



INRAE

La reproduction sexuée des truffles: applications

Claude Murat

UMR Interactions Arbres/Micro-organismes

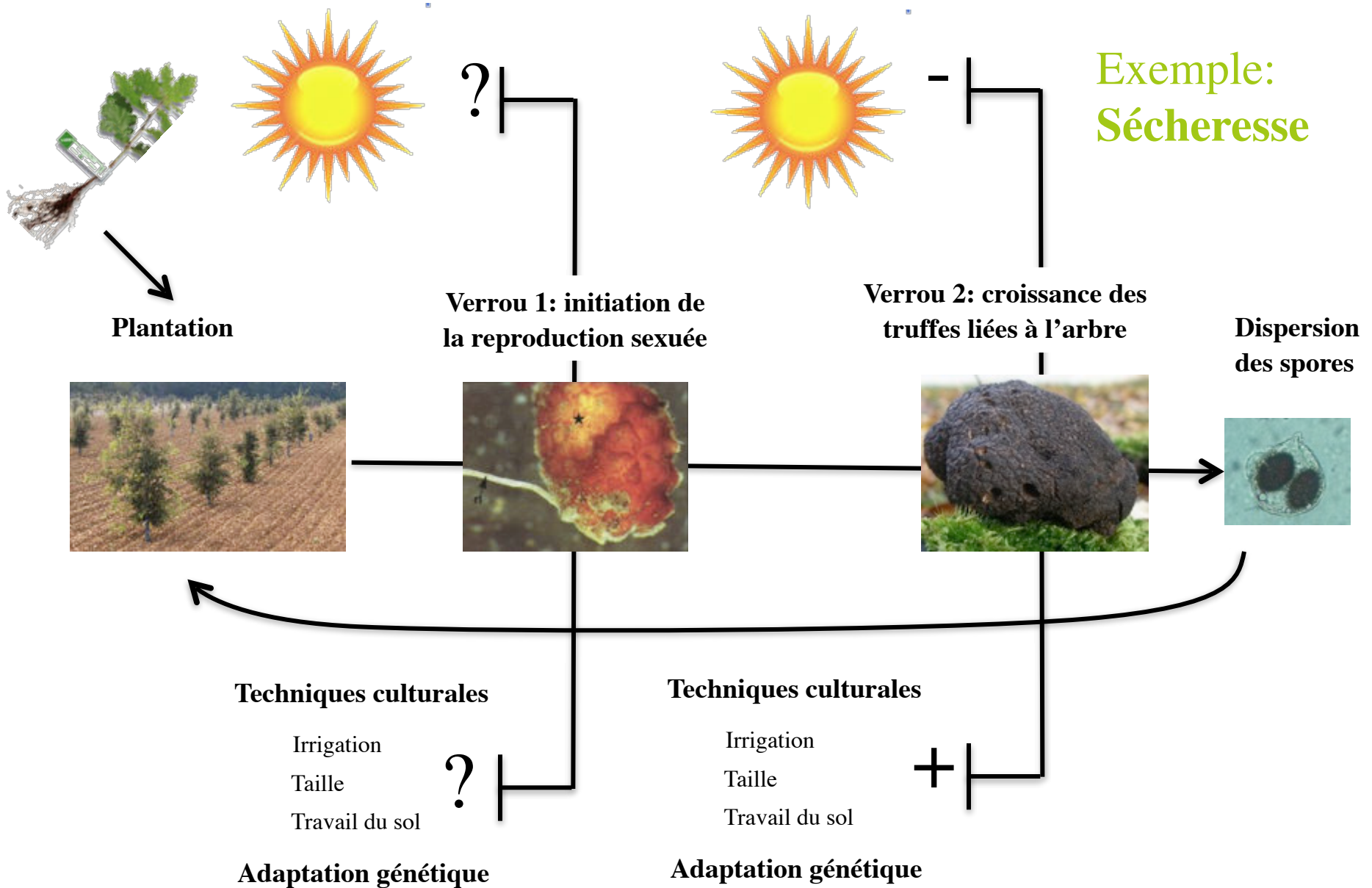
Laboratoire d'Ecogénomique

INRAE-Champenoux

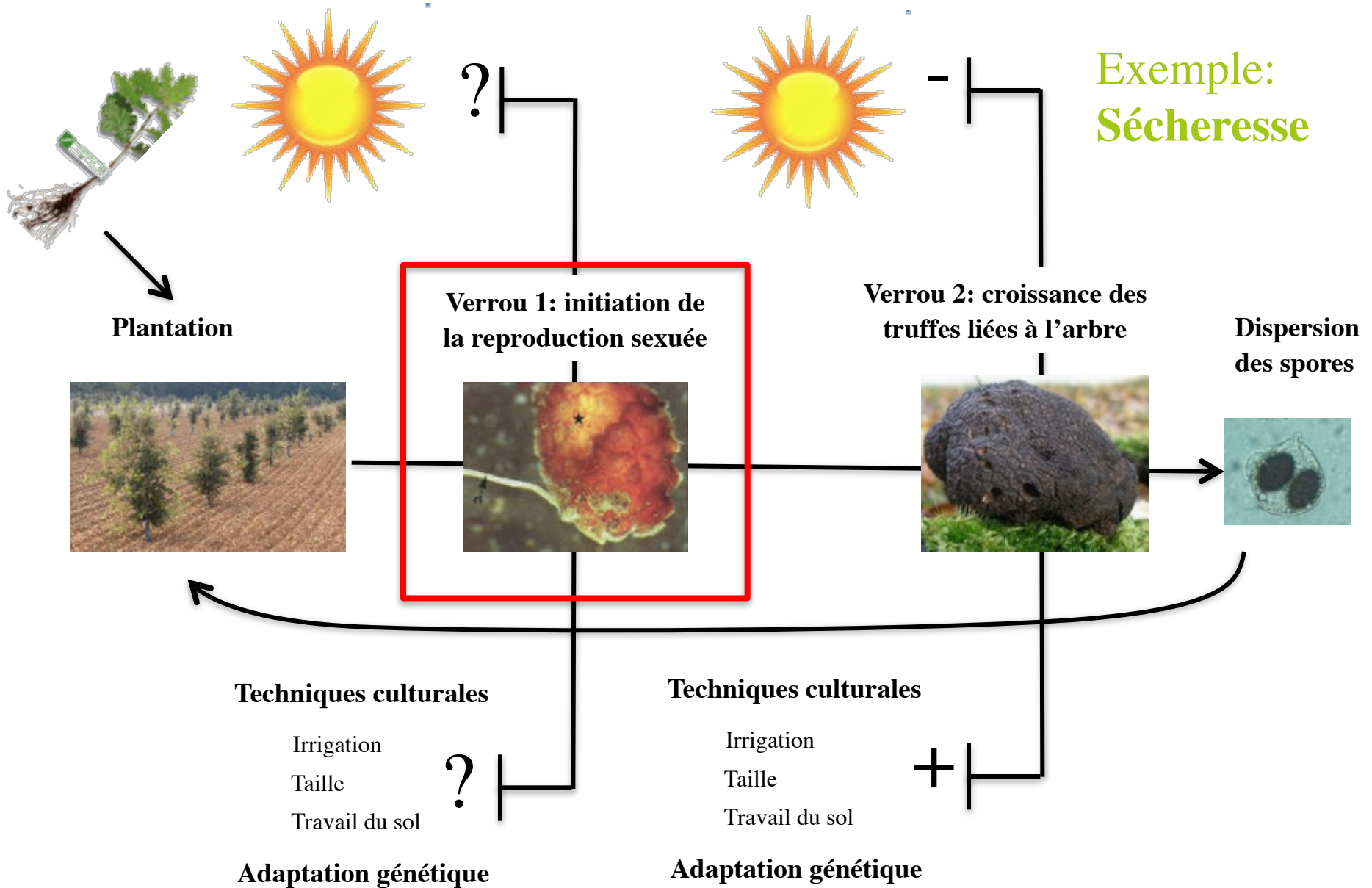
claude.murat@inrae.fr



Processus de production de truffes noires

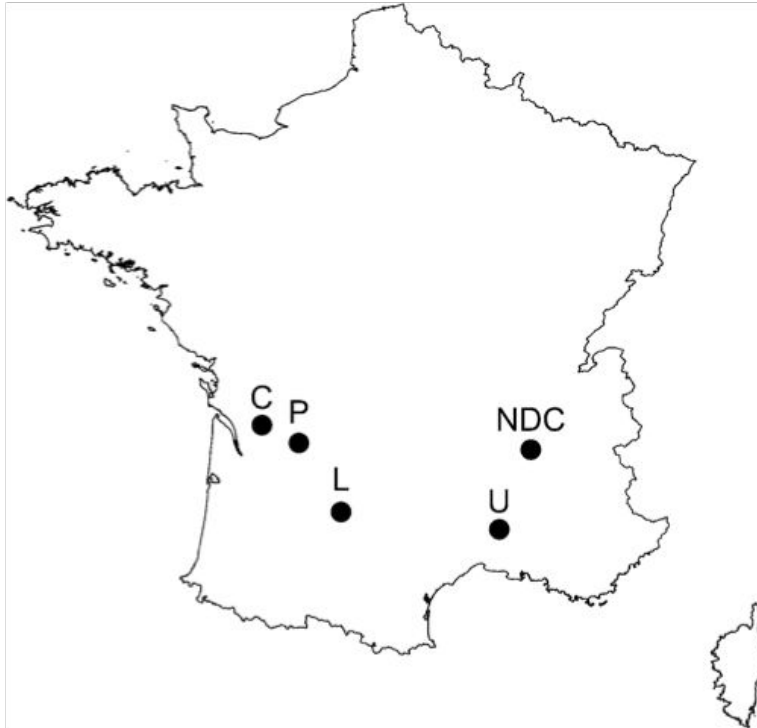


Processus de production de truffes noires



Est ce qu'il y a un intérêt de diagnostiquer les MAT ?

Analyse des deux MAT dans le sol sous des arbres producteurs et non producteurs



Codes	Ville la plus proche	Date de plantation	Entretien
NDC	Romans	1985-1998	Broyage
U	Uzès	1999	Taille depuis 2007, arrosage
P	Sorges	1995 and 1997	travail du sol et taille des arbres
L	Cahors	1992	travail du sol et taille des arbres et arrosage depuis 2009
