

Résumé :

Les vergers de jeunes chênes de truffiers en climat méditerranéen sont soumis à des épisodes de sécheresse qui peuvent mettre en péril le développement de *Tuber melanosporum*. Nous avons examiné l'effet sur *T. melanosporum* de l'approvisionnement en eau dans trois périodes : mai à juillet, août à octobre et mai à octobre.

Dans chaque période, cinq doses d'eau ont été établies : 0, 25, 50, 75 et 100 % de l'évapotranspiration de référence (ET_o). Cinq vergers ont été plantés avec *Quercus ilex* inoculé avec *T. melanosporum*, et dans chaque verger, nous avons étudié la période d'irrigation et la dose d'irrigation comme des facteurs principaux et testé leurs effets combinés sur le développement tant de *T. melanosporum* que de *Q. ilex* pendant 3 ans.

La période d'irrigation et les doses d'irrigation ont eu un effet sur la présence sur les jeunes plants de mycorhizes *T. melanosporum*. L'irrigation en mai-juillet accroît significativement la colonisation par *T. melanosporum* sur les jeunes plants irrigués avec 50 % de l'ET_o, dose comparée à 0 % de l'ET_o. Un modèle semblable avec des différences plus petites a été observé pour la période août-octobre, mais les doses d'irrigation n'a pas changé la colonisation par *T. melanosporum* quand nous avons arrosé de mai à Octobre. Nous avons trouvé des myc différent de *T. melanosporum* pour 51 % des jeunes plants étudiés, mais leur présence était marginale. Nos résultats suggèrent qu'une dose d'irrigation modérée favorise la croissance des jeunes plants et le nombre de bons bouts de racine par unité de longueur de racine, qui peut être potentiellement colonisée par *T. melanosporum*.

Introduction

Les vergers de truffe noirs ont augmenté au cours des dernières décennies dans la zone méditerranéenne et au-delà en raison des prix élevés que les truffes noires atteignent, et au manque de récolte alternative rentable dans les zones rurales où ce champignon grandit.

La disponibilité de jeunes plants commerciaux mycorhisés avec le champignon de truffe noir (*Tuber melanosporum* Vittad.) et la connaissance récemment acquise du cycle de vie de truffe noire ont aidé à réduire les incertitudes de cette culture. Néanmoins, plusieurs questions restent quant à la gestion de jeunes vergers de truffes noires. Ceci est particulièrement important pendant la phase pré productive, avant le début de récoltes régulières, d'habitude pendant la huitième ou dixième année.

Les techniques de culture de sol, des méthodes de contrôle de mauvaise herbe et des protocoles d'irrigation restent des questions ouvertes pour les cultivateurs de truffe noires qui demandent des protocoles concrets aux chercheurs.

Les jeunes vergers de truffe noires sont généralement irrigués pour éviter les effets de la sécheresse du climat méditerranéen où ce champignon est endémique. La quantité d'eau est une question cruciale parce qu'il n'y a pas de relation linéaire entre l'apport d'eau et la prolifération de *T. melanosporum* dans les jeunes vergers.

L'irrigation avec de hautes doses n'a pas atteint les mêmes résultats positifs obtenus avec des doses moyennes dans une étude sur le terrain.

Et la colonisation est même favorisée par des champignons concurrents dans une étude sous serre.

La sélection du meilleur moment de l'année pour irriguer reste une préoccupation pour les trufficulteurs. L'irrigation dans les vergers de truffe noires était généralement appliquée en été, quand les conditions les plus chaudes et les plus sèches arrivent dans la zone méditerranéenne. Cependant, les événements de sécheresse peuvent aussi arriver dans d'autres saisons. L'activité végétative de la plupart des arbres méditerranéens est plus importante au printemps que dans les autres saisons, donc un événement de sécheresse au printemps pourrait avoir un plus grand impact qu'en été où les températures les plus hautes de l'année limitent déjà la croissance des arbres.

Un manque d'eau au printemps réduit l'activité photosynthétique de l'arbre hôte et par conséquent

la fourniture de glucides au champignon partenaire.

