IMPORTANCE DE LA MYCORHIZATION DANS LA RÉSISTANCE AU CALCAIRE DE DIVERSES ESPÈCES FORESTIÈRES

D. PIOU

Depuis longtemps, les botanistes avaient remarqué des différences entre la flore des régions à sols calcaires et celle des régions à substrat siliceux, et aboutirent très vite à une classification plantes calcifuges - plantes calcicoles, d'ailleurs plus ou moins ambiguë. Cette dernière fut rapidement nuancée ; les causes réelles de l'adaptation au calcaire de certaines plantes furent très tôt étudiées et les recherches furent surtout d'ordre physiologique. Elles portèrent sur les différences d'absorption du calcium en fonction du caractère calcifuge ou calcicole (Burstrom 1968 ; Passama 1970), et en fonction du pH (Salsac 1970). Signalons également les études portant sur les difficultés d'absorption de divers éléments, en zone calcaire, tels que les antagonismes potassium - calcium.

Au niveau forestier, la plupart des essences feuillues peuvent être classées comme « calcicoles » ou « calcitolérantes » mis à part le châtaignier, le chêne-liège et de nombreux *eucalyptus*. Par contre, de nombreux résineux sont sensibles à la présence de calcaire dans le sol et les études furent également d'ordre physiologique. Diverses hypothèses furent émises : antagonisme calcium - potassium ; carence en manganèse ou en azote.

Cependant, les problèmes de résistance au calcaire furent peu étudiés en fonction de la microflore du sol. Le calcium semble avoir diverses influences sur les micro-organismes du sol, notamment sur certaines symbioses *rhizobium* - légumineuse (Dommergues 1970). Son importance sur la symbiose mycorhize — arbre forestier reste peu étudiée. Clément et al. (1977) ont démontré que le pin noir d'Autriche, espèce tolérante au calcaire en milieu naturel, présente de graves phénomènes de chlorose s'accompagnant de dérèglement d'absorption et de métabolisme, s'il est cultivé sur un milieu stérile. La mycorhization fait disparaître ces troubles lorsqu'elle s'installe.

La tolérance au calcaire du pin noir est donc acquise secondairement grâce à la mycorhization. Des expériences analogues réalisées à Clermont-Ferrand par MM. Mousain et Chevalier ont montré que le pin maritime, bien que généralement calcifuge peut résister au calcaire lorsqu'il est inoculé par certains champignons (communication personnelle). Nous avons donc cherché à savoir dans quelle mesure la symbiose mycorhizienne pouvait jouer un rôle dans l'aptitude de diverses espèces à tolérer le calcaire en milieu naturel.

Nous avons choisi six espèces feuillues,

Chêne sessile (*Quercus sessiliflora* Salisb.)
Hêtre (*Fagus silvatica* L.)
Erable sycomore (*Acer pseudoplatanus* L.)
Frêne commun (*Fraxinus excelsior* L.)
Noyer royal (*Juglans regia* L.)
Noyer noir (*Juglans nigra* L.)

ainsi que six essences résineuses :

Pin pignon (*Pinus pinea* L.)
Pin d'Alep (*Pinus halepensis* Hill.)
Pin noir (*Pinus nigra* ssp *nigricans* Host.)
Cèdre (*Cedrus atlantica* Man.)
Cyprés sempervirens (*Cupressus sempervirens* L.)
Cyprés de l'Arizona (*Cupressus arizonica* Green)

Les cyprés, noyers ainsi que l'érable sycomore et le frêne commun sont des espèces généralement endomycorhizées dans la nature. Les autres essences sont ectomycorhizées.

COMPORTEMENT DES ESPÈCES CHOISIES, EN ABSENCE DE MYCORHIZATION ET EN SOLUTION NUTRITIVE

Matériel et méthodes

Préparation du substrat

Nous avons choisi un sable assez fin, que nous avons désinfecté à l'acide chlorhydrique puis rincé à l'eau courante.

Nous avons réalisé deux traitements :

- sable fin,
- sable calcaire en ajoutant 1 % de calcaire pulvérulent au sable fin.

