QK
623
B 672

LES

MYCELIUM TRUFFIERS BLANCS

Par M. EMILE BOULANGER

MBL/WHOI

9 444444 0000 0

IMPRIMERIE OBERTHUR, RENNES—PARIS

—
1903

B 6633

3506

1^{er} Août 1903.

LES MYCELIUM TRUFFIERS BLANCS

Par M. EMILE BOULANGER

Les différents mycelium truffiers de coloration blanche que j'ai obtenus présentent tous, à l'état stérile, le même aspect macroscopique : ils ont aussi la même constitution microscopique. Aussi, les aurai-je décrits très exactement, quand j'aurai étudié et figuré celui du *Tuber melanosporum*.

Le filament qui a germé de l'ascospore, de la façon que j'ai déjà indiquée⁽¹⁾, est très fin et d'un blanc éclatant : il garde toujours, à l'état stérile, cette coloration et quelles que soient les conditions dans lesquelles je l'ai cultivé, quel que soit le milieu nutritif ou même son âge, je n'ai jamais pu constater la fameuse « gradation de couleurs nuancées » qui, d'après M. Matruchot, caractérise le mycelium truffier : et c'est là en particulier un point que je tiens à mettre dès maintenant en évidence.

Il pousse sur tous les milieux solides ordinairement usités à la culture des Mucédinées (tranches de carotte, de pomme de terre, additionnées de phosphates et de sels de potasse, terre calcaire seule ou mélangée de terreau, etc.) ; il croît très rapidement dans les cultures pures, à l'exemple des Mucorinées auxquelles il ressemble beaucoup par son aspect extérieur.

Quand il est jeune, c'est-à-dire lorsqu'il a germé de l'ascospore depuis peu de temps, il est si vivace qu'il n'est pas rare de le voir se dresser dans

(1) Germination de l'ascospore de la truffe, Em. BOULANGER, juin 1903.

les tubes de culture jusqu'à une hauteur de 6-8 centimètres au-dessus du substratum : souvent même il traverse le tampon de ouate terminal pour venir s'épanouir à sa surface à l'extérieur.

Sur les milieux riches en principes nutritifs, sur tranche de carotte par exemple, le mycelium très abondant forme un épais feutrage : de nombreuses gouttelettes d'huile sont exsudées et restent suspendues dans l'enchevêtrement des filaments, ce qui donne à la culture un faux air de Mucorinée, ces gouttelettes simulant des sporanges. — A la partie inférieure des vases de culture, il se produit une membrane épaisse, résistante et gélatineuse, qui prend la forme du récipient et recouvre le liquide situé au fond du tube. Ces formations, qui ont l'apparence d'un faux tissu, résultent de l'accolement des filaments au moyen d'un liquide qu'ils sécrètent; souvent la culture tout entière se prend en une seule masse de consistance charnue. Quand on traite ce faux tissu par le chloroforme, la matière agglutinante se dissout et les filaments sont mis en liberté : ils étaient en effet indépendants les uns des autres, ainsi qu'on peut s'en rendre compte au microscope.

Lorsque le mycelium est suffisamment développé, il donne naissance à un grand nombre de petits corps arrondis, lisses, de couleur jaunâtre, qui sont des périthèces au début de leur développement. Ils dépassent rarement ce stade, car leur diamètre atteint un millimètre au plus; souvent, ils sont si nombreux qu'ils tapissent presque entièrement les parois des vases de culture.

Néanmoins, dans certaines conditions, ils peuvent poursuivre leur développement : j'en ai obtenu qui présentaient la grosseur d'une noix. Ils s'étaient produits dans des cultures occupant un volume de plusieurs litres, ce qui avait permis au champignon de croître suffisamment avant d'être paralysé par les toxines qu'il sécrète : le milieu nutritif se composait de carotte et de terre calcaire, avec addition de superphosphate de chaux et de sulfate de potasse : ces produits chimiques constituent en effet, le dernier surtout, les engrais de prédilection de la truffe. Ces tubercules, absolument semblables comme texture à des truffes blanches d'été qui n'auraient pas de spores, avaient une consistance ferme, charnue, très résistante : on pouvait y reconnaître des asques au début de leur formation.

J'ai trouvé aussi, en triant un nombre considérable de cultures, quelques rares périthèces où s'apercevaient des asques bien formées : celles-ci contenaient des spores incolores. Ces truffes étaient donc adultes, bien que

déformées et de très petite taille (0,5-1 cm. diam.) : elles étaient brunes, lisses à la surface, de consistance molle et n'offraient aucune différenciation en peridium ni en glèbe.

Dans les cultures en terre calcaire, où les éléments nutritifs sont peu abondants, le mycelium se développe néanmoins très rapidement ; mais il présente un autre aspect que sur les milieux riches en principes organiques, car, au lieu de former des touffes aériennes très fournies, il se dissémine à l'intérieur de la terre qu'il agglomère de telle sorte que celle-ci se prend en masse ; les filaments, qui sont excessivement fins, englobent chaque grain de terre d'un réseau tellement ténu qu'il est très difficile de les y suivre dans une culture pure, même à l'aide d'une loupe. Aussi, le procédé, qui consisterait à les rechercher dans le sol même des truffières, aurait-il les plus grandes chances d'aboutir à la découverte d'une impureté. Cependant, sans avoir recours aux aides qui permettent de trouver la truffe dans les pays truffiers, M. Matruchot, faisant preuve d'un flair vraiment déconcertant, prétend pouvoir découvrir dans un sol truffier, non pas seulement le précieux tubercule, mais encore son mycelium.

En milieu liquide, quel que soit le principe nutritif, le mycelium truffier se développe très difficilement. Il végète péniblement jusqu'à ce qu'il ait formé à la surface du liquide une membrane épaisse et résistante : une fois cette membrane formée, il donne quelques filaments aériens, mais on en voit rarement qui soient plongés à l'intérieur du liquide, ce qui laisse croire que la truffe craint un excès d'humidité : les connaissances, que l'on a sur sa culture au point de vue pratique, sont d'accord avec ce fait.

Est-il nécessaire de s'étendre bien longuement sur la reproduction du mycelium truffier, alors que celui-ci peut vivre en cultures pures pendant plusieurs années, en y gardant toutes ses propriétés ? On peut donc le reproduire par boutures successives « un nombre illimité de fois », de même que les autres champignons, et ce n'est pas par là qu'il est remarquable. Mais, quand on veut le propager dans de nouvelles cultures, on constate qu'il est très difficile d'en détacher du substratum une petite quantité au moyen du fil de platine, tellement il est résistant. Cette particularité, très constante et très frappante, s'explique facilement par la structure microscopique.

