



# **La culture de la truffe : de l'antiquité aux approches actuelles de génomiques**

**Barry-Etienne Dominique**

**Montpellier, 7 mai 2015**

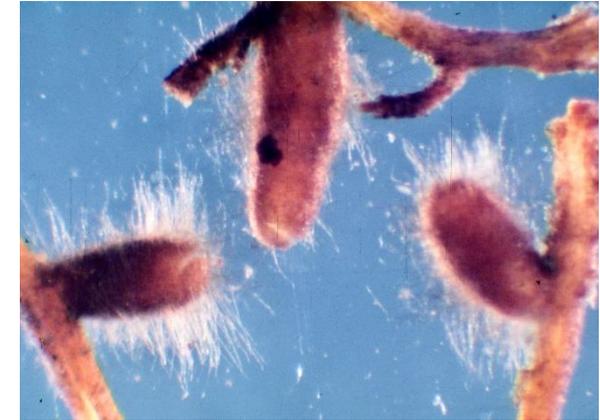
# La truffe : un champignon renommé

- ✓ Ascomycète du genre *Tuber*
- ✓ Dans le monde : 60 espèces
- ✓ En France : 20 espèces

- **La truffe noire** *Tuber melanosporum*
- La truffe de Bourgogne *Tuber uncinatum*
- La truffe blanche d'été *Tuber aestivum*
- La truffe brumale *Tuber brumale*
- La méserterique *Tuber mesetericum*

# La truffe noire : biologie

- ✓ **Mycélium** : forme végétative
- ✓ **Mycorhize** : association racine-mycélium
- ✓ **Stroma** : pelote mycélienne
- ✓ **Ascocarpe=Truffe** : corps fructifère
- ✓ **Spore** : conservation





# Une cueillette ancestrale

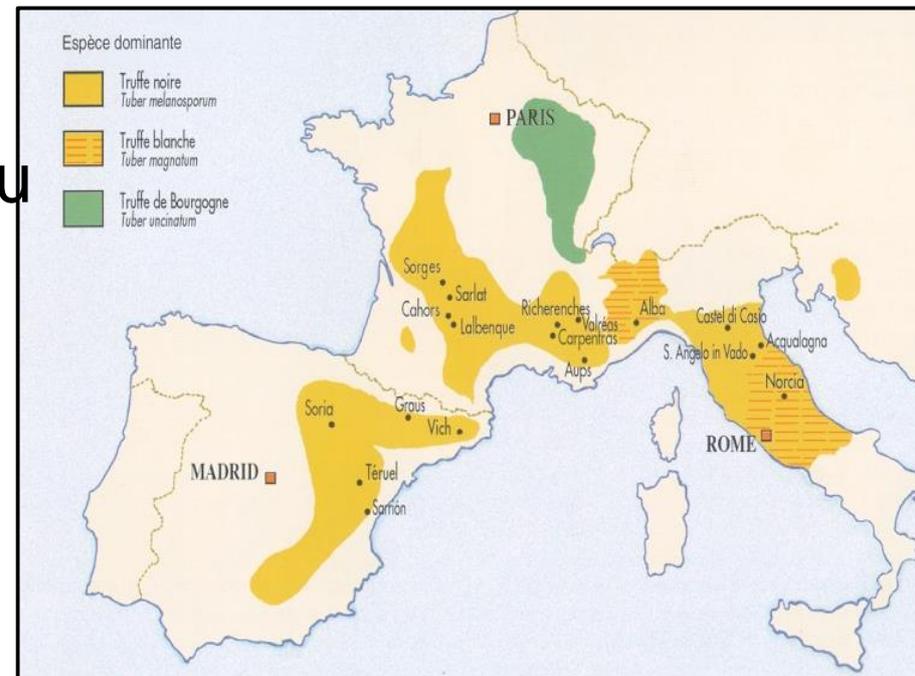
Connue et appréciée dans l'antiquité  
(Théophraste, Pline)

Rejetée au moyen âge comme produit maléfique  
« *Bonne pour le bas peuple paysan ignorant,  
grossier et loin de Dieu* »

Objet d'études et d'attention à partir du XVII<sup>ème</sup>  
(Tournefort, Micheli).

Ramassée dans le milieu  
naturel (cueillette).

