). — Cueillir la montagne. — Lyon : La Manufacture Ed., 1987. — 254 p.
- LE TACON (F.), LAMOURE (D.), GUINBERTEAU (J.), FIKET (C.). — Les Symbiotes mycorhiziens de l'Épicéa commun et du Douglas dans le Limousin. — *Revue forestière française*, vol. XXXVI, n° 4 spécial "Évolution et traitement des plantations d'Épicéa commun et de Douglas", 1984, pp. 325-338.

- MELIN (E.). — Experimentelle Untersuchungen über die Birken und Espenmykorrhizen und ihre Pilzsymbioten. — *Svensk. Bot. Tidskr.*, vol. 17, 1923, pp. 479-520.
- MEOTTO (F.), PELLEGRINO (S.). — Comportamento in campo di querce e castagni micorrizzati con *Boletus edulis* Bull. — *L'Informatore Agrario*, vol. 45, n° 47, 1989, pp. 57-63.
- MOLINA (R.), TRAPPE (J.M.). — Patterns of ectomycorrhizal host specificity and potential among pacific northwest conifers and fungi. — *Forest Science*, vol. 28, 1982, pp. 423-458.
- POITOU (N.), MAMOUN (M.). — Mycorrhization contrôlée de *Pinus uncinata* dans les Pyrénées. — *Acta Biol. Mont.*, vol. 4, 1984, pp. 115-125.
- POITOU (N.), MAMOUN (M.), DELMAS (J.). — Quelques résultats obtenus concernant la mycorrhization de plantes hôtes par les champignons mycorrhiziens comestibles. In : Les Mycorrhizes. — Paris : INRA, 1982. — pp. 295-301 (Colloques INRA ; vol. 13).
- POITOU (N.), MAMOUN (M.), DELMAS (J.). — Cultures mycéliennes de champignons mycorrhiziens en milieu optimal. — *Mush Sci.*, vol. 11, 1981, pp. 885-892.
- POITOU (N.), MAMOUN (M.), DUCAMP (M.), DELMAS (J.). — Premiers résultats de fructification *in situ* d'un bolet mycorrhizien comestible en conditions contrôlées. — *PHM Revue horticole*, vol. 239, 1983, pp. 45-47.
- POITOU (N.), MAMOUN (M.), DUCAMP (M.), GUINBERTEAU (J.), OLIVIER (J.-M.). — Mycorrhization contrôlée et culture expérimentale au champ de *Suillus granulatus* et *Lactarius deliciosus*. — *Mush Sci.*, vol. 12, n° 2, 1989, pp. 551-564.
- REDEUILH (G.). — *Boletus mamorensis* nov. sp. . — *Bulletin de la Société mycologique de France*, vol. 94, n° 3, 1978, pp. 299-303.
- RONDET (J.). — Une étude pour le Limousin et l'Auvergne. Économie et écologie des cèpes en Creuse. — Dijon : ENSAA, 1990. — 145 p. (Mémoire).
- SIMONINI (G.), REDEUILH (G.). — Comité pour l'unification des noms de bolets européens. — *Bulletin de la Société mycologique de France*, vol. 109, n° 2, 1993, pp. 77-91.
- STRULLU (D.G.), GRELLIER (B.), MARCINIAH (D.), LETOUZÉ (R.). — Micropropagation of chestnut and conditions of mycorrhizal syntheses *in vitro*. — *New Phytologist*, vol. 102, 1986, pp. 95-101.
- TOZZI (M.), CERUTI SCURTI (J.), BERTA (G.). — Preliminary researches of synthesis between *Boletus edulis* and *Quercus pubescens*. — *Allionia*, vol. 24, 1980/81, pp. 5-11.
- ZUCHERELLI (G.). — Prime esperienze sulla produzione di piante forestali micorrizzate con *Boletus edulis*. — *Monti e Boschi*, vol. 39, n° 3, 1988, pp. 11-14.

VERS L'INOCULATION CONTRÔLÉE DES CÈPES ET BOLETS COMESTIBLES ? (Résumé)

Les cèpes ont une place prépondérante dans l'activité de la filière française de ramassage-commercialisation-transformation des champignons sylvestres comestibles. L'écologie des principales espèces de cèpes est présentée à travers les données mycologiques et une approche expérimentale mise en place dans le Sud-Ouest de la France. L'importance d'un abaissement de la température dans le processus d'induction des fructifications est mise en évidence. Les premiers résultats concernant la mycorrhization contrôlée sont présentés : la diversité inter- et intra-spécifique est analysée ainsi que les opérations de multiplication des hôtes et d'association en conditions contrôlées. Les premières plantations d'arbres mycorrhisés avec les cèpes (principalement les châtaigniers et pins à crochets) sont en cours d'observation. Il reste cependant un travail important à réaliser pour optimiser la mycorrhization, estimer le suivi du champignon sur le terrain et aboutir à la fructification dans les parcelles plantées.

IS ARTIFICIAL INOCULATION OF THE EDIBLE *BOLETUS* SPECIES FEASIBLE ? (Abstract)

The *Boletus* species is one of the major edible forest fungi in the French mushroom gathering/selling/processing sector. The ecological environment for the main varieties in the species is presented on the basis of mycological data and an experimental system set up in south western France. The significance of a temperature drop in bringing about fruiting is highlighted. Initial findings concerning artificial inoculation are described — inter- and intra-specific diversity, host multiplication and association under controlled conditions. The first plantations of *Boletus* mycorrhized trees (mainly chestnut) are under observation. More research is required to improve mycorrhization quality, estimate fungal survival in the field and enhance fruiting in stands planted with inoculated material.