Structure microscopique. — A l'examen microscopique, le mycelium truffier blanc présente des caractères spécifiques remarquables. Tout d'abord, quand on l'examine sans le colorer, on croit y reconnaître la structure d'une Mucorinée : un observateur, d'ailleurs très avisé et très compétent en raison de ses travaux sur les Mucorinées, M. Matruchot, l'a pris en effet, à ma grande surprise, puis à mon profond étonnement, pour un *Mortierella*.

Ce filament est très fin et son calibre varie de $2\ \mu$ à $4\ \mu$; il est ramifié (fig. 1, 2), bien que souvent sur une grande longueur il ne présente que peu de ramifications ; c'est à sa partie terminale, où il s'amincit progressivement, qu'il donne de nombreux rameaux secondaires, de diamètre moindre, d'où leur aspect filiforme. Ces derniers ne mesurent pas plus de $1/3\ \mu$ à $2\ \mu$; aussi, quand on les aperçoit dans une préparation à côté des filaments principaux, est-on frappé de la différence de calibre et l'on pourrait croire que les cultures contenaient plusieurs champignons différents (fig. 14').

Les filaments sont réunis quelquefois par des anastomoses, mais c'est assez rare (fig. 3).

Si le calibre du mycelium est très variable, son contour n'est pas moins irrégulier (fig. 4), car en de nombreux endroits il est bossué et présente des renflements, suivis d'étranglements ; en quelques points, il semble qu'il ait formé des chlamydospores (fig. 5). A sa partie terminale, on croit reconnaître, à l'extrémité de courts rameaux, des conidies isolées (fig. 6, 7), ovoïdes, de forte taille, assez semblables à celles des *Mortierella* ; mais certaines d'entre elles se prolongent à leur extrémité par un filament (fig. 8, 9) ; on ne peut donc les assimiler à des spores. On verra, d'ailleurs, que ces irrégularités de contour, ces fausses chlamydospores, ces pseudo-conidies tiennent tout simplement à la constitution du mycelium.

Enfin, quand on observe ce champignon sans le colorer, il n'apparaît aucune trace de cloisons : on ne distingue à l'intérieur qu'un protoplasma granuleux, parsemé de nombreuses gouttelettes d'huile.

Tels sont, de prime abord, les caractères du mycelium truffier blanc ; on voit que les filaments ne « s'anastomosent » que rarement ; ils ne s'agrègent pas « en gros cordons par ramifications et anastomoses », et surtout ils n'ont pas « une taille relativement considérable, avec un diamètre de $8\ \mu$ et $10\ \mu$ », comme l'énonce M. Matruchot pour la mucédinée qu'il a succinctement décrite, sans la figurer.

On a conclu des différents caractères, que je viens d'énumérer, que ce mycelium blanc ne pouvait être celui de la truffe, et qu'il appartenait tout simplement à une Mucorinée.

Bien qu'il sorte d'un œuf, ainsi que je l'ai montré, il m'était difficile de laisser classer parmi les Oomycètes un champignon, qui m'a permis de reproduire en abondance la truffe dans le sol, quoiqu'on en dise et médise ; j'ai donc pensé que s'il ne présentait pas de cloisons, ce n'était pas tant parce qu'il n'en avait pas, mais parce qu'il était difficile de les distinguer.

Après avoir coloré au bleu coton, je n'ai pu remarquer de cloisonnement quelconque dans le filament principal, mais j'ai constaté que les rameaux secondaires terminaux sont nettement cloisonnés. Ils sont formés (fig. 12, 13, 14) par des cellules cylindriques, allongées, de même dimension ; à l'intérieur, le liquide n'est pas granuleux, comme dans le filament principal, mais hyalin et il n'y a pas de gouttes d'huile. Certaines cellules sont vides, leur contenu s'étant écoulé par une déchirure de la membrane (fig. 16, 17) ; le mycelium se déforme en cet endroit (fig. 15, 16) et présente un aspect particulier, car les cellules aplaties se montrent tantôt de face et tantôt de profil.

Ces ramifications terminales se prolongent directement à l'extrémité des filaments principaux, et la différence des calibres y est très sensible ; d'autres fois, elles naissent en nombre variable sur des renflements latéraux à ceux-ci (fig. 10, 11, 12, 13).

Il était bien invraisemblable que le mycelium truffier, nettement cloisonné à sa partie terminale, ne le fût pas sur le reste de sa longueur : les cloisons étaient certainement masquées par le contenu des cellules et il devait être possible de les distinguer, si l'on débarrassait le filament du liquide qu'il renferme.

Je l'ai traité par l'hypochlorite de soude, puis j'ai coloré au bleu coton ; lorsque la solution d'hypochlorite est trop concentrée, la membrane se dissout sur de nombreux points, le mycelium se sectionne et il ne reste plus dans la préparation que des tronçons plus ou moins longs de celui-ci.

Ces débris du filament principal sont cloisonnés, mais au lieu de présenter des cloisons transversales, rectilignes et régulièrement espacées,

comme on l'observe dans les ramifications terminales, ils sont formés par des cellules polyédriques, irrégulières, dont le nombre et la disposition varient suivant l'emplacement. Celles-ci sont de dimension si réduite qu'au premier abord on les prend pour des granulations de la membrane mycélienne; quelques-unes pourtant sont plus grandes et l'on peut les considérer comme des vacuoles, car elles contenaient les gouttes d'huile que ce champignon montre en abondance sur toute sa longueur.

Certains de ces débris filamenteux n'ont dans leur épaisseur qu'une seule file de cellules, puis à la suite de celles-ci il s'en trouve plusieurs autres qui sont groupées sur un même front. Leur nombre varie avec le calibre, de telle sorte que dans les parties les plus larges du mycelium elles se trouvent par 6 ou 8 de front et forment ainsi sur toute la longueur un véritable faisceau cellulaire (fig. 18, 18', 18''). Le contour du filament étant irrégulier, celui-ci présente dans ses parties renflées un tissu pluricellulaire bien développé; au contraire, à l'endroit où il est étranglé ce n'est plus qu'une seule file de cellules cylindriques, puis ensuite le tissu se développe à nouveau; cette alternance des tissus s'aperçoit quelquefois aussi dans les parties où le filament est uniformément calibré (fig. 19').

On voit encore dans les préparations des tronçons filamenteux très réduits, qui ne comprennent pas plus de deux ou trois cellules (fig. 21); d'autres ont une forme globulaire plus ou moins volumineuse et renferment une ou deux vacuoles, qui sont englobées par des cellules plus petites: ce sont les renflements du filament que l'on prenait pour des chlamydospores.

