



# LA REPRODUCTION SEXUÉE DE LA TRUFFE : DE LA THÉORIE À L'APPLICATION

**Flora TODESCO**

[flora.todesco@wetruf.com](mailto:flora.todesco@wetruf.com)

FORMATION EN LIGNE

*Mercredi 26 janvier 2022*



## INGÉNIEURE



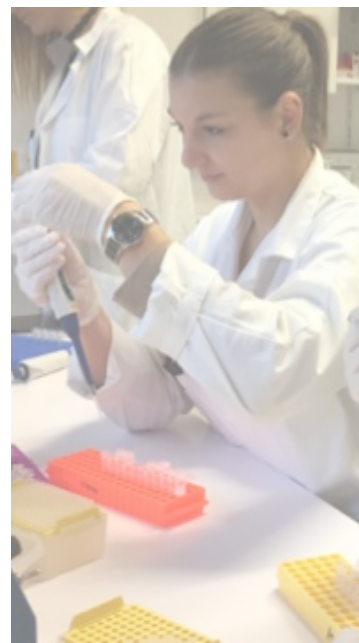
UMR 1136 IAM « Interactions Arbres-Microorganismes »

- ▶ **Diversité génétique** et **reproduction sexuée** de la truffe noire
- ▶ Responsable des expérimentations du projet national **CULTURTRUF**
  - ➔ Étude de la **dynamique** des mycéliums dans le sol  
*Tuber melanosporum* et *Tuber aestivum*
- ▶ Responsable du **contrôle moléculaire** des inoculum de truffe utilisés pour la production des plants mycorhizés

Licence INRAE



- ▶ **Travaux de terrain** en lien direct avec les techniciens truffe régionaux français
- ▶ Publications scientifiques et conférences en France et à l'étranger



## CRÉATION DE LA SOCIÉTÉ WETRUF

*Présidente et co-fondatrice*

- ▶ Valorisation des **innovations** issues d'INRAE
  - ➔ Gestion de l'apport d'eau en truffière
  - ➔ Diagnostic moléculaire fongique
- ▶ **Formation, Conseil, Expertise** en truffe et trufficulture

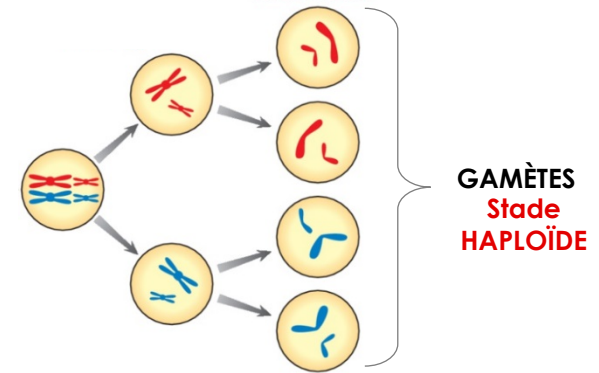
# INTRODUCTION | La reproduction sexuée chez les êtres vivants

**Reproduction** : processus biologique permettant la production de nouveaux organismes d'une espèce à partir d'individus préexistants de cette espèce

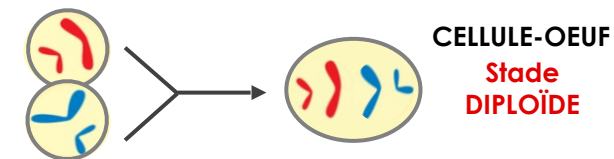
**Reproduction sexuée** : rencontre d'individus de types sexuels différents ➡ union de deux cellules reproductrices

Les deux étapes qui la constituent :

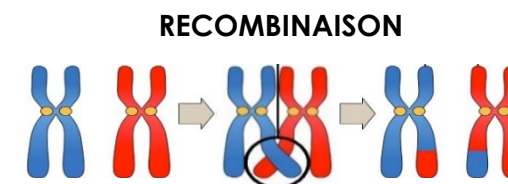
(I) La **méiose** : production des cellules reproductrices = **gamètes** ou **gamétophytes**  
> chaque cellule porte la moitié des gènes du parent



(II) La **fécondation** : réunion et fusion de deux gamètes  
> reconstitution d'un génome entier, mais original



**La recombinaison de l'ADN lors de la reproduction sexuée engendre un nouveau génome, c'est le brassage génétique, qui permet l'évolution des populations !**



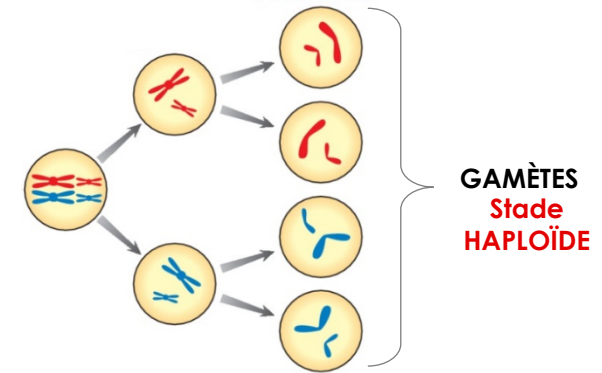
# INTRODUCTION | La reproduction sexuée chez les êtres vivants

**Reproduction** : processus biologique permettant la production de nouveaux organismes d'une espèce à partir d'individus préexistants de cette espèce

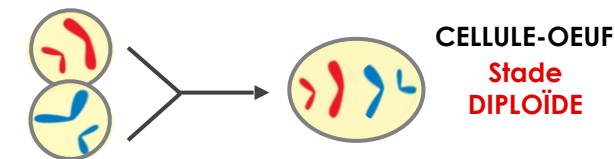
**Reproduction sexuée** : rencontre d'individus de types sexuels différents ➡ union de deux cellules reproductrices

Les deux étapes qui la constituent :

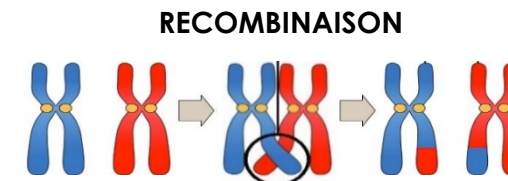
(I) La **méiose** : production des cellules reproductrices = **gamètes** ou **gamétophytes**  
> chaque cellule porte la moitié des gènes du parent



(II) La **fécondation** : réunion et fusion de deux gamètes  
> reconstitution d'un génome entier, mais original

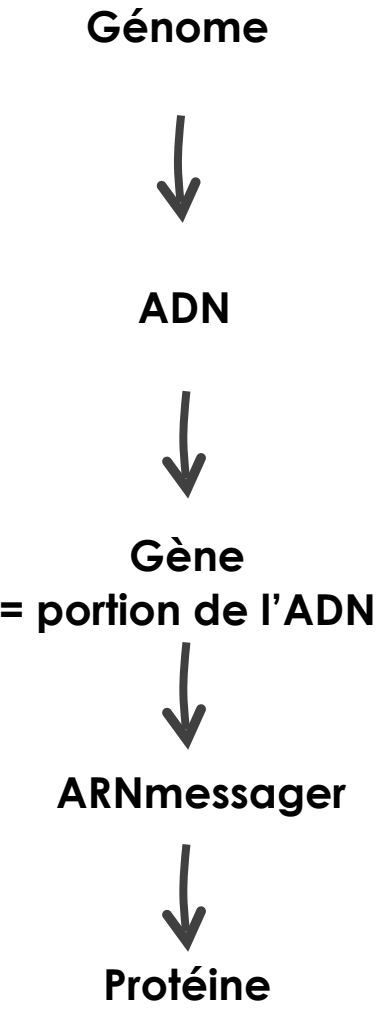
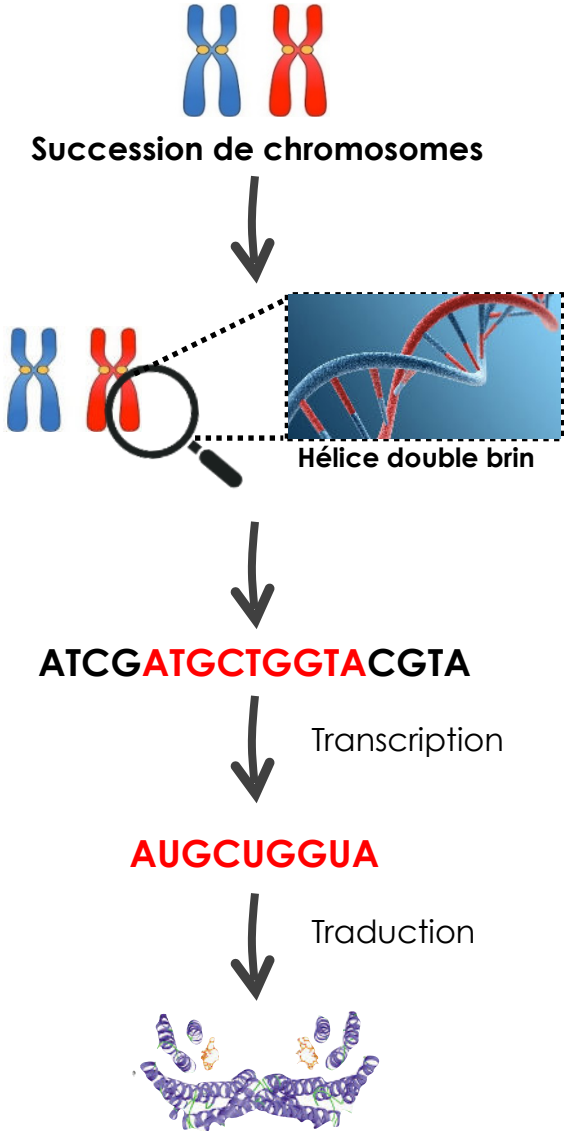