Chaque pot a été arrosé, cinq jours par semaine, à l'aide de 100 cc d'une solution nutritive dans laquelle l'azote est uniquement sous forme nitrique (solution d'Evers). Les plantules (une vingtaine par essence et par traitement) ont été placées en serre avec un éclairage artificiel permettant seize heures de jour.

Préparation des plantules

Essence	Origine	Principe de « stérilisation »
Erable sycomore - Frêne	Semis naturels, indemnes de mycorhize.	Système racinaire fortement lavé à l'eau.
Hêtre - Chêne sessile	Graine.	Graine fortement lavée à l'eau.
Noyer noir - Noyer royal - Cèdre	Graine stérilisée (H_2O_2 37 vol.) mise en prégermination.	Plantule ou graine fortement lavée à l'eau.
Autres résineux	Graines.	Stérilisation à l'eau oxygénée (37 vol.) pendant 30' puis graines rincées à l'eau.

Évolution morphologique des diverses essences

Nous avons pu observer tous les comportements possibles des semis sur substrat calcaire par rapport au témoin sur sable pur. Nous les avons résumés dans le tableau suivant :

Croissance identique sur les deux substrats		Croissance plus faible sur substrat calcaire/ sable pur
Croissance normale	<i>Cupressus sempervirens</i> <i>Cupressus arizonica</i> <i>Pinus halepensis</i> **	<i>Cedrus atlantica</i> * <i>Pinus pinea</i> * <i>Pinus nigra</i> * <i>Acer pseudoplatanus</i>
Arrêt de croissance sur les 2 substrats	<i>Juglans nigra</i> <i>Juglans regia</i> <i>Quercus sessiliflora</i>	
Croissance difficile	<i>Fraxinus excelsior</i>	

* Faible mycorhization accidentelle sur les deux substrats.

** Importante mycorhization accidentelle sur les deux substrats.

Notons que le pin noir et l'érable sycomore ont réagi très fortement à la présence de calcaire dans le sol, et de très nombreux semis sont morts. La réaction de l'érable sycomore fut particulièrement spectaculaire (photo 1).

Discussion

Sur sable pur, sans calcaire, nous pouvons constater deux comportements :

- Essences présentant une croissance normale :
 - Erable Pin d'Alep
 - Pin noir Cyprès
 - Pin pignon Cèdre

Photo 1. — Effet du calcaire sur les semis d'Erable sycomore (3 mois), élevés en solution nutritive.

Photo PIOU

- Essences présentant des troubles :
 - Frêne (chlorose, faible croissance)
 - Noyer (nécrose des feuilles)
 - Chêne (arrêt de croissance, nécrose)
 - et à un degré moindre le hêtre (très faible nécrose sur sable pur).

Nous pouvons présenter deux hypothèses quant aux difficultés de ce second groupe d'essences sur sable pur.

- L'emploi systématique de la solution d'Evers pourrait ne pas convenir à ces essences. Cependant, cette solution a déjà été employée pour les peupliers par exemple et a fort bien convenu à l'érable sycomore. De plus elle a permis la croissance normale des semis de chênes et de hêtres pendant les cinq premiers mois.
- Certaines essences pourraient présenter des difficultés de croissance sur milieu stérile. Cette hypothèse avait été évoquée par Boullard (1968) au sujet du frêne. L'absence de micro-organismes dans le sol pourrait donc provoquer des troubles soit immédiatement après l'épuisement des réserves de la graine (cas des noyers et des frênes) soit beaucoup plus tard (cas des chênes et peut-être des hêtres).

Nous avons été amenés à comparer nos résultats à ceux obtenus lors de la production de semis feuillus sur tourbe fertilisée (Delran et al. 1975). Ce dernier substrat est un milieu atteignant un niveau de fertilité très élevé et exempt de germes mycorhiziens, pauvre au départ de tout micro-organisme. Nous pouvons donc considérer ce milieu comme « stérilisé ».