D'autres tronçons portent sur de courts rameaux des formations semblables: ces masses cellulaires, ovoïdes, qui se prolongent parfois par un court filament, représentent les pseudo-conidies qui semblaient analogues à celles des *Mortierella*.

On voit que le mycelium truffier blanc, loin de ressembler à un Oomycète, se distingue nettement au contraire de tous les autres champignons par sa constitution microscopique.

Quand on veut observer cette structure dans son ensemble, sans détruire le champignon, il faut traiter celui-ci par une solution d'hypochlorite très diluée, et prolonger suffisamment l'action de ce réactif; puis, afin d'être sûr qu'il ne reste plus aucune trace de matière grasse, on le plonge ensuite dans l'essence de térébenthine, dans l'éther et dans l'alcool; on colore au

moyen d'une solution très étendue de bleu coton, ce qui demande au moins vingt-quatre heures, et l'on monte la préparation dans l'acide lactique.

On peut ainsi, après de nombreux essais, obtenir quelques préparations satisfaisantes et l'on voit que le filament principal présente sans interruption et sur toute sa longueur la structure pluricellulaire que nous avons étudiée précédemment sur les différents tronçons qui s'en étaient détachés. Il est formé dans sa plus grande partie par un tissu cellulaire (fig. 18, 18', 18''), qui est plus ou moins développé suivant les dimensions du calibre ; vers sa partie terminale, où le diamètre diminue, il présente de place en place (fig. 19'') une constitution plus simple, les cellules s'alignant en une seule file, bien qu'il y ait encore trace d'un semblant de tissu cellulaire. On remarque aussi dans cette partie du filament une particularité assez curieuse : le tissu très rudimentaire n'est représenté que par des groupes de quelques cellules seulement ; ces amas cellulaires sont séparés les uns des autres et espacés régulièrement à l'intérieur du tube mycélien, et celui-ci n'est pas obturé complètement par ce tissu aux points où il s'est développé (fig. 23). Peut-être ce détail intéressera-t-il les histologistes, qui chercheront à expliquer la formation du mode de cloisonnement très particulier, que je viens de décrire rapidement.

En résumé, le mycelium truffier blanc se compose :

1° D'une partie principale vivant dans la terre où elle produit la truffe : le filament (quoique ce terme devienne impropre) s'y montre ramifié, irrégulier dans son calibre et son contour et il est formé par un véritable tissu multicellulaire ;

2° Sur cette partie souterraine, rampante, se dressent des filaments aériens, cloisonnés normalement comme la plupart des champignons, qui donnent naissance aux différentes formes conidiennes, lesquelles servent à la propagation de l'espèce.

La réunion et le point de contact de ces deux parties du champignon, si différentes par leur structure, me permettront de prouver l'authenticité des formes conidiennes que j'ai annoncées ; dès maintenant, je suis en mesure d'établir cette preuve, **d'une façon absolue**, pour deux d'entre elles : la forme *Monilia* et la forme *Acrostalagmus cinnabarinus*.

Le 3^e fascicule (tome XIX) du Bulletin trimestriel de la Société mycologique de France n'ayant paru qu'à la fin du mois de juillet, je n'ai pu prendre connaissance de l'article de M. Matruchot sur la « *Culture artificielle de la truffe* », qu'après avoir publié mes premières recherches sur la germination de l'ascospore.

Comme M. Matruchot a pris l'habitude de ne jamais parler de la truffe, sans me faire l'honneur de discuter mes travaux, je ne puis me dispenser de reproduire ici *in extenso* sa dernière communication.

Je ne saurais aussi laisser passer, sans y répondre, les critiques, quelquefois acerbes, qu'il élève contre mes résultats. M. Matruchot, qui, je pense, aime la polémique, s'efforce de me donner le rôle de l'agresseur; tel autre pourrait en être flatté : pour moi, je préfère laisser au public le soin de juger ce qui s'est passé.

Etait-ce le mettre en cause, ainsi qu'il le prétend, que de rendre hommage à l'ancien professeur, qui guida mes premiers pas en mycologie, et d'établir un fait que d'ailleurs il a dû reconnaître lui-même comme exact dans la séance de la Société mycologique du 7 mai dernier? Il est vrai qu'il essaye aujourd'hui d'en atténuer la portée ⁽¹⁾.

Je me suis, en effet, borné à dire ⁽²⁾ que j'avais remis à cet ancien professeur et ami, dès l'année 1901, tous mes tubes de culture, à l'état vivant. Je lui ai communiqué à cette époque tous mes résultats, alors qu'il ne songeait nullement à la culture de la truffe; il visita par la suite mes bois d'Étampes et reconnut devant témoins, j'en ai la preuve écrite, que j'avais réellement obtenu de nombreuses places truffières *nouvelles*.

C'est seulement après avoir eu connaissance de ces résultats décisifs que M. Matruchot entreprit des recherches analogues, sur le même sujet, sans d'ailleurs m'en faire part : ce savant, dans sa bienveillance pour moi

(1) Je trouve à la page 112 du Bulletin de la Société Mycologique, dans le compte rendu de la séance du 7 mai 1903, la phrase suivante, dont je dois relever l'inexactitude, sans d'ailleurs vouloir mettre en cause M. le Secrétaire général, ni la personne qui a résumé ledit compte rendu :

« En 1900, M. Boulanger lui fit part de ses intentions d'étudier scientifiquement et pratiquement surtout la culture » de la truffe, et dès ce moment M. Matruchot le pria de vouloir bien ne pas lui communiquer ses résultats, *lui-même* » *entretenant aussi des recherches analogues....* »

Quand j'allai voir M. Matruchot, en 1900, j'avais si bien l'intention d'entreprendre la culture de la truffe, que j'avais déjà déposé à l'Académie des Sciences le pli cacheté dont l'ouverture, le 5 mai dernier, me permit de sauvegarder mes droits : j'y avais consigné les résultats de mes recherches depuis 1898.

De plus, M. Matruchot ne poursuivait nullement à cette époque des *recherches analogues*, du moins je n'en étais pas averti : il eût été, en effet, plus que naïf de ma part de remettre à un concurrent, ce que je fis l'année suivante, tous mes tubes de culture, en ne lui cachant rien de mes résultats.

(2) Bulletin Société Mycologique, 3^e fascicule, tome XIX, page 266.

et afin de contrôler mon travail, n'hésita même pas, paraît-il, à se déplacer plusieurs fois pour aller inspecter le sol même des truffières en Périgord, en Bourgogne, peut-être « sous d'autres climats ».