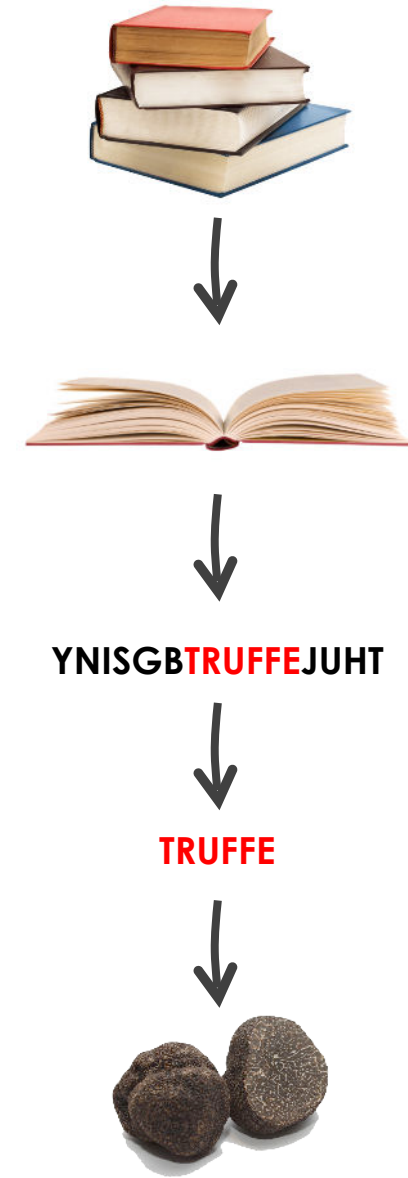
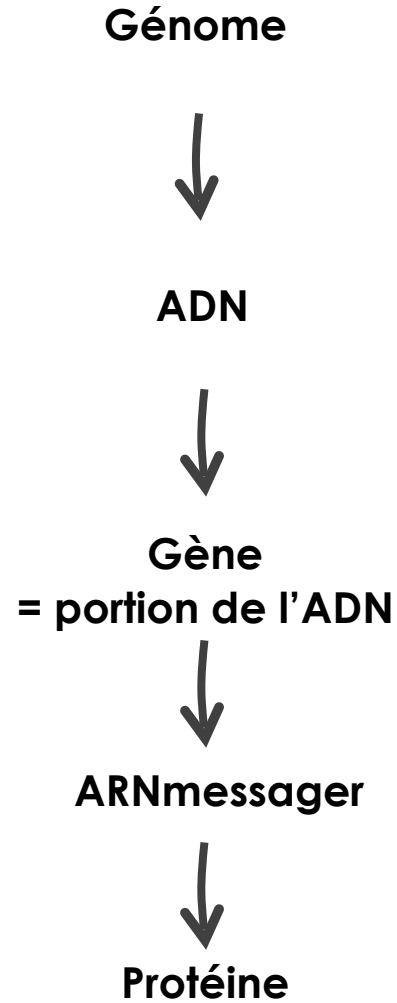
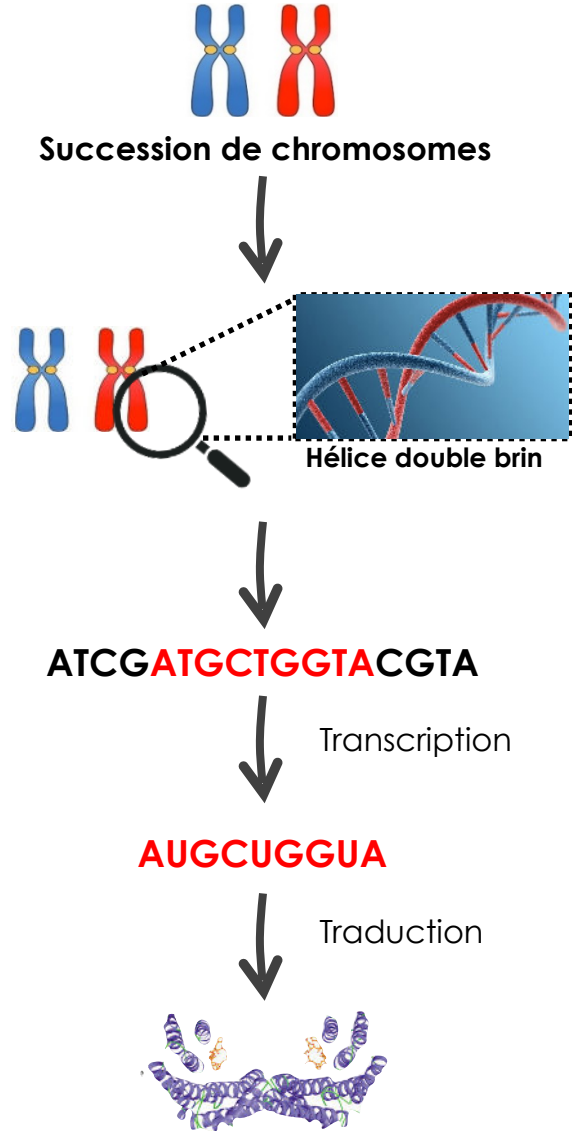
**Mais l'ADN, c'est quoi ?**



# INTRODUCTION

# L'ADN - *Acide DésoxyriboNucléique* - support de l'information génétique





## Reproduction sexuée

Plusieurs types sexuels nécessaires avec fusion des gamètes (2 ou plus)

Différents cycles biologiques en fonction de la classe du champignon

*Ascomycètes*

*Basidiomycètes*

*Zygomycètes*

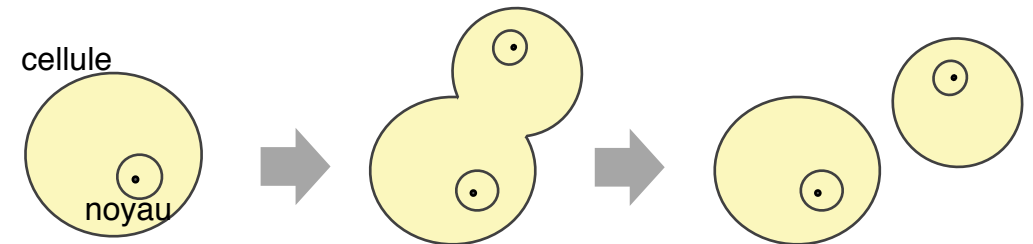
*Chytridiomycètes*

## Reproduction asexuée ou végétative

Une reproduction à l'identique, sans partenaire, sans fusion de gamètes

Commune à presque tous les champignons

EXEMPLE :  
BOURGEONNEMENT OU FISSION



La **spore** est l'organe issu de la reproduction des champignons.

Les **champignons** produisent de nombreuses **spores**, **sexuées** ou **asexuées**, qui sont impliquées dans la **dispersion** et la **survie** de l'espèce.

## Reproduction sexuée

Plusieurs types sexuels nécessaires avec fusion des gamètes (2 ou plus)

Différents cycles biologiques en fonction de la classe du champignon

Ascomycètes

Basidiomycètes

Zygomycètes

Chytridiomycètes

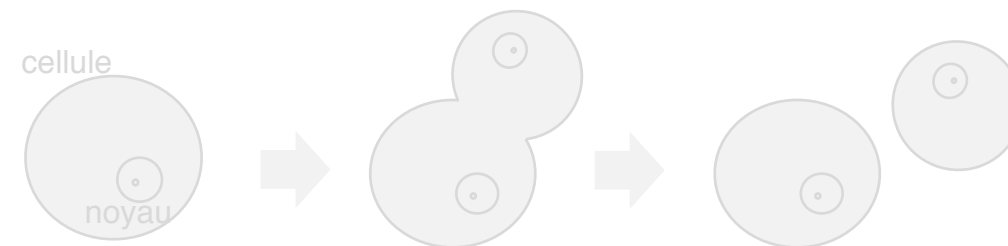
La truffe du genre *Tuber*

## Reproduction asexuée ou végétative

Une reproduction à l'identique, sans partenaire, sans fusion de gamètes

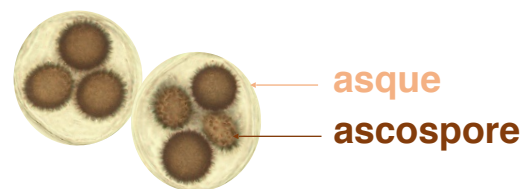
Commune à presque tous les champignons

EXEMPLE :  
BOURGEONNEMENT OU FISSION



La **spore** est l'organe issu de la reproduction des champignons.

**Les Ascomycètes sont caractérisés par des ascospores formées à l'intérieur d'asques.**



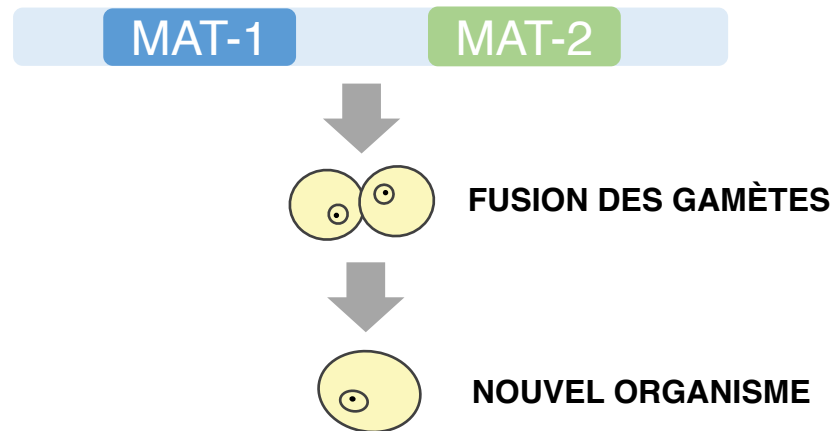


# INTRODUCTION | Les modes de reproduction sexuée chez les **Ascomycètes**

La reproduction sexuée chez les Ascomycètes est contrôlée par deux gènes de compatibilité sexuelle : **MAT-1** et **MAT-2** (*mating type*)