Peu de données existent sur les méthodes appropriées d'évaluer les exigences d'eau de vergers de truffe. De telles méthodes devraient se conformer à la variabilité de précipitation du climat méditerranéen et être facilement appliquées par des cultivateurs.

Les méthodes basées sur des données climatiques sont disponibles maintenant auprès de réseaux météorologiques ou de systèmes de mesure de microclimat situés à proximité pour d'autre récolte. L'évapotranspiration de référence (ET₀) est un programme général basé sur des paramètres climatiques qui ont été proposée par l'Organisation FoodAgriculture des Nations unies (la FAO)((la Food and Agriculture Organization)) (Doorenbos et 1975 Pruitt) et a été largement adopté dans la gestion de l'eau agricole .

Cette méthodologie établit aussi un coefficient calculé pour déterminer les besoins spécifiques d'une culture selon l'espèce et l'étape de développement.

Bien que la FAO ait publié des coefficients de culture pour beaucoup de récolte importante, aucun coefficient n'est disponible pour des vergers de truffe.

Le but de ce travail est d'explorer les effets de cinq doses d'irrigation, définies comme les pour cent d'ET₀, appliqué dans trois périodes saisonnières sur la croissance tant de *T. melanosporum* que de *Q. Ilex* dans des conditions climatiques méditerranéennes. L'irrigation a été mise en œuvre pendant trois ans consécutifs après la plantation et le statut ectomycorhizien ainsi que la croissance de jeunes plants a été évaluée après ces 3 ans de traitements sur des jeunes plants.

Matériel et méthodes

Zone d'étude

Cinq vergers de chêne truffiers situés en Espagne du Nord-Est ont été établis entre janvier et mars 2001 dans quatre sites, aux altitudes s'étendant de 251 à 1,205 m au-dessus du niveau de la mer (voir Tableau 1). Les deux vergers partageant le même site étaient sur des (???propriétés différentes et des aspects ???.) Les sols avaient des textures argileuses avec des niveaux de carbonate de calcium importants et un pH qui s'étend de 7.8 à 8.5. La valeur des précipitations mensuelles et l'évapotranspiration des quatre sites durant les 3 ans de cette étude a montré un type climatique méditerranéen avec une évapotranspiration importante durant toute l'année et des précipitations basses l'été.

Tableau 1 Position et caractéristiques de sol des vergers de truffe noirs

	Vergers 1 et 2	Verger 3	Verger 4	Verger 5
Latitude	42°00'N	42°01'N	41°54'N	41°18'N
Longitude	0°59'E	1°57'E	1°35'E	1°14'E
Altitude (m)	1,205	666	678	251
Pente (%)	9	2	2	0
PH de sol (H ₂ O)	7.8	8.1	8.3	8.5
Matière org. (%)	5.4	4.6	4.4	2.1
C.de calcium (%)	28	27	38	38
Classe de texture de sol (USDA)		??	????????????????????	????????

Durant l'étude de 3 ans, la précipitation annuelle moyenne et ET₀ des quatre sites étaient 690 et 924 mm, respectivement. La précipitation et les données de température ont été obtenus de sondes installées dans chaque site et le ET₀ a été obtenu d'une station météorologique automatique voisine (le Réseau d'Agroclimatologie de la Catalogne). Le sol et les caractéristiques climatiques des sites étaient adéquats pour la production de truffe selon les recommandations fournies par Colinas et d'autres. (2007).

Les jeunes plants ont été plantés 6 m entre rangs et dans chaque rangée, la distance entre jeunes plants était de 5 m. Avant la plantation, le sol était soussolé à une profondeur de 60 cm pour décompacter et promouvoir l'aération de sol profonde et ensuite il a été labouré superficiellement plusieurs fois pour fournir une zone de plantation sans végétation herbacée. Les mauvaises herbes autour des jeunes plants ont été manuellement enlevées avec une houe manuelle comme nécessaire pour fournir une zone libre de compétiteurs. Aucun autre traitement n'a été appliqué aux vergers.