Non cultivée



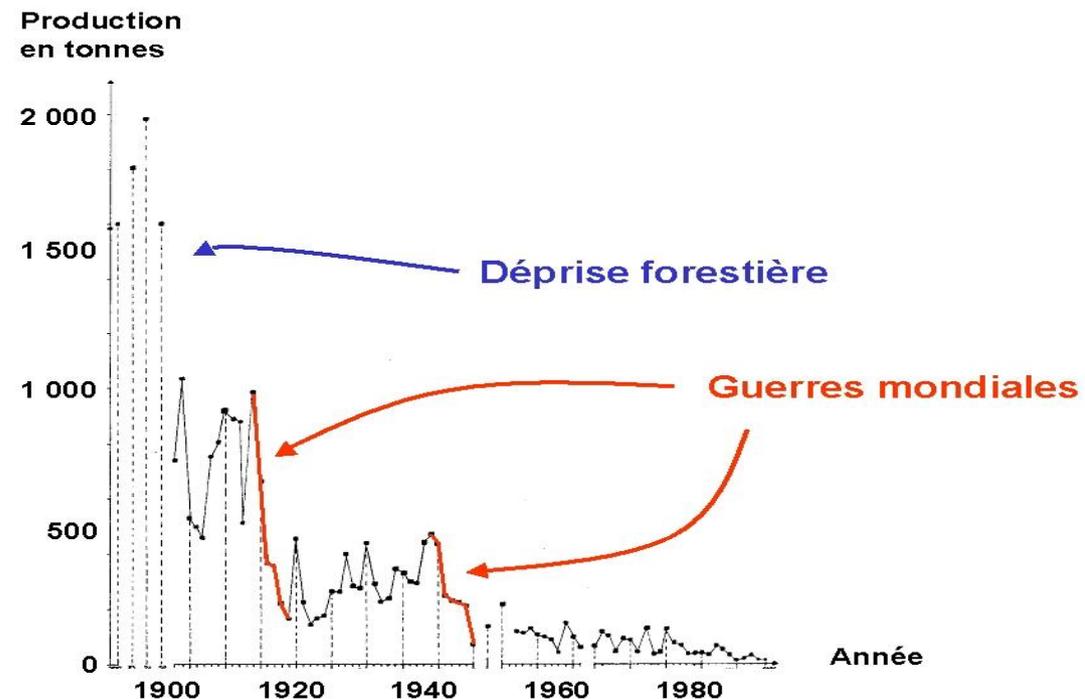
# Naissance de la trufficulture

Naissance de la trufficulture par semis de glands en 1810 par J.Talon dans le Vaucluse : 'semer des glands pour avoir des truffes'.

Essor de la trufficulture par semis de glands mais aussi suite à la loi RTM (reboisement des zones de montagne) sur le Lubéron et le Ventoux et les zones touchées par le phylloxera à partir de 1880.



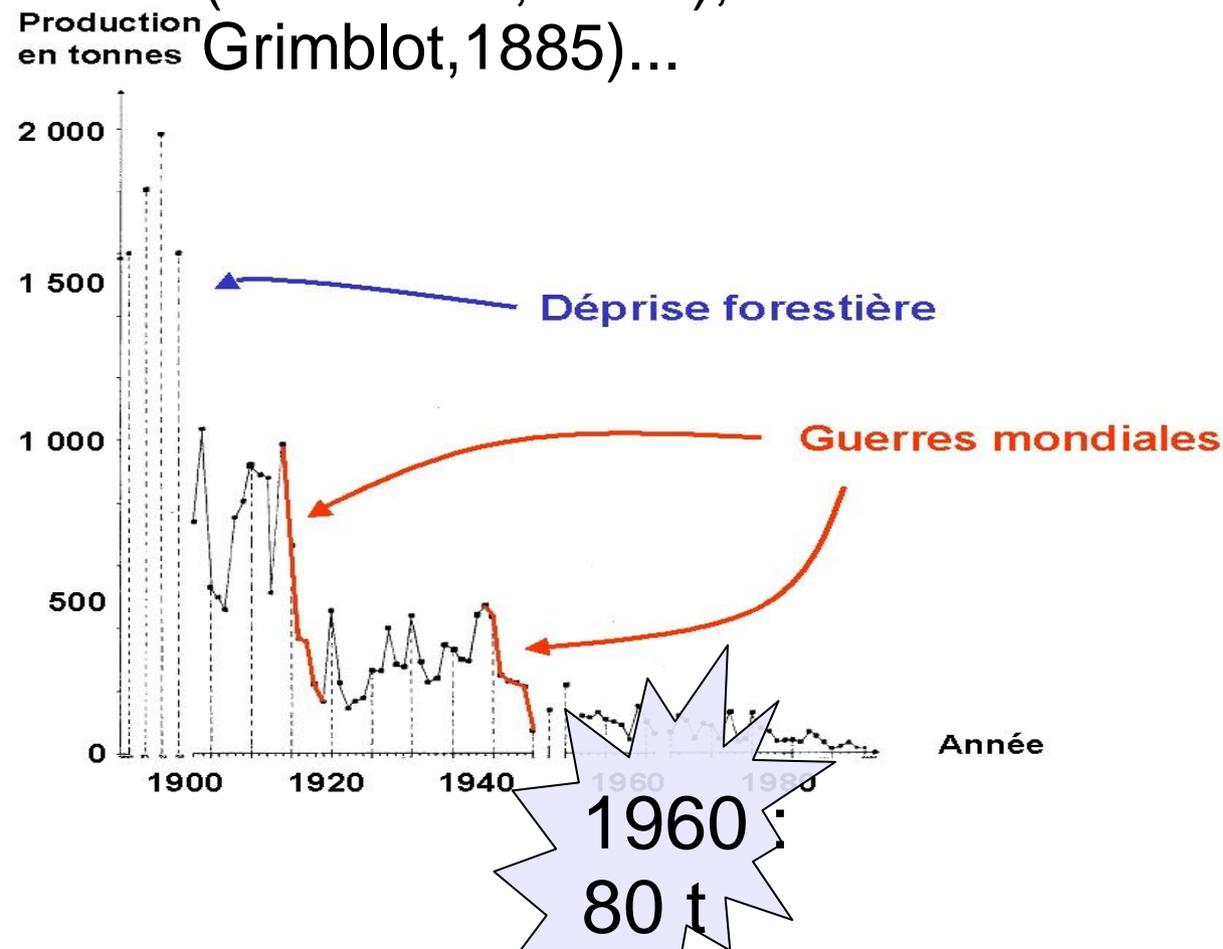
**1500 à  
2000 t. par  
an à la fin  
du 19<sup>ème</sup>  
siècle !**



# De l'essor du XIX<sup>ème</sup> siècle à la chute du XX<sup>ème</sup>

-Un intérêt scientifique avec la publication de nombreux ouvrages : Vittadini (1832), Ferry de la Bellone (1888), Chatin (1892)...

-Un intérêt pour la maîtrise de la production : en plantation (Rousseau, 1855), en forêt avec la sylviculture truffière (Georges-Grimblot, 1885)...



Dés le début du 20<sup>ème</sup> siècle la quantité de truffes récoltées diminue :

- Déprise forestière liée à l'exode rural
- Les deux guerres mondiales
- Changements des modèles agricoles
- Changement climatique

# Fin du XXème siècle : sauvons la truffe !

---

- Les années 70 : contrôler et augmenter la production de truffes en créant des vergers plantés d'arbres préalablement mycorhizés
- Depuis, 10 000ha de truffière ont été plantés en France et malgré ce, la production stagne entre 20 et 30 tonnes par an !



**COMPRENDRE LE SYSTEME POUR MIEUX LE  
MAITRISER**

# La recherche, l'expérimentation, les trufficulteurs

---

## Depuis les années 70

- Nombreux programmes de recherche menés par les équipes de l'INRA, CNRS et les Universités : J. Grente, J. Delmas, P. Bonfante, F. Paolocci, G. Chevalier, G. Callot, Parguey-Leduc ... :
  - Données sur la biologie, l'écologie, les sols, la symbiose...
- Réseau de parcelles expérimentales : P. Sourzat, JM Olivier, les chambres d'agriculture, les syndicats de trufficulteurs :
  - Données de terrain sur les méthodes de culture : la taille, la gestion du sol, l'arrosage ...

# La recherche, l'expérimentation, les trufficulteurs

---

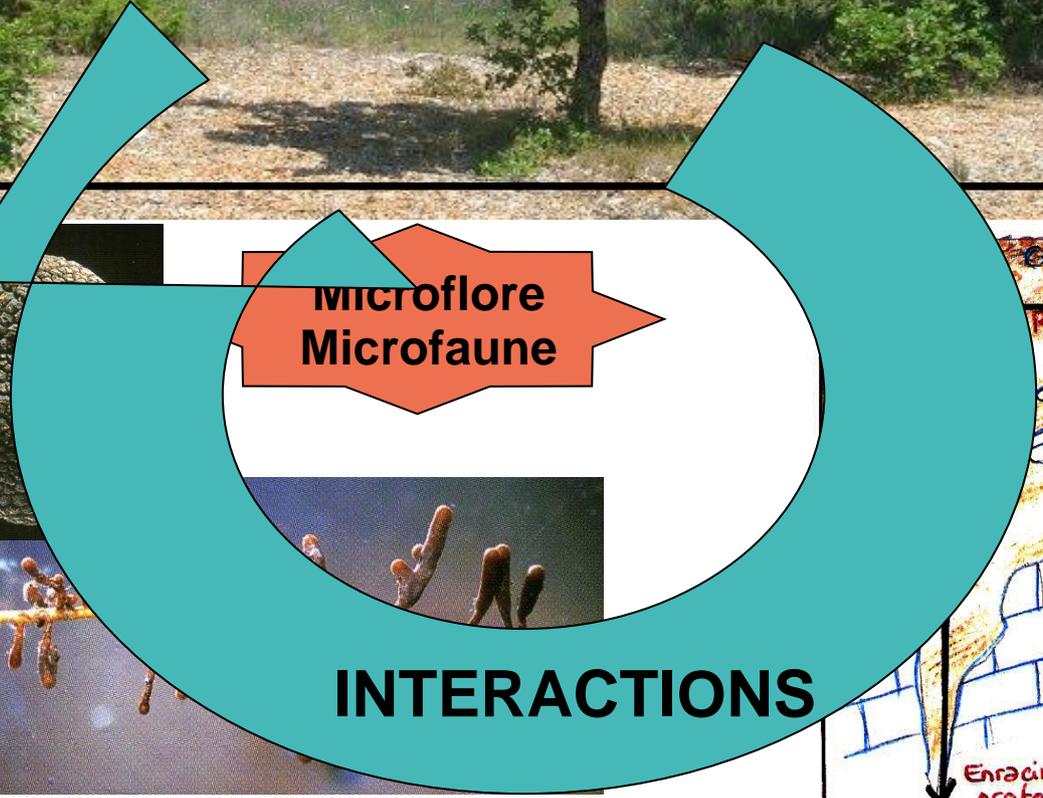
- **TRUFPYR** (2009-2011) porté par B. Jaillard (INRA Montpellier) : Typologie des stations truffières des régions Pyrénéennes.
  - Grille de potentialité truffière d'un sol liée à l'alcalinité du sol et à sa teneur en Ca et Mg; importance de la MO dans la structuration des sols producteurs (Trufficulteur déc 2013)
- **ANR Systruf** (2011-2014) : porté par M.A. Selosse (Muséum Histoires Naturelles) : étude de l'ensemble des interactions entre micro-organismes, plantes et la truffe, mieux connaître l'écologie et la physiologie de ce champignon.
  - Réseaux trophiques, sexualité de la truffe, biodiversité ...



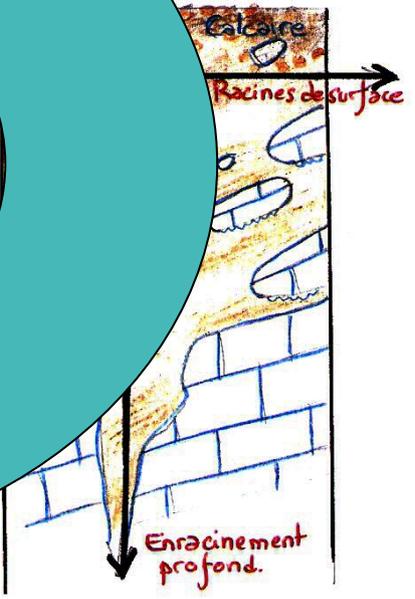
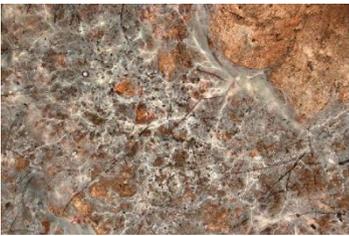
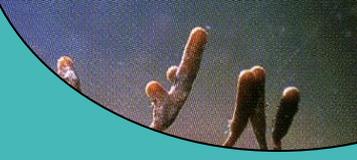
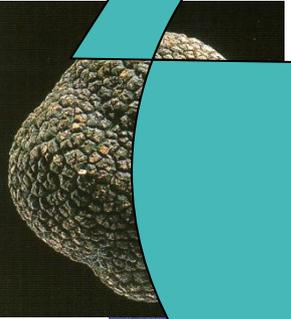
**CLIMAT**  
 -Températures hivernales et estivales  
 - Pluies  
**TOPOGRAPHIE**



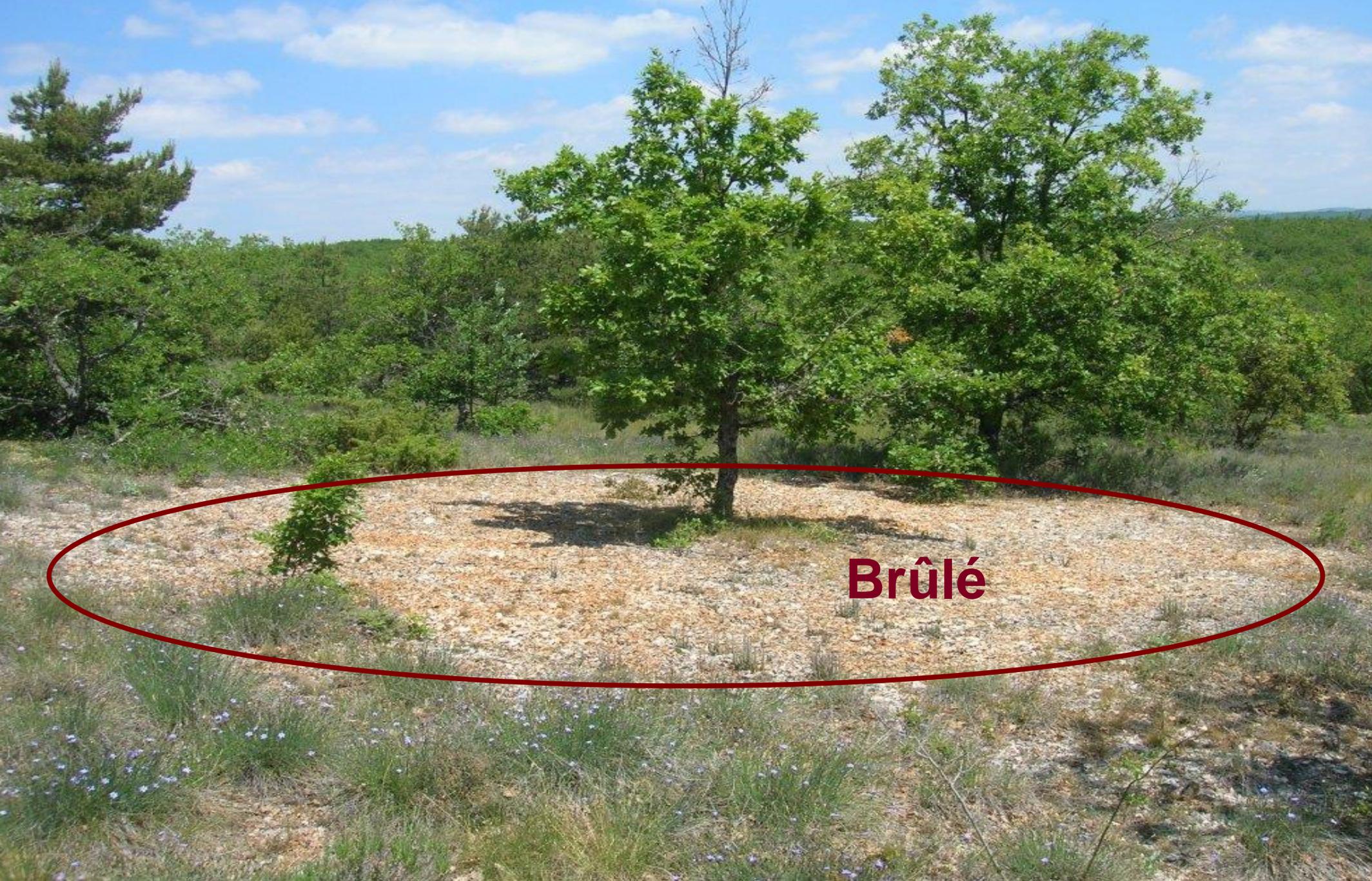
**FLORE**



**Microflore  
 Microfaune**



Calcaire,  
 dolomie,  
 Porosité,  
 drainage,  
 Structuration  
 Alcalinité...



**RECONSTRUIRE un ECOSYSTEME  
TRUFFIER**

# Chronologie de la culture contrôlée de la truffe



	ETAPE 1	ETAPE 2	ETAPE 3	ETAPE 4	ETAPE 5
<b>PLANTATION</b>	Choix de la parcelle	Plantation	Entretien, apparition brûlés	<b>PAS DE TRUFFE ! POURQUOI?</b>	Maintien de la truffière
<b>SYLVICULTURE</b>	Choix de la parcelle	Travaux réhabilitation	Entretien, apparition brûlés		Entretien du bois
<b>STADE BIOLOGIQUE</b>	Inoculum naturel	Mycorhizes	Mycélium , mycorhizes		Ascocarpes, mycélium , mycorhizes, spores
<b>OUTILS</b>	Analyse de sol, fosses pédo	Plants mycorhizés certifiés	Entretien du sol, arrosages		Taille, recépage ...

# Culture contrôlée de la truffe et génomique

---

**Génomique : 'Ensemble des disciplines relatives à l'étude du génome et à ses applications'**

- Le génome est l'ensemble du matériel génétique d'un individu
- Le génome renferme les informations nécessaires au développement et fonctionnement des organismes
- Le génome est codé dans l'ADN
- Le génome est aussi le support de l'hérédité

**La connaissance du génome d'un individu et de son expression apporte de nombreuses informations sur sa biologie et sur ses capacités d'adaptation à un milieu**

## LETTERS



# Périgord black truffle genome uncovers evolutionary origins and mechanisms of symbiosis

Francis Martin<sup>1</sup>, Annegret Kohler<sup>1</sup>, Claude Murat<sup>1</sup>, Raffaella Balestrini<sup>2</sup>, Pedro M. Coutinho<sup>3</sup>, Olivier Jaillon<sup>4-6</sup>, Barbara Montanini<sup>7</sup>, Emmanuelle Morin<sup>1</sup>, Benjamin Noel<sup>4-6</sup>, Riccardo Percudani<sup>7</sup>, Bettina Porcel<sup>4-6</sup>, Andrea Rubini<sup>8</sup>, Antonella Amicucci<sup>9</sup>, Joelle Amselem<sup>10</sup>, Véronique Anthouard<sup>4-6</sup>, Sergio Arcioni<sup>8</sup>, François Artiguenave<sup>4-6</sup>, Jean-Marc Aury<sup>4-6</sup>, Paola Ballario<sup>11</sup>, Angelo Bolchi<sup>7</sup>, Andrea Brenna<sup>11</sup>, Annick Brun<sup>1</sup>, Marc Buée<sup>1</sup>, Brandi Cantarel<sup>3</sup>, Gérard Chevalier<sup>12</sup>, Arnaud Couloux<sup>4-6</sup>, Corinne Da Silva<sup>4-6</sup>, France Denoed<sup>4-6</sup>, Sébastien Duplessis<sup>1</sup>, Stefano Ghignone<sup>2</sup>, Benoît Hilselberger<sup>1,10</sup>, Mirco Iotti<sup>13</sup>, Benoît Marçais<sup>1</sup>, Antonietta Mello<sup>2</sup>, Michele Miranda<sup>14</sup>, Giovanni Pacioni<sup>15</sup>, Hadi Quesneville<sup>10</sup>, Claudia Riccioni<sup>8</sup>, Roberta Ruotolo<sup>7</sup>, Richard Splivallo<sup>16</sup>, Vilberto Stocchi<sup>9</sup>, Emilie Tisserant<sup>1</sup>, Arturo Roberto Viscomi<sup>7</sup>, Alessandra Zambonelli<sup>13</sup>, Elisa Zampieri<sup>2</sup>, Bernard Henrissat<sup>3</sup>, Marc-Henri Lebrun<sup>17</sup>, Francesco Paolocci<sup>8</sup>, Paola Bonfante<sup>2</sup>, Simone Ottonello<sup>7</sup> & Patrick Wincker<sup>4-6</sup>

The International Mycorrhiza Genome Consortium (<http://mycor.nancy.inra.fr/IMGC/>)

The *Tuber* Genome Consortium (<http://mycor.nancy.inra.fr/IMGC/TuberGenome/>)

Génoscope CNS

INRA/UHP-Nancy:

INRA Clermont-Ferrand

Torino University

Parma University

Perugia University

.....

2010 Séquençage et début du  
décodage du génome de *Tuber  
melanosporum*

# Le génome de *T. melanosporum*

## Ascomycetes genome data

	Protein coding genes	Genome size (Mb)
<i>Neurospora</i>	9823	39
<i>Botrytis</i>	16,389	40
<i>Nectria</i>	15,707	51
<i>Magnaporthe</i>	12,832	41
<i>Stagonospora</i>	16,597	37
<i>Sclerotinia</i>	14,522	38
<i>Tuber</i>	7500	120
<i>Aspergillus</i>	9631	29
<i>Laccaria</i> (outgroup)	20,614	65
Total	125,176	

**7,500 gènes** : moins que chez les autres champignons génotypés

Cela représente seulement **15%** du génome total, **85%** ne codent pas pour des gènes

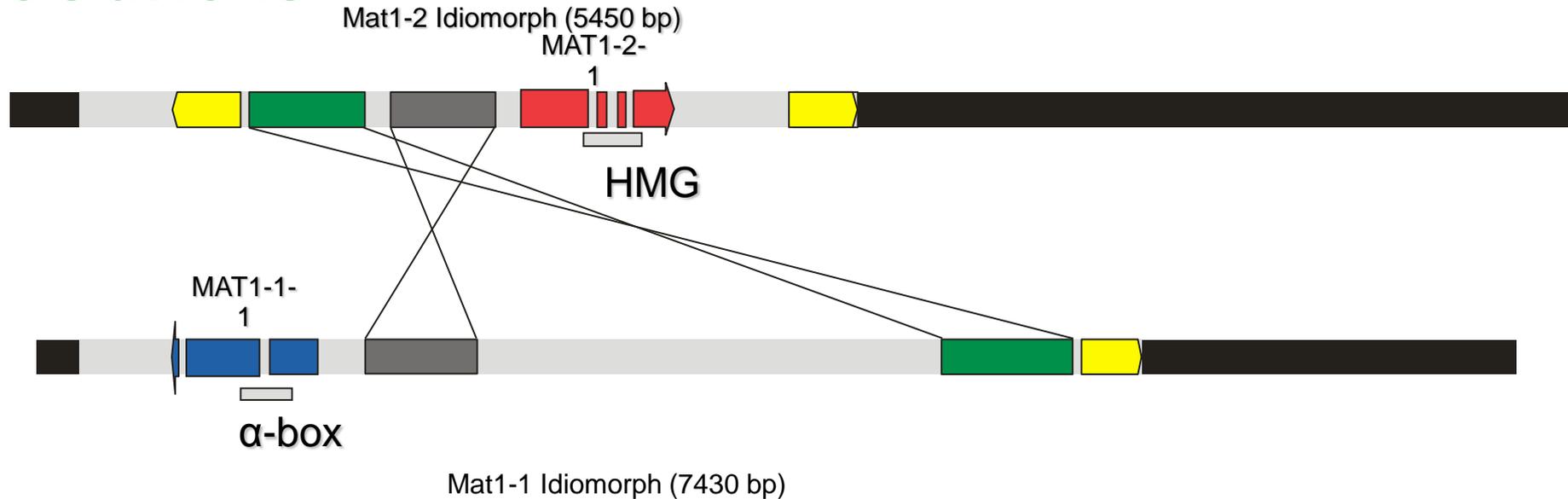
**6,130 gènes** ont des homologues chez autres champignons

Environ **18 %** des gènes de *Tuber melanosporum* n'ont pas d'homologues chez les autres champignons génotypés, **ils sont spécifiques à *T. melanosporum*.**

Ce groupe de gènes uniques et spécifiques pourraient être potentiellement impliqués dans les interactions symbiotiques et dans la biologie.

# Le génome de *T. melanosporum* :

## résultats



## Identification des gènes du « mating-type », gènes de compatibilité sexuelle chez la truffe

- *T. melanosporum*, espèce hétérothallique.
- Pour fructifier : deux parents complémentaires sont requis dans la truffière.

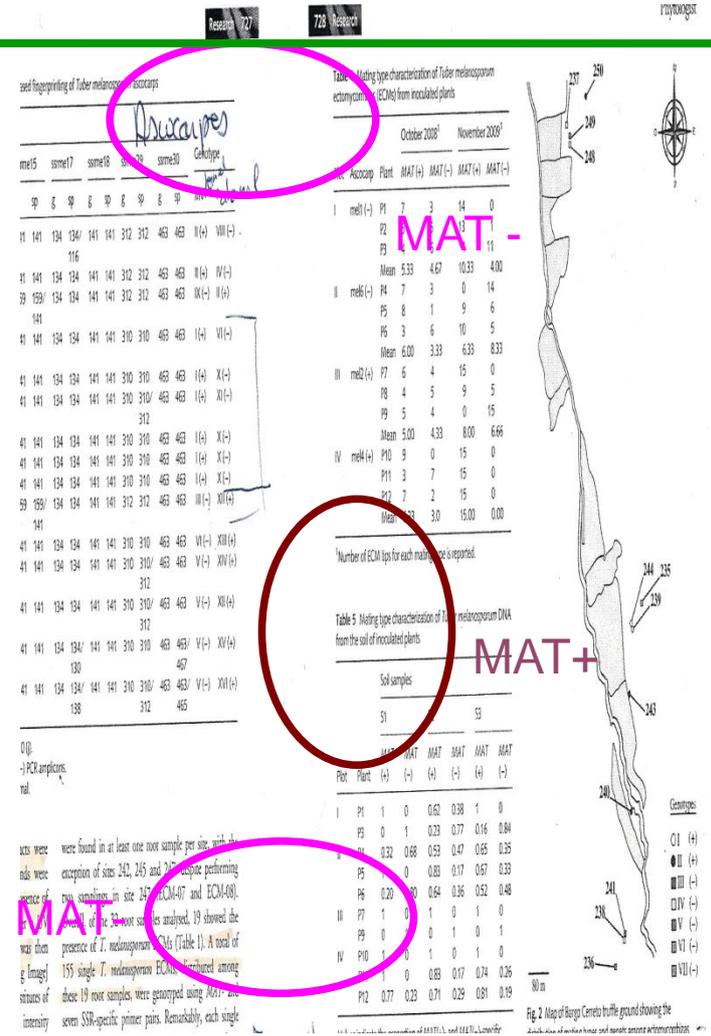
# Le génome de *T. melanosporum* :

## résultats

Une étude\* sur la répartition des deux parents sur une truffière en production a montré :

- Les 2 parents sont présents sur la truffière mais de façon cloisonnée et éloignée (plusieurs dizaines de mètres)

- Dans les truffes d'un même site, le mycélium qui compose leur gléba est issu du même parent présent sur les mycorhizes alentour. Leurs spores présentent les 2 sexes, il y a bien eu fécondation



\*Tuber melanosporum : mating type distribution in a natural plantation and dynamics of strains of different matings types on the roots of nursery-inoculated host plants. Rubini et al., New Phytol 2011

# Le génome de *T. melanosporum* :

## résultats

---

### Sur plants mycorhizés en pépinières

- 6-12 mois après l'inoculation les deux parents sont présents
- 19 mois après l'inoculation, les mycorhizes présentes sont formées par un seul parent !

# Chronologie de la culture contrôlée de la truffe

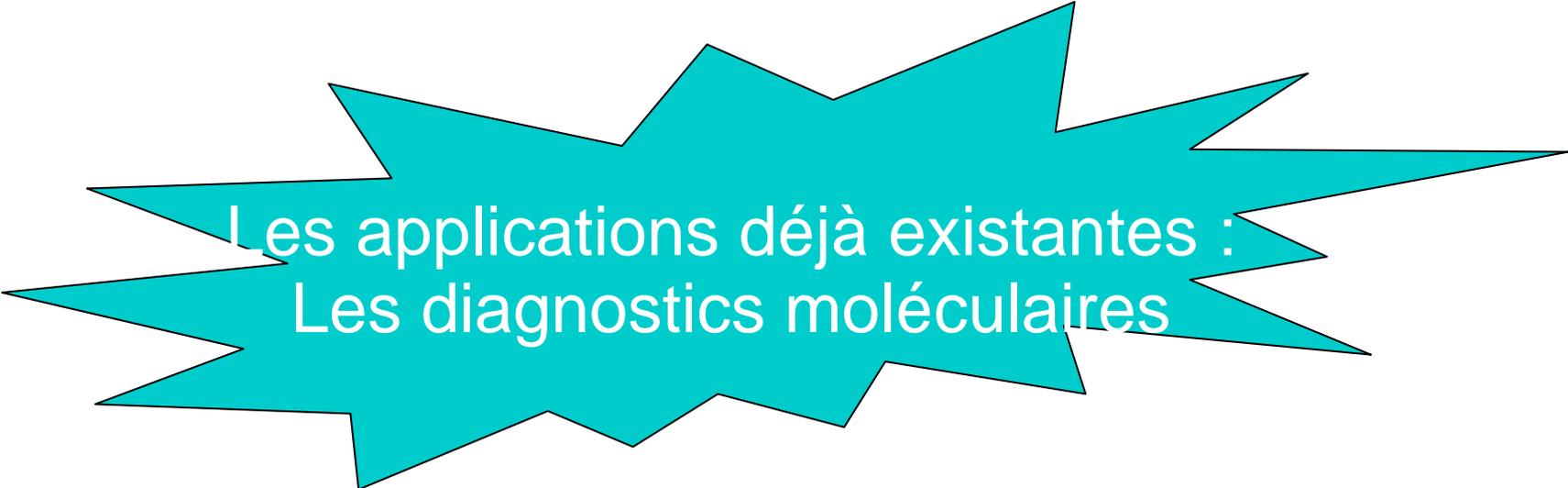


	ETAPE 1	ETAPE 2	ETAPE 3	ETAPE 4	ETAPE 5
PLANTATION	Choix de la parcelle	Plantation	Entretien, apparition brûlés	1ere Récolte	Maintien de la truffière
SYLVICULTURE	Inoculum naturel	Travaux réhabilitation	Entretien, apparition brûlés	1ère Récolte	Entretien du bois
STADE BIOLOGIQUE	Inoculum naturel	Mycorhizes	Mycélium , mycorhizes	Ascocarpes, mycélium , mycorhizes, spores	Ascocarpes, mycélium , mycorhizes, spores
OUTILS	Analyse de sol, fosses pédo	Plants mycorhizés certifiés	Entretien du sol, arrosages	idem	Taille, recépage ...

# Le génome de *T. melanosporum* : applications futures sur le terrain

---

- Mise au point de méthodes d'analyse qui permettront de **vérifier dans un sol** d'une truffière la présence des deux parents complémentaires pour que la sexualisation du champignon puisse avoir lieu (projet CLIMATRUF 06/14)
- Pour les pépiniéristes vérifier dans leur lot de plants mycorhizés la présence des deux parents complémentaires



Les applications déjà existantes :  
Les diagnostics moléculaires

# La génomique : applications actuelles sur le terrain

---

Fin des années 90 et début des années 2000 : des zones précises de l'ADN de certaines espèces de truffe sont étudiées : l'objectif était de rechercher les différences entre ces ADN

- Possibilité d'identification et de différenciation des espèces de Tuber
- Possibilité de détection des Tuber dans un sol

Mise au point d'outils biomoléculaires adaptés au contexte de la trufficulture

# Chronologie de la culture contrôlée de la truffe



	ETAPE 1	ETAPE 2	ETAPE 3	ETAPE 4	ETAPE 5
<b>PLANTATION</b>	Choix de la parcelle	Plantation	Entretien, apparition brûlés	1ère Récolte	Maintien de la truffière
<b>SYLVICULTURE</b>	Choix de la parcelle	Travaux réhabilitation	Entretien, apparition brûlés	1ère Récolte	Entretien du bois
<b>STADE BIOLOGIQUE</b>	Inoculum naturel	Mycorhizes	Mycélium , mycorhizes	Ascocarpes, mycélium , mycorhizes, spores	Ascocarpes, mycélium , mycorhizes, spores
<b>OUTILS</b>	Analyse de sol, fosses pédo	Plants mycorhizés certifiés	Entretien du sol, arrosages	idem	Taille, recépage ...

# La génomique : applications actuelles sur le terrain

---

## Prestations ALCINA (Montpellier)

### Utiliser l'ADN pour identifier des truffes :

Truffes immatures où les spores ne permettent pas une identification visuelle

Truffes difficilement distinguables (Truffe de Chine et Truffe noire, Truffe brumale)

Truffes peu fréquentes ou inconnues (Terfez) : peu de spécialistes pour l'identification

### Utiliser l'ADN pour certifier des truffes (pépiniéristes) :

Avant inoculation des plants, possibilité d'une vérification rapide et sûre de l'espèce de truffe



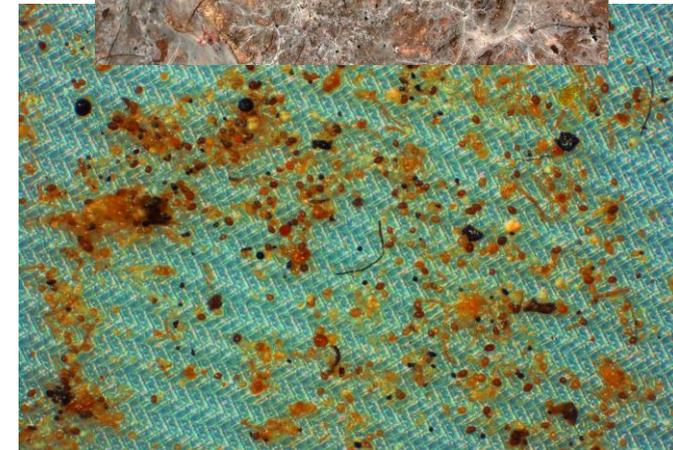
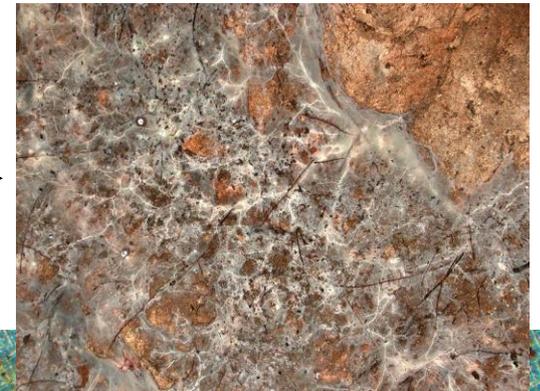
# La génomique : applications actuelles sur le terrain

---



Rechercher la présence de **mycélium** ou de **mycorhizes** de truffe dans le sol : au niveau d'un brûlé, autour d'un jeune arbre non brûlé ...

Rechercher la présence de **spores** de Tuber dans un sol avant la plantation : identification des propagules déjà présentes

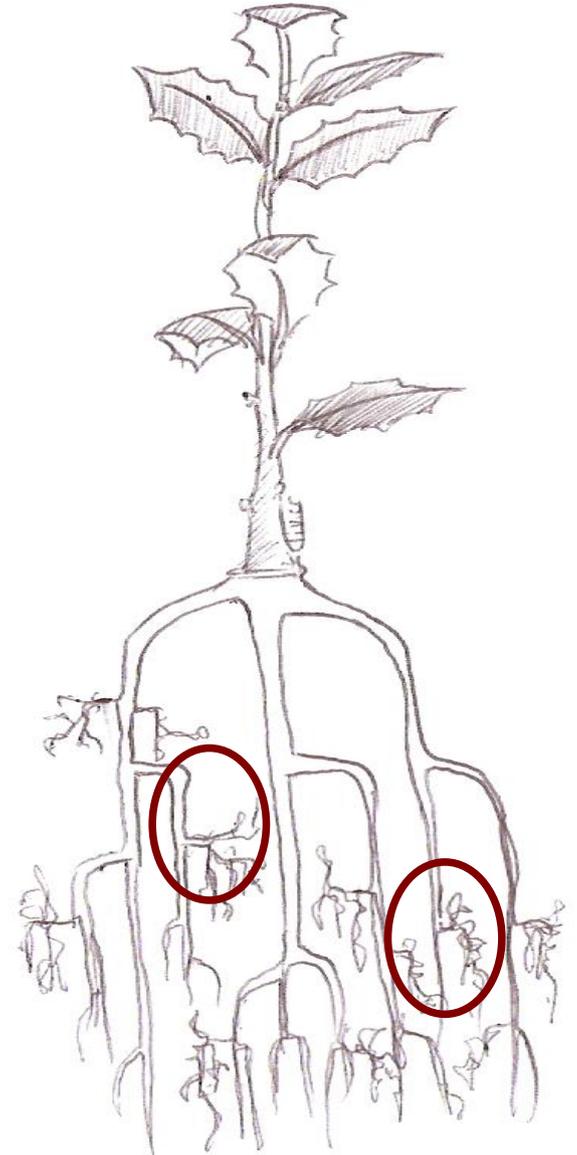


# La génomique : applications actuelles sur le terrain

---

S'assurer de l'identité des mycorhizes présentes sur les jeunes systèmes racinaires

2014 QPCR : quantifier le mycélium de truffe dans un sol : relation entre la proportion de mycélium et la production (Zampieri et al, 2012)



# Conclusions

---

## Améliorer la culture de la truffe grâce à la génomique

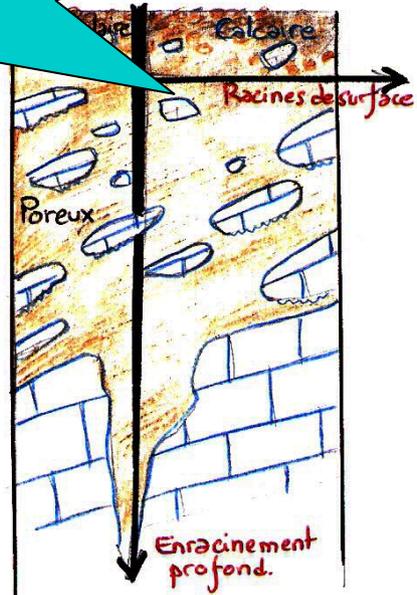
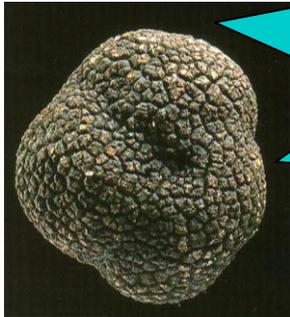
- Nouvelles connaissances sur la biologie, la capacité d'adaptation et le comportement de la truffe dans son milieu. Des méthodes de gestion plus adaptées seront proposées.
- Les outils de diagnostics issus de l'étude du génome permettent d'ores et déjà d'identifier et de diagnostiquer la présence de la truffe sous différentes formes et dans différents supports
- D'ici deux ans, de nouveaux outils de diagnostics permettant de diagnostiquer la présence des deux parents complémentaires dans une truffière seront sur le marché



**CLIMAT**  
-Températures hivernales et estivales  
- Pluies  
**TOPOGRAPHIE**

**FLORE**

**Merci**



**Calcaire,  
dolomie,  
Porosité,  
drainage,  
Alcalinité  
Structuration**

...