

LES RENCONTRES DE LA TRUFFICULTURE

PONT DU GARD - 22 OCTOBRE 2013

BILAN DU PROGRAMME SYSTRUF



4 années de recherches sur la truffe pour la trufficulture

Après Villeneuve-Minervois en 2012, la trufficulture française va connaître à nouveau trois importantes journées les 21,22,et 23 octobre prochains à l'initiative de SYSTRUF, de la FFT, de la Fédération Régionale des Trufficulteurs du Languedoc-Roussillon et des Syndicats des Trufficulteurs du Gard et de l'Hérault.

Une journée historique ce 22 octobre au Pont du Gard



Ph. J.-P. Sourzati

La recherche et la trufficulture ont un rendez-vous historique ce 22 octobre sur le site exceptionnel du Pont du Gard.

Ce n'est pas la première fois que la trufficulture se réunit dans ce lieu prestigieux et mondialement connu : dans le cadre du programme européen ADAPT Deme-

ter, un séminaire FFT s'y était tenu en 2001 sur le thème des rénovations de truffières à travers des expériences françaises, espagnoles et italiennes.

Le 22 octobre 2013, après bientôt quatre années de recherches, les équipes du programme SYSTRUF vont présenter les résultats de leurs travaux. Le Languedoc-Roussillon qui a participé de manière décisive au financement de ce programme (et d'autres) se devait d'accueillir cette

première restitution. Une présentation des avancées avait été faite lors de la journée technique de Villeneuve-Minervois, le 5 octobre 2012.

Un an après, le moment des synthèses finales arrive. Ce qui est exceptionnel, c'est qu'elles rassemblent dans une même communion de pensée tous ceux qui ont œuvré au de 2010 à 2013 dans le cadre du programme : les chercheurs et techniciens, les responsables de la trufficulture, les pouvoirs publics associés, en présence des médias. Cet élan collectif rare doit être souligné avec la restitution plus grand public prévue le 23 à Montpellier, avec les réunions du GETT, du CRETT et l'assemblée générale de la Fédération française, la trufficulture française vit une nouvelle étape de son développement.

Jean-Charles Savignac

Président de la Fédération Française des Trufficulteurs.

Dernière année pour le programme de recherche SYSTRUF

Le programme de recherche SYSTRUF, financé par l'Agence Nationale pour la Recherche et la Région Languedoc-Roussillon, atteint sa quatrième et dernière année en 2013. Fruit de la collaboration de six équipes de recherches de Nancy et de Montpellier, il a apporté de nouvelles connaissances sur l'écologie de *Tuber melanosporum*, sa nutrition, son développement, sa sexualité et ses interactions avec les plantes, les autres champignons et les bactéries dans la truffière. Depuis le début, il a été construit en lien avec les trufficulteurs de la FFT et du Centre d'Études Techniques et Économiques Forestières Languedoc-Roussillon. Bien avant la publication d'articles, les chercheurs partageront « à chaud » leurs premiers résultats et

conclusions avec les trufficulteurs et tous les curieux de trufficulture et de sciences de la nature. Il ne s'agit pas d'un colloque scientifique, mais bien d'un effort d'explication, avec des temps de questions et d'échange pour débattre des acquis et de l'avenir de la recherche sur les truffes.



Marc-André Selosse, professeur au Muséum national d'Histoire naturelle de Paris (Département Systématique et Évolution)



Le Gard, terre de ruralité, mais aussi de tradition « truffière » depuis plusieurs siècles. Le cavage de la truffe y a toujours été pratiqué sur une importante partie de son territoire, et c'est ainsi que dès 1970, avec la disparition progressive de la « rabasse » sauvage, quelques précurseurs de la trufficulture moderne ont créés le Syndicat des Producteurs de Truffes du Gard.

Tradition truffière du Gard

En quelques années plusieurs centaines d'arbres « truffiers » ont été plantés, assurant le maintien d'une production d'une « tuber melanosporum » qui risquait de disparaître.

Depuis maintenant plus de 20 ans, notre syndicat organise sur le site exceptionnel de la Place aux herbes à Uzès, une journée, devenu au fil du temps un week-end dédié à ce mythique champignon, afin de le faire sortir de l'anonymat et le faire découvrir et déguster à plusieurs milliers de personnes le troisième dimanche de janvier.

Si les rencontres entre trufficulteurs et le travail de découvertes sur le terrain sont importants, la recherche reste avant tout un élément d'avenir pour le développement de la trufficulture d'aujourd'hui et de demain.

Notre syndicat en partenariat avec la Fédération Régionale des Trufficulteurs du Languedoc-Roussillon avait reçu en janvier 2011 la « 1ère Biennale Européenne de la truffe

et de la trufficulture ». Nous sommes très heureux d'organiser encore une fois avec la Fédération Française des Trufficulteurs et notre Fédération Régionale cette importante manifestation que sera cette journée nationale professionnelle où vont être présentés les résultats du programme SYSTRUF. De tels événements nous confortent dans les actions que nous menons avec notre syndicat, cela ne peut que nous faire progresser afin que notre département reste une des premières zones truffières de France.



La journée du Pont du Gard avait été précédée par le grand rassemblement national « Expérimentation et Recherche en Trufficulture, le 5 octobre 2012, à Villeneuve-Minervois.

Louis TEULLE

Président du Syndicat des Producteurs de Truffes du Gard

JOURNÉE PROFESSIONNELLE

Pont du Gard - 22 octobre 2013

Auditorium Frontin (rive gauche)

de 9h à 18h

*Les acquis de 4 ans de recherche sur la Truffe du programme SYSTRUF
« La Truffe : biologie, écologie, reproduction »*

PROGRAMME

Matin : 9h – 12h30

Introduction

Représentant de la Région : Jean-Charles Savignac, Président de la FFT
Michel Tournayre, Président de la FT Languedoc-Roussillon.