C	Cognac	1995-1996	travail du sol et arrosage

Mycorrhiza
<https://doi.org/10.1007/s00572-020-01011-4>

ORIGINAL ARTICLE



Frequency of the two mating types in the soil under productive and non-productive trees in five French orchards of the Périgord black truffle (*Tuber melanosporum* Vittad.)

Juan Chen^{1,2} · Herminia De la Varga^{1,3} · Flora Todesco^{1,4} · Pauline Beacco¹ · Elena Martino^{1,5} · François Le Tacon¹ · Claude Murat¹

Est ce qu'il y a un intérêt de diagnostiquer les MAT ?

L'échantillonnage: 3 *Quercus pubescens* producteurs
3 *Quercus pubescens* non producteurs



Nord Drôme des Collines (NDC)



Uzès (U)



Cahors (L)



Sorges (P)

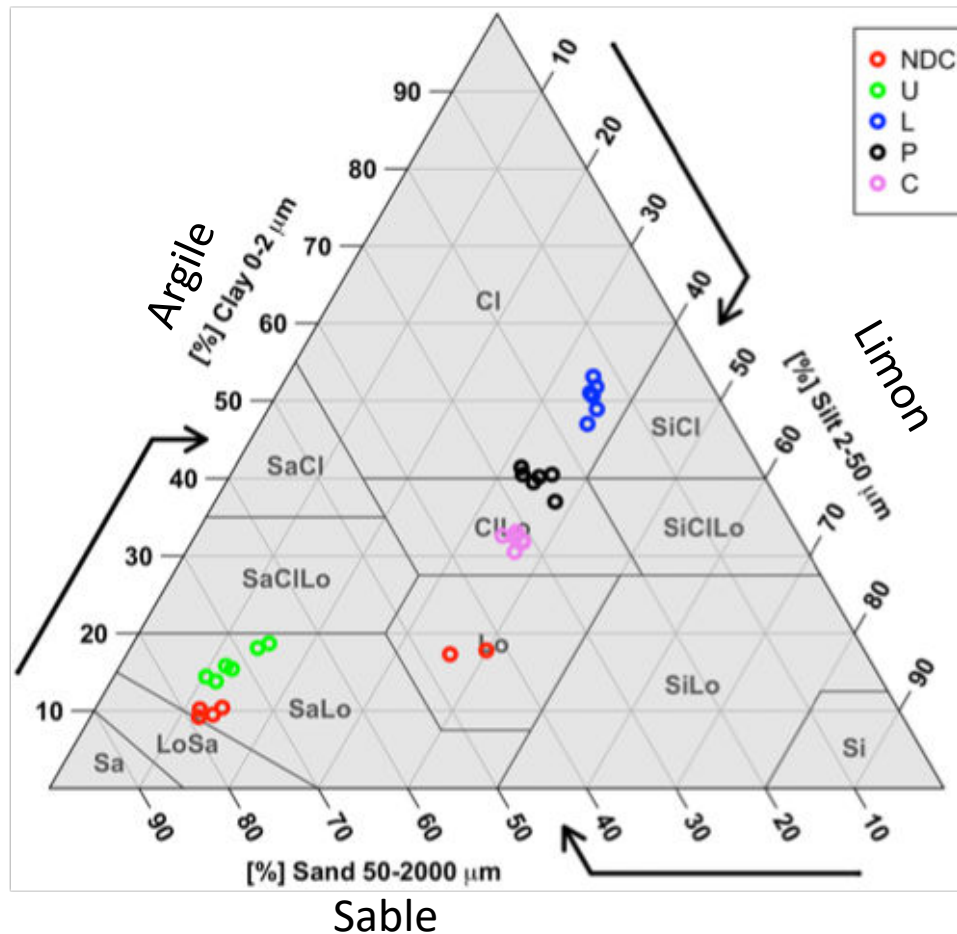


Cognac (C)

✱ 4 prélèvements de sol pour chaque arbres

Est ce qu'il y a un intérêt de diagnostiquer les MAT ?

