



ufr
SMP

Sciences médicales & pharmaceutiques
UNIVERSITÉ DE FRANCHE-COMTÉ



ANNEE 2016 - n° 25 - 16 - 46

TITRE DE LA THESE

LES MORILLES EN FRANCHE-COMTE : Biologie, monographies, toxicité & propriétés thérapeutiques

THESE

présentée et soutenue publiquement

le : 2 décembre 2016

pour obtenir le Diplôme d'État de

DOCTEUR EN PHARMACIE

PAR

Marine COMOLA

Née le 26 octobre 1990 à Besançon (25)

(Nom)

(Qualité)

Président :

Dominique MEILLET

Professeur

Directeur de la thèse :

Dominique MEILLET

Professeur

Co-Directeur :

Jean-Marc MOINGEON

Chargé d'Enseignements

Juge :

Marine BRESSON

Docteur en Pharmacie

| | | |
|-----------------------------------|---|-----------------------|
| DIRECTEUR | Professeur Emmanuel SAMAIN | |
| ASSESEURS MÉDECINE | Professeur Bernard PARRATTE Professeur Benoît de BILLY Professeur Gilles CAPELLIER Professeur Thierry MOULIN | Directeur des études |
| DOYEN PHARMACIE | Professeur Marie-Christine WORONOFF-LEMSI | Directrice Adjointe |
| ASSESEUR PHARMACIE | Professeur Laurence NICOD | Directrice des études |
| RESPONSABLE ADMINISTRATIVE | Mme Florence PRETOT | |

MÉDECINE

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS – PRATICIENS HOSPITALIERS

| | | | |
|-----|--------------|--------------------|---|
| M. | Olivier | ADOTEVI | IMMUNOLOGIE |
| M. | Frédéric | AUBER | CHIRURGIE INFANTILE |
| M. | François | AUBIN | DERMATO-VÉNÉRÉOLOGIE |
| Mme | Yvette | BERNARD | CARDIOLOGIE |
| Mme | Alessandra | BIONDI | RADIOLOGIE ET IMAGERIE MÉDICALE |
| M. | Hugues | BITTARD | UROLOGIE |
| M. | Christophe | BORG | CANCÉROLOGIE |
| M. | Hatem | BOULAHDOUR | BIOPHYSIQUE ET MÉDECINE NUCLÉAIRE |
| M. | Jean-Luc | BRESSON | BIOLOGIE ET MÉDECINE DU DÉVELOPPEMENT ET DE LA REPRODUCTION |
| M | Gilles | CAPELLIER | RÉANIMATION |
| M. | Jean-Marc | CHALOPIN | NÉPHROLOGIE |
| Mme | Catherine | CHIROUZE | MALADIES INFECTIEUSES |
| M | Sidney | CHOCRON | CHIRURGIE THORACIQUE ET CARDIOVASCULAIRE |
| M. | Jean-Luc | CHOPARD | MÉDECINE LÉGALE ET DROIT DE LA SANTÉ |
| Mme | Cécile | COURIVAUD | NÉPHROLOGIE |
| M. | Alain | CZORNY | NEUROCHIRURGIE |
| M. | Jean-Charles | DALPHIN | PNEUMOLOGIE |
| M. | Siamak | DAVANI | PHARMACOLOGIE CLINIQUE |
| M. | Benoît | DE BILLY | CHIRURGIE INFANTILE |
| M. | Eric | DECONINCK | HÉMATOLOGIE |
| M. | Bruno | DEGANO | PHYSIOLOGIE |
| M | Eric | DELABROUSSE | RADIOLOGIE ET IMAGERIE MÉDICALE |
| M. | Bernard | DELBOSC | OPHTALMOLOGIE |
| M. | Thibaut | DESMETTRE | MÉDECINE D'URGENCE |
| M. | Vincent | DI MARTINO | HÉPATOLOGIE |
| M. | Didier | DUCLoux | NÉPHROLOGIE |
| M. | Gilles | DUMOULIN | PHYSIOLOGIE |
| M. | Dominique | FELLMANN | CYTOLOGIE ET HISTOLOGIE |
| M. | Jean-Paul | FEUGEAS | BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE |
| M | Patrick | GARBUIO | CHIRURGIE ORTHOPÉDIQUE ET TRAUMATOLOGIQUE |
| M. | Emmanuel | HAFFEN | PSYCHIATRIE D'ADULTES |

| | | | |
|-----|--------------|-----------------------|--|
| M. | Georges | HERBEIN | VIROLOGIE |
| M. | Bruno | HEYD | CHIRURGIE GÉNÉRALE |
| M. | Didier | HOCQUET | HYGIÈNE HOSPITALIÈRE |
| M. | Philippe | HUMBERT | DERMATO- VÉNÉRÉOLOGIE |
| M | François | KLEINCLAUSS | UROLOGIE |
| Mme | Nadine | MAGY-BERTRAND | MÉDECINE INTERNE |
| M. | Frédéric | MAUNY | BIostatistiques, INFORMATIQUE MÉDICALE ET TECHNOLOGIE DE COMMUNICATION |
| M. | Nicolas | MENEVEAU | CARDIOLOGIE |
| M. | Christophe | MEYER | CHIRURGIE MAXILLO FACIALE ET STOMATOLOGIE |
| Mme | Laurence | MILLON | PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE |
| Mme | Elisabeth | MONNET | EPIDÉMIOLOGIE, ECONOMIE DE LA SANTÉ ET PRÉVENTION |
| Mme | Christiane | MOUGIN | BIOLOGIE CELLULAIRE |
| M. | Thierry | MOULIN | NEUROLOGIE |
| Mme | Sylvie | NEZELOF | PÉDOPSYCHIATRIE |
| M | Laurent | OBERT | CHIRURGIE ORTHOPÉDIQUE ET TRAUMATOLOGIQUE |
| M. | Bernard | PARRATTE | ANATOMIE |
| M. | Julien | PAUCHOT | CHIRURGIE PLASTIQUE, RECONSTRUCTRICE ET ESTHÉTIQUE |
| M. | Sébastien | PILI-FLOURY | ANESTHÉSIOLOGIE RÉANIMATION |
| M. | Xavier | PIVOT | CANCÉROLOGIE |
| M. | Patrick | PLESIAT | BACTÉRIOLOGIE - VIROLOGIE |
| M | Jean-Luc | PRETET | BIOLOGIE CELLULAIRE |
| M. | Rajeev | RAMANAH | GYNÉCOLOGIE - OBSTÉTRIQUE |
| M. | Jacques | REGNARD | PHYSIOLOGIE |
| M | Didier | RIETHMULLER | GYNÉCOLOGIE - OBSTÉTRIQUE |
| M. | Simon | RINCKENBACH | CHIRURGIE VASCULAIRE |
| M. | Christophe | ROUX | BIOLOGIE ET MÉDECINE DU DÉVELOPPEMENT ET DE LA REPRODUCTION |
| M. | Maher | SALEH | OPHTALMOLOGIE |
| M | Emmanuel | SAMAIN | ANESTHÉSIOLOGIE RÉANIMATION |
| M. | François | SCHIELE | CARDIOLOGIE |
| M. | Daniel | SECHTER | PSYCHIATRIE D'ADULTES |
| Mme | Marie-France | SERONDE | CARDIOLOGIE |
| M | Laurent | TATU | ANATOMIE |
| M. | Laurent | TAVERNIER | OTO-RHINO-LARYNGOLOGIE |
| M. | Thierry | THEVENOT | HÉPATOLOGIE |
| M. | Laurent | THINES | NEUROCHIRURGIE |
| M. | Gérard | THIRIEZ | PÉDIATRIE |
| M. | Pierre | TIBERGHIE | IMMUNOLOGIE |
| M. | Eric | TOUSSIROT | THÉRAPEUTIQUE |
| M. | Antoine | TRACQUI | MÉDECINE LÉGALE ET DROIT DE LA SANTÉ |
| Mme | Séverine | VALMARY-DEGANO | ANATOMIE ET CYTOLOGIE PATHOLOGIQUES |
| M. | Pierre | VANDEL | PSYCHIATRIE D'ADULTES |
| M. | Lionel | VAN MALDERGEM | GÉNÉTIQUE |
| Mme | Rachel | VIEUX | PÉDIATRIE |
| M. | Fabrice | VUILLIER | ANATOMIE |
| M. | Daniel | WENDLING | RHUMATOLOGIE |
| Mme | Virginie | WESTEEL-KAULEK | PNEUMOLOGIE |

PROFESSEURS EMÉRITES

| | | | |
|----|---------------|-----------------|--|
| M. | Paul | BIZOUARD | PÉDOPSYCHIATRIE |
| M. | Jean-François | BOSSET | RADIOTHÉRAPIE |
| M. | Jean-Claude | CHOBAUT | O.R.L. |
| M. | Robert | MAILLET | GYNÉCOLOGIE - OBSTÉTRIQUE |
| M. | Georges | MANTION | CHIRURGIE GÉNÉRALE |
| M. | Yves | TROPET | CHIRURGIE PLASTIQUE, RECONSTRUCTRICE ET ESTHÉTIQUE |

MAITRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS – PRATICIENS HOSPITALIERS

| | | | |
|-----|--------------|-------------------------|--|
| Mme | Clotilde | AMIOT | CYTOLOGIE ET HISTOLOGIE |
| M. | Sébastien | AUBRY | RADIOLOGIE ET IMAGERIE MÉDICALE |
| M. | Jamal | BAMOULID | IMMUNOLOGIE |
| Mme | Anne-Pauline | BELLANGER | PARASITOLOGIE |
| Mme | Djamila | BENNABI | PSYCHIATRIE d'ADULTES |
| Mme | Sophie | BOROT | ENDOCRINOLOGIE, DIABÈTE ET MALADIES MÉTABOLIQUES |
| Mme | Malika | BOUHADDI | PHYSIOLOGIE |
| M. | Alain | COAQUETTE | VIROLOGIE |
| Mme | Elsa | CURTIT | CANCÉROLOGIE |
| M. | Benoît | CYPRIANI | BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE |
| M. | Pierre | DECAVEL | MÉDECINE PHYSIQUE ET DE RÉADAPTATION |
| Mme | Katy | JEANNOT | BACTÉRIOLOGIE - VIROLOGIE |
| M. | Daniel | LEPAGE | ANATOMIE |
| M. | Eloi | MAGNIN | NEUROLOGIE |
| Mme | Elisabeth | MEDEIROS | NEUROLOGIE |
| M. | Christian | MOUSSARD | BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE |
| M | Patrice | MURET | PHARMACOLOGIE CLINIQUE |
| M. | Fabien | PELLETIER | DERMATO-VÉNÉRÉOLOGIE |
| M. | Gaël | PITON | RÉANIMATION |
| Mme | Anaïs | POTRON | BACTÉRIOLOGIE - VIROLOGIE |
| M. | Clément | PRATI | RHUMATOLOGIE |
| Mme | Evelyne | RACADOT | HÉMATOLOGIE |
| M. | Antoine | THIERY-VUILLEMIN | CANCÉROLOGIE |
| M. | Jean-Pierre | WOLF-BERTHELAY | PHYSIOLOGIE |

ENSEIGNANTS ASSOCIÉS

| | | | |
|----|---------------|---------------|-------------------------------|
| M. | Régis | AUBRY | PR associé THÉRAPEUTIQUE |
| M. | Rémi | BARDET | PR associé MÉDECINE GÉNÉRALE |
| M. | François | DUMEL | PR associé MÉDECINE GÉNÉRALE |
| M. | Jean-Michel | PERROT | PR associé MÉDECINE GÉNÉRALE |
| M. | Benoit | DINET | MCF associé MÉDECINE GÉNÉRALE |
| M. | Pascal | JORDAN | MCF associé MÉDECINE GÉNÉRALE |
| M. | Thierry | LEPETZ | MCF associé MÉDECINE GÉNÉRALE |
| M. | José-Philippe | MORENO | MCF associé MÉDECINE GÉNÉRALE |

PHARMACIE

PROFESSEURS

| | | | |
|-----|-----------------|------------------------|-----------------------------------|
| M. | Xavier | BERTRAND | MICROBIOLOGIE - INFECTIOLOGIE |
| M. | Franck | BONNETAIN | BIostatISTIQUES |
| Mme | Céline | DEMOUGEOT | PHARMACOLOGIE |
| Mme | Francine | GARNACHE-OTTOU | HÉMATOLOGIE |
| Mme | Corine | GIRARD-THERNIER | PHARMACOGNOSIE |
| M. | Frédéric | GRENOUILLET | PARASITOLOGIE-MYCOLOGIE |
| M. | Yves | GUILLAUME | CHIMIE ANALYTIQUE |
| M. | Samuel | LIMAT | PHARMACIE CLINIQUE |
| M. | Dominique | MEILLET | PARASITOLOGIE – MYCOLOGIE |
| Mme | Laurence | NICOD | BIOLOGIE CELLULAIRE |
| M. | Bernard | REFOUVELET | CHIMIE ORGANIQUE ET THERAPEUTIQUE |
| Mme | Lysiane | RICHERT | TOXICOLOGIE |
| M. | Philippe | SAAS | IMMUNOLOGIE |
| Mme | Estelle | SEILLES | IMMUNOLOGIE |
| Mme | Marie-Christine | WORONOFF-LEMSI | PHARMACIE CLINIQUE |

PROFESSEURS EMÉRITES

| | | | |
|-----|-----------|------------------|-------------------------------------|
| M. | Alain | BERTHELOT | PHYSIOLOGIE |
| Mme | Françoise | BÉVALOT | PHARMACOGNOSIE |
| Mme | Mariette | MERCIER | BIOMATHÉMATIQUES ET BIostatISTIQUES |

MAITRES DE CONFÉRENCES

| | | | |
|-----|--------------|-----------------------|-------------------------------------|
| Mme | Claire | ANDRE | CHIMIE ANALYTIQUE |
| Mme | Aurélié | BAGUET | BIOCHIMIE |
| M. | Arnaud | BEDUNEAU | PHARMACIE GALÉNIQUE |
| M. | Laurent | BERMONT | BIOCHIMIE |
| M. | Oleg | BLAGOSKLONOV | BIOPHYSIQUE ET IMAGERIE MÉDICALE |
| Mme | Oxana | BLAGOSKLONOV | GÉNÉTIQUE |
| M. | Eric | CAVALLI | CHIMIE PHYSIQUE ET MINÉRALE |
| M. | Jean-Patrick | DASPET | BIOPHYSIQUE |
| Mme | Sylvie | DEVAUX | PHYSIOLOGIE |
| M. | Yann | GODET | IMMUNOLOGIE |
| M. | Lhassane | ISMAILI | CHIMIE ORGANIQUE |
| Mme | Isabelle | LASCOMBE | BIOCHIMIE / ISIFC |
| Mme | Carole | MIGUET ALFONSI | TOXICOLOGIE |
| M. | Johnny | MORETTO | PHYSIOLOGIE |
| M. | Frédéric | MUYARD | PHARMACOGNOSIE |
| Mme | Virginie | NERICH | PHARMACIE CLINIQUE |
| M. | Yann | PELLEQUER | PHARMACIE GALÉNIQUE |
| M. | Marc | PUDLO | CHIMIE THÉRAPEUTIQUE |
| Mme | Nathalie | RUDE | BIOMATHÉMATIQUES ET BIostatISTIQUES |
| Mme | Perle | TOTOSON | PHARMACOLOGIE |

AUTRES ENSEIGNANTS

| | | | |
|-----|----------|--------------------|--------------------------------------|
| Mme | Lucie | BERNARD | PRAG ANGLAIS |
| Mme | Mylène | COSTER | PAST ANGLAIS |
| M. | Alain | DEVEVEY | MAITRE DE CONFERENCES EN PSYCHOLOGIE |
| Mme | Clémence | POROT | MCF ASSOCIE EN BIOPHYSIQUE |
| Mme | Florence | VAN LANDUYT | PAST PHARMACIE CLINIQUE – OFFICINE |

SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence des Maîtres de la Faculté et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruite dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couverte d'opprobre et méprisée de mes confrères si j'y manque.

REMERCIEMENTS

A mon Président et Directeur de thèse,

Monsieur Dominique MEILLET,
Professeur des Universités,

Pour m'avoir fait l'honneur de diriger et de présider cette thèse,
Pour vos corrections et l'intérêt que vous avez témoigné pour ce travail,
Veuillez trouver ici l'expression de mon plus profond respect,
Sincères remerciements.

A mon Directeur de thèse,

Monsieur Jean-Marc MOINGEON,
Docteur en Pharmacie,
Chargé d'enseignement,

Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de diriger et de juger ce travail,
Pour m'avoir guidée et conseillée dans l'élaboration de cette thèse,
Pour votre disponibilité,
Veuillez trouver ici,
L'expression de mes remerciements les plus sincères.

Au membre du jury de ma thèse,

Madame Marine BRESSON,
Docteur en Pharmacie,

Je te remercie sincèrement d'avoir accepté de juger mon travail,
Pour toutes les belles années passées et à venir,
Pour ton amitié sans faille et ton soutien quoi qu'il arrive,
Merci pour tout.

A la Fédération Mycologique de l'Est et ses membres,

Je remercie les membres de la Fédération Mycologique de l'Est d'avoir mis à disposition leurs différentes connaissances sur la région Franche-Comté et sur les morilles en particulier.

Je remercie particulièrement Monsieur Daniel SUGNY pour m'avoir permis de publier ses
cartographies.

Je remercie aussi Monsieur Gilbert MOYNE de m'avoir fait partager ses connaissances.

Je tiens à remercier également Monsieur Philippe Clowez pour m'avoir transmis de
nombreux documents.

A ma famille,

A mes parents,

Je vous remercie pour m'avoir toujours soutenue durant ces années,
Pour m'avoir permis de faire des études,
Et tout simplement pour tout ce que vous faites pour moi.

A toi, Steven,

Merci pour ton soutien et ta patience durant ce travail,
Et tout simplement d'être là.

A ma sœur et à mon frère,

Merci pour vos encouragements durant mes études,
Et d'avoir fait de moi « la plus heureuse des tatas ».

A mes amis,

A vous, Manu, Hélène, Eva,

Merci pour votre soutien,
Et pour tous les bons moments passés ensemble.

A l'ensemble de l'équipe de la Pharmacie Pourcelot,

Merci de m'avoir accompagnée tout au long de mes études,
Et pour la confiance que vous m'accordez.

LISTE DES ABREVIATIONS

ABTS : Acide 2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique)

ADN : Acide désoxyribonucléique

ALAT : Alanine-aminotransfèreuse

ALP : *Alkaline phosphatase* (Phosphatase alcaline)

ASAT : Aspartate-aminotransfèreuse

BHA : Hydroxyanisole butylé

BHT : Hydroxytoluène butylé

CAP : Centre Anti-Poison

CAPTIV : Centre Antipoison et de Toxicovigilance

CAT : Catalase

CCl₄ : Tétrachlorure de carbone

cm : Centimètre

DLA : *Cell-lined induced solid tumour*

DPPH : 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl

EAC : *Ehrlich's ascites carcinoma*

EPS : Exopolysaccharide

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

g : Gramme

GAE : Equivalent en acide gallique

GGT : Gamma-glutamyl transfèreuse

GSH : Glutathion

GSH-Px : Gutathion peroxydase

GST : Gutathion-S-transfèrase

INRA : Institut National de la Recherche Agronomique

InVS : Institut de Veille Sanitaire

IRSTEA : Institut de Recherche en Sciences et Technologies pour l'Environnement et l'Agriculture

ITS : *Internal Transcribed Spacer* (Espaceur interne transcrit)

kg : Kilogramme

m : Mètre

MDA : Malondialdéhyde

mg : Milligramme

mL : Millilitre

mm : Millimètre

mM : Millimolaire

NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

nm : Nanomètre

nmol : Nanomôle

QEs : Equivalent en quercetine

SOD : Superoxyde dismutase

TBARS : *Thiobarbithuric acid reactive substances* (Substances réagissant avec l'acide thiobarbithurique)

TEAC : *Trolox equivalent antioxidant capacity*

µg : Microgramme

µm : Micromètre

LEXIQUE

Alluvial : constitué par des dépôts de sédiments abandonnés par un cours d'eau.

Ampullacé : en forme d'ampoule. Ce terme est souvent utilisé pour désigner des éléments présentant un renflement à leur extrémité.

Ascitique : qui se rapporte à l'ascite, un épanchement liquidien anormal dans la cavité péritonéale.

Ascome : terme désignant le sporophore des Ascomycètes.

Capité : terme s'utilisant pour désigner un élément dont l'extrémité est dilatée en tête arrondie.

Concolore : de couleur identique.

Fasciculé : terme utilisé pour désigner les champignons reliés par la base du pied et poussant en touffe.

Flexueux : ondulé, sinueux.

Fulgineux : de couleur grisâtre, de suie.

Furfuration/furfuracé : petites pellicules

Gangue : matière sans valeur.

Hyalin : homogène et translucide, qui rappelle l'aspect du verre.

Hyméniforme : couche cellulaire construite tel un hyménium (Accotement de cellules positionnées perpendiculairement à la surface).

Hyphe : cellules constituant le champignon.

Limoneux : s'utilise pour décrire un sol très fertile.

Mycélium : partie végétative du champignon.

Sphérocyte : cellule globuleuse.

Sporophore : appareil portant les spores chez les champignons supérieurs.

Stipité : dont le chapeau est porté par un pied (Stipe).

LISTE DES TABLEAUX

| | |
|---|-----|
| Tableau 1 : Eléments distinctifs entre <i>Abies alba</i> et <i>Picea abies</i> (Moingeon, 2010) | 21 |
| Tableau 2 : Associations végétales retrouvées pour certaines espèces de morilles (Clowez, 2012 ; Clowez, 2013 ; Caillet, Moyne, 1984-85 ; Keirn, 2016 ; Permoforêt, 2014) | 21 |
| Tableau 3 : Tableau récapitulatif des espèces citées dans la thèse | 104 |
| Tableau 4 : Caractéristiques distinctives des morilles et de gyromitres | 121 |
| Tableau 5 : Effet de l'extrait de mycélium de <i>M. esculenta</i> sur l'augmentation de la durée de vie des animaux porteurs de tumeurs ascitiques (Nitha, 2007) | 131 |
| Tableau 6 : Effet de l'extrait de mycélium de <i>M. esculenta</i> sur les tumeurs solides (Effet préventif) (Nitha, 2007) | 131 |
| Tableau 7 : Effet de l'extrait de mycélium de <i>M. esculenta</i> sur les tumeurs solides (Effet curatif) (Nitha, 2007) | 132 |
| Tableau 8 : Activité anti-oxydante des extraits de <i>M. esculenta</i> du Portugal (SP) et de Serbie (SS) (Heleno, 2012)..... | 146 |
| Tableau 9 : Activité antibactérienne d'extraits de <i>M. esculenta</i> du Portugal (SP) et de Serbie (SS) (Heleno, 2012)..... | 149 |
| Tableau 10 : Concentration des enzymes hépatiques suite à l'administration de CCL ₄ et d'éthanol (Nitha, 2013)..... | 155 |
| Tableau 11 : Concentrations des enzymes hépatiques suite à l'administration de CCL ₄ et d'éthanol chez les animaux traités par un extrait de mycélium de <i>M. esculenta</i> (Nitha, 2013)..... | 155 |

LISTE DES FIGURES

| | |
|--|----|
| Figure 1 : Les différentes formes d'apothécie (Bouchet, 2005)..... | 10 |
| Figure 2 : Hyménium d'un ascomycète : coupe colorée dans l'assise hyméniale d'une Morille montrant les asques et les ascospores (Raven, 2014)..... | 11 |
| Figure 3 : Hyménium en cuvette d'une Morille (24) et détail de l'hyménium d'un Ascomycète (25) (Roland, 2008)..... | 11 |
| Figure 4 : Représentation du cycle de vie de la Morille (Volk, 1990)..... | 13 |
| Figure 5 : Planche de <i>Fraxinus excelsior</i> L. (Masclef, 1891)..... | 19 |
| Figure 6 : Evolution de la situation de <i>Chalara fraxinea</i> en France (DSF, 2016)..... | 23 |
| Figure 7 : Cycle biologique de la graphiose de l'orme (Nierhaus-Wunderwald, 1999)..... | 26 |
| Figure 8 : Distribution géographique des <i>Morchella</i> d'Europe et d'Amérique du Nord (Richard, 2015)..... | 38 |
| Figure 9 : <i>Morchella esculenta</i> (L. : Fr.) Pers. – Goux-les-Usiers (Doubs-France) (Photographie personnelle, 2016)..... | 41 |
| Figure 10 : <i>Morchella americana</i> Clowez et C. Matherly - Haut-Rhin (France) sous <i>Populus</i> hybrides - Leg Jean-Luc Muller (Moingeon, 2015)..... | 41 |
| Figure 11 : <i>Morchella esculenta</i> var. <i>umbrinoides</i> Clowez - Territoire de Belfort (France) - Leg Jean-Pierre Chevrollet (Moingeon, 2011)..... | 49 |
| Figure 12 : Illustration de <i>Morchella umbrina</i> Boudier (Eléments issus de la planche d'André Bride, 1957) (Moynes, 2016)..... | 51 |
| Figure 13 : <i>Morchella steppicola</i> Zerova - Vâl (Féjer-Hongrie) (Moingeon, 2015)..... | 53 |
| Figure 14 : <i>Morchella vulgaris</i> (Pers. : Fr.) Gray - Goux-les-Usiers (Doubs-France) sous sapins et épicéas (Moingeon, 2016)..... | 56 |
| Figure 15 : <i>Morchella vulgaris</i> var. <i>aucupariae</i> Clowez et Moingeon - Métabief (Doubs-France) - <i>Locus classicus</i> sous <i>Sorbus aucuparia</i> (Moingeon, 1992)..... | 61 |
| Figure 16 : <i>Morchella hetieri</i> Boud. Planche originale de Boudier (1903)..... | 63 |

| | |
|---|-----|
| Figure 17 : <i>Morchella deliciosa</i> Fr : Fr – Bonnevaux (Doubs-France)(Photographie personnelle, 2016)..... | 65 |
| Figure 18 : <i>Morchella deliciosa</i> Fr. : Fr. - Doubs (France) (Moingeon, 2008)..... | 65 |
| Figure 19 : <i>Morchella conica</i> var. <i>nigra</i> Clowez et Moyne - Bonnevaux (Doubs-France) - <i>Locus classicus</i> sous <i>Abies alba</i> (Moingeon, 2008)..... | 68 |
| Figure 20 : <i>Morchella dunalii</i> Boud. - Chypre (Moingeon, 1996)..... | 71 |
| Figure 21 : <i>Morchella eximia</i> Boud. - Planche originale de Boudier (Boudier, 1909)..... | 74 |
| Figure 22 : <i>Morchella importuna</i> Kuo, O'Donnell et Volk - Villeneuve d'Amont (Doubs-France) (Moingeon, 2011)..... | 76 |
| Figure 23 : <i>Morchella purpurascens</i> (Boud.) Jacquet. - Doubs (France) (Moingeon, 2009).. | 80 |
| Figure 24 : <i>Morchella semilibera</i> (DC. : Fr.) Quel.- Villeneuve d'Amont (Doubs-France)(Photographies personnelles, 2016)..... | 83 |
| Figure 25 : <i>Morchella tridentina</i> Bres. – Signes (Var-France) (Moingeon, 2009)..... | 86 |
| Figure 26 : <i>Disciotis venosa</i> (Pers.) Boudier – Goux-les-Usiers (Doubs-France) (Photographies personnelles, 2016)..... | 93 |
| Figure 27 : <i>Verpa conica</i> (Müll. : Fr.) Swartz – Villeneuve d'Amont (Doubs-France) (Photographies personnelles, 2016)..... | 95 |
| Figure 28 : <i>Verpa pusilla</i> Quélet - Pontarlier (Doubs-France) (Moingeon, 2004)..... | 98 |
| Figure 29 : <i>Ptychoverpa bohémica</i> (Krombh.) Boud. - Valempoulières (Jura-France), <i>leg.</i> Pascal Collin (Moingeon, 2011)..... | 100 |
| Figure 30 : Les syndromes d'intoxication par les champignons (Classiques en gris et nouveaux en noir) (Saviuc, 2009)..... | 113 |
| Figure 31 : <i>Gyromitra esculenta</i> (Pers. : Fr.) Fr. - Lorraine (France) - <i>leg.</i> Albert Grobelny (Moingeon, 2010)..... | 119 |
| Figure 32 : <i>Gyromitra gigas</i> (Krombh.) Quélet - Mouthe (Doubs-France) (Moingeon, 2008)..... | 119 |

| | |
|--|-----|
| Figure 33 : Effet de l'extrait de mycélium de <i>M. esculenta</i> sur (a) l'inflammation aiguë induite par le carraghénane (b) l'inflammation aiguë induite par le dextrane (c) l'inflammation chronique induite par la formaline (Nitha, 2007) | 129 |
| Figure 34 : Bio-activité des polysaccharides de <i>M. crassipes</i> (He, 2012) | 151 |
| Figure 35 : Effet de l'extrait de mycélium de <i>M. esculenta</i> sur les fonctions hépatiques chez des animaux ayant reçu des doses chroniques de CCL ₄ et d'éthanol (Nitha, 2013)..... | 155 |

SOMMAIRE

| | |
|--|------------|
| INTRODUCTION GENERALE..... | 1 |
| | |
| PARTIE 1 : BIOLOGIE DES MORILLES | 5 |
| | |
| Introduction | 7 |
| 1. Positionnement des <i>Morchellaceae</i> dans le règne fongique..... | 7 |
| 2. Cycle de vie des <i>Morchellaceae</i> | 9 |
| 3. Ecologie des morilles | 15 |
| 4. Culture des morilles | 28 |
| 5. Classification des morilles..... | 30 |
| Conclusion | 34 |
| | |
| PARTIE 2 : MORILLES PRESENTES EN FRANCHE-COMTE..... | 35 |
| | |
| Introduction | 37 |
| 1. Monographies | 37 |
| 1.1. Genre <i>Morchella</i> | 37 |
| 1.2. Genre <i>Mitrophora</i> | 90 |
| 1.3. Genre <i>Disciotis</i> | 91 |
| 1.4. Genre <i>Verpa</i> | 94 |
| 1.5. Genre <i>Ptychoverpa</i> | 97 |
| Conclusion | 102 |
| | |
| PARTIE 3 : INTOXICATION PAR LES MORILLES | 109 |
| | |
| Introduction & Généralités | 111 |
| 1. Données épidémiologiques..... | 111 |
| 2. Les différents syndromes..... | 112 |
| 3. Mesures de prévention et conseils à l'officine..... | 123 |
| Conclusion | 124 |

| | |
|--|-----|
| PARTIE 4 : PROPRIETES THERAPEUTIQUES DES MORILLES..... | 125 |
|--|-----|

| | |
|---------------------------|------------|
| Introduction | 127 |
|---------------------------|------------|

| | |
|---------------------------------|-----|
| 1. Revue de la littérature..... | 127 |
|---------------------------------|-----|

| | |
|---------------------|-----|
| 2. Conclusion | 156 |
|---------------------|-----|

| | |
|---------------------------|-----|
| CONCLUSION GENERALE | 159 |
|---------------------------|-----|

| | |
|---------------------|-----|
| BIBLIOGRAPHIE | 163 |
|---------------------|-----|

| | |
|--------------|-----|
| ANNEXES..... | 185 |
|--------------|-----|

| | |
|-------------------------|-----|
| TABLE DES MATIERES..... | 197 |
|-------------------------|-----|

PERMIS D'IMPRIMER

RESUME

INTRODUCTION GENERALE

Dans le monde fascinant des champignons, les morilles occupent une place de choix. En effet, elles sont très prisées des amateurs comme des fins connaisseurs en raison de leur goût délicat et inimitable dégageant un subtil parfum de noisette.

En Franche-Comté, elles occupent une place importante dans la gastronomie locale et sont très recherchées. La cueillette des morilles est ancrée dans le patrimoine culturel et sa recherche se transforme en une véritable chasse.

En effet, les « morilleurs » représentent l'élite des chasseurs de champignons et ils usent de stratagèmes divers pour garder leurs places à morilles secrètes. Il est vrai que ce champignon sait se faire discret parmi la mousse, les feuilles et les branchages. Seul un œil aguerrri, une parfaite connaissance de son écologie, et une très grande patience peuvent aboutir à une récolte fructueuse.

La Morille fait preuve d'une grande adaptabilité et réussit encore à surprendre les mycologues les plus chevronnés. Chaque année, les recherches permettent d'en découvrir un peu plus sur ce genre mystérieux. En effet, les connaissances s'enrichissent avec l'apparition de nouvelles données sur leurs conditions d'apparition, sur leurs classifications et leurs diverses propriétés thérapeutiques. Il semblerait même que la mise en culture des morilles commence à porter ses fruits en France. Cela ne remplacera pas la satisfaction occasionnée lors de la découverte de ce précieux champignon en pleine nature, mais ceci représente une réelle avancée technique et un fort enjeu économique.

Ainsi, dans ce travail, nous avons tenté de mieux comprendre ces champignons très populaires.

Dans un premier temps, nous abordons la biologie des *Morchellaceae* en évoquant d'abord leur cycle de reproduction et les stratégies écologiques auxquelles les morilles peuvent avoir recours. De plus, nous évoquons leur écologie afin de déterminer leurs conditions d'apparition préférentielles. Ensuite, après un point sur l'arrivée de la culture des morilles en France, nous nous intéressons à leur classification qui a subi récemment de grands bouleversements.

Puis, nous envisageons la description monographique des différentes espèces présentes, ou susceptibles de l'être, en Franche-Comté.

Dans une troisième partie est abordée la toxicité des morilles. En effet, ces savoureux champignons comestibles peuvent engendrer des intoxications dans certaines conditions.

Enfin, nous réalisons la synthèse de plusieurs études récentes sur les potentielles propriétés thérapeutiques de ces champignons qui s'avèrent peut-être prometteuses pour l'avenir.

PARTIE 1 : BIOLOGIE DES MORILLES

Introduction

Cette première partie permet d'aborder quelques généralités sur la famille des *Morchellaceae*. Après avoir redéfini la position de cette famille au sein du règne fongique, nous aborderons plusieurs points concernant la biologie des espèces qui en font partie, notamment leur cycle de reproduction, et leurs écologies en tentant de cerner au mieux leurs biotopes. Enfin, nous évoquerons la classification qui a été récemment bouleversée par l'utilisation des nouvelles techniques moléculaires.

1. Positionnement des *Morchellaceae* dans le règne fongique

Dans la classification du monde vivant, les champignons disposent d'un règne à part entière, le règne fongique, du latin *fungus* qui signifie champignon. En effet, ils présentent un mode de vie particulier qui les différencie des végétaux et des animaux et se définissent par plusieurs éléments caractéristiques (Raven, 2014).

D'abord, ce sont des organismes eucaryotes car effectivement, leurs cellules disposent d'un ou plusieurs noyaux bien individualisés (Lecomte, 2016).

Les champignons ne possèdent pas de chlorophylle et sont incapables de réaliser la photosynthèse (Carret, 2009). Ce sont des organismes hétérotrophes vis-à-vis du carbone. Ils absorbent les nutriments nécessaires à leur croissance en réalisant une digestion extracellulaire des molécules complexes par l'intermédiaire d'enzymes (Raven, 2014).

De plus, ils ne possèdent pas de tige, de racine ni de feuilles (Brulez, 2010). Ce sont des organismes thallophytes. Ils affichent un appareil végétatif ramifié, constitué de filaments (Lecomte, 2016). Ces filaments fongiques, cloisonnés chez les champignons supérieurs, appelés hyphes, forment un réseau complexe qui constitue le mycélium (Guinberteau, 2016). Le mycélium représente la partie souterraine invisible et la plus importante du champignon, il représente 99 % du poids total du champignon (ONF, 2016). Il permet la croissance de l'organisme fongique en assurant l'absorption des nutriments et la sécrétion d'enzymes. La fructification du mycélium donne naissance

à l'organe reproducteur, nommé sporophore ou carpophore. Il représente la seule partie visible et c'est ce qui est appelé « champignon » dans le langage courant.

Les champignons sont aussi cryptogames, car ils se reproduisent par l'intermédiaire de spores (Lecomte, 2016). Celles-ci naissent des organes reproducteurs présents sur la partie fertile du sporophore, l'hyménium. Elles sont invisibles à l'œil nu même si leur couleur peut parfois être définie dans le cas de quantité importante. Leur étude microscopique peut apporter un élément supplémentaire pour la distinction des différentes espèces.

Enfin, la paroi cellulaire des champignons se compose principalement de chitine, et non de cellulose comme chez les plantes. Cet élément est retrouvé aussi dans les écailles ou l'exosquelette de certains arthropodes (Raven, 2014). Sa grande résistance permet d'assurer un rôle de protection vis-à-vis de l'environnement.

L'ensemble de ces caractères permettent de définir ce qu'est un champignon au sens large. Nous allons voir plus précisément la place des *Morchellaceae* au sein du règne fongique.

Les *Morchellaceae* appartiennent à l'embranchement des *Ascomycota* ou Ascomycètes. Celui-ci est le plus conséquent avec environ les deux-tiers des espèces de champignons décrites (ESIAB, 2016). Ce groupe est caractérisé par une importante diversité des appareils sporifères qui peuvent présenter une taille et une forme variable (Joly, 2016) et par des spores de reproduction sexuée produites à l'intérieur de petits sacs, nommés asques (Clowez, 2010).

Parmi les ascomycètes, les *Morchellaceae* font partie du sous-embranchement des *Pezizomycotina*. Ce groupe comporte 90 % des ascomycètes connus (Clowez, 2010). Leurs mycéliums sont composés d'hyphes cloisonnés, c'est-à-dire séparés par des septums. Chez les hyphes en extension, ces cloisons possèdent des pores permettant le passage des organites. Dans ce groupe, les pores sont simples et régulés par des corps de Woronin qui possèdent la capacité de bloquer le passage de certaines molécules.

Enfin, les *Morchellaceae* dépendent de la classe des Pézizomycètes qui est constitué d'un seul et unique ordre, les Pézizales. S'y trouve la plupart des ascomycètes visibles

à l'œil nu. Les asques, plus ou moins cylindriques, y sont operculés. En effet, leurs extrémités s'ouvrent par un opercule en forme de clapet afin de libérer les spores.

2. Cycle de vie des *Morchellaceae*

2.1. Cycle de reproduction

Les espèces de la famille des *Morchellaceae* édifient un appareil de fructification, nommé ascocarpe ou appareil sporifère, plus ou moins complexe et volumineux (Roland, 2008). Cette structure composée d'hyphes étroitement entremêlées (Raven, 2014), présente une forme très typique de coupe largement ouverte nommée apothécie (Roland, 2008). La **figure 1** illustre les différentes formes que cette apothécie peut prendre (Bouchet, 2005).

Les champignons du genre *Disciotis* sont ornés d'une apothécie encore isolée, typiquement en forme de coupe. L'ensemble des autres espèces composant la famille des *Morchellaceae* dispose d'un stipe qui se développe en un volumineux sporophore, qui porte, dans sa partie supérieure, de nombreuses cavités, les apothécies, serrées les unes contre les autres (Bouchet, 2000). Chacune d'elle est tapissée par l'hyménium, issue de la juxtaposition d'éléments mycéliens stériles, les paraphyses, et fertiles, les asques (Roland, 2008). Cette structure permet d'initier la reproduction sexuée (**Figure 2** ; Raven, 2014) (**Figure 3** ; Roland, 2008).

Chaque asque mature contient huit ascospores (Volk, 1990). L'augmentation de la pression osmotique du cytosol permet l'ouverture de l'opercule située au sommet de l'asque. Les spores sont projetées à plusieurs centimètres et ainsi dispersées dans l'atmosphère. Si les conditions environnementales demeurent favorables, il semblerait qu'elles germent en plusieurs jours et forment le mycélium primaire. A partir de celui-ci, deux alternatives seraient possibles. La principale différence réside dans le moment où se déroule la plasmogamie.

Si les conditions sont défavorables (manque d'éléments nutritifs, défaut d'humidité, températures inappropriées...), le mycélium forme un sclérote.

A : simple stroma

B : cupule sessile

C : cupule portée par un stipe

D : cupule retournée qui forme une tête hémisphérique

E : présence de plusieurs apothécies réunies sur un même stroma charnu

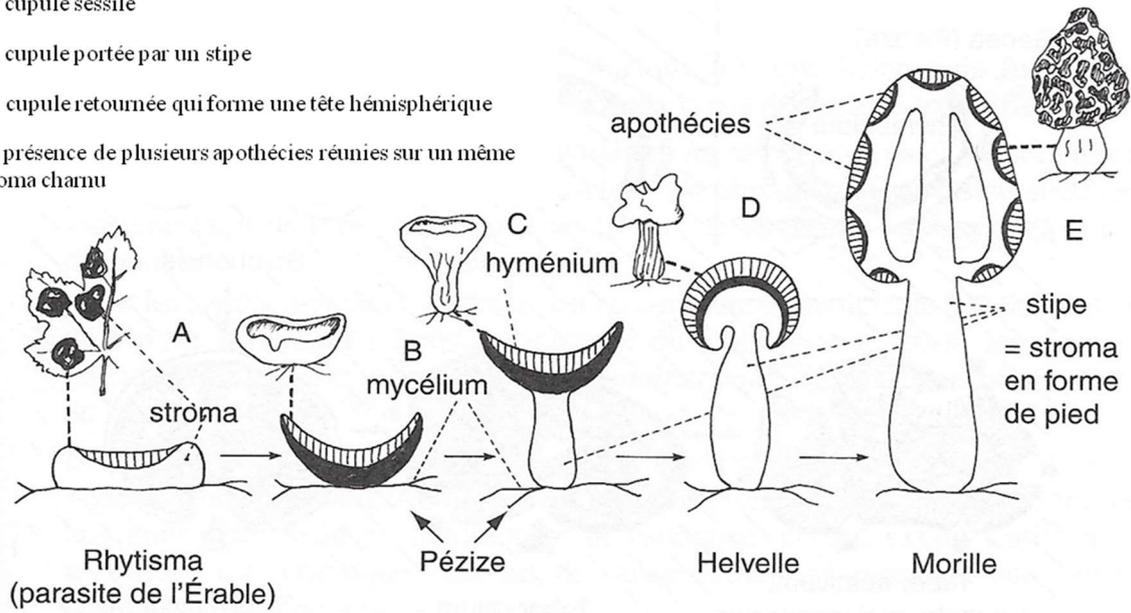


Figure 1 : Les différentes formes d'apothécie (Bouchet, 2005)

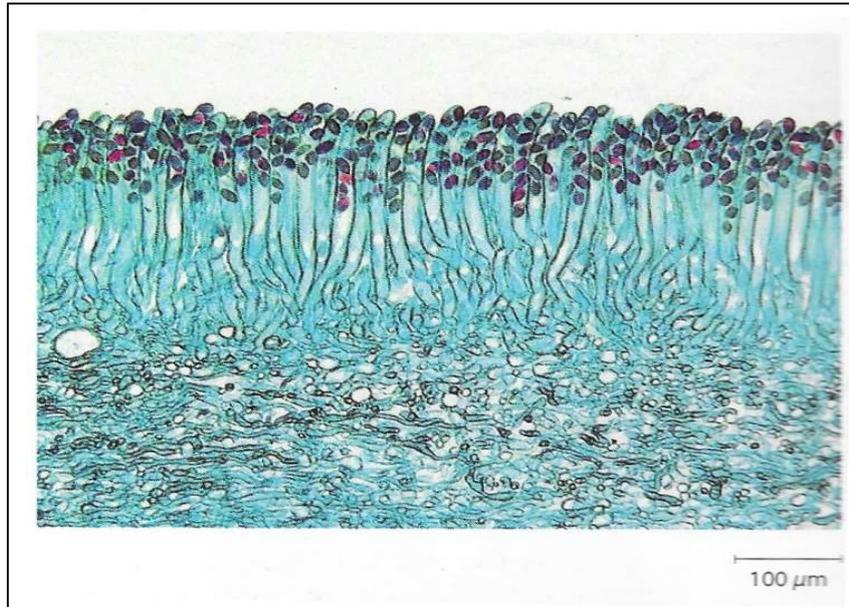
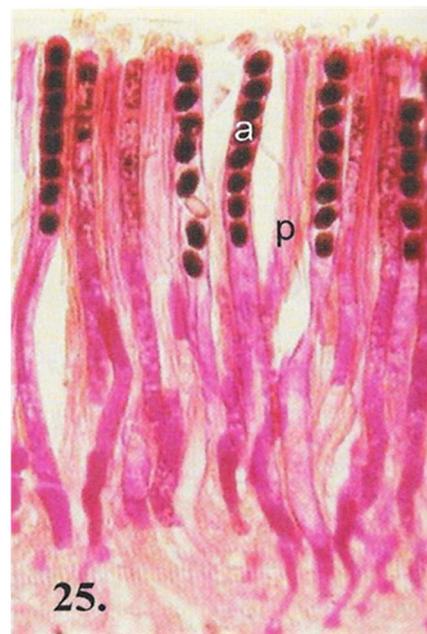


Figure 2 : Hyménium d'un ascomycète : coupe colorée dans l'assise hyméniale d'une Morille montrant les asques et les ascospores (Raven, 2014)



p : paraphyse ; a : asque (x 600)

Figure 3 : Hyménium en cuvette d'une Morille (24) et détail de l'hyménium d'un Ascomycète (25) (Roland, 2008)

Cette forme d'accumulation de réserve permet au champignon de résister à la rigueur de l'hiver (Wipf, 1994). Cette structure serait possiblement initiée par un apport de nutriments « en bloc » dans les hyphes du mycélium (Gévry, 2009). Au printemps suivant, ce sclérote germe, soit de façon carpogénique, en formant d'abord une carotte mycélienne puis le sporophore en formant des hyphes de fructification, soit de façon mycéliogénique pour produire un nouveau mycélium primaire.