Une vision moderne de la Trufficulture

- Introduction : 4 ans de SYSTRUF par Marc-André Selosse
- Dynamique de la reproduction sexuée par C. Murat et al.
- Comment la truffe se nourrit-elle ? La nutrition carbonée et azotée de l'ascocarpe par F. Le Tacon, C. Robin et al.
- Le génome de la truffe noire et son expression au cours du développement de l'ascocarpe, A. Kohler et al.
- Les bactéries, des partenaires méconnus de la truffe par A. Deveau et al.
- Le brûlé producteur s'accompagne-t-il de modifications chimiques et microbiennes du sol ? par E. Baudoin

Table ronde « Comment optimiser le développement des ascocarpes ? »
avec les intervenants du matin et les questions de la salle, animée par M.-A. Selosse

Repas : 12h30 à 14h30

Après-midi: 14h30 – 18h00

La truffière, une écologie qui se dévoile

- La flore fongique des truffières par C. Murat
- Les plantes compagnes de la truffière et la truffe par E. Taschen, M. Sauve et al.
- Microbiologie de la production truffière par Y. Prin et A. Geoffroy
- La perturbation de la truffière: un mal pour un bien ? Leçons d'une approche expérimentale, F. Richard
- La truffe, une domestication en route ? par M.-A. Selosse, E. Taschen et al.

Table ronde « Comment gérer l'écosystème truffier ? »
avec les intervenants de l'après-midi et les questions de la salle, animée par J.-M. Olivier

- Conclusions par J.-C. Savignac et M. Tournayre



CRETT



JOURNÉE DE VULGARISATION

Montpellier - 23 octobre 2013

Salle Méditerranée

CRDP de l'Académie de Montpellier

allée de la Citadelle

de 9h à 12h30

Une vision moderne de la Truffe et de son écologie

Introduction

Représentant de la Région

- Le contexte scientifique : SYSTRUF, un programme de recherche de l'ANR par Marc-André Selosse
- Truffe et trufficulture en France et en Languedoc-Roussillon par Jean-Charles Savignac, Président de la FFT et Michel Tournayre, Président de la FT L-R
- Le cycle de la Truffe : un réseau d'interaction par Marc-André Selosse
- De la sexualité de la truffe à la production de truffes par Claude Murat
- La nutrition de la truffe, un lien à l'arbre et au sol par François Le Tacon, Bernd Zeller & Christophe Robin
- La truffe dans la nature, un organisme pionnier par Franck Richard
- Discussion générale avec la salle, animée par Marc-André Selosse



Au cœur de la Truffe noire...

La Maison de la Truffe du Languedoc

« Au travers d'un espace muséographique de 300m², entièrement neuf et bénéficiant des dernières technologies, venez percer tous les mystères de la truffe ». Visite 45 mn

Boutiques de souvenirs et produits truffés

Ouvert du 1^{er} juin au 30 septembre de 12h à 18h

Ouvert durant les marchés aux truffes de Villeneuve Minervois de 10h à 17h

Renseignements : 04 68 26 14 20 - mail: cabrespine11@orange.fr

www.maisondelatruffedulanguedoc.com

Dynamique de la reproduction sexuée

Claude Murat¹, Herminia De la Varga¹, Emila Akroume¹, François Le Tacon¹,
Christophe Robin², Fabien Halkett¹, Francis Martin¹

¹ INRA, UMR 1136 INRA Université de Lorraine « Interactions Arbres-Microorganismes », Labex ARBRE, FR EFABA, 54280 Champenoux, France

² Université de Lorraine – INRA, UMR 1121 "Agronomie et Environnement Nancy-Colmar", BP 172, 54505 Vandœuvre les Nancy Cedex, France

Le cycle sexuel de la truffe noire *Tuber melanosporum* est fondamental dans la vie de cette espèce. En effet, il contribue d'une part à favoriser le brassage génétique et la dispersion de l'espèce. D'autre part, la fructification tant appréciée par les consommateurs et recherchée par les trufficulteurs est le produit final de la reproduction sexuée du champignon. Afin d'améliorer la production de truffes in situ il est donc indispensable de mieux comprendre comment le cycle sexuel de cette espèce se déroule. Pour cela, il semble primordial de connaître la structure génétique des individus en fonction de leur type sexuel sous des arbres producteurs ainsi que la dynamique au sein des truffières. L'objectif de cette étude est de cartographier les génotypes de *Tuber melanosporum* dans la plantation truffière située à Rollainville (88). Pour cela, nous avons récolté des ectomycorhizes, du sol et les fructifications pendant deux saisons de récolte (2010-2011 et 2011-2012) sous six arbres. Les génotypes ont été déterminés grâce à l'analyse combinée de 9 marqueurs microsatellites et du locus de compatibilité sexuelle (« Mating-type » = MAT).

La cartographie des gènes de compatibilité sexuelle couplée au génotypage des microsatellites au niveau du système racinaire et du tissu maternel de l'ascocarpe a mis en évidence une distribution non aléatoire des individus en fonction de leur gène de compatibilité sexuelle. D'autre part, nous avons observé un renouvellement des individus d'une saison à l'autre. Ce résultat, ajouté à la petite taille des in-



Brûlés sous les deux noisetiers et le chêne que nous suivons depuis trois ans dans la truffière de Rollainville (Vosges)

dividus (quelques m²), confirme que la truffe noire serait une espèce pionnière. Ceci expliquerait pourquoi lorsque le milieu se referme et que les truffières prennent de l'âge, la production d'ascocarpes s'arrête.

En conclusion, notre étude montre que les truffières sont des écosystèmes dynamiques avec un renouvellement des individus ainsi que des migrations entre arbres. Ces résultats viennent d'être publiés dans la revue *New Phytologist*. Un article les décrivant plus en détail ainsi que les implications pour la gestion des truffières sera bientôt préparé pour *Le Trufficulteur*.