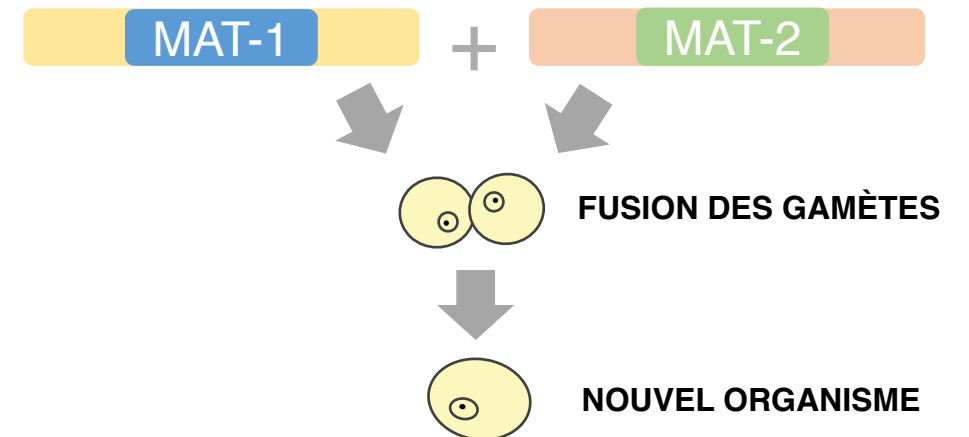
## Homothallisme

Les deux types de gamètes proviennent d'**un seul et même individu**



## Hétérothallisme

Les deux types de gamètes proviennent de **deux individus différents**

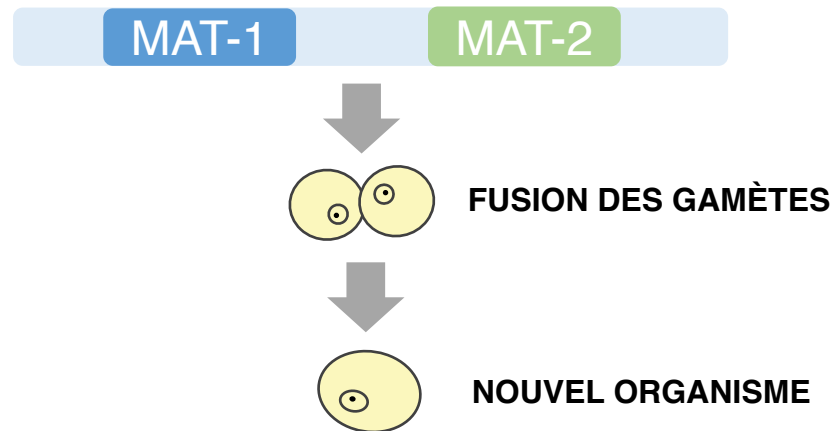


# INTRODUCTION | Les modes de reproduction sexuée chez les **Ascomycètes**

La reproduction sexuée chez les Ascomycètes est contrôlée par deux gènes de compatibilité sexuelle : **MAT-1** et **MAT-2** (*mating type*)

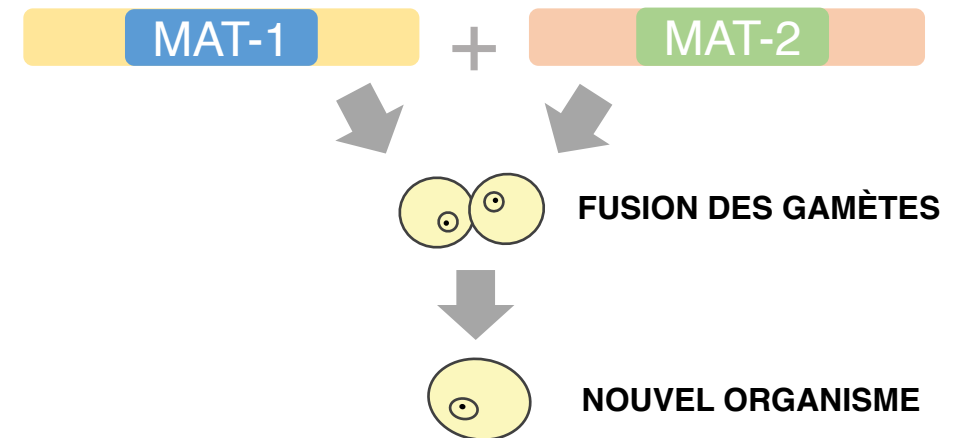
## Homothallisme

Les deux types de gamètes proviennent d'**un seul et même individu**



## Hétérothallisme


Les deux types de gamètes proviennent de **deux individus différents**



**À quel mode de reproduction sexuée la truffe appartient-elle ?**

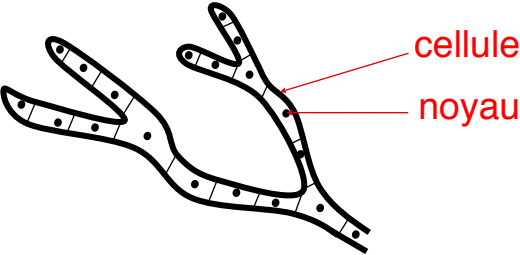
# LA REPRODUCTION DE LA TRUFFE | Homothallisme ou hétérothallisme

Rappel des différentes formes étudiées de la truffe :




**MYCÉLIUM**

Appareil végétatif du champignon  
Ensemble de filaments ramifiés = **hyphes**



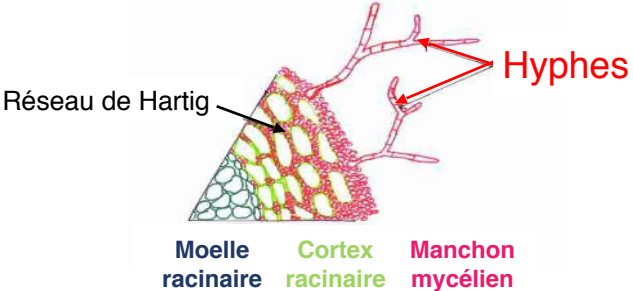
cellule  
noyau

Hyphes cloisonnées ou septées



**MYCORHIZE**


Rencontre entre mycélium et racine  
Le mycélium entoure la racine sans y pénétrer = **Ectomycorhize (ECM)**



Réseau de Hartig

Hyphes

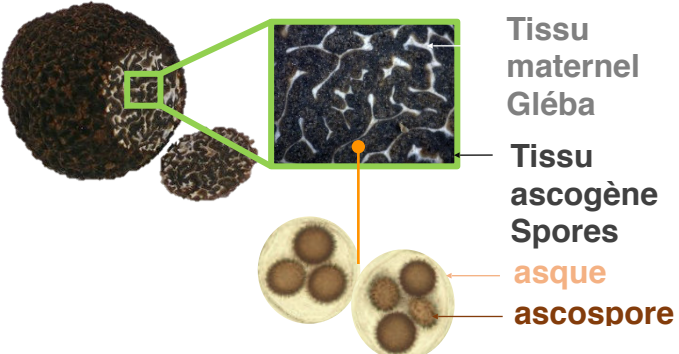
Moelle racinaire    Cortex racinaire    Manchon mycélien



**ASCOCARPE**

Fructification issue de la reproduction sexuée

**Deux types de tissus**

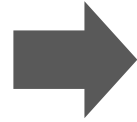


Tissu maternel  
Gléba  
Tissu ascogène  
Spores  
asque  
ascospore

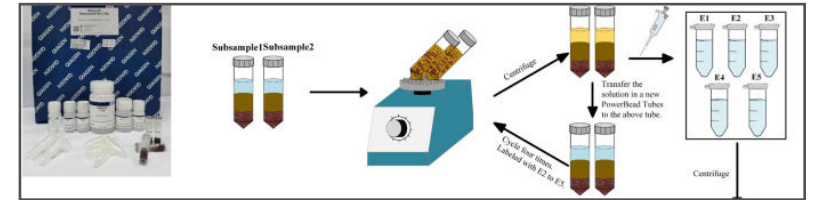
# LA REPRODUCTION DE LA TRUFFE | Homothallisme ou hétérothallisme

Rappel des différentes formes étudiées de la truffe : **Comment étudie-t-on leur ADN ?**

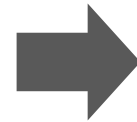
MYCÉLIUM



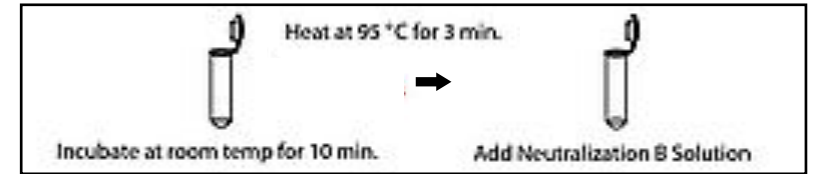
Extraction ADN **classique**  
-> à partir du sol



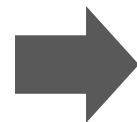
MYCORHIZE



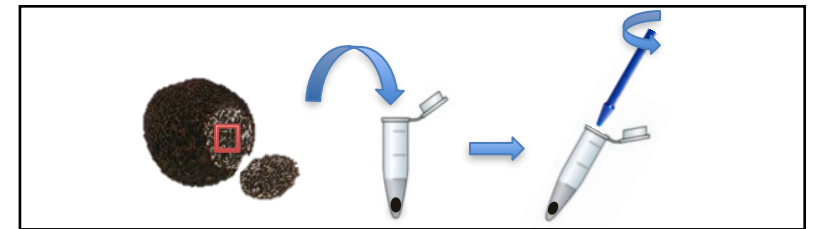
Extraction ADN **classique**  
-> à partir d'une mycorrhizae



GLÉBA



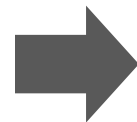
Extraction ADN **classique**  
-> à partir d'un morceau