J'ajouterai que l'activité, qu'il a su déployer en voulant bien s'intéresser à moi, et surtout à mes recherches, n'a d'égal que l'empressement qu'il a mis pour empêcher mon travail d'être présenté à l'Académie par l'un de ses membres, et pour s'y faire écouter à ma place, après m'avoir enlevé ainsi toute chance de concurrence. Il a pu en effet développer tout à son aise plusieurs communications, où il est beaucoup plus question de mes travaux que des siens.

Mais, puisque M. Matruchot croyait si fermement à l'inanité de mes résultats, pourquoi cet empressement à les démolir en public ? Voulait-il donc, à titre de compensation, faire de la réclame au trufficulteur ? Pourquoi, surtout, cette hâte à publier ses recherches le même jour que moi ? Pensait-il donc que mes erreurs auraient pu éclipser ses vérités, s'il les avait fait connaître après moi, qui avais incontestablement droit à la priorité ?

On comprendra que, de mon côté, je puisse mettre en doute la justesse des résultats de M. Matruchot, et, qu'animé d'un sentiment analogue à celui du Maître, je croie de mon devoir de « mettre en garde le public scientifique et agricole » contre des promesses que ce savant n'est pas près, à mon sens, de réaliser.

SUR LA CULTURE ARTIFICIELLE DE LA TRUFFE

Par M. Louis MATRUCHOT ⁽¹⁾.

J'ai réussi à cultiver, à l'état isolé et pur, le mycélium des deux espèces les plus importantes de Truffes : la truffe de Périgord (*Tuber melanosporum*) et la truffe de Bourgogne (*Tuber uncinatum*).

Les premiers résultats dans cette voie m'ont été fournis par semis des spores de *Tuber melanosporum* sur des tranches de pommes de terre additionnées d'un liquide nutritif. Plusieurs séries de cultures, faites à quelques jours d'intervalle, me fournirent au bout de quelques semaines le même résultat, à savoir un abondant mycélium que, depuis lors, je multiplie à volonté.

Je vérifiai dans la suite que ce mycélium est bien identique au mycélium des truffières naturelles. Je me rendis, en effet, dans la région du Périgord pour étudier les filaments truffiers en place; j'y recueillis moi-même des échantillons, d'une façon aussi aseptique que possible, et à partir des cordons les plus volumineux, je fus assez heureux pour obtenir, par simple dilacération, des prises de mycélium que je pus cultiver et purifier facilement dans la suite. Or ces cultures se montrèrent identiques à celles qui provenaient de semis.

Enfin, dans le cours de l'hiver dernier, je réussis de même à cultiver, à partir des semis, la truffe de Bourgogne; le mycélium obtenu, bien que différant par quelques traits secondaires (de l'ordre des différences spécifiques) du mycélium de *Tuber melanosporum*, offre avec lui une grande ressemblance, tant au point de vue de l'aspect et de l'évolution des cultures, qu'au point de vue de l'étude microscopique.

Ces trois séries de cultures, d'origine si différente, se contrôlent mutuellement et démontrent que les deux sortes de mycéliums que je possède en culture sont bien les véritables mycéliums truffiers, l'un de la Truffe de Périgord, l'autre de la Truffe de Bourgogne.

Les caractères principaux du mycélium truffier, communs pour la plupart aux deux espèces, sont les suivants. Cultivé dans les conditions du Laboratoire, le mycélium truffier ne donne naissance à aucune forme conidienne. C'est un mycélium régulièrement cloisonné, qui, dès le très jeune âge, s'agrége fortement et rapidement. Comme beaucoup de mycéliums vivaces, il offre, particulièrement dans le *Tuber uncinatum*, une tendance manifeste à l'enkystement, visible surtout dans les régions toruleuses du mycélium, où la membrane présente des épaisissements locaux caractéristiques. Enfin il forme,

(1) Bulletin Société Mycologique, 3^e fascicule, tome XIX, page 267.

d'une façon précoce chez le *T. melanosporum*, d'une façon plus tardive chez le *T. uncinatum*, des sclérotés qui vont grossissant régulièrement jusqu'à atteindre 8^m/_m à 10^m/_m de diamètre.

Qu'il s'agisse de l'une ou l'autre des deux espèces, le mycélium, dans les cultures, passe par une gamme de couleurs très constante, qui suffirait presque à le caractériser. Tout à fait au début du développement, il est incolore; mais à peine âgé de quelques jours, il devient rose, puis roux clair, puis il se nuance de vert et enfin, âgé de quelques mois, il prend une teinte roux brunâtre qui rappelle celle du mycélium de la Truffe dans le sol des truffières.

Les sclérotés passent, dans leur développement, par les mêmes nuances : d'abord blancs, puis roux teinté de vert, ils deviennent finalement noirs à la surface. Je les considère comme de jeunes truffes que l'étroitesse des conditions de la culture en tubes empêche d'arriver à leur complet développement.

La culture pure des mycéliums truffiers sur milieux artificiels montre que les Truffes (ou du moins certaines espèces de truffes) ne sont pas des champignons *nécessairement parasites* : si la fructification jusqu'à maturation complète du tubercule semble toujours exiger la présence d'un hôte vivant, tel que des racines de chêne par exemple, la vie mycélienne du champignon peut n'être qu'une vie purement saprophytique. On conçoit dès lors comment il se fait que, dans les régions truffières, certains terrains ne produisant pas de truffes deviennent cependant normalement truffiers dès qu'on vient à les emplanter de chênes et à y donner les soins cultureux nécessaires. Il est à mes yeux infiniment probable que dans ces terrains le mycélium truffier est plus ou moins abondant à l'état végétatif, mais sans pouvoir fructifier jusqu'au moment où on lui fournit la plante hospitalière qui, sous l'influence de divers aménagements et soins cultureux, détermine sa fructification.

Il est un second point de la biologie de la Truffe que mes expériences permettent d'éclaircir. Les relations du mycélium avec les racines des arbres fruitiers ont été, comme on le sait, très discutées; la nature, la couleur même du véritable mycélium truffier ont donné lieu à d'ardentes controverses. Parmi les observateurs qui se sont occupés de cette question, les uns admettent que le mycélium truffier est et reste blanc, les autres (GRIMLOT, FERRY DE LA BELLONE) qu'il devient brun. Mes observations et mes cultures montrent que la deuxième opinion est la bonne.