Après un an, les semis du chêne, hêtre, frêne et érable sycomore se sont développés correctement bien que les racines ne soient plus mycorhizées. Seuls, les semis de noyer noir et de noyer royal n'ont pu croître sur ce milieu. Il semble donc bien que les noyers ne puissent survivre sur un substrat pauvre en micro-organismes mycorhiziens.

Ces résultats contredisent ceux obtenus sur sable arrosé par solution nutritive. Notons cependant que l'azote est apportée sous forme d'ammonitrate dans la tourbe alors que la solution d'Evers ne contient que de l'azote nitrique. La recherche de solution nutritive adaptée à chaque essence pourrait donc être envisagée lors d'expériences sur sable.

L'étude de l'effet calcaire reste donc difficile puisque les « témoins » sur sable pur ne présentent pas une croissance « normale ». Cependant il semble que le facteur calcaire augmente encore les troubles dans le cas du frêne (chlorose plus importante) ou du hêtre (apparition de nécroses beaucoup plus rapides et plus importantes).

Dans le cas où les plantules présentent un comportement normal sur sable pur, notre expérience nous permet la classification suivante :

- espèces très sensibles à la présence de calcaire dans un substrat stérile : érable sycomore et pin noir (mort de nombreux semis) ;
- espèces sensibles à la présence de calcaire dans un substrat stérile : pin pignon et cèdre (croissance faible, chlorose des aiguilles) ;
- espèces insensibles à la présence de calcaire dans un substrat stérile : cyprès semper-virens et cyprès de l'Arizona.

Le pin d'Alep, certainement à la suite de nombreuses contaminations présente un comportement analogue sur les deux substrats. Des expériences réalisées à Clermont-Ferrand par MM. Chevalier et Mousain ont permis de montrer un comportement identique à celui du pin noir.

Il nous fallait donc contrôler l'effet de la mycorhization en milieu naturel et non plus en solution nutritive.

ROLE DES MYCORHIZES EN SOL CALCAIRE NATUREL

Matériel et méthode

Préparation du substrat

Nous avons choisi l'horizon A₁ (0-10 cm) d'une rendzine développée sur craie, en Champagne. Ce matériau est très riche en calcaire total (50,7 %) et en calcaire actif (16,2 %). Il est cependant relativement pauvre en matière organique (4,4 %) et surtout en phosphore. Sur ce sol, un peuplement de pin noir d'Autriche, d'une trentaine d'années, présente un comportement normal. Ce sol contient donc une microflore susceptible de mycorhizer le pin noir d'Autriche.

Nous avons réalisé deux traitements :

- sol non stérilisé,
- sol stérilisé deux fois à l'autoclave, à 48 heures d'intervalle donc exempt de tout micro-organisme.

Préparation des plantules

Pour chaque essence et pour chaque traitement, nous avons étudié le comportement d'une vingtaine de semis arrosés régulièrement à l'eau déminéralisée.

Comportement des différentes espèces

Nous n'avons pas pu observer une meilleure croissance ou un meilleur état physiologique des plantules sur sol stérilisé lorsque celui-ci est resté exempt de micro-organismes mycorhizateurs. Nous avons obtenu soit une croissance analogue dans les deux traitements soit de fortes différences de comportements.

Les stades d'évolution que nous avons pu constater sont résumés dans le tableau suivant.

COMPORTEMENT		MYCORHIZATION	ESPÈCE
Croissance difficile (mort de nombreux semis) Aucune différence de comportement sur les deux substrats		Aucune mycorhization sur les deux substrats	<i>Quercus sessiliflora</i> <i>Juglans nigra</i> <i>Juglans regia</i>
Chlorose avant la mycorhization (2 mois) puis croissance normale sur les deux substrats		Mycorhization naturelle sur substrat non stérilisé	<i>Pinus nigra</i>
		Mycorhization accidentelle sur substrat stérilisé	<i>Pinus pinea</i>
Semis présentant une forte croissance sur sol non stérilisé	Mort de nombreux semis sur sol stérilisé	Mycorhization uniquement sur sol non stérilisé	<i>Fraxinus excelsior</i> <i>Acer pseudoplatanus</i> <i>Fagus silvatica</i>
	Comportement normal des semis mais croissance plus faible sur sol stérilisé		<i>Cupressus sempervirens</i> <i>Cupressus arizonica</i>
		Mycorhization accidentelle sur sol stérilisé	<i>Pinus halepensis</i> <i>Cedrus atlantica</i>

Discussion

Chênes, noyers noir et royal se sont, soit très peu mycorhizés, soit pas du tout. On observe ainsi peu de différence de comportement ou de croissance entre les deux traitements.