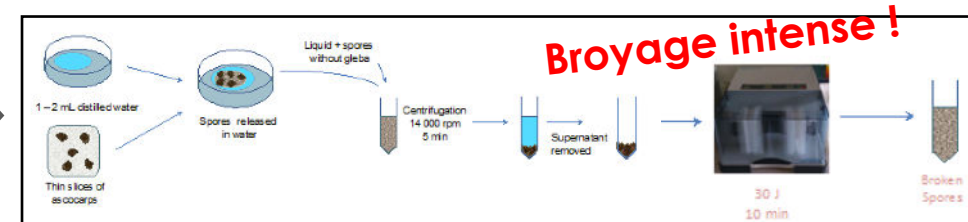
ASCOCARPE



SPORES

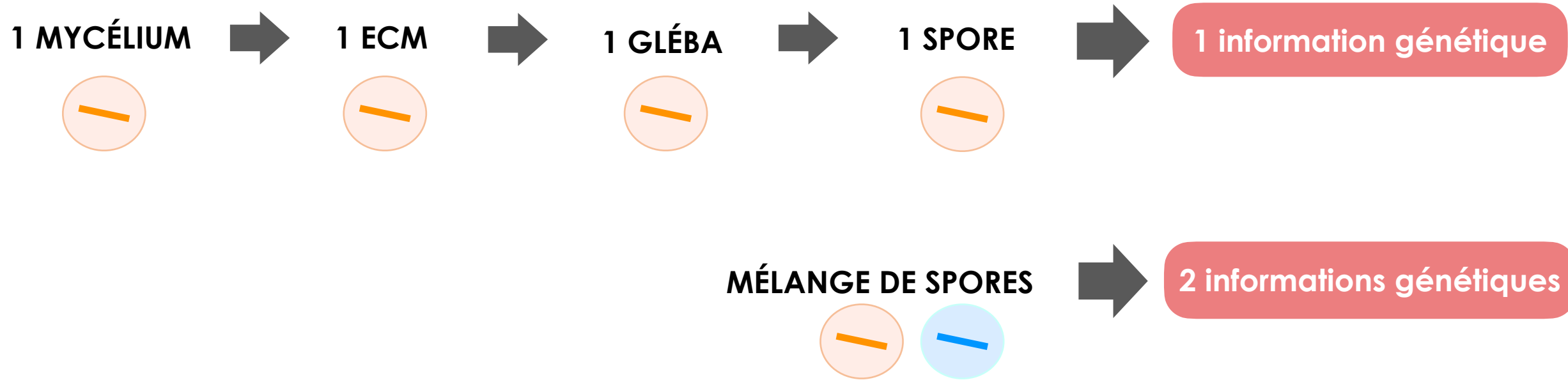


Extraction ADN **spécifique**  
-> à partir des spores



# LA REPRODUCTION DE LA TRUFFE | Homothallisme ou hétérothallisme

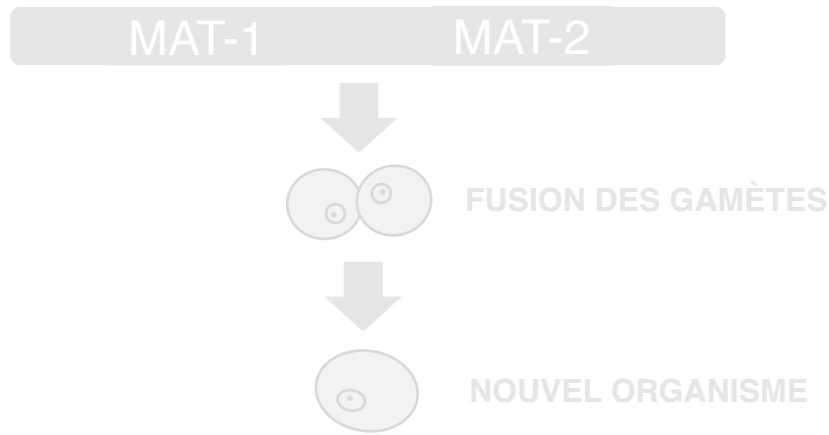
Ce que nous savons grâce à l'analyse de l'ADN :



↳ Identification d'un deuxième partenaire qui contribue au génome des spores

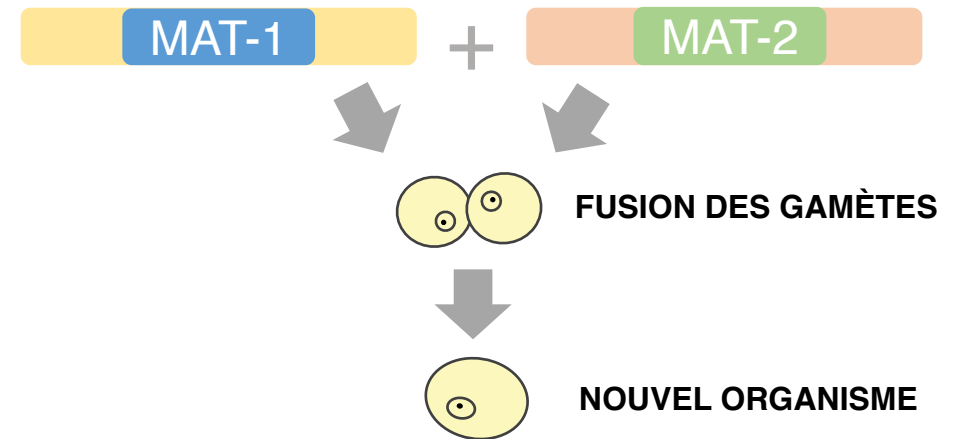
## Homothallisme

Les deux types de gamètes proviennent d'un seul et même individu



## Hétérothallisme

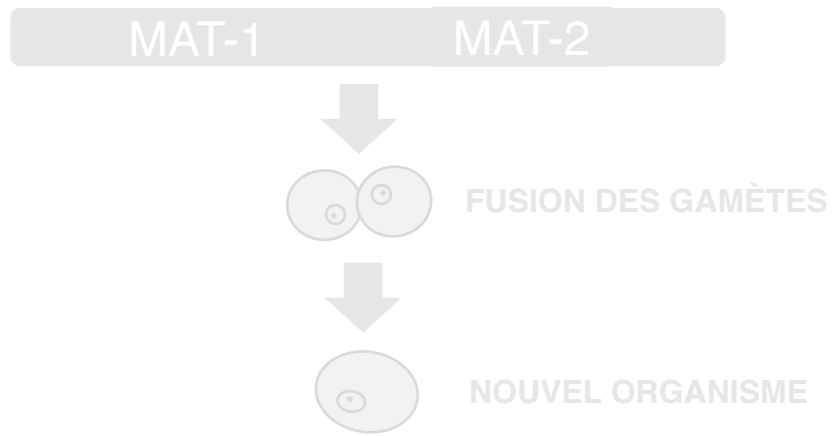
Les deux types de gamètes proviennent de deux individus différents



**Toutes les données de génomique et de génétique des populations indiquent que la truffe est une espèce hétérothallique**