Type de plants :

Tous les jeunes plants étaient des chênes verts d'1 an (*Quercus ilex* L.) inoculés avec *T. melanosporum* Vittad. achetés auprès d'un pépiniériste, où ils ont été cultivés dans des pots de 5 × 5 × 20 cm remplis de substrat tourbe-perlite-vermiculite. Avant la plantation, les jeunes plants avaient une moyenne de 210 *T. melanosporum mycorrhizae* par jeune plant (CI95 (l'intervalle de confiance de 95 %) 165-254), qui a représenté 48 % (CI95 44-51) de leur total de racine. On considère ces caractéristiques comme étant de bonne qualité. Aucune ectomycorhize formée par d'autres espèces n'a été trouvée dans les jeunes plants échantillonnés.

Protocole expérimental

Nous avons utilisé une structure de traitement avec deux facteurs comme suit :

(a) irrigation avec cinq niveaux : les doses de 0, 25, 50, 75, 100 ETo

Niveaux : arrosage du 1er mai au 31 juillet, du 1er août au 31 octobre, et du 1er mai au 31 octobre.

Nous avons choisi la fin de juillet comme le temps pour changer l'irrigation selon des changements sur la croissance végétative dans des arbres de chêne vert humides ou irrigués observés précédemment (Montserrat-Martí et al. 2009; Sanz-Perez et al. 2009).

Pour chaque période, la fréquence d'irrigation était toute les 2 ou 3 semaines selon la demande. Ce protocole a abouti à 15 combinaisons de traitement reproduites dans 5 vergers considérés comme des blocs avec un total de 75 unités expérimentales. L'unité expérimentale a consisté dans une zone de 6 × 10 m avec six jeunes plants plantés dans deux rangées plus le complément de trois jeunes plants plantés en même temps entre les deux rangées destinés à être extraits pour l'échantillonnage de racine destructif. Pour empêcher un effet de frontière des traitements d'irrigation, nous avons laissé une rangée de jeunes plants entre les unités expérimentales qui n'ont pas été irriguées.

Traitements d'irrigation

Pendant les 3 ans de l'étude, les moyennes de la quantité d'eau fournie pendant mai-juillet, octobre août et les périodes de mai-octobre pour 100 % ETo la dose étaient 254, 211 et 359 mm, respectivement. On montre les précipitations et ETO pendant les périodes d'irrigation dans la Table 2. Les doses restantes d'irrigation ont été appliquées dans les mêmes jours que la dose maximale (100 % ETo) et ont suivi les volumes proportionnels établis dans le plan d'irrigation. Bien que nous ayons planifié de fournir les doses d'eau se référant à ETO accumulé depuis l'irrigation précédente, la précipitation occasionnelle jours après l'irrigation a gêné l'optimisation de la fréquence d'irrigation comme planifié. Dans ces cas, la fréquence d'irrigation varie entre 3 et 4 semaines selon la précipitation naturelle. Les doses d'irrigation à chaque période d'irrigation ont été calculées pour réaliser le % cible d'ETO, en prenant en considération des précipitations au-dessus de 15 mm qui peuvent être arrivés après le dernier arrosage. L'eau a été fournie dans un cercle avec un rayon de 20 cm autour de la tige de jeune plant pendant la première et deuxième année et dans un cercle de 40 cm la troisième année.

Au début de développement, *Q. ilex* des jeunes plants développent une racine pivotante profonde et des racines latérales courtes. Nous avons trouvé que le système de racines de *Q. ilex* des jeunes plants ne s'étend pas au-delà de 30-40 cm de la tige après 4 ans de plantation.

Extraction des plants et analyse de racines

Entre décembre 2003 et janvier 2004, un jeune plant par unité expérimentale a été aléatoirement choisi et extrait en creusant une tranchée circulaire de 2m de rayon, profonde de 2 m, autour de la

tige du plant avec un petit tractopelle, puis en creusant manuellement le sol vers le plant jusqu'à ce qu'il puisse être sorti du sol sans endommager les racines.

Des jeunes plants entiers ont été emmenés au laboratoire, où des particules de sol adhérentes ont été soigneusement lavées des racines. Les racines ont été coupées en morceaux de 3 à 15 cm et observées sous un stereomicroscope.

Par la suite, nous avons trié les racines, ensuite, nous avons évalué la longueur de racine de chaque prélèvement en utilisant la grille selon la méthode (le Marais 1971). Quand c'était nécessaire, nous coupons les racines de nouveau. Les racines ont été alors séchées à 60 °C pour 72 h pour déterminer le poids sec des bonnes racines.

Le diamètre de tige du plant et la hauteur ont été mesurés avant la coupe du système racinaire. Nous avons considéré les racines comme mycorhizées si :

a : les poils de racine étaient absents,

b: elles apparaissent gonflées

c:elles avaient une gaine.

Tous les morceaux de racine ont été comptés et classifiés comme :

non colonisé,

T. melanosporum morphotype

, ou d'autre morphotypes, que l'on a considéré des concurrents.

Le nombre total d'ectomycorhizes de T. mélanosporum par jeune plant a été enregistré et l'abondance a été calculée comme le nombre de bouts de racine colonisés par ce morphotype divisé par le nombre total de bouts de racine ectomycorhiziennes. Dans ce processus, nous avons utilisé un microscope de dissection ($\times 50$) et un microscope ($\times 100-1,000$).

T. Melanosporum ectomycorrhizae ont été identifiés après la description de Rauscher et le Chevalier (1995).

Analyse statistique

(?????Nous avons utilisé la méthode statistique du SAS institute (SAS 2008, Cary, NC, USA) pour analyser nos données, pour que nous puissions spécifier les effets aléatoires de blocs et l'interaction entre les deux facteurs principaux, calculent le type III F-test sur les effets de période d'irrigation et la dose et l'interaction entre eux. L'homogénéité des résultats a été vérifiée par le F et Levene tests. Quand le test sur l'homogénéité des résultats a indiqué que les résultats n'étaient pas égaux, un modèle avec des résultats inégaux, des désaccords résiduels dans ce cas, a été spécifié avec la déclaration de répétition(reprise) avec l'option de groupe (Littell et d'autres. 2006). Les moyens ont été évalués par des moins places(carrés). En règle générale, nous avons testé pour des différences parmi des niveaux utilisant t des tests sur la signification statistique de la différence entre les moyens dans chaque paire, alpha 0.05 et quand les désaccords étaient inégaux, les erreurs standard évaluées des différences étaient les combinaisons des désaccords et ainsi les degrés de liberté ont été rapprochés.?????)

Résultats

T. Melanosporum et colonisation par des mycorhizes de concurrent

La quantité de mycorhizes de T. melanosporum change significativement selon le volume d'irrigation ($P < 0.0003$) et les périodes d'irrigation ($P < 0.0024$). De plus, l'interaction entre volume et période était aussi significative ($P < 0.0012$). Pour des traitements individuels, l'irrigation a seulement produit des effets significatifs sur la colonisation par T.Melanosporum quand elle a été faite sur la période mai-juillet et la période d'octobre à aout (Fig. 1). Les jeunes plants irrigués avec 50 % ETo en mai-juillet avaient significativement plus de T.Melanosporum mycorrhizae que tous les autres protocoles, tandis que la période d'Octobre auguste avait la même tendance pour 25% et

50% ETo . L'irrigation sur la période de mai à octobre n'a pas produit d'effets significatifs sur le nombre de mycorhizes de *T. Melanosporum* .

L'abondance relative de mycorhizes de *T. Melanosporum* n'a pas varié selon le plan d'irrigation. Nous avons observé une moyenne de 80 % (CI95 74-87) pour tous les jeunes plants. De même, nous n'avons pas observé d'effets de l'irrigation sur la quantité de concurrent mycorhisiens . Il y avait une moyenne de 75 (CI95 46-103) mycorhizes de morphotypes concurrents par plant. Pour 20 % des plants avec concurrents, l'abondance relative de mycorhizes de *T. Melanosporum* était inférieur à 50 % et 49 % de tous les plants étaient complètement sans concurrents.

Colonisation ectomycorhisiennne

La quantité de morceaux de racines non colonisés par jeune plant était significativement (P 0.0081) affectée par les doses d'irrigation, comme l'était le total de morceaux de racine par jeune plant (P 0.0007), mais aucun de ces paramètres n'a été affecté par la période d'irrigation. Le nombre de morceaux de racine non colonisés était plus important dans des jeunes plants avec 50, 75 et 100 % ETo des doses que dans des plants non irrigués, tandis que la quantité de morceaux de racine totaux était plus haute à 50 % Eto que dans tous les autres traitements (Fig. 2). L'abondance relative d'ectomycorhizes (le nombre de morceaux de racine colonisés par des mycorhizes divisées par le nombre total de morceaux de racine) était seulement significative à P 0.085 pour la dose d'irrigation et a diminué avec la disponibilité croissante d'eau.

Fig.1 morceaux de Racine colonisés par *T. melanosporum* en réponse à cinq doses d'irrigation basées sur la valeur de 0, 25, 50, 75 et 100 % de l'évapotranspiration évaluée appliquée dans trois périodes d'irrigation. Dans chaque période d'irrigation, des barres verticales représentent \pm (???1 SE???)

Fig.2 Nombre de racines non colonisées, nombre de racines total (colonisé plus non colonisé) et abondance relative d'ectomycorhizes , en réponse à cinq doses d'irrigation basées sur la valeur de 0, 25, 50, 75 et 100 % de l'évapotranspiration évaluée. Dans chaque paramètre, des barres(bars) verticales représentent \pm (???1 SE???)

Croissance des plants

Les doses d'irrigation avaient des effets significatifs à la foi sur la hauteur (P 0.0004) et le diamètre de tige (P 0.0001). Les plants irrigués étaient plus grands dans 50, 75 et 100 % ETo des traitements que dans la dose la plus basse ou le témoin (Fig. 3). Le diamètre de tige de plants non irrigués était plus petit que tous les jeunes plants irrigués. Le poids de racines fines et la longueur de racines fines n'ont été affectés par aucun protocole.

Conclusion

Des doses d'irrigation modérées pendant des périodes d'irrigation courtes peuvent promouvoir le développement de *T. melanosporum*.

Des plants traités avec les volumes modérées d'irrigation tant en mai-juillet que pour les périodes d'octobre-août avaient plus de mycorhizes de *T. Melanosporum* comparé à des plants non irrigués ou abondamment irrigués. Nos observations sur les effets de l'irrigation à la fin de la période de pousse sont en accord avec le travail précédent par Bonet (2006) et Olivera (2011) qui a trouvé que l'irrigation en août et septembre avec des volumes modérées a favorisé le développement de *T. melanosporum*. Pourtant, dans notre étude, *T. melanosporum* s'est mieux développé quand l'irrigation a eu lieu au commencement plutôt qu'à la fin de la période de pousse. Ce fait pourrait être lié aux différences de la distribution de précipitation et l'ETO dans les deux périodes. L'ETO était plus haute en mai-juillet qu'en octobre-août, tandis que les précipitations étaient inférieures en mai-juillet qu'en octobre-août.

Donc, l'irrigation en mai-juillet a réduit les périodes de manque d'eau plus que pour octobre-août

Fig.3 Diamètre moyen de tige et hauteur pour chaque dose d'irrigation après 3 ans. Pour chaque paramètre, des barres verticales représentent $\pm (1 \text{ SE})$

Notre découverte que *T. melanosporum* se développe plus dans des places modérément irriguées en mai-juillet est expliquée par le modèle saisonnier de fixation carbonique de la plante hôte. La photosynthèse de *Q. ilex* a son sommet au printemps (Gratani 2008), quand *T. melanosporum* accumule le carbone dans les mycorhizes (Tacon 2013). La coïncidence dans le temps entre la photosynthèse printanière et les demandes du partenaire fongique explique pourquoi le stress hydrique limitant la photosynthèse peut être plus destructeur pour le champignon plus tôt que plus tard dans la période de pousse.

La longue période d'irrigation n'a pas favorisé la colonisation par *T. melanosporum*

La colonisation par *T. Melanosporum* n'a pas été favorisée quand l'irrigation a été appliquée tout au long de la période de pousse. Une explication possible de ceci serait le modèle saisonnier de production de racine et leur longévité pour le Chêne vert. La longévité des racines dans des conditions méditerranéennes de terrain est plus courte au printemps et plus longue en été (Lopez 2001).

En prolongeant l'humidité du sol au printemps et pendant l'été et l'automne, nous pouvons avoir forcé un renouvellement de racine de courte durée pendant l'été. Cette durée de vie plus faible de racines courtes peut limiter la capacité de *T. melanosporum* pour former des mycorhizes.

Colonisation ectomycorhizienne et concurrence

L'abondance relative de *T. melanosporum* n'a pas été liée à l'irrigation, mais était importante, avec une moyenne de 80 % du mycorhizes appartenant au morphotype de *T. mélanosporum*. Cette étonnamment haute proportion de *T. melanosporum* morphotype était plus importante que les 67 % observés par Olivera (2011) dans des plantations semblables, 44 % trouvés par Martínez de Aragón (2012) dans une plantation sur une forêt brûlée et la gamme de 44-69 % observés par Águeda (2010) dans des truffières en production. Une explication possible pourrait être la colonisation progressive des systèmes de racine par d'autres champignons ectomycorhiziens quand les vergers vieillissent. Indépendamment de la période d'irrigation, la quantité la plus importante de racine observés par plant était obtenue quand nous avons apporté 50% ETO.

En prenant en compte que nous n'avons pas trouvé de différences de longueur de racine, l'apport de 50% ETO aurait promu la formation de racines fines, porteuses de mycorhizes. La diminution dans le total de racine pour les plants fortement irrigués suggère que la plupart de la réduction de racine causés par l'irrigation en excès ait eu lieu dans les racines mycorhizées.

L'irrigation peut modifier le diamètre de tige et la hauteur des plants

Les plants irrigués avec des doses importantes pendant 3 ans ont gagné plus de diamètre de tige et de hauteur que ceux non irrigués. Dans des sites au climat sec, la disponibilité d'eau est un facteur limitant la croissance clair pour *Q. ilex* (Terradas et 1992 Savé; Ogaya et Peñ Uelas 2007) et, par conséquent, la disponibilité plus importante d'eau favorise la croissance des plant. Les augmentations de croissance liées à l'approvisionnement en eau supplémentaire en été ont été aussi observées par Rey Benayas (1998) dans une enquête sur le terrain de *Q. ilex* des plants plantés dans une région méditerranéenne continentale semiaride. Nos résultats sont en accord avec

l'augmentation de croissance de 66 % de diamètre résultant de l'irrigation d'été dans un taillis de chêne vert mûr haute densité (le Maire et 1994 Rodà).

Cependant, le fait que des doses d'irrigation plus importantes n'ont pas favorisé la croissance de jeunes plants dans notre étude suggère que l'eau ne puisse pas limiter au-delà d'un certain seuil comme a été observé par Olivera et d'autres. (2011) dans une étude semblable dans des conditions moins arides.

Remarques de conclusion

Cette étude fournit des informations sur les effets de régimes d'irrigation différents, basés sur la demande d'évapotranspiration, sur la prolifération de mycorhizes de *T. melanosporum*. Les résultats suggèrent que "la zone de confort" de la truffe noire quant à la disponibilité d'eau soit très étroite, tant en termes de quantité que de moment. Peut-être c'est la raison pour laquelle son habitat naturel est si réduit. Un régime arrosant recommandé pour la phase d'établissement de *T. melanosporum*-*Q. ilex* des vergers dans des conditions de climat continental méditerranéen consisterait à compléter la précipitation naturelle au niveau de 50 % de l'ETO pendant la première moitié de la période de pousse et tenir compte du début d'une sécheresse modérée avant les pluies d'automne.