La production à volonté de mycéliums truffiers permet d'entrevoir certaines améliorations possibles dans la culture industrielle de la Truffe. On sait que, dans les pays naturellement truffiers, l'établissement des truffières par plantation de chênes n'est pas sans comporter de grands aléas : avant que les chênes donnent des truffes, il s'écoule toujours une période d'incubation de 8, 10, 15 et parfois 20 années; certains arbres restent même indéfiniment stériles; de plus, la répartition de la Truffe dans les truffières est irrégulière et comme capricieuse. Par des semis appropriés de mycélium truffier, on peut espérer rendre plus assurée, plus précoce et plus régulière la culture de la Truffe, devenue ainsi plus rationnelle.

On pourra aussi chercher à cultiver la Truffe de Périgord, plus estimée que la Truffe de Bourgogne, dans toutes les régions où cette dernière croît spontanément. En effet,

suivant la judicieuse remarque de AD. CHATIN, les deux espèces croissant simultanément et côte à côte dans certains terrains, c'est qu'elles n'exigent pas des conditions très dissemblables pour se développer; il résulte de là qu'en ensemençant, à l'aide du mycélium de *Tuber melanosporum*, un sol où croît seule spontanément la Truffe de Bourgogne, on pourra espérer voir se développer à ses côtés la Truffe de Périgord.

J'ai mis en train, dans différents terrains et sous divers climats, des expériences destinées à me montrer dans quelle mesure ces espérances peuvent être justifiées. Je ferai part à la Société mycologique des résultats qu'elles me fourniront.

J'aurais borné ici la présente communication, si M. Emile BOULANGER, traitant du même sujet dans la même séance de la Société mycologique, ne m'avait mis personnellement en cause.

En premier lieu, M. E. BOULANGER rappelle qu'il est quelque peu mon élève en Mycologie, puisque j'ai guidé ses premiers pas alors qu'il travaillait à mes côtés au Laboratoire de Botanique de l'Ecole normale supérieure, que dirigeait à cette époque M. COSTANTIN. Tout en le remerciant de ce souvenir donné à une époque déjà bien lointaine, je constate que M. BOULANGER — qu'il le veuille ou non — place ainsi en quelque sorte sous mon patronage ses recherches récentes sur la Truffe. Il ne s'étonnera donc pas si je viens ici décliner toute responsabilité au sujet de ces recherches, dont l'auteur, il est vrai, m'a fait connaître les résultats, mais que je n'ai conseillées, ni guidées, ni contrôlées en quoi que ce soit, et sur la valeur scientifique desquelles j'ai fait à l'auteur lui-même les réserves les plus catégoriques.

En second lieu, M. Emile BOULANGER croit devoir faire remarquer qu'il m'a apporté — et laissé entre les mains — des échantillons de ses cultures. Cela est parfaitement exact, et c'est précisément l'étude que, dans la suite, j'ai été amené à faire de ces cultures, qui m'a convaincu de l'erreur scientifique dans laquelle, selon moi, est tombé M. BOULANGER.

Des raisons d'ordre purement botanique suffiraient déjà à mettre en garde contre les conclusions que M. BOULANGER veut tirer de ses expériences. Il est déjà peu vraisemblable, *a priori*, que la Truffe ait pour forme reproductrice secondaire soit l'*Acrostagmus cinnabarinus*, soit une forme conidienne de *Sclerotinia* (identique ou apparentée à celle qu'ont étudiée WORONINE et NAWASCHINE), soit le *Sporendonema casei* (ou telle autre forme voisine). Ces espèces, en effet, par leurs affinités botaniques, par leur habitat, etc., s'éloignent considérablement des Tubéracées.

Mais ce qui devient tout à fait inadmissible, pour quiconque s'est livré à l'étude des Champignons inférieurs, c'est que la Truffe puisse avoir pour formes conidiennes ces trois moisissures à la fois (ou successivement) ⁽¹⁾.

Enfin, si l'on joint à cette série les mycéliums stériles (« d'un blanc neigeux » dans le *Tuber uncinatum*, « grisâtre » ou « d'un noir grisâtre » dans le *T. melanosporum*), on voit que la Truffe jouirait d'un polymorphisme vraiment bien extraordinaire.

(1) Je ne fais ici état que des renseignements que M. BOULANGER a fournis au public (pli cacheté déposé par M. BOULANGER à l'Institut, ouvert dans la séance du 4 mai 1903, et publié par l'auteur, avec une note additionnelle dans le « Français » du 4 mai, sous ce titre : *La culture de la Truffe*), sans tenir compte de ceux que m'a fournis l'observation directe des cultures de M. BOULANGER et qui ne feraient que confirmer mon argumentation.

Mes propres recherches sur le mycélium truffier, exposées plus haut et effectuées, ainsi qu'on a pu le remarquer, par des méthodes bien différentes de celle de M. BOULANGER, m'ont conduit à des résultats parfaitement discordants avec les siens. Cette discordance est absolument frappante : elle porte sur tous les caractères attribués par lui aux mycéliums truffiers. Je tiens à mettre ici ce point en parfaite lumière :

1° Le mycélium truffier n'est ni « d'un blanc neigeux », ni « grisâtre, ni d'un noir grisâtre »;

2° Le mycélium truffier n'est jamais « très fin »; bien au contraire, le diamètre des filaments peut atteindre jusqu'à 8 et 10 μ , ce qui est une taille relativement considérable pour un mycélium d'Ascomycète; à tout âge, le mycélium reste *friable* et facile à détacher du substratum;

3° Le mycélium de *T. uncinatum* ne donne jamais en culture « de nombreux petits périthèces restant au début de leur développement et ne dépassant pas un millimètre de diamètre »; il donne au contraire un petit nombre de sclérotés qui deviennent volumineux;

4° Le mycélium de *T. melanosporum* ne donne jamais d'« amas gélatineux », mais bien des sclérotés charnus et résistants;

5° Les mycéliums truffiers des deux espèces que j'ai étudiées, loin de différer extrêmement l'un de l'autre, se ressemblent beaucoup, par tous leurs caractères microscopiques ou macroscopiques;

6° Enfin, ni l'une ni l'autre de mes deux espèces de mycéliums truffiers ne m'a jamais donné de forme conidienne, et ne rappelle en rien, par conséquent, ni les *Acrostagmus*, ni les *Stachylidium*, ni les *Monilia*, ni les *Amblyosporium*.

En conséquence, le mycélium truffier que je possède en culture est absolument différent des divers mycéliums étudiés par M. BOULANGER; c'est un point que je tenais à mettre particulièrement en évidence.