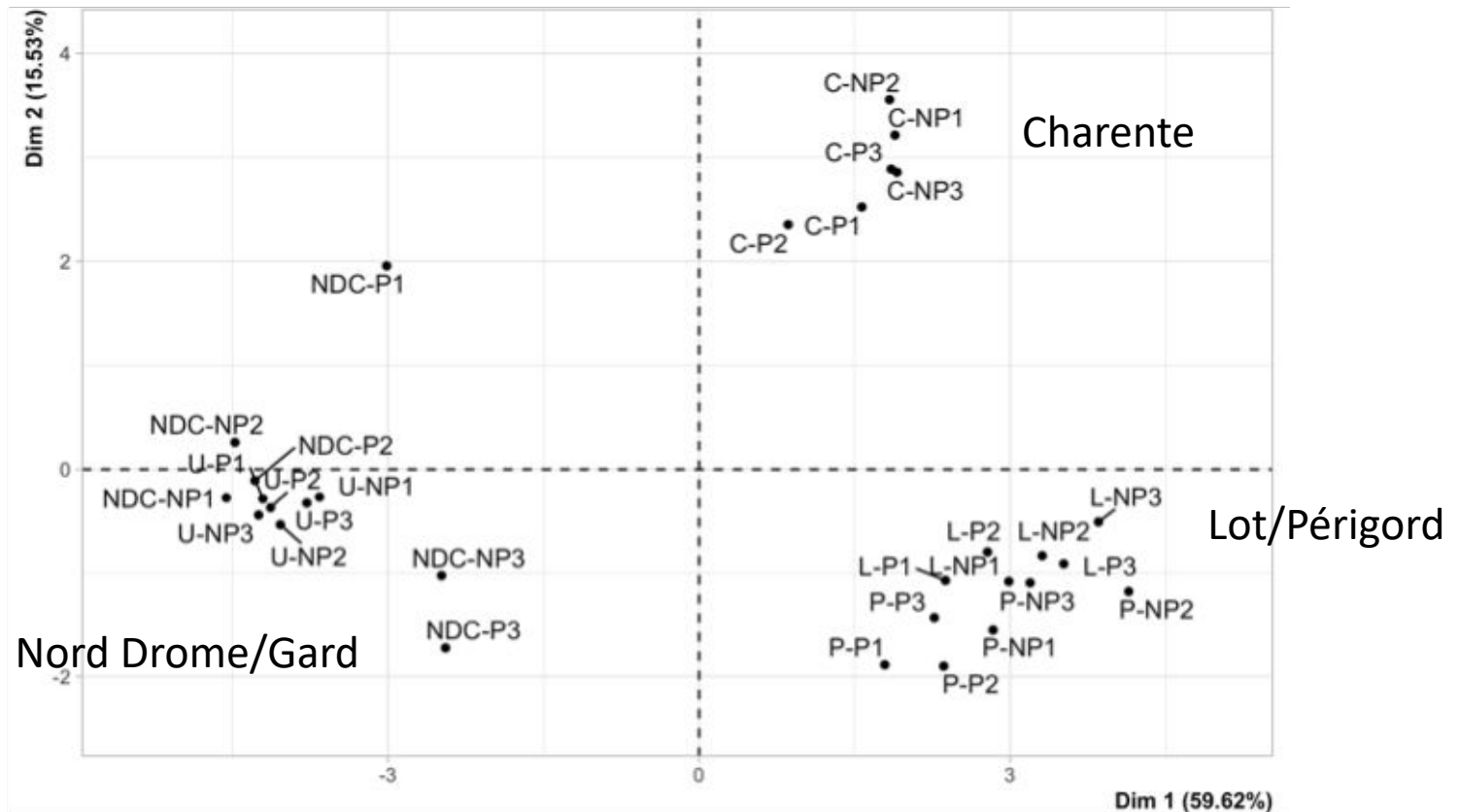
Est ce que la différence entre les arbres producteurs et non producteurs vient du sol?



Pas de différences de texture entre les arbres producteurs et non producteurs

Est ce qu'il y a un intérêt de diagnostiquer les MAT ?

Est ce que la différence entre les arbres producteurs et non producteurs vient du sol?

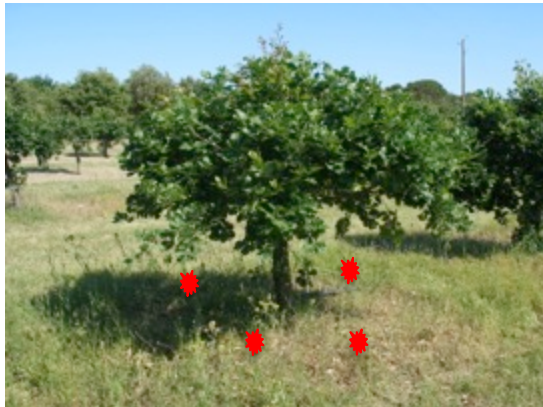


Les sols se séparent en fonction de leur site mais par contre les arbres producteurs et non producteurs sur ces sites ne sont pas expliqués par les paramètres physicochimiques des sols (test wilcoxon > 0.05)

Est ce qu'il y a un intérêt de diagnostiquer les MAT ?