Hêtres, frênes, érables et cyprès se sont mycorhizés uniquement sur terre non stérilisée tandis que les autres essences se sont mycorhizées facilement, soit avec la flore fongique existante, soit avec les champignons mycorhizateurs apportés par diverses contaminations.

Il faut donc convenir que :

- soit les champignons existant dans ce sol ne peuvent réaliser des symbioses avec toutes les espèces expérimentées,
- soit le milieu (ici très pauvre en azote ou en phosphore) convient à la réalisation de certaines symbioses et non à d'autres.

Dans le cas de mycorhization uniquement sur substrat naturel, nous avons pu constater :

- soit simplement un gain de croissance (biomasse totale multipliée par deux ou trois) sans changement de comportement (cas des cyprès) (photo 2),
- soit la disparition de nécrose ou chlorose après un certain laps de temps :
 - 6 mois pour les semis de hêtre,
 - 2 mois pour les semis d'érable,
 - immédiatement après la transplantation de plantules pour les frênes.

Les témoins sur sol stérilisé présentent alors une très mauvaise croissance (photo 3).

Si l'on admet que la disparition des phénomènes anormaux correspond à la mycorhization, nous pouvons affirmer que suivant l'essence, les temps de mycorhization sont très variables sur un même substrat. Dans le cas de contamination, nous avons vu disparaître tout phénomène de chlorose lorsque la mycorhization s'est installée. Cependant la flore fongique s'est toujours révélée plus efficace que les champignons mycorhiziens provenant de contaminations (photo 4).

Photo 2. — Effet de la mycorhization sur la croissance du Cyprès toujours vert (8 mois), en terre calcaire pauvre.

Photo PLOU

Photo 3. — Effet de la mycorhization sur la résistance au calcaire de l'Erable sycomore (3 mois). Les semis non mycorhizés possèdent de nombreuses feuilles sèches.

Photo PIOU

Photo 4. — Effet de la mycorhization sur la croissance du Pin d'Alep (5 mois). Les champignons provenant de contaminations sur la terre stérilisée sont moins efficaces que la flore fongique naturelle.

Photo PIOU

CONCLUSION GÉNÉRALE

Le rôle des mycorhizes dans la résistance au calcaire des arbres forestiers est complexe et varie suivant les essences.

Ce problème ne peut être abordé sans difficulté car diverses espèces ne peuvent supporter un milieu stérile. L'absence de mycorhization entraîne la mort des semis quelles que soient la nature et la richesse du substrat. Cela semble être le cas de *Juglans nigra* et de *Juglans regia*.

En milieu naturel, toutes les espèces sont mycorhizées. Lorsque le niveau de fertilité est très élevé, certaines peuvent croître sur un substrat stérile.

En absence de mycorhization et en présence de calcaire, ces espèces présentent alors différents types de comportements :

- *Cupressus arizonica* et *Cupressus sempervirens* ne présentent aucune chlorose en présence de calcaire et ont une croissance identique en absence ou en présence de calcaire. La résistance au calcaire de ces essences n'est pas due aux micro-organismes associés mais est très certainement d'origine génétique.

Cependant la mycorhization améliore très nettement la croissance, notamment sur le sol pauvre choisi.

- *Cedrus atlantica* présente une croissance moindre par rapport au témoin sur substrat non calcaire mais ne meurt pas. Il est donc moyennement sensible au calcaire. Des expériences complémentaires seront nécessaires car nous n'avons jamais réussi à contrôler correctement la stérilisation des milieux.

- *Fagus silvatica* semble être moyennement résistant au calcaire car les troubles sur substrat calcaire riche apparaissent assez tard. Sur substrat calcaire pauvre, la mycorhization tarde à se réaliser. Si elle ne s'effectue pas, les semis meurent très rapidement.