L'argument qu'on pourrait invoquer en faveur des mycéliums de M. BOULANGER, à savoir qu'il a été récolté des truffes dans ses bois d'Etampes deux ans après qu'il les eutensemencés avec ce qu'il appelle « les formes conidiennes de la truffe », cet argument me paraît sans valeur. Les bois de la région d'Etampes sont, en effet, bien connus depuis longtemps comme produisant normalement diverses espèces de truffes, en particulier le *T. melanosporum* (truffe de Périgord). Or M. BOULANGER n'établit pas que la production truffière de ses bois ait augmenté du fait de ses semis de formes conidiennes; et cette augmentation fût-elle réelle qu'elle s'expliquerait fort bien par les aménagements, soins culturaux et engrais que M. BOULANGER a prodigués à ses bois d'Etampes, et qui sont précisément ceux qu'en Périgord ou en Vaucluse on applique aux bois non truffiers pour les rendre truffiers.

Je répète, en terminant, que je n'aurais pas porté la question sur ce terrain étroitement personnel si M. BOULANGER ne m'avait mis personnellement en cause. Mais il était dès lors de mon devoir de dégager entièrement ma responsabilité et de mettre en garde le public scientifique et agricole contre toute interprétation abusive des expériences en question.

EXPLICATION DES PLANCHES

PLANCHE I

Grossissement = 1100

Si l'on observe le mycelium truffier blanc, sans le colorer, il est impossible d'y apercevoir des cloisons : il ressemble alors à une Mucorinée, on l'a pris d'ailleurs pour un *Mortierella*.

FIG. 1. — Le filament principal (vu en cellule) est ramifié. Grossissement : 85.

FIG. 2. — Son contour est irrégulier; à l'intérieur, on aperçoit un protoplasma très granuleux, parsemé de nombreuses gouttelettes d'huile.

FIG. 3. — Les filaments se réunissent quelquefois par des anastomoses.

FIG. 4. — Leur contour est très irrégulier et présente des renflements, puis des étranglements; ces irrégularités sont dues à la structure microscopique du champignon (voir planche III).

FIG. 5. — Certains renflements du filament principal ressemblent aux chlamydospores des Mucorinées.

FIG. 5'. — Ils se trouvent quelquefois aux points où se forment les ramifications.

FIG. 6-7. — Vers la partie terminale du filament principal, plus rarement sur le reste de sa longueur, on aperçoit, sur de courts rameaux filiformes, des masses ovoïdes ou globulaires, de forme variable, qui contiennent une ou deux gouttes d'huile : on croit reconnaître les conidies isolées des *Mortierella*.

FIG. 8-9. — Mais certaines d'entre elles se prolongent à leur extrémité par un filament, il est donc peu probable que ce soient des conidies; d'ailleurs, leur structure interne (voir fig. 22) laisse supposer que ce sont de simples renflements du filament.

FIG. 10-11. — A sa partie terminale, le filament principal forme des ramifications secondaires, de diamètre très réduit, d'où leur aspect filiforme.

PLANCHE II

Grossissement = 1100

Quand on colore le mycelium truffier blanc, on ne peut distinguer aucune trace de cloisonnement dans le filament principal, à cause du liquide qu'il contient; mais on remarque que les rameaux secondaires terminaux sont nettement cloisonnés.

FIG. 12, 13, 14. — Ces ramifications filiformes, qui sont formées par des cellules allongées, de même longueur, se prolongent à l'extrémité du filament principal; d'autres fois, elles naissent en nombre variable sur des renflements latéraux à celui-ci : leur contenu est hyalin.

FIG. 14'. — Quand on aperçoit, dans une préparation, ces rameaux terminaux excessivement fins à côté des filaments principaux, on pourrait croire, d'après la différence des calibres, qu'il y a deux champignons absolument différents, dont l'un serait cloisonné et l'autre pas.

Le filament principal mesure de $2\ \mu$ à $4\ \mu$; les rameaux terminaux de $1/3\ \mu$ à $2\ \mu$.

FIG. 15. — Ces ramifications, ne contenant plus de liquide sur une partie de leur longueur, s'aplatissent et se déforment : les cellules se montrent tantôt de face, tantôt de profil.

FIG. 16, 17. — On aperçoit de place en place les déchirures de la membrane, par où s'est écoulé le contenu des cellules.

PLANCHE III

Grossissement = 1100

Pour apercevoir la structure du filament principal, il faut le débarrasser du liquide qu'il contient, puis le colorer.

Lorsque la solution d'hypoehlorite de soude employée est trop concentrée, la membrane se détruit sur de nombreux points, le filament se sectionne et il ne reste plus dans la préparation que des tronçons plus ou moins longs de celui-ci, qui permettent néanmoins de se rendre compte de la constitution microscopique.

FIG. 18, 18', 18''. — Le filament principal n'est pas un tube mycélien, obturé de distance en distance par des cloisons transversales et rectilignes, comme on l'observe chez la plupart des champignons : il présente une structure qui lui est spéciale.

En effet, il est formé par un faisceau de cellules polyédriques, groupées irrégulièrement côte à côte, ce qui constitue un véritable tissu cellulaire : le terme de filament est donc impropre.

Les cellules se répartissent dans l'épaisseur du filament, sans laisser d'espace vide à l'intérieur de celui-ci : elles sont de très petite taille, aussi les prend-on tout d'abord pour des granulations de la membrane ; certaines d'entre elles ont de plus grandes dimensions et représentent des vacuoles : elles contenaient, en effet, les nombreuses gouttes d'huile que le filament présente sur toute sa longueur.

FIG. 19. — La structure du filament n'est pas uniforme sur toute sa longueur : le nombre et la disposition des cellules varient suivant l'emplacement.

FIG. 19'. — Quelquefois, entre deux points où le tissu cellulaire est bien développé, le filament n'est formé que par une seule file de cellules.

FIG. 19'', 19'''. — Le tissu se simplifie progressivement vers la partie terminale du filament, et celui-ci présente alors une structure filamenteuse normale.

FIG. 20. — Structure du filament aux points où il se ramifie.

FIG. 21. — On aperçoit dans les préparations un grand nombre de tronçons filamenteux de très petite dimension : quelques-uns ne contiennent que deux ou trois cellules. D'autres plus volumineux, de forme arrondie ou allongée, contiennent une ou plusieurs vaeuoles : ils représentent ce qu'on croyait être des chlamydospores.

FIG. 22. — Certains renflements sphériques et portés sur de courts rameaux sont les pseudo-conidies qui semblaient analogues à celles des *Mortierella* : peut-être doit-on les considérer comme des bulbilles et jouent-ils un rôle dans la reproduction ?

FIG. 22'. — Ces renflements se prolongent quelquefois par un filament.

Quand on traite le mycelium truffier par une solution d'hypoehlorite très diluée, en prolongeant suffisamment l'action de ce réactif, on peut apercevoir sa structure, sans détruire l'aspect général du champignon.