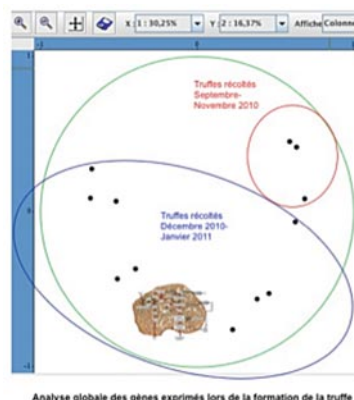
Le génome de la truffe et son expression au cours du développement de l'ascocarpe

Annegret Kohler, Emilie Tisserant, Nicolas Cichocki, Emmanuelle Morin, Claude Murat, François Le Tacon, Francis Martin et le Tuber Genome Consortium

Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), UMR 1136 INRA / Lorraine University, Interactions Arbres / Microorganismes, Centre de Nancy, 54280 Champenoux, France

Conduit par un consortium franco-italien et coordonné par l'INRA, le séquençage du génome de *Tuber melanosporum* a été réalisé en 2007 au Genoscope à partir d'une truffe récoltée en Provence.

Le génome de la truffe est un des plus grands connus chez les champignons jusqu'à aujourd'hui, et comprend 125 millions de paires de bases. Cette taille remarquable s'explique par la présence de plus de 50 % de séquences répétées, dont l'impact sur la diversité génétique de l'espèce est en cours d'étude. Le génome contient 7 500 gènes codant pour des protéines, et parmi eux plusieurs centaines de gènes qui sont uniques à la



Analyse globale des gènes exprimés lors de la formation de la truffe

truffe. Leur étude nous renseignera sur les mécanismes conduisant à la formation de la truffe. Dans le cadre du projet SYSTRUF, ces travaux ont été complétés par l'étude des gènes exprimés lors de la formation de la truffe.

Cette étude a en particulier mis en évidence une forte activation des voies de biosynthèse des composés soufrés volatils contribuant aux arômes de la truffe. Une meilleure connaissance de cette biosynthèse d'arômes et d'autres composants de la truffe mature pourrait aider à la sélection de souches de truffes aux quali-

tés optimales, ou éventuellement permettre de développer des outils de diagnostic.

Comment la truffe se nourrit-elle ? La nutrition carbonée et azotée de l'ascocarpe.

François Le Tacon¹, Christophe Robin², Bernd Zeller³, Caroline Plain⁴, Jean-Paul Maurice¹,
Christian Hossann⁴, Claude Bréchet⁴

¹ UMR 1136 INRA - Université de Lorraine « Interactions Arbres Micro-organismes », 54280 Champenoux

² UMR 1121 Université de Lorraine – INRA « Agronomie et Environnement », 54500 Vandoeuvre les Nancy

³ UR 1138 INRA « Biogéochimie des Ecosystèmes Forestiers », 54280 Champenoux

⁴ UMR 1137 INRA - Université de Lorraine « Ecophysologie et Écologie Forestières », 54280 Champenoux

Le mode d'acquisition du carbone et de l'azote des ascocarpes de truffe pendant leur développement est mal connu et controversé. Jusqu'à présent, il était plutôt admis que l'ascocarpe se développait au moins partiellement en saprophyte et devenait très rapidement indépendant de l'arbre-hôte.

Les résultats des mesures de l'abondance naturelle en ¹³C et ¹⁵N, du marquage au ¹³CO₂ de la partie aérienne de l'arbre et du marquage de la matière organique du sol en ¹³C et ¹⁵N vont tous dans le même sens. Ils montrent que la quasi totalité du carbone utilisé par les ascocarpes de *Tuber melanosporum* provient de l'arbre-hôte, quel que soit leur stade de développement. Ce transfert se fait probablement par un réseau mycélien très fragile qui assure la liaison entre

les mycorhizes et les ascocarpes sur des distances de plusieurs centimètres. Le mode de nutrition azotée est très différent. L'azote apporté par la matière organique est minéralisé par voie bactérienne, puis absorbé par les mycorhizes, vraisemblablement sous forme de nitrate. Il doit ensuite être réduit en ammonium dans les mycorhizes, puis incorporé sur des squelettes carbonés en provenance de l'arbre-hôte. Le plus probable est que les acides aminés ainsi synthétisés dans les mycorhizes sont transférés d'une part dans les ascocarpes et d'autre part vers l'arbre-hôte.

Pour assurer un bon développement des ascocarpes, il convient donc d'apporter la plus grande attention à la photosynthèse de l'arbre et de la favoriser par des plantations à faibles densités. Il faut éviter les tailles d'été destinées à freiner la croissance des arbres et les tailles tardives au moment où les ascocarpes sont en cours de grossissement. Pour mémoire, rappelons que la photosynthèse dépend étroitement de l'évapotranspiration. Tout devrait donc être mis en œuvre pour améliorer la disponibilité en eau du sol.

La préservation du lien fragile entre mycorhizes et truffes, fonctionnant activement jusqu'à complète maturation, est essentielle. Quelle que soit la profondeur du travail du sol, il semble judicieux de le proscrire pendant toute la période de développement des ascocarpes, c'est-à-dire de juin à mars.



Marquage au ¹³CO₂ de deux chênes verts à Pierre Blanche, Vaucluse le 6 juillet 2011 (Ph. Christophe Robin)

Les bactéries, des partenaires méconnus de la truffe

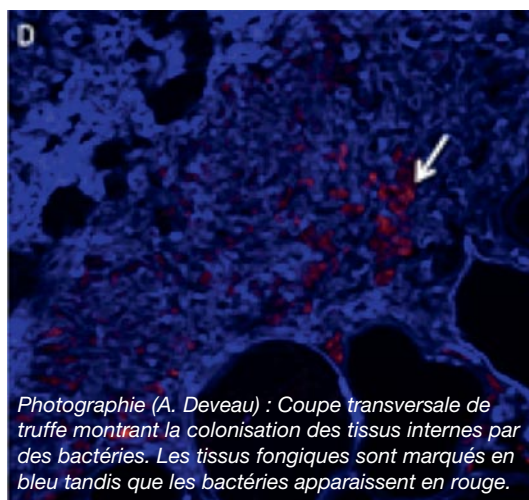
Aurélié Deveau¹, Sanjay Antony-Babu¹, Christophe Robin², François Le Tacon¹, Stéphane Uroz¹,
Pascale Frey-Klett¹

¹ UMR 1136 INRA - Université de Lorraine « Interactions Arbres Micro-organismes », 54280 Champenoux

² UMR 1121 Université de Lorraine – INRA « Agronomie et Environnement », 54500 Vandoeuvre les Nancy

Champignons et bactéries ont souvent mauvaise presse en raison du pouvoir pathogène de certains d'entre eux. Cependant beaucoup de bactéries et de champignons nous sont utiles, voire bénéfiques. Il nous serait par exemple impossible de produire nombre de nos fromages ou de nos vins sans la coopération entre ces microorganismes.

Pourtant, l'identité et le rôle de beaucoup de ces microorganismes nous échappent encore, notamment dans des environnements complexes tels que les sols. Ceux-ci



Photographie (A. Deveau) : Coupe transversale de truffe montrant la colonisation des tissus internes par des bactéries. Les tissus fongiques sont marqués en bleu tandis que les bactéries apparaissent en rouge.

constituent en effet un immense réservoir de bactéries : chaque gramme de sol héberge en moyenne plus d'un milliard de cellules bactériennes, et sans doute plus d'un million d'espèces différentes. En se développant sous terre, la truffe est donc en contact permanent avec un très grand nombre de bactéries, dont certaines sont capables de coloniser la surface et les tissus internes du carpophore de la truffe. La truffe est donc aujourd'hui un modèle très original d'étude des interactions entre un champignon et les communautés bactériennes du sol.

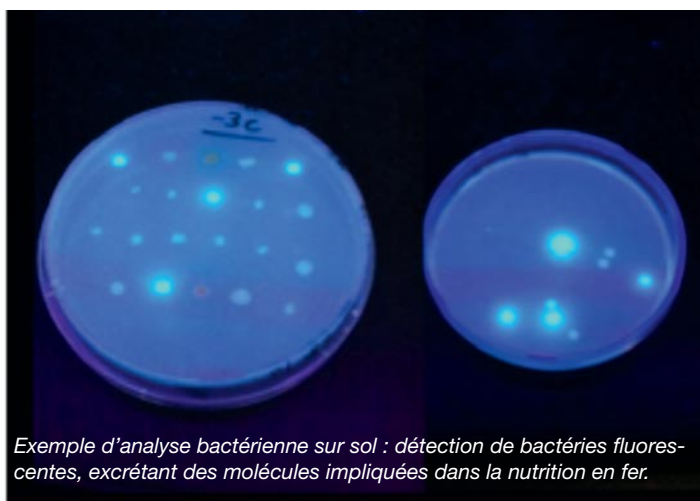
Si la présence de bactéries associées à la truffe noire du Périgord est avérée depuis de nombreuses années, l'identité et le rôle potentiel de ces bactéries dans le développement de la truffe restent inconnus. Nous avons donc entrepris d'inventorier les communautés bactériennes présentes dans le sol au voisinage de la truffe noire du Périgord ainsi que celles colonisant la surface et l'intérieur des carpophores, tout au long du processus de développement et de la maturation de ceux-ci. Nos résultats indiquent que le sol de la truffière abrite une grande diversité de bactéries, typiques des sols forestiers calcaires. Ces mêmes bactéries sont retrouvées à la surface des truffettes alors que l'intérieur des jeunes truffes est caractérisé par une diversité beaucoup plus faible, suggérant la sélection de groupes bactériens particuliers. Nos résultats démontrent également

que les groupes bactériens colonisant la surface des truffes changent au cours du processus de maturation, suggérant là aussi des interactions fortes entre les bactéries et la truffe. Comment expliquer ces phénomènes de sélection ? Ces bactéries sont-elles de simples opportunistes qui se nourrissent de la truffe ou bien coopèrent-elles avec le champignon et participent-elles à son développement, en améliorant par exemple sa nutrition ? Les données préliminaires que nous avons obtenues laissent à penser qu'elles pourraient intervenir dans au moins trois étapes du cycle biologique de la truffe : la nutrition azotée du champignon, la formation de l'arôme et la libération des spores. Des études complémentaires sont en cours afin de tester ces hypothèses.

Le brûlé producteur s'accompagne-t-il de modifications chimiques et microbiennes du sol ?

Ezékiel Baudoin, Hervé Sanguin, Alessandra Pontiroli, Estelle Tournier,
Julie Bourillon, Daniel Mousain, Marc Ducouso, Antoine Galiana, Christine Leroux,
Odile Domergue, Yves Prin, Robin Duponnois.

UMR Laboratoire des Symbioses Tropicales et Méditerranéennes (LSTM), Campus CIRAD de Baillarguet, F-34398 Cedex 5, Montpellier, France



Exemple d'analyse bactérienne sur sol : détection de bactéries fluorescentes, excréant des molécules impliquées dans la nutrition en fer.

L'apparition d'un brûlé, notamment producteur, laisse supposer des modifications des communautés microbiennes du sol et de la matière organique en raison d'une altération radicale du couvert végétal, c'est à dire des apports en matière organique (racines, litière, rhizodépôts, réseaux mycorhiziens) censés conditionner fortement l'habitat microbien. Afin d'apprécier ces changements, le sol de 4 truffières à chênes verts a été échantillonné en hiver 2010 et en été 2011 dans la région Languedoc Roussillon à raison de trois brûlés producteurs, trois brûlés non producteurs et trois chênes non brûlés et non producteurs par site. Ces 72 sols ont été analysés microbiologiquement pour leur densité bactérienne, leur signature de diversité catabolique (oxydation bactérienne d'un panel de substances organiques), leurs diversités bactérienne et fongique. En plus des analyses physico-chimiques classiques du sol, l'acquisition des signatures spectrales dans le proche infra-rouge a permis de comparer la matière organique de ces sols en termes qualitatifs.

D'un point de vue très global, aucune spécificité stricte et majeure du brûlé producteur n'a été mise en évidence quelle que soit la saison. Ainsi au sein d'une truffière donnée, les sols de chênes avec brûlé producteur et sans brûlé peuvent être considérés comme statistiquement équivalents en termes de pH, de taux de matière organique ou de densité bactérienne par exemple. L'analyse comparative toujours en cours des données de diversité microbienne indique aussi à ce stade qu'il n'y aurait pas de clivage catégorique et univoque parmi les groupes dominants selon le statut truffier du chêne. En l'absence d'un tel motif permanent de spécificité du brûlé producteur, il est cependant apparu à certaines occasions, dont le cas le plus démonstratif est celui de la truffière d'Uzès-été 2011, une certaine singularité des communautés bactériennes et de la signature spectrale de la matière organique du sol. Des spécificités microbiennes et chimiques peuvent donc émerger à une échelle analytique peu résolutive et dont le maintien est transitoire, peut-être en lien avec certaines phases physiologiques du réseau mycélien de *T. melanosporum*. Outre la finalisation des statistiques comparatives, il reste à identifier l'existence éventuelle de corrélations entre diversité microbienne et paramètres physico-chimiques du sol.

Cette question de la spécificité microbienne et de la matière organique mérite a posteriori un échantillonnage temporel et spatial au sein du brûlé plus fin que celui appliqué ici, assorti d'un nombre de réplicats plus important sur site unique. À terme, si la spécificité microbienne était mieux circonscrite dans le temps et l'espace du brûlé producteur, un intérêt possible en terme de conduite trufficole devrait passer par une phase exploratoire de l'effet de l'inoculation de brûlés non producteurs avec des sols de brûlés producteurs afin de déclencher ou de favoriser l'entrée en reproduction de ce champignon, sous l'hypothèse de travail que la spécificité microbienne serait une cause de l'entrée en production et non sa conséquence.

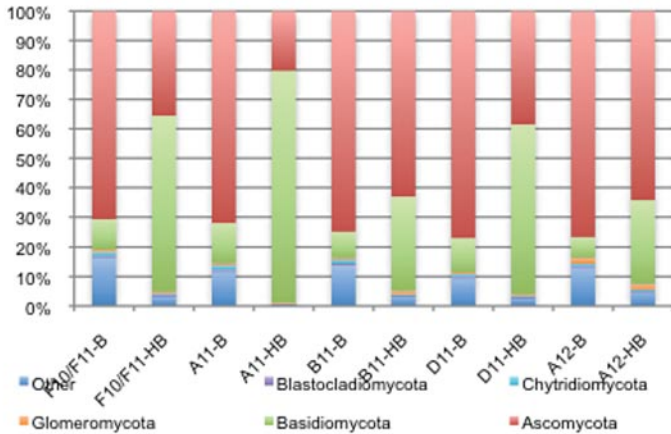
La flore fongique des truffières

Claude Murat¹, Marc Buée¹, Juliette Lengelle¹, François Le Tacon¹, Emmanuelle Morin¹, Robin Ohm³, Thibaut Payen¹, Christophe Robin², Julien Tremblay³, Francis Martin¹

¹ INRA, UMR 1136 INRA Université de Lorraine « Interactions Arbres-Microorganismes », Labex ARBRE, FR EFABA, 54280 Champenoux, France

² Université de Lorraine – INRA, UMR 1121 "Agronomie et Environnement Nancy-Colmar", BP 172, 54505 Vandoeuvre les Nancy Cedex, France

³ U.S. Department of Energy Joint Genome Institute, Walnut Creek, CA 94598, USA



Composition de la communauté fongique dans les sols de brûlés (B) et hors brûlé (HB), sous cinq arbres (F10, A11, B11 et 12)

Le sol est un réservoir important de la biodiversité sur la terre et les microorganismes y représentent une grande partie de cette biodiversité. En effet, il existe plusieurs dizaines de milliers d'espèces de bactéries et plusieurs centaines d'espèces de champignons par gramme de sol. La truffe vit donc en interaction avec tous ces microorganismes et doit livrer une bataille journalière pour se maintenir dans un sol et au niveau d'un système racinaire. Jusqu'à une date récente, nous n'avions pas les outils pour savoir quelles étaient les espèces fongiques présentes dans un sol. Mais les progrès technologiques permettent actuellement d'avoir une vision de plus en plus détaillée de la biodiversité microbienne d'un sol. Pour cela nous disposons de régions particulières du génome, pouvant être considérées comme de véritables code-barres, spécifiques des différentes espèces. Les objectifs de cette étude sont de savoir s'il existe une communauté fongique associée aux arbres producteurs de *T. melanosporum* et sur un site

particulier de comparer les communautés fongiques dans les sols de brûlés et hors brûlé. Ce deuxième objectif a été réalisé dans le cadre d'un projet international INRA/JGI (« *Metatranscriptomics of Forest Soil Ecosystems* »).

Pour répondre à la première question, nous avons sélectionné six plantations de chênes pubescents en France couvrant les principales zones de production du sud-est et du sud-ouest. Dans chaque plantation le sol sous trois arbres producteurs et trois arbres non producteurs ont été échantillonnés. La communauté fongique a été analysée par la technique de pyroséquençage 454, qui a généré un total de 70000 code-barres. Environ 200 à 400 espèces de champignons sont présentes dans un gramme de sol de truffière. Les principaux résultats sont que 1) *Tuber melanosporum* est présent sous 33 des 36 arbres analysés (même les non-producteurs), mais les arbres producteurs se caractérisent par une forte quantité de ce champignon ; 2) la communauté fongique du sol sous les arbres producteurs semble ne pas être la même que celle sous les arbres non producteurs.

La communauté fongique des sols de brûlés et hors brûlés a été analysée sur la truffière de Rollainville en utilisant une technique innovante de séquençage (dite « *Illumina* ») qui a généré 1 427 374 code-barres. Les communautés fongiques dans et hors brûlé sont très différentes, et *T. melanosporum* domine dans les sols de brûlés.

Une meilleure connaissance des espèces fongiques interagissant avec *T. melanosporum* est indispensable pour mieux comprendre le fonctionnement de l'écosystème truffier. Les avancées technologiques permettent maintenant de connaître les espèces microbiennes interagissant avec la truffe et de tester l'hypothèse que des espèces fongiques favoriseraient ou défavoriseraient le cycle biologique de la truffe.

Les plantes compagnes de la Truffière et la truffe

Elisa Taschen, Mathieu Sauve, Franck Richard, Marc-André Selosse.

Centre d'Écologie Fonctionnelle et Evolutive, CNRS, UMR 5175, Equipe Interactions Biotiques, 1919 Route de Mende, 34 293 Montpellier cedex 5, France

C'est une évidence pour tout trufficulteur : la truffe marque les paysages végétaux de son empreinte. Mais paradoxalement, notre connaissance des liens entre ce champignon et la composition floristique au sein du brûlé reste fragmentaire. Les premiers travaux descriptifs, encore préliminaires, tendent à montrer que de façon surprenante, l'effet quantitatif constaté (réduction de densité dans les brûlés) ne s'accompagnerait pas d'un effet qualitatif marqué (travaux de Y. Prin et al.). Dans ce travail, nous avons exploré l'interaction de la truffe avec deux grands types de végétaux présents dans les truffières

naturelles : les espèces ectomycorhiziennes (chênes, cistes, arbousiers) et les plantes endomycorhiziennes (arbustes et herbacées). En nous focalisant sur des truffières naturelles, nous avons (i) exploré la présence de mycélium de *Tuber melanosporum* dans leurs tissus et (ii) déterminé l'évolution de la composition des communautés fongiques au cours de la vie de la truffière et des brûlés.

Nos résultats montrent que le sol de la truffière est un milieu dynamique, où de nombreuses espèces de champignons s'installent et se succèdent sur les racines des plantes ectomycorhiziennes. De manière surprenante, *Tuber melanosporum*



rum y est présente, mais peu abondamment, avant et pendant le stade productif du brûlé. Par ailleurs, le passage au crible des racines des plantes non ectomycorhizées montre un signal positif de la présence de *Tuber melanosporum* sur les racines d'une large proportion d'entre elles. Afin de mieux comprendre la nature des liens entre la truffe et la grande diversité végétale avec laquelle elle semble être en mesure d'interagir, une approche expérience en milieu contrôlé a été réalisée, dont les résultats définitifs sont attendus pour le printemps 2014 (voir photo).

Expérience en mésocosmes sur le terrain expérimental du Centre d'Écologie Fonctionnelle et Évolutive de Montpellier : étude des interactions de la Truffe et 6 espèces de plantes compagnes (Thymus vulgaris, Rosa canina, Spartium junceum, Anthoxanthum odoratum, Anthyllis vulneraria, Festuca ovina).

Microbiologie de la production truffière

Yves Prin¹, Hervé Sanguin¹, Alessandra Pontiroli¹, Antoine Galiana¹, Marc Ducouso¹, Christine Le Roux¹, Odile Domergue¹, Julie Bourillon¹, Estelle Tournier¹, Jean Thioulouse², Daniel Mousain¹, Ezekiel Baudoin¹, Robin Duponnois¹

¹ UMR Laboratoire des Symbioses Tropicales et Méditerranéennes (LSTM), Campus CIRAD de Baillarguet, F-34398 Cedex 5, Montpellier, France.

² Université Lyon 1/ CNRS, UMR5558, Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive, F-69622, Villeurbanne, France.

La production de truffes, ascocarpes de *Tuber melanosporum*, est associée sur le terrain à l'apparition, sous l'arbre-hôte, d'une zone pratiquement dépourvue de végétation appelée le brûlé. Toutefois, certains arbres peuvent présenter des brûlés sans produire de truffes. Dans le cadre du projet ANR-Systruf et avec l'appui de la Région Languedoc-Roussillon, en coordination avec la FFT, le CETEF et des trufficulteurs languedociens, le LSTM s'est intéressé à la relation entre les diversités floristiques et microbiologiques des écosystèmes truffiers et plus particulièrement des chênes producteurs. Il s'agissait, à terme, de se donner les moyens de pérenniser, voire d'étendre ce statut producteur au sein de la truffière.

En région Languedoc-Roussillon, quatre sites d'étude ont été sélectionnés, avec pour essence truffière le chêne vert (*Quercus ilex*), s'échelonnant le long d'un axe transversal allant des Pyrénées-Orientales au Gard. L'inventaire floristique des truffières a été effectué sur 2 saisons (printemps, automne). Trois types d'approche, à des échelles de plus en plus restrictives, ont été utilisés pour mener les inventaires floristiques. Les analyses statistiques globales, encore en cours, semblent indiquer une absence de spécificité de la flore que ce soit à l'échelle de la truffière ou de l'arbre producteur. La diversité des champignons mycorhiziens ectotrophes et à arbuscules a été étudiée par les techniques de séquençage haut débit, dans les brûlés producteurs et non producteurs, ainsi que sous les chênes ne produisant pas de brûlé. Deux campagnes (été : initiation des truffes, et hiver : maturation des truffes) de prélèvements racinaires ont été réalisées sur les 36 arbres sélectionnés. Une analyse, encore partielle, des données indique que certains

Confrontation Tuber melanosporum / bactérie sur milieu de culture



groupes mycorhiziens seraient caractéristiques de la production. Les microorganismes identifiés comme les plus représentatifs du brûlé producteur étant connus, il restera à tester leur effet dans le fonctionnement du brûlé et in fine l'initiation de l'ascocarpe.

Si la truffière productrice reste un écosystème non résilient sans intervention humaine (entretien régulier pour maintenir artificiellement un stade d'ouverture du couvert), l'identification combinée des différents acteurs microbiologiques et floristiques des brûlés producteurs et leur utilisation potentielle en trufficulture reste une piste essentielle pour augmenter la proportion d'arbres producteurs dans les truffières.

La perturbation de la truffière : un mal pour un bien ? Les leçons d'une approche expérimentale

F Richard, Oula Shahin, Nicolas Martin Saint Paul, Serge Rambal, Richard Joffre, Marc-André Selosse

Centre d'Écologie Fonctionnelle et Evolutive, CNRS, UMR 5175, Equipe Interactions Biotiques, 1919 Route de Mende, 34293 Montpellier cedex 5, France

Dans le jargon du biologiste, la trufficulture est une histoire de pratiques anthropiques, savamment dosées dans le temps et dans l'espace, parfois appliquées au sol (labour, griffage, ...) et/ou à la plante hôte (recépage, taille sévère, ...), pour maintenir la reproduction sexuée d'un symbionte racinaire (la truffe).

À l'aide d'une approche expérimentale en forêt, nous avons cherché à comprendre l'effet de telles pratiques, non pas sur la production d'ascocarpes, mais sur la dynamique de formation des mycorhizes dans le sol. En d'autres termes, nous avons cherché à répondre à la question suivante : la perturbation du sol d'une part, et le recépage de l'hôte d'autre part, ont-ils un effet mesurable sur la présence de truffes sur les racines ? Pour répondre à cette question, nous avons séquencé l'ADN de mycorhizes prélevées avant et après perturbation, dans plusieurs forêts languedociennes, afin de déterminer la réponse de la truffe dans le sol.

Nous avons ainsi pu démontrer que le travail du sol (labour, griffage, ...) entraîne une augmentation dans l'année suivant la perturbation de la colonisation racinaire par les truffes en général, ainsi que par d'autres espèces d'Ascomycètes (pézizes, helvelles). Par ailleurs, le recépage de l'arbre conduit à un effet immédiat et négatif sur ses mycorhizes, suivi au bout de deux ans d'un effet positif sur la présence de mycorhizes de truffes. Ce dernier



Forêt naturelle d'Amérique du Nord, dont les microreliefs (alternance de buttes et de dépressions) montrent l'effet du régime naturel de perturbations (chutes d'arbres, dégâts de mammifères, etc.) sur le sol et sur les organismes qui l'habitent.

s'estompe au cours du temps pour ne plus être constaté au bout de dix ans.

Ces résultats confirment le caractère pionnier de la truffe, l'importance des perturbations dans la biologie et l'écologie de ce champignon, et le rôle fondamental des pratiques humaines permettant de les imiter pour maintenir dans le temps sa présence dans le sol.

La truffe dans la nature, histoire d'un pionnier

F Richard, Oula Shahin, Nicolas Martin Saint Paul, Serge Rambal, Richard Joffre, Marc-André Selosse

Centre d'Écologie Fonctionnelle et Evolutive, CNRS, UMR 5175, Equipe Interactions Biotiques, 1919 Route de Mende, 34293 Montpellier cedex 5, France

Si la truffe pouvait nous raconter une année de sa vie en truffière, elle nous confierait sans doute que le trufficulteur est un adepte de pratiques sadiques, qu'il applique sans relâche à ses arbres et aux champignons qu'ils hébergent sur leurs racines, afin que persiste dans le temps le précieux sésame...

En effet, l'histoire de la truffe est l'histoire d'un champignon qui, pour se maintenir dans un boisement, nécessite que l'homme lui donne un coup de pouce, de pioche, de soc ... par d'ingénieuses pratiques, pour retarder dans le sol les effets du vieillissement naturel de la plantation. On appelle cela un champignon pionnier.

À l'aide d'expériences conduites dans la nature, dans les forêts languedociennes, nous avons cherché à déchiffrer ce lien étrange entre un champignon et l'homme, dont les intérêts

convergent, comme en témoigne l'extraordinaire production truffière française du siècle passé, lorsque l'homme et ses troupeaux façonnaient sans relâche les paysages méditerranéens par son activité agro-pastorale.

Nous avons ainsi pu démontrer que le travail du sol (labour, griffage, ...) profite immédiatement aux mycorhizes de truffes en général, ainsi qu'à d'autres espèces de champignons apparentées. Par ailleurs, nous avons constaté que la coupe de l'arbre nourricier (recépage, taille sévère, ...) procure un bénéfice plus différé à ces champignons, et bien fugace dans le temps. Ces résultats confirment l'importance des perturbations dans la biologie et l'écologie de la truffe, et le rôle fondamental des pratiques humaines permettant de les imiter pour maintenir dans le temps la présence du champignon dans le sol.

La truffe, une domestication en route ?

Marc-André Selosse^{1,2}, Elisa Taschen¹, Mathieu Sauve¹, Franck Richard¹

¹ Centre d'Écologie Fonctionnelle et Évolutive, CNRS, UMR 5175, Equipe Interactions Biotiques, 1919 Route de Mende, 34 293 Montpellier cedex 5, France

² Muséum national d'Histoire naturelle, Paris (UMR 7205 OSEB), 45 rue Buffon, 75005 Paris

Le processus de domestication est caractérisé, à strictement parler, par la maîtrise de la reproduction d'un organisme, notamment à des fins alimentaires : bien que les techniques d'inoculation aient fait de gros progrès, la persistance du mycélium sur les racines des arbres en plantation, d'une part, et la formation de la fructification qui porte les spores, d'autre part, ne sont pas encore complètement maîtrisés pour la Truffe. Nous nous retrouvons donc, au début du XXI^e siècle, dans un processus de domestication en cours, avec de nombreuses connaissances empiriques. Les travaux de recherche cherchent à aider à clarifier la biologie de la truffe et assurer une meilleure maîtrise de sa reproduction.

L'un des outils disponibles est dérivé de notre connaissance du génome de la Truffe : les marqueurs dits « microsatellites » permettent de reconnaître les individus sur la base de leur génome, exactement à la façon dont la police scientifique reconnaît les individus humains sur la base de leur ADN. Nous avons utilisé les microsatellites pour comparer la diversité génétique en plantations, donc en milieux gérés, et en truffières naturelles, donc en milieu moins perturbé. Deux aspects ont retenu notre attention :

– comment se structure la diversité dans ces deux compartiments ? Entre plantations et truffières naturelles, quel compartiment contient le plus de diversité ? En général, plus deux individus sont éloignés géographiquement, plus ils sont différents : cette tendance est-elle aussi nette dans chacun des deux compartiments, sinon quelle différence existe-t-il ?

– la formation de l'ascocarpe nécessite deux parents, l'un maternel (qu'on retrouve dans la gléba du carpophore), l'autre paternel (qui ne contribue qu'au génome des spores). Des méthodes d'extraction de l'ADN permettent de distinguer les deux parents dans une truffe donnée. La question devient alors : qui s'associe avec qui, « amant » proche ou lointain ? Y a-t-il des préférences ? Les processus de rapprochement des partenaires sont-ils les mêmes dans les deux compartiments, sinon quelle différence existe-t-il ?

Plus généralement, on peut se poser la question des conséquences des gestes accomplis dans les pratiques actuelles sur la diversité génétique de la truffe – et nous évoquerons aussi ce point.



Les jeunes truffes sont-elles déjà fécondées ? Les travaux de SYSTRUF permettent de suivre les étapes de la fécondation – photo A. Guillen et F. Garcés.

Au SOMMAIRE DU TRUFFICULTEUR n° 84

Truffe gourmande : recettes de Jean-Luc Barnabet 2

Vie fédérale :

– Journée de restitution publique à la filière 4
– Les acquis de 4 ans de recherche sur la truffe
– Journée de vulgarisation, ouverte à la filière :
Une vision moderne de la truffe et de son écologie

Le conseil d'administration de la FFT prépare les journées gardoises d'octobre 5

Recherches 6-10

– Analyse pratique des relations entre le climat et les récoltes de truffes noires :
conséquences pour une gestion raisonnée de l'eau

Note conjoncturelle sur la météo 2013 11-12

Des ascocarpes de *Tuber aestivum* Vittad observés dans une ancienne carrière souterraine de l'Oise à plusieurs mètres de profondeur 13-15

Recherches 16-18

– Observation de deux types de filaments dans la gléba de carpophores de truffes

Vie des régions

– Provence-Alpes-Côte d'Azur 19
Journée "portes ouvertes" à la Pépinière Tenoux, Bruis, Hautes-Alpes

– Centre-Est 19
Programme des prochaines manifestations de la Confrérie de la Truffe de Bourgogne

– Midi-Pyrénées 20
Expérimentation, recherche, développement, formation, appui technique

– Rhône-Alpes 21
La Maison de la truffe et du tricastin, nouvelle muséographie

– Aquitaine 21
Visites au Centre expérimental truffes de Glane

– Centre-Est 21
La Confrérie de la Truffe de Bourgogne de Noyers

Médias et internet 22

– Inquiétudes autour des truffes d'été

International 23

– Le temps de la truffe blanche est arrivé
– Alba et Acqualagna fin prêtes !

Livres 24

– Le Périgord, wo trüffel unter Eichen wachsen

Conclusion

Après la biennale à Uzès et les rencontres de la trufficulture à Villeneuve-Minervois, la région Languedoc-Roussillon accueille à nouveau une grande manifestation avec le bilan du programme systruf au Pont du Gard et à Montpellier.

Le Languedoc-Roussillon connaît, depuis quelques années, un fort développement de la truffe et la trufficulture. On le doit principalement au soutien sans faille du conseil régional, qui, depuis 2005, en partenariat avec la FRT, a mis en place un véritable projet de relance. Le Languedoc-Roussillon est, aujourd'hui, à l'instar de L'Aquitaine, la Charente, Midi-Pyrénées, Provence-Alpes-Côte d'Azur et Rhône Alpes, considéré comme une grande région productrice de *Tuber melanosporum*.

Près de 800 hectares de plantations, financés à hauteur de 40 % des investissements par la région ont été réalisés. Les principales fêtes de la truffe de nos cinq départements sont aidées et la région n'a pas hésité à investir dans des projets de recherches, pour faire avancer la connaissance et optimiser la production des trufficulteurs.



Après le projet transpyrénéen de Benoît Jaillard, qui a étudié les sols producteurs et non producteurs de plus de 400 sites truffiers (dont 280 dans la région Languedoc-Roussillon), et donc les conclusions seront bientôt publiées, le Conseil Régional a

co-financé le programme Systruf, pour lequel je tiens à remercier Marc-André Selosse et son équipe, pour leur travail et les liens qu'ils ont su créer avec les trufficulteurs.

Même si elle est dynamique, la volonté professionnelle ne suffit pas pour avancer si elle n'est pas soutenue par une volonté politique.

Les symbioses entre nos syndicats de trufficulteurs et les communes, départements, régions et, bien entendu, l'État, sont indispensables pour développer la trufficulture et défendre la truffe et les trufficulteurs.

Fort de ces soutiens et des progrès de la recherche, nous sommes déjà tournés vers l'avenir, avec quelques projets dans nos « musettes ».

Michel Tournayre
Président des Trufficulteurs
de la Région Languedoc-Roussillon

Pendant ces trois journées, des visites de truffières seront possibles en lien avec la FRTL et nos syndicats départementaux.

Pour toutes informations locales et les possibilités d'hébergement, joindre l'Office de tourisme d'Uzès
www.uzes-tourisme.com
Site du Pont du Gard
400 route du Pont du Gard
30210 Vers-Pont-du-Gard
Tél. 04 66 37 50 99
www.pontdugard.free

INTROUVABLE EN KIOSQUE.
ABONNEZ-VOUS!

À retourner avec votre règlement sous enveloppe affranchie au :
Le Trufficulteur - 7, rue du Jardin Public - BP 7065 - 24007 Périgueux cedex - FRANCE

ADHÉRENTS FFT*

30€
SEULEMENT

Hors France : 38€

AUTRES

36€
SEULEMENT

Hors France : 45€

Oui, je souhaite m'abonner au Trufficulteur pour **1 AN**, soit 4 numéros.

NOM :

PRENOM :

ADRESSE :

CODE POSTAL : _____ VILLE :

PAYS :

Tél. Fax :

E.mail :@.....

Ci-joint mon règlement par :

(France) - Chèque bancaire ou postal à l'ordre du Trufficulteur

(Étranger) - Virement bancaire : n° Iban : FR76 - 1240 6000 5500 1433 2660 022
Banque : Crédit Agricole Charente - Périgord à Trélissac

* Joindre une photocopie de la carte d'adhésion à une fédération membre
Conformément à la loi relative aux libertés de la presse du 6 janvier 1978, vous disposez d'un droit d'accès et de rectification aux données vous concernant. Pour notre information, ces données pourront être communiquées à des tiers, sauf si vous cochez la case ci-contre.