- *Fraxinus excelsior* se comporte comme *Acer pseudoplatanus* sur terre calcaire. Les semis non mycorhizés poussent très mal et certains peuvent mourir. Des troubles chlorotiques importants, mais n'aboutissant pas à la mort des semis, sont apparus sur sable calcaire. Il semble donc que cette espèce est moyennement sensible au calcaire.

- Le calcaire entraîne des chloroses graves aboutissant à la mort de semis non mycorhizés pour *Acer pseudoplatanus*, *Pinus nigra* et *Pinus pinea*.

Ces résultats sont analogues à ceux obtenus par MM. Mousain et Chevalier sur *Pinus sylvestris*, *Pinus halepensis* et *Pinus pinaster*. Si la micorhization s'installe, les troubles chlorotiques disparaissent et la croissance est plus ou moins vigoureuse.

Toutes les espèces de pins étudiées, qu'ils soient calcifuges (pin pignon, pin maritime) ou calcicoles (pin noir, pin d'Alep) présentent le même comportement sur sol calcaire et en absence de mycorhization. Leur résistance au calcaire, à l'état de semis, est acquise secondairement grâce à la mycorhization. Pour les espèces moyennement sensibles au calcaire et présentant des résultats analogues dans les deux types d'expériences (cèdre, hêtre...), des expériences complémentaires associant l'origine des graines pourraient être envisagées.

D. PIOU

Tous les comportements sont résumés dans le tableau suivant :

Espèces ne pouvant pas croître en milieu stérile	Espèces pouvant croître en milieu stérile		
	Espèces insensibles au calcaire	Espèces moyennement sensibles au calcaire	Espèces très sensibles au calcaire
	<i>Juglans nigra</i> <i>Juglans regia</i>	<i>Cupressus sempervirens</i> <i>Cupressus arizonica</i> <i>Cedrus atlantica</i> <i>Fagus silvatica</i> <i>Fraxinus excelsior</i>	<i>Pinus nigra</i> <i>Pinus pinaster</i> <i>Pinus halepensis</i> <i>Pinus sylvestris</i> <i>Pinus pinea</i> <i>Acer pseudoplatanus</i>
La mycorhization permet la croissance	La mycorhization améliore la croissance	La mycorhization permet la résistance au calcaire et améliore la croissance	

Nous tenons à remercier le personnel de la station des sols forestiers et de la fertilisation et tout particulièrement MM. GARBAYE et LE TACON qui nous ont aidé à mener à bien cette étude.

Nous remercions également MM. MOUSAIN et CHEVALIER de la station de pathologie végétale de Clermont-Ferrand pour leurs fructueuses discussions.

Dominique PIOU

56, rue du Maréchal-Exelmans,
54000 NANCY

BIBLIOGRAPHIE

- BOULLARD (B.). — Les mycorhizes. — Paris, Masson, 1968.
- BURSTROM (H.G.). — Calcium carbonate and plant growth. *Biological review*, 1968, pp. 287-316.
- CLEMENT (A.), GARBAYE (J.), LE TACON (F.). — Importance des ectomycorhizes dans la résistance au calcaire du pin noir — In : *Ecologia plantarum*, t. 12, n° 2, 1977, pp. 111-131.
- DELRAN (J.), GARBAYE (J.), LE TACON (F.). — Production rapide de plants feuillus sur tourbe fertilisée : nouveaux résultats. *Revue forestière française*, n° 6, 1975, pp. 436-448.
- DOMMERGUES (Y.), MANGENOT (F.). — Ecologie microbienne du sol. — Paris, Masson, 1970.
- PASSAMA (L.). — Composition minérale de diverses espèces calcicoles et calcifuges de la région méditerranéenne française. In : *Ecologia plantarum*, t. V, 1970, pp. 225-246.
- SALSAC (L.). — Absorption de calcium par les racines de Féverole (calcicole) et le lupin jaune (calcifuge). — Paris, Thèse, 1970, 164 p.