Analyse des deux MAT dans le sol sous des arbres producteurs et non producteurs

1- Echantillonnage de sol



4 soil core sampling



2- Extraction d'ADN

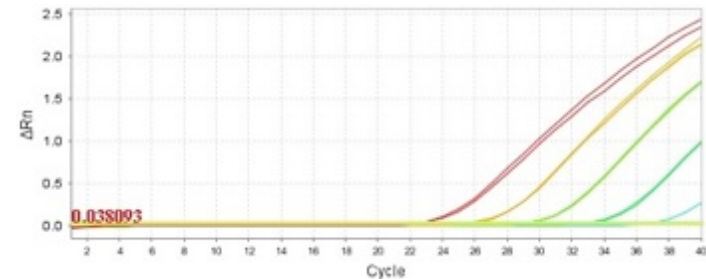


3- Pool des ADN et analyse moléculaire

Quantification de MAT1-1 et MAT1-2

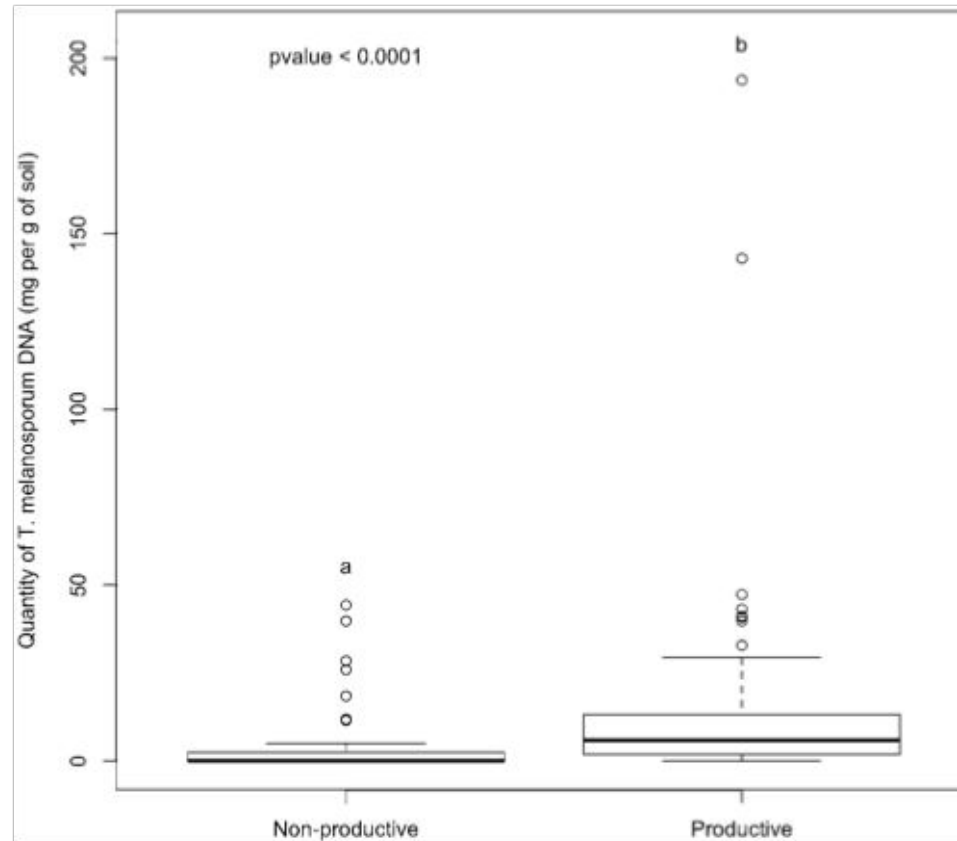


Estimation du % de distribution



Est ce qu'il y a un intérêt de diagnostiquer les MAT ?

Analyse des deux MAT dans le sol sous des arbres producteurs et non producteurs

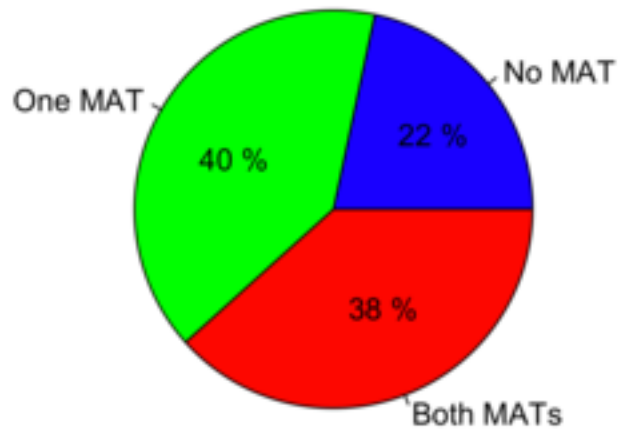


Il y a plus de mycélium de *Tuber melanosporum* dans les sols producteurs que non producteurs

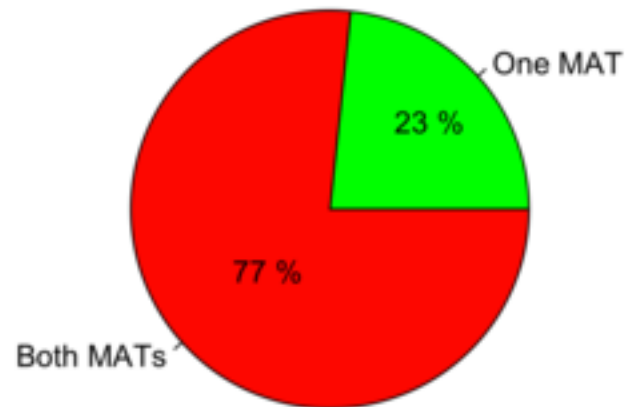
Est ce qu'il y a un intérêt de diagnostiquer les MAT ?

Analyse des deux MAT dans le sol sous des arbres producteurs et non producteurs

15 arbres non producteurs



15 arbres producteurs

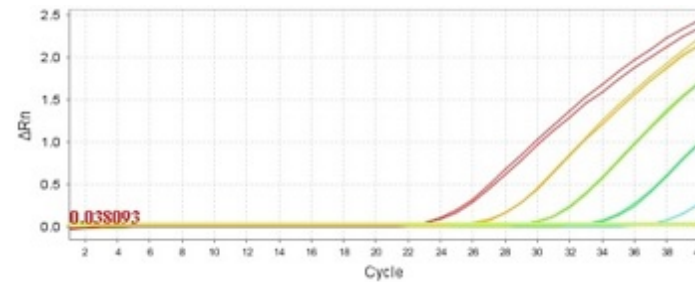


Dans le sol d'arbres producteurs on a plus fréquemment les deux MAT !

Tester la présence des MAT peut être un bon outil pour guider la gestion des truffières

Dans le sol récolté sous un arbre producteur, il est plus fréquent de détecter les deux MAT.

L'absence d'une MAT dans le sol pourrait expliquer que des truffes ne soient pas récoltées.

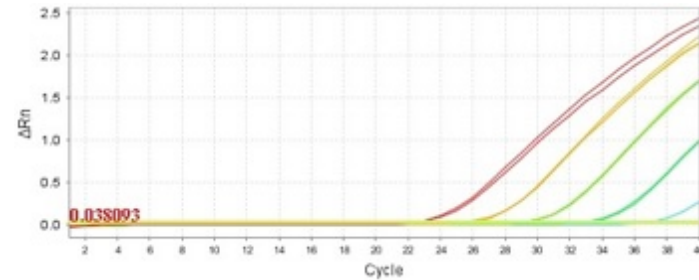


Application

Le diagnostic de la présence des deux MATs dans le sol permet de savoir si un arbre pourrait être non producteur à cause du manque d'un MAT

Si un seul MAT est détecté => apport de spores pour apporter le MAT manquant

Pourquoi est ce qu'il n'y a qu'un seul MAT?



Hypothèses

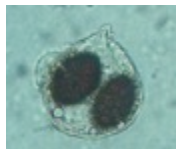
Il n'y avait qu'un seul MAT sur le système racinaire des plants mycorhizés

Dans le sol due à des facteurs inconnus un des deux MAT est absent (disparition, compétition...)

INRAE: Contrôle ADN de toutes les truffes



spores



Plantules

2- Inoculation

Mycorhisation contrôlée

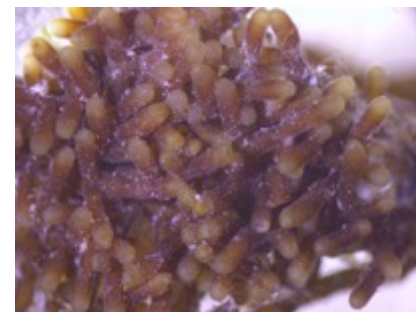
6 à 18 mois



3- Croissance en serres



4- Contrôle qualité de la mycorhisation



Ectomycorhizes

5- Commercialisation des plants contrôlés et validés



6- Plantation des vergers truffiers



7- Truffière en production



Ascocarpes

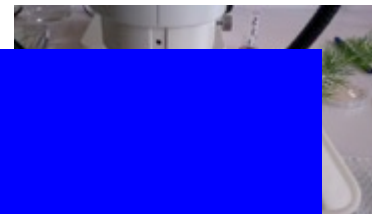
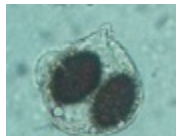


INRAE: Contrôle ADN de toutes les truffes

Mycorhisation contrôlée

6 à 18 mois

INRAE: Contrôle morphologique du taux de mycorhisation

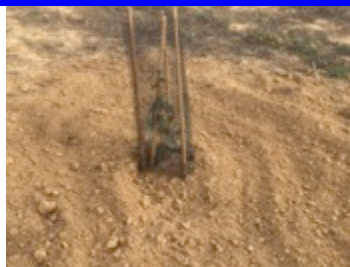


Quelle est la distribution des MATs sur les plants mycorhizés

1- Contr

té de

Ascocarpe



Plantation des vergers truffiers



Ectomycorhizes

Tuber melanosporum: mating type distribution in a natural plantation and dynamics of strains of different mating types on the roots of nursery-inoculated host plants

Andrea Rubini¹, Beatrice Belfiori¹, Claudia Riccioni¹, Sergio Arcioni¹, Francis Martin² and Francesco Paolocci¹

¹National Research Council, Plant Genetics Institute – Perugia Division, Via della Madonna Alta 130, I-06128 Perugia, Italy; ²UMR 1136, Interactions Arbres/Microorganismes, INRA-Nancy, F-54280 Champenoux, France

Plants inoculés avec une seule truffe en 2008

Plot	Ascocarp	Plant	October 2008 ¹		November 2009 ¹	
			MAT (+)	MAT (-)	MAT (+)	MAT (-)
I	mel1 (-)	P1	7	3	14	0
		P2	5	5	13	1
		P3	4	6	4	11
		Mean	5.33	4.67	10.33	4.00
II	mel6 (-)	P4	7	3	0	14
		P5	8	1	9	6
		P6	3	6	10	5
		Mean	6.00	3.33	6.33	8.33
III	mel2 (+)	P7	6	4	15	0
		P8	4	5	9	5
		P9	5	4	0	15
		Mean	5.00	4.33	8.00	6.66
IV	mel4 (+)	P10	9	0	15	0
		P11	3	7	15	0
		P12	7	2	15	0
		Mean	6.33	3.0	15.00	0.00

¹Number of ECM tips for each mating type is reported.

Présence d'ectomycorhizes MAT1 et MAT2

- Ce sont bien les spores qui germent
- Présence des deux MAT
- 19 mois après inoculation la répartition entre MAT a changé

Analyses de la distribution des types de compatibilité sexuelle sur les arbres mycorhizés avec *T. melanosporum* commercialisés par les pépiniéristes

Projet de recherche ControlTruf conjoint entre le labex ARBRE, l'INRAE et les pépinières Agritruffe et Robin

H. De la Varga, F. Martin, C. Murat – INRAE Nancy

B. Robin – Pépinières Robin

D. Berlureau – Pépinière Agritruffe

Questions que l'on se pose

- 1) Est ce que tous les plants ont des ECM des deux types sexuels?
- 2) Existe t'il des différences entre les plants de 1, 2 ou 3 ans?
- 3) Existe t'il des différences entre les différentes essences?

Détail de l'échantillonnage

Total plants analysés: 212

Total ECM analysées avec succès: 2621

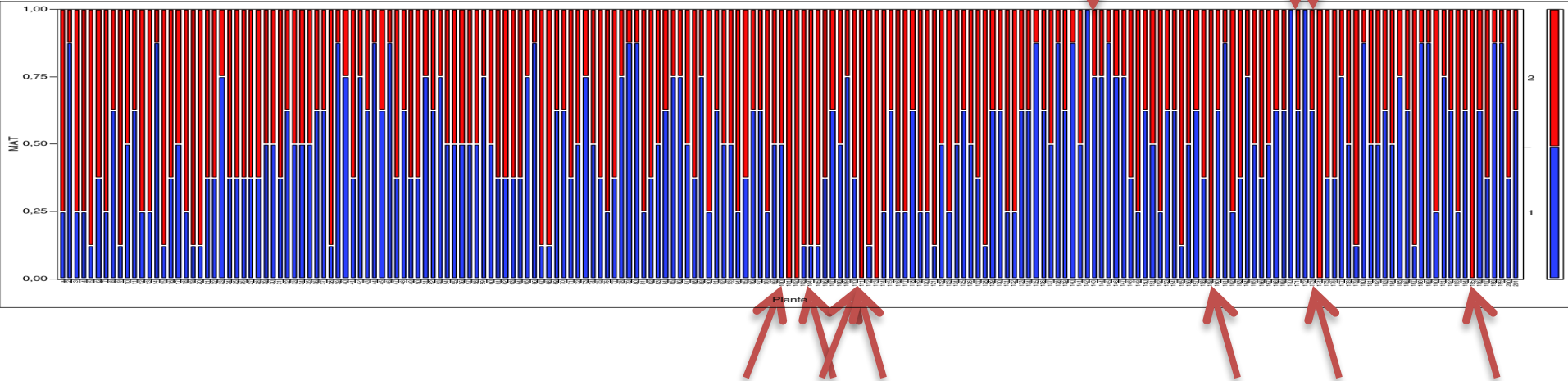
8 ECM par plants puis 12 ECM pour certains plants (< 1% du nombre totale d'ECMs)

Age des plants: 1, 2 ou 3

1) Est ce que tous les plants ont des ECM des deux MAT?

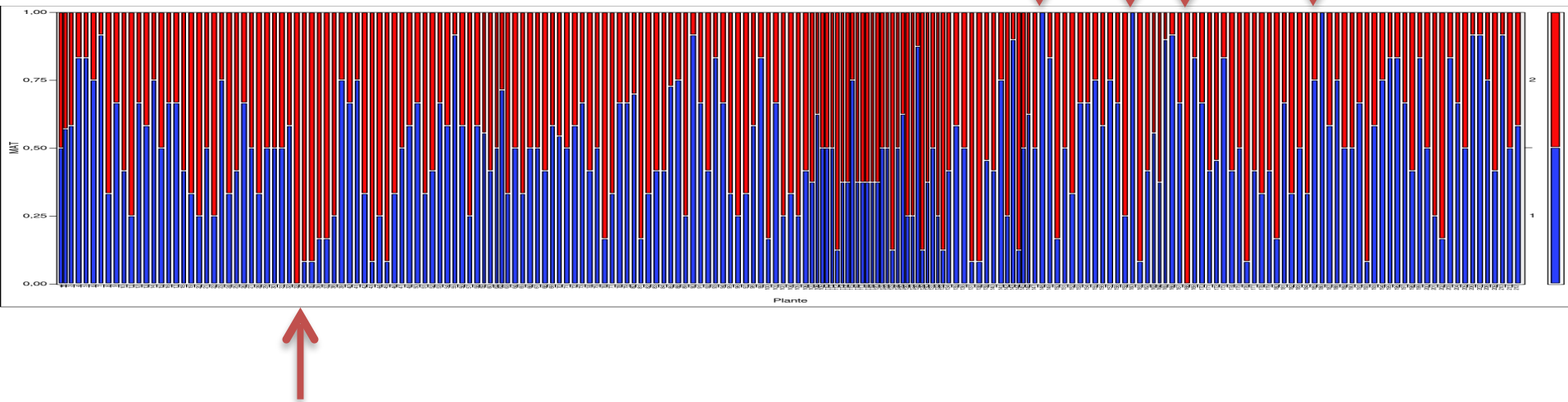
8 ECM

95,28 % des plants ont les deux MAT



12/10/8 ECM selon la plante

97,64 % des plants ont les deux MAT



1) Est ce que tous les plants ont des ECM des deux MAT?

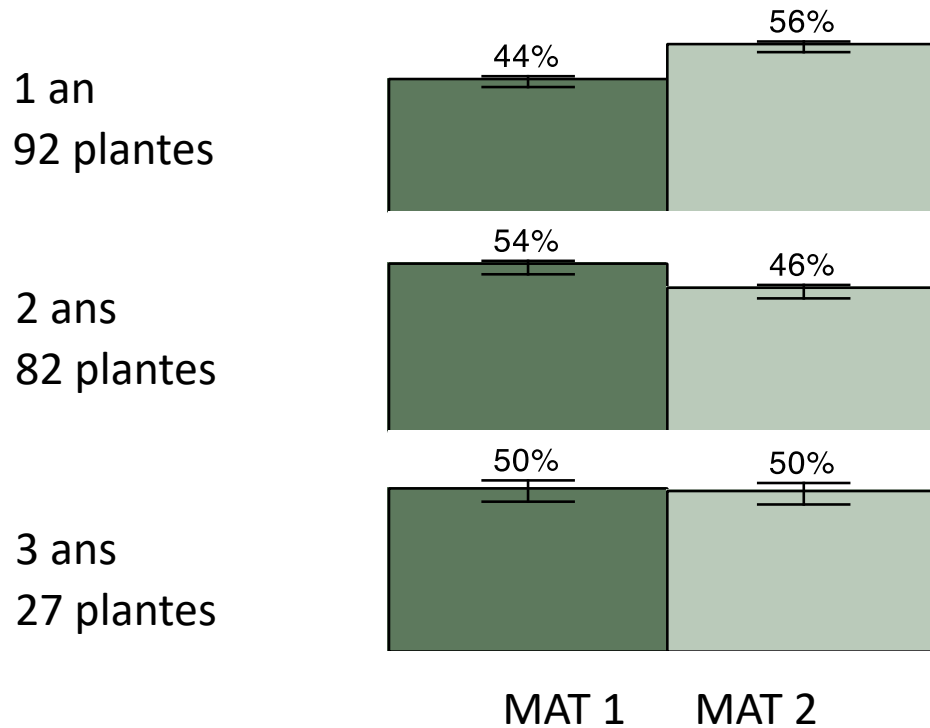
Pour deux plants on a analysé 48 ECM et on a retrouvé une distribution $\sim 50/50$



Les deux MAT sont bien présents mais à des fréquences qui peuvent être différentes

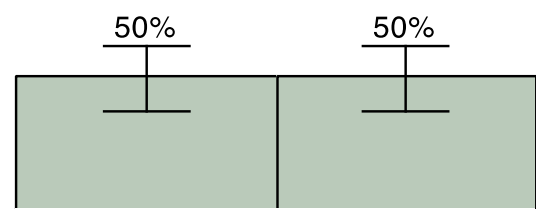
3) Existe t'il des différences entre les plants de 1, 2 ou 3 ans?

8 ECM

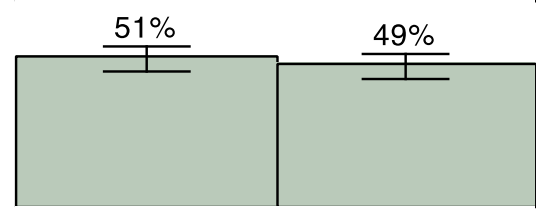


Pas de différences
statistiquement
significatives

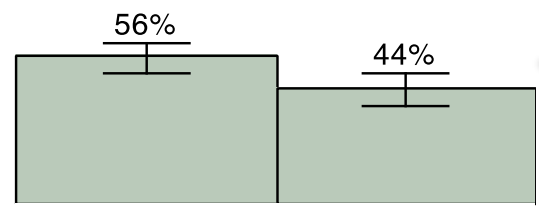
C. avellana
2 pl



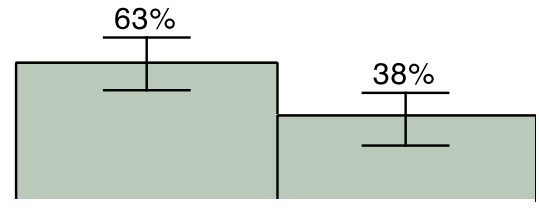
C. betulus
17 pl



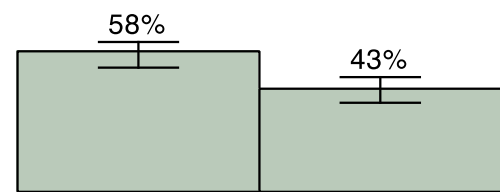
P. halepensis
8 pl



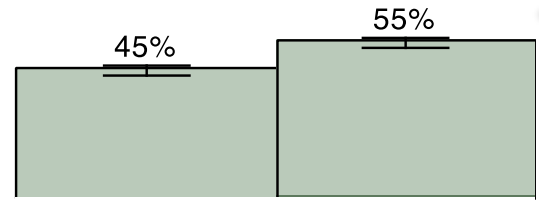
P. nigra
2 pl



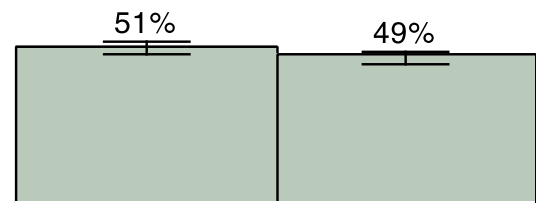
Pinus
10 pl



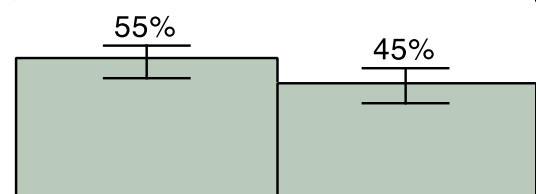
Q. ilex
94 pl



Q. pubescens
70 pl



Tilia
8 pl



3) Existe t'il des différences entre les différentes essences?

Pas de différences statistiquement significatives

Questions que l'on se pose:

1) Est ce que tous les plants ont des ECM des deux MAT?

La probabilité de trouver un plant avec un seul MAT est négligeable (< 2,4 % si on échantillonne 12 ECM mais moins de 1% du total des ECMs)

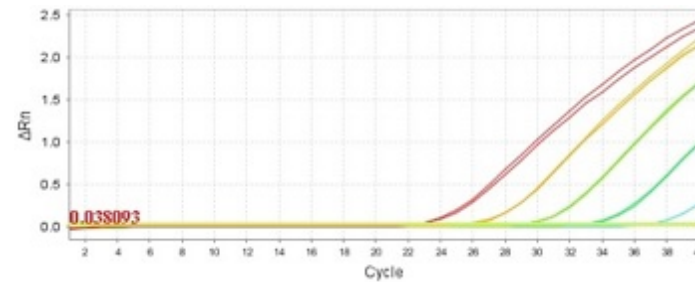
2) Existe t'il des différences entre les plants de 1, 2 ou 3 ans?

Non

3) Existe t'il des différences entre les différentes essences?

Non

Pourquoi est ce qu'il n'y a qu'un seul MAT?



Hypothèses

Il n'y avait qu'un seul MAT sur le système racinaire des plants mycorhizés

NON

Dans le sol due à des facteurs inconnus un des deux MAT est absent (disparition, compétition...)

OUI

Comment faire les apports de spores?

Enrichir le sol en spores : favoriser la reproduction sexuée

Le plus simple est d'utiliser ces propres truffes (si on en a...) ou bien d'en acheter

-> je conseil d'utiliser des truffes de bonne qualité et bien mature

-> si possible regarder les spores au microscope pour être sur que la truffe a des spores

-> bien être sur de l'espèce utilisé !

Préparation du substrat:

Truffe + au choix:

eau, Vermiculite, perlite, tourbe, miel, sucre... beaucoup de recettes existent mais aucune n'a été vérifiée expérimentalement

Comment faire les apports de spores?

Enrichir le sol en spores : favoriser la reproduction sexuée



ActiTruffe (Agritruffe)



FormaTruffe (Tenoux)



Inoculum Robin

Un substrat "mélanosporé" dans l'Aude

Les administrateurs bénévoles de l'Association des Trufficulteurs Audois se sont retrouvés (dans le respect des gestes barrières) à l'atelier du trufficulteur à Villeneuve-Minervois pour confectionner du substrat mélanosporé. Ce terreau est composé de tourbe blonde et brune, de perlite, avec un pH à 7,5, de vermiculite et de truffes *Tuber melanosporum* sélectionnées chez les producteurs audois.

Ce substrat, qui est dosé à 1g de truffe par litre de terreau, permet de stimuler et d'améliorer le développement mycélien et la productivité des arbres truffiers mycorhizés. Il s'utilise dès la plantation ou au moment du travail du sol au printemps. Confectionné artisanalement, il est pour l'instant conditionné dans des seaux de 20 litres. Chaque seau est réalisé un à un ce qui permet de vérifier le dosage de 20 grammes de truffes pour 20 litres de terreau.

Pour plus de renseignements, contacter Christelle Legrand à aude.truffes@gmail.com



Mélange des composants à la perceuse avec un agitateur de peinture.

Préparation pour réensemencement déjà prêt: privilégier **les produits français** pour lesquels les truffes sont été contrôlées par INRAE, CTIFL ou une société indépendante

Attention à tous les produits qu'ont peu trouver sur internet... on ne sait pas vraiment ce qu'il y a dedans

Comment faire les apports de spores?



Amener les spores proche des racines et des ECM



Faire les apports lors de la récolte est de plus en plus pratiqué

Et les pièges à truffe?

C. Murat, L. Bonneau , H. De la Varga , J.M. Olivier, F. Sandrine, F. Le Tacon
Italian journal Mycology vol. 45 (2016) ISSN pending
DOI: pending


Trapping truffle production in holes: a promising technique for improving production and unravelling truffle lifecycle

**Murat Claude^{1*}, Bonneau Lucien², De la Varga Herminia¹, Olivier Jean-Marc³,
Sandrine Fizzala⁴, Le Tacon François¹**


Méthode Bonneau

Et les pièges à truffe?


FABRICATION DU SUBSTRAT en IMAGE



Mixer, dans un blinder, 250g de truffes.



Ajouter 350g de miel, mixer 5 mn



Verser en remuant en permanence 50 l de vermiculite



Dans une bétonnière mélanger la vermiculite aux 50 l de terreau préalablement emmotté



Bêche couplante

Soulever le sol sur 5/10 cm, déposer environ 250 g de substrat et refermer; 4 puits par arbres soit ~ 2,5 g de truffe fraîche

Et les pièges à truffe?

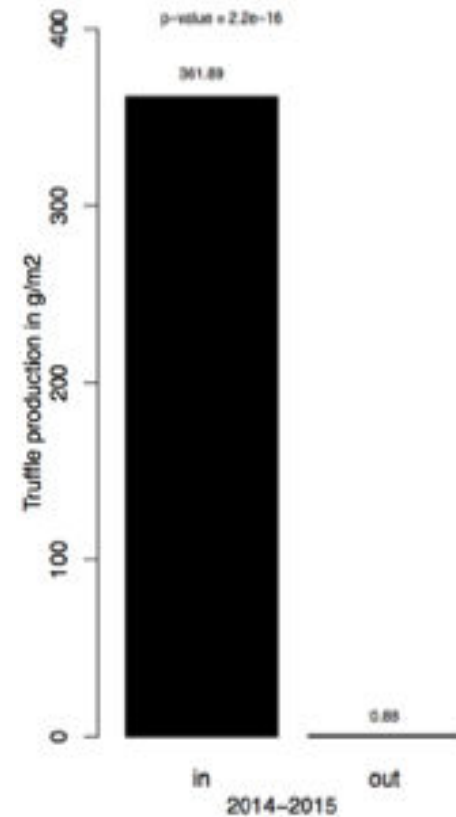
C. Murat, L. Bonneau, H. De la Varga, J.M. Olivier, F. Sandrine, F. Le Tacon

Italian journal Mycology vol. 45 (2016) ISSN pending

DOI: pending

Trapping truffle production in holes: a promising technique for improving production and unravelling truffle lifecycle

Murat Claude^{1*}, Bonneau Lucien², De la Varga Herminia¹, Olivier Jean-Marc³, Sandrine Fizzala⁴, Le Tacon François¹



Presque toutes les truffes récoltées dans les pièges
Mais les arbres ne produisent pas plus, toutefois plus
d'arbres producteurs

Et les pièges à truffe?

scientific reports

[Explore content](#) ▾ [Journal information](#) ▾ [Publish with us](#) ▾

[nature](#) > [scientific reports](#) > [articles](#) > [article](#)

Article | [Open Access](#) | Published: 10 March 2020

Edaphic and temporal patterns of *Tuber melanosporum* fruitbody traits and effect of localised peat-based amendment

[Sergi Garcia-Barreda](#) , [Pedro Marco](#), [María Martín-Santafé](#), [Eva Tejedor-Calvo](#) & [Sergio Sánchez](#)

[Scientific Reports](#) 10, Article number: 4422 (2020) | [Cite this article](#)

957 Accesses | 4 Citations | 4 Altmetric | [Metrics](#)

Piège: trou conique de 25 cm de profondeur rempli d'environ 1,5 l d'un substrat à base de tourbe (Turbatruf[®] de Projar : mélange tourbe noire - tourbe blanche - coco - perlite 11-5-3-1, avec un pH élevé à 7,5) et à recouvrir le substrat de terre. 0,1 g de truffe séchée par litre de substrat est mélangé soigneusement avant d'être incorporé au sol.

Et les pièges à truffe?

scientific reports

Explore content ▾ Journal information ▾ Publish with us ▾

nature > scientific reports > articles > article

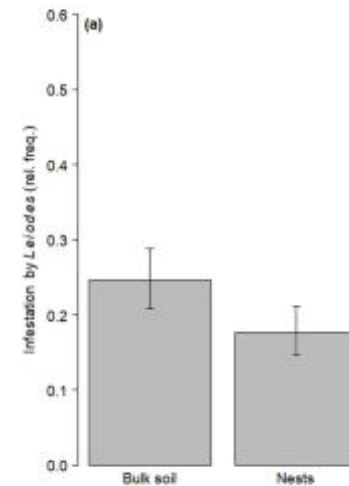
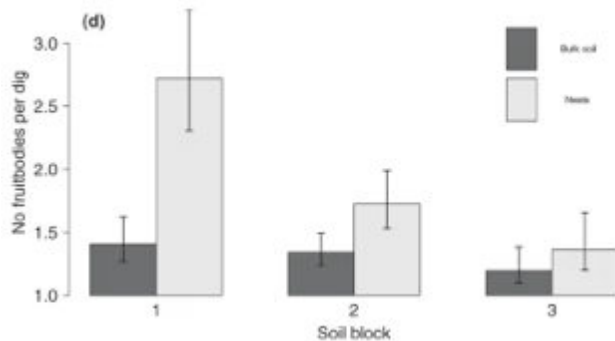
Article | [Open Access](#) | Published: 10 March 2020

Edaphic and temporal patterns of *Tuber melanosporum* fruitbody traits and effect of localised peat-based amendment

Sergi Garcia-Barreda , Pedro Marco, María Martín-Santafé, Eva Tejedor-Calvo & Sergio Sánchez

Scientific Reports 10, Article number: 4422 (2020) | [Cite this article](#)

957 Accesses | 4 Citations | 4 Altmetric | [Metrics](#)



Plus de truffes récoltées par trou

Les truffes de pièges moins contaminés par les liodès

Et les pièges à truffe?

scientific reports

Explore content ▾ Journal information ▾ Publish with us ▾

nature > scientific reports > articles > article

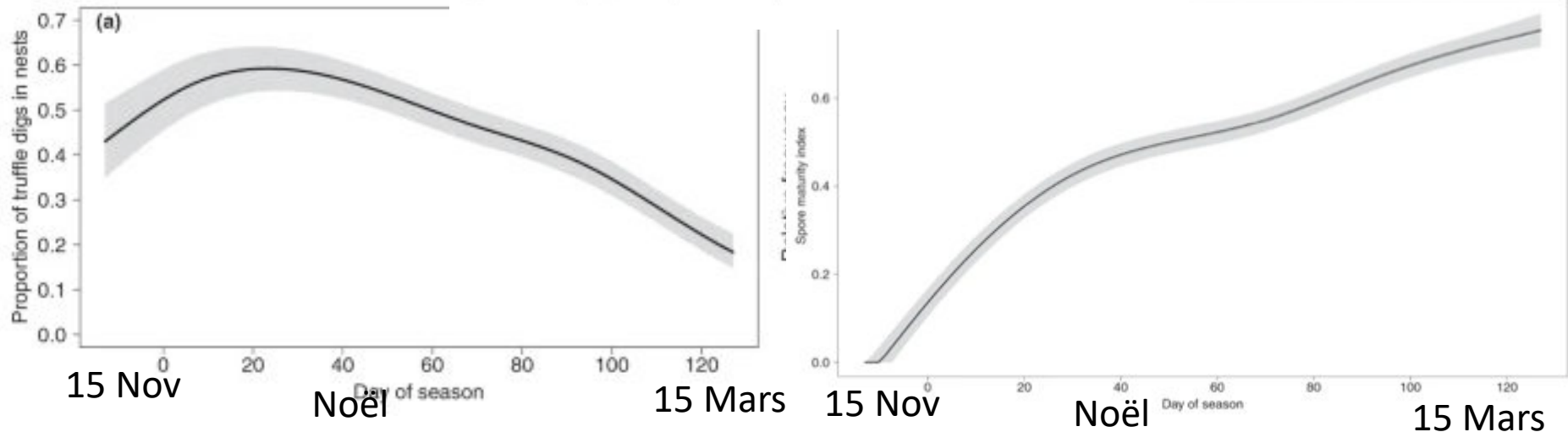
Article | [Open Access](#) | Published: 10 March 2020

Edaphic and temporal patterns of *Tuber melanosporum* fruitbody traits and effect of localised peat-based amendment

Sergi Garcia-Barreda [✉](#), Pedro Marco, María Martín-Santafé, Eva Tejedor-Calvo & Sergio Sánchez

Scientific Reports 10, Article number: 4422 (2020) | [Cite this article](#)

957 Accesses | 4 Citations | 4 Altmetric | [Metrics](#)



Les truffes récoltés plus tôt...

La proportion de spores matures augmente avec la saison

Et les pièges à truffe?

scientific reports

Explore content ▾ Journal information ▾ Publish with us ▾

nature > scientific reports > articles > article

Article | Open Access | Published: 10 March 2020

Edaphic and temporal patterns of *Tuber melanosporum* fruitbody traits and effect of localised peat-based amendment

Sergi Garcia-Barrada¹, Pedro Marco, Maria Martin-Santali, Eva Tejedor-Calvo & Sergio Sánchez

Scientific Reports 10, Article number: 4422 (2020) | Cite this article

957 Accesses | 4 Citations | 4 Altmetrics | Metrics

C. Murat, L. Bonneau, H. De la Varga, J.M. Olivier, F. Sandrine, F. Le Tacon

DOI: pending

Trapping truffle production in holes: a promising technique for improving production and unravelling truffle lifecycle

Murat Claude¹, Bonneau Lucien², De la Varga Herminia¹, Olivier Jean-Marc³, Sandrine Fizzala¹, Le Tacon François¹

Localisation des truffes dans les pièges
Plus d'arbres producteurs (à confirmer)
Truffes moins attaqués par des Liodès

Oui mais...

Truffe moins matures en début de saison
Quid du fait de trouver une truffe mature et XXX immature

Les pièges à truffe posent des interrogations quand à la qualité des truffes qui y sont récoltés

Conclusions

- Diagnostique de présence des MAT dans le sol peut être un bon indicateur pour les arbres non producteurs
- Il faut qu'il y ait le plus possible de spores dans le soil
- Attention à ce que vous utilisez pour amener les spores ! Bien s'assurer que les truffes ont été contrôlés concernant les substrats prêt à l'emploi
- Pas de méthode miracle, chaque trufficulteur a sa recette...