On voit alors que le filament principal est formé par ces divers tronçons, qui se prolongent bout à bout sur toute sa longueur. Le nombre des cellules, comprises dans l'épaisseur du filament, varie avec le calibre, et le tissu, d'abord bien développé, se réduit aux extrémités à une seule file de cellules.

FIG. 23. — On remarque quelquefois à la partie terminale du filament principal une disposition spéciale du tissu qui le compose : ce tissu, très rudimentaire, n'est représenté que par des groupes de quelques cellules, qui sont séparés les uns des autres et espacés régulièrement à l'intérieur du tube mycélien; et, ce qui semble bizarre, le tube mycélien n'est pas complètement obturé par ce tissu aux points où il s'est développé.

ERKLÄRUNG ZU DEN TAFELN

TAFEL I

Vergrößerung = 1100

Wenn man das weisse Trüffel-Mycelium betrachtet, ohne es zu färben, so ist es unmöglich, Scheidewände darin zu entdecken : es ähmt dann einer Mucorinäa und hat man es übrigens auch für eine Mortierella genommen.

FIG. 1. — Die Hauptfaser (in der Zelle betrachtet) ist verzweigt. Vergrößerung : 85.

FIG. 2. — Ihr Umriss ist ungleich; im Inneren bemerkt man ein Protoplasma, das sehr körnig und mit vielen Oeltropfen besät ist.

FIG. 3. — Die Fasern sind manchmal durch Anastomosen verbunden.

FIG. 4. — Ihr Umriss ist sehr unregelmässig und zeigt Wulste, sowie auch Verengerungen; diese Unregelmässigkeiten sind verursacht durch die mikroskopische Struktur des Pilzes (Siehe Tafel III).

FIG. 5. — Gewisse Wulste der Hauptfaser sehen den Chlamydosporen der Mucorinäen ähnlich.

FIG. 5^b. — Sie befinden sich zuweilen an den Punkten, wo sich die Verzweigungen bilden.

FIG. 6 & 7. — Am Ende der Hauptfaser, und seltener an ihrer ganzen Länge, bemerkt man, auf kurzen fadenförmigen Zweigen, eiförmige oder kugelige Massen verschiedener Formen, 1 oder 2 Oeltropfen enthaltend, worin man die isolirten Conidien der Mortierella zu erkennen glaubt.

FIG. 8 & 9. — Einige verlängern sich jedoch an ihrem Ende in einer Faser, so dass es sehr wenig wahrscheinlich bleibt, dass es Conidien sind; übrigens lässt auch ihre innere Struktur (Siehe fig. 22) vermuthen, dass dies einfache Wulste der Faser sind.

FIG. 10 & 11. — An ihrem Ende bildet die Hauptfaser Nebenverzweigungen von sehr geringem Durchmesser, was denselben ihr fadenförmiges Aussehen verleiht.

TAFEL II

Vergrößerung = 1100

Wenn man das weisse Mycelium der Trüffel färbt, kann man keine Spur von Scheidewänden in der Hauptfaser entdecken, in Folge der darin enthaltenen Flüssigkeit, doch bemerkt man, dass die End-Nebenzweige kenntlich abgeschieden sind.

FIG. 12, 13 & 14. — Diese gleichlangen, von den verlängerten Zellen gebildeten, fadenförmigen Verzweigungen, verlängern sich am Ende der Hauptfaser; manchmal auch erwachsen sie, verschiedenzählig, aus den Seiten-Wulsten der Hauptfaser. Ihr Inhalt ist glaserig.

FIG. 14¹. — Wenn man in einer Präparation diese Endverlängerungen, die äusserst dünn sind, mit den Hauptfasern vergleicht, könnte man, in Folge des Unterschiedes ihrer Stärke, glauben, dass es zwei ganz verschiedene Pilze seien, der eine mit Scheidewänden, der andere ohne.

Die Hauptfaser misst von $2\ \mu$ zu $4\ \mu$; die Endverzweigungen von $1/3\ \mu$ zu $2\ \mu$.

FIG. 15. — Diese Verzweigungen, die in einem Theile ihrer Länge keine Flüssigkeit mehr enthalten, werden platt und entstellen sich; die Zellen zeigen sich manchmal von vorne, manchmal von der Seite.

FIG. 16 & 17. — Hier und da bemerkt man Risse in dem Häutchen, wodurch der Inhalt der Zellen abfließt.

TAFEL III

Vergrößerung = 1100

Um die Struktur der Hauptfaser zu beobachten, muss man sie von der darin enthaltenen Flüssigkeit befreien und dann färben.

Wenn die unterchlorigsäure Natronlösung zu stark ist, zerreisst das Häutchen an mehreren Stellen, die Faser zertheilt sich und es bleiben davon in der Präparation nur mehr oder wenig längere Stücke übrig, welche trotzdem gestatten, die mikroskopische Struktur kennen zu lernen.

FIG. 18, 18¹ & 18². — Die Hauptfaser ist nicht, wie man dies bei den meisten Pilzen findet, eine stufenweise durch Scheidewände getrennte Mycelium-Röhre, sondern sie hat eine besondere Struktur.

Sie besteht nämlich aus einem Bündel unregelmässig nebeneinander gruppirter vieleckiger Zellen, die ein wirkliches Zellengewebe vorstellen; die Bezeichnung « Faser » ist somit unrichtig.

Die Zellen vertheilen sich in der Faser derartig, dass sie keinen leeren Raum darin lassen. Sie sind sehr klein, so dass man Sie Anfangs für Körner des Häutchens nimmt; einige darunter sind grösser und stellen Ölzellen vor; sie enthalten nämlich die Oeltropfen, die die Faser an ihrer ganzen Länge vorzeigt.

FIG. 19. — Die Struktur der Faser ist in ihrer ganzen Länge nicht gleichartig; die Anzahl und Stellung der Zellen sind je nach ihrer Lage verschieden.

FIG. 19¹. — Manchmal, zwischen zwei Punkten, wo das Zellengewebe gut entwickelt ist, besteht die Faser nur aus einer Zellenreihe.

FIG. 19² & 19³. — Das Gewebe wird nach dem Ende der Faser hin allmählich einfacher, so dass dieselbe dort eine normale faserige Struktur vorzeigt.

FIG. 20. — Struktur der Faser an den Stellen der Abzweigungen.

FIG. 21. — Man bemerkt in den Präparationen eine grosse Anzahl faseriger Enden von sehr kleiner Länge, die nur zwei oder drei Zellen enthalten. Andere grössere, von ründlicher oder länglicher Form, enthalten ein oder mehrere Ölzellen, diese waren es die man Chlamydosporen zu sein glaubte.