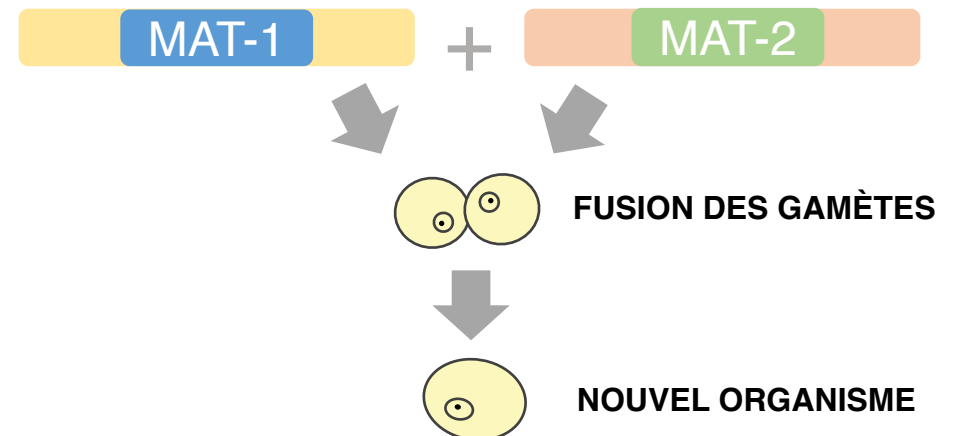
## Homothallisme

Les deux types de gamètes proviennent d'un seul et même individu



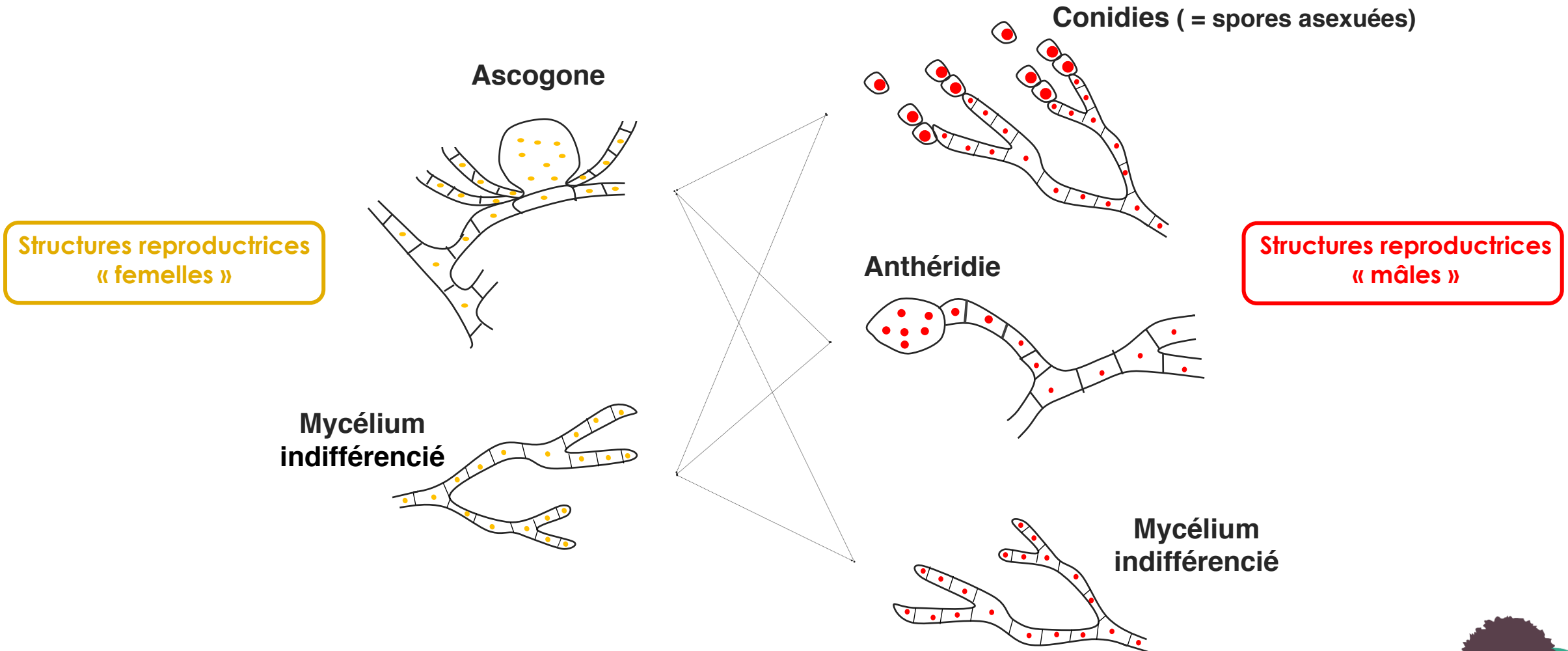
## Hétérothallisme

Les deux types de gamètes proviennent de deux individus différents



**Mais comment se passe cette reproduction ?**

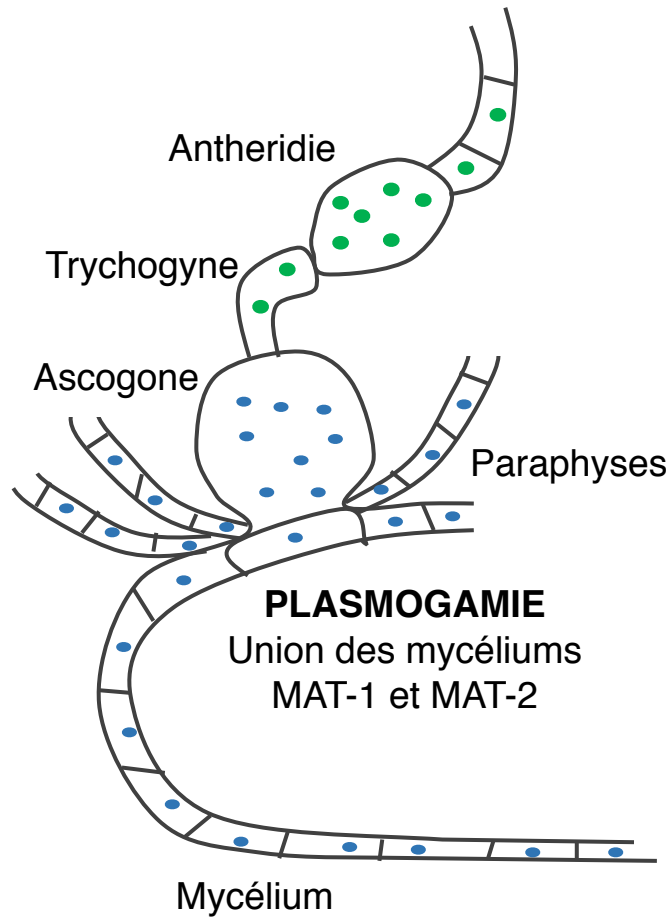
Les hypothèses de rencontre entre **deux individus compatibles** chez les **Ascomycètes** :



Laure Schneider-Maunoury 2019 Thèse de Doctorat



# LA REPRODUCTION DE LA TRUFFE | Le cycle biologique



**ANTHÉRIDIE**  
= « père »

✓ Gènes

**ASCOGONE**  
= « mère »

✓ Gènes

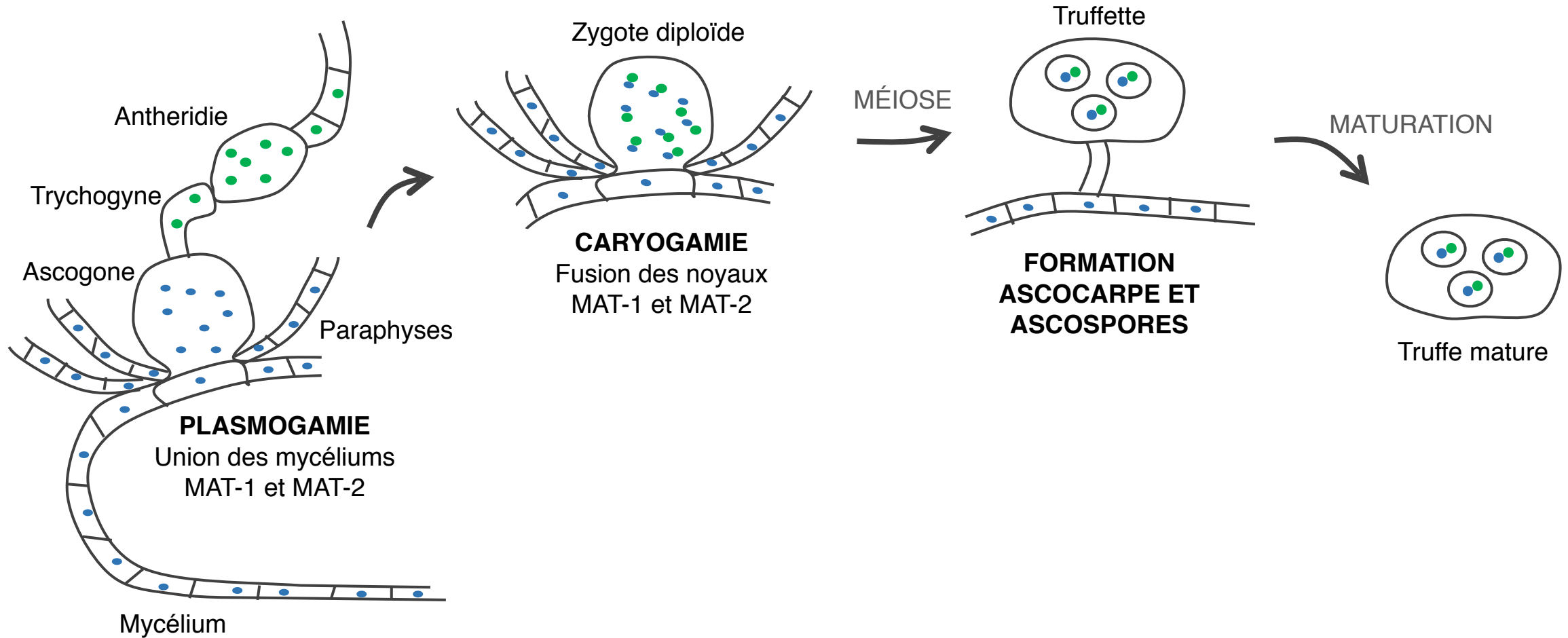
✓ Soutien et protection

✓ Alimentation

● MAT 1

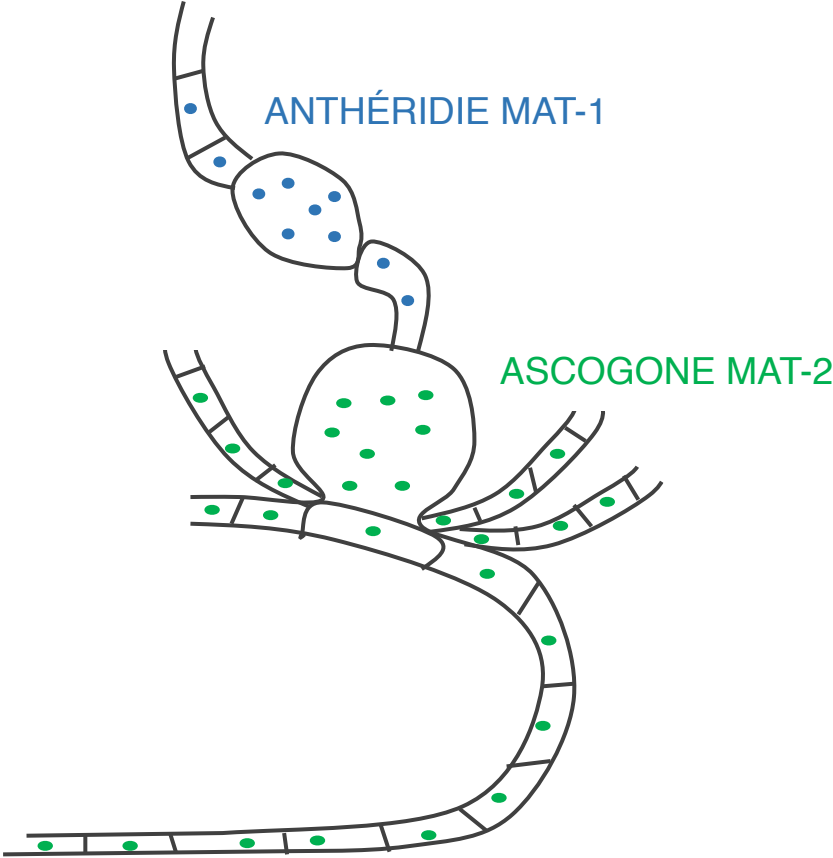
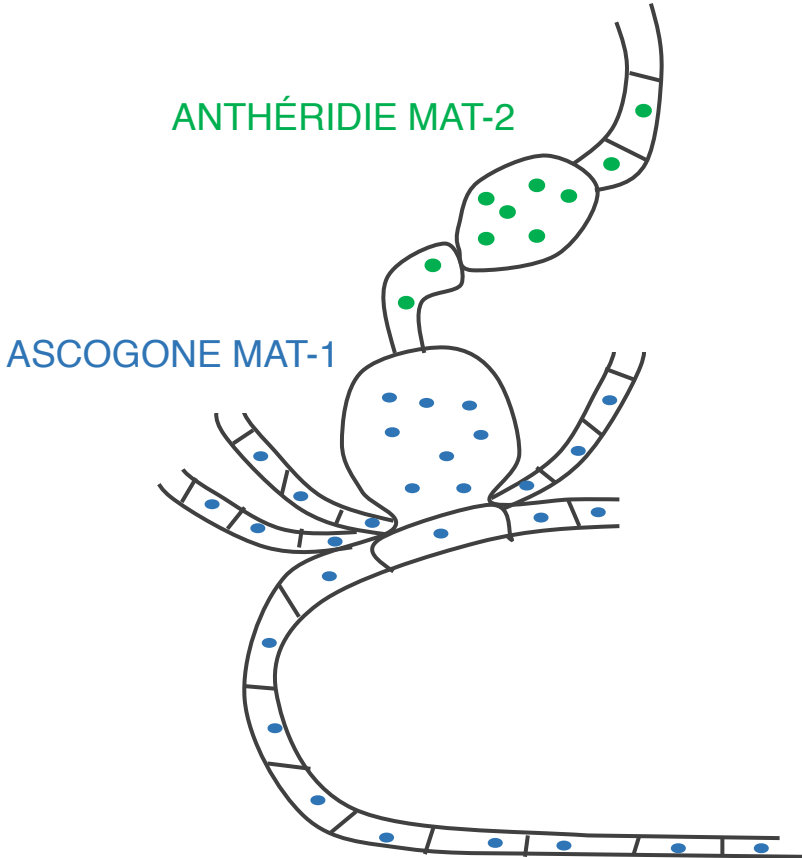
● MAT 2