En revanche, si les conditions sont favorables et si le mycélium primaire rencontre un second mycélium compatible, il y a alors formation d'un mycélium secondaire dicaryotique (Volk, 1990). Ce phénomène est appelé périttogamie ou plasmogamie. Il n'y a plus d'individus mâles ni femelles et la reproduction sexuée se limite à la rencontre de deux filaments haploïdes, issus de deux spores différentes, et dont la fusion engendre un mycélium dicaryotique (Bouchet, 2005). Ce mycélium secondaire génère aussi un sclérote. Deux options de germination s'offrent aussi à lui, avec production du carpophore ou régénérescence d'un nouveau mycélium secondaire. La **figure 4** représente le cycle précédemment expliqué (Volk, 1990).

Cependant, chez les morilles, c'est la reproduction asexuée qui semble privilégiée lorsque les conditions sont favorables (Clowez, 2010). Elle repose sur la production de spores asexuées sur les extrémités ou les côtés de certains hyphes modifiés, les conidiophores ou cellules conidiogènes (Prescott, 2004). De nombreuses vagues de conidies sont produites pendant la période de croissance (Raven, 2014). Elles possèdent un grand potentiel de propagation et constituent un important facteur de colonisation car elles sont nombreuses, rapides à produire et facile à disséminer (Clowez, 2010). De plus, elles permettent au mycélium de survivre.

2.2. Stratégies écologiques et trophismes des morilles

Les morilles peuvent se développer selon deux stratégies écologiques distinctes (Wipf, 1994).

D'une part, il existe une stratégie rudérale, aussi appelée pionnière ou colonisatrice.

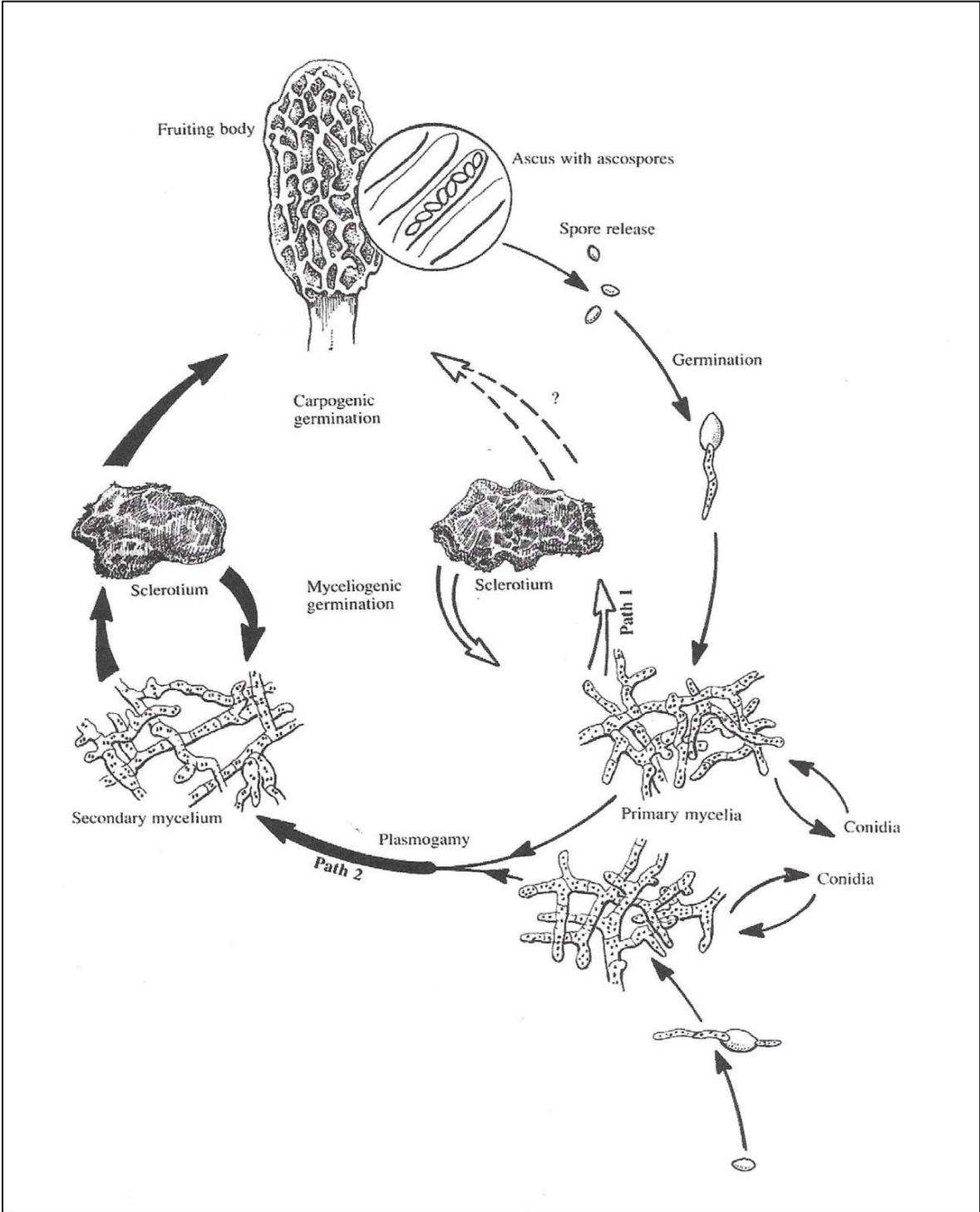


Figure 4 : Représentation du cycle de vie de la Morille (Volk, 1990)

Elle se rencontre dans des habitats perturbés, sur des sols récemment bouleversés, notamment à la suite de feux de forêts, d'éruptions volcaniques, de l'utilisation de pesticides (Wipf, 1994) ou dans des conditions plus surprenantes comme d'anciens trous d'obus, d'anciens tapis dans une maison bombardée, de vieilles rames de papier ou encore de l'huile de vidange (Estève, 1986 ; Wipf, 1997).

Ce type de stratégie aboutit à des fructifications éphémères mais abondantes, et parfois en quantité colossale (Wipf, 1994). Les morilles utilisent notamment la dissémination des spores et des conidies (forme de propagation et de résistance) pour coloniser ces nouveaux milieux. Les sporophores apparaissent plutôt au moment de la remontée des températures (Clowez, 2010).

D'autre part, il existe une stratégie pérenne qui aboutit à une fructification dans un écosystème stable (Wipf, 1992). Le mycélium s'adapte pour s'associer durablement à une essence végétale (Clowez, 2010) et ainsi produire des ascocarpes peu abondants mais pendant plusieurs années consécutives à un endroit précis (Wipf, 1992). Dans ce cas, c'est la reproduction asexuée qui est privilégiée (Clowez, 2010).

La fructification a lieu plus tôt dans la saison, au moment de la remontée de la sève, soit aux mois de février-mars.

D'après Philippe Clowez, il semblerait que les morilles puissent être soit uniquement colonisatrices, soit à la fois colonisatrices et pérennes (Clowez, 2010).

Chez les morilles exclusivement colonisatrices, le développement est autonome et uniquement saprophytique (Wipf, 1992). Le champignon se nourrit grâce à la décomposition de matières organiques issues de l'environnement et participe ainsi au recyclage de la matière organique en matière minérale. Dans cette stratégie, il est noté une préférence pour la reproduction sexuée (Clowez, 2010).

Par opposition, les morilles de stratégie pérenne et colonisatrice vont établir des liens avec certains végétaux, principalement mellifères (qui renferment des dérivés sucrés dans leur sève). Cette association durable engendre une certaine stabilité dans la localisation et ainsi, une fructification pendant plusieurs années de suite. Le cumul des deux stratégies permet aux champignons de coloniser de nouvelles stations (Stratégie colonisatrice) et de s'y installer durablement (Stratégie pérenne) (Clowez, 2010).

Le mode de nutrition dans ce cas combine le saprophytisme à un autre mode qualifié de parasitisme opportuniste. Le mycélium ne prélève à son hôte qu'une petite partie des dérivés sucrés de la sève (Clowez, 1997). Contrairement à ce qu'il est parfois décrit dans la littérature, il semblerait que les morilles ne soient pas mycorhiziques, mais elles peuvent entrer en contact avec une mycorhize d'une autre espèce déjà existante (Clowez, 2010). Une fois en contact avec le système racinaire de l'arbre, le mycélium développe un sclérote de fructification qui engendre la formation d'une carotte mycélienne, puis du sporophore (Clowez, 2013).

Dans la mise en place de ce phénomène, il est important de souligner l'intérêt des taupes et des autres animaux fouisseurs (Clowez, 2013). En effet, après des dizaines d'années d'observations, il a mis en évidence le passage souvent systématique des galeries de taupe sous les ascomes de Morille (Clowez, 2013), dans minimum 80 % des cas dans ses stations de *M. vulgaris* (Clowez, 1997). Lors de leur passage, les taupes blessent le système racinaire des arbres qui libère ainsi certains dérivés glucosés. D'une part, les conidies transportées par l'intermédiaire des poils de l'animal peuvent entrer en contact avec les racines blessées. D'autre part, le passage de la taupe permet le développement du mycélium primaire et la formation d'un sclérote de résistance au moment de la descente de la sève. Cette forme permet le passage de l'hiver, et au printemps, lors de la remontée de la sève, on observe la formation du sclérote de fructification suivie par la carotte mycélienne et finalement le sporophore (Clowez, 2013). Cette observation ouvre la porte à de nouvelles recherches concernant d'autres espèces de Morille ainsi que d'autres animaux.

3. Ecologie des morilles

3.1. Habitats et conditions préférentielles (Biotope)

Une bonne connaissance des caractéristiques du biotope des morilles est nécessaire pour avoir une chance de les trouver. En effet, il est fait souvent état de « chasse » à la morille car ce champignon nous surprend toujours et les chances de découvrir des tâches sont moindres pour des amateurs. Dans cette partie, nous avons tenté de

résumer l'ensemble des informations relatives à leurs habitats et à leurs conditions préférentielles de poussées.

Tout d'abord, elles affectionnent l'alternance de la pluie et du soleil qui confère une atmosphère plutôt humide et chaude (Clowez, 2012). Cependant, il ne doit pas y avoir d'eau stagnante (Wipf, 1997). La survenue d'orages et de giboulées (Caillet, Moyne, 1984-85), qui s'accompagne d'une diminution de la pression atmosphérique (Clowez, 2012), favorise fortement leurs venues. La notion de choc thermique est souvent notée comme facteur favorisant la poussée, avec une période de froid marquée, suivie par un réchauffement rapide (Carret, 2009). Les morilles ont besoin de fluctuations de températures comprises entre 4°C et 16°C entre la nuit et la journée (Permaforêt, 2014). De plus, ces champignons craignent le froid et la sécheresse provoquée par la bise.

Les morilles apparaissent au printemps, dès la fonte des neiges. Les périodes de fructification varient du mois de février au mois de juin, surtout en fonction de l'altitude. Vers 700-800 m d'altitude, la période la plus favorable s'étale de la mi-mars à fin avril alors qu'à une altitude plus élevée, c'est le mois de mai qui est le plus propice (Caillet, 1984-1985). Philippe Clowez en 2012 fait part d'une technique empirique qui permettrait d'estimer de manière assez fiable le jour d'apparition des morilles. Elle consiste à additionner chaque jour les températures maximales à partir du 1^{er} février. *Morchella deliciosa* et *Morchella esculenta* apparaissent dès que cette somme atteint 180°C et 280°C respectivement. Des apparitions en fin d'automne-début de l'hiver sont exceptionnelles mais possibles, après une période froide et pluvieuse (quelques récoltes de morilles distantes sont signalées en Franche-Comté entre le 20 décembre et le 10 janvier). De la même façon, quelques morilles adnées peuvent être observées en fin d'automne.

Ces champignons affectionnent tout autant les terrains pentus que les plaines quelle que soit l'orientation. Dans l'est de la France, il y a peu de morilles dans les pentes exposées au nord. Il semblerait que la plupart des morilles adnées (Section *Morchella*) privilégieraient les zones de faible à moyenne altitude et qu'au contraire les morilles de la section *Distantes* se trouveraient plutôt en haute altitude (Wipf, 1997).

La nature du sol qui les accueille doit permettre une rétention d'eau suffisante ainsi qu'un bon drainage (Wipf, 1997). Les morilles sont découvertes plutôt sur des terres sablonneuses, des sols calcaires, argilo-calcaires ou granitiques, dont le pH est neutre ou alcalin (<http://www.mycologique.com>). En revanche, elles sont rares sur des terres argilo-sableuses, argilo-limoneuses et complètement absentes sur les argiles lourdes, les limons argileux, les sols limoneux et les limons fins (Wipf, 1997). Les ressources en calcium, potassium, sels minéraux et sucres sont aussi des facteurs favorisant la venue des morilles.

Les morilles peuvent être trouvées dans divers habitats. Certains lieux sont fidèles et constants années après années mais demeurent très fragiles (Caillet, 1984-1985). C'est le cas des bordures bien exposées des forêts, des bordures de vieux prés et des chemins forestiers. Elles affectionnent particulièrement les zones broussailleuses, fournies en herbes sèches et garnies de noisetiers et de divers arbustes. Elles se développent surtout dans les bois clairs et en terrains découverts et délaissent les bois sombres (Wipf, 1997). De plus, elles affectionnent particulièrement les bordures de rivières et de cours d'eau, où l'humidité est suffisante et où poussent souvent de petits frênes (Keirn, 2010). Cependant, ces emplacements fidèles sont fragilisés et tendent à disparaître de par l'action anthropique, notamment les débardages, l'utilisation d'engrais, le salage des routes qui exercent un effet néfaste.

D'autre part, des habitats plus surprenants sont observés, principalement dans des zones récemment perturbées. Dans ce cas, les morilles sont présentes dans les une à deux premières années de façon très abondante, puis disparaissent, faute de nouveaux substrats (Caillet, 1984-1985). C'est le cas des places à feu, des forêts incendiées, des zones de stockage du bois ou de catastrophes naturelles telles que les éruptions volcaniques. Les lieux incendiés permettent un enrichissement du sol en potassium, en silice et en calcium et diminuent la compétition avec certains autres organismes fongiques ainsi que certains microorganismes, parasites ou végétaux (Permaforêt, 2014). Il est aussi possible de trouver des morilles dans d'autres circonstances tout aussi surprenantes telles que des trous d'obus, d'anciennes maisons bombardées, des os, des vieilles ramettes de papiers, au pied des panneaux publicitaires où de la colle aurait coulé, de l'huile de vidange. La prudence doit être de rigueur concernant la consommation des exemplaires ramassés. En effet, les

champignons sont des puissants bio-accumulateurs. Les individus récoltés dans des habitats pollués sont donc impropres à la consommation.

Les morilles sont fréquemment retrouvées à proximité d'autres champignons. Ces informations sont regroupées sous le terme de mycosociologie. La Pézize veinée (*Disciotis venosa*) précède souvent *Morchella vulgaris* et c'est pourquoi, elle est nommée parfois la « mère des morilles ». L'émergence des champignons a lieu dans l'ordre suivant : les pézizes, les morillons, les mousserons puis les morilles. D'autres genres ont de rares fois été observés sur des placettes à morilles, comme les helvelles (*Helvella* sp.), les truffes (*Tuber* sp.) ou les verpes (*Verpa* sp.) (Wipf, 1997).

3.2. Associations avec certaines espèces végétales

Les morilles sont retrouvées fréquemment associées à différentes espèces végétales. En fonction de la région et du climat, les associations peuvent être diverses.

Les champignons de la section *Morchella* apprécient principalement les arbres dont la sève est sucrée (Permaforêt, 2014). Ainsi, elles poussent fréquemment sous les *Oleaceae* ou sous les *Ulmaceae*, dont la sève est riche en dérivés glucosés (Clowez, 2012). L'association majoritairement observée semble être avec *Fraxinus excelsior* (Frêne). C'est pourquoi nous proposons ci-dessous une description relativement succincte de cette espèce.

Le Frêne est un arbre élevé, qui peut atteindre 35 m de hauteur. Il présente des bourgeons opposés dont la couleur noire est caractéristique (**Figure 5**) (Masclef, 1891). Ses fruits sont des samares longuement pétiolées à aile étroite échancrée à son extrémité qui restent sur l'arbre jusqu'au début du printemps. La floraison survient au mois d'avril-mai, longtemps avant l'apparition des feuilles. Les fleurs ne présentent pas de corolle ni de calice. Elles sont groupées à l'extrémité des rameaux et présentent une couleur brunâtre. Les feuilles opposées et de grande taille, se composent de 7 à 13 folioles ovales et lancéolées. Elles sont glabres et vertes en dessus et plutôt pâles et pubescentes en dessous. Enfin, l'écorce lisse au départ devient claire et finement craquelée (Coste, 2016 ; Rieille, 2016).



Figure 5 : Planche de *Fraxinus excelsior* L. (Masclaf, 1891)

D'autre part, les morilles noires ou coniques affectionnent préférentiellement les conifères. Elles sont associées au Sapin (*Abies alba*) vers 600-700 m d'altitude et se retrouvent plutôt sous les épicéas (*Picea abies*) pour des altitudes supérieures (Caillet, 1984-1985).

Les principaux éléments permettant la distinction et la bonne identification de ces deux espèces sont résumés dans le **tableau 1** (Moingeon, 2010).

Au-delà des espèces précédemment citées, les morilles établissent des liens avec de nombreuses essences végétales. Afin de ne pas énumérer l'ensemble des arbres cités dans la littérature, nous nous sommes limités aux associations possibles réalisées par les morilles citées dans ce travail (**Tableau 2**) (Clowez, 2012 ; Clowez, 2013 ; Caillet, Moyne, 1984-85 ; Keirn, 2016 ; Permoforêt, 2014).

3.2.1. Pathologies affectant les espèces végétales

Depuis des milliers d'années, les morilles sont retrouvées au pied des arbres, notamment les ormes, les frênes ou encore certains conifères. Les arbres sont attaqués par de nombreuses maladies et s'en trouvent menacés. Leur affaiblissement, voire même leur disparition ont un impact direct sur l'abondance des morilles.

Nous allons exposer certaines de ces pathologies, principalement la chalarose du Frêne et la graphiose de l'Orme.

3.2.1.1. La chalarose du Frêne

La chalarose du Frêne, apparue en Pologne au début des années 1990, a été détectée en France en 2008, plus précisément en Haute-Saône (Goudet, 2012). Depuis, le Département Santé des Forêts (DSF) évalue sa répartition et son évolution au niveau du territoire. Comme cela apparaît dans la **figure 6**, la maladie a progressé vers les autres départements de la région (Jura, Territoire de Belfort et Doubs) et même au-delà (Département Santé des Forêts (DSF), 2016). Ces cartes permettent aussi d'apprécier la vitesse de propagation de la maladie (Environ 75 km par an).

Tableau 1 : Eléments distinctifs entre *Abies alba* et *Picea abies* (Moingeon, 2010)

| | <i>Abies alba</i> – Sapin blanc | <i>Picea abies</i> - Epicéa |
|-----------------------|--|---|
| Tronc | Couleur brun-gris | Couleur brun-rougeâtre |
| Branches | Dressées | Pendantes |
| Cônes | Orientés vers le haut | Orientés vers le bas |
| Aiguilles | Planes, avec deux lignes claires, disposées dans un plan | Quadrangulaires et unies, disposées tout autour de la branche |
| Aspect général | Branches concentrées dans le tiers supérieur | Aspect pyramidal |

Tableau 2 : Associations végétales retrouvées pour certaines espèces de morilles (Clowez, 2012 ; Clowez, 2013 ; Caillet, Moyne, 1984-85 ; Keirn, 2016 ; Permoforêt, 2014)

| Morille | Associations végétales possibles |
|----------------------------|--|
| <i>Morchella americana</i> | <p><i>Fraxinus americana</i> L. (Frêne blanc d'Amérique)</p> <p><i>Ulmus americana</i> L. (Orme d'Amérique)</p> <p><i>Fraxinus dipetala</i> Hook & Arn. (Frêne à deux pétales)</p> <p><i>Acer pseudoplatanus</i> L. (Erable sycomore)</p> <p><i>Populus tremuloides</i> Michx. (Peuplier faux tremble), <i>deltoides</i> Bartram ex Marshall (Peuplier de Virginie), <i>Populus x canadensis</i> Moench</p> <p>Sous <i>Populus</i> (Peuplier) avec <i>Fraxinus excelsior</i> L. (Frêne commun)</p> |
| <i>Morchella esculenta</i> | <p><i>Fraxinus excelsior</i> L. (Frêne commun)</p> <p><i>Ulmus minor</i> Mill. (Orme champêtre)</p> <p><i>Quercus robur</i> L. (Chêne pédonculé)</p> <p><i>Quercus ilex</i> L. (Chêne vert), <i>Q. pubescens</i> Willd. (Chêne pubescent)</p> <p><i>Buxus sempervirens</i> L. (Buis)</p> |

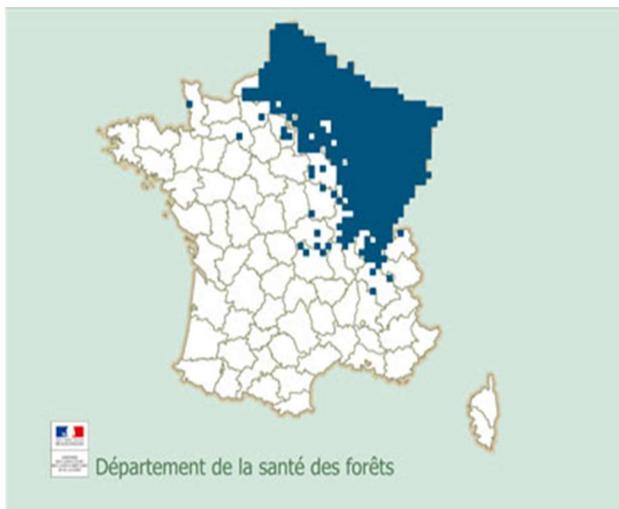
| | |
|--------------------------------|--|
| | <i>Malus sylvestris</i> Mill. (Boquettier) |
| <i>Morchella ulmaria</i> | <i>Ulmus americana</i> L. (Orme d'Amérique) Possible sous <i>Fraxinus excelsior</i> L. (Frêne commun) |
| <i>Morchella vulgaris</i> | <i>Fraxinus excelsior</i> L. (Frêne commun), associé ou non à <i>Hedera helix</i> L. (Lierre grimpant) <i>Acer pseudoplatanus</i> L. (Erable sycomore) <i>Fraxinus angustifolia</i> Vahl. (Frêne à feuilles étroites) souvent accompagné de <i>Ranunculus ficaria</i> L. (= <i>Ficaria verna</i> Huds. : Ficaire) Sous <i>Ribes</i> sp. (Groseillier) principalement d'ornementation <i>Crataegus monogyna</i> Jacq. (Aubépine à un style) <i>Sorbus aucuparia</i> L. (Sorbier des oiseaux) <i>Ulmus laevis</i> Pall. (Orme blanc) associé à <i>Ulmus minor</i> Mill. (Orme champêtre) Sous <i>Ulmus</i> (Orme), <i>Fraxinus</i> (Frêne), <i>Malus</i> (pommier) et <i>Pinaceae</i> (Pins, épicéas) |
| <i>Morchella deliciosa</i> | <i>Abies alba</i> Mill. (Sapin blanc) <i>Picea abies</i> (L.) H. Karst (Epicéa) associé ou non à <i>Buxus</i> (Buis) <i>Larix</i> (Mélèze) <i>Corylus avellana</i> L. (Coudrier) et <i>Prunus spinosa</i> L. (Prunellier, Epine noire) Possible sous <i>Fraxinus</i> (Frêne) |
| <i>Morchella dunalii</i> | Souvent associée à <i>Quercus ilex</i> L. (Chêne vert), seul ou avec d'autres essences végétales <i>Pinus halepensis</i> Mill. (Pin blanc de Provence) |
| <i>Morchella eximia</i> | <i>Pinaceae</i> (Pin), dans des zones fortement brûlées |
| <i>Morchella purpurascens</i> | <i>Abies alba</i> Mill. (Sapin blanc) <i>Picea abies</i> (L.) H. Karst (Epicéa) |
| <i>Morchella semilibera</i> | Sous <i>Fraxinus</i> (Frêne) en compagnie de <i>Ranunculus ficaria</i> L. (Ficaire) et parfois d' <i>Adoxa moschatellina</i> L. (Adoxe) |
| <i>Morchella tridentina</i> | Souvent associée à <i>Quercus ilex</i> L. (Chêne vert) <i>Arbutus</i> (Arbousier), <i>Olea</i> (Olivier), <i>Abies</i> (Sapin), <i>Pinus</i> (Pin) |



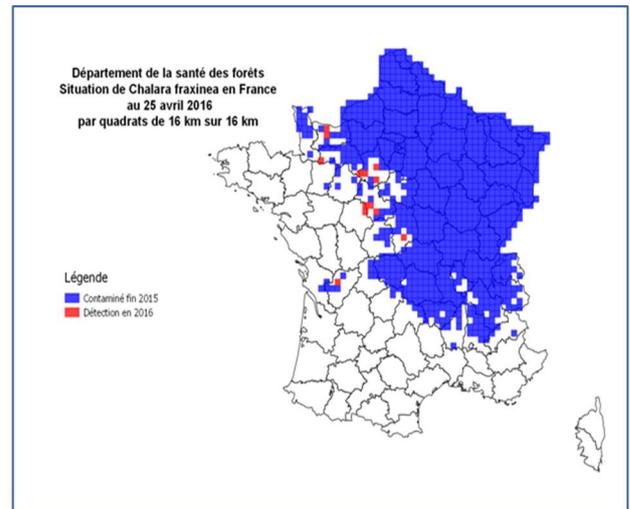
2008



2010



2012



2016

Figure 6 : Evolution de la situation de *Chalara fraxinea* en France (DSF, 2016)

Le champignon responsable est *Chalara fraxinea* T. Kowalski pour la forme asexuée, et *Hymenoscyphus fraxineus* (T. Kowalski) Baral, Queloz & Hosoya pour la forme sexuée (depuis 2013) (Département Santé des Forêts, 2015) (= *Hymenoscyphus pseudoalbidus* Queloz, Grünig, Berdnt, T. Kowalski, T. N. Sieber & Holdenr).

Les arbres touchés par cette maladie présentent des flétrissements ou des nécroses du feuillage évoquant rapidement un aspect dépérissant et des mortalités de rameaux. Des nécroses corticales sont souvent présentes à la base des rameaux morts. Elles peuvent s'étendre à la branche et former des faciès chancreux (DSF, 2011), associés à une coloration grise du bois sous-jacent (DSF, 2015). Les premiers symptômes s'observent facilement chez les jeunes sujets et des mortalités de pousses et de fines branches se multiplient dans les houppiers des arbres adultes (DSF, 2015). Chez les jeunes individus, l'atteinte est le plus souvent mortelle alors que la dégradation semble plus lente chez les sujets adultes où le taux de mortalité reste plus faible malgré leur aspect nettement dégradé (Guyard, 2014).

Chalara fraxinea provoque une nécrose de l'écorce, rendant les arbres plus vulnérables à toutes sortes de parasites. Les frênes présentant des nécroses au collet sont envahis par des champignons opportunistes, notamment certaines espèces d'armillaires. Le DSF émet l'hypothèse d'une mortalité dans les trois à cinq ans suivant l'apparition de nécrose au collet (FREDON de Franche-Comté, 2013).

En Haute-Saône, des attaques d'Hylésine crénelé (*Hylesinus crenatus*) et d'Hylésine de Frêne (*Leperesinus fraxini*) ont été observées. Elles étaient associées aux premières mortalités (Goudet, 2012).

Le DSF a mis en place à partir de 2010 un nouveau suivi afin d'évaluer l'avenir des arbres atteints et de mettre en évidence une éventuelle résistance à la maladie (DSF, 2011). Après deux ans de suivi, les observations montrent que le déficit foliaire relevé au printemps se dégrade progressivement mais qu'aucun arbre avec un déficit de plus de 96 % n'est observé en deux années (Goudet, 2012). Parmi les peuplements gravement affectés, il est observé une minorité de frênes présentant des symptômes nettement amoindris (notamment au Danemark et en Lituanie où la maladie sévit depuis 2002). D'après McKinney en 2011 et Pliūra en 2011, cette moindre sensibilité

est d'origine génétique, mais ne concerne qu'une infime proportion de frênes qui n'est sans doute pas suffisante pour éviter un effondrement des populations et qui s'amenuise d'année en année. Cependant, cette fraction s'avère essentielle pour l'avenir et l'émergence de futurs individus tolérants, d'autant plus qu'il n'existe aucun traitement envisageable ni aucune manière de combattre ce champignon.

3.2.2.2. La graphiose de l'Orme

Les Ormes sont de grands arbres apparus en Europe il y a 65 millions d'années. En France, il existe trois espèces : l'Orme de montagne (*Ulmus glabra* Huds.), l'Orme champêtre (*Ulmus minor* Mill.) et l'Orme lisse (*Ulmus laevis* Pall.) (Nature Midi-Pyrénées, 2016).

Cependant, depuis le début du XX^{ème} siècle, ces arbres ont été décimés par une maladie fongique, la graphiose. En 1916, une première épidémie d'origine asiatique a sévi. Elle fut destructrice, mais un certain nombre d'individus adultes y ont survécu. C'est principalement l'épidémie de 1970 qui a fait les plus gros ravages. L'agent pathogène est arrivé des Etats-Unis *via* le transport des grumes d'ormes sous une forme beaucoup plus agressive (Pinon, 2014). Cette épidémie est considérée comme la plus grave catastrophe écologique subie par un arbre depuis des siècles en France et en Europe (Nature Midi-Pyrénées, 2016). Depuis 1970, elle est responsable de l'élimination d'une grande partie des ormes adultes (plus de 90% des ormes parisiens ont succombé alors qu'ils représentaient la troisième espèce la plus abondante), sans que de réelles parades n'aient pu être trouvées (Inra, 2015).

Le champignon responsable se nomme *Ophiostoma novo-ulmi* Braiser. Il est transporté et inoculé aux arbres par l'intermédiaire du petit et du grand Scolyte de l'Orme, *Scolytus multistriatus* et *Scolytus scolytus* (Nierhaus-Wunderwald, 1999). Ce sont deux espèces d'insectes coléoptères de la famille des *Curculioidae*. Le champignon présent dans une poche de leur cuticule permet de digérer la cellulose et la lignine dont ils se nourrissent.

Le cycle de la maladie est caractérisé par l'alternance d'une phase parasitaire et d'une phase saprophyte (Envahissement des tissus par le champignon) (**Figure 7**)

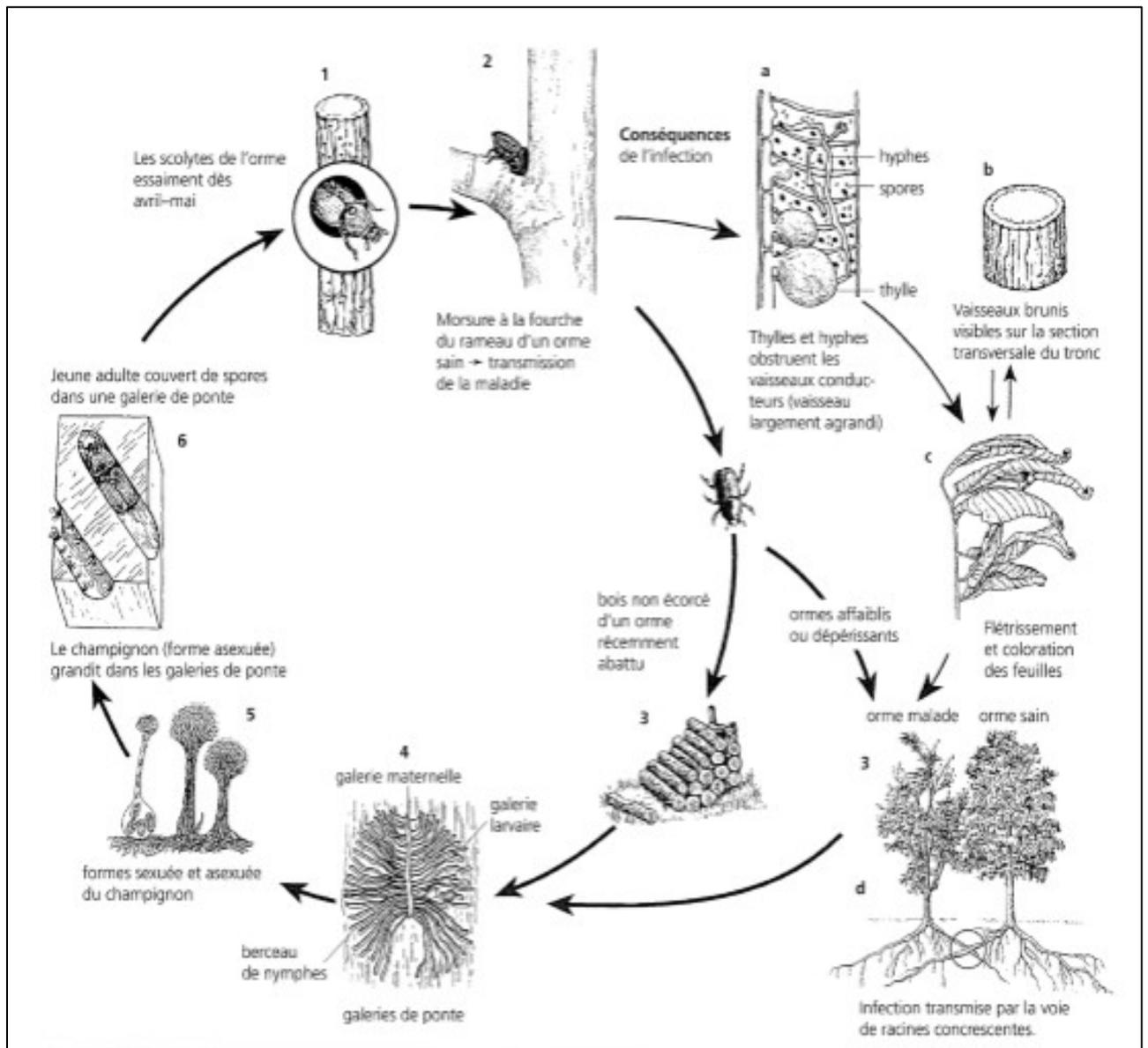


Figure 7 : Cycle biologique de la graphiose de l'Orme (Nierhaus-Wunderwald, 1999)

(Nierhaus-Wunderwald, 1999). La maladie est inoculée au moment des morsures du coléoptère porteur du champignon à l'aisselle des rameaux.

Le développement des tissus mycéliens engendre une désorganisation cellulaire, une altération de la chlorophylle et un faible développement de la cuticule (FREDON Corse, 2016), mais surtout, le mycélium envahit les gros vaisseaux des branches et du tronc, provoquant l'arrêt de l'alimentation en eau des parties supérieures (Inra, 2015), ainsi que l'interruption de la circulation de la sève (Nierhaus-Wunderwald, 1999). C'est pourquoi, il est fait état de maladie vasculaire (Trachéomycose) (Nierhaus-Wunderwald, 1999). La transmission d'arbre en arbre s'effectue *via* le système racinaire et par les nouvelles générations de scolytes contaminés par les spores (Inra, 2015).

Le principal symptôme s'observe au printemps sur les feuilles. Un flétrissement des feuilles apparaît, les feuilles se dessèchent, noircissent et restent un moment sur l'arbre avant de tomber. Les rameaux sont inégalement épaissis et ils présentent des crêtes plus ou moins colorées en jaunes et en pourpre. Certaines ponctuations noirâtres des vaisseaux du bois sont visibles au niveau de la zone de progression du champignon (DSF, 2015). Les branches se déforment et il est possible de voir à l'œil nu les marques de morsures à l'aisselle des rameaux (<http://www.naturemp.org>). Sur les fleurs et les fruits, les symptômes restent exceptionnels.

Les fleurs atteintes avortent et les fruits prennent un aspect verruqueux, décoloré, boursoufflé (FREDON Corse, 2016). D'années en années, l'arbre est fragilisé par la perte répétée des feuilles (<http://www.fredon-corse.com>). Il dépérit et meurt généralement au cours des deux années suivantes (Nature Midi-Pyrénées, 2016).

La restauration de l'Orme demeure importante pour la biodiversité. A titre préventif, il existe des traitements fongicides efficaces, mais ceux-ci demeurent onéreux et délicats à mettre en place. Ils sont réservés aux arbres remarquables (Pinon, 2014). De plus, aucun traitement insecticide ne permet de réduire les populations de scolytes sans créer par ailleurs de dommages sur la faune (Pinon, 2014). Les recherches se sont donc orientées vers la mise en place et la conservation de variétés résistantes. L'Institut de Recherche en Sciences et Technologies pour l'Environnement et l'Agriculture (IRSTEA) a développé un réseau d'unité de conservation de l'Orme lisse,

cette variété semblant la plus résistante à la graphiose. De plus, des recherches de l'INRA, en collaboration avec les Pays-Bas, ont abouti à une nouvelle variété, la variété Lutèce®, résistante à la graphiose, possédant de bonnes qualités ornementales et adaptée aux conditions climatiques européennes (Pinon, 2014).

4. Culture des morilles

Les morilles sont très recherchées et demeurent être des mets de choix pour les fins mycophages et les restaurateurs en raison de leur goût délicat et parfumé. Elles restent difficiles à trouver dans la nature étant donné leurs habitats surprenants et parfois éphémères. En effet, malgré la découverte d'un « bon coin » à morilles, il n'est pas rare qu'il ne donne rien l'année suivante.

Ainsi, depuis plus de deux siècles, les mycologues n'ont cessé d'appivoiser la culture de ce champignon, d'autant plus que ce marché peut s'avérer très lucratif.

La première tentative date de 1889, où en Haute-Savoie, François Bouvier, baron d'Yvoire, raconte son expérience : sa technique « consiste à jeter des morceaux de morilles fraîches ou sèches de l'année en mai-juin sur la terre meuble, plutôt humide, d'un carré d'artichauts, arrosé durant l'été quatre ou cinq fois avec de l'eau contenant du salpêtre (Une poignée par grand arrosoir). En automne, il convient de répandre sur le sol autour des pieds d'artichauts un compost haut de 1 cm, fait de marc de pommes ayant servi à faire le cidre, mais non fermenté. Huit ou quinze jours après, recouvrir de feuilles sèches (Charmes, marronniers ; mais aussi hêtres, chênes et frênes) ; de petites branches sèches empêcheront leur dispersion par le vent. Au début du printemps, retirer les ramilles, enlever avec beaucoup de précautions les feuilles sèches superficielles en ayant soin de conserver l'humidité. La levée des morilles se produit ensuite. Il est possible de prolonger par des arrosages d'eau salpêtrée, mais il faut abriter le terrain sous des toiles humides à 20 cm de la terre. » Le baron d'Yvoire aurait obtenu 300 morilles sur 10 m² (Thevenet, 2014).

Malgré les recherches en Europe et en Amérique, seuls les Chinois ont réussi à percer les secrets de la culture industrielle des morilles. Le professeur Zhu et son équipe ont

déposé un brevet de culture artificielle de morilles et commercialisent plus de 80 tonnes de ce champignon par année. Ils disposent ainsi de la seule technologie capable d'induire des rendements stables (Thevenet, 2014).

En 2009, un français, Christophe Perchat, s'est intéressé à cette technique et s'est rendu en Chine à la rencontre de l'équipe chinoise. Il ramène dans ses bagages deux souches de la province du Sichuan. Les analyses effectuées par l'INRA (Institut national de la recherche agronomique) ont révélé que leur patrimoine génétique était identique à celui des morilles françaises. L'entrepreneur visionnaire décide donc de créer sa propre société, nommée France Morilles, et d'exploiter les brevets en partenariat avec l'équipe chinoise. Ces brevets ont fait l'objet d'un accord de coopération et d'un transfert de technologie ; France morilles a obtenu les droits d'exploitation en exclusivité sur l'Europe (Thevenet, 2014 ; Perchat, 2016).

La culture a lieu sous serres, sur un substrat dont la composition est gardée secrète. La manipulation du mycélium, la gestion climatique, le contrôle et l'entretien des sols et l'équilibrage entre ombre et humidité sont autant d'éléments qui sont parfaitement maîtrisés. De plus, pour répondre aux nouvelles exigences du marché, ce programme s'applique à respecter certaines normes de traçabilité et de qualité (Agriculture biologique, maîtrise de l'impact environnemental, ...). L'ensemble de ces mesures lui a valu d'être lauréat du concours organisé par « FranceAgriMer » (Etablissement national des produits de l'agriculture et de la mer) dans la catégorie des projets agricoles et alimentaires d'avenir en 2015 (FranceAgriMer, 2015).

La mise en place des premières zones de culture a eu lieu à l'automne 2012 grâce aux conseils et au savoir-faire de l'équipe chinoise. Actuellement, une quinzaine d'agriculteurs se sont lancés dans l'expérience. Les premiers résultats se veulent prometteurs, à l'instar de trois jeunes agriculteurs savoyards qui ont obtenu, au printemps 2016, environ 70 kg du précieux champignon sur une parcelle de seulement 300 m².

5. Classification des morilles

Depuis longtemps, la famille des *Morchellaceae*, et notamment les espèces du genre *Morchella* se heurtent à des problèmes nomenclaturaux. Depuis 1897 et la classification établie par Emile Boudier, les mycologues n'ont eu de cesse de comprendre ce genre, ce qui a donné lieu à diverses systématiques. Celles-ci sont essentiellement basées sur des critères morphologiques macroscopiques étant donné que les éléments microscopiques des espèces de ce genre sont sensiblement homogènes. Ce n'est que récemment avec l'arrivée des études biomoléculaires qu'une nouvelle classification phylogénétique a pu voir le jour. Après un bref rappel historique des classifications existantes, nous verrons plus précisément le principe des études génétiques et leurs résultats, ainsi que la nouvelle classification de Richard *et al.* de 2015 que nous avons utilisée pour décrire les différentes espèces citées dans ce travail (Richard, 2015).

5.1. Classification basée sur des critères morphologiques

La première classification du genre *Morchella* est créée par Emile Boudier en 1897. Il classe les morilles en deux genres en s'appuyant sur certains caractères morphologiques. Il distingue le genre *Morchella* Dill. qui comprend deux sections (*Adnatae* et *Distantes*) du genre *Mitrophora*.

Les champignons de la section *Adnatae* sont caractérisés par un chapeau pluri-alvéolaire adné au pied alors que ceux de la section *Distantes* présentent un sillon circulaire nommé vallécule qui est un espace situé entre le pied et le chapeau. De plus, il différencie ces deux sections grâce aux caractéristiques des alvéoles primaires. Elles demeurent plus nombreuses, plus courtes et peu ou pas séréées chez les espèces adnées alors qu'elles semblent moins nombreuses, bien plus allongées, descendant du sommet jusqu'à la base, séparées en alvéoles secondaires et séréées chez les morilles distantes.

Le genre *Mitrophora* quant à lui se distingue des morilles *Distantes* par son chapeau libre sur sa moitié inférieure (Boudier, 1907).

En 1936, Roger Heim ajoute un critère morphologique supplémentaire afin de compléter la classification de Boudier (Boudier, 1907). En effet, il utilise la présence ou l'absence de côtes longitudinales sur le chapeau pour distinguer deux catégories au sein des morilles adnées (Clowez, 2012 ; Wipf, 1997).

Par la suite, Richard W. G. Dennis divise la famille des *Morchellaceae* en deux tribus. Cette classification est toujours basée sur des critères morphologiques.

D'une part, il existe la tribu *Heterogenae* dont les espèces présentent un chapeau qui aligne de nombreuses et vastes cavités peu profondes, séparées par des arêtes stériles. Au sein de ce groupe, il discerne deux genres suivant la forme du chapeau, et surtout le type de vallécule : le genre *Morchella* où le chapeau est en forme de massue et la vallécule peu marquée et le genre *Mitrophora* où le chapeau est suspendu et libre dans sa partie inférieure et la vallécule importante.

D'autre part, il regroupe les champignons dont l'hyménophore est lisse ou veiné et non interrompu par des arêtes dans une tribu qu'il nomme *Homogeneae*. Trois genres sont distingués : *Ptychoverpa*, *Verpa* et *Disciotis* (Clowez, 2012 ; Wipf, 1997).

En 1984, dans son ouvrage « Les morilles », Emile Jacquetant identifie trente espèces de morilles qu'il sépare en trois sections différentes : *Distantes*, *Pseudoadnatae* et *Adnatae* (Jacquetant, 1984).

Les espèces de la section *Distantes* présentent une vallécule de profondeur variable ainsi que des côtes régulières qui s'étendent du sommet jusqu'à la base du chapeau. Celles-ci définissent des alvéoles primaires et secondaires. Cette section correspond aux caractéristiques de la section *Distantes* définie par Emile Boudier.

De la même manière, il conserve la section *Adnatae* d'Emile Boudier dont le caractère déterminant est l'absence de vallécule. De plus, il est noté uniquement des alvéoles primaires, bien ouvertes et assez régulières.

Enfin, il délimite une troisième et dernière section, la section *Pseudoadnatae*. Les espèces de cette section ressemblent à celles de la section *Adnatae*, notamment grâce à la forme de leur chapeau et à la structure de leurs alvéoles primaires, mais présentent des côtes irrégulières qui ne vont pas jusqu'à la base du chapeau (Clowez, 2012 ; Wipf, 2012).

En 2012, Philippe Clowez entreprend de revoir complètement la taxinomie du genre *Morchella* (Clowez, 2012). En plus des critères mycologiques, la classification proposée tient particulièrement compte des données écologiques et

environnementales, qui jusque-là n'étaient pas suffisamment considérées. En outre, il s'appuie aussi sur les résultats des premières études génétiques.

5.2. Classification phylogénétique

L'avènement de nouvelles techniques, basées sur la biologie moléculaire, a complètement bouleversé les classifications existantes. En effet, la reconnaissance morphologique engendre des résultats contradictoires à la diversité des espèces. Il semblait donc important d'identifier de nouveaux critères pour permettre une révision taxinomique du genre *Morchella*.

Ces techniques s'intéressent directement au génome des espèces et donc à leur acide désoxyribonucléique (ADN). Cette molécule constitue le support de l'ensemble de l'information génétique. Elle se compose de deux brins complémentaires enroulés en double hélice. Chaque brin est formé d'un enchaînement de nucléotides qui s'associent de façon complémentaire. La différenciation des espèces repose sur la comparaison de certaines séquences spécifiques, appelées marqueurs moléculaires.

Afin d'apprécier les relations phylogénétiques et de distinguer les différentes espèces, les marqueurs moléculaires utilisés doivent répondre à certains critères. D'abord, ils sont tenus d'être ubiquitaires, c'est-à-dire présents chez l'ensemble des taxons. De plus, il faut qu'ils présentent un polymorphisme important pour permettre une comparaison performante.

La séquence ITS (*Internal Transcribed Spacer*) est la région d'ADN la plus largement utilisée pour étudier la phylogénie des champignons. Cet espaceur transcrit interne correspond à une séquence d'ADN ribosomique non codante. Son polymorphisme important lui vaut d'être largement utilisé comme marqueur génétique. Cependant, cette séquence demeure insuffisante pour analyser l'ensemble des espèces de *Morchella*. C'est pourquoi, les différentes études combinent l'utilisation de plusieurs marqueurs dans leurs analyses phylogénétiques.

En 2015, Richard *et al.* ont réalisé une révision complète de la nomenclature des *Morchella* d'Europe et d'Amérique du Nord, basée sur des analyses phylogénétiques moléculaires (Richard, 2015). En effet, ils ont entrepris d'identifier parmi les taxons cités dans certaines publications antérieures, notamment celles de Clowez (2012) et de Kuo (2012), si certains s'avéraient être des synonymes. De plus, leur travail a permis d'obtenir des séquences génétiques des holotypes et paratypes, disponibles pour les espèces européennes.

Les analyses moléculaires ont porté sur 107 collections (47 pour le clade *Esculenta* et 60 pour le clade *Elata*) issues de l'ensemble des continents (Richard, 2015). Les séquences analysées comprenaient les séquences ITS et 28S ainsi que les portions de gènes codant pour les deux grandes sous-unités de l'ADN polymérase de type II (RPB1 et RPB2) et pour la traduction du facteur d'élongation 1 α (TEF1).

L'analyse de l'ensemble des séquences a révélé une synonymie pour six espèces citées par Kuo *et al.* en 2012, notamment *Morchella esculentoides* qui s'est avérée être un synonyme de *Morchella americana* (Richard, 2015).

De plus, il a été démontré que douze nouveaux noms ajoutés par Clowez s'avèrent être des synonymes d'autres taxons.

Morchella conica a été définie comme illégitime et la position de *Morchella elata* nécessite un approfondissement des recherches. En effet, le matériel déposé par Fries il y a plus de deux siècles ne peut pas permettre l'obtention de résultats d'un point de vue génétique (O'Donnell, 2014). Toutefois, ces collections peuvent conduire à l'identification de la localité type et mener ainsi à l'analyse de collections contemporaines.

Certains rapports publiés précédemment faisaient état d'une faible diversité des espèces en Europe (O'Donnell, 2011 ; Taskin, 2012). Les observations de Richard *et al.* vont à l'encontre de ces mentions, puisqu'en réalité le nombre d'espèces de *Morchella* est quasiment identique en Europe (21 espèces) et en Amérique du Nord (22 espèces).

L'ensemble des séquences génétiques engendrées par le biais de cette étude fonde une base solide pour la nomenclature des morilles et pourra être utilisée comme référence pour les prochaines systématiques.

Ainsi, cet article a profondément révolutionné l'approche du genre *Morchella* (Richard, 2015). La classification a été simplifiée, même si les correspondances et l'évolution des taxons sont compliquées à appréhender. Les auteurs ont réalisé un tableau récapitulatif (**Annexe 1**) signifiant l'ensemble des noms mentionnés dans chaque article précédemment publié ainsi que les arbres phylogénétiques les plus plausibles pour chaque section (**Annexe 2**) (Richard, 2015). Ainsi, pour la suite de notre travail, nous nous sommes basés sur la classification de Richard *et al.*, notamment pour la rédaction des monographies des différentes espèces citées (Richard, 2015).

Conclusion

Cette première partie nous a permis d'aborder plusieurs points nécessaires à la compréhension des morilles.

Une bonne connaissance du biotope de ces champignons est obligatoire pour espérer les trouver dans la nature. On les retrouve associés à diverses espèces végétales depuis plusieurs milliers d'années. Cependant, leur abondance se voit menacée aujourd'hui par l'impact de certaines pathologies affectant ces arbres.

D'autre part, on note au cours de ces dernières années, l'essor de la culture des morilles en France dont les premiers résultats s'avèrent prometteurs pour les gourmands mycophages.

Enfin, l'un des points les plus importants demeure l'évolution de la classification des champignons du genre *Morchella*. En effet, l'utilisation des données moléculaires est une véritable révolution qui a permis une réelle simplification même si quelques points encore non élucidés restent en suspens.

**PARTIE 2 : MORILLES
PRESENTES EN
FRANCHE-COMTE**

Introduction

Très populaires et recherchées, les *Morchellaceae* suscitent la curiosité de nombreux mycologues dans le monde entier. Elles sont apparues il y a environ 240 millions d'années et c'est principalement entre le milieu et la fin du miocène (-13 à -5,3 millions d'années) qu'émergent de nombreuses espèces. La classification et la nomenclature n'ont cessé d'évoluer de part une certaine complexité du genre *Morchella*. En effet, l'approche traditionnelle, basée principalement sur les critères morphologiques ne s'avère pas suffisante pour proposer une systématique rigoureuse. Comme nous l'avons mentionné précédemment, Richard *et al.* en 2015 ont proposé une révision complète du genre, principalement fondée sur des critères génétiques (Richard, 2015). Conformément aux résultats de cette étude, nous proposons dans cette partie une monographie de certaines espèces de *Morchellaceae* présentes ou susceptibles de l'être en Franche-Comté. Ces monographies font part des principaux critères morphologiques, macro- et microscopiques, d'éléments sur l'écologie et de références iconographiques. Différentes variétés ou formes sont à même d'être évoquées suivant les espèces.

Les morilles présentent un endémisme continental et un provincialisme très marqué (O'Donnell, 2010). La distribution géographique des *Morchella* d'Europe et d'Amérique du Nord est visible sur la **figure 8** (Richard, 2015). L'utilisation de ces données, en complément des informations connues sur le biotope a permis de sélectionner les espèces citées dans ce travail.

1. Monographies

1.1. Genre *Morchella*

Les espèces du genre *Morchella* présentent un ascome stipité, à surface alvéolée. Ces alvéoles sont délimitées par des côtes de deux sortes, plus ou moins nettes suivant les espèces : des côtes longitudinales qui se divisent et se rejoignent limitant ainsi des alvéoles primaires, et des côtes transversales, plus basses, découpant les alvéoles primaires en alvéoles secondaires. Ces dernières sont plus ou moins présentes suivant les espèces.

AMERIQUE DU NORD

M. brunnea
M. populiphila
M. sextelata
M. snyderi
M. tomentosa
M. angusticeps
M. punctipes
M. septentrionalis
M. diminutiva
M. septiformis
M. ulmaria
M. prava

TRANSCONTINENTALES

M. americana
M. eximia
M. exuberans
M. importuna
M. tridentina
M. rufobrunnea

EUROPE

M. deliciosa
M. dunalii
M. eximoides
M. pulchella
M. purpurascens
M. quercus-ilicis
M. semilibera
M. castaneae
M. esculenta
M. steppicola
M. vulgaris
M. anatolica

SECTION : *Distantes* / *Morchella* / *Rufobrunnea*

Figure 8 : Distribution géographique des *Morchella* d'Europe et d'Amérique du Nord (Richard, 2015)

Le stipe creux peut s'avérer être plus ou moins long, plus ou moins renflé à la base, lisse ou ridé, glabre ou furfuracé et d'une coloration blanc sale ou légèrement teinté en fonction des espèces.

La vallécule est présente chez les espèces de la section *Distantes* et absente dans la section *Morchella*.

Enfin, l'hyménium se compose d'asques cylindriques, atténués à la base et contenant huit spores hyalines, et de paraphyses, dont les extrémités sont plus ou moins renflées (Clowez, 2012 ; Moyne, 1995).

Au sein du genre *Morchella* se distingue une troisième section, la section *Rufobrunnea* apparue il y a environ 130 millions d'années. Ce clade est représenté par deux espèces, *Morchella rufobrunnea* Guzmán et Tapia et *Morchella anatolica* Işiloğlu *et al.* (Richard, 2015). Ces champignons affectionnent plutôt les pays chauds (Sud de l'Amérique du Nord, Mexique, Canaries, Moyen-Orient, l'Espagne mais elles s'avèrent absentes en France. Par conséquent, aucun représentant de cette section n'apparaît dans la suite de ce travail.

1.1.1. Section *Morchella* / Clade *Esculenta*

La section *Morchella* correspond à la section adnée décrite par Emile Boudier et au clade *Esculenta* évoqué par O'Donnell *et al.* (Boudier, 1907 ; O'Donnell, 2011). Elle équivaut aux « morilles jaunes ou morilles rondes » traditionnelles. La séparation des clades *Elata* et *Esculenta* daterait du début de Crétacé (O'Donnell, 2011 ; Du, 2012 ; Voitk, 2014).

Ces espèces apparaissent plutôt précocement dans la saison (dès la mi-mars). Elles tendent à survenir aux mêmes endroits d'une année à l'autre, mais ont tout de même la capacité de coloniser de nouvelles stations. Elles sont observées principalement associées aux *Oleaceae* (Frêne commun, *Fraxinus excelsior* L., Lilas commun, *Syringa vulgaris* L.) et aux *Ulmaceae*, lesquelles renferment une sève riche en glucose. De façon plus rare, elles se développent sous certains *Pinaceae* ainsi que d'autres plantes mellifères (*Hieracium* sp., *Hedera helix* L.,) (Clowez, 2012).

Morphologiquement, leurs alvéoles sont plutôt régulières et de taille moyenne à grande et absence de vallécule (**Figure 9**) (Photographie personnelle, 2016).

A présent, nous allons décrire 5 espèces de cette section, présentes susceptibles d'être trouvées en Franche-Comté. Ces espèces sont parfois scindées en plusieurs variétés ou formes.

1.1.1.1. *Morchella americana* Clowez et C. Matherly

D'après Richard *et al.* en 2015, quatre espèces d'Amérique du Nord sont considérées comme conspécifiques. Il s'agit de *Morchella americana* et *Morchella californica* trouvées sous *Fraxinus*, de *Morchella claviformis* identifiée sous *Acer* et de *Morchella populina* sous *Populus*. D'après les études phylogénétiques, *Morchella rigida* (Krombh) Boudier dépend aussi de cette espèce. Ce nom n'a pas été retenu dans cette étude par défaut de matériaux originaux disponibles. *Morchella americana* est observée en Europe au sein de sites présentant un fort impact anthropique, particulièrement dans des plantations de peupliers hybrides d'origine nord-américaine. Cette information conforte l'hypothèse d'une introduction récente de cette espèce en Europe (Richard, 2015).

Synonymes :

Morchella americana var. *elongata* Clowez

Morchella californica Clowez et Viess

Morchella claviformis Clowez

Morchella populina Clowez et Leboeuf

Morchella esculentoides Kuo et al.

Morchella rigida (Krombh.) Boudier

Morchella esculenta var. *rigida* (Krombh.) Mornand [*inval.*]

Nom vernaculaire : Morille d'Amérique, Morille rigide (**Figure 10**) (Moingeon, 2015)



Figure 9 : *Morchella esculenta* (L. : Fr.) Pers. – Goux-les-Usiers (Doubs-France)
(Photographie personnelle, 2016)



Figure 10 : *Morchella americana* Clowez et C. Matherly - Haut-Rhin (France) sous *Populus* hybrides - leg Jean-Luc Muller (Moingeon, 2015)

Description macroscopique

Espèce moyenne à assez grande, elle mesure de 7 à 15 cm mais peut s'avérer être beaucoup plus imposante. Il existe une grande variabilité de son apparence, notamment au niveau de sa taille et de sa forme.

Son chapeau, d'abord conique chez les jeunes exemplaires, devient plutôt oblong avec la maturation. Il présente d'emblée une coloration jaune ochracé, identique à celle de *Morchella esculenta*.

Les alvéoles sont plus nombreuses, de forme plus allongées, plus petites et moins régulières que chez *Morchella esculenta*. Plutôt profondes, amples, et simples à fond plat, elles sont délimitées par des côtes flexueuses. Celles-ci sont concolores au départ et roussissent. Peu épaisses, elles s'amincissent avec l'âge et leurs bordures sont rarement appendiculées.

Le stipe est glabre ou finement furfuracé, d'un blanc pur et cylindrique. Il s'épaissit à la base et représente la moitié de la hauteur totale du champignon.

Description microscopique

Les asques mesurent 300 à 400 μm sur 25 à 30 μm , et les spores 20 à 24 μm par 13 à 14 μm .

Les paraphyses ramifiées ne sont pas ou très peu épaissies au sommet. Certaines se présentent en forme de bouquet. Elles sont composées de trois ou quatre articles cylindriques dont le terminal est toujours plus grand.

Le bord des côtes est constitué de cellules claviformes souvent très rétrécies à la base. Les poils du stipe sont peu nombreux et parfois cloisonnés. Ils mesurent 30 à 70 μm par 12 à 14 μm .

Ecologie

Cette espèce est très commune dans de nombreuses régions de l'est des Etats-Unis et du Canada sous *Fraxinus Americana* L.. En Europe, elle est observée surtout sous peupliers (*Populus*), notamment dans les plantations hybrides (*Populus x canadensis* Moench) (Fatton, 2016). Cette espèce est à découvrir en Franche-Comté. Les stations les plus proches se trouvent dans le Haut-Rhin, en forêt alluviale bordant le Rhin (Grand Ried alsacien) plantée en peupliers hybrides (Communication personnelle Jean-Luc Muller ; Clowez, 2012).

Iconographie

Richard *et al.*, 2015, Figure 4-g, p. 367 ; Clowez, 2012, Planche XIII, 32, p. 248.

Littérature

Clowez, 2012 ; Lagarde, 1923

1.1.1.2. *Morchella esculenta* (L. : Fr.) Pers.

Cette espèce apparaît comme l'une des morilles jaunes les plus courantes, et semble largement distribuée en Europe (Richard, 2015). En Franche-Comté, elle est extrêmement répandue et assez fréquente hormis dans le massif vosgien. La cartographie de sa répartition régionale est disponible en **annexe 3** (Société mycologique du Pays de Montbéliard, 2011).

Les études génétiques réalisées par Richard *et al.* montrent que de nombreuses espèces sont conspécifiques avec *M. esculenta*.

Synonymes :

Morchella esculenta var. *aurantiaca* Clowez

Morchella esculenta var. *rubroris* Clowez

Morchella ochraceoviridis Clowez

Morchella ovalis var. *minor* Clowez et Martin

Morchella esculenta var. *rotunda* (Pers. : Fr.) Fr.

Morchella dryophila Clowez

Morchella esculenta var. *brunnea* Clowez

Morchella esculenta var. *umbrinoïdes* Clowez

Morchella umbrina Boudier

Dans un premier temps, nous allons décrire l'espèce type *Morchella esculenta*, puis nous aborderons les différentes espèces et variétés gravitant autour de cette espèce type, parfois synonymisées par les récentes analyses biomoléculaires et vraisemblablement présentes ou à rechercher en Franche-Comté.

***Morchella esculenta* (L. : Fr.) Pers.**

Nom vernaculaire : Morille comestible, Morille grise

Description macroscopique

Cette espèce, considérée comme l'un des meilleurs champignons comestibles, est de taille moyenne à grande.

Le bord inférieur du chapeau est fixé au pied. Il mesure de 4 à 8 cm de hauteur mais peut atteindre quelquefois des dimensions plus importantes. Il présente une forme ovoïde, sphérique ou conique-obtue, et une coloration ocre-jaune à ocre-brun à maturité, les jeunes individus pouvant présenter des couleurs grises, ocres ou brunes. Il se creuse d'alvéoles, nombreuses et profondes, de dispositions et de formes diverses, anguleuses ou sinueuses, bordées d'arrêtes transversales souvent plus claires, blanchâtres, pouvant même se teinter de rougeâtre.

Le stipe (3-5 cm par 1-3 cm) creux, trapu, plutôt difforme, de couleur blanchâtre à jaunâtre se couvre de minuscules granules. La base est élargie et peut se teinter de rouge brique chez les exemplaires les plus âgés, elle est souvent ridulée.

La chair grisâtre dégage un parfum fruité et une saveur délicate. Ferme mais mince, elle est plus tendre dans le chapeau que dans le pied.

La sporée est de couleur crème.

Description microscopique

Les asques mesurent 245 à 280 μm et leurs bases sont de forme cylindrique obtuse. Les spores elliptiques mesurent 22 à 24 μm par 12 à 14 μm et sont lisses à sublisses. Les paraphyses cloisonnées sont plus courtes, environ deux-tiers de la longueur des asques.

La bordure des côtes est difficile à visualiser car les extrémités sont noyées dans un pigment très incrustant. Les cellules sont allongées obtuses, et on note parfois la présence d'un petit appendice terminal.

Les poils du stipe, peu colorés, se composent de 2 ou 3 articles.

Ecologie

Cette morille printanière (avril à mai) est associée aux sols calcaires, argileux ou sablonneux. On la retrouve isolée ou en petit groupe, dans les lisières herbeuses d'ormes, de frênes ou de peupliers, le long des ruisseaux, dans les parcs, taillis et jardins. Elle reste très souvent associée à *Fraxinus excelsior* L.. Elle se trouve, selon

Clowez quasi-systématiquement là où existent des sites archéologiques au sens large (anciennes voies ferrées, tranchées de la première guerre mondiale, anciennes villas gallo-romaines, ...) (Clowez, 2012).

Très commune en Europe, elle pousse principalement en plaine ou dans les collines, et se fait plus rare en montagne.

Iconographie

Bon, 2012, p. 327 ; Richard *et al.*, 2015, Figure 4-d, p. 367 ; Clowez, 2012, Planche IV, p 229

Littérature

Clowez, 2012 ; Fletcher, 2007 ; Bon, 2012 ; Chaumeton, 2010.

1.1.1.2.1. *Morchella esculenta* var. *rotunda* (Pers. : Fr.) Fr.

Nom vernaculaire : Morille comestible, variété ronde

Description macroscopique

Cette espèce de taille moyenne, peut s'avérer être grande (de 10 à 20 cm de hauteur). Sous nom découle de sa forme, sensiblement sphérique, qui a tendance à s'allonger au cours de son développement. Plutôt fragile, cette variété s'altère assez facilement. Son chapeau, de 4 à 5 cm de diamètre, est de couleur ochracé sale, brun sale, pour terminer dans des teintes plus orangées.

Le stipe mesure 2 à 3 cm de haut, mais peut parfois être plus grand. Robuste, blanchâtre, et d'un aspect presque lisse, il est épaissi et sillonné à la base.

Les alvéoles primaires sont grandes et peu nombreuses. Plutôt irrégulières, leur fond reste peu visible. Plissées intérieurement et évasées vers l'extérieur, elles sont séparées par des côtes flexueuses, moyennement épaisses et surtout très fragiles. La bordure de ces côtes semble peu anastomosée et la tendance à roussir est beaucoup moins évidente que chez *M. esculenta*.

La sporée abondante est d'une belle couleur jaune ochracé.

Description microscopique

Les asques, cylindriques et atténués à la base, mesurent 200 à 300 µm par 25 µm.

Les spores ont une taille de 21 µm par 12 à 15 µm.

Les cellules du bord des alvéoles primaires, bien visibles se constituent d'un ou plusieurs éléments arrondis, claviformes, ressemblant à des massues.

A la surface du stipe, on observe un empilement de grosses cellules plus ou moins rondes, de tailles variables, présentant une cellule terminale plus allongée.

Ecologie

Cette espèce est plus tardive. Elle est observée de mi-avril à début juin. Elle affectionne particulièrement les milieux riches en fructose ; ainsi, elle apparaît sur des végétaux produisant abondamment ce dernier datant du début de l'hiver précédent. Elle est présente sous les pommiers blessés, mais les amas de fruits (Poirs, raisins, cerises, ...), ou sous certains arbres comme le Bibacier (*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.) ou le Néflier commun (*Mespilus germanica* L.). De par sa stratégie colonisatrice, il est rare qu'elle soit présente deux années de suite au même endroit. Assez fréquente sur des terrains sablonneux ou limoneux, elle est observée dans les bois, les parcs ou les pâtures, bien qu'elle se fasse de plus en plus rare du fait de l'augmentation de l'utilisation de pesticides et d'engrais.

Une carte de répartition régionale réalisée par la société mycologique du Pays de Montbéliard est disponible en **annexe 4** (Société mycologique du Pays de Montbéliard, 2011). Elle montre une distribution sur l'ensemble du territoire régional, à tous les étages de végétation, hormis dans la zone vosgienne où elle est absente.

Iconographie

Clowez, 2012, Planche VIII, p 237

Littérature

Clowez, 2012, Lagarde, 1923

1.1.1.2.2. *Morchella dryophila* Clowez

Nom vernaculaire : Morille du chêne

Description macroscopique

Cette grande et grosse espèce, qui mesure entre 15 et 25 cm, peut même atteindre 30 cm de hauteur.

Son chapeau est souvent ovoïde-conique et plus rarement arrondi-triangulaire. Sa coloration est fauve-grisâtre et peut laisser apparaître des nuances grisées.

Il présente des grandes alvéoles primaires, peu nombreuses, qui sont disposées de manière aléatoire. Amples et assez profondes, elles s'ondulent dans le fond et leur aspect irrégulièrement arrondi peut présenter quelquefois des boursoflures. Elles sont limitées par des côtes épaisses et sinueuses, dont le bord, assez fragile et concolore, roussit rapidement.

Il est noté l'absence d'alvéoles secondaires.

Le stipe, très élevé, massif et robuste est plus long que le chapeau. Il est renflé à la base et se rétrécit au sommet. Ochracé-carné, il présente des furfurations et de nombreux sillons.

Description microscopique

Les asques mesurent 400 µm sur 18 à 20 µm, et les spores 23 à 28 µm sur 12 à 15 µm.

Les paraphyses, ramifiées, sont peu ou pas du tout épaissies au sommet.

Ecologie

Cette morille est plutôt commune sur son aire, mais assez rare en Franche-Comté. Elle est observée sous *Quercus robur* L. (Chêne pédonculé) et certainement d'autres chênes d'Europe centrale.

Iconographie

Clowez, 2012, Planche XXXI, 69, p 281

Littérature

Clowez, 2012 ; Lagarde, 1923

1.1.1.2.3. *Morchella esculenta* var. *umbrinoides* Clowez

Nom vernaculaire : néant

Description macroscopique

Cette variété ressemble à *M. esculenta*, bien qu'elle soit légèrement plus sphérique. Ses alvéoles primaires sont bien ouvertes dès le départ et assez régulières (**Figure 11**) (Moingeon, 2011). Leur couleur noir ébène perdure dans le temps. Leurs bordures sont plus claires, d'une teinte blanche à crème.

Ecologie

Cette variété, peu commune, se ramasse sous *Fraxinus excelsior* L., sur des sols calcaires très empierrés. Cette espèce a été décrite récemment (Clowez, 2012), découverte par Jean-Pierre Chevrolet dans le Territoire de Belfort.

Iconographie

Clowez, 2012, Planche IX, 23, p 240

Littérature

Clowez, 2012

1.1.1.2.4. Morchella umbrina Boudier

Nom vernaculaire : Morille terre d'ombre

Synonyme : *Morchella esculenta* var. *umbrina* (Boudier)

Description macroscopique

Cette espèce de petite dimension ne mesure pas plus de 7 cm de hauteur. Son chapeau arrondi ou sphérique, rarement ovoïde est reconnaissable à sa coloration noire intense nuancée de gris. Ses alvéoles primaires, assez peu nombreuses et profondes présentent des angles arrondis ainsi que de nombreuses boursouffures. Elles sont délimitées par des côtes longtemps concolores qui deviennent par la suite d'une couleur ferrugineuse. Le pied est souvent plus court que le chapeau. Blanc et glabre, il est renflé et tacheté d'ochracé à la base. La chair, très blanche, dégage une odeur faible.



Figure 11 : *Morchella esculenta* var. *umbrinoides* Clowez - Territoire de Belfort (France) -
Leg Jean-Pierre Chevrollet (Moingeon, 2011)

Description microscopique

Les asques ont une taille de 300 à 350 µm sur 17 à 25 µm et les spores de 18 à 23 µm par 9 à 12 µm. Les paraphyses sont ramifiées et non épaissies au sommet.

Ecologie

Cette espèce peu commune peut parfois être retrouvée en société de plusieurs individus. Très précoce, cette espèce montagnarde est rare en plaine. Elle affectionne particulièrement les terrains calcaires thermophiles et se trouve sous buis (*Buxus sempervirens* L.).

Iconographie

Une description réalisée par André Bride, mycologue franc-comtois du XXème siècle concorde bien avec *Morchella umbrina*, comme il est possible de le voir sur sa planche ci-dessous, hormis sa localisation sous hêtres (*Fagus*) et non sous buis (**Figure 12**) (Moyne, 2016). Il évoque une petite espèce ovoïde ou arrondie dont les alvéoles allongées puis assez arrondies, sont peu divisées, non sériées et d'une couleur brun foncé à brun noir. Les côtes primaires plus pâles ne noircissent pas mais sont très souvent tâchées de rouille. Enfin, le stipe un peu épaissi en bas apparaît très finement granuleux, presque lisse, blanchâtre en haut et un peu roussâtre en bas.

Marchand, 1973 p 189

Littérature : Clowez, 2012 ; Lagarde, 1923

1.1.1.3. *Morchella steppicola* Zerova

Cette espèce représente la première lignée divergente au sein du clade *Esculenta*. Ses caractères morphologiques la distinguent particulièrement des autres espèces. Elle a su s'adapter au climat des steppes, prairies sèches continentales d'Europe centrale (Richard, 2015). Bien que très peu probable en France et encore moins en Franche-Comté, nous la mentionnons malgré tout en raison de ses caractéristiques particulières.

Nom vernaculaire : Morille des steppes



Figure 12 : Illustration de *Morchella umbrina* Boudier (Eléments issus de la planche d'André Bride, 1957) (Moyne, 2016)

Description macroscopique

Cette petite ou moyenne morille (jusqu'à 15 cm) particulière ne ressemble à aucune autre (**Figure 13**) (Moingeon, 2015).

Son chapeau campanulé peut être plus ou moins sphérique et irrégulier. La couleur du chapeau varie du blanc sale un peu gris au brun foncé en passant par le beige et l'ocre jaune.

Ses alvéoles sont caractéristiques. Ondulées, presque totalement fermées au départ, elles s'ouvrent légèrement mais demeurent très étroites et non soudées, ne présentant pas de jonctions transversales, d'alvéoles secondaires ni de boursouffures. Leur structure décrit un aspect labyrinthique parfois avec des bords très sombres.

Le bord des côtes est très épais.

Le stipe court, droit ou courbé, est relativement massif par rapport au chapeau et cylindrique. Il présente un aspect extérieur complexe décrivant de nombreux creux et bosses. Sa surface est plus ou moins granuleuse, caractère qui s'accroît avec l'avancement dans l'âge. La coupe transversale du stipe montre une structure particulière formée de nombreuses circonvolutions.

Contrairement aux autres morilles, le chapeau et le pied ne sont pas creux, mais remplis d'un ensemble de bourrelets caractéristiques.

Description microscopique

Les asques mesurent 210 à 240 μm par 18 à 20 μm . Ils sont operculés, octosporés, cylindriques et hyalins.

Les spores ont une taille de 17 à 21 μm par 10 à 14 μm . D'abord elliptiques, elles s'allongent par la suite. Elles présentent des stries profondes, souvent incomplètes et anastomosées. Hyalines à jaunâtres, elles s'hypertrophient très rapidement laissant apparaître deux à trois grandes guttules lipidiques.

Les paraphyses sont filiformes et cloisonnées, leur sommet est renflé. Mesurant 250 à 280 μm par 7 à 10 μm , elles peuvent contenir un pigment extracellulaire jaunâtre à orange-brun.

Ecologie

Cette espèce fructifie de mars à avril dans les steppes d'Ukraine, de Moldavie, de Russie, de Hongrie, de Serbie, mais est inconnue en France (Perić, 2013). Il n'existe pas actuellement de relation connue avec une espèce d'arbre particulière.



Figure 13 : *Morchella steppicola* Zerova - Vál (Féjer-Hongrie) (Moingeon, 2015)

Comme vu précédemment, sa présence est très peu probable en France notamment en Franche-Comté, où de telles zones steppiques n'existent pas.

Iconographie

Clowez, 2012, Planche XXXVIII, p 296 ; Mikšić, 2013, p 18

Littérature

Clowez, 2012 ; Peric, 2013

1.1.1.4. *Morchella ulmaria* Clowez

Cette espèce est apparemment aujourd'hui uniquement nord-américaine. Cependant, avant que les scolytes déciment l'ensemble des ormes européens, certaines « morilles jaunes » étaient ramassées sous *Ulmus sp.*. Celles-ci pouvaient éventuellement correspondre à *M. ulmaria* bien qu'il n'y ait aucune certitude. Cette espèce est peut-être simplement devenue rarissime en Europe. Ainsi, nous décrivons tout de même cette espèce en se basant sur cette hypothèse.

Synonyme :

Morchella cryptica Kuo et Moore

Nom vernaculaire : Morille de l'Orme

Description macroscopique

Son chapeau décrit une belle couleur jaune paille à maturité. Cette espèce ressemble à *M. ochraceoviridis* Clowez, malgré un aspect un peu plus allongé.

Il présente un aspect frisé particulier dû aux alvéoles primaires jeunes relativement sinueuses.

Le pied blanc, parfois ridulé, s'épaissit à la base.

Description microscopique

Les asques mesurent 300 µm par 24 µm.

Les spores atteignent une taille de 21 µm par 13 µm.

Les paraphyses cylindriques se composent de deux à trois articles dont le dernier est plus long (60 à 90 µm). Peu nombreuses, elles sont regroupées en petits fascicules disséminés.

Les bords des côtes sont très peu pigmentés et constitués d'éléments relativement bien alignés.

Les poils du stipe se composent d'un empilement d'articles plus ou moins globuleux, surmontés d'un élément plus long en forme de quille.

Ecologie

Cette espèce très commune aux Etats-Unis et au Canada se récolte sous des ormes blessés ou mourants (suite à l'attaque d'un Scolyte). Il est aussi possible que ce champignon apparaisse sous *Fraxinus*.

Iconographie

Richard et al., 2015, Figure 4-c, p 367 ; Clowez, 2012, Planche XVII, 41, p 256

Littérature

Clowez, 2012 ; Kuo, 2012 (Sous *M. cryptica*).

1.1.1.5. *Morchella vulgaris* (Pers. : Fr.) Gray

Dans de précédentes nomenclatures basées sur des critères moléculaires et morphologiques, cette espèce était désignée par le nom *Morchella spongiosa* Boud.. En 2012, Philippe Clowez utilise le nom *Morchella vulgaris* pour désigner l'ensemble des espèces phylogénétiquement comparables, et celui-ci est prioritaire sur *M. spongiosa* Boud (Clowez, 2012). Plusieurs espèces sont synonymes de *Morchella vulgaris* (Pers. : Fr.) Gray (**Figure 14**) (Moingeon, 2016).

Il est important de noter que la distinction entre *M. esculenta* et *M. vulgaris* n'est pas toujours évidente, notamment dans la jeunesse car certains exemplaires de *M. esculenta* présentent des colorations gris brun, assez foncées.

Après la description de l'espèce type *Morchella vulgaris*, nous citerons les espèces qui lui sont rattachées.



Figure 14 : *Morchella vulgaris* (Pers. : Fr.) Gray - Goux-les-Usiers (Doubs-France) sous sapins et épicéas (Moingeon, 2016)

Synonymes :

Morchella acerina Clowez et Boulanger

Morchella andalusiae Clowez et Romero

Morchella anthracina Clowez et Vanhille

Morchella conica var. *pygmaea* Clowez et Delaunoy

Morchella lepida Clowez et Petit

Morchella robiniae Clowez

Morchella vulgaris var. *aucupariae* Clowez et Moingeon

Morchella spongiola Boudier

***Morchella vulgaris* (Pers. : Fr.) Gray**

Nom vernaculaire : Morille commune

Description macroscopique

Cette espèce charnue, de taille moyenne peut parfois être assez grande (10 à 15 cm de haut).

Son chapeau à l'allure cérébriforme est d'abord triangulaire-obtus, puis ovoïde ou oblong et peut même présenter un aspect typique en « béret basque » penché d'un côté.

Chez les jeunes exemplaires, la couleur noirâtre à gris-cendré peut être ponctuée de nuances violacées. Avec l'âge, sa teinte s'éclaircit, il devient gris-clair sale à ocre jaunâtre et même crème, presque blanc.

Les alvéoles primaires sont très irrégulières et polymorphes. Elles sont délimitées par des côtes épaisses, sinueuses et appendiculées.

Le bord des côtes semble saupoudré de blanc avec des amas de poils brillants. Les côtes secondaires sont incomplètes et malformées ; elles laissent apparaître de nombreuses boursouflures, ainsi que de petits appendices plus ou moins développés apparentés à des hernies.

Le stipe, blanchâtre et presque glabre, est largement dilaté à la base (aspect de pied d'éléphant), et présente de nombreux sillons. Sa taille représente un peu moins de la moitié de la hauteur totale du champignon.

Description microscopique

Les asques mesurent 300 à 350 µm par 15 à 20 µm.

Les spores atteignent une taille d'environ 18 à 20 µm par 10 à 12 µm. Ils sont émis très tardivement, quasiment au moment de son pourrissement.

Les paraphyses, fuligineuses, sont à peine épaissies au sommet. Nombreuses et disposées en bouquet, elles présentent initialement une couleur grisâtre mais vont s'éclaircir avec l'âge. Elles sont articulées et se composent de deux à quatre articles cylindriques, dont le terminal, plus long, peut parfois être ampullacé.

Le bord des côtes est difficilement visualisable car ses éléments claviformes sont englués dans une calotte de pigment.

Les poils du stipe présentent une pigmentation granuleuse et sont constitués d'un ou deux articles claviformes (40-65 µm par 15 µm).

Ecologie

Cette espèce est très commune en Europe. On la retrouve très souvent sous *Fraxinus excelsior* L. associé à *Hedera helix* L., mais sa présence a déjà été constatée également sous lilas (*Syringa vulgaris* L.), troëne (*Ligustrum vulgare* L.) ou olivier (*Olea europaea* L.), plus rarement mais parfois sous conifères (*Abies*, *Picea*).

Iconographie

Boudier, 1909, tome II, planche 202 ; Richard et al., 2015, figure 4-a, p. 367 ; Clowez, 2012, planche XXIV, p. 269.

Littérature

Clowez, 2012 ; Lagarde, 1923.

1.1.1.5.1. *Morchella spongiola* Boudier

Nom vernaculaire : Morille petite éponge

Description macroscopique

Morchella spongiola est une petite espèce, dépassant rarement 5 cm de hauteur.

Son chapeau arrondi ou subglobuleux, est rarement ovoïde. Sa couleur évolue rapidement d'un gris cendré clair dans la jeunesse vers des teintes ochracé-clair et sales.

Les alvéoles primaires sont petites, nombreuses et assez peu profondes. Leur alignement flexueux décrit un aspect frisé du chapeau qui s'estompe avec la maturité. Ils sont délimités par des côtes sinueuses, parfois ferrugineuses. Les alvéoles secondaires sont absentes.

Le stipe, blanchâtre et glabre, de forme cylindrique, est légèrement épaissi à la base et sa longueur correspond à peu près à celle du chapeau.

Description microscopique

Les asques mesurent 250 à 300 µm par 15 à 20 µm.

Quant aux spores, leurs dimensions sont comprises entre 20 et 25 µm par 12 à 13 µm.

Les paraphyses, cylindriques et cloisonnées, sont ramifiées et non épaissies au sommet.

Ecologie

Cette espèce est peu commune en France. On la trouve dans les forêts alluviales, au bord des rivières, en présence d'orme lisse (*Ulmus laevis* Pall.) parfois accompagné d'*Ulmus minor* Mill..

Confusion

M. spongiola possède des caractéristiques très ressemblantes à *M. umbrina*. Les critères importants pour leurs distinctions sont principalement la coloration du chapeau, la longueur des asques ainsi que le diamètre des spores.

D'autre part, cette espèce peut être présente dans les stations semblables à *M. esculenta*. Pour les différencier, il est nécessaire d'être vigilant à certains détails, notamment les dimensions du carpophore, l'alignement des alvéoles ainsi que les arbres associés.

Iconographie

Boudier, 1909, tome II, Planche 200 ; Clowez, 2012, Planche XXIII, p 268

Littérature

Clowez, 2012 ; Lagarde, 1923

1.1.1.5.2. *Morchella vulgaris* var. *aucupariae* Clowez et Moingeon

Nom vernaculaire : Morille comestible, variété du sorbier des oiseleurs (**Figure 15**) (Moingeon, 1992)

Description macroscopique

Cette petite variété mesure de 3 à 5 cm.

Son chapeau décrit une forme particulièrement ronde et affiche une coloration plutôt brun sale un peu rosé.

Les alvéoles primaires sont peu nombreuses, mal formées et très sinueuses. Les alvéoles secondaires sont absentes.

Le bord des côtes, épais, est initialement blanchâtre et devient rouge orangé un peu rosâtre dans l'avancement.

Le stipe blanchâtre s'élargit à la base et se tache de brun rosé.

Ecologie

Cette variété très rare se récolte sous *Sorbus aucuparia* L. (Sorbier des oiseleurs), d'où elle tient son nom, et peut parfois pousser à proximité de frênes. Elle a été décrite récemment (Clowez, 2012) ; l'holotype ayant servi à la description provient de Franche-Comté, plus précisément de Métabief dans le Doubs.

Iconographie

Clowez, 2012, Planche XXVI, 60, p 273

Littérature : Clowez, 2012

1.1.1.6. *Morchella hetieri* Boud.

Nom vernaculaire : Morille d'Hétier



Figure 15 : *Morchella vulgaris* var. *aucupariae* Clowez et Moingeon - Métabief (Doubs-France) - *Locus classicus* sous *Sorbus aucuparia* (Moingeon, 1992)

Description macroscopique

Morchella hetieri Boud. est une petite ou moyenne espèce qui mesure de 4 à 6 cm de hauteur. Cette espèce rare possède un chapeau subsphérique à ovale de couleur jaune-ochracé.

Les alvéoles sont non sées, arrondies ou oblongues, adnées. Elles sont séparées par des côtes légèrement flexueuses.

Le stipe cylindrique est entièrement recouvert d'une pubescence veloutée de couleur bai-fauve caractéristique. Sa taille est approximativement égale à celle du chapeau ou légèrement plus petite. Il peut se montrer légèrement épaissi et sillonné à la base (**Figure 16**) (Boudier, 1903).

Description microscopique

Les asques mesurent de 350 à 400 µm de longueur sur 20 à 28 µm de largeur. Elles présentent un aspect cylindrique et sont à peine atténuées à la base.

Les spores sont elliptiques et légèrement colorées. Leur taille atteint 22 à 25 µm de longueur par 13 à 15 µm de large.

Les paraphyses sont ramifiées et faiblement épaissies au sommet.

Les poils du stipe présentent une coloration fauve qui devient légèrement plus pâle au sommet. Ils sont cloisonnés et mesurent de 100 à 200 µm de long sur 20 à 28 µm de large.

Ecologie

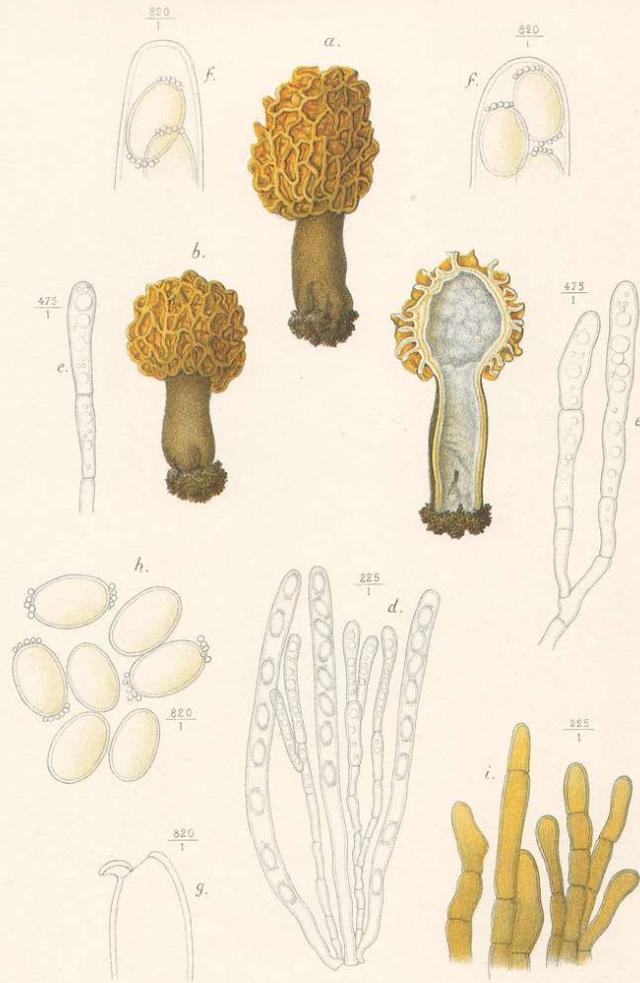
Cette espèce rare est à rechercher dans les forêts de feuillus. Elle tient son nom de Monsieur François Hétier qui l'a ramassée dans un bois à feuilles caduques des environs d'Arbois.

Iconographie

Boudier, 1903, planche 197.

Littérature

Boudier, 1903 ; Lagarde, 1923.



E. Boudier, del.

A. Lasne, lith.

E. Marchiset, impr. Paris.

MORCHELLA HETIERI. Boud.

Paul Klincksieck, Editeur, Paris.

Figure 16 : *Morchella hetieri* Boud. Planche originale de Boudier (1903)

1.1.2. Section *Distantes* / Clade *Elata*

Cette section correspond aux morilles distantes d'Emile Boudier et au clade *Elata* d'O'Donnell *et al.* (Boudier, 1907 ; O'Donnell, 2014). Traditionnellement, elles sont appelées « morilles noires ou morilles coniques ».

Les études phylogénétiques récentes comptent vingt-sept espèces différentes dans ce groupe (Richard, 2015).

Chez ces espèces, il existe une vallécule évidente, voire très prononcée. Les couleurs brunes et grises sont dominantes et les arrêtes des alvéoles primaires sont souvent noircissantes.

1.1.2.1. *Morchella deliciosa* Fr. : Fr.

Synonymes :

Morchella conica var. *flexuosa* Clowez et Martin

Morchella conica var. *nigra* Clowez et Moyne

Morchella conica var. *violeipes* Clowez et Mourgues

Morchella conica Pers. : Fr., Persoon

Morchella conica var. *meandriiformis* Clowez et Moyne

En 2012, Philippe Clowez regroupait l'ensemble de ces espèces sous le nom de *Morchella conica* et ses variétés. D'après l'étude de Richard *et al.* ce nom est considéré comme illégitime et ces espèces sont rassemblées sous le nom *Morchella deliciosa*. Après la description de l'espèce type, nous décrivons certaines espèces synonymes et susceptibles d'être rencontrées en Franche-Comté.

Morchella deliciosa Fr. : Fr.

Nom vernaculaire : Morille délicate, Morille conique (**Figure 17-18**) (Photographie personnelle, 2016 ; Moingeon, 2008)

Description macroscopique



Figure 17 : *Morchella deliciosa* Fr : Fr – Bonnevaux (Doubs-France) (Photographie personnelle, 2016)



Figure 18 : *Morchella deliciosa* Fr. : Fr. - Doubs (France) (Moingeon, 2008)

Cette espèce de taille moyenne, 6 à 9 cm de haut, présente une consistance et un aspect robuste.

De couleur toujours claire au départ, elle s'assombrit avec l'âge où les côtes deviennent noirâtres. Certains exemplaires peuvent présenter des couleurs rose carné, pourpres ou olives à certains stades de leur maturation.

Le chapeau, 3 à 6 cm de hauteur par 2,5 à 3 cm de large, de forme conique, obtus, se courbe plus ou moins d'un côté et révèle une allure souvent dissymétrique. Sa coloration évolue d'un gris-brun clair vers un brun-olive noirâtre.

Le stipe blanchâtre peut présenter parfois des teintes ochracées ou rougissantes. Court (2,5 à 4 cm) fin, et cylindrique, il peut être légèrement renflé à la base. Finement furfuracé, il apparaît sillonné et ridé.

La vallécule, bien marquée, reste visible même à maturité.

Les alvéoles primaires demeurent très allongées et sinueuses, bien serties et profondes. Elles sont séparées par des côtes primaires longitudinales épaisses, qui s'amincissent dans le temps, plutôt irrégulières et courbées, devenant légèrement rectilignes. Les côtes transversales divisent parfois les alvéoles en cavités secondaires plus petites, profondes et peu régulières.

La chair épaisse et blanchâtre, dégage une saveur douce et un parfum de miel fruité très agréable.

La sporée est de couleur crème.

Description microscopique

Les spores sont rainurées et mesurent 23,4 à 25,7 µm par 12,8 à 14,6 µm.

Les paraphyses s'épaississent aux extrémités.

Dimension des asques : 300 sur 20 µm.

Ecologie

Cette espèce printanière très commune est retrouvée en mars et avril, dans les forêts de moyenne montagne, en lisière de feuillus et de conifères, sur des terres de verger, dans les gazons, au bord des champs et le long des fossés. Fréquemment sous *Picea* et *Abies* en Franche-Comté, elle se fond dans son environnement et, est parfois difficile à déceler. Dans certaines régions de plaine, cette espèce semble pousser également sous feuillus, notamment les frênes (Clowez, 2012).

En Franche-Comté, cette espèce est très fréquente et répandue aux étages montagnards mais se fait rare aux étages inférieurs. Sa distribution est visible sur la carte de répartition disponible en **annexe 5** (Société mycologique du Pays de Montbéliard, 2011). Elle semble suivre *Abies alba* Mill. sur les premiers plateaux du Jura et au fur et à mesure que ce conifère se raréfie en altitude (à partir d'environ 1000 m d'altitude et au-delà) elle s'accommode et pousse abondamment sous *Picea abies* (L.) H. Karst.

Comestibilité

Cette morille est, comme son nom l'indique, l'une des meilleures morilles. Elle sèche extrêmement bien et conserve tous ses arômes. Récoltée abondamment en Inde, elle est expédiée dans le monde entier sous forme desséchée.

Iconographie

Marchand, 1986, p 193 ; Röllin, Anthoine, 2002, p 30 ; Richard, 2015, Figure 4-i, p. 367

Littérature

Lagarde, 1923 ; Clowez, 2012 ; Röllin, Anthoine, 2001 ; Chaumeton et al, 2010.

1.1.2.1.1. *Morchella conica* var. *nigra* Clowez et Moyne

Nom vernaculaire : Morille conique, variété noire (**Figure 19**) (Moingeon, 2008)

Description macroscopique

Son chapeau de 8 à 10 cm peut atteindre 15 cm chez les plus grands exemplaires. De forme conique, son sommet est arrondi obtus et sa base très large, 5 à 8 cm. Il est nettement séparé du pied par une profonde vallécule.

Les côtes primaires longitudinales peuvent être divisées et décrivent une coloration variant du brun-noir au noir. Elles ont un aspect velouté et délimitent des alvéoles très profondes (environ 1 cm). Les côtes horizontales ou obliques, sont, elles, plus basses. La couleur de l'hyménium plutôt gris chez les jeunes exemplaires, devient brun foncé et même noirâtre à maturité.



Figure 19 : *Morchella conica* var. *nigra* Clowez et Moyne - Bonnevaux (Doubs-France) - *Locus classicus* sous *Abies alba* (Moingeon, 2008)

Le stipe est cylindrique et légèrement évasé à la base. Court (3-4 cm par 2-3 cm) et blanc, il s'allonge et devient ochracé avec l'âge.

Description microscopique

Les spores ellipsoïdales, lisses et hyalines, mesurent de 24 à 18 µm.

La dimension des asques atteint 280 à 320 µm par 15 à 20 µm.

Les paraphyses, cloisonnées au milieu, possèdent un article terminal légèrement renflé.

De longs articles claviformes et de couleur brunâtre constituent le bord des alvéoles primaires.

Ecologie

Cette variété est peu commune. Elle a été récoltée sous de très vieux sapins, vers 900 m d'altitude, dans le Doubs par G. Moyne (description récente et *locus classicus* commune de Bonnevaux dans le Doubs).

Iconographie

Clowez, 2012, Planche XLV, p 309

Littérature

Clowez, 2012 ; Mikšić, 2013, p 100 sous *Morchella elata*

1.1.2.1.2. *Morchella conica* var. *meandriiformis* Clowez et Moyne

Nom vernaculaire : néant

Description macroscopique

Cette variété de taille moyenne à grande, peut parfois dépasser 20 cm de hauteur.

Le chapeau présente une coloration crème sale, et une forme ovoïde ou conique à légèrement acuminée.

La particularité réside dans les alvéoles primaires, qui évoquent les méandres très tortueux d'un fleuve. Ceux-ci sont délimités par des côtes souvent doubles et concolores.

Le stipe est très court, et on note la présence, au niveau de son insertion avec le chapeau, d'une vallécule.

Ecologie

Cette variété de *Morchella conica*, très rare, a été récoltée sous de vieux sapins, en compagnie de noisetiers et de prunelliers, par G. Moyne dans le Doubs (Commune de Levier - Les Granges-Maillots). Elle n'a pas été retrouvée récemment dans ce secteur malgré plusieurs recherches chaque année (G. Moyne, communication personnelle).

Iconographie

Clowez, 2012, Planche XLIV, p 308

Littérature

Clowez, 2012

1.1.2.2. *Morchella dunalii* Boud.

Synonyme : *Morchella fallax* Clowez et Martin

Nom vernaculaire : Morille de Dunal (**Figure 20**) (Moingeon, 1996)

Description macroscopique

Cette espèce est de taille petite à moyenne (3 à 7 cm).

Les jeunes exemplaires sont initialement entièrement blancs, mais le bord des alvéoles devient rapidement noir. Avec l'âge, les alvéoles brunissent également. Cependant, leurs fonds restent pâles. Cette spécificité permet une reconnaissance macroscopique assez aisée. Elle partage toutefois ce caractère avec *Morchella purpurascens* d'écologie différente.

Les alvéoles secondaires sont très nombreuses ce qui confère à ce champignon un aspect général assez régulier.

Le stipe blanc s'épaissit à la base.

Le chapeau est souvent arrondi.

La vallécule entre le chapeau et le pied est présente mais pas toujours évidente.



Figure 20 : *Morchella dunalii* Boud. - Chypre (Moingeon, 1996)

Description microscopique

Les asques mesurent de 250 à 300 µm par 16 à 18 µm, et les spores, ellipsoïdales et hyalines atteignent une taille de 24 par 13 µm. Elles présentent des stries peu profondes difficiles à observer donnant un aspect d'ondulation.

Les paraphyses sont souvent bifurquées et composées d'un à quatre articles, dont le terminal est ampullacé.

Le bord des alvéoles est constitué par plusieurs éléments formés d'un imposant article à contenu brunâtre, en forme de massue et à fort renflement terminal globuleux d'environ 60 µm de diamètre.

Les poils du stipe correspondent à des amas pyramidaux de cellules subglobuleuses, peu colorées et surmontées d'un ou deux éléments plus allongés.

Ecologie

Cette espèce, surtout commune en Espagne, est récoltée sous chêne vert (*Quercus ilex* L.), sous *Pinus halepensis* Mill. et d'autres *Pinus* sp. Certainement largement répandue dans le Bassin Méditerranéen, elle semble assez rare dans le sud de la France. Elle doit être recherchée plus au nord, notamment dans les pinèdes thermophiles. Elle est peu probable en Franche-Comté.

Iconographie

Moreau et al., 2011, p 264 ; Richard, 2015, Figure 4-k, p. 367 ; Clowez, 2012, Planche XLIX, 105, p 317

Littérature

Clowez, 2012 ; Moreau, 2011

1.1.2.3. *Morchella eximia* Boud.

Synonymes :

Morchella eximia f. *multiformis* Clowez

Morchella anthracophila Clowez et Winkler

Morchella carbonaria Clowez et Chesnaux

Morchella septimelata Kuo

Morchella eximia f. *acuminata* (Kickxt.) Clowez

Nom vernaculaire : Morille remarquable (**Figure 21**) (Boudier, 1909)

Description macroscopique

Cette espèce moyenne (6 à 9 cm de haut) semble souvent charnue. D'ailleurs, certains exemplaires peuvent atteindre une taille de 20 cm.

Le chapeau, oblong à conique obtus, peut parfois même, être un peu acuminé. Sa coloration relativement uniforme s'étend de l'ochracé-fauve au fauve et au brun-clair. Il est séparé du stipe par une vallécule bien évidente.

Le pied, plus court que le chapeau (4 cm par 2 cm), apparaît assez grumeleux et furfuracé et légèrement atténué à la base. Sa couleur passe du blanc à l'ochracé-cendré-pâle.

Les alvéoles primaires, petites et sériées, sont rarement anastomosées. Très allongées longitudinalement et épaisses, elles décrivent un aspect général fortement boursoufflé. Elles sont délimitées par des côtes non épaissies, qui descendent jusqu'à la marge et dont les bords noircissent rapidement, ainsi que par des saillies transversales assez régulières. Les alvéoles secondaires, plus petites, peuvent être nombreuses mais restent peu visibles, notamment chez les jeunes ascomes.

Description microscopique

Les asques mesurent 280 à 330 µm par 22 à 25 µm. Ils contiennent des spores de dimensions comprises entre 20 et 23 µm par 13 à 14 µm.

Les paraphyses, rameuses, se composent de deux à quatre, parfois cinq éléments de 10 à 40 µm de long. Souvent cloisonnées, leurs extrémités sont renflées en massue. Le bord des côtes à éléments hyalins, allongés, est constitué d'un à trois articles de 25 à 45 µm de longueur sur 6 à 8 µm de large.

Les poils du stipe correspondent à un empilement de sphérocytes de 20 à 60 µm de diamètre chacun.

Ecologie

Cette espèce peu commune possède un habitat très spécial, les charbonnières, où on peut la retrouver avec une densité très importante, allant de 20 à 30 spécimens au mètre carré. Consécutivement aux incendies de forêts, notamment dans les pinèdes,



Figure 21 : *Morchella eximia* Boud. - Planche originale de Boudier (Boudier, 1909)

en zone méditerranéenne, on observe parfois des poussées de plusieurs centaines ou milliers d'individus dans les une à deux années suivantes. Cette espèce est certainement rare en Franche-Comté, et peut-être confondue avec la suivante, *Morchella importuna*.

Iconographie

Boudier, 1909, tome II, Planche 208 ; Richard, 2015, Figure 4-j, p 367 ; Clowez, 2012, Planche LV, p 329

Littérature

Clowez, 2012 ; Lagarde, 1923

1.1.2.4. *Morchella importuna* Kuo, O'Donnell et Volk

Synonymes :

Morchella costata (Vent.) Pers.

Morchella elata Fr. : Fr. (sensu Clowez, 2012)

Morchella vaporaria Bartayrès ex Brond.

Morchella vaporaria var. *tholiformis* Clowez et Courtecuisse

***Morchella importuna* Kuo, O'Donnell et Volk**

Nom vernaculaire : Morille côtelée, Morille d'écorces (**Figure 22**) (Moingeon, 2011)

Description macroscopique

Cette espèce atteint jusqu'à 20 cm de hauteur.

Le chapeau mesure de 3 à 15 cm de hauteur sur 2 à 9 cm de large. Sa forme est plutôt conique à franchement conique et occasionnellement ovoïde. Il présente une apparence typique d'échelle de par ses douze à vingt côtes longitudinales et ses nombreuses arêtes transversales.

Il existe une vallécule, de 2 à 5 mm de profondeur et de largeur, qui relie le pied et le chapeau.

Sa coloration évolue du gris pâle au gris foncé à l'état jeune à un brun grisâtre presque noir à maturité.



Figure 22 : *Morchella importuna* Kuo, O'Donnell et Volk - Villeneuve d'Amont (Doubs-France) (Moingeon, 2011)

L'intérieur des alvéoles est d'abord gris à gris foncé puis progresse vers des teintes brun-grisâtre, olive-grisâtre ou même jaune brunâtre à maturité.

Le stipe est de couleur blanchâtre à brun-pâle et mesure environ 10 cm de haut. Il est glabre ou finement farineux, présentant des petites granules blanchâtres. A maturation, on peut observer l'apparition de rides et de sillons.

Description microscopique

Les spores mesurent 18-24 µm par 10-13 µm et sont de forme elliptique. Elles ne présentent pas de stries mais de vagues plis cérébriformes.

Les asques contiennent huit spores. Cylindriques et hyalines, leurs dimensions sont de 220 à 300 µm par 12 à 25 µm.

Les paraphyses septées et cylindriques mesurent 150 à 250 µm par 7 à 15 µm.

Ecologie

Cette espèce se retrouve du mois de mars au mois de mai dans des localisations tantôt urbaines telles que les jardins, les jardinières, les écorces (Mulch, paillis) tapissant les aménagements paysagers, tantôt forestières aux endroits où du bois a été coupé ou entreposé. Quelques forêts du Haut-Doubs et Haut-Jura très endommagées par les tempêtes de 1999 (Ouragan Lothar et Martin) ont fait l'objet de cueillettes de plusieurs milliers de ces morilles dans les une à deux années suivantes.

Iconographie

Jacquetant, 1984, p 40-41 sous *Morchella costata*, Bon, 2012, p 327 sous *Morchella costata*

Littérature

Kuo, 2012

1.1.2.4.1. *Morchella vaporaria* Bartayrès ex Brond

Nom vernaculaire : Morille des serres

Synonyme : *Morchella hortensis* Boudier

Description macroscopique

Cette espèce de taille moyenne à grande peut atteindre jusqu'à 12 cm.

Son chapeau, de couleur brun à brun foncé uniforme, présente une forme ovoïde régulière. A maturité, un léger éclaircissement peut s'observer, puis il devient ochracé avant de pourrir. On retrouve au sommet une calotte acuminée qui laisse place à une cavité avec l'âge.

Son chapeau est séparé du pied par une fine vallécule peu marquée voir même non apparente.

Le stipe, assez court, s'épaissit faiblement à la base. D'abord blanchâtre, puis ochracé sale, il est finement furfuracé et sillonné.

Les alvéoles primaires, sériées, fusiformes et très profondes sont disposées de manière très irrégulière. Elles sont délimitées par des côtes longitudinales flexueuses et appendiculées, ainsi que par des plis irréguliers et peu saillants. Les côtes épaisses présentent une teinte légèrement plus pâle que les alvéoles et ne noircissent pas. Leurs bordures se ponctuent de blanchâtre. Ce dernier caractère est un critère d'identification supplémentaire.

Description microscopique

Les asques mesurent 350 à 400 µm par 25 à 28 µm et contiennent des spores dont les dimensions sont comprises entre 25 et 30 µm par 16 à 18 µm.

Les paraphyses, de 200 µm de long, sont ramifiées, irrégulièrement renflées en fuseau, et cloisonnées à la base.

Les poils du stipe, de forme cylindrique à claviforme, mesurent environ 50 µm.

Ecologie

Cette espèce apparaît de manière générale en plaine, sur des substrats organiques en voie de décomposition. Elle peut se retrouver dans les jardins, les serres, le terreau et parfois même dans des décharges d'ordures.

Confusion

Une confusion est possible avec l'espèce *Morchella importuna*. Cependant, celle-ci dispose d'alvéoles beaucoup plus régulières ainsi que d'une vallécule. De plus, sa coloration n'est pas aussi foncée.

Iconographie

Clowez, 2012, Planche XXXVI, p 292

Littérature

Clowez, 2012 ; Lagarde, 1923

1.1.2.4.2 *Morchella vaporaria* var. *tholiformis* Clowez et Courtecuisse

Nom vernaculaire : Morilles des serres, variété en dôme

Description macroscopique

Cette espèce est de taille moyenne (5 à 7 cm).

Son chapeau possède une forme caractéristique en dôme de cathédrale orthodoxe. D'un aspect frisé, il est d'une coloration brun-noir à noir avec certains reflets violets.

Iconographie

Clowez, 2012, Planche XXXVII, p 293

Littérature

Clowez, 2012

1.1.2.5. *Morchella purpurascens* (Boud.) Jacquet

Nom vernaculaire : Morille pourpre, Morille conique variété empourprée (**Figure 23**) (Moingeon, 2009)

Description macroscopique

Cette belle morille, d'aspect souvent trapu, possède un chapeau présentant des nuances purpurines caractéristiques. Cette coloration rosée à lilacine, visible au fond des alvéoles, s'accroît quelques heures après la récolte. Elle se retrouve principalement sur les espèces de morilles récoltées en montagne. Philippe Clowez énonce une hypothèse pour expliquer ce phénomène (Clowez, 2012). Celui-ci serait dû à la présence d'anthocyanes, dissous dans les vacuoles des cellules épidermiques



Figure 23 : *Morchella purpurascens* (Boud.) Jacquet. - Doubs (France) (Moingeon, 2009)

des conifères. Ces molécules, très sensibles au pH, se révèlent rouge orangé en milieu acide et plutôt bleu mauve en milieu alcalin.

De forme conique à ovoïde, au sommet obtus, le chapeau se révèle parfois rond ou cylindrique avant d'arriver à maturité.

Le stipe d'abord de taille inférieure à celle du chapeau, laisse apparaître une surface blanche, parfois subtilement lavé de rose dans la vieillesse, et de nettes furfurations. A maturité le stipe s'allonge et devient nettement plus long que le chapeau. C'est à ce stade que plusieurs auteurs ont cru reconnaître d'autres morilles comme *Morchella distans* (Fr.) Boudier.

La vallécule est clairement visible, même chez les exemplaires les plus âgés.

La chair, fine, de couleur blanchâtre, dégage une odeur douce et légère.

Description microscopique

La taille des spores est évaluée entre 19 et 22 µm par 12 à 14 µm. Elles présentent des stries bien visibles, pas toujours régulières et parfois très anastomosées.

Les asques mesurent 380 µm par 23 µm.

Les paraphyses ressemblent à celles de *M. importuna*, avec cependant des dimensions moindres.

Ecologie

Cette variété affectionne les milieux humides, principalement dans les forêts de conifères. Très commune, elle est récoltée en très grand nombre par G. Moyne (Doubs), particulièrement sous jeunes *Picea abies* (L.) H. Karst.

Iconographie

Jacquetant, 1984, p 45 ; Richard, 2015, Figure 4-n, p 367 ; Clowez, 2012, Planche XLVI, p. 312, sous *Morchella conica* var. *purpurascens*.

Littérature

Clowez, 2012 ; Palazon Lozano, 1994.

1.1.2.6. *Morchella semilibera* (DC. : Fr.) Quel.

Synonymes :

Mitrophora semilibera (DC. : Fr.) Lèv.
Morchella patula var. *semilibera* (DC. : Fr.) Imai
Phallus gigas Batsch : Fr
Morchella gigas (Batsch : Fr.) Pers.
Eromitra gigas (Batsch : Fr.) Lèv.
Ptychoverpa gigas (Batsch : Fr.) Boud.
Phallus undosus Batsch : Fr.
Morchella undosa (Batsch : Fr.) Pers.
Phallus crassipes Vent. : Fr.
Morchella crassipes (Vent. : Fr.) Pers.
Morchella esculenta var. *crassipes* (Vent. : Fr.) Krombh.
Mitrophora hybrida var. *crassipes* (Vent. : Fr.) Boud.
Helvella hybrida Sowerby
Morchella hybrida (Sowerby) Pers.
Mitrophora hybrida (Sowerby) Boud.
Morchella varisiensis Ruini
Morchella gigas var. *tintinnabulum* Clowez et Moinet

Nom vernaculaire : Morillon, Mitrophore hybride (**Figure 24**) (Photographies personnelles, 2016)

Description macroscopique

Ce morillon est une grande espèce, mesurant de 8 à 15 cm, voir même plus.

Son chapeau, court, conique ou ovoïde, au sommet pointu et aux bords arrondis, reste relativement stable dans le temps. Brun-clair à brun foncé, voir brun-olivâtre, il est libre de sa base jusqu'à la moitié de sa hauteur.

Les alvéoles primaires sont délimitées par des côtes verticales anastomosées plus ou moins régulières et des côtes obliques assez peu nombreuses. Ces côtes verticales brunâtres sur fond ochracé ainsi que les petits plis transverses forment un réseau d'alvéoles assez régulier. Les alvéoles décrivent plutôt une forme losangique dans la partie supérieure du chapeau, alors qu'on distingue plutôt une forme rectangulaire dans la partie inférieure. Leurs fonds sont toujours bien visibles.

La bordure des côtes est initialement concolore aux alvéoles puis noircit et se dessèche.



Figure 24 : *Morchella semilibera* (DC. : Fr.) Quel.- Villeneuve d'Amont (Doubs-France)(Photographies personnelles, 2016)

Le stipe, creux et cylindrique, est très allongé. Il peut mesurer jusqu'à 15 cm. D'une couleur blanc crème, ochracé pâle, il est fortement furfuracé, ridé et sillonné, et devient bossu et fragile avec l'âge. Légèrement aminci à la base, il s'ancre peu dans le sol et tombe facilement.

La chair, peu épaisse et grisâtre, dégage une odeur spermatique s'apparentant légèrement à celle d'un fromage frais.

Cette espèce varie dans le temps et suivant les stations. Ceci explique la longue liste de synonymes.

Description microscopique

Les asques, cylindriques, mesurent 270 à 310 µm par 20 à 28 µm. Ils s'atténuent à la base en forme de crosse où les spumosités (gouttes lipidiques) s'accumulent.

Les spores ont une dimension de 20 à 27 µm par 12 à 16 µm.

Les paraphyses atteignent la même taille que celle des asques. Elles sont composées de trois ou quatre articles dont l'élément terminal est plus long et ampullacé.

Le bord des côtes présente une structure hyméniforme. Cependant, elle est difficilement visualisable en raison de la présence d'une pigmentation intense.

Les poils du stipe décrivent deux aspects différents. L'un correspond à un élément sphérique surmonté d'un second article allongé, tandis que l'autre est un empilement de trois articles globuleux associé à un ou deux articles allongés au sommet.

Ecologie

Cette espèce commune au printemps, du mois d'avril au mois de mai, apprécie surtout les zones humides et fraîches. Elle est fréquente dans les bois, les parcs et jardins, ainsi qu'au bord des cours d'eau. Elle apparaît dans les vallons argileux parmi l'herbe et l'humus. Elle a été retrouvée à proximité de noisetiers, près des aulnes et des peupliers ; ainsi que sous *Fraxinus excelsior* L. en compagnie de *Ranunculus ficaria* L. (Ficaire fausse renoncule) et parfois d'*Adoxa moschatellina* L. (Moscatelline).

Très commune, elle est parfois observée en groupe de plusieurs dizaines d'individus. Elle est fréquemment associée dans des stations avec la pézize veinée et les verpes. En Franche-Comté, cette espèce est très répandue et assez fréquente, aussi bien à l'étage collinéen qu'en zones montagnardes. Elle existe en zones calcaires, mais elle est absente des zones trop acides. La carte de répartition régionale réalisée par les membres de la société mycologique du Pays de Montbéliard ainsi que par les

membres des sociétés voisines est disponible en **annexe 6** (Société mycologique du Pays de Montbéliard).

Confusion

Il existe un risque de confusion avec les morilles. Celles-ci se distinguent par la base du chapeau soudé au pied contrairement aux morillons où elle reste libre. Ce critère macroscopique a longtemps valu à ce champignon d'être placé dans un genre à part (*Mitrophora*). Cependant, les analyses biomoléculaires ne confirment pas cette information et le désignent comme une *Morchella* typique.

Iconographie

Marchand, 1973, p 191 sous *Mitrophora semilibera* ; Bon, 2012, p 327 sous *Mitrophora semilibera* ; Boudier, 1909, tome II, Planche 216 ; Richard, 2015, Figure 4-o, p. 367 ; Clowez, 2012, Planche LX, 125, p 340 sous *Morchella gigas*

Littérature

Clowez, 2012 ; Bon, 2012 ; Chaumetonl, 2010 ; Ouvrage collectif, 2008 ; Montegut, 1992

1.1.2.7. *Morchella tridentina* Bres.

Synonyme : *Morchella frustrata* Kuo

Nom vernaculaire : Morille du Trentin (**Figure 25**) (Moingeon, 2009)

Description macroscopique

Orné de son chapeau haut de 6 à 10 cm et large de 2,5 à 3,5 cm, *Morchella tridentina* Bres. est une espèce beaucoup moins charnue que *Morchella conica*. A l'inverse de *Morchella elata* ou *Morchella deliciosa*, sa couleur varie du gris-noirâtre à l'état jeune, au gris, pour terminer ochracé-pâle, taché d'orange ou de rougeâtre. Ovoïde ou conique-obtus, il s'attache au pied par une vallécule bien marquée de 2 à 3 mm de profondeur.



Figure 25 : *Morchella tridentina* Bres. – Signes (Var-France) (Moingeon, 2009)

Les alvéoles primaires demeurent plutôt irrégulières, très allongées et assez bien alignées ; semblablement, les alvéoles secondaires sont régulièrement alignées mais beaucoup plus nombreuses.

Les côtes longitudinales, modérément espacées et plus ou moins parallèles sont généralement divisées et partiellement anastomosées. Ce caractère macroscopique important tend à disparaître avec l'âge. Concolores ou légèrement plus pâles que les alvéoles, elles ne s'érodent pas ou peu en vieillissant. Les côtes transverses secondaires chez les exemplaires jeunes sont peu visibles. A maturité, elles forment un motif d'échelle plus visible.

Le stipe très court (3 à 6 cm de hauteur par 1,5 à 4 cm de large), cylindrique, s'élargit à la base et devient sillonné. D'un blanc pur, il vire au blanc ochracé, parfois teinté de rougeâtre.

La chair dure et cireuse, dégage une subtile et douce odeur spermatique.

Description microscopique

Les spores sont hyalines, lisses, elliptiques à ovoïdes, et mesurent 21 à 24 μm par 10 à 14 μm .

Les asques renferment 8 spores et possèdent un septum basal. Cylindriques, amyloïdes, hyalines et unisériées, elles mesurent de 260 à 330 μm par 17 à 25 μm .

Les paraphyses, d'abord cylindriques, évoluent vers une forme cylindrique capitée puis clavée. Composées de deux à trois segments, elles mesurent 95-250 μm par 10-20 μm . La partie inférieure de l'élément terminal renferme un pigment jaune-ochracé.

Ecologie

Cette espèce peu courante est retrouvée à une altitude supérieure à 500 mètres, sur des sols calcaires, neutres, ou légèrement acides. Sa période de fructification s'étend de fin mars à début mai.

De manière isolée ou en petit groupe de quelques individus, elle est rapportée sous ou à proximité des *Quercus* (Chênes), *Arbutus* (Arbousier), *Olea* (Oliviers), *Abies* (Sapins), *Pinus* (Pins). Cette espèce rare de répartition mondiale et notamment méditerranéenne est à rechercher en Franche-Comté. La station la plus proche située vers le lac Léman laisse espérer une future découverte en Franche-Comté (Röllin, Anthoine, 2001).

Confusion

Une ressemblance morphologique peut apparaître avec *Morchella rufobrunnea*. Cependant, celle-ci fructifie dans des zones urbaines et péri-urbaines de plus basses altitudes. De plus son stipe, ridé, est recouvert initialement d'une pruine grisâtre et ses crêtes ne se distinguent pas ou de manière rudimentaire.

Morchella esculenta, *Morchella castanea* et *Morchella americana* peuvent afficher des couleurs similaires mais se distinguent par l'absence de vallécule.

Morchella vulgaris est l'espèce la plus susceptible d'être confondue avec *Morchella tridentina* en raison de la coloration initiale gris foncé et la forme parfois cylindrique de son chapeau mais ses alvéoles sont très irrégulières, de nombreuses côtes transversales sont présentes et la vallécule est absente.

Enfin, une confusion est possible avec d'autres espèces de la série « distantes » (*Morchella purpurascens*, *Morchella dunalii* et *Morchella kakiicolor*), dont le chapeau de forme conique est comparable. Chez les exemplaires jeunes, il est possible d'observer une coloration beige pâle, mais leurs côtes s'assombrissent rapidement pour devenir noires à maturité complète. De plus, *Morchella tridentina* est la seule espèce connue de la section « distantes » pour se colorer de tâche rouge-orangé (Richard, 2014).

Remarque

Des synonymes, *Morchella elatoides* et *Morchella frustrata*, sont parfois retrouvés pour nommer *Morchella tridentina*. Ce nom, proposé par Bresadola en 1898 (accompagné d'une planche et d'une description) n'apparaît cependant dans aucun travail remarquable du vingtième siècle.

En 2001, Röllin et Anthoine reprennent ce nom dans leur article. Le fruit de leur récolte est alors analysé par Richard *et al* : il est jugé identique au nouveau taxon *Morchella frustrata* M. Kuo, ainsi qu'à l'ensemble des collections identifiées comme *Morchella elatoides*. La collection originale de Bresadola est retrouvée, mais les tentatives pour obtenir des données moléculaires sur ces échantillons ont échoué, ouvrant ainsi le débat sur l'interprétation du nom *Morchella tridentina* (Röllin et Anthoine, 2001). Il existe deux principales différences entre les collections et la description faite par Bresadola. Cet auteur évoque une coloration brun-olivacé, rarement observée dans le matériel à disposition. De plus, les trois ascocarpes de tailles différentes représentés

sur sa planche présentent toujours une couleur noire-foncé qui s'estompe typiquement avec l'âge sur les exemplaires de la collection.

Finalement, Richard *et al* évoque cinq raisons d'appliquer le nom *Morchella tridentina*. Les données écologiques et géographiques sont compatibles avec celles de leurs collections. De plus, les critères majeurs d'identification (division des côtes primaires, côtes non noircissantes) sont manifestement présents sur la planche et les spécimens de Bresadola. La vallécule à l'insertion du chapeau est soulignée dans sa description et, est visible sur les spécimens de l'herbier, bien qu'elle n'apparaisse pas distinctement sur l'illustration. Enfin, aucune alternative n'est plausible actuellement, d'autant plus que l'autre nom utilisé, *Morchella elatoides*, est invalide (Loizides, 2015).

Iconographie

Bresadola, 1898, Planche 176 ; Röllin et Anthoine, 2001, p 12, corrigé en 2001 (2), p 24 ; Loizides, 2015, Figure 2-c, p 13

Littérature

Clowez, 2012 ; Loizides, 2015 ; Röllin et Anthoine, 2001 ; Jacquetant, 1984

1.1.2.8. Remarque sur *Morchella elata* Fr. : Fr.

Cette espèce a été décrite initialement par Fries en 1709 d'après des exemplaires suédois.

En 2012, Clowez utilise ce nom pour décrire plusieurs collections qui présentent des ascomes dont les crêtes longitudinales sont parallèles et droites avec des anastomoses transversales. D'après les analyses génétiques, ces exemplaires s'avèrent se rapporter à *Morchella importuna*. Il demeure donc une incertitude sur l'espèce représentée par ce taxon et d'autres études sont nécessaires pour définir la position taxinomique de *Morchella elata*. Les spécimens vieux de deux siècles déposés par Fries ne permettent pas la réalisation d'études génétiques. Cependant, ces exemplaires sont susceptibles d'aider à définir la localité type de cette espèce pour retrouver « la vraie Morille *elata* de Fries » en Suède ou en Scandinavie. L'analyse de multiples collections contemporaines permettrait ainsi de redéfinir clairement ce taxon, dont la position actuelle demeure incertaine.

1.2. Genre *Mitrophora*

Ces champignons ressemblent beaucoup au genre *Morchella* mais se distinguent principalement par leur chapeau, qui est libre dans sa moitié inférieure. Comme vu plus haut, ce critère ne supporte pas les analyses biomoléculaires et le champignon cité ci-dessous serait à classer dans le genre *Morchella* en utilisant le cas échéant la combinaison existante, *Morchella gigas* var. *fusca* (Pers.) Clowez.

1.2.1. *Mitrophora fusca* (Pers.) Léveillé

Nom vernaculaire : Morillon roux, Morillon variété sombre

Synonymes :

Morchella fusca Pers

Morchella gigas var. *fusca* (Pers.) Clowez

Description macroscopique

Cette espèce, petite ou moyenne, mesure de 3 à 8 cm.

Son chapeau, oblong à nettement conique, obtus au sommet, peut cacher le pied quasiment en totalité et semble posé directement sur le sol. De couleur fauve-ochracé à marron fuligineux, il est séparé du pied par une vallécule bien marquée (supérieure à 1 cm).

Le pied, cylindrique, ochracé pâle ou blanchâtre, est très court dans sa jeunesse. Il apparaît farineux ou grossièrement furfuracé, et peut présenter parfois quelques sillons à la base.

Les alvéoles, plus ou moins séréées, sont allongées et bien ouvertes. Elles sont délimitées par des côtes longitudinales épaisses, concolores et obliquement anastomosées et des plis transversaux peu saillants. Les alvéoles primaires sont divisées en alvéoles secondaires quadrangulaires plus ou moins régulières et séréées. La chair, relativement mince et élastique, présente une coloration brune dans le chapeau et blanche dans le stipe. Elle dégage une odeur quasi insignifiante ou légèrement spermatique.

Description microscopique

Les asques, octosporées et subcylindriques, mesurent 300 à 350 µm par 10 à 20 µm. Les spores ont une taille de 21 à 23 µm par 8 à 10 µm et apparaissent elliptiques, lisses et hyalines.

Les paraphyses s'épaississent au sommet en capitule arrondi. Elles sont septées et parfois rameuses.

Ecologie

Ce morillon est assez rare. Il affectionne les milieux humides, tels que les bordures des cours d'eau et les forêts humides, sous frênes et pommiers, souvent de manière assez isolée.

Comestibilité

Sa consommation est sans intérêt.

Confusion

Se distingue *Mitrophora fusca* de *Mitrophora semilibera* notamment grâce à la forme du chapeau en cône allongé moins aigu au sommet, mais surtout par la taille plus petite des spores.

Il se différencie aussi des autres Mitrophores par une taille inférieure, par la couleur de son chapeau et ses côtes brun-rougeâtres plus épaisses.

Iconographie

Boudier, 1909, tome II, Planche 217

Littérature

Clowez, 2010 ; Lagarde, 1923 ; Société mycologique du Dauphiné, 2016

1.3. Genre *Disciotis*

Les champignons du genre *Discotis* sont des ascomycètes en forme de coupe.

1.3.1. *Disciotis venosa* (Pers.) Boudier

Nom vernaculaire : Pezize veinée, Pézize à odeur de javel (**Figure 26**) (Photographies personnelles, 2016)

Description macroscopique

Cette grande Pézize forme un réceptacle en forme de coupe hémisphérique dont les bords sont relevés verticalement puis, s'étale largement en forme de coupe brun-fauve qui peut atteindre facilement 15 à 18 cm.

La marge, incurvée devenant ondulée, lobée, est très fragile. Avec l'âge, elle se déchire et des incisions plus ou moins profondes apparaissent.

La face interne, de couleur brun-fauve, est tapissée par l'hyménium.

La face externe, blanchâtre virant à l'ochracé, est furfuracée.

Le centre est parcouru par de grosses veines qui se divisent progressivement du centre vers les bords. Elles forment ainsi un réseau relativement dense.

Le pied, subnule ou un peu enterré, est court, épais, plissé et blanchâtre. Il fixe solidement le champignon au sol.

La chair épaisse (3 mm) et pâle, fragile, dégage une odeur caractéristique de javel qui disparaît à la cuisson.

La sporée est de couleur crème.

Description microscopique

La taille des asques est comprise entre 280 et 320 μm de long.

Les spores, lisses et largement elliptiques, mesurent 19 à 25 μm par 12 à 15 μm .

Les paraphyses, brunâtres, sont généralement longues, cloisonnées et peuvent mesurer jusqu'à 12 μm de large à la pointe.

Ecologie

La Pézize veinée convoite les mêmes lieux que la Morille commune, tels que les milieux humides en sous-bois de feuillus et en bordure des cours d'eau, sur des terrains argilo-calcaires à légèrement sablonneux. Elle est fréquemment présente parmi l'ail des ours (*Allium ursinum* L.). C'est un champignon printanier dont la période de poussée débute vers mi-mars et s'étend jusqu'à début mai.



Figure 26 : *Disciotis venosa* (Pers.) Boudier – Goux-les-Usiers (Doubs-France)
(Photographies personnelles, 2016)

Comestibilité

La Pézize veinée, comme sa proche parente la morille, est toxique crue. De ce fait, les mêmes précautions devront être prises. La forte odeur de javel caractéristique disparaît complètement à la cuisson ; ce champignon est un comestible de bonne qualité.

Iconographie

Bon, 2012, p 327 ; Boudier, 1909, tome II, Planche 254 ; Kibby, 2000

Littérature

Bon, 2012 ; Chaumeton, 2010 ; Ouvrage collectif, 2008 ; Kibby, 2000

1.4. Genre *Verpa*

Les espèces appartenant à ce genre sont caractérisées par un chapeau campanulé coiffant le pied et n'y adhérant qu'au sommet. Sa surface est presque lisse ou très peu plissée. Ces champignons ne possèdent pas d'alvéole. De par leur rareté, il est préférable de ne pas les cueillir, d'autant plus qu'ils ne présentent aucun intérêt gustatif.

1.4.1. *Verpa conica* (Müll. : Fr.) Swartz

Synonyme : *Verpa digitaliformis* Pers.

Nom vernaculaire : Verpe en doigt de gant, Verpe conique (**Figure 27**) (Photographies personnelles, 2016)

Description macroscopique

La Verpe conique est un champignon pouvant mesurer jusqu'à 13 cm de hauteur. Son diamètre est compris entre 1,5 et 3 cm.

Son chapeau présente une forme de dé à coudre retourné, conique parfois irrégulière et partiellement évasée.



Figure 27 : *Verpa conica* (Müll. : Fr.) Swartz – Villeneuve d'Amont (Doubs-France)
(Photographies personnelles, 2016)

Sa surface est pratiquement lisse, glabre et brillante, peu ou à peine bosselée et ridée, de couleur variable, ochracé à brun-jaunâtre, mais parfois plus foncée vers les brun-rougeâtre. Il est complètement libre et suspendu au sommet du stipe.

La marge est libre et rabattue au départ.

Le stipe est allongé, d'allure élancée, et mesure jusqu'à 10 cm de hauteur. De couleur blanchâtre, il présente de fines granulations brunâtres et peut parfois être ridé de vagues annelures transverses.

La chair, blanche ou pâle, très fine et très fragile, dégage une odeur agréable.

La sporée est de couleur crème ou ocre clair.

Description microscopique

Les spores mesurent 23-30 µm par 13-17 µm, elles sont de formes elliptiques, lisses.

Ecologie

Ce champignon s'observe dans les endroits frais et humides, dans des zones plus ou moins herbeuses, principalement sous les frênes, ormeaux et noisetiers, sur des sols calcaires. Il est rare de le rencontrer en plaine mais est plus courant en moyenne altitude. Il vit en petits groupes de quelques individus clairsemés. C'est un champignon printanier qui pousse de mars à mai.

Comestibilité

Ce champignon est toxique cru. Il est comestible cuit, mais considéré comme médiocre.

Confusion

Cette espèce se différencie de la Verpe de Bohême par son chapeau brun foncé, parfaitement lisse ou presque sans aucun pli.

Iconographie

Marchand, 1986, p 207 ; Bon, 2012, p 327 ; Mikšić, 2013, p 86-87

Littérature

Bon, 2012 ; Chaumeton, 2010 ; Ouvrage collectif, 2008

1.4.2. *Verpa pusilla* Quélet

Nom vernaculaire : Verpe naine (**Figure 28**) (Moingeon, 2004)

Description macroscopique

Cette petite espèce est quasiment incrustée au sol par la base de son chapeau. Elle mesure environ 2 cm de diamètre.

Le réceptacle est d'abord conique puis campanulé, entier, lisse, de couleur bai ou brun-rougeâtre au-dessus et ocre-pâle en dessous.

Le stipe est de couleur orange, il mesure 2 à 3 cm, plein à l'état jeune puis creux, il est lisse et cylindrique.

Description microscopique

Les spores sont de forme elliptique et mesurent 20 µm par 9 µm.

Les asques mesurent 250 µm de long et présentent un diamètre de 15 µm.

Les paraphyses sont colorées en brun et légèrement renflées au sommet.

Ecologie

Cette espèce rare est retrouvée au printemps, sur la terre, dans les forêts du Jura ou dans des zones plus ou moins humides, sablonneuses avec *Salix* sp..

Iconographie

Lagarde, 1923, Planche VI, 28

Littérature

Lagarde, 1924 ; Grelet, 1933

1.5. Genre *Ptychoverpa*

Ce genre comprend une seule espèce, intermédiaire entre le genre *Verpa* et le genre *Morchella*. En effet, le chapeau est libre comme chez les verpes mais présente un aspect plissé ressemblant à celui des morilles. D'un point de vue microscopique, il est caractérisé par ses asques qui contiennent seulement deux spores.



Figure 28 : *Verpa pusilla* Quélet - Pontarlier (Doubs-France) (Moingeon, 2004)

1.5.1. *Ptychoverpa bohemica* (Krombh.) Boud.

Synonymes :

Verpa bohemica (Krombh.) Schröt

Verpa bohemica var *pallida* Pilat et Svrcek

Morchella bohemica (Krombh.)

***Ptychoverpa bohemica* (Krombh.) Boud.**

Nom vernaculaire : Verpe de bohême (**Figure 29**) (Moingeon, 2011)

Description macroscopique

La Verpe de Bohême est une grande espèce élancée, atteignant 15 cm de hauteur. Son chapeau, de 2 à 5 cm de hauteur, ovoïde ou campanulé, décrit une forme de capuchon dans lequel vient s'insérer le pied. De couleur ochracé ou ochracé-fauve, sinueux et cérébriforme. Sa surface est profondément ridée par des côtes épaisses, proéminentes, brun jaunâtre à brun foncé, disposées longitudinalement. Ces côtes délimitent de petites cavités différentes des alvéoles retrouvées chez les morilles.

La marge est parfaitement libre et sinuose. Sa couleur blanche chez les jeunes exemplaires tranche fortement avec la coloration du chapeau.

Le stipe peut atteindre 18 cm de hauteur chez certains exemplaires. Cylindrique, creux et élancé, il présente une surface blanchâtre lavée de jaune-orangé, marquée de légers sillons assez espacés à la base et de délicates bandes transversales feutrées-floconneuses.

La surface interne est lisse et blanchâtre.

La chair, fragile et aqueuse, d'abord blanche chez les jeunes exemplaires, évolue vers une coloration jaune ochracé. Sa saveur est douce et dégage une faible odeur.

Description microscopique

Les asques sont bisporés et mesurent 250 à 350 µm par 18 à 25 µm.

Les spores présentent une taille de 55 à 80 µm par 17 à 23 µm. Elles sont lisses, ellipsoïdes à subcylindriques, hyalines et légèrement arquées.

Les paraphyses, de 5 à 8 µm de large, sont cylindriques, un peu ondulées, septées et faiblement renflées au sommet.



Figure 29 : *Ptychoverpa bohemica* (Krombh.) Boud. - Valempoulières (Jura-France), leg. Pascal Collin (Moingeon, 2011)

Ecologie

Cette espèce se retrouve principalement dans des milieux très humides plutôt en altitude, mais aussi en plaine notamment en Europe de l'Est, dans des taillis et bosquets de feuillus (trembles, ormes, chênes, aubépines), du mois de mars au mois de mai. Grégaire, elle pousse abondamment lors des années pluvieuses. Elle possède une large répartition européenne. Elle porte bien son nom étant très abondante en Europe centrale. Sa répartition en France est très inégale. Elle semble commune dans le Massif Central, où elle est consommée et souvent connue sous le nom de Morille, les Alpes et une partie des Vosges, appréciant les sols plutôt décalcifiés. Elle est rare en Franche-Comté, connue que de quelques stations du Jura, du Doubs et de Haute-Saône.

Confusion

Son chapeau nettement plissé entraîne un risque de confusion avec les morilles en général. Une coupe du champignon peut s'avérer indispensable pour la différencier d'une morille, surtout de *Morchella semilibera* (Le Morillon).

Iconographie

Marchand, 1986, p 205 ; Bon, 2012, p 327 ; Mikšić, 2013, p 82-85

Littérature

Bon, 2012 ; Chaumeton, 2010 ; Société mycologique de Dauphiné, 2016

1.5.1.1. *Ptychoverpa bohemica* var. *pallida* Pilat et Svrcek

Ce taxon a été initialement décrit en République Tchèque. Cette forme particulière de *ptychoverpa bohemica* a été identifiée depuis plusieurs années en France.

Description macroscopique

Cette espèce présente un chapeau plus ou moins conique, de 4 cm de hauteur et 3,5 cm de diamètre au maximum. Cette variété est donc plus petite comparativement à l'espèce-type qui peut atteindre 15 cm de hauteur. Sa surface est plutôt irrégulière et entièrement jaune doré, devenant jaune ochracé avec l'âge. Cette coloration vive et remarquable à l'état frais la distingue particulièrement de l'espèce-type. Cette variation

de couleur serait due à l'absence de production du pigment brun. Il y a des côtes plus ou moins saillantes et ondulées.

Le stipe cylindrique dispose d'une chair cotonneuse et blanche. Il peut se marquer de petites taches roussâtres.

La sporée est de couleur jaune ochracée.

Description microscopique

Les asques cylindriques s'atténuent à la base. Elles sont bisporées.

Les paraphyses cylindriques et hyalines, sont pas ou très rarement élargies au sommet.

Les spores présentent une forme subcylindrique ou elliptique allongée. Elles sont lisses, hyalines, non guttulées et leur paroi est peu épaisse.

Ecologie

Cette variété est retrouvée sur terrain calcaire, en sous-bois de hêtres, noisetiers et pins sylvestres. Elle est considérée comme très rare.

Iconographie

Van Vooren, 2010, Planche 1 à 4

Littérature

Van Vooren, 2010

Conclusion

Dans cette seconde partie l'objectif est de réaliser une monographie des espèces de la famille des *Morchellaceae* présentes en Franche-Comté ou susceptibles de l'être. Pour permettre de visualiser rapidement la classification utilisée, les principales caractéristiques morphologiques ainsi que les données sur l'écologie des espèces de Morilles citées, nous avons réalisé un tableau récapitulatif (**Tableau 3**).

Au total dix-huit espèces sont détaillées, comprenant treize espèces du genre *Morchella* (Six du clade *Esculenta* et sept du clade *Elata*), une espèce du genre

Mitrophora, une du genre *Disciotis* et une du genre *Ptychoverpa* ainsi que deux espèces du genre *Verpa*.

Comme il est possible de le remarquer d'après les données écologiques, il est peu probable de trouver en Franche-Comté certaines espèces, telles que *Morchella steppicola* ou *Morchella dunalii*. Nous avons choisi de les mentionner malgré tout car elles présentent certaines particularités.

Enfin, un des intérêts du **tableau 3** est de visualiser plus rapidement les principales caractéristiques des morilles et surtout d'appréhender facilement la nouvelle classification avec les regroupements d'espèces.

Tableau 3 : Tableau récapitulatif des espèces citées dans la thèse

| | | | | | |
|-------------------------------|---|------------------------------------|--|---|---|
| Genre <i>Morchella</i> | Section <i>Morchella</i> = Section adnée (absence de vallécule) = clade <i>esculenta</i> "LES MORILLES JAUNES ou RONDES" | <i>Morchella americana</i> | <p><i>Morchella americana</i> var. <i>elongata</i> <i>Morchella californica</i> <i>Morchella claviformis</i> <i>Morchella populina</i> <i>Morchella esculentoides</i> <i>Morchella rigida</i> <i>Morchella esculenta</i> var. <i>rigida</i></p> | <p>Apparence variable Chapeau d'abord conique puis oblong avec la maturité Coloration jaune ochracé Taille moyenne à grande Alvéoles régulières et disposées longitudinalement Côtes initialement concolores puis roussissantes Stipe blanc glâbre ou finement furfuracé</p> | <p>Très commune aux Etats-Unis et Canada Retrouvée en Europe sous plantations de peupliers hybrides d'origine nord-américaine</p> |
| | | <i>Morchella esculenta</i> | <p><i>Morchella esculenta</i> var. <i>aurantiaca</i> <i>Morchella esculenta</i> var. <i>rubroris</i> <i>Morchella ochraceoviridis</i> <i>Morchella ovalis</i> var. <i>minor</i> <i>Morchella esculenta</i> var. <i>rotunda</i> <i>Morchella dryophila</i> <i>Morchella esculenta</i> var. <i>brunnea</i> <i>Morchella esculenta</i> var. <i>umbrinoides</i> <i>Morchella umbrina</i></p> | <p>Taille variable : petite (<i>M. umbrina</i>), moyenne (<i>M. esculenta</i>/<i>M. esculenta</i> var. <i>rotunda</i>/<i>M. esculenta</i> var. <i>umbrinoides</i>), grande (<i>M. dryophila</i>) Coloration ocre-jaune à ocre-brun, présentant nuances grisées (<i>M. dryophila</i>), ou coloration noire (<i>M. esculenta umbrinoides</i>/<i>M. umbrina</i>) Forme ovoïde, sphérique ou conique obtus Stipe creux, trappu, plutôt difforme et couvert de minuscules granules Arêtes blanchâtres parfois rougissantes</p> | <p>Sols calcaires, argileux ou sablonneux Principalement sous <i>Fraxinus exelsior</i>, mais également sous <i>Quercus robur</i> (<i>M. dryophila</i>), <i>Buxus sempervirens</i> (<i>M. umbrina</i>) et certains végétaux sucrés (<i>M. esculenta</i> var. <i>rotunda</i>) Associée à divers sites archéologiques au sens large (anciennes voies ferrées, routes...)</p> |
| | | <i>Morchella steppicola</i> | | <p>Espèce très particulière Pied entièrement rempli de bourrelets Alvéoles primaires non soudées entre-elles Coloration crème sale puis fauve ochracé</p> | <p>Prairies steppiques d'Europe orientale Sa présence en France est peu probable où de telles zones steppiques n'existent pas</p> |

| | | | | | |
|-------------------------------|---|----------------------------------|---|---|--|
| Genre <i>Morchella</i> | Section <i>Morchella</i> = Section adnée (absence de vallécule) = clade <i>esculenta</i> "LES MORILLES JAUNES ou RONDES" | <i>Morchella ulmaria</i> | <i>Morchella cryptica</i> | Couleur jaune paille à maturité Aspect frisé particulier Stipe blanc parfois ridulé | Espèce commune aux Etats-Unis et Canada sous des ormes blessés Possible sous <i>Fraxinus excelsior</i> A rechercher en Europe mais certainement devenue rarissime |
| | | <i>Morchella vulgaris</i> | <i>Morchella acerina</i> <i>Morchella andalusiae</i> <i>Morchella anthracina</i> <i>Morchella conica</i> var. <i>pygmaea</i> <i>Morchella lepida</i> <i>Morchella robiniae</i> <i>Morchella vulgaris</i> var. <i>aucupariae</i> <i>Morchella spongiosa</i> | Chapeau ovoïde ou oblong, subglobuleux chez <i>M. spongiosa</i> , particulièrement rond chez <i>M. vulgaris</i> var. <i>aucupariae</i> Stipe épaissi et sillonné à la base (aspect de pied d'éléphant), taché de brun rosé chez <i>M. vulgaris</i> var. <i>aucupariae</i> Alvéoles très irrégulières, labyrinthiques Couleur gris noirâtre à ocre jaunâtre (reflets rosés) Arêtes blanches épaisses Distinction difficile avec <i>M. esculenta</i> , notamment chez les jeunes exemplaires | Espèce associée à <i>Fraxinus</i> , <i>Ulmus</i> , <i>Malus</i> , <i>Pinaceae</i> et plus rarement retrouvée sous conifères (<i>Abies</i> , <i>Picea</i>) Sous <i>Sorbus aucuparia</i> pour <i>M. vulgaris</i> var. <i>aucupariae</i> |
| | | <i>Morchella hetieri</i> | | Petite ou moyenne espèce Chapeau subsphérique ou ovale, couleur jaune-ochracé Alvéoles non sériées, arrondies ou oblongues, adnées Côtes légèrement flexueuses Stipe cylindrique, recouvert d'une pubescence bai-fauve, légèrement épaissi et sillonné à la base | Espèce rare à rechercher dans les forêts de feuillus (holotype originaire de la région d'Arbois) |

| | | | | | |
|-------------------------------|---|-----------------------------------|--|---|---|
| Genre <i>Morchella</i> | Section <i>distantes</i> = clade <i>Elata</i> Vallécule évidente "LES MORILLES NOIRES ou CONIQUES" | <i>Morchella deliciosa</i> | <i>Morchella conica</i> var. <i>flexuosa</i> <i>Morchella conica</i> var. <i>nigra</i> <i>Morchella conica</i> var. <i>violeipes</i> <i>Morchella conica</i> var. <i>meandriiformis</i> | Aspect robuste, forme conique obtus Taille variable Couleur claire au départ, s'assombrissant avec l'âge (brun foncé à noir pour <i>M. conica</i> var. <i>nigra</i>), possible coloration rose carné, pourpre ou olive à certains stades de maturation Stipe blanchâtre, légèrement renflé à la base, furfuracé, sillonné et ridé Alvéoles primaires peu nombreuses, profondes, évoquant les méandres très tortueux d'un fleuve pour <i>M. conica</i> var. <i>meandriiformis</i> | Espèce précoce, commune en forêt de moyennes montagnes Fréquent sous <i>Picea</i> et <i>Abies</i> , possible sous <i>Fraxinus</i> |
| | | <i>Morchella dunalii</i> | <i>Morchella fallax</i> | Petite à moyenne espèce Initialement blanc, le bord des alvéoles noircit rapidement (caractère spécifique) Alvéoles secondaires très nombreuses Stipe blanc épaissi à la base Vallécule présente mais pas toujours évidente | Récolté sous chêne vert (<i>Quercus ilex</i>) et sous <i>Pinus</i> (notamment <i>Pinus halepensis</i>) Tendance méridionale A rechercher dans les pinèdes thermophiles |
| | | <i>Morchella eximia</i> | <i>Morchella eximia</i> f. <i>multiformis</i> <i>Morchella anthracophila</i> <i>Morchella carbonaria</i> <i>Morchella septimelata</i> <i>Morchella eximia</i> f. <i>acuminata</i> | Espèce charnue Coloration ochracé-fauve au brun-clair Pied grumelleux et furfuracé Aspect fortement boursoufflé Bord des côtes noircissant rapidement | Habitat particulier : les charbonnières Plusieurs centaines ou milliers d'exemplaires retrouvés consécutivement aux incendies de forêt |
| | | <i>Morchella importuna</i> | <i>Morchella costata</i> <i>Morchella elata</i> (sensu Cloweze, 2012) <i>Morchella vaporaria</i> <i>Morchella vaporaria</i> var. <i>thaliformis</i> | Espèce d'assez grande taille Apparence du chapeau typique dite "d'échelle" Couleur gris-pâle, gris foncé à brun grisâtre presque noire, voir plutôt brun clair à fauve olivâtre pour <i>M. elata</i> Stipe blanchâtre, farineux, présence de rides et de sillons avec l'âge Présence d'une calotte acuminée au sommet qui laisse place à une cavité chez <i>M. vaporaria</i> | Courante en montagne et en plaine Localisation urbaine : jardins, jardinières, massifs floraux, sur les écorces de conifères Présente sur les débris de bois et matériaux en décomposition, dans les serres |

| | | | | | |
|-------------------------------|---|--------------------------------------|---|---|--|
| Genre <i>Morchella</i> | Section <i>distantes</i> = clade <i>Elata</i> Vallécule évidente "LES MORILLES NOIRES ou CONIQUES" | <i>Morchella purpurascens</i> | | Aspect trapu Nuances purpurines caractéristiques sur le chapeau Stipe blanc, nettement furfuracé, parfois lavé de rose | Espèce montagnarde Milieux très humides Principalement dans des forêts de conifères (particulièrement sous jeunes <i>Picea abies</i>) |
| | | <i>Morchella semilibera</i> | <i>Mitrophora semilibera</i> <i>Morchella patula</i> var. <i>semilibera</i> <i>Phallus gigas</i> <i>Morchella gigas</i> <i>Eromitra gigas</i> <i>Ptychoverpa gigas</i> <i>Phallus undosus</i> <i>Morchella undosa</i> <i>Phallus crassipes</i> <i>Morchella crassipes</i> <i>Morchella esculenta</i> var. <i>crassipes</i> <i>Mitrophora hybrida</i> var. <i>crassipes</i> <i>Helvella hybrida</i> <i>Morchella hybrida</i> <i>Mitrophora hybrida</i> <i>Morchella varisiensis</i> <i>Morchella gigas</i> var. <i>tintinnabulum</i> | Grande espèce Petit chapeau, conique ou ovoïde, brun, libre sur la moitié de sa hauteur Réseau d'alvéoles assez réguliers Bord des alvéoles noirissant et se desséchant Stipe allongé et fragile, bossu | Espèce très commune en zones humides et fraîches Souvent retrouvée en compagnie de <i>Disciotis venosa</i> et <i>Verpa</i> sp. Régulièrement sous <i>Fraxinus excelsior</i> en compagnie de <i>Ranunculus ficaria</i> et parfois de <i>Adexa moschatellina</i> |
| | | <i>Morchella tridentina</i> | <i>Morchella frustrata</i> | Coloration variant du gris noirâtre au gris puis à l'ochracé pâle Souvent taché d'orange ou de rougeâtre Alvéoles primaires irrégulières Côtes longitudinales généralement divisées et partiellement anastomosées Stipe très court, pouvant se teinter de rougeâtre | Espèce peu courante, affectionnant les milieux littoraux Retrouvé sous <i>Quercus</i> , <i>Arbutus</i> , <i>Olea</i> , <i>Abies</i> , <i>Pinus</i> |

| | | | | |
|---|------------------------------------|--|--|---|
| <p>Genre <i>Mitrophora</i> MORILLON Chapeau libre sur moitié inférieure</p> | <p><i>Mitrophora fusca</i></p> | <p><i>Morchella fusca</i> <i>Morchella gigas</i> var. <i>fusca</i></p> | <p>Chapeau conique, obtus au sommet (pouvant cacher complètement le pied) Coloration fauve-ochracé à marron Pied très court, blanchâtre, aspect farineux, et furfuracé Alvéoles primaires allongées et bien ouvertes Côtes longitudinales épaisses, concolores et obliquement anastomosées</p> | <p>Espèce assez rare Retrouvée dans les milieux humides, sous frênes et pommiers, de manière plutôt isolée</p> |
| <p>Genre <i>Disciotis</i> PEZIZE Forme de coupe</p> | <p><i>Disciotis venosa</i></p> | | <p>Grande pézize en forme de coupe, s'étalant largement pour atteindre jusqu'à 18 cm Face interne brun fauve Face externe blanchâtre, virant à l'ochracé, furfuracée Centre parcouru par de grosses veines Pied court, fixant solidement le champignon au sol</p> | <p>Espèce courante en milieu humide (sous-bois, bordure de cours d'eau...)</p> |
| <p>Genre <i>Verpa</i> Chapeau libre, absence d'alvéoles</p> | <p><i>Verpa conica</i></p> | <p><i>Verpa digitaliformis</i></p> | <p>Chapeau en forme de dé à coudre, dont la surface est lisse, glabre et brillante Couleur variable Chapeau complètement libre Stipe allongé, blanchâtre avec de fines granulations brunâtres</p> | <p>Espèces rencontrées dans les endroits frais et humides, en zones plus ou moins herbeuses, sous frêne, ormeaux et noisetiers Sols calcaires</p> |
| | <p><i>Verpa pusilla</i></p> | | <p>Petite espèce quasiment incrustée au sol par la base de son chapeau Coloration brune sur le dessus et ocre pâle en dessous Stipe de couleur orange</p> | |
| <p>Genre <i>Ptychoverpa</i> Chapeau libre et surface ridée</p> | <p><i>Ptychoverpa bohemica</i></p> | <p><i>Verpa bohemica</i> <i>Verpa bohemica</i> var. <i>pallida</i> <i>Morchella bohemica</i></p> | <p>Grande espèce élancée Chapeau ovoïde ou campanulé, de couleur ochracé, à l'aspect cérébriforme La surface est ridée par des côtes épaisses La marge est parfaitement libre Stipe creux et élancé, de couleur blanchâtre lavé de jaune orangé Coloration jaune doré vive et remarquable chez la variété <i>pallida</i> (absence de pigment brun)</p> | <p>Espèce affectionnant les milieux humides d'altitude (mais parfois en plaine), elle pousse abondamment lors des années pluvieuses, dans les taillis et bosquets de feuillus</p> |

PARTIE 3 : INTOXICATION PAR LES MORILLES

Introduction & Généralités

Les morilles sont des champignons comestibles réputés, aux saveurs particulières. Cependant, il est important de noter qu'elles peuvent engendrer des intoxications. Dans certains cas, elles causent un syndrome gastro-intestinal couramment rencontré avec de nombreux champignons. Mais depuis une dizaine d'années, il leur est attribué aussi la responsabilité d'un syndrome d'intoxication se manifestant par des signes neurologiques. Dans cette partie, nous évoquerons ces deux types d'intoxication, ainsi que les mesures de précaution et les consignes en cas d'intoxication.

1. Données épidémiologiques

Il existe en Franche-Comté plus de cinq mille espèces de champignons supérieurs, dont 200 à 300 sont comestibles, et 50 à 100 sont toxiques pour l'être humain (Trueb, 2013).

Les intoxications par champignons sont responsables chaque année d'un nombre non négligeable d'appels aux centres antipoison (CAP) et/ou d'hospitalisations (Flesch, 2007). En France, entre 1000 et 2000 cas d'intoxication par les champignons sont dénombrés chaque année (Saviuc, 2009).

Depuis 2010, l'institut de veille sanitaire (InVS) publie sur son site un récapitulatif des cas d'intoxication par les champignons recensés par les centres antipoison et de toxicovigilance (CAPTV). Environ trois décès et plus d'une vingtaine de cas graves sont observés chaque année ; pour l'année 2015 (Période de surveillance du 29 juin au 18 octobre), un décès, dix cas graves d'origine accidentelle et deux cas graves d'origine volontaire ont été enregistrés (InVS, 2015). Des pics du nombre de cas d'intoxication sont clairement identifiés en fonction de la semaine. Ils sont directement liés à la météo. Effectivement, ces pics coïncident avec les semaines de fortes précipitations qui favorisent la pousse des champignons et donc, leur cueillette (InVS, 2015).

2. Les différents syndromes

Les intoxications peuvent être regroupées en différents syndromes en fonction de la symptomatologie et de la toxine responsable. Deux grands groupes de syndrome sont différenciés en fonction du délai écoulé entre l'ingestion et le moment de l'apparition :

- Durée d'incubation longue (supérieure à 6 heures) : intoxication potentiellement grave pour laquelle le pronostic vital peut être engagé ;
- Durée d'incubation courte (inférieure à 6 heures) : le plus souvent bénigne, de pronostic généralement favorable.

Cette règle ne peut pas s'appliquer en cas d'ingestion de plusieurs espèces de champignons (Une espèce à « délai court » peut masquer une espèce à « délai long »), ainsi qu'en cas de plusieurs repas successifs (A quel repas attribuer l'ingestion de champignons toxiques ?) (Bédry, 2002).

Environ une douzaine de syndromes d'intoxication (Toxidrome) par champignons étaient connus jusqu'au début des années 1990. Depuis, une demi-douzaine de nouveaux toxidromes ont été décrits, apparaissant tous dans un délai long. L'un des deux plus fréquents étant le syndrome de type cérébelleux lié à la consommation de morilles (**Figure 30**) (Saviuc, 2009).

2.1. Syndromes d'intoxication par les morilles

2.1.1. Syndrome gastro-intestinal

Les morilles sont des espèces de champignons comestibles bien connues et très recherchées pour leur qualité gustative.

Néanmoins, l'ingestion d'une petite quantité crue ou insuffisamment cuite peut conduire à une intoxication en raison de la présence d'hémolysines thermolabiles (Bédry, 2002). Ces toxines sont susceptibles *in vitro* de lyser directement les hématies en contact. En pratique, donc, tout accident survenant à la suite de la consommation de morilles fait le plus souvent émettre un défaut de cuisson (Roux, 2008).

Ce syndrome gastro-intestinal est le syndrome le plus fréquent, et implique un grand nombre de champignons (Trueb, 2013).

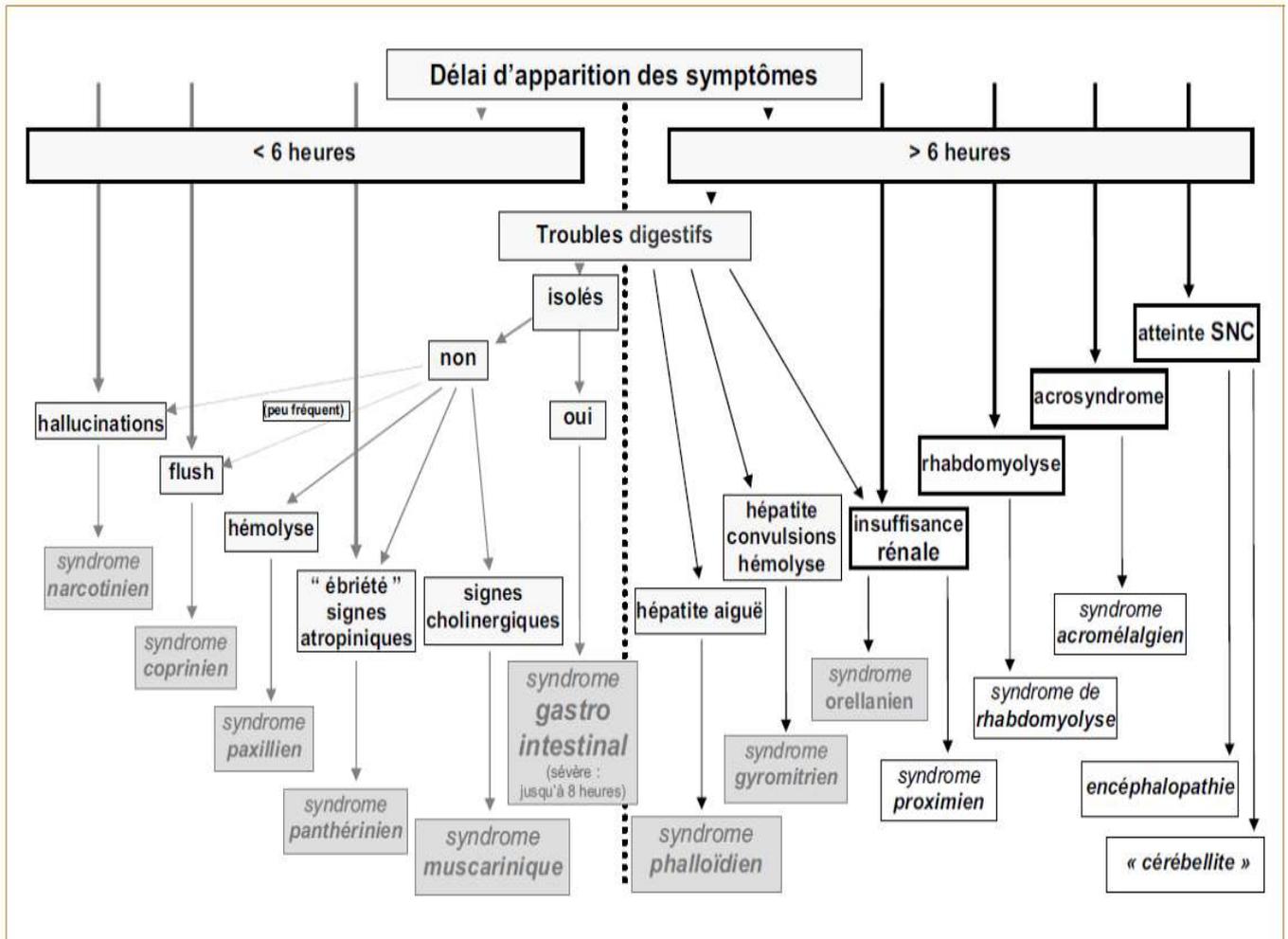


Figure 30 : Les syndromes d'intoxication par les champignons (Classiques en gris et nouveaux en noir) (Saviuc, 2009)

2.1.1.1. Délai de latence

Ce syndrome apparaît dans un délai médian de 5 heures après l'ingestion d'espèces crues ou insuffisamment cuites (Saviuc, 2009).

2.1.1.2. Symptomatologie

Ce syndrome se manifeste sous forme d'une gastro-entérite aiguë : troubles digestifs isolés associant des vomissements importants, des douleurs abdominales, des coliques et une diarrhée hydrique, afécale, importante, sans lésion de la muqueuse intestinale (Bédry, 2002).

Les critères de gravité dépendent essentiellement du terrain dans lequel survient cette intoxication ainsi que de l'intensité de la déshydratation (Flesch, 2007). Les personnes les plus à risque sont les personnes âgées ainsi que les enfants. Il est important aussi de contrôler les teneurs de certains médicaments à marge thérapeutique étroite (Digitaliques, lithium, antiarythmiques) pour lesquels il existe un risque d'accumulation, conséquence de la déshydratation (Bédry, 2002).

2.1.1.3. Prise en charge et évolution

Le traitement de ce type de syndrome est uniquement symptomatique (Flesch, 2007). Il est basé principalement sur une réhydratation qui doit être rapide afin de compenser les pertes digestives, notamment chez les enfants (Bédry, 2002).

Enfin, il peut y avoir administration concomitante d'antiémétique et d'antispasmodique (Flesch, 2007).

2.1.2. Un syndrome émergent : le syndrome neurologique

Les morilles sont des champignons comestibles, très recherchés pour leurs vertus gustatives. Elles peuvent engendrer un syndrome digestif de faible gravité, notamment en cas de cuisson insuffisante. Cependant, au cours de l'année 2006, le CAPTV

d'Angers a émis une alerte concernant deux cas d'intoxication par des morilles, qui se manifestaient par une symptomatologie neurologique (Harry, 2008).

2.1.2.1. Revue de la littérature

Ce nouveau syndrome n'a été reconnu qu'en 2006 (Harry P, 2006). Cependant, dans la littérature, plusieurs cas sont retrouvés dès 1956 (Roux, 2008).

La publication de 1956 rapporte qu'un médecin suisse avait ramassé environ 3 kg de morilles qui furent cuites à ébullition, puis consommées en famille pour le déjeuner et le dîner. Environ 9 heures plus tard, les parents présentèrent d'importants vertiges qui disparurent en 3 jours. Les enfants qui avaient mangé des morilles en quantité moindre restèrent indemnes (Roux, 2008).

Un article de Nothnagel, paru dans une revue allemande en 1962 rapporte des cas similaires et cite Jaccotet qui déjà en 1930 évoquait que *Morchella esculenta* causait une sorte d'ivresse légère (Pfab, 2006).

La publication de Piqueras en 2003 dans un périodique de Mycologie espagnol fait état de quatre foyers d'intoxication avec des signes neurologiques suite à la consommation de morilles (Harry, 2008).

- Dans les années 1970, plusieurs patients ayant consommé des morilles fraîches ont présenté des vertiges et une instabilité à la station debout.
- En 1991, deux des quatre convives ayant partagé un repas de *Morchella esculenta* var. *vulgaris* et var. *rotunda* ont présenté des tremblements, une sensation de vertige et une incoordination motrice qui ont disparu le jour même (Piqueras, 2003).
- En 1992, deux patients ont présenté une instabilité à la marche avec déviation d'un côté, une sensation de vertige et des tremblements qui ont persisté pendant plusieurs jours, voire plusieurs semaines concernant les tremblements des mains (Piqueras, 2003).

- Enfin, en 1996, une personne, après avoir consommé des morilles bouillies pendant 1 heure, a ressenti des vertiges et une instabilité debout qui a duré pendant deux jours (Piqueras, 2003).

En 2008, Pfab *et al.* rapportent six cas observés dans son unité de Toxicologie à Munich (Pfab, 2008). Les symptômes évoqués étaient une ataxie, des vertiges, des troubles de la vision, des tremblements. Les effets ont commencé après un temps de latence de 6 à 12 heures ; ils étaient spontanément résolutifs en 24 heures. L'ensemble des échantillons ont été identifiés macroscopiquement et par identification des spores au microscope (*Morchella esculenta* pour 5 d'entre eux et *Morchella conica* pour le sixième). Il est aussi important de noter que dans tous les cas les patients avaient mangé une quantité importante de morilles fraîchement ramassées (Pfab, 2008).

Au printemps 2006, le CAPTV d'Angers a repéré à deux occasions des cas d'intoxication par des morilles se traduisant par des signes neurologiques (Harry, 2008).

2.1.2.2. Etude rétrospective 1975-2007

Suite au signalement du CAPTV d'Angers, une étude rétrospective a été menée sur la période 1975-2007. Deux cent neuf dossiers ont pu être identifiés (correspondant à 301 cas d'intoxication) dans la base de données des CAPTV comme des cas d'intoxication par les morilles avec une symptomatologie avérée. Dans 80 dossiers (129 intoxiqués), un syndrome neurologique était présent ; les autres correspondaient majoritairement à un syndrome digestif isolé (Harry, 2008).

2.1.2.3. Symptomatologie

Le délai médian d'apparition des symptômes est de 12 heures environ en cas de syndrome neurologique. Il est deux fois plus long qu'en cas de syndrome digestif isolé. Cet argument milite en faveur de l'existence d'un syndrome neurologique bien réel qui

ne serait pas le prolongement d'un syndrome digestif isolé, mais un syndrome à part entière. Il n'existe pas de différence de durée d'évolution entre les syndromes digestifs isolés et neurologiques (Harry, 2008).

Les signes cliniques retrouvés sont principalement, des tremblements (53%), des vertiges et des signes d'ébriété (53%), des troubles de l'équilibre ou une ataxie (21%), ainsi que des troubles digestifs, des troubles oculaires qui peuvent s'accompagner plus rarement de céphalées, de paresthésies, de contractures musculaires et de fortes sueurs (Saviuc, 2009). Dans les cas rapportés par Pfab *et al* en 2008, des troubles du mouvement ont été observés, empêchant le patient d'écrire.

Ce syndrome est spontanément résolutif en 12 heures environ ; la mise en place d'un traitement est inutile.

2.1.2.4. Mécanisme de toxicité : Hypothèses

2.1.2.4.1. Cuisson des morilles

L'ingestion de spécimens de morilles peu ou mal cuits peut avoir comme conséquence l'apparition de troubles digestifs (Toxicité attribuée à la présence d'hémolysines thermolabiles). Dans l'étude réalisée par le comité de coordination de toxicovigilance, la qualité de la cuisson des champignons n'a été mentionnée que pour 33 des 129 patients présentant des signes neurologiques : pour 16 d'entre eux les morilles étaient crues ou mal cuites alors que pour 17 autres elles avaient été bien cuites. Le défaut de cuisson ne peut alors pas être considéré comme la condition nécessaire à l'apparition d'un syndrome neurologique.

2.1.2.4.2. Confusion

Les morilles peuvent être confondues avec les gyromitres même si l'architecture de leur chapeau est différente (Harry, 2008). Le syndrome gyromitrien se caractérise par l'apparition initiale de troubles digestifs, de céphalées et d'une fièvre. Il est observé aussi au bout du 2^{ème} ou 3^{ème} jour une atteinte hépatique, pouvant s'accompagner

d'une hémolyse. Dans certains cas graves des troubles neurologiques peuvent survenir (Flesch, 2007).

Les gyromitres sont des ascomycètes appartenant à l'ordre des *Pezizales* et à la famille des *Helvellaceae*. Dans nos régions, les deux principales espèces de gyromitre rencontrées sont *Gyromitra esculenta* (Pers.) Fr., la Gyromitre comestible, et *Gyromitra gigas* (Krombh.) Quélet, la gyromitre géante (**Figures 31, 32**) (Moingeon, 2010, 2008).

La gyromitre comestible, contrairement à ce que son nom indique, est toxique voir même mortelle dans certains cas. Elle présente un chapeau subglobuleux généralement plus large que haut constitué de lobes cérébriformes assez serrés, et de couleur bistre roussâtre à brun rouillé foncé. Le stipe peut être constitué de la soudure de deux ou trois pieds initiaux ; il est souvent difforme, court et épais, un peu sillonné et de couleur blanchâtre ou rosé. Sa chair dégage une odeur forte et aromatique.

La gyromitre géante demeure plus rare, sauf en Franche-Comté où elle est plus commune que *Gyromitra esculenta*, notamment en altitude dans le massif jurassien. Son chapeau peut atteindre 10 à 20 cm de large et 7 à 13 cm de haut. Son aspect se montre moins globuleux et plus allongé. Son pied est trapu et court, pâle, blanchâtre, sillonné et presque aussi large que le chapeau. Sa chair inodore ne présente pas de saveur particulière.

Cependant, malgré une bonne connaissance des mécanismes de toxicité, l'apparition de ce syndrome reste un phénomène aléatoire. La Gyromitre est consommée en tant que telle sous le nom de Morille rouge dans le Vercors et de nombreux mycophages du Massif-Central et d'Alsace-Lorraine continuent traditionnellement à la déguster. Marcel Bon, en 2012, évoque même « des accidents mortels aléatoires, normalement dus à une mauvaise cuisson ou au manque de rejet de l'eau de première cuisson » (Bon, 2012).

Cependant, au vu des connaissances actuelles sur la toxicité des gyromitres, leur consommation est à proscrire absolument et leur vente en France est interdite par un décret paru au Journal Officiel du 11 octobre 1991 (France, 1991).



Figure 31 : *Gyromitra esculenta* (Pers. : Fr.) Fr. - Lorraine (France) - leg. Albert Grobelny (Moingeon, 2010)



Figure 32 : *Gyromitra gigas* (Krombh.) Quélet - Mouthe (Doubs-France) (Moingeon, 2008)

C'est pourquoi il est important de bien distinguer les gyromitres des morilles. Le tableau suivant rappelle les principales caractéristiques distinctives (**Tableau 4**).

Dans l'étude rétrospective des CAPTV français, il n'est pas possible d'exclure formellement un syndrome gyromitrien pour certains cas (mentionnée onze fois en présence de symptômes neurologiques). Cette hypothèse ne permet donc pas d'expliquer l'ensemble des cas rapportés.

2.1.2.4.3. Interaction avec de l'alcool

Une réaction lors de la consommation concomitante de morilles et d'alcool a déjà été mentionnée (Groves, 1964).

Un rapport de la *North American Mycological Association* évoque un cas susceptible d'être compatible avec une réaction antabuse : Une personne ayant consommé des morilles préparées avec de l'alcool dans un restaurant a présenté entre autres, une heure après l'ingestion, des vomissements, une asthénie, des céphalées, une incoordination motrice accompagnée de vertiges et d'hallucinations (Beug, 2002).

En octobre 2012 en Catalogne, lors d'un repas au restaurant, six des quinze convives ont présenté des symptômes trente minutes après la consommation d'un hors-d'œuvre à base de morilles. Ces six personnes étaient les seules à avoir bu de l'alcool ; elles ont présenté un érythème cutané, une sensation d'inflammation des lèvres ainsi que des palpitations et pour certains des vomissements (Piqueras, 2013).

Malgré la description de ces cas récents, il apparaît que les signes du syndrome neurologique et leur chronologie sont différents de ceux d'un syndrome antabuse (Harry, 2008). De plus, la consommation concomitante d'alcool et de morilles étant fréquente, l'interaction était vraisemblablement le fruit du hasard (Benjamin, 1995).

Dans la série de cas des CAPTV français, le rôle de l'alcool semble exclu (Seulement 2 dossiers mentionnent sa présence). Cette information pourrait être systématiquement recherchée dans une étude prospective (Harry, 2008).

Tableau 4 : Caractéristiques distinctives des morilles et des gyromitres

| | MORILLE | GYROMITRE |
|-----------------|---|---|
| CHAPEAU | Cylindrique ou conique Constitué d'alvéoles Apparence d'éponge Creux | Aspect globuleux, cérébriforme Constitué de gros plis arrondis et lisses Irrégulier |
| STIPE | Creux, égal ou renflé à la base Lisse ou sillonné | Trapu, cylindrique ou difforme Lisse ou sillonné Creux |
| ECOLOGIE | Printanier | Printanier |
| TOXICITE | Toxique cru Excellent comestible séché et bien cuit | Toxique et mortel dans certains cas (Présence d'une toxine : la gyromitrine) |

2.1.2.4.4. Contamination

Une éventuelle contamination est toujours évoquée devant une intoxication par une espèce réputée comestible. A ce jour, aucune mycotoxine connue n'est susceptible de provoquer les signes neurologiques retrouvés dans la série de cas de l'étude des CAPTV, et cette hypothèse peut être vérifiée par un examen macroscopique (Absence de filaments mycélien). De même, une contamination par un xénobiotique peut être évoquée. Mais devant la grande diversité des toxiques utilisés durant la période de 30 ans de l'étude, le tableau neurologique relativement monomorphe présenté après l'ingestion de morilles se veut contradictoire (Harry, 2008).

2.1.2.4.5. Paramètres liés au champignon

Dans l'étude des CAPTV, l'état des exemplaires consommés n'est jamais précisé. De plus, les morilles peuvent conserver longtemps une apparence acceptable malgré un âge avancé. Sur une période de cinq cas, il est fait mention d'une consommation différée sans réfrigération. Dans deux autres dossiers, la même cueillette a pu être consommée immédiatement sans conséquence et a provoqué un syndrome neurologique lors d'une ingestion différée.

La dégradation du champignon peut s'avérer être un facteur favorisant l'apparition d'une toxicité.

Les informations concernant l'état initial du champignon, sa conservation et le délai écoulé entre le ramassage et l'ingestion devraient être recueillies dans une étude prospective, de façon à pouvoir tester ces hypothèses (Harry, 2008).

2.1.2.4.6. Toxine

Pour certaines espèces, l'existence de toxines peut conduire à un tableau sévère, même après l'ingestion d'une petite quantité (Bédry, 2002).

Concernant le syndrome neurologique, l'existence d'une toxine (Thermostable) reste à démontrer (Saviuc, 2008).

3. Mesures de prévention et conseils à l'Officine

3.1. Prévention de l'intoxication

Le Pharmacien d'Officine reste l'un des premiers interlocuteurs des ramasseurs de champignons. Celui-ci doit donc leur rappeler les recommandations nécessaires pour limiter le risque d'intoxication (Ministère des Affaires Sociales, de la Santé et des Droits des femmes, 2014) :

- Il est important de cueillir le champignon en totalité (Pied et chapeau) afin de permettre une bonne identification.
- Le champignon doit être en bon état.
- Des confusions sont possibles entre champignons comestibles et champignons vénéneux : Au moindre doute ne pas ramasser le champignon.
- Les champignons doivent être déposés dans un panier ou une cagette afin d'éviter une accélération du pourrissement (Eviter les sacs plastiques).
- Eviter la cueillette au bord des routes, des aires industrielles, ... où les polluants se retrouvent en fortes concentrations dans les champignons.
- Bien séparer les champignons par espèce.
- Faire contrôler sa récolte par un spécialiste (pharmacien, association de mycologie).
- Consommer les champignons en quantité raisonnable et surtout bien cuits ou bien séchés pour certains, au plus tard dans les deux jours suivant la récolte.

D'après les premières conclusions sur un syndrome d'intoxication neurologique suite à la consommation de morilles, il est important d'informer le grand public sur l'existence d'un risque, notamment lors de la consommation d'une grande quantité de morilles et la nécessité d'une cuisson suffisante (Harry, 2008).

3.2. Conduite à tenir en cas d'intoxication

Devant l'apparition de signes inhabituels suite à la consommation de champignons, il est important de contacter le centre antipoison référent.

Le délai d'apparition entre l'ingestion et l'apparition des symptômes doit être noté, c'est le principal critère permettant d'évaluer la gravité.

L'identification mycologique des espèces en cause (Exemplaires frais ou reste de repas) par un mycologue devrait être systématique pour permettre de documenter correctement les cas. De plus cette identification permet d'orienter le traitement et d'évaluer le risque de complications.

Les autres points clés de l'anamnèse sont les questions concernant la préparation des champignons (Transport, conservation, cuisson, consommation d'alcool), l'affectation ou non de l'entourage et les antécédents médicaux (pathologie hépatique, alcoolisme chronique, ...) (Trueb, 2013).

Conclusion

Comme pour tous les champignons, la consommation de morilles doit s'accompagner de mesures simples afin d'éviter tout risque d'intoxication. Il est primordial qu'elles soient parfaitement bien séchées et en aucun cas consommées fraîches. De plus, la quantité ingérée doit rester raisonnable et il est préférable d'éviter les repas successifs. La poursuite des recherches sur le nouveau syndrome neurologique permettra peut-être à l'avenir, d'en élucider les causes exactes.

PARTIE 4 : PROPRIETES THERAPEUTIQUES DES MORILLES

Introduction

De nombreux champignons sont rapportés comme ayant une activité biologique et sont utilisés dans certaines médecines traditionnelles pour soigner divers maux. Dans cette partie, nous avons réalisé une revue d'articles s'intéressant plus particulièrement au genre *Morchella*.

1. Revue de la littérature

1.1. Article 1 : Nitha *et al* (2007)

Cette étude évalue l'activité anti-inflammatoire et anti-tumorale d'un extrait éthanolique du mycélium de *Morchella esculenta*.

L'inflammation, qui est une réponse physiologique fondamentale, peut s'avérer aussi nocive dans certaines situations (Réactions d'hypersensibilité, maladies chroniques, ...). La réponse anti-inflammatoire de l'extrait de *M. esculenta* a été comparée à celle d'un médicament de référence, le diclofénac. Une inflammation est générée chez des souris par le biais d'injection de différentes substances, le carraghénane, le dextrane et la formaline. Une injection de ces produits dans la patte des souris induit un œdème. La mesure de l'épaisseur de la patte sert de critère d'évaluation. Les animaux sont prémédiqués oralement par 250, 500 ou 1000 mg/kg d'extrait du mycélium ou 10 mg/kg de diclofénac selon les groupes. Les animaux ayant reçu les injections de carraghénane et de dextrane reçoivent une dose de médicament une heure avant l'injection, tandis que ceux du groupe de la formaline sont traités pendant six jours consécutifs suivant l'injection. Grâce aux résultats, l'augmentation de l'épaisseur de la patte et le pourcentage d'inhibition sont calculés.

L'activité anti-tumorale, quant à elle, a été étudiée selon trois axes.

D'abord, les animaux ont reçu une injection de cellules EAC (*Ehrlich's ascites carcinoma*). Ils ont été traités vingt-quatre heures après et ce, pendant dix jours consécutifs, soit par l'extrait de mycélium de *M. esculenta* (à 250, 500 ou 1000 mg/kg), soit par un médicament de référence, la cisplatine. Un groupe contrôle n'a reçu aucun

traitement. Le taux de mortalité est noté pour chacun des groupes, permettant ainsi le calcul du pourcentage d'augmentation de la durée de vie.

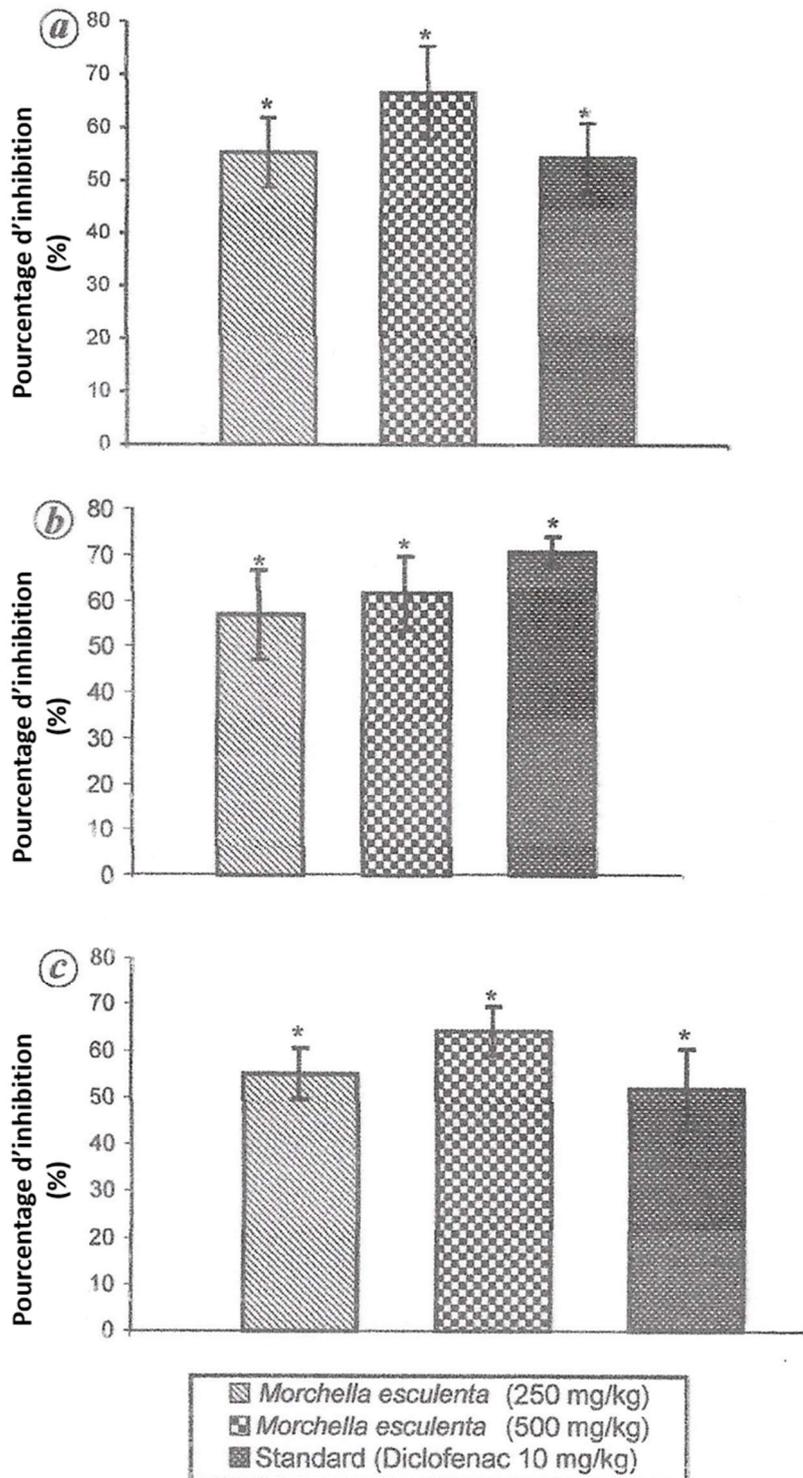
D'autre part, l'effet anti-tumoral potentiellement préventif de l'extrait a été approfondi. Pour ce faire, des cellules DLA (*Cell-lined induced solid tumour*) ont été implantées au niveau sous-cutané chez les souris. Le traitement, néant pour le groupe contrôle, par cisplatine pour le médicament de référence, ou par l'extrait à différents dosages, a été initié simultanément à l'inoculation de la tumeur, et poursuivi pendant dix jours consécutifs. Le développement de la tumeur a été suivi par la mesure du diamètre dans deux plans perpendiculaires, permettant de calculer son volume, deux fois par semaine pendant cinq semaines. A la fin de l'expérience, les tumeurs ont été retirées puis pesées afin de définir le pourcentage d'inhibition *via* les poids moyens pour le groupe contrôle et pour le groupe traité.

Enfin, l'extrait a été testé sur des souris porteuses de tumeurs, afin de définir son effet curatif. Le développement tumoral a été induit comme ci-dessus, mais le traitement n'a débuté que quinze jours après l'implantation des cellules tumorales, et s'est poursuivi pendant dix jours. De même que pour l'expérience précédente, la pesée des tumeurs permet de calculer le pourcentage d'inhibition.

Résultats

La **figure 33** présente les résultats obtenus concernant les tests d'évaluation de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait éthanolique du mycélium de *Morchella esculenta* *versus* le médicament standard (Nitha, 2007).

L'extrait de Morille, pour les concentrations de 250 et 500 mg/kg, inhibe significativement l'inflammation aiguë induite par les injections de carraghénane et de dextrane, ainsi que l'inflammation chronique induite par la formaline. Cette activité agit de manière dose-dépendante. En outre, à une concentration de 500 mg/kg, l'extrait de mycélium de *M. esculenta* présente une activité supérieure au médicament de référence, le diclofénac, vis-à-vis de l'inflammation induite par le carraghénane et la formaline.



L'ensemble des valeurs est exprimé en moyenne \pm SD (n = 6), * $P < 0,001$

Figure 33 : Effet de l'extrait de mycélium de *M. esculenta* sur (a) l'inflammation aiguë induite par le carragénane (b) l'inflammation aiguë induite par le dextrane (c) l'inflammation chronique induite par la formaline (Nitha, 2007)

Comme il est possible de le voir dans le **tableau 5**, l'extrait à une concentration de 1000 mg/kg permet une augmentation de la durée de vie de 54,9 % contre 61,15 % concernant le médicament de référence, la cisplatine, chez les animaux atteints d'une tumeur ascitique d'Ehrlich (Nitha, 2007).

L'extrait possède aussi une activité significative contre les tumeurs solides. D'abord, lors de son administration rapide après l'implantation tumorale, il agit à la fois sur le volume et le poids de la tumeur ; ce qui illustre un effet préventif (**Tableau 6**) (Nitha, 2007). Ces paramètres présentent des valeurs nettement moins importantes que celles rencontrées dans le groupe contrôle. De plus, aux doses de 250, 500 et 1000 mg/kg, le pourcentage de réduction du volume tumorale est de 47,87, 59,6, et 74,7 % respectivement, et celui du poids de la tumeur, de 41,1, 61,7 et 76,9 %.

L'activité anti-tumorale apparaît semblable au médicament de référence, la cisplatine, pour une concentration de l'extrait à 1000 mg/kg.

D'autre part, cet extrait s'est avéré aussi très efficace d'un point de vue curatif, contre le développement des tumeurs solides (**Tableau 7**) (Nitha, 2007). Administré aux doses de 250, 500 et 1000 mg/kg, l'extrait a permis une régression du poids de la tumeur de 52, 65 et 76,5 %, ainsi qu'une diminution de 59, 65,25 et 75,30 % du volume, par comparaison au groupe contrôle.

Conclusion

Ces résultats illustrent que les morilles, dans ce cas plus précis *M. esculenta*, possèdent certains effets thérapeutiques, d'où leurs utilisations en Médecine traditionnelle chinoise, ainsi que dans d'autres médecines populaires pour le traitement de pathologies variées. En effet, l'usage des extraits de champignons pour combattre le cancer est bien documenté dans certains pays tel que la Chine, le Japon, la Corée, la Russie, et s'avère en augmentation aux Etats-Unis (Mizuno, 1995).

Tableau 5 : Effet de l'extrait de mycélium de *M. esculenta* sur l'augmentation de la durée de vie des animaux porteurs de tumeurs ascitiques (Nitha, 2007)

| Groupe | Traitement (mg/kg) | Temps de survie (jours) | Augmentation de la durée de vie (%) | Mortalité à 40 jours |
|----------------------------|--------------------|-------------------------|-------------------------------------|----------------------|
| Contrôle | x | 24,30 ± 3,40 | x | 6/6 |
| Standard | 4 | 34,10 ± 2,40 *** | 61,15 | 1/6 |
| <i>M. esculenta</i> | 250 | 33,80 ± 7,46 * | 39,09 | 3/6 |
| | 500 | 34,80 ± 8,06 * | 43,20 | 2/6 |
| | 1000 | 37,66 ± 5,70 *** | 54,90 | 1/6 |

Toutes les valeurs sont exprimées sous forme de moyenne ± SD (n = 6) ; *** $P < 0,001$; * $P < 0,01$

Tableau 6 : Effet de l'extrait de mycélium de *M. esculenta* sur les tumeurs solides (Effet préventif) (Nitha, 2007)

| Traitement (mg/kg) | Volume tumoral (cm ³) | Diminution du volume tumoral (%) | Poids de la tumeur (g) | Diminution du poids de la tumeur (%) |
|--------------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|------------------------|--------------------------------------|
| Contrôle | 5,490 ± 1,080 | x | 4,380 ± 0,36 | x |
| Standard (4 mg de cisplatine) | 0,805 ± 0,268 *** | 85,4 | 0,916 ± 0,110 *** | 79,1 |
| <i>M. esculenta</i> | | | | |
| 250 | 2,700 ± 0,270 *** | 47,8 | 2,583 ± 0,480 *** | 41,1 |
| 500 | 2,220 ± 0,590 *** | 59,6 | 1,680 ± 0,270 *** | 61,7 |
| 1000 | 1,390 ± 0,280 *** | 74,7 | 1,016 ± 0,210 *** | 76,9 |

Toutes les valeurs sont exprimées sous forme de moyenne ± SD (n = 6) ; *** $P < 0,001$

Tableau 7 : Effet de l'extrait de mycélium de *M. esculenta* sur les tumeurs solides (Effet curatif) (Nitha, 2007)

| Traitement (mg/kg) | Volume tumoral (cm ³) | Diminution du volume tumoral (%) | Poids de la tumeur (g) | Diminution du poids de la tumeur (%) |
|--------------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|------------------------|--------------------------------------|
| Contrôle | 3,080 ± 1,650 | x | 5,300 ± 2,500 | x |
| Standard (4 mg de cisplatine) | 0,895 ± 0,539 * | 70,94 | 1,460 ± 0,570 *** | 73,0 |
| <i>M. esculenta</i> | | | | |
| 250 | 1,260 ± 0,600 | 59,00 | 2,550 ± 0,790 | 52,0 |
| 500 | 1,077 ± 0,550 | 65,25 | 1,860 ± 0,580 ** | 65,0 |
| 1000 | 0,759 ± 0,200 ** | 75,30 | 1,200 ± 0,360 *** | 76,5 |

Toutes les valeurs sont exprimées sous forme de moyenne ± SD (n = 6) ; *** $P < 0,001$, ** $P < 0,005$, * $P < 0,01$

Les résultats de cette étude indiquent que l'extrait éthanolique de *Morchella esculenta* se révèle à la fois efficace sur l'inflammation aiguë, ainsi que sur l'inflammation chronique. En effet, le test au carraghénane semble le plus approprié pour cribler une molécule anti-inflammatoire, car la seconde phase de développement de l'œdème induit s'avère sensible cliniquement aux anti-inflammatoires stéroïdiens comme non stéroïdiens (Katzung, 1998). La formaline, quant à elle, induit une réponse de l'organisme médiée par les tissus, et plus tardive. La procédure l'impliquant permet ainsi de détecter aisément les agents ayant une activité sur l'inflammation chronique (Greenwald, 1991). Les résultats obtenus dans cette étude suggèrent l'utilité des extraits de *Morchella esculenta* dans le traitement de maladies chroniques et inflammatoires, telle que l'arthrite.

De plus, l'activité anti-tumorale de l'extrait éthanolique du mycélium de *Morchella esculenta* sur les tumeurs solides, comme sur les tumeurs ascitiques s'est avérée significative. L'extrait possède, de façon dose-dépendante, des propriétés curatives et préventives contre les tumeurs solides. Ces résultats peuvent suggérer la présence de certains composés, à l'intérieur de l'extrait, possédant la capacité de moduler la tumorigénèse à différents stades. En effet, il a été rapporté que certains polysaccharides présents chez *M. esculenta* exhibaient une activité immunomodulatrice (Duncan, 2001). Par conséquent, cet extrait fournit des effets additifs ou synergiques dans la prévention et le traitement des cancers et ces résultats suggèrent un certain potentiel thérapeutique de l'utilisation du mycélium en chimiothérapie.

1.2. Article 2 : Nitha et al (2008)

Cet article étudie l'effet protecteur de l'extrait de mycélium de *Morchella esculenta* contre la néphrotoxicité induite par la cisplatine et la gentamicine.

La cisplatine est un puissant agent alkylant utilisé dans le traitement de certains cancers (Lynch, 2005). Cependant, son administration à doses élevées, nécessaire pour obtenir l'effet thérapeutique souhaité, entraîne la survenue de toxicités diverses (néphrotoxicité, neurotoxicité, ototoxicité, toxicité de la moëlle osseuse et gastro-

intestinale). Ce médicament favorise la production de radicaux libres causant principalement des dommages rénaux.

La gentamicine est un antibiotique de la classe des aminosides utilisés dans le traitement des infections à germes GRAM négatif. Elle génère une production anormale d'espèces réactives de l'oxygène « ERO » entraînant des dommages cellulaires rénaux et une nécrose par divers mécanismes (Yanagida, 2004 ; Karaha, 2005).

Les champignons et plus particulièrement les morilles contiennent certaines substances possédant des activités anti-oxydantes. C'est pourquoi une éventuelle protection de l'extrait de mycélium vis-à-vis des dommages rénaux a été étudiée.

Les tests ont été effectués sur six groupes de rats. Le groupe 1 n'a reçu que de l'eau distillée (Groupe normal). Le groupe 2 ou groupe contrôle a été traité uniquement par une dose de médicament, la cisplatine ou la gentamicine. Les groupes 3 et 4 ont bénéficié d'un traitement par l'extrait de *Morchella esculenta* aux doses de 250 et 500 mg/kg respectivement, en plus du traitement par les médicaments néphrotoxiques. Et enfin, la vitamine E, antioxydant connu, a été utilisée chez les animaux du groupe 5.

A la fin de l'expérience, les animaux sont sacrifiés et des échantillons sanguins sont collectés. La créatinine, l'urée sérique et la concentration de malondialdéhyde « MDA » sont mesurés. Le statut anti-oxydant hépatique est défini grâce à la détermination du taux de GSH, GSH-Px, GST, SOC et de CAT. Les ERO dans les glomérules rénaux sont définis et enfin un examen histopathologique est réalisé.

Résultats

L'injection de gentamicine et de cisplatine induit une néphrotoxicité sévère qui se traduit par l'augmentation significative de l'urée sérique et de la concentration en créatinine chez les animaux traités uniquement par ces médicaments. Ces marqueurs sont largement diminués pour les groupes traités par l'extrait ainsi que par la vitamine E. Pour une dose à 500 mg/kg d'extrait, il y a une diminution de 59,66 % (Urée) et de

62,72 % (Créatinine) pour la cisplatine et de 51,35 % (Urée) et de 74,81 % (Créatinine) pour la gentamicine, par rapport au groupe contrôle.

La superoxyde dismutase « SOD » rénale, diminuée significativement lors de l'administration des traitements néphrotoxiques seuls, augmente de 79,86 % et de 52,70 % pour la cisplatine et la gentamicine respectivement, par rapport au groupe n'ayant reçu aucun traitement.

Les résultats obtenus concernant l'activité de la catalase « CAT » sont semblables. L'extrait permet de prévenir la baisse d'activité induite par la cisplatine et la gentamicine. L'activité est restaurée à 78,15 % (500 mg/kg) et à 67,88 % (250 mg/kg) chez les animaux traités par la cisplatine et à 71,81 % (500 mg/kg) chez ceux traités par la gentamicine.

Concernant la glutathion peroxydase « GSH-Px », son activité est elle aussi restaurée, à 55,36 % pour la cisplatine et à 54,73 % pour la gentamicine, après l'administration de l'extrait à une dose de 500 mg/kg.

La concentration du GSH diminue suite aux dommages rénaux initiés par l'injection de la cisplatine et de la gentamicine. Pour le test de la cisplatine, la concentration passe de 5,54 U/mg de protéine à 10,23 U/mg de protéine, pour une dose d'extrait à 500 mg/kg. A cette même dose, le taux de GSH chez les animaux traités par la gentamicine est restauré à 46,87 %.

Par ailleurs, une diminution d'environ 34 % de la concentration sérique de MDA est observée, après l'administration de l'extrait à 500 mg/kg, autant chez les animaux ayant reçu la cisplatine que ceux ayant reçu la gentamicine.

D'après l'étude des ERO endogènes dans le glomérule rénal, l'extrait possède la capacité de réduire efficacement la production de radicaux libres. Dans le groupe traité par cisplatine, l'extrait diminue les ERO de 70,29 % et 53,76 % aux doses de 250 et 500 mg/kg respectivement. De plus, une inhibition de 24,81 % (250 mg/kg) et 60,61 % (500 mg/kg) des ERO par rapport au groupe contrôle chez les animaux ayant reçu la gentamicine.

Enfin, les observations histopathologiques montrent une nécrose marquée du tubule rénal après le traitement par cisplatine et gentamicine. Ces manifestations s'améliorent grâce à la prise de l'extrait et de vitamine E.

Conclusion

Plusieurs études montrent l'importance des SRO dans l'induction des dommages rénaux par la cisplatine et la gentamicine. En effet, une dose minime de cisplatine provoque une néphrotoxicité chez le Rat. Ce médicament s'accumule dans les cellules épithéliales rénales et génère une hausse de production des ERO ainsi qu'une augmentation de la peroxydation lipidique membranaire. En outre, la gentamicine, en s'accumulant dans le tubule rénal proximal, favorise la production de peroxyde d'hydrogène par les mitochondries. Ceux-ci vont libérer du fer, qui une fois complexé avec la gentamicine entretient l'état de stress oxydatif.

Les agents anti-oxydants sont donc les mieux placés pour contrer l'effet néphrotoxique induit par ces médicaments. Actuellement, les recherches se tournent vers des antioxydants d'origine naturelle qui, en plus d'offrir une activité comparable cause moins d'effets indésirables. L'extrait de mycélium de *Morchella esculenta* testé ici possède un effet significatif contre la néphrotoxicité induite par la gentamicine et la cisplatine et semble pouvoir être utilisé comme agent néphroprotecteur

1.3. Article 3 : Gursoy *et al* (2009)

Dans cet article, les auteurs ont évalué le potentiel anti-oxydant de sept espèces de champignon du genre *Morchella* :

- *M. rotunda* (Pers. : Fr.) Boud. : Il s'agit probablement de *M. esculenta* var. *rotunda*, synonyme de *M. esculenta* d'après Richard *et al.* (2015)
- *M. crassipes* (Ventenat) Pers., qui évoque sans doute *M. esculenta* var. *crassipes*, synonyme de *M. esculenta*.
- *M. esculenta* var. *umbrina* (Boud.) S. Imai, équivalent à *M. esculenta* d'après l'étude Richard *et al.* (2015)
- *M. deliciosa* (Fr.) Jct..

- *M. elata* Fr. : Fr. : Il demeure un doute sur l'espèce mentionnée sous ce nom.
- *M. conica* Pers. : Fr. : correspondant à *M. deliciosa*.
- *M. angusticeps* Peck..

En outre, ils ont analysé la composition de ces champignons en métaux lourds, en composés phénoliques et flavonoïdes.

Cinq tests différents ont été utilisés pour étudier l'activité anti-oxydante :

- Test de décoloration du β -carotène : Dans ce test, l'activité antioxydante est déterminée en mesurant l'inhibition de la dégradation du β -carotène, autrement dit sa décoloration, par les produits d'oxydation de l'acide linoléique (Lyana-Pathirana, 2006). La cinétique de décoloration est suivie par spectrophotométrie à 490 nm (Hambada, 2012).
- Test de réduction du 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH) : Les anti-oxydants ont la capacité de réduire le DPPH, de couleur violette, en un composé jaune, le diphényl-pyrcil-hydrazine, dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des anti-oxydants présents dans le milieu à donner des protons (Sanchez-Moreno, 2002). L'absorbance est mesurée par spectrophotométrie à 517 nm, et le pourcentage d'inhibition de la DPPH est calculé à l'aide d'une formule ($\% = 100 \times (A_{\text{contrôle}} - A_{\text{échantillon}}) / A_{\text{contrôle}}$). Le DPPH n'est pas affecté par certaines réactions secondaires tels que la chélation d'ions métalliques ou l'inhibition d'enzyme ce qui représente un certain avantage (Amarowicz, 2004).
- Test de réduction du fer (FRAP) : C'est un essai simple, rapide et reproductible (Benzie, 1996). La présence des réducteurs dans les extraits provoque la réduction de Fe^{3+} /complexe ferricyanide à la forme ferreux. Par conséquent, Fe^{2+} peut être évalué en mesurant par spectrophotométrie à 700 nm, l'augmentation de l'intensité de la couleur bleue dans le milieu réactionnel (Chung, 2002).
- Effet chélateur des ions ferreux : La capacité chélatrice des extraits est mesurée en suivant l'inhibition de la formation du complexe Fe(II) -Ferrozine. Ce complexe, de couleur rouge, a une absorption maximum à 562 nm en spectrophotométrie. L'effet

des extraits sur le fer s'exprime en pourcentage de chélation. Il peut être calculé grâce à la formule suivante : % chélation = $100 \times [(A_{\text{contrôle}} - A_{\text{échantillon}}) / A_{\text{contrôle}}]$ (Meziti, 2009).

- Test de décoloration du radical ABTS^{•+}: L'acide 2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique ou ABTS, réagit avec le persulfate de potassium pour former le radical ABTS^{•+} de couleur bleu à vert. En présence d'un antioxydant, ce radical est réduit et le mélange se décolore. La décoloration, mesurée par spectrophotométrie à 734 nm, est proportionnelle à la concentration en antioxydant du mélange.

Résultats

Le test de décoloration du β -carotène montre que quatre espèces expriment une activité anti-oxydante. Les deux espèces les plus actives sont *M. esculenta* et *M. angusticeps* dont l'activité semble quasiment identique à une concentration de 4,5 mg.mL⁻¹ (Soit 96,89 % et 96,88% d'activité anti-oxydante respectivement). Elles sont suivies par *M. conica* (96,55 %) et *M. crassipes* (96,01 %). L'activité la plus faible est retrouvée pour *M. elata* (94,37 %).

Seul *M. conica* montre une forte activité antioxydante en réduisant plus de 80% de DPPH (85,36 %). Comparativement, les autres espèces expriment une activité moindre, avec un pourcentage d'inhibition de la DPPH inférieur à 65 %.

Le pouvoir réducteur, mesuré par le test de réduction du fer, augmente avec la concentration de l'extrait. D'après les résultats, l'espèce la plus active est *M. conica* (avec une absorbance mesurée à 1,055 pour une concentration de l'extrait à 4,5 mg.mL⁻¹). Elle est suivie dans l'ordre par *M. esculenta* var. *umbrina* (0,943), *M. crassipes* (0,862), *M. elata* (0,831), *M. angusticeps* (0,639), *M. rotunda* (0,574) et *M. deliciosa* (0,563).

L'effet chélateur des extraits méthanoliques est mesuré par comparaison à l'EDTA. D'après les résultats des tests, cet effet augmente avec l'élévation des concentrations. Excepté pour *M. deliciosa*, à une concentration de 0,250 mg.mL⁻¹, l'effet chélateur est

toujours supérieur à 90 %. Les valeurs les plus importantes sont retrouvées pour *M. crassipes* (96,68 %), *M. elata* (96,22 %) et *M. angusticeps* (96,01 %).

A une concentration de 40 µg.mL⁻¹, l'extrait de *M. conica* présentait la plus forte réactivité avec le radical ABTS (78,66 %), suivi par *M. esculenta* (76,38 %) et *M. rotunda* (76,06 %).

D'autre part, cette étude analyse le contenu des extraits en métaux. Sept éléments et cinq métaux lourds ont été recherchés. Les éléments les plus abondamment retrouvés sont le calcium et le magnésium, suivi par le fer. De plus, au niveau des métaux lourds, l'aluminium est en tête de liste, avec une quantité comprise entre 62 et 522 mg.kg⁻¹.

Par ailleurs, *M. conica* est l'espèce contenant le plus de composés phénoliques, avec 25,38 µg GAEs (Equivalent en acide gallique) /mg d'extrait. Concernant la quantité de flavonoïdes, c'est chez *M. rotunda* qu'elle est la plus importante, avec des valeurs bien supérieures à toutes les autres espèces (0,59 µg QEs (Equivalent en quercetine) / mg d'extrait).

Conclusion

Les champignons possèdent des propriétés bénéfiques pour l'organisme (Anti-oxydante, anti-inflammatoire, ...), mais peuvent cependant être une source de danger, notamment par la présence éventuelle de métaux lourds (Gadd, 1993 ; Gaso, 1998 ; Kirchner, 1998 ; Svoboda, 2000 ; Kalac, 2001 ; Falandysz, 2003 ; Vetter, 2004). D'après la littérature, les activités anti-oxydantes, anti-inflammatoires et anti-tumorales des morilles ont déjà fait l'objet de plusieurs travaux. Cependant, la majorité d'entre-eux concerne uniquement *Morchella esculenta* ; les données impliquant les autres espèces peuvent être considérées comme les premières publiées.

Les résultats obtenus dans cette étude sont sensiblement identiques malgré quelques différences mineures.

Dans leur étude, Turkoglu *et al*, en 2006, ont mesuré l'activité anti-oxydante de *Morchella conica*. Dans leur rapport, la capacité d'inhibition du stress oxydatif de l'oxygène par cette espèce a été évaluée approximativement à 96,9 %. Dans cette

étude et à concentration variable, l'activité anti-oxydante de l'extrait méthanolique pour cette même espèce est comprise entre 82 et 96 %. Les résultats obtenus semblent donc être complètement validés.

La capacité de piégeage des radicaux libres, mesurée au moyen du test au DPPH, a montré des résultats variables. L'extrait de *Morchella conica* a présenté l'activité la plus importante à une concentration de 4,5 mg.mL⁻¹ avec 85,36 %. Ce résultat est supérieur à celui du contrôle positif (BHT à 0,1 mg.mL⁻¹) qui s'élève à 72,64 %. Le BHT, ou hydroxytoluène butylé, est un puissant antioxydant de synthèse utilisé comme additif alimentaire. L'ensemble des autres extraits ont montré une augmentation modérée en fonction de la concentration : 3,96 % à 0,5 mg.mL⁻¹ à 65,56 % à 4,5 mg.mL⁻¹.

Le dosage de l'activité réductrice, basé sur le test de réduction de fer, indique que le pouvoir réducteur des extraits augmente avec les concentrations. Pour une concentration de 4,5 mg.mL⁻¹, les extraits de l'ensemble des espèces testées affichent un pouvoir réducteur supérieur à ceux des contrôles positifs (BHT, BHA et quercétine à 0,02 mg.mL⁻¹). Le BHA, ou hydroxyanisole butylé, est aussi un anti-oxydant synthétique puissant, utilisé comme conservateur notamment en cosmétologie et dans l'alimentation. La quercétine, quant à elle, appartient à la classe des flavonoïdes, elle présente une activité anti-oxydante, anti-inflammatoire et anti-histaminique. Les résultats de ce test sont relativement similaires à ceux trouvés par Mau *et al* en 2004 concernant *Morchella esculenta*. En effet, dans leur étude, le pouvoir réducteur de cette espèce s'élevait à 0,11 pour une concentration de 0,5 mg.mL⁻¹ et les résultats de cette étude montrent un pouvoir réducteur à 0,116 pour *Morchella esculenta* var. *umbrina* à la même concentration.

La catalyse des métaux est en corrélation avec l'incidence des cancers et de l'arthrite (Halliwell, 1995). La capacité de chélation des extraits a donc été étudiée. Les résultats ne montrent pas de différence significative entre la capacité de chélation de l'ensemble des extraits méthanoliques des différentes espèces à toutes les concentrations. De plus, l'ensemble des extraits testés ici présentent des effets chélateurs significativement plus élevés sur les ions ferreux que ceux des données déclarées par Soares *et al*, en 2009.

Les propriétés anti-oxydantes des champignons sont généralement liées à la présence de composés de bas poids moléculaires, en particulier aux composés phénoliques (Flavonoïdes, acides phénoliques, tanins). C'est pourquoi le contenu total en composés phénoliques et en flavonoïdes a été étudié. D'après les résultats de cette étude, le contenu en composés phénoliques est différent dans les extraits, mais avec une activité anti-oxydante similaire d'après les différents tests. Il est légitime de conclure que d'autres facteurs interviennent dans ces propriétés. A cet égard, les données de la littérature sont contradictoires concernant la relation entre la concentration en composés phénoliques et l'activité anti-oxydante. En effet, certains auteurs affirment qu'il existe une corrélation élevée alors que d'autres n'en trouvent pas ou peu. Il est suggéré que cette action anti-oxydante pourrait être liée à d'autres substances telles que les tocophérols ou le β -carotène.

Enfin, bien que les minéraux jouent un rôle essentiel dans le bon développement et la bonne santé de l'organisme, ils peuvent être toxiques en quantités importantes. Dans cette étude, l'apport en métal pour un consommateur normal (60 kg), en milligrammes par portion (Portion de 30 g de matière sèche) a été calculé. Les résultats obtenus sont conformes aux normes du *UE Scientific committee* (2001). Par conséquent, le consommateur ne court aucun risque à consommer 30 g (poids sec) de champignon quotidiennement.

1.4. Article 4 : Ozturk et al (2010)

Dans cette étude, les auteurs ont souhaité mettre en évidence l'activité antiradicalaire et antimicrobienne d'un extrait de *Morchella conica*, qui se rapporte à *M. deliciosa* d'après Richard et al., collecté dans la région méditerranéenne de Turquie. De plus, ils ont évalué le contenu en composés phénoliques totaux, en minéraux et en métaux lourds. En effet, ces différents composés participent aux activités biologiques et contribuent au maintien d'une bonne santé, mais peuvent également s'avérer être nocifs (métaux lourds par exemple) en cas de consommation de quantité importante.

L'activité antiradicalaire est évaluée à l'aide du test de réduction du radical DPPH et les effets antibactériens sont testés sur douze bactéries et deux levures.

Résultats

Le contenu en composés phénoliques totaux s'élève à 20,64 GAE (équivalent en acide gallique)/g. Ce résultat diffère des valeurs rapportées par Gursoy et al en 2006. Cette différence s'explique certainement par la variabilité des méthodes d'extraction et d'analyse utilisées, ainsi que par les régions de collectes variées.

Le pourcentage d'inhibition du DPPH atteint 43,72 % pour une concentration de 20 mg/mL de l'extrait. Cette valeur, par comparaison à celles décrites dans l'article de Gursoy et al, apparaît bien inférieure. La raison invoquée pour tenter d'expliquer cette différence est la même que pour le contenu en composés phénoliques, à savoir la différence de technique extractive utilisée.

Parmi les quatorze souches testées pour évaluer l'activité antimicrobienne, seule *Staphylococcus aureus* s'est montré sensible, présentant un diamètre d'inhibition de 8 mm. Ces résultats ne sont pas tout à fait conformes à ceux présentés par Turkoglu et al en 2006, qui détectaient une sensibilité de certaines souches vis-à-vis de l'extrait, notamment pour *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus* et *Yersinia enterocolita*. Ces résultats, peu probants, concluent à l'absence d'effet antibactérien de *M. conica* envers les souches bactériennes testées.

Les éléments minéraux retrouvés le plus abondamment dans ces extraits sont le potassium (20,4 mg/kg), le phosphore (13,25 mg/kg), le magnésium (1,6 mg/kg), le calcium (875 mg/kg) et le fer (340 mg/kg).

Plusieurs métaux lourds ont pu être détectés dans cet extrait, principalement le nickel et le plomb qui présente les concentrations les plus importantes (1,20 et 1,10 mg/kg respectivement).

Conclusion

Ces résultats démontrent une utilisation potentielle de l'extrait de *Morchella conica* comme anti-oxydant naturel, notamment grâce à son contenu en composés phénoliques, ainsi que comme source de minéraux. Les taux de métaux lourds

retrouvés dans les extraits testés ne dépassent pas les normes fixées par le « *EU Scientific Committee for Food Adult Weight* » et ne présentent donc aucun danger pour la santé.

1.5. Article 5 : Meng et al (2010)

Cette étude évalue les capacités anti-oxydantes d'exopolysaccharide (EPS) de *Morchella esculenta* produit en culture submergée.

Dans une première partie, les auteurs ont défini les conditions nécessaires pour optimiser l'extraction de ces EPS.

Les effets anti-oxydants sont étudiés *in vivo*, en évaluant l'activité de la superoxyde dismutase (SOD) et de la glutathion peroxydase (GSH-Px), ainsi que la quantité de malondialdéhyde (MDA).

La SOD est une enzyme clé appartenant au système de défense anti-oxydant naturel. Elle inactive l'ion superoxyde, point de départ de la chaîne de production des radicaux libres, en le transformant en peroxyde d'hydrogène. Celui-ci est ensuite rapidement catabolisé par la catalase et les peroxydases en dioxygène et en molécule d'eau (Joanny Menvielle-Bourg, 2005).

L'activité mesurée de cette enzyme s'exprime en unités relatives par milligrammes de protéine ou en micromoles par minute par litre de sang.

Les glutathion peroxydases « GSH-Px » sont des enzymes aussi impliquées dans la défense de l'organisme contre les espèces réactives de l'oxygène, en catalysant la réduction des hydroperoxydes par le glutathion (Richard, 1997). Elles agissent en synergie avec les SOD, en dérivant le flux de radicaux superoxydes vers la formation de molécules d'eau (Michiels, 1991).

Son activité s'exprime, dans cette étude, en millimoles de NADPH oxydé par minute et par milligramme de tissu ou en micromoles par minute et par litre de sang.

Le MDA est un produit de décomposition oxydative des lipides insaturés mais peut également être formé à partir de composés non lipidiques tels que l'acide ascorbique, les acides aminés, le desoxyribose ou le saccharose lorsqu'ils sont exposés à l'action des hydroxyles (Haj Mouhamed, 2012).

Les expériences sont menées sur six groupes de dix souris traités par 25, 50, 100, 200 et 400 mg/kg d'EPS. Un groupe reçoit uniquement de la solution saline et sert de groupe contrôle. Les solutions sont administrées directement dans l'estomac à l'aide d'une seringue. Après 28 jours, les animaux sont sacrifiés, des échantillons de sang sont prélevés et les organes (Foie, cœur, rate et reins) sont retirés avant d'être pesés et homogénéisés.

Résultats

L'activité de la SOD, dans le groupe de souris traité par 400 mg/kg d'EPS, s'élève dans le sang, la rate, le foie, le cœur et les reins à 443,97 U/mL, 130,27 U/mg de protéine, 180,49 U/mg de protéine, 73,83 U/mg de protéine et 143,28 U/mg de protéine respectivement, ce qui est 125 %, 46,11 %, 23,33 %, 12,19 % et 41,29 % supérieur respectivement, par rapport au groupe contrôle.

L'activité de la GSH-Px montre des valeurs de 613,48 U/mL, 19,15 U/mg de protéine, 145,61 U/mg de protéine, 85,64 U/mg de protéine et 54,81 U/mg de protéine respectivement dans le sang, la rate, le foie, le cœur et les reins, pour une concentration en EPS de 400 mg/kg. Ces valeurs sont supérieures de 63,24 %, 63,12 %, 166,54 %, 98,01 % et 57,68 % aux résultats obtenus pour le groupe contrôle.

L'élimination des hydroperoxydes lipidiques étant majeure dans le foie, cela explique l'activité accrue de la GSH-Px dans ces tissus.

Enfin, le contenu en MDA est évalué à 9,47 nmol/mL, 2,65 nmol/mg de protéine, 10,07 nmol/mg de protéine, 2,89 nmol/mg de protéine et 6,86 nmol/mg de protéine, pour une concentration d'EPS à 400 mg/kg, dans le sang et les organes suivant respectivement, la rate, le foie, le cœur et les reins. Ceci représente des taux plus bas de 21,80 %, 67,84 %, 24,48 %, 56,15 % et 41,62 % par rapport au groupe contrôle.

Conclusion

Les valeurs de la SOD, de la GSH-Px et de MDA peuvent refléter le degré de lésion des cellules et des hydroperoxydes lipidiques, illustrant ainsi les activités antioxydantes *in vivo* (Fang, 2002).

D'après les résultats, l'activité de la SOD pour le groupe d'animaux traités par 400 mg/kg d'EPS se révèle significative par rapport au groupe contrôle. Cela prouve que l'extrait possède la capacité de piéger l'ion superoxyde en stimulant l'activité SOD.

De plus, il agit de façon notable sur l'amélioration de l'activité de la GSH-Px.

Le MDA est un marqueur important du contenu en radicaux libres produit par la peroxydation lipidique (Niki, 2005 ; Husain, 2003). Sa concentration diminue avec l'augmentation de la concentration des EPS de *Morchella esculenta*.

L'ensemble de ces résultats démontre que l'EPS de *Morchella esculenta* est capable d'améliorer les capacités antioxydantes des souris en stimulant les principales enzymes, soit la SOD et la GSH-Px, et en réduisant le niveau de MDA dans le sang et l'ensemble des organes testés. Le mécanisme mis en jeu pourrait être l'activation directe de ces enzymes ou la liaison à des ions métalliques, empêchant ainsi l'organisme de produire des radicaux libres (Volpi, 1999).

1.6. Article 6 : Heleno et al (2012)

Cette étude de 2012 tend à fournir des résultats plus détaillés sur la composition chimique et les propriétés, anti-oxydantes et anti-microbiennes, des morilles et plus précisément de l'espèce *Morchella esculenta* (L.) Fr. Elle compare des exemplaires originaires de deux pays, le Portugal et la Serbie (**Tableau 8**) (Heleno, 2012).

Cinq tests ont permis d'évaluer le pouvoir réducteur, l'activité de piégeage des radicaux libres et l'inhibition de la peroxydation des lipides, qui définissent le pouvoir anti-oxydant des extraits de champignon. En plus, du test de réduction du fer, de réduction de la DPPH et de décoloration du β -carotène expliqués précédemment, les auteurs ont utilisé deux tests supplémentaires :

- L'essai de Folin-Ciocalteu : Cette méthode permet d'évaluer la réduction du réactif de Folin-Ciocalteu qui provoque l'apparition d'une coloration bleue. Après une période

Tableau 8 : Activité anti-oxydante des extraits de *M. esculenta* du Portugal (SP) et de Serbie (SS) (Heleno, 2012)

| Activité anti-oxydante | Essais | SP | SS |
|--|--|--------------|--------------|
| Pouvoir réducteur | Essai de Folin-Ciocalteu (mg GAE/g extrait) | 34,64 ± 1,24 | 32,17 ± 1,31 |
| | Test de réduction du fer (valeur EC50 ; mg/mL) | 6,34 ± 0,07 | 1,26 ± 0,12 |
| Piégeage des radicaux libres | Réduction de l'activité de la DPPH (valeur EC50 ; mg/mL) | 6,06 ± 0,05 | 3,03 ± 0,11 |
| Inhibition de la peroxydation lipidique | Décoloration du β -carotène (valeur EC50 ; mg/mL) | 0,81 ± 0,02 | 2,39 ± 0,09 |
| | Essai TBARS (valeur EC50 ; mg/mL) | 1,01 ± 0,12 | 2,23 ± 0,46 |

SP : échantillon du Portugal ; SS : échantillon de Serbie

d'incubation, l'absorbance est mesurée par spectrophotométrie à 765 nm. L'activité anti-oxydante est évaluée par comparaison avec l'acide gallique, anti-oxydant de référence ; c'est pourquoi ils s'expriment en équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait.

- L'essai TBARS (*Thiobarbituric acid reactiv substances*, substances réagissant avec l'acide thiobarbiturique) : Cet essai permet de doser le MDA, marqueur le plus utilisé pour déterminer un stress oxydant, qui en réagissant avec deux molécules d'acide thiobarbiturique, forme un pigment coloré, mesurable par spectrophotométrie.

L'activité anti-bactérienne des extraits de *Morchella esculenta* est expérimentée sur cinq souches bactériennes : *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* et *Enterobacter cloacae* pour les bactéries GRAM négatif et *Listeria monocytogenes* et *Staphylococcus aureus* pour les bactéries GRAM positif.

L'efficacité anti-bactérienne est d'abord mesurée grâce à la méthode de diffusion sur disque, puis par une méthode de microdilution. Pour la méthode de diffusion, les bactéries mises en culture sont traitées par un disque d'extrait et le diamètre d'inhibition après 24 heures d'incubation est mesuré. Concernant le test de microdilution, différentes dilutions d'inocula bactériens sont préparées et l'extrait est ajouté à ces solutions. Les résultats permettent, après une période d'incubation de définir la CMI (Concentration minimale inhibitrice), c'est-à-dire la concentration la plus faible sans qu'il y ait de croissance bactérienne visible, et la CMB (Concentration minimale bactéricide), définie par une série de sous-culture. La streptomycine et l'ampicilline sont utilisées comme contrôles positifs.

Les deux échantillons testés ont révélé une activité anti-oxydante. L'extrait en provenance de Serbie présente un plus fort pouvoir réducteur d'après les résultats obtenus au test de réduction du fer et du DPPH. Ces résultats peuvent s'expliquer par des concentrations plus importantes en tocophérols totaux ainsi qu'en acides organiques. Les corrélations statistiques montrent que, parmi les molécules présentes dans l'extrait, les acides quinique et citrique sont ceux qui contribuent le plus à l'activité anti-DPPH et au pouvoir réducteur mesuré par le test à la ferricyanide. D'autre part, l'échantillon originaire du Portugal révèle un meilleur pouvoir d'inhibition de la

peroxydation des lipides (Test au β -carotène et TBARS). Ceci est en relation avec la présence de composés phénoliques, d'acides organiques ainsi que certains sucres réducteurs.

Le **tableau 9** montre à la fois les résultats obtenus par la méthode alternative par diffusion de disque et par la méthode de microdilution (Heleno, 2012). L'utilisation des disques a permis de vérifier que les extraits exerçaient un effet inhibiteur sur les bactéries. Les diamètres d'inhibition obtenus pour l'ensemble des échantillons sont relativement identiques, mais la streptomycine, utilisée comme contrôle positif montre quand même un meilleur potentiel antibactérien, avec des zones d'inhibition s'étendant de 6,12 à 18,13 mm. L'espèce la plus sensible est *L. monocytogenes* alors qu'*E. coli* présente la zone d'inhibition la plus restreinte.

Les résultats de l'activité anti-bactérienne mesurée par la méthode de microdilution place l'échantillon de Serbie devant celui du Portugal. De plus, l'espèce la plus sensible est, dans ce cas, *S. aureus*. La comparaison de l'activité des extraits avec celle des antibiotiques commercialisés, la streptomycine et l'ampicilline, met en lumière le fort potentiel antimicrobien de l'échantillon serbe vis-à-vis de *S. aureus*, *S. typhimurum* et *L. monocytogenes*. La différence entre les deux échantillons peut être attribuée à des facteurs environnementaux qui interfèrent vraisemblablement dans la synthèse des composés biologiquement actifs. La présence en plus grande quantité des tocophérols et des acides organiques chez l'exemplaire de Serbie pourrait être impliquée dans son activité antimicrobienne supérieure.

Les résultats révèlent certaines différences entre les deux méthodes utilisées. En effet, des actifs présentant un potentiel de diffusion faible par la méthode des disques, se montraient beaucoup plus actifs que les antibiotiques commerciaux dans la méthode de microdilution. Cet accroissement d'activité s'explique par le contact direct de l'extrait avec les cellules bactériennes ainsi qu'une meilleure biodisponibilité.

Ainsi, même si une étude plus approfondie sur les composés actifs présents chez les morilles est nécessaire, il semblerait qu'elles puissent devenir une nouvelle source de composés antimicrobiens.

Tableau 9 : Activité antibactérienne d'extraits de *M. esculenta* du Portugal (SP) et de Serbie (SS) (Heleno, 2012)

| Méthode par diffusion de disque (diamètre de la zone d'inhibition, mm) | | | | | |
|--|-------------|-------------|-------------|-------------|---------------|
| Bactérie | SP | | SS | | Streptomycine |
| | 2 mg/disque | 1 mg/disque | 2 mg/disque | 1 mg/disque | 1 mg/disque |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 7,22 ± 0,18 | 6,22 ± 0,27 | 7,34 ± 0,27 | 6,18 ± 0,06 | 6,12 ± 0,01 |
| <i>Salmonella typhimurium</i> | 6,48 ± 0,26 | n.a. | 6,47 ± 0,20 | n.a. | 14,14 ± 1,23 |
| <i>Listeria monocytogenes</i> | 7,80 ± 0,29 | 6,16 ± 0,04 | 8,34 ± 0,46 | 6,27 ± 0,13 | 18,13 ± 2,21 |
| <i>Escherichia coli</i> | 6,31 ± 0,23 | n.a. | 6,44 ± 0,10 | n.a. | 13,94 ± 0,69 |
| <i>Enteobacter cloacae</i> | 6,84 ± 0,61 | 6,23 ± 0,12 | 7,67 ± 0,65 | 7,05 ± 0,72 | 10,54 ± 0,61 |

| Méthode par microdilution (MIC et MBC, mg/mL) | | | | | | | | |
|---|-------------|-------------|-------------|-------------|---------------|-------------|-------------|-------------|
| Bactérie | SP | | SS | | Streptomycine | | Ampicilline | |
| | MIC | MBC | MIC | MBC | MIC | MBC | MIC | MBC |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 0,30 ± 0,06 | 0,60 ± 0,04 | 0,02 ± 0,00 | 0,05 ± 0,00 | 0,04 ± 0,00 | 0,09 ± 0,00 | 0,25 ± 0,05 | 0,37 ± 0,02 |
| <i>Salmonella typhimurium</i> | 2,50 ± 0,20 | 5,00 ± 0,20 | 0,10 ± 0,01 | 0,30 ± 0,02 | 0,17 ± 0,00 | 0,34 ± 0,01 | 0,37 ± 0,01 | 0,49 ± 0,03 |
| <i>Listeria monocytogenes</i> | 0,60 ± 0,04 | 1,25 ± 0,03 | 0,05 ± 0,00 | 0,10 ± 0,01 | 0,17 ± 0,01 | 0,34 ± 0,00 | 0,37 ± 0,01 | 0,49 ± 0,03 |
| <i>Escherichia coli</i> | >10 | >10 | 0,60 ± 0,02 | 1,25 ± 0,03 | 0,17 ± 0,03 | 0,34 ± 0,02 | 0,25 ± 0,05 | 0,49 ± 0,05 |
| <i>Enteobacter cloacae</i> | 5,00 ± 0,30 | 5,00 ± 0,30 | 1,25 ± 0,07 | 1,25 ± 0,07 | 0,26 ± 0,01 | 0,52 ± 0,02 | 0,37 ± 0,05 | 0,74 ± 0,07 |

SP : échantillon du Portugal ; SS : échantillon de Serbie ; n.a. : les extraits sont inactifs aux concentrations testées ; MIC : Concentration minimale inhibitrice ; MBC : Concentration minimale bactéricide

Conclusion

Les échantillons étudiés de *M. esculenta* sont riches en carbohydrates et protéines, et contiennent plusieurs composés biologiquement actifs tels que les acides organiques, composés phénoliques et tocophérols.

Concernant l'activité anti-oxydante, l'espèce originaire du Portugal a montré de meilleurs résultats pour le captage des radicaux libres et le pouvoir réducteur tandis que celle de Serbie présente une meilleure inhibition de la peroxydation des lipides.

Les deux échantillons ont disposé d'une activité antibactérienne, prédominante chez l'espèce Serbe, avec des résultats parfois meilleurs que les antibiotiques commercialisés.

Les résultats de cette recherche sont prometteurs mais nécessitent un approfondissement pour élucider les mécanismes d'action impliqués dans ces diverses activités biologiques.

1.7. Article 7 : He et al (2012)

Ce travail est basé sur l'étude d'exopolysaccharides (EPS) de *Morchella crassipes* issus d'une culture submergée. *M. crassipes*, appelée aussi *M. esculenta* var. *crassipes* correspond probablement à *M. esculenta* (**Figure 34**) (He, 2012). La majeure partie de cette étude tend à définir les caractéristiques des constituants du milieu pour une production d'EPS optimale, qui ne sera pas abordée ici.

D'autre part, cette étude porte sur l'activité anti-oxydante de ces EPS *in vitro* à l'aide de trois différents essais : Le test de réduction du DPPH, le test de décoloration du radical ABTS et le test de piégeage du radical hydroxyle (OH⁻). Ce dernier, extrêmement réactif, possède une demi-vie très courte. Peu sélectif, il réagit avec les lipides, protéines, polypeptides et l'ADN, et induit des dommages sévères sur les biomolécules adjacentes (Sakanaka, 2005).

Résultats

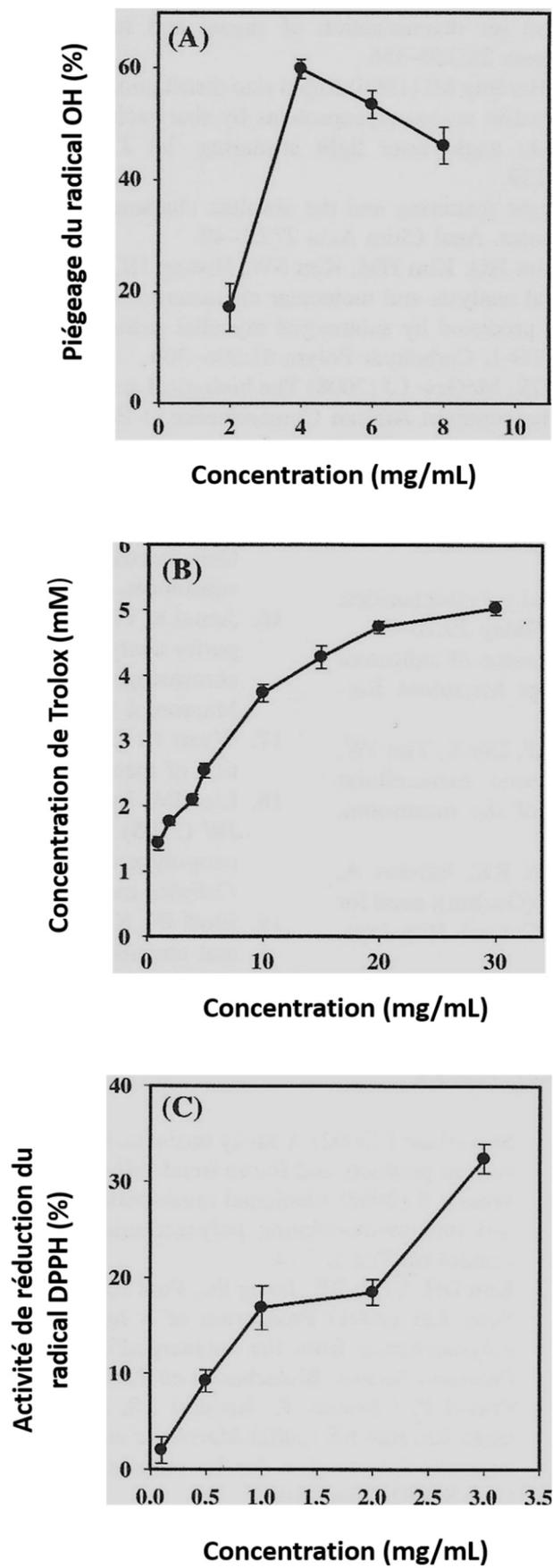


Figure 34 : Bio-activité des polysaccharides de *M. crassipes* (He, 2012)

Les résultats du test de l'évaluation de l'activité anti-oxydante par piégeage du radical hydroxyle sont visibles sur le graphique A (**Figure 34**) (He, 2012). Une augmentation significative de l'activité avec l'élévation de la concentration de l'EPS est observée, jusqu'à atteindre un pic à 60,68% pour une concentration de 4 mg/mL. Puis, une diminution progressive de l'activité est notée malgré l'accroissement continue de la concentration.

Le test TEAC (*Trolox equivalent antioxidant capacity*) mesure la capacité du composé à neutraliser les radicaux par comparaison avec le trolox, anti-oxydant de référence. L'EPS révèle une activité croissante avec l'augmentation de sa concentration et atteint 5,03 mM de trolox pour une concentration de 30 mg/mL.

Enfin, le taux de balayage du radical DPPH par l'EPS à une concentration de 3,0 mg/mL s'élève à 32,42 %.

Conclusion

Il a déjà été démontré que les EPS de champignons possédaient la capacité de capter les radicaux libres pour prévenir l'organisme des dommages oxydatifs, et devenir une source potentielle de nouveaux anti-oxydants (Hu, 2003). Les résultats de cette étude confirme les capacités anti-oxydantes de cet EPS, issu d'une culture de *Morchella crassipes*. Cette faculté peut être attribuée au groupe hydroxyle ainsi qu'à d'autres groupes fonctionnels tels que le groupe carboxyle (-COOH) ou carbonyle (-C=O), qui possèdent la capacité de réduire les radicaux en donnant un électron ou de réagir avec les radicaux libres pour terminer la réaction en chaîne (Leung, 2009).

De plus, le poids moléculaire des polysaccharides pourrait influencer sur l'activité anti-oxydante des EPS. En effet, la viscosité importante et la faible solubilité dans l'eau des polysaccharides de haut poids moléculaire limiteraient leur passage à travers la barrière et leur pénétration cellulaire, réduisant par conséquent, leur activité antioxydante (Liu, 2010). D'autres travaux sont nécessaires pour comprendre les relations entre les caractéristiques structurelles et les activités biologiques identifiées.

1.8. Article 8 : Nitha et al (2013)

Cette étude a pour but de mesurer l'activité hépatoprotectrice d'un extrait aqueux-éthanolique du mycélium issu de culture de *Morchella esculenta*. En effet, les maladies hépatiques constituent un enjeu majeur de santé publique dans le monde entier. Elles résultent principalement de l'action d'hépatotoxines, métabolisées par des radicaux libres, qui génèrent des lésions tissulaires importantes. De plus, un processus inflammatoire découlant de l'action des espèces réactives des ERO se développe après l'intoxication par ces toxines.

Les champignons, dont les vertus médicinales sont connues depuis de nombreuses années, ont révélé des propriétés anti-oxydantes lors de précédentes investigations. La recherche d'une éventuelle action hépatoprotectrice se justifie clairement.

Afin de tester cette activité, une hépatotoxicité chronique est induite chez des rats grâce à l'administration de CCl₄ (Tétrachlorure de carbone) et d'éthanol. Le CCl₄ est un agent chimique très sélectif des cellules hépatiques et s'utilise largement pour induire une fibrose hépatique chez les animaux de laboratoire lors d'expériences (Kanter, 2005). De même, l'alcool, principalement métabolisé par le foie, génère la formation de radicaux libres responsable d'une cirrhose dans les situations excessives.

Cinq groupes de six animaux chacun sont formés pour chaque expérience : Le groupe A, les rats normaux, reçoivent uniquement de la solution saline, le groupe B, appelé groupe contrôle, ne reçoit que l'agent hépatotoxique (CCl₄ ou éthanol), les groupes C et D sont traités par l'extrait de mycélium aux concentrations de 250 et 500 mg/kg après avoir reçu l'agent délétère, et enfin le groupe E écope d'un traitement par un médicament standard. A la fin de l'expérience, les animaux sont sacrifiés. Le sang est collecté et les foies prélevés.

L'évaluation des activités des enzymes hépatiques et de la peroxydation lipidique est réalisée grâce aux analyses biochimiques. Les mesures effectuées concernent les ASAT, ALAT, la phosphatase alcaline, la GGT et la MDA.

Le statut anti-oxydant au niveau hépatique est évalué à l'aide du taux de GSH, de GSH-Px, de GST, de la SOD, de la CAT et du niveau de peroxydation lipidique tissulaire.

Enfin, une observation histopathologique est réalisée afin d'observer les dommages tissulaires (Nécrose, infiltration graisseuse, fibrose, infiltration lymphocytaire).

Résultats

L'administration de CCl₄ et d'éthanol conduit à une augmentation significative des enzymes hépatiques, comme l'indique les **tableaux 10, 11** (Nitha, 2013).

Le traitement par l'extrait (250 et 500 mg/kg) réduit l'activité de ces enzymes de manière dose-dépendante. La diminution est ainsi visible dans le tableau X où sont rapportés les valeurs obtenues pour les animaux ayant reçu une dose d'extrait à 500 mg/kg.

De plus, l'administration de CCl₄ et d'éthanol renforce considérablement le niveau de peroxydation lipidique, estimé à partir du taux de MDA. Comme cela est indiqué dans la **figure 35**, l'extrait permet une diminution significative de ces taux (Nitha, 2013).

Par comparaison aux animaux normaux, le niveau des marqueurs de l'activité antioxydante est diminué, induisant des lésions hépatiques. Le groupe traité par l'extrait à 250 et 500 mg/kg voit une augmentation marquée de son statut antioxydant.

De plus, le niveau élevé de GGT suite à l'administration de CCl₄ (34,95 U/L) et d'éthanol (43,46 U/L) est presque rétabli à un niveau normal grâce au traitement par l'extrait (15,55 U/L).

Enfin, les observations histopathologiques suite à l'injection de CCl₄ et d'éthanol révèlent une nécrose sévère, des infiltrations graisseuses ainsi qu'une fibrose. Ces conséquences pathologiques ne sont que faiblement à modérément réduites chez les animaux traités par l'extrait de mycélium de *Morchella esculenta*.

Tableau 10 : Concentration des enzymes hépatiques suite à l'administration de CCl₄ et d'éthanol (Nitha, 2013)

| | CCl ₄ | Ethanol |
|------|------------------|-------------|
| ASAT | 281,33 UI/L | 191,50 UI/L |
| ALAT | 595 UI/L | 714 UI/L |
| ALP | 486,24 UI/L | 617,17 UI/L |

Tableau 11 : Concentrations des enzymes hépatiques suite à l'administration de CCl₄ et d'éthanol chez les animaux traités par un extrait de mycélium de *M. esculenta* (Nitha, 2013)

| | CCl ₄ | Ethanol |
|------|------------------|-------------|
| ASAT | 88,66 UI/L | 85 UI/L |
| ALAT | 213,33 UI/L | 226 UI/L |
| ALP | 194,36 UI/L | 198,99 UI/L |

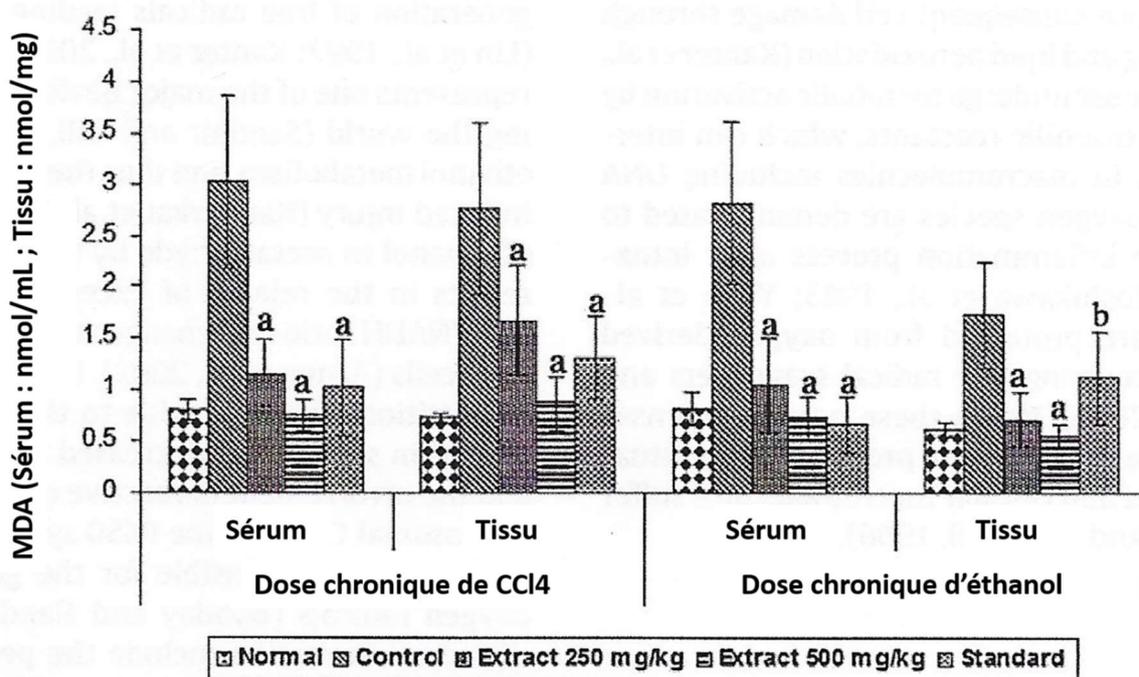


Figure 35 : Effet de l'extrait de mycélium de *M. esculenta* sur les fonctions hépatiques chez des animaux ayant reçu des doses chroniques de CCl₄ et d'éthanol (Nitha, 2013)

Conclusion

Les études précédentes montrent que l'extrait de mycélium de *Morchella esculenta* possède une activité anti-oxydante. L'administration de CCl₄ et d'éthanol induit un état de stress oxydatif, par différents mécanismes, responsable de l'hépatotoxicité observée. Les résultats de cette étude témoignent d'une hépatoprotection significative de l'extrait au moyen de son activité antioxydante (**Figure 35**) (Nitha, 2013).

En effet, l'extrait préserve l'intégrité structurale du foie. La diminution des enzymes hépatiques suite à son administration en est le témoin. De plus, il permet d'atténuer la peroxydation lipidique qui est impliquée dans de nombreux effets délétères.

En outre, il semble stimuler directement les deux principales enzymes anti-oxydantes, la SOD et la CAT, permettant de restaurer leurs activités.

Le GSH agit comme un anti-oxydant autant au niveau intra qu'extracellulaire. L'administration de substances hépatotoxiques entraîne une augmentation de son utilisation et par conséquent, un appauvrissement des quantités disponibles. L'extrait permet aussi de restaurer le niveau de GSH.

De surcroît, il renforce l'activité de la GSH-Px, permettant ainsi de protéger les biomembranes contre le stress oxydatif. Il agit de façon semblable vis-à-vis de la GST, s'opposant ainsi aux dommages hépatiques des métabolites électrophiles.

Une activité accrue de la GGT agit directement sur l'intégrité des membranes et induit une perte de structure. La baisse de régulation de cette enzyme dans le groupe traité par l'extrait permet de lutter contre ces effets.

L'ensemble de ses résultats témoignent d'une profonde activité hépatoprotectrice de l'extrait et suggèrent son utilisation potentielle en thérapeutique comme nouvel agent protecteur hépatique.

2. Conclusion

Les champignons, utilisés traditionnellement dans certaines sociétés reculées (Prasad, 2002), sont une source de médicaments physiologiquement bénéfiques et non-toxiques (Nitha, 2008). Leur utilisation en médecine traditionnelle a engendré de

nombreuses études. Plusieurs travaux s'intéressent plus particulièrement aux activités des mycéliums de *Morchella*.

La majorité des recherches s'orientent vers l'évaluation de l'activité anti-oxydante des extraits de mycélium de Morille. En effet, le stress oxydant est un mécanisme physiopathologique impliqué dans la survenue de nombreuses maladies telles que les cancers, les accidents vasculaires cérébraux, les maladies cardio-vasculaires, la maladie de Parkinson, et les pathologies inflammatoires. L'identification d'agents anti-oxydants d'origine naturelle représente donc un enjeu important.

L'ensemble des études citées précédemment montre un certain potentiel anti-oxydant des mycéliums de *Morchella*. Cette activité s'illustre parfois indirectement, avec l'évaluation de l'incidence du traitement par les mycéliums de morilles sur certaines conséquences du stress oxydant (Néphrotoxicité, inflammation, hépatotoxicité, processus tumoral).

Les résultats obtenus semblent prometteurs. En effet, une activité anti-oxydante significative des extraits est observée, de même qu'un rôle de protection rénale contre certains agents néphrotoxiques comme la gentamicine ou le cisplatine, ainsi qu'une hépatoprotection contre certaines toxines. Les extraits de *M. esculenta* ont révélé une activité autant préventive que curative vis-à-vis de certains processus tumoraux (Tumeurs solides et tumeurs ascitiques). De plus, l'inhibition des processus inflammatoires aigus et chroniques, induits par l'intermédiaire de différents agents, s'est montrée aussi significative.

L'effet anti-oxydant de ces champignons s'explique surtout par la présence de composés de bas poids moléculaires, notamment les composés phénoliques. Cependant, certaines données sont contradictoires entre la concentration de ces composés et l'activité anti-oxydante. Il existe probablement d'autres molécules qui interviennent sur l'activité biologique (Tocophérols, béta-carotène).

D'autres travaux sont encore nécessaires afin d'identifier les principes actifs présents chez ces champignons, leurs mécanismes d'action et leurs éventuels effets indésirables. La composition en minéraux ainsi qu'en métaux lourds doit aussi être étudiée afin d'éviter tout risque de toxicité.

Finalement, ces recherches ne sont pas dénuées d'intérêt et demeurent prometteuses pour les années à venir. Elles constituent aujourd'hui que des hypothèses pour le développement de nouvelles thérapies d'origine naturelle et nécessitent bien évidemment un approfondissement.

CONCLUSION GENERALE

Les morilles attirent toutes les convoitises, mais paradoxalement suscitent encore de nombreuses interrogations. La publication de Richard *et al.*, en 2014, a donné lieu à une simplification de la classification du genre *Morchella* malgré un effet plutôt déroutant au départ. L'utilisation de techniques moléculaires a permis de clarifier la taxinomie, là où les critères morphologiques utilisés pour les anciennes classifications ont échoué. La contribution de cette étude à la compréhension du genre est indéniable même si quelques points restent en suspens, comme par exemple la position de *M. elata*, et nécessiteront des études ultérieures.

La comestibilité des morilles est incontestable. Cependant, le Pharmacien d'officine, qui se veut souvent un interlocuteur privilégié des ramasseurs de champignons, doit rappeler la nécessité de faire sécher correctement les morilles avant toute consommation et de bien cuire celles-ci après réhydratation. Ils doivent aussi être sensibilisés sur l'existence d'un syndrome neurologique émergent. Même si les causes ne sont pas encore établies, il vaut mieux éviter la consommation de grandes quantités de morilles.

Enfin, les propriétés thérapeutiques de plusieurs espèces de *Morchella*, identifiées dans certaines études récentes, pourraient s'annoncer prometteuses. Avant de pouvoir utiliser les morilles en thérapeutique, il est cependant nécessaire que des analyses plus précises et complètes soient réalisées.

BIBLIOGRAPHIE

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Amarowicz R, Pegg R-B, Rahimi-Moghaddam P, Barl B, Weil J-A
Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies
Food Chemistry 2004 ; 84 : 551-62.
2. Bédry R, Saviuc P
Intoxications graves par les champignons à l'exception du syndrome phalloïdien
Editions scientifiques et médicales Elsevier SAS
Réanimation 2002 ; 11 : 524-32.
3. Benjamin DR
Gyromitrine poisoning. In : Benjamin DR. Mushrooms poisons and panaceas
WH Freeman and Company, 1995.
4. Benzie I-F-F, Strain J-J
The ferric reducing ability of plasma as a measure of « antioxidant power » the FRAP assay
Analytical Biochemistry 1996 ; 239 : 70-6.
5. Beug M
2002 Case report, Mushroom Poisoning Case Registry
North American Mycological Association
Toxcom 2002 Report.
6. Bon M
Champignons de France et d'Europe occidentale
Flammarion ; 2012 ; p. 326
7. Bouchet P, Guignard J-L, Pouchus Y-F, Villard J
Les champignons - Mycologie fondamentale et appliquée
Masson ; 2005 ; p.1-191.
8. Boudier E

Histoire et classification des Discomycètes d'Europe
Paris : Ed. Klincksieck ; 1907 ; p. 194-217.

9. Boudier E

Icones mycologicae ou iconographie des champignons de France principalement
Discomycètes avec texte descriptif
Paris : Librairie des Sciences Naturelles : 1909 ; Tome II, pl. 194-421.

10. Bresadola G

Fungi Tridentini 2 (11-13) : 47-81, pl. 151-95, 1898.

11. Brulez R

La diversité des champignons : les Ascomycètes et Basidiomycètes [en ligne]
Publié le 18.09.2010, mis à jour le 27.06.2016
[consulté en juin 2016] Disponible sur : <https://scribium.com/regis-brulez/a/la-diversite-des-champignons-les-ascomycetes-et-basidiomycetes/>

12. Caillet M, Moyne G

La morille noire
Bull. Soc. Hist. Nat. Doubs ; 1984-1985 ; 82 : 33-8.

13. Carleton Rea

New or rare British discomycetea
Transactions of the British Mycological Society ; 1928 ; Volume 13 : Issues 3-4, p. 235-60.

14. Carret M, Vignon M

Fiche nature : Milieu, mode de reproduction et propriétés de la morille
Echo nature ; 2009 ; N°26.

15. Chaumeton H, Guillot J, Lamaison J-L, Champciaux M, Leraut P

Guide vert solar : Les champignons de France
Editions solar ; 2010 ; p. 17-24.

16. Chung Y-C, Chang C-T, Chao W-W, Lin C-F, Chou S-T

Antioxydative activity and safety of the 50 % ethanolic extract from red bean fermented by *Bacillus subtilis* IMR-NK1

J. Agric. Food Chem. 50 ; 2002 ; 2454-58.

17. Clowez P

Les morilles, une nouvelle approche mondiale du genre *Morchella*

Bull. Soc. Mycol. Fr.; 2012 ; 126 (3-4), p 199-376.

18. Clowez P

Les morilles et les taupes : importance des taupes et des animaux fouisseurs dans la mise en place du mycélium de certaines morilles, exemple de *Talpa europaea* (Taupe européenne) et de *Morchella vulgaris* Morille commune

Bull. Soc. Mycol. Fr. 93-94 ; 2013 ; fasc 1 et 2, p 53-57

19. Clowez P

Où sont passées les morilles ? [en ligne]

2016 [consulté en mai 2016]. Disponible sur :
s2c8f44a9cfc65b.jimcontent.com/download/version/1462534433/.../Morilles.pdf

20. Clowez P, Wipf D

Les morilles de stratégie pérenne et colonisatrice : relations avec certains arbres et plantes mellifères d'apparition spontanée en France. Etude comportementale.

Documents mycologiques ; 1997 ; Tome XXVII : Fascicule n°107, p. 15-29

21. Coste

Description de *Fraxinus excelsior* L. [en ligne].

[consulté en juin 2016]. Disponible sur : <http://www.tela-botanica.org/>

22. Deconchat C, Polese J-M

Champignons, l'encyclopédie.

Editions Artémis ; 2002 ; p. 83-89

23. Département Santé des Forêts

La chalarose, état des observations sur la maladie du flétrissement du Frêne ;
décembre 2011 ; p. 5-6

24. Département Santé des Forêts

Hymenoscyohus fraxineus, *Chalara fraxinea*, la chalarose. [en ligne].

2015 [consulté en mai 2016]. Disponible sur : <http://ephytia.inra.fr/fr/C/20407/Forets-Chalarose> consulté le 19/05/2016

25. Département Santé des Forêts

Ophiostoma novo-ulmi, La graphiose de l'orme. [en ligne].

2015 [consulté en mai 2016]. Disponible sur : <http://ephytia.inra.fr/fr/C/20845/Forets-Graphiose-de-l-orme> consulté le 26/05/2016

26. Du XH, Zhao Q, O'Donnell K, Rooney AP, Yang ZL

Multigene molecular phylogenetics reveals true morels (*Morchella*) are especially species-rich in China.

Fungal Genet Biol 2012 ; 49 : 455-69.

27. Duncan C-J, Pugh N, Pasco D-S, Ross S-A

Isolation of a galactomannan that enhances macrophage activation from the edible fungus *Morchella esculenta*.

J. Agric. Food Chem. 2001 ; 50 : 5681-5.

28. ESIAB (Ecole supérieure d'ingénieurs en agroalimentaire de Bretagne atlantique

Classification des champignons [en ligne].

[consulté en juin 2016], disponible sur : <http://www.univ-brest.fr/esiabscientifique/Mycologie/Classification>

29. Esteve M-A

Etude chimiotaxonomique des Morchellacées et des Helvellacées.

Th : Pharm : Montpellier ; 1986.

30. Falandysz J, Kawano M, Swieczkowski A, Brzostowski A, Dadej M

Total mercury in wild-grown higher mushrooms and underlying soil from Wdzydze Landscape Park, Northern Poland.

Food chemistry 2003 ; 81 : 21-6.

31. Fang Y.Z., Zheng R.L.

The theory and Application of Free Radical Biology.

Science Press. ; 2002 ; p. 759-61

32. Fatton V

Les espèces de morilles en Europe occidentale : où en sommes-nous ?

SZP I BSM 1 ; 2016 ; p. 10-15

33. Flesch F, Saviuc P

Intoxications par les champignons : principaux syndromes et traitement

EMC (Elsevier Masson SAS, Paris)

Médecine d'urgence ; 2007 : 25-030-B-40 ; p. 1-8

34. Fletcher N, Tomblin G, Rushforth K, Pegler D

Reconnaitre la nature comestible et savoureuse sans peine.

Nathan ; 2007.

35. France

Décret en Conseil d'Etat numéro 91-1039 du 7 octobre 1991

JO du 11 octobre 1991 ; p. 13344

36. FranceAgriMer

Lauréats des projets agricoles et alimentaires d'avenir

France morilles [en ligne]

[Consulté en mai 2016]. Disponible sur : www.franceagrimer.fr

37. FREDON (Fédération Régionale de Défense contre les Organismes Nuisibles)

de Corse

La graphiose de l'orme [en ligne].

[Consulté en mai 2016]. Disponible sur : http://www.fredon-corse.com/maladies/Ophiostoma_ulmi.htm

38. FREDON de Franche-Comté

Chalarose ou dépérissement des frênes (*Chalara fraxinea*).

Chambre Régionale d'Agriculture de Franche-Comté ; 2013 ; Bulletin de santé du végétal ZNA, numéro 5 ; p. 5-6

39. Gadd G-M

Interactions of fungi with toxic metals.

New Phytologist ; 1993 ; 124 : 25-60.

40. Garon D, Gueguen JC

Biodiversité et évolution du monde fongique.

EDP Sciences ; 2015 ; p. 117.

41. Gaso M-I, Segovia N, Herrera T, Perez-Silva E, Cervantes M-I, Quintero E

Radiocesium accumulation in edible wild mushrooms from coniferous forests around the Nuclear Centre of Mexico.

Science of the Total Environment ; 1998 ; 223 : 119-29.

42. Gerhardt E

Guide vigot des champignons : plus de 1200 espèces, plus de 1000 photos couleur.

Vigot, DL ; 2004.

43. Gevry MF

Etude sur l'écologie et sur le potentiel de cueillette des morilles de feu (été 2008) au Nord du Lac-Saint-Jean.

Comité de développement de Girardville ; Mars 2009 ; p. 2-7.

44. Goudet M, Piou D

La chalarose du Frêne : que sait-on ?

Rev. For. Fr. ; 2012 ; LXIV : 1 ; p. 27-40.

45. Greenwald R-A

Animal model for evaluation of arthritis drugs

Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol. ; 1991 ; 13 : 75-83.

46. Grelet LJ

Les Discomycètes de France d'après la classification de Boudier

Deuxième fascicule

Bulletin de la Société Botanique du Centre-Ouest ; 1933 ; p. 455-98.

47. Groves JW

Poisoning by morels when taken with alcohol.

Mycologia ; 1964 : 56 : 779-80.

48. Guinberteau J, Joly P, Nicot J, Olivier JM

Champignons, Encyclopaedia Universalis [en ligne].

[consulté en juin 2016], disponible sur :

<http://www.universalis.fr/encyclopedie/champignons>

49. Gursoy N, Sarikurkcu C, Cengiz M, Halil Solak M

Antioxidant activities, metal contents, total phenolics and flavonoids of seven Morchella species.

Food and Chemical Toxicology ; 2009 ; 47 : 2381-8.

50. Guyard A

Balades naturalistes : Sorties dans la nature en Franche-Comté et ailleurs – La chalarose du frêne. [en ligne]

2014 [consulté en mai 2016]. Disponible sur :

<http://baladesnaturalistes.hautetfort.com/archive/2014/12/08/la-chalarose-du-frêne-5506103.html>

51. Haj Mouhamed D, Ezzaher A, Neffati F, Douki W, Gaha L, Najjar M.F.

Etude d'un marqueur du stress oxydant chez les fumeurs : le malondialdéhyde.

Immuno-analyse et biologie spécialisée ; 2012 ; 27 : 153-8.

52. Halliwell B, Murcia H-A, Chirco S, Aruoma O-I
Free radicals and antioxidants in food and in vivo : what they do and how they work.
CRC Critical Reviews in Food Science ; 1995 ; 35 : 7-20.
53. Hambada L, Boudjellal K, Abdeddaim M, Aberkane M-C, Boudiaf K
Etude *in vitro* des activités antimicrobiennes et antioxydantes des extraits du fruit
d'Elaeagnus angustifolia L..
Phytothérapie ; 2012 ; 10 : 350-6.
54. Harry P, Saviuc P
Existe-t-il un syndrome neurologique d'intoxication par les morilles ?
Analyse des données des Centres antipoison et de Toxicovigilance 1976-2007.
Comité de coordination de toxicovigilance - Rapport définitif ; Janvier 2008 ; p. 1-29.
55. Harry P, Pulce C, Saviuc P
Toxidrome neurologique et ingestion de morilles (*Morchella* sp.).
45^{ème} Congrès de la Société de Toxicologie Clinique ; 2007 ; Bordeaux.
56. He P, Geng L, Mao D, Xu C
Production, characterization and antioxidant activity of exopolysaccharides from
submerged culture of *Morchella crassipes*.
Bioprocess. Biosyst. Eng. ; 2012 ; 35 : 1325-32.
57. Heim R
Les champignons toxiques et hallucinogènes.
Paris : Boubée ; 1978.
58. Heleno S-A, Stojkovic D, Barros L, Glamoclija J, Sokovic M, Martins A et al.
A comparative study of chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties
of *Morchella esculenta* (L.) Fr. from Portugal and Serbia.
Food Research International ; 2013 ; 51 : 236-43.
59. Houdou G
Guide des champignons milieu par milieu.

Belin ; 2002 ; p.1-288.

60. Hu Y, Xu J, Hu Q

Evaluation of antioxidant potential of *Aloe vera* (*Aloe barbadensis* Miller) extracts.

J. Agric. Food Chem. ; 2003 ; 51 : 7788-91.

61. Husain K, Somani S.M., Boley T.M., Hazelrigg S.R.

Interaction of physical training and chronic nitroglycerin treatment on blood pressure and plasma oxidant/antioxidant systems in rats.

Mol. Cell. Biochem. ; 2003 ; 247 : 37-44.

62. Institut de Veille Sanitaire

Intoxications liées à la consommation de champignons au cours de la saison 2015.

Point de situation au 20/10/2015. Données consolidées au 20/10/2015. [en ligne].

[Consulté en janvier 2016]. Disponible sur : <http://www.invs.sante.fr>.

63. Jacquetant E

Les morilles.

Editions nature piandatina ; 1984 ; p. 1-114.

64. Joanny Menvielle-Bourg F

La superoxyde dismutase, puissant antioxydant naturel, désormais disponible par voie orale.

Phytothérapie ; 2005 ; Numéro 3 : 118-21.

65. Kallac P

A review of edible mushroom radioactivity.

Food Chemistry ; 2001 ; 75 : 29-35.

66. Kanter M, Coskun O, Budancamnak M

Hepatoprotective effect of *Nigella sativa* L and *Utrica dioica* L on lipid peroxidation, antioxidant enzyme systems and liver enzymes in carbon tetrachloride treated rats.

World J Gastroenterol. ; 2005 ; 11 : 6684-8.

67. Karahan I, Atessahin A, Yilmaz S, Ceribasi A-O, Sakin F
Protective effect of lycopene on gentamicin-induced oxidative stress and nephrotoxicity in rats.
Toxicology ; 2005 ; 215 : 198-204.

68. Katzung B-G
Basic and Clinical Pharmacology.
Stanford, Connecticut ; 1998 ; 7th edn : 578-9.

69. Keirn P
Où trouver les morilles ? Habitats et associations de plantes [en ligne].
[consulté en mai 2016]. Disponible sur <http://www.natures-paul-keirn.com/article-ou-trouver-les-morilles-habitats-et-associations-de-plantes-487084485.html>

70. Kibby G
Fungal portraits No. 4 : *Disciotis venosa*.
Field Mycology ; 2000 ; Volume 1 (3) ; p. 111-2

71. Kirchner G, Daillant O
Accumulation of ²¹⁰Pb, ²²⁶Ra and radioactive cesium by fungi.
Science of the Total Environment ; 1998 ; 222 : 63-70.

72. Kuo M, Dewsbury DR, O'Donnell K, Carter MC, Rehner SA, Moore JD et al.
Taxonomic revision of true morels (*Morchella*) in Canada and the United States.
Mycologia ; 2012 ; 104 (5) : 1159-77.

73. Lagarde J
Discomycètes de France.
Paris : La pensée française ; 1923 ; p. 5-35

74. Lecomte Marcel
Classification des champignons [en ligne].
[consulté en juin 2016]. Disponible sur : www.champignons-passion.be/ClassificationGen.pdf

75. Leung P-H, Zhao S-N, Ho K-P, Wu J-Y
Chemical properties and antioxidant activity of exopolysaccharides from mycelial culture of *Cordyceps sinensis* fungus Cs-HK1.
Food Chem. ; 2009 ; 114 : 1251-6.
76. Liu W, Wang H, Pang X, Yao W, Gao X
Characterization and antioxidant activity of two low-molecular-weight polysaccharides purified from the fruiting bodies of *Ganoderma lucidum*.
Int. J. Biol. Macromol. ; 2010 ; 46 : 451-7.
77. Liyana-Patherina CM, Shahidi F
Antioxydant propertes of commercial soft and Hard winter wheats (*Triticum aestivum* L.) and there milling fractions.
J. Sci Food Agric ; 2006 ; 86 : 477-85.
78. Loizides M, Alvarado P, Clowez P, Moreau P-A, De la Osa R-L, Palazon A
Morchella tridentina, *M. rufobrunnea*, and *M. kakiicolor* : a study of three poorly known Mediterranean morels, with nomenclatural updates in section *Distantes*.
Mycol Progress ; 2015 : 14 : 13.
79. Lynch E-D, Gu R, Pierce C, Kil J
Reduction of acute cisplatin ototoxicity and nephrotoxicity in rats by oral administration of allopurinol and ebselen.
Hear. Res. ; 2005 ; 201 : 81-9.
80. McKinney LV, Nielsen LR, Hansen JK, Kjaer ED
Presence of natural genetic resistance in *Fraxinus excelsior* (*Oleaceae*) to *Chalara fraxinea* (*Ascomycota*) : an emerging infectious disease.
Heredity ; 2011 ; 106 : 788-97.
81. Marchand A
Les champignons du nord et du midi : tome II : les meilleurs comestibles.
Société mycologique des Pyrénées méditerranéennes ; 1973 ; p. 1-273.

82. Masclef A

Atlas des plantes de France.

Belin ; 1891 ; pl. 214.

83. Mau J-L, Chang C-N, Huang S-J, Chen C-C

Antioxidant properties of methanolic extracts from *Grifola frondosa*, *Morchella esculenta* and *Termitomyces albuminosus* mycelia.

Food Chemistry ; 2004 ; 87 : 111-8.

84. Meng F, Zhou B, Lin R, Jia X, Liu X, Deng P, Fan K, Wang G, Wang Z, Zhang J

Extraction optimization and in vivo antioxidant activities of exopolysaccharide by *Morchella esculenta* SO-01.

Bioresource Technology ; 2010 ; 101 : 4564-9.

85. Meziti A

Activité antioxydante des extraits des graines de *Nigella sativa* L. Etude *in vitro* et *in vivo*.

Mémoire pour l'obtention du diplôme de magister en biochimie appliquée ; 2009 ; p. 36-8.

86. Michiels C, Raes M, Houbion A, Remacle J

Association of antioxidant systems in the protection of human fibroblasts against oxygen derived free radicals.

Free Rad. Biol. Med. ; 1991 ; 14 : 324-34.

87. Ministère des Affaires sociales, de la santé et de Droits des femmes

Fiche prévention des intoxications par les champignons (2014) [en ligne]

[Consulté en 2015]. Disponible sur : www.social-sante.gouv.fr

88. Mizuno T, Sakai T, Chihara G

Health foods and medicinal usages of mushrooms.

Food Rev. Int. ; 1995 ; 11 : 69-81.

89. Moingeon JM

Pharmanatur : mycologie [en ligne].

[Consulté en janvier 2016]. Disponible sur <http://www.pharmanatur.com>.

90. Moingeon JM

Les gymnospermes

Enseignement botanique PH2 ; 2010.

91. Montegut J

L'encyclopédie analytique des champignons, Volume 1.

Société d'Édition Champignons et Nature ; 1992.

92. Moreau P-A, Heriveau P, Bourgade V, Bellanger J-M, Courtecuisse R, Fons F,
Rapior S

Redécouverte et typification des champignons de la région de Montpellier illustrés par
Michel-Félix Dunal et Alire Raffeneau-Delile.

Cryptogamie, Mycologie ; 2011 ; 32 (3) : 255-76.

93. Moyne G

Le Morillou des Granges-Maillot.

Editions Character's ; 1995 ; p. 20-3.

94. Moyne G

Hommage à André Bride (1907-1988)

Bull. Fed. Myc. Est 14 ; 2016 ; p. 13-38

95. Nature Midi-Pyrénées

L'orme et la graphiose [en ligne].

[Consulté en mai 2016]. Disponible sur : <http://www.naturemp.org/Les-Ormes-europeens-et-la.html>

96. Nierhaus-Wunderwald D

La graphiose de l'orme – Biologie, prévention et lutte - Notice pour le praticien.

Institut fédéral de recherches sur la forêt, la neige et le paysage ; 1999 ; 2^o édition remaniée : 20.

97. Nitha B, Fijesh P-V, Janardhanan K-K
Hepatoprotective activity of cultured mycelium of Morel mushroom, *Morchella esculenta*.
Experimental and Toxicologic Pathology ; 2013 ; 65 : 105-12.
98. Nitha B, Meera C-R, Janardhanan K-K
Anti-inflammatory and antitumour activities of cultured mycelium of morel mushroom, *Morchella esculenta*.
Current Science ; 2007 ; Vol 92 : N°2 ; p. 235-9
99. Niki E, Yoshida Y, Saito Y, Noguchi N
Lipid peroxidation : mechanisms, inhibition, and biological effects.
Biochem. Biophys. Res. Commun. ; 2005 ; 338 : 668-76.
100. Nothnagel P
Gesundheitliche Störungen nach Morchelgenuß.
Mykologisches Mitteilungsblatt ; 1962 ; Halle/S 6 ; 32-3.
101. O'Donnell K, Rooney AP, Mills GL, Kuo M, Weber NS, Rehner SA
Phylogeny and historical biogeography of true morels (*Morchella*) reveals an early Cretaceous origin and high continental endemism and provincialism in the Holarctic.
Fungal Genet Biol ; 2012 ; 48 : 252-65.
102. O'Donnell K
A preliminary assessment of the true morels (*Morchella*) in Newfoundland and Labrador.
Omphalina ; 2014 ; 5 : 3-6.
103. Office National des Forêts (ONF)
Les champignons : vivre avec les arbres [en ligne]
[consulté en juin 2016]. Disponible sur :
http://www.onf.fr/activites_nature/sommaire/decouvrir/champignons/vivre/@@index.html

104. Ouvrage collectif
Champignons.
Editions Artémis ; 2004 ; p. 28-33.
105. Ouvrage collectif
Mini-guide encyclopédique des champignons.
Editions Artémis ; 2008 ; p. 292-6.
106. Ozturk I, Sahan S, Sahin U, Ekici L, Sagdic O
Bioactivity and mineral contents of wild-grown edible *Morchella conica* in the Mediterranean Region.
J. Verbr. Lebensm ; 2010 ; 5 : 453-7.
107. Palazon Lozano F
El genero *Morchella* en bosques de coniferas del altoaragon.
Lucas Mallada ; 1994 ; 6 : 207-25.
108. Perchat C
France Morilles : la récolte, c'est maintenant ! [en ligne]
[Consulté en mai 2016]. Disponible sur : www.relations-publiques.pro/47335/france-morilles-la-recolte-cest-maintenant.html
109. Permaforêt
Le biotope de la Morille, du Frêne et du Pommier. [en ligne]
2014 [Consulté en mai 2016]. Disponible sur :
<http://permaforet.blogspot.fr/2014/10/le-biotope-de-la-morille.html>
110. Pfab R, Haberl B, Kleber J and Zilker T
Case report : Cerebellar effects after consumption of edible morels (*Morchella conica*, *Morchella esculenta*).
Clinical Toxicology ; 2008 ; 46 : 259-60.
111. Pinon J
Lutèce®, une variété résistante initie la renaissance de l'orme à Paris [en ligne].

2014 [Consulté en mai 2016]. Disponible sur : <http://www.inra.fr/chercheurs-etudiants/Biologie-vegetale/Toutes-les-actualités/Lutece-une-variete-resistante-initie-la-renaissance-de-l-orme-a-Paris>.

112. Pinon J, Feugey L

La graphiose de l'orme : une maladie dévastatrice à causes bien identifiées.
Rev. For. Fr. ; 1994 ; XLVI : 5.

113. Piqueras J

La toxicidad de las colmenillas (*Morchella* sp.).
Lactarius ; 2003 ; 12 : 83-7.

114. Piqueras J

La toxicidad de las colmenillas : hechos, mitos e hipótesis.
A.M. Font I Quer ; 2013 ; 7 : 32-47.

115. Pliūra A, Lygis V, Suchockas V, Bartkevicius E

Performance of Twenty Four European *Fraxinus excelsior* Populations in Three Lithuanian Progeny Trials with a Special Emphasis on Resistance to *Chalara fraxinea*.
Baltic Forestry ; 2011 ; 17 : 17-34.

116. Preric B, Radic S

Deux taxons du genre *Morchella* (Pezizales), intéressants et rares en Europe : *M. steppicola* et *M. eximia*.
Mycol. Monten. ; 2013 ; Volume XVI : 29-44.

117. Rapior S, Fons F

La classification des champignons.
Annales S.H.H.N.H. ; 2006 ; 146 : 4.

118. Raven P-H, Evert, Eichhorn

Biologie végétale.
De boeck ; 2014 ; p. 291-5

119. Reille M
Description de *Fraxinus excelsior*. [en ligne].
[consulté en juin 2016]. Disponible sur : <http://www.tela-botanica.org/>
120. Richard F, Bellanger J-M, Clowez P, Hansen K, O'Donnell K, Urban A, Sauve M, Courtecuisse R, Moreau PA
True morels (*Morchella*, *Pezizales*) of Europe and North America : Evolutionary relationships inferred from multilocus data and a unified taxonomy.
Mycologia ; 2014 ; p. 359-82.
121. Richard MJ, Belleville F, Chalas J, Ceballos-Picot I, Vitoux D, Boyer M-J, Chaudière J, Favier A
Les glutathions peroxydases : intérêt de leur dosage en biologie clinique.
Annales de Biologie Clinique ; 1997 ; Volume 55 : Numéro 3 ; p. 195-207.
122. Roland J-C, El Maarouf-Bouteau H, Bouteau F
Atlas Biologie végétale - 1. Organisation des plantes sans fleurs, algues et champignons.
Dunod ; 2008 ; p. 36-53.
123. Röllin O, Anthoine A
Les morilles noires du Chablais savoyard : genre *Morchella*, section *Distantes*.
Bull. Féd. Mycol. Dauphiné-Savoie ; 2001 ; 7-12.
124. Roux A
Intoxications par les champignons réputés comestibles
Th : Pharm : Grenoble ; 2008. 7042.
125. Sakanaka S, Tachibana Y, Okada Y
Preparation and antioxidant properties of extracts of Japanese persimmon leaf tea (Kakinoha-cha).
Food Chem. ; 2005 ; 89 : 569-75.
126. Sanchez-Moreno C

Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems.

Food Sci Technol. Int. ; 2002 ; 8 (3) : 121-37.

127. Saviuc P

Intoxication par champignons : les syndromes émergents.

Urgences ; 2009 ; p. 479-87.

128. Soares A-A, De Souza C-G-M, Daniel F-M, Ferrari G-P, Da Costa S-G-M, Peralta R-M

Antioxidant activity and total phenolic content of *Agaricus brasiliensis* (*Agaricus blazei* Murril) in two stages of maturity.

Food Chemistry ; 2009 ; 112 : 775-81.

129. Société mycologique du Dauphiné

Fiche technique *Mitrophora fusca*. [en ligne].

[Consulté en avril 2016]. Disponible sur : <http://www.smd38.fr>

130. Société mycologique du Pays de Montbéliard

Cartographie régionale des *mycota*

2011

131. Svoboda L, Zimmermannova K, Kalac P

Concentrations of mercury, cadmium, lead and copper fruiting bodies of edible mushrooms in an emission area of a copper smelter and a mercury smelter.

Science of the Total Environment ; 2000 ; 246 : 61-7.

132. Taskin H, Buyukalaca S, Hansen K, O'Donnell K

Multilocus phylogenetic analysis of true morels (*Morchella*) reveals high levels of endemics in Turkey relative to other regions of Europe.

Mycologia ; 2011 ; 104 : 446-61.

133. Thevenet O

Dossier : la morille, un trésor bientôt apprivoisé ?

Alpes magazine, numéro spécial Champignons, automne 2014 ; p. 4-9.

134. Turkoglu A, Kivrak I, Mercan N, Duru M-E, Gezer K, Turkoglu H
Antioxidant and antimicrobial activities of *Morchella conica* Pers.

African Journal of Biotechnology ; 2006 ; 5 : 1146-50.

135. Van Vooren N, Chapon P, Mourgues Y
A propos d'une forme jaune doré de *Verpa bohemica* (Ascomycota, Pezizales).

Ascomycete.org ; 2010 ; 2 (3) : 27-31.

136. Vetter J
Arsenic content of some edible mushroom species.

European Food Research and Technology ; 2004 ; 219 : 71-4.

137. Voitk A, Burzynski M, O'Donnell K, Voitk M, Marceau A
Mel-36 – Preliminary description of a new morel species.

Omphalina ; 2014 ; 5 : 7-10.

138. Volk T, Leonard T
Cytology of the life-cycle of *Morchella*.

Mycol. Res. ; 1990 ; 94 : 399-406.

139. Volpi N, Tarugi P
Influence of chondroitin sulfate charge density, sulfate group position, and molecular mass on Cu²⁺ - mediated oxidation of human-low density lipoproteins : effect of normal human plasma-derived chondroitin sulfate.

J. Biochem. ; 1999 ; 125 : 297-304.

140. Wipf D
Polymorphisme protéique et génomique au sein de *Morchellaceae* - Mise au point d'un outil moléculaire adapté à l'étude de l'écologie du genre *Morchella* en milieu forestier
Th : Biologie végétale et forestière : Nancy ; 1997 ; p. 15-26.

141. Wipf D, Buscot F, Botton B

La morille dans l'écosystème forestier.

Bulletin de la Société Française d'Ecophysiologie ; 1994 ; 19 : FI-2 : 55-60.

142. Yanagida C, Ito K, Komiya J, Horie T

Protective effect of fosfomycin on gentamicin induced lipid peroxidation of rat renal tissue.

Chem. Biol. Interact. ; 2004 ; 148 : 139-47.



ANNEXES

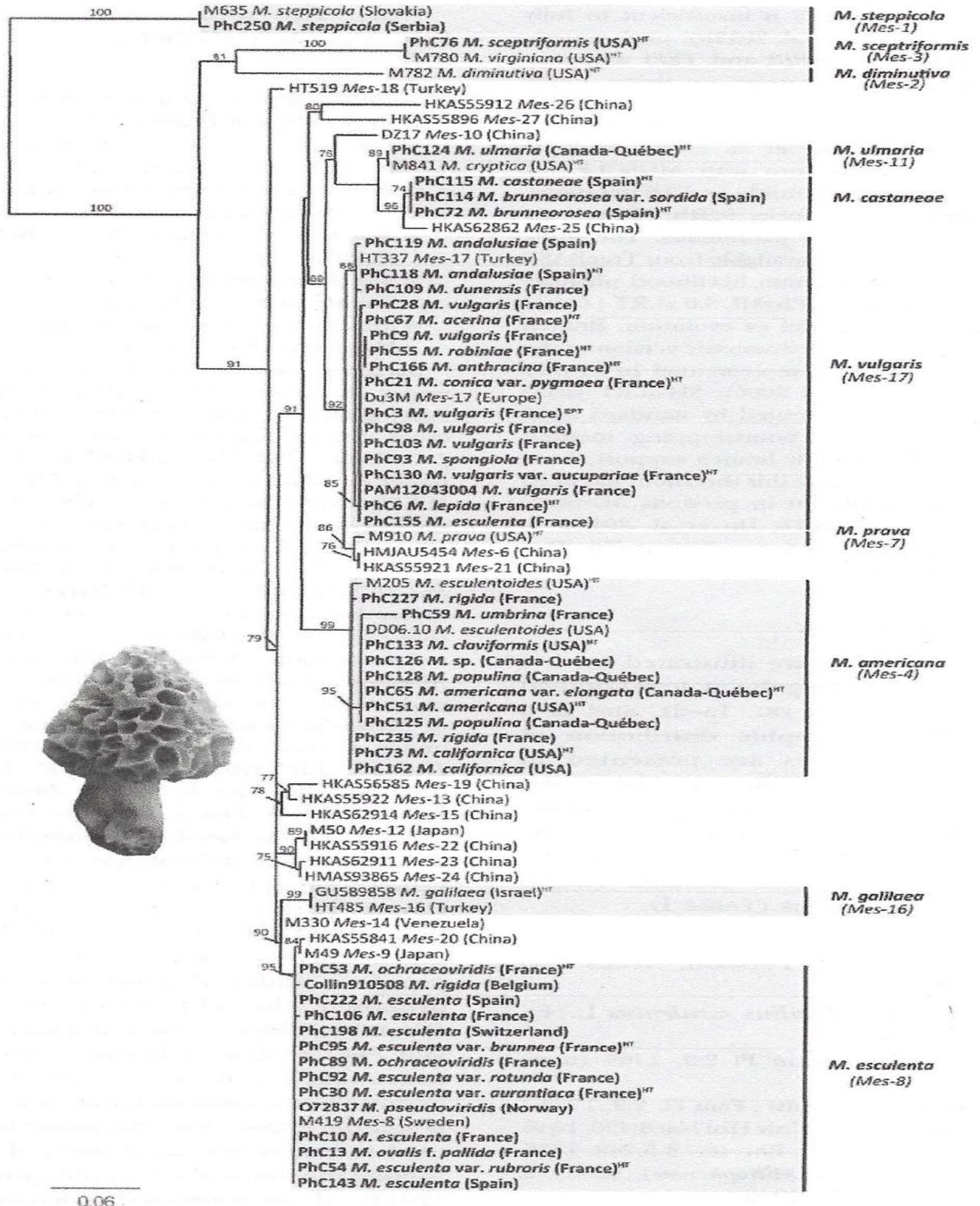
ANNEXE 1 : Tableau de correspondance des noms d'espèces utilisés par Du, 2012 ; Clowez, 2012 ; Kuo, 2012 ; Richard, 2015

| Clade/section | Du et al. (2012a, b) | Clowez (2012) | Kuo et al. (2012) | Richard et al. (this study) |
|--|--|--|-------------------------------------|---|
| Rufobrunnea/ Rufobrunnea Elata/Distantes | <i>Mrb</i> | <i>M. rufobrunnea</i> | <i>M. rufobrunnea</i> | <i>M. rufobrunnea</i> |
| | nc | <i>M. lanceolata ad int.</i> | nc | <i>M. anatolica</i> ^{HT} |
| | <i>Mel-1</i> | <i>M. tomentosa</i> | <i>M. tomentosa</i> | <i>M. tomentosa</i> ^{HT} |
| | <i>Mel-2</i> | <i>M. elatoides</i> | <i>M. frustrata</i> | <i>M. tridentina</i> ^{OM} |
| | | <i>M. elatoides</i> var. <i>elegans</i> | | |
| | <i>Mel-3</i> | <i>M. gigas</i> | <i>M. semilibera</i> | <i>M. semilibera</i> ^{NT} |
| | | <i>M. gigas</i> var. <i>tintimabulum</i> | | |
| | <i>Mel-4</i> | <i>M. punctipes</i> | <i>M. punctipes</i> | <i>M. punctipes</i> ^{ET} |
| | <i>Mel-5</i> | nc | <i>M. populiphila</i> | <i>M. populiphila</i> ^{HT} |
| | <i>Mel-6</i> | nc | <i>M. sextelata</i> | <i>M. sextelata</i> ^{HT} |
| | <i>Mel-7</i> | <i>M. eximia</i> | <i>M. septimelataza</i> | <i>M. eximia</i> ^{ET} |
| | | <i>M. eximia</i> f. <i>acuminata</i> | | |
| | | <i>M. eximia</i> f. <i>multiformis</i> | | |
| | | <i>M. anthracophila</i> | | |
| | | <i>M. carbonaria</i> | | |
| | <i>Mel-8</i> | nc | nc | nc |
| | <i>Mel-9</i> | <i>M. exuberans</i> | <i>M. capitata</i> | <i>M. exuberans</i> ^{HT} |
| | <i>Mel-10</i> | <i>M. elata</i> ^a | <i>M. importuna</i> | <i>M. importuna</i> ^{HT} |
| | | <i>M. vaporaria</i> | | |
| | <i>Mel-11</i> | <i>M. quercus-ilicis</i> | nc | <i>M. quercus-ilicis</i> ^b |
| | | <i>M. quercus-ilicis</i> f. <i>kakiicolor</i> | | |
| | <i>Mel-12</i> | nc | <i>M. snyderi</i> | <i>M. snyderi</i> ^{HT} |
| | <i>Mel-13</i> | nc | nc | nc |
| | <i>Mel-14</i> | nc | nc | nc |
| | <i>Mel-15</i> | nc | <i>M. angusticeps</i> | <i>M. angusticeps</i> ^{ET} |
| | <i>Mel-16</i> | nc | nc | <i>M. eximioides</i> ^{HT} |
| | <i>Mel-17</i> | nc | nc | nc |
| | <i>Mel-18</i> | nc | nc | nc |
| | <i>Mel-19</i> | nc | nc | nc ^c |
| | <i>Mel-20</i> | <i>M. conica</i> var. <i>crassa</i> | nc | <i>M. purpurascens</i> ^{ET} |
| | | <i>M. conica</i> var. <i>purpurascens</i> ^d | | |
| | <i>Mel-21</i> | nc | nc | nc |
| | <i>Mel-22</i> | nc | <i>M. brunnea</i> | <i>M. brunnea</i> ^{HT} |
| | <i>Mel-23</i> | nc | nc | nc |
| | <i>Mel-24</i> | nc | <i>M. septentrionalis</i> | <i>M. septentrionalis</i> ^{e HT} |
| | <i>Mel-25</i> | <i>M. dunalii</i> | nc | <i>M. dunalii</i> ^{ET} |
| | <i>M. fallax</i> | | | |
| | <i>M. rielana</i> | | | |
| <i>Mel-26</i> | <i>M. conica</i> var. <i>conica</i> ^f | nc | <i>M. deliciosa</i> ^{ET} | |
| | <i>M. conica</i> var. <i>flexuosa</i> | | | |
| | <i>M. conica</i> var. <i>nigra</i> | | | |
| | <i>M. conica</i> var. <i>violeipes</i> | | | |
| <i>Mel-27</i> | nc | nc | nc | |
| <i>Mel-28</i> | nc | nc | nc | |
| <i>Mel-29</i> | nc | nc | nc | |
| <i>Mel-30</i> | nc | nc | nc | |
| <i>Mel-31</i> | <i>M. pulchella</i> | nc | <i>M. pulchella</i> ^{e HT} | |
| <i>Mel-32</i> | nc | nc | nc | |
| <i>Mel-33</i> | nc | nc | nc | |
| <i>Mel-34</i> | nc | nc | nc | |
| <i>Mel-35</i> | nc | nc | nc | |
| <i>Mel-36</i> | nc | nc | nc ^g | |
| Esculenta/Morchella | <i>Mes-1</i> | <i>M. steppicola</i> | <i>M. steppicola</i> | <i>M. steppicola</i> |
| | <i>Mes-2</i> | nc | <i>M. diminutiva</i> | <i>M. diminutiva</i> ^{HT} |

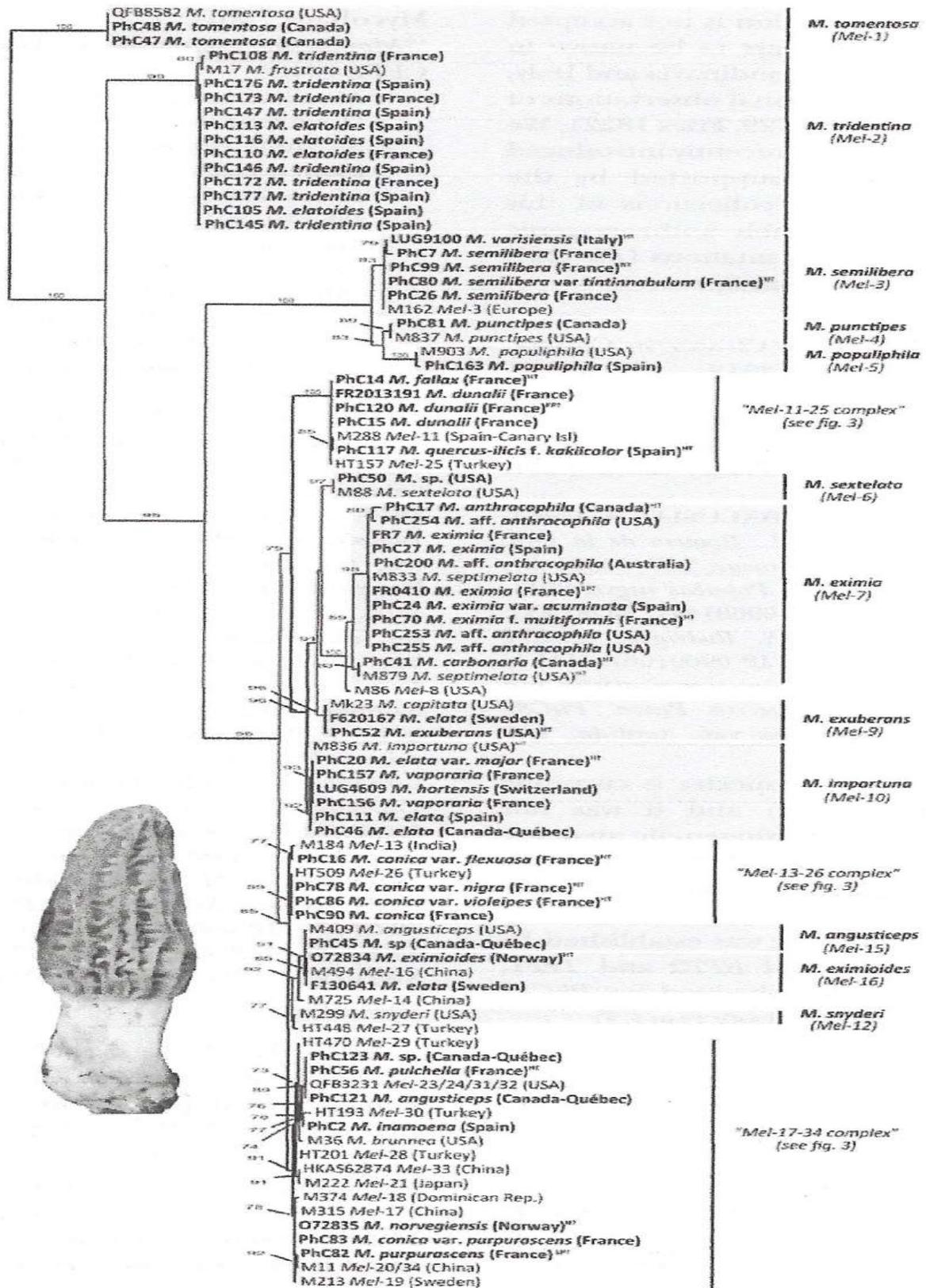
| Clade/section | Du et al. (2012a, b) | Clowez (2012) | Kuo et al. (2012) | Richard et al. (this study) |
|---------------|--------------------------|---|-------------------------|--|
| | <i>Mes-3</i> | <i>M. scepstriformis</i> | <i>M. virginiana</i> | <i>M. scepstriformis</i> ^{HT} |
| | <i>Mes-4</i> | <i>M. rigida</i> | <i>M. esculentoides</i> | <i>M. americana</i> ^{HT} |
| | | <i>M. americana</i> | | |
| | | <i>M. americana</i> var. <i>elongata</i> | | |
| | | <i>M. californica</i> | | |
| | | <i>M. claviformis</i> | | |
| | | <i>M. populina</i> | | |
| | | <i>M. umbrina</i> | | |
| | <i>Mes-5^h</i> | nc | nc | nc |
| | <i>Mes-6</i> | nc | nc | nc |
| | <i>Mes-7</i> | nc | <i>M. prava</i> | <i>M. prava</i> ^{HT} |
| | <i>Mes-8</i> | <i>M. esculenta</i> | nc | <i>M. esculenta</i> ^{ET} |
| | | <i>M. esculenta</i> var. <i>aurantiaca</i> X | | |
| | | <i>M. esculenta</i> var. <i>brunnea</i> † | | |
| | | <i>M. esculenta</i> var. <i>rotunda</i> | | |
| | | <i>M. esculenta</i> var. <i>rubroris</i> | | |
| | | <i>M. esculenta</i> var. <i>theobromichroa</i> | | |
| | | <i>M. ochraceoviridis</i> | | |
| | | <i>M. ovalis</i> | | |
| | | <i>M. ovalis</i> var. <i>minor</i> | | |
| | <i>Mes-9</i> | nc | nc | nc |
| | <i>Mes-10</i> | nc | nc | nc |
| | <i>Mes-11</i> | <i>M. ulmaria</i> | <i>M. cryptica</i> | <i>M. ulmaria</i> ^{HT} |
| | <i>Mes-12</i> | nc | nc | nc |
| | <i>Mes-13</i> | nc | nc | nc |
| | <i>Mes-14</i> | nc | nc | nc |
| | <i>Mes-15</i> | nc | nc | nc |
| | <i>Mes-16</i> | <i>M. galilaea</i> | nc | <i>M. galilaea</i> ^{HT} |
| | <i>Mes-17</i> | <i>M. acerina</i> | nc | <i>M. vulgaris</i> ^{ET} |
| | | <i>M. andalusiae</i> | | |
| | | <i>M. anthracina</i> | | |
| | | <i>M. conica</i> var. <i>pygmaea</i> | | |
| | | <i>M. dunensis</i> | | |
| | | <i>M. lepida</i> | | |
| | | <i>M. robiniae</i> | | |
| | | <i>M. spongiola</i> | | |
| | | <i>M. vulgaris</i> | | |
| | | <i>M. vulgaris</i> var. <i>aucupariae</i> | | |
| | | <i>M. vulgaris</i> var. <i>parvipila</i> | | |
| | <i>Mes-18</i> | nc | nc | nc |
| | <i>Mes-19</i> | nc | nc | nc |
| | <i>Mes-20</i> | nc | nc | nc |
| | <i>Mes-21</i> | nc | nc | nc |
| | <i>Mes-22</i> | nc | nc | nc |
| | <i>Mes-23</i> | nc | nc | nc |
| | <i>Mes-24</i> | nc | nc | nc |
| | <i>Mes-25</i> | nc | nc | nc |
| | <i>Mes-26</i> | nc | nc | nc |
| | <i>Mes-27</i> | nc | nc | nc |
| | nc | <i>M. castaneae</i> | nc | <i>M. castaneae</i> ^{HT} |
| | | <i>M. bruneorosea</i> | | |
| | | <i>M. bruneorosea</i> var. <i>sordida</i> | | |

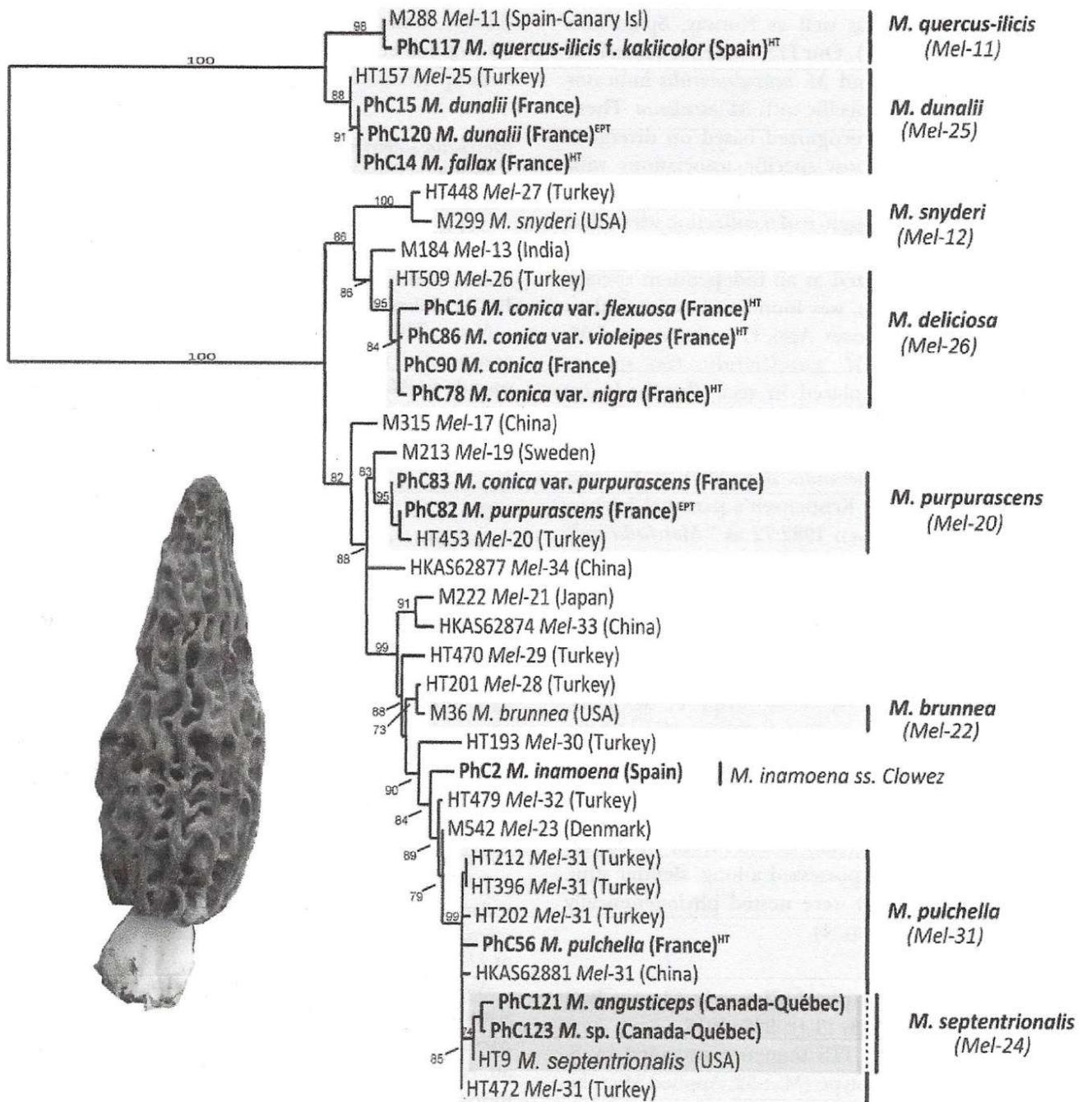
ANNEXE 2 : Phylogénie au maximum de vraisemblance des *Morchella* (Richard, 2015)

1. Section *Morchella* / Clade *Esculenta*



2. Section *Distantes* / Clade *Elata*





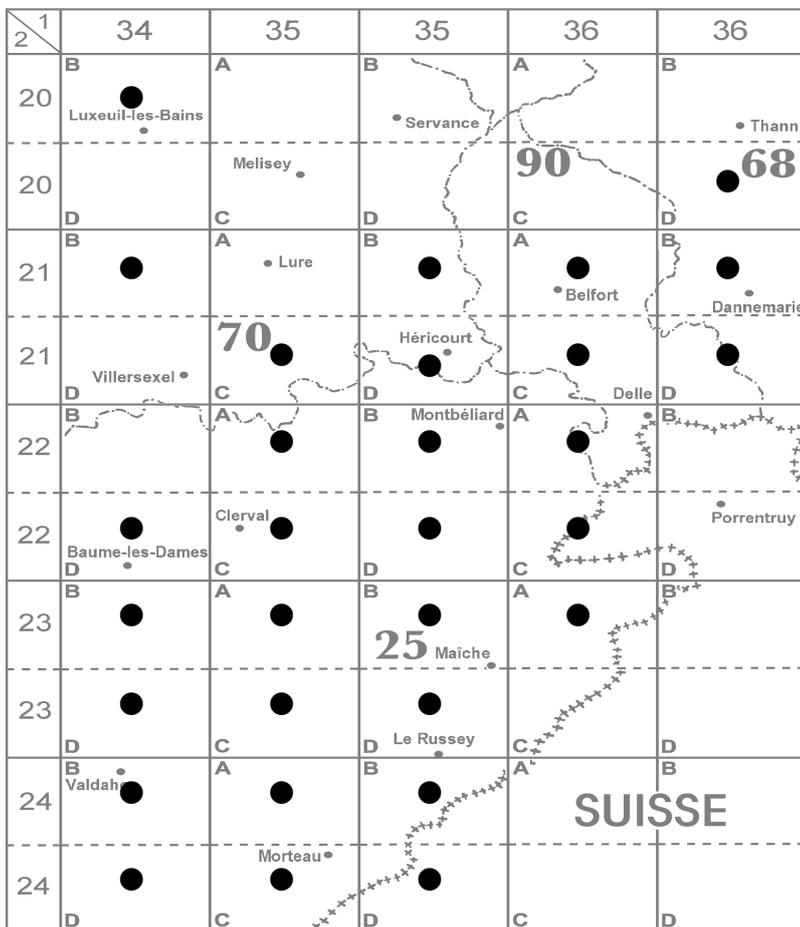
0.07

ANNEXE 3 : Cartographie de la répartition régionale (Franche-Comté) de *Morchella esculenta* L. : Fr. (Société mycologique du Pays de Montbéliard, 2011)

CARTOGRAPHIE RÉGIONALE DES MYCOTA

D'après les relevés des membres de la Société mycologique du Pays de Montbéliard ainsi que des membres des Sociétés Mycologiques voisines (point fin mai 2001)

Morchella esculenta L.:Fr.



● **Distribution** :

Espèce extrêmement répandue et assez fréquente sauf dans le massif vosgien.

● **Phénologie** :

Fin mars à début mai.

● **Écologie** :

- Saprotophe et/ou parasite opportuniste.
- Dans les vergers, jardins, parcs, sur les talus bien exposés, dans les forêts riveraines de feuillus ou mixtes, au bord des ruisseaux, dans les haies, les bosquets, plus rarement dans les prairies.
- Soit sous des feuillus tels que frêne élevé, orme champêtre, pommier, merisier, érable sycomore, peuplier noir, robinier faux-acacia, troène commun, lilas, aubépine et noisetier.
- Soit sur des sols calcinés ou des milieux riches en azote ou en sucres : brûlis, forêts incendiées, remblais, décombres, cimetières, vieux forts etc.
- Isolé ou en groupes importants, sur toutes sortes de sols, surtout ceux qui sont influencés par le calcaire. Elle semble absente de la zone vosgienne, trop acide.

● **Observations** :

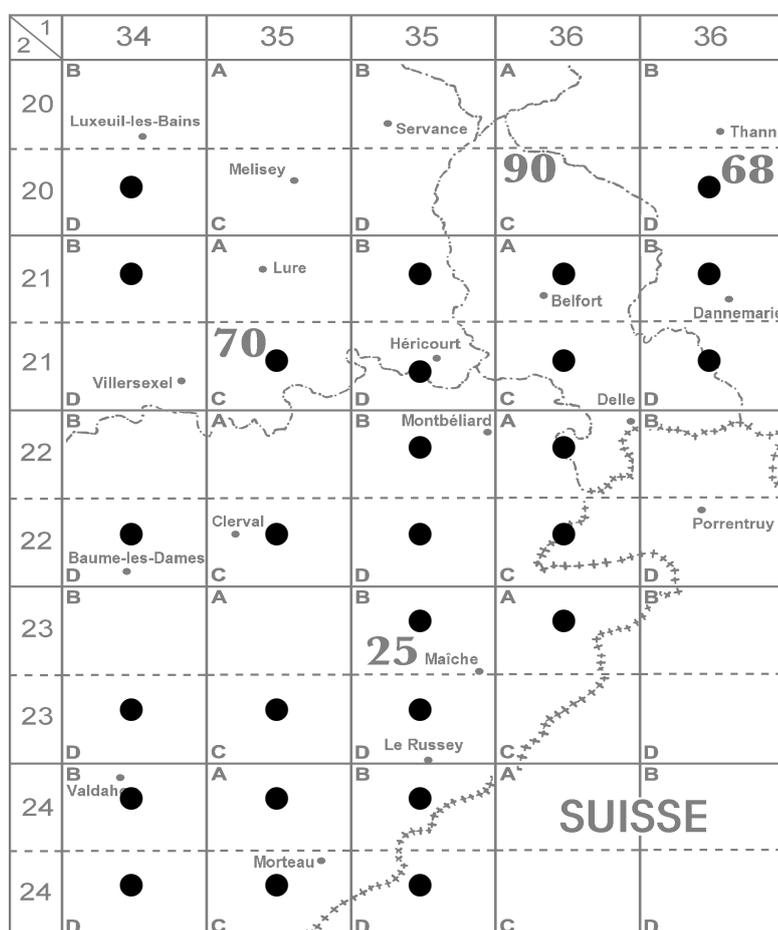
La morille commune semble adopter un mode de vie purement saprotrophe dans des stations occasionnellement riches en azote, carbone ou sucre, et se comporter en saprotrophe et parasite opportuniste sous des essences telles que le frêne élevé sous lequel elle peut former des stations pérennes.

ANNEXE 4 : Cartographie de la répartition régionale (Franche-Comté) de *Morchella esculenta* var. *rotunda* (Pers. : Fr.) Fr. (il s'agit également de *Morchella esculenta* (L. : Fr.) Pers. selon Richard *et al*, 2015) (Société mycologique du Pays de Montbéliard, 2011)

CARTOGRAPHIE RÉGIONALE DES MYCOTA

D'après les relevés des membres de la Société mycologique du Pays de Montbéliard ainsi que des membres des Sociétés Mycologiques voisines (point fin mai 2001)

Morchella rotunda (Pers.:Fr.)Boud.



● **Distribution** :

Espèce très répandue et assez fréquente, observée à tous les étages de végétation sauf dans la zone vosgienne dont elle semble absente.

● **Phénologie** :

Mi-avril à mi-mai.

● **Écologie** :

- Saprotrophe ou parasite opportuniste.
- Dans les forêts riveraines herbeuses, le long des chemins forestiers, dans les lisières thermophiles, les buissons et les haies, les vergers, les prés, les bois clairs de feuillus, parfois aussi dans les terrains brûlés.
- Sous frênes, ormes, prunelliers et cornouillers, dans les ronciers, sur les sols brûlés, les amas de vieilles pommes, parfois même la colle d'affiche, de préférence sur sols frais riches en humus ou azotés, aréneux, argilo-limoneux ou calcaires.

● **Observations** :

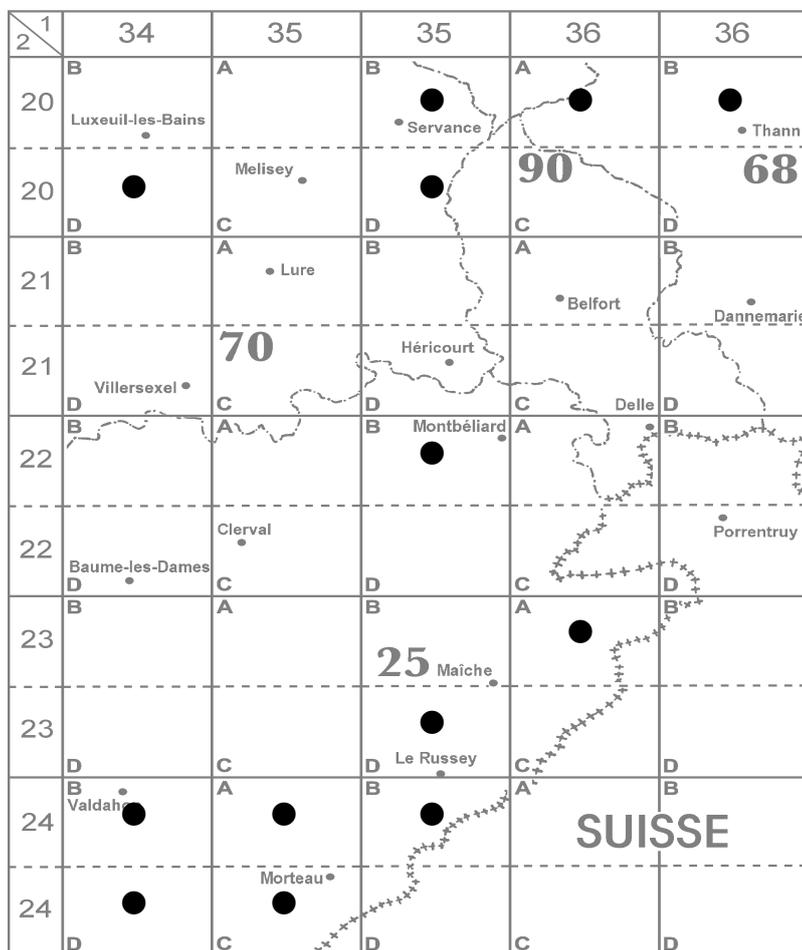
Cette morille plutôt tardive semble surtout rechercher les milieux azotés et sucrés. Elle s'accommode de milieux sucrés inertes, ou trouve les substances sucrées dont elle a besoin en prélevant à ses hôtes arborés ou arbustifs une partie des dérivés sucrés de la sève.

ANNEXE 5 : Cartographie de la répartition régionale de *Morchella deliciosa* Fr. : Fr (Société mycologique du Pays de Montbéliard, 2011)

CARTOGRAPHIE RÉGIONALE DES MYCOTA

D'après les relevés des membres de la Société mycologique du Pays de Montbéliard ainsi que des membres des Sociétés Mycologiques voisines (point fin mai 2001)

Morchella conica var. *deliciosa* Fr.



• **Distribution :**

Espèce très répandue et assez fréquente aux étages montagnard et subalpin, extrêmement rare aux étages inférieurs.

• **Phénologie :**

Fin février à mi-mai.

• **Écologie :**

- Saprotophe ou liens symbiotiques avec plantes mellifères associées.
- Dans les forêts riveraines, en lisière des pessières et des sapinières, sur les places à feu dans les coupes, dans les terrains d'entreposage des grumes, les banquettes des chemins forestiers, toujours dans des milieux peuplés de sapins ou d'épicéas.
- Isolé ou en troupes de nombreux spécimens, dans les broussailles, les ronces, parmi les mousses, parfois en plein bois dans les litières d'aiguilles, mais le plus souvent en bordure des pessières ou des sapinières, dans des stations fraîches mais bien exposées, avec des touffes d'herbes sèches et de petits rochers. La présence de rus est fréquente.

• **Observations :**

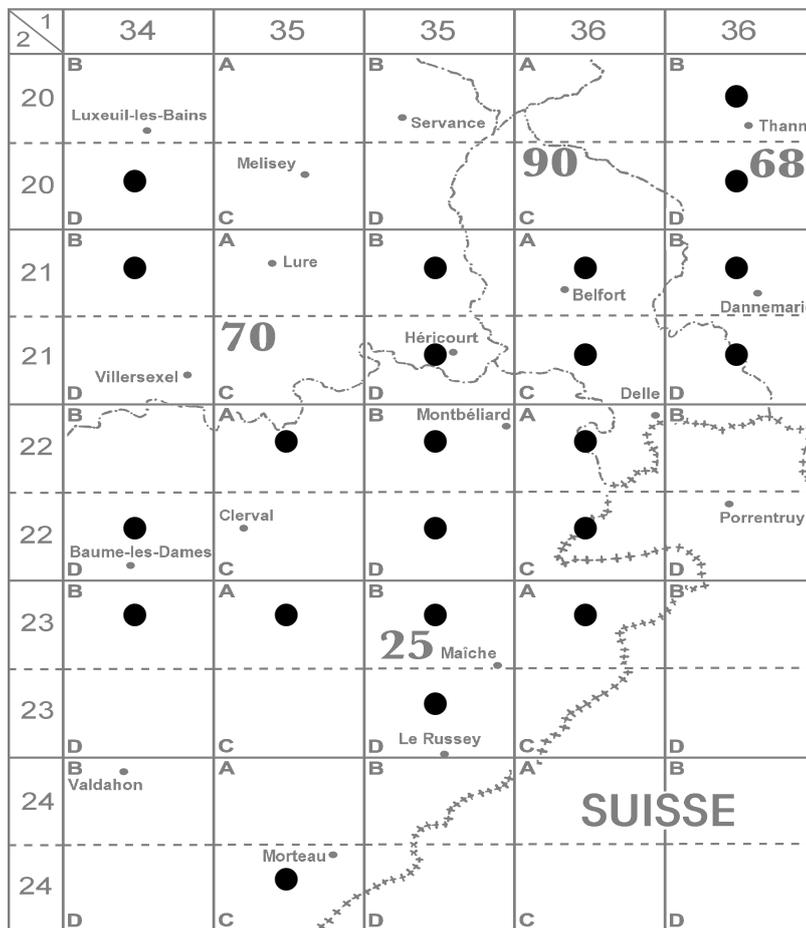
Vers 700 m d'altitude, on trouve la morille délicate sous les sapins essentiellement, alors que vers 1000 m elle accompagne le sapin et l'épicéa. Elle est pratiquement absente des plantations d'épicéas car elle ne suit pas cette essence en dehors de son aire de répartition naturelle. On observe des stations pérennes de cette espèce dans les sapinières et les pessières spontanées et subspontanées, surtout lorsque des plantes herbacées mellifères associées permettent au mycélium de puiser des substances sucrées au niveau de leurs racines.

ANNEXE 6 : Cartographie de la répartition régionale de *Morchella semilibera* (DC. : Fr.) Quel.
(Société mycologique du Pays de Montbéliard, 2011)

CARTOGRAPHIE RÉGIONALE DES MYCOTA

D'après les relevés des membres de la Société mycologique du Pays de Montbéliard ainsi que des membres des Sociétés Mycologiques voisines (point fin mai 2001)

Mitrophora semilibera (De Cand.:Fr.)Léveillé



● **Distribution :**

Espèce très répandue et assez fréquente, observée de l'étage collinéen à l'étage montagnard dans les zones calcaires mais absente des zones trop acides.

● **Phénologie :**

Début avril à mi-mai.

● **Écologie :**

- Saprotrophe et parfois associé à des plantes.

- En lisière des bois humides, dans les forêts riveraines, les taillis, les parcs, les jardins, les vergers, au bord des allées, dans les haies, au bord des cours d'eau . . .

- Sous les Rosacées, les frênes, aulnes, peupliers, saules, ormes, érables, noisetiers et épicéas.

- Parmi les herbes et les feuilles en décomposition, souvent avec la ficaire fausse-renoncule, parfois dans les tapis de lierre grimpant, sur sol argilo-calcaire le plus souvent, dans des endroits frais.

● **Observations :**

Cette espèce est souvent récoltée dans les mêmes stations que *Calocybe gambosa*, *Entoloma clypeatum* et *Disciotis venosa*. Des observations ont montré qu'il existait de véritables associations entre ce champignon et la ficaire fausse-renoncule (CLOWEZ 1992).

TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIERES

Liste des abréviations

Lexique

Liste des tableaux

Liste des figures

Sommaire

| | |
|--|-----------|
| INTRODUCTION GENERALE..... | 1 |
| PARTIE 1 : BIOLOGIE DES MORILLES | 5 |
| Introduction..... | 7 |
| 1. Positionnement des <i>Morchellaceae</i> dans le règne fongique..... | 7 |
| 2. Cycle de vie des <i>Morchellaceae</i> | 9 |
| 2.1. Cycle de reproduction..... | 9 |
| 2.2. Stratégies écologiques et trophismes des morilles | 12 |
| 3. Ecologie des morilles..... | 15 |
| 3.1. Habitats et conditions préférentielles (Biotope) | 15 |
| 3.2. Associations avec certaines espèces végétales..... | 18 |
| 3.2.1. Pathologies affectant les espèces végétales | 20 |
| 3.2.1.1. La chalarose du Frêne..... | 20 |
| 3.2.2.2. La graphiose de l'Orme | 25 |
| 4. Culture des morilles..... | 28 |
| 5. Classification des morilles | 30 |
| 5.1. Classification basée sur des critères morphologiques..... | 30 |
| 5.2. Classification phylogénétique | 32 |
| Conclusion..... | 34 |
| PARTIE 2 : MORILLES PRESENTES EN FRANCHE-COMTE..... | 35 |

| | |
|--|-----------|
| Introduction | 37 |
| 1. Monographies..... | 37 |
| 1.1. Genre <i>Morchella</i> | 37 |
| 1.1.1. Section <i>Morchella</i> / Clade <i>Esculenta</i> | 39 |
| 1.1.1.1. <i>Morchella americana</i> Clowez et C. Matherly..... | 40 |
| 1.1.1.2. <i>Morchella esculenta</i> (L. : Fr.) Pers..... | 43 |
| 1.1.1.2.1. <i>Morchella esculenta</i> var. <i>rotunda</i> (Pers. : Fr.) Fr..... | 45 |
| 1.1.1.2.2. <i>Morchella dryophila</i> Clowez..... | 46 |
| 1.1.1.2.3. <i>Morchella esculenta</i> var. <i>umbrinoides</i> Clowez..... | 47 |
| 1.1.1.2.4. <i>Morchella umbrina</i> Boudier..... | 48 |
| 1.1.1.3. <i>Morchella steppicola</i> Zerova..... | 50 |
| 1.1.1.4. <i>Morchella ulmaria</i> Clowez..... | 54 |
| 1.1.1.5. <i>Morchella vulgaris</i> (Pers. : Fr.) Gray..... | 55 |
| 1.1.1.5.1. <i>Morchella spongiola</i> Boudier..... | 58 |
| 1.1.1.5.2. <i>Morchella vulgaris</i> var. <i>aucupariae</i> Clowez et Moingeon..... | 60 |
| 1.1.1.6. <i>Morchella hetieri</i> Boud..... | 60 |
| 1.1.2. Section <i>Distantes</i> / Clade <i>Elata</i> | 64 |
| 1.1.2.1. <i>Morchella deliciosa</i> Fr. : Fr..... | 64 |
| 1.1.2.1.1. <i>Morchella conica</i> var. <i>nigra</i> Clowez et Moyne..... | 67 |
| 1.1.2.1.2. <i>Morchella conica</i> var. <i>meandriformis</i> Clowez et Moyne..... | 69 |
| 1.1.2.2. <i>Morchella dunalii</i> Boud..... | 70 |
| 1.1.2.3. <i>Morchella eximia</i> Boud..... | 72 |
| 1.1.2.4. <i>Morchella importuna</i> Kuo, O'Donnell et Volk..... | 75 |
| 1.1.2.4.1. <i>Morchella vaporaria</i> Bartayrès ex Brond..... | 77 |
| 1.1.2.4.2. <i>Morchella vaporaria</i> var. <i>tholiformis</i> Clowez et Courtecuisse.... | 79 |
| 1.1.2.5. <i>Morchella purpurascens</i> (Boud.) Jacquet..... | 79 |
| 1.1.2.6. <i>Morchella semilibera</i> (DC. : Fr.) Quel..... | 81 |
| 1.1.2.7. <i>Morchella tridentina</i> Bres..... | 85 |
| 1.1.2.8. Remarque sur <i>Morchella elata</i> Fr. : Fr..... | 89 |
| 1.2. Genre <i>Mitrophora</i> | 90 |
| 1.2.1. <i>Mitrophora fusca</i> (Pers.) Lèveillé..... | 90 |
| 1.3. Genre <i>Disciotis</i> | 91 |
| 1.3.1. <i>Disciotis venosa</i> (Pers.) Boudier..... | 92 |

| | |
|---|------------|
| 1.4. Genre <i>Verpa</i> | 94 |
| 1.4.1. <i>Verpa conica</i> (Müll. : Fr.) Swartz..... | 94 |
| 1.4.2. <i>Verpa pusilla</i> Quélet | 97 |
| 1.5. Genre <i>Ptychoverpa</i> | 97 |
| 1.5.1. <i>Ptychoverpa bohemica</i> (Krombh.) Boud. | 99 |
| 1.5.1.1. <i>Ptychoverpa bohemica</i> var. <i>pallida</i> Pilat et Svrcek..... | 101 |
| Conclusion | 102 |

PARTIE 3 : INTOXICATION PAR LES MORILLES 109

| | |
|--|------------|
| Introduction & Généralités | 111 |
| 1. Données épidémiologiques | 111 |
| 2. Les différents syndromes..... | 112 |
| 2.1. Syndromes d'intoxication par les morilles..... | 112 |
| 2.1.1. Syndrome gastro-intestinal | 112 |
| 2.1.1.1. Délai de latence | 114 |
| 2.1.1.2. Symptomatologie | 114 |
| 2.1.1.3. Prise en charge et évolution | 114 |
| 2.1.2. Un syndrome émergent : le syndrome neurologique | 114 |
| 2.1.2.1. Revue de la littérature..... | 115 |
| 2.1.2.2. Etude rétrospective 1975-2007 | 116 |
| 2.1.2.3. Symptomatologie | 116 |
| 2.1.2.4. Mécanisme de toxicité : Hypothèses | 117 |
| 2.1.2.4.1. Cuisson des morilles..... | 117 |
| 2.1.2.4.2. Confusion | 117 |
| 2.1.2.4.3. Interaction avec de l'alcool | 120 |
| 2.1.2.4.4. Contamination..... | 122 |
| 2.1.2.4.5. Paramètres liés au champignon | 122 |
| 2.1.2.4.6. Toxine | 122 |
| 3. Mesures de prévention et conseils à l'officine | 123 |
| 3.1. Prévention de l'intoxication | 123 |
| 3.2. Conduite à tenir en cas d'intoxication | 123 |

| | |
|------------------------|------------|
| Conclusion..... | 124 |
|------------------------|------------|

| | |
|--|------------|
| PARTIE 4 : PROPRIETES THERAPEUTIQUES DES MORILLES | 125 |
|--|------------|

| | |
|--------------------------|------------|
| Introduction..... | 127 |
|--------------------------|------------|

| | |
|---------------------------------|-----|
| 1. Revue de la littérature..... | 127 |
|---------------------------------|-----|

| | |
|--|-----|
| 1.1. Article 1 : Nitha <i>et al</i> (2007) | 127 |
|--|-----|

| | |
|--|-----|
| 1.2. Article 2 : Nitha <i>et al</i> (2008) | 133 |
|--|-----|

| | |
|---|-----|
| 1.3. Article 3 : Gursoy <i>et al</i> (2009) | 136 |
|---|-----|

| | |
|---|-----|
| 1.4. Article 4 : Ozturk <i>et al</i> (2010) | 141 |
|---|-----|

| | |
|--|-----|
| 1.5. Article 5 : Meng <i>et al</i> (2010)..... | 143 |
|--|-----|

| | |
|---|-----|
| 1.6. Article 6 : Heleno <i>et al</i> (2012) | 145 |
|---|-----|

| | |
|--|-----|
| 1.7. Article 7 : He <i>et al</i> (2012)..... | 150 |
|--|-----|

| | |
|--|-----|
| 1.8. Article 8 : Nitha <i>et al</i> (2013) | 152 |
|--|-----|

| | |
|--------------------|-----|
| 2. Conclusion..... | 156 |
|--------------------|-----|

| | |
|----------------------------------|------------|
| CONCLUSION GENERALE | 159 |
|----------------------------------|------------|

| | |
|---------------------------|------------|
| BIBLIOGRAPHIE..... | 163 |
|---------------------------|------------|

| | |
|----------------------|------------|
| ANNEXES | 185 |
|----------------------|------------|

| | |
|--------------------------------|------------|
| TABLE DES MATIERES..... | 197 |
|--------------------------------|------------|

PERMIS D'IMPRIMER

RESUME



ufr
SMP Sciences médicales & pharmaceutiques
UNIVERSITÉ DE FRANCHE-COMTE



PERMIS D'IMPRIMER

Thèse pour obtenir le **Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie**

Présentée par : **Madame Marine COMOLA**

Née le : 26 octobre 1990 à Besançon (Doubs 25)

Et ayant pour titre : **LES MORILLES EN FRANCHE-COMTE : Biologie, monographies, toxicité & propriétés thérapeutiques**

Vu,

Besançon, le 24.10.2016

Le Président du jury de thèse,

Pr Dominique MEILLET

Vu et Approuvé,

Besançon, le 03.11.2016

Pour le Président et par délégation,
Pour le Directeur de l'UFR SMP,
Le Doyen de Pharmacie,



Pr Marie-Christine WORONOFF-LEMSI



RESUME

COMOLA Marine

Thèse soutenue le : 02 décembre 2016

Titre de la thèse : **LES MORILLES EN FRANCHE-COMTE : Biologie, monographies, toxicité & propriétés thérapeutiques**

Résumé :

Dans le monde fascinant des champignons, les morilles occupent une place de choix. Leur cueillette se transforme en une véritable chasse, et particulièrement en Franche-Comté où elles sont ancrées dans le patrimoine culturel. Cette thèse propose une monographie exhaustive des espèces présentes ou susceptibles d'être observées dans cette région.

Chaque année, les recherches donnent lieu à de nouvelles découvertes permettant de mieux appréhender ce genre mystérieux. Ainsi, l'utilisation de techniques moléculaires a permis récemment d'éclaircir la taxonomie même si quelques points restent à ce jour non élucidés.

En matière de Mycologie, le Pharmacien d'Officine est un interlocuteur privilégié. Même si la comestibilité des morilles est incontestable, il doit sensibiliser les ramasseurs de champignons sur l'existence d'un syndrome neurologique émergent et rappeler les mesures de précaution.

Enfin, des études récentes révèlent certaines propriétés thérapeutiques des morilles. Si même, les résultats s'avèrent prometteurs, un approfondissement des recherches scientifiques médicales est nécessaire avant de voir leur éventuelle utilisation en thérapeutique.

Mots clés : Morille, *Morchellaceae*, Ecologie, Classification, Monographie, Intoxication, Syndrome neurologique, Thérapeutique, Anti-oxydant