FIG. 22. — Gewisse kugelige Wulste auf kurzen Zweigen sind die Pseudokonidien die denen der *Mortierella* gleichartig schienen; vielleicht müssen sie als kleine Zwiebeln betrachtet werden, die in der Fortpflanzung eine Rolle spielen?

FIG. 22. — Diese Wulste verlängern sich manehmal in Fasern.

Wenn man das Trüffel-Mycelium mit einer sehr dünnen unterchlorigsauren Lösung behandelt und dabei diese Behandlung genügend verlängert, kann man seine Struktur beobachten, ohne dabei das allgemeine Aussehen des Pilzes zu zerstören.

Man sieht dann, dass die Hauptfaser aus diesen verschiedenen Theilstücken besteht, die seine ganze Länge ausmachen. Die in der Dicke der Faser befindlichen Zellen sind je nach dem Kaliber der Faser von sehr verschiedener Anzahl und dass zuerst gut entwickelte Gewebe verdünnt sich nach den Enden hin zu einer einzigen Zellenreihe.

FIG. 23. — Man beobachtet zuweilen an dem Ende der Hauptfaser eine besondere Vertheilung des sie bildenden Gewebes; dieses Gewebe, das sehr rudimentär ist, besteht nur aus Gruppen einiger Zellen, die von einander getrennt und in regelmässigen Abständen im Innern der Mycelium-Röhre gelegen sind und, was merkwürdig erscheint, ist diese Mycelium-Röhre nicht vollständig von diesem Gewebe, an den Stellen wo es sich entwickelt hat, abgeschlossen.

EXPLANATION OF PLATES

PLATE I

Magnifying = 1100

When observing the white Mycelium of truffle, without colouring it, it is quite impossible to detect partitions therein and seems to be like a Mucorinea, so as even to be taken for a Mortierella.

FIG. 1. — The main filament (looked at in the cell) is branching. Magnifying : 85.

FIG. 2. — Its outline is an irregular one and in its inner side one perceives a very granular protoplasm, spangled with numerous oildrops.

FIG. 3. — The filaments are often connected by anastomoses.

FIG. 4. — Their outline is very irregular and shows strumas as well as narrowness owing to the microscopical structure of the fungus. (See plate III.)

FIG. 5. — Some strumas of the main filament are like the Chlamidosporea of the Mucorinea.

FIG. 5'. — Sometimes they are met with where ramifications are branching off.

FIG. 6 & 7. — Towards the end of the main filament and less on its length we perceive, on small branches, ovoid and globular lumps of different shapes and containing one or two oildrops, which seem to be the isolated Conidea of the Mortierella.

FIG. 8 & 9. — But some of them are prolonged at their end by a filament; so as to leave very little possibility of their being Conidea. (See fig. 22.) Their inner structure seems, moreover, to show that they are single strumas of the filament.

FIG. 10 & 11. — At its end, the main filament forms secondary ramifications, thin enough to give them a thready looking.

PLATE II

Magnifying = 1100

When colouring the white Mycelium of truffle there is no possibility of detecting any kind of partition in the main filament owing to the liquid therein contained, but we observe that the secondary branches at the ends are obviously partitioned.

FIG. 12, 13 & 14. — Said thready ramifications, formed by lengthened cells, of an equal length, are branching on the ends of the main filament; sometimes they are also, in a variable number, branching on its side-strumas. Their contents are vitreous.

FIG. 14'. — When perceiving in a preparation said end branches, so very thin, near the main filament, the difference of thickness makes one believe them to be 2 quite different fungi, one of them being partitionned, the other not.

The main filament measures from $2\ \mu$ to $4\ \mu$; the end branches measure from $1/3\ \mu$ to $2\ \mu$.

FIG. 15. — Said ramifications, being bereft of liquid in one part of their length, get flat and distorted, their cells showing here their face, there their side.

FIG. 16 & 17. — Here and there are tearings in the membrane through which the contents of the cells were spilled.

PLATE III

Magnifying = 1100

In order to detect the structure of the filament it is necessary, first to discharge it from the liquid therein contained, then to colour it.

If the used solution of chlorinated soda is too strong, the membrane will be destroyed on several points, the filament will go into pieces and in the preparation will only remains more or less short pieces of it, but which, nevertheless, will allow everybody to get an idea of its microscopical structure.

FIG. 18, 18' & 18". — The main filament is not a mycelial tube, closed up, from distance to distance, by crossing rectilinear partitions as there are in most of the fungi; it shows, in the contrary, a special structure.

In fact, it is formed by a fasciculus of polyedrical cells, clustering together in an irregular way and constituting a real cellular tissue, so that its term of « a filament » is a wrong one.

The cells are filling up entirely the whole thickness of the filament, leaving no free space therein. They are so small that at the first look they are taken for granulations of the membrane; some of them are of a greater size and constitute the vacuoles. In fact, they are containing the many oildrops which the filament shows on the whole of its length.

FIG. 19. — The structure of the filament is not a uniform one in its whole length; the number and the position of the cells varying according to the point where they are situated.

FIG. 19'. — Sometimes, between two points where the cellular tissue is well developed, the filament consists only of a single range of cells.

FIG. 19" & 19". — The tissue is slowly getting simplified towards the ends of the filament, where the latter shows thus the real thready structure.

FIG. 20. — Structure of filament on the spots where there is a branching off.

FIG. 21. — There may be seen still in the preparations a great deal of very small thready pieces, some of them containing two or three cells. Bigger ones, of a round or lengthened shape, contain one or more vacuoles, which were believed to be Chlamydospores.

FIG. 22. — Certain spherical strumas on small branches are the pseudoconidea which seemed to be similar to those of the *Mortierella*. Perhaps ought we to consider them as small bulbs and as playing a part in the reproducing process?

FIG. 22^b. — These strumas are sometimes prolonged by a filament.

When treating the white Mycelium of truffle by means of a strongly diluted solution of hyperchlorite and when leaving it long enough exposed to its action, one succeeds in perceiving its structure without destroying the general sight of the fungus.

We may see then that the main filament is formed by several sections, which, put together, constitute its whole length. The number of cells comprised within the thickness of the filament, varies according to said thickness and the tissue, first well developed goes down, towards the ends, to a singular range of cells.

FIG. 23. — At the ends of the filament the latter is sometimes composed of a particular kind of tissue; said tissue, a very rudimentary one, being only constituted by groups of few cells, separate from each other and situate, at a regular distance from each other, in the mycelious tube and a strange feature is that said tube is not quite closed by said tissue on the points where it developed itself.

Fig. 1

Fig. 2