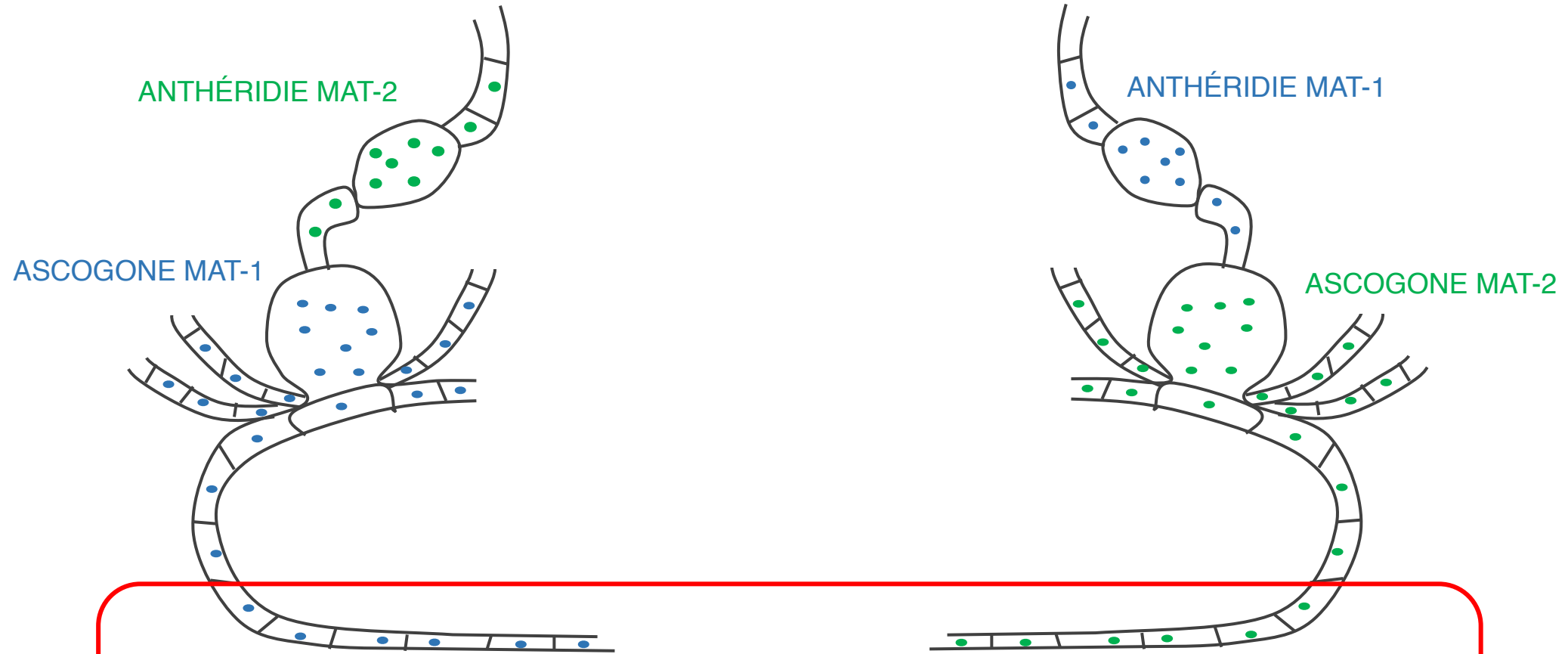
# LA REPRODUCTION DE LA TRUFFE | Le cycle biologique



● MAT 1

● MAT 2

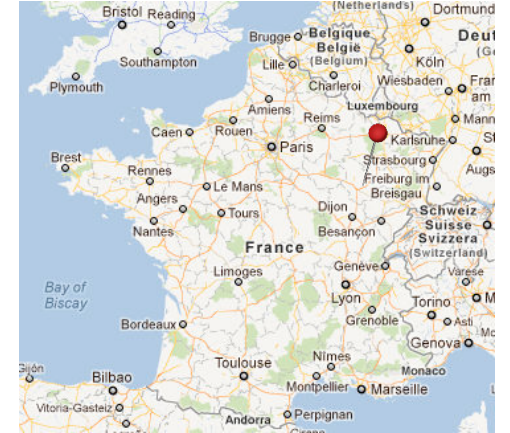
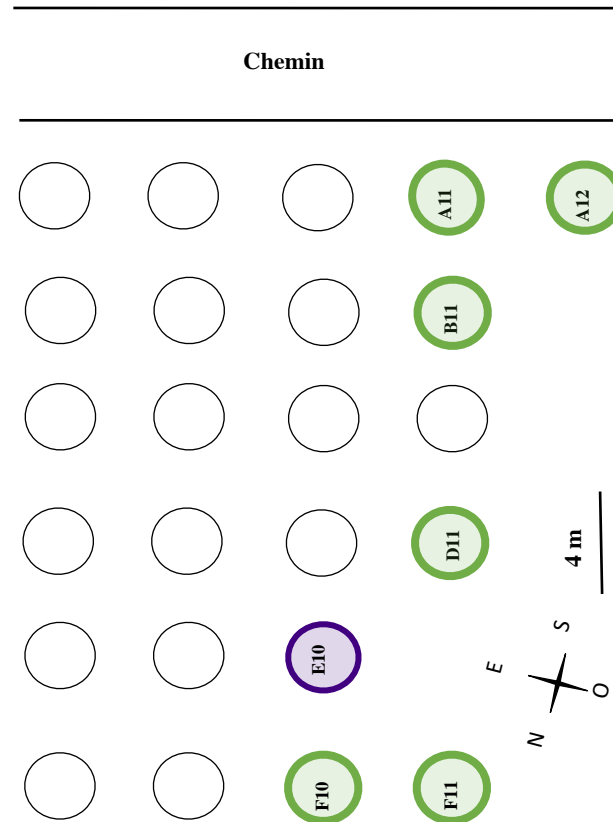




**Quelle est l'origine du partenaire femelle ?**

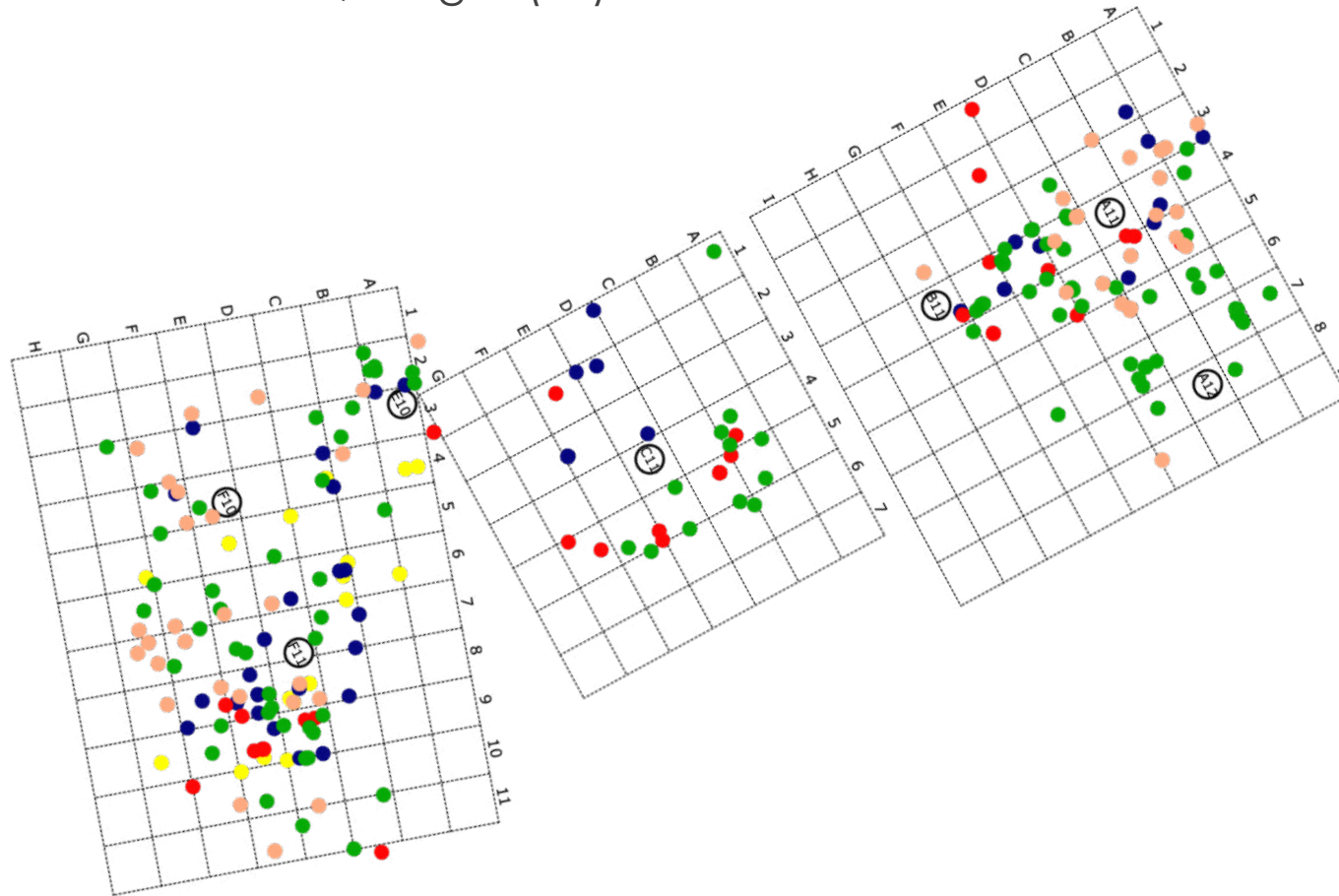
De la Varga *et al.* 2017 *Environmental Microbiology*

Cinq ans d'investigation sur les génotypes maternels et paternels de la truffe noire  
Truffière de Rollainville, Vosges (88)



**De la Varga et al. 2017** *Environmental Microbiology*

Cinq ans d'investigation sur les génotypes maternels et paternels de la truffe noire  
Truffière de Rollainville, Vosges (88)



- 2010-2011 : 17 ascocarpes
- 2011-2012 : 42 ascocarpes
- 2012-2013 : 30 ascocarpes
- 2013-2014 : 101 ascocarpes
- 2014-2015 : 51 ascocarpes

**241 truffes récoltées**

**De la Varga et al. 2017** *Environmental Microbiology*

Cinq ans d'investigation sur les génotypes maternels et paternels de la truffe noire  
Truffière de Rollainville, Vosges (88)

**Génotypage des 241 truffes**      1 génotype = 1 individu

## MATERNEL

- 73 génotypes différents
- 42 génotypes retrouvés qu'une seule fois
- 23 génotypes pérennes plus d'1 an
- 1 génotype pérenne pendant les 5 ans
- 64% des truffes produites par un génotype persistant

↳ **des génotypes pérennes et des génotypes nouveaux**

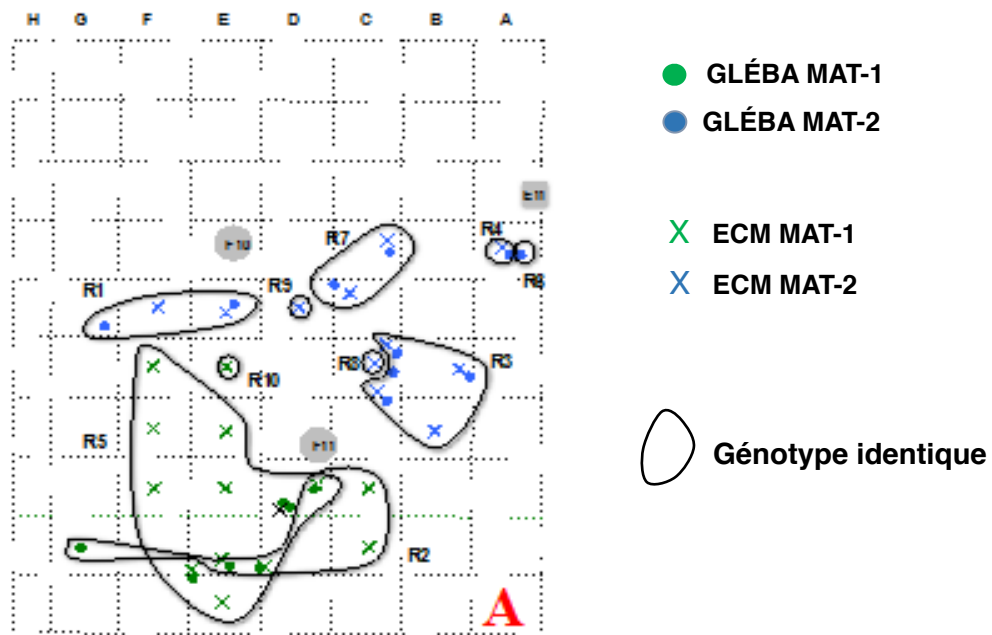


De la Varga *et al.* 2017 *Environmental Microbiology*

Cinq ans d'investigation sur les génotypes maternels et paternels de la truffe noire  
Truffière de Rollainville, Vosges (88)

## Génotypage et analyse du *mating type* : gléba et ECM

Exemple de résultat :

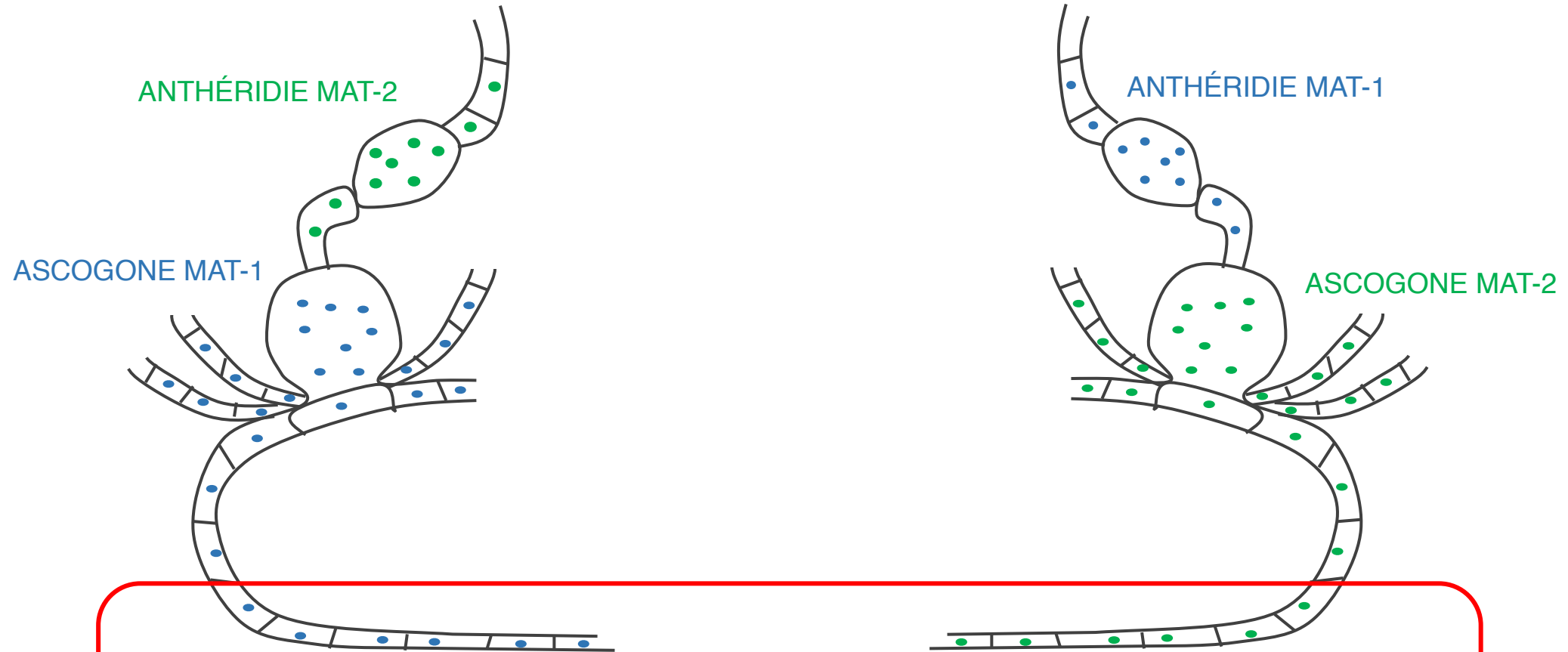


A : 2010/2011

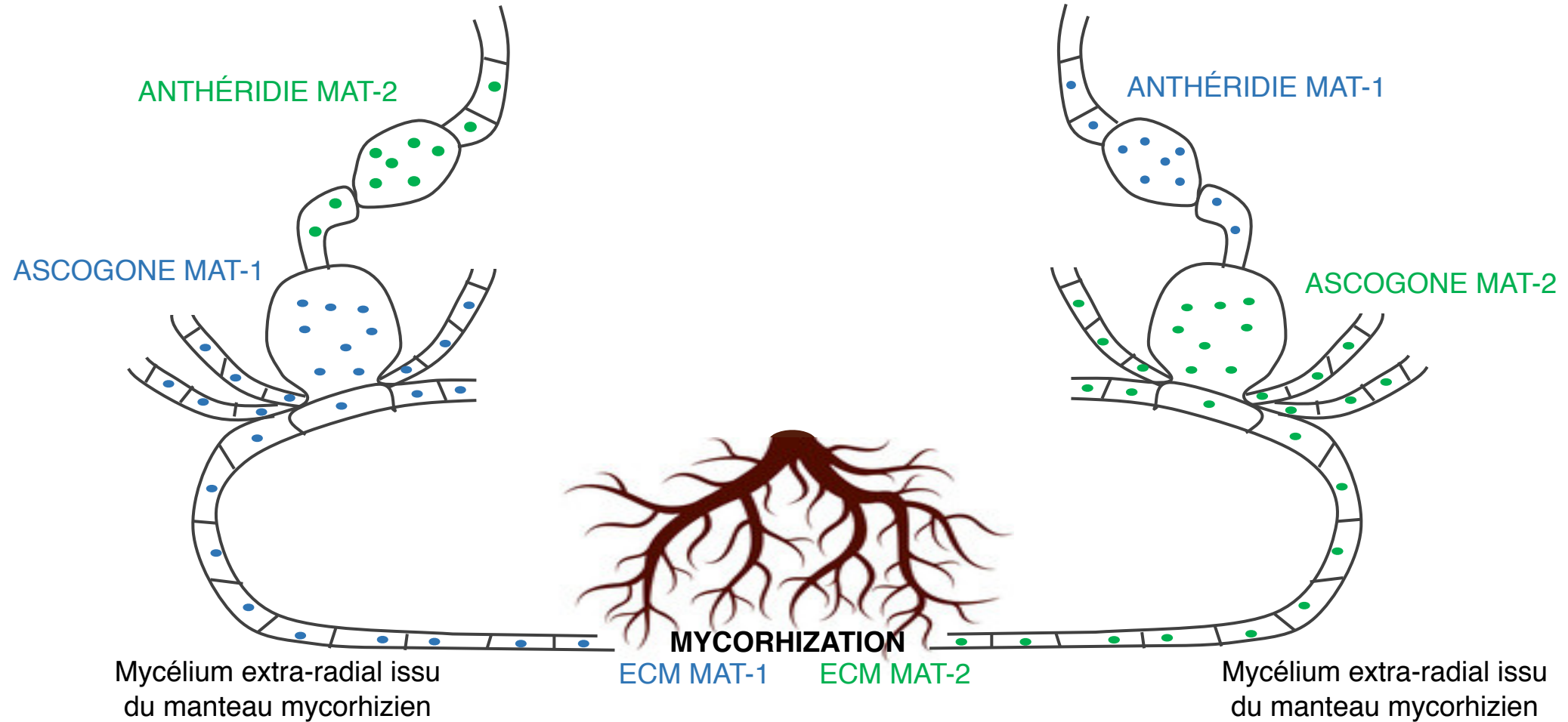
***mating type ECM = mating type GLÉBA***

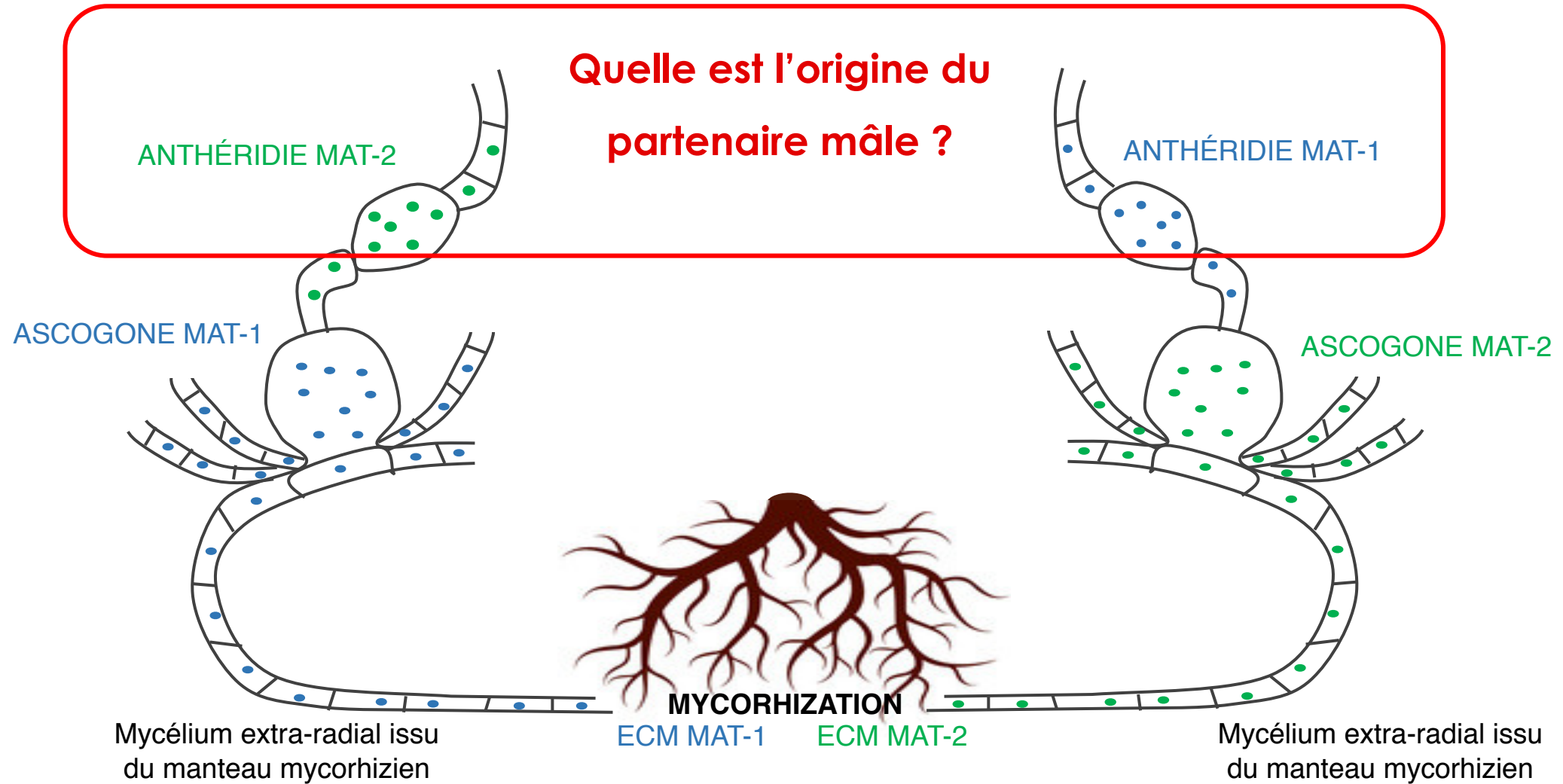
***génotype ECM = génotype GLÉBA***





**Quelle est l'origine du  
partenaire femelle ?**





### Elément femelle

ASCOGONE ISSU D'UNE ECTOMYCORHIZE (n)



### Eléments mâles

MYCÉLIUM DU SOL (n)



et/ou

GERMINATION D'UNE SPORE (n)



et/ou

ECTOMYCORHIZE (n)

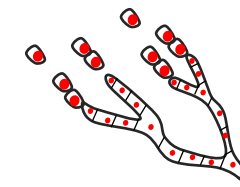


et/ou

PLANTES HERBACÉES

et/ou

CONIDIES (n)

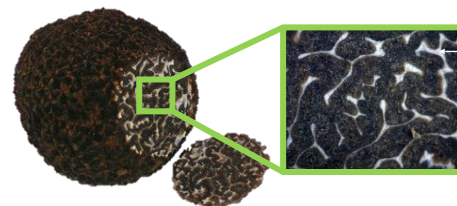


FÉCONDATION

CARYOGAMIE

MÉIOSE

TRUFFE MATURE



Veines blanches  
stériles MATERNEL (n)

Veines noires fertiles (spores)  
MATERNEL (n) + PATERNEL (n)

**De la Varga et al. 2017** *Environmental Microbiology*

Cinq ans d'investigation sur les génotypes maternels et paternels de la truffe noire  
Truffière de Rollainville, Vosges (88)

## Génotypage des 241 truffes 1 génotype = 1 individu

### MATERNEL

- 73 génotypes différents
- 42 génotypes retrouvés qu'une seule fois
- 23 génotypes pérennes plus d'1 an
- 1 génotype pérenne pendant les 5 ans
- 64% des truffes produites par un génotype persistant

### PATERNEL

- 138 génotypes différents
- 110 génotypes retrouvés qu'une seule fois
- 16 génotypes pérennes plus d'1 an
- 2 génotypes retrouvés sous différents arbres
- 30% des truffes produites par un génotype persistant

↳ des génotypes pérennes et des génotypes nouveaux

↳ + de génotypes nouveaux que de génotypes pérennes

↳ Variabilité génétique plus importante

↳ Presque jamais retrouvé au niveau des ECM



### Elément femelle

ASCOGONE ISSU D'UNE ECTOMYCORHIZE (n)



### Eléments mâles

MYCÉLIUM DU SOL (n)



et/ou

GERMINATION D'UNE SPORE (n)



et/ou

ECTOMYCORHIZE (n)



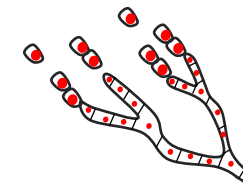
**TRÈS RARE**

et/ou

PLANTES HERBACÉES

et/ou

CONIDIES (n)

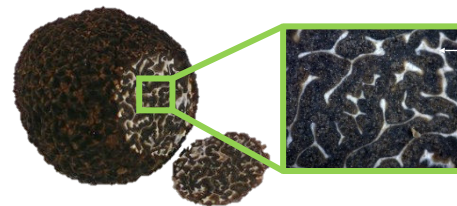


FÉCONDATION

CARYOGAMIE

MÉIOSE

TRUFFE MATURE



Veines blanches  
stériles MATERNEL (n)

Veines noires fertiles (spores)  
MATERNEL (n) + PATERNEL (n)

**De la Varga et al. 2017** *Environmental Microbiology*

Cinq ans d'investigation sur les génotypes maternels et paternels de la truffe noire  
Truffière de Rollainville, Vosges (88)

## Génotypage des 241 truffes 1 génotype = 1 individu

### MATERNEL

- 73 génotypes
- 41 génotypes > 1 truffe
- 23 génotypes pérennes plus d'1 an
- 1 génotype pérenne pendant les 5 ans
- 64% des truffes produites par un génotype persistant

↳ **des génotypes pérennes et des génotypes nouveaux**

### PATERNEL

- 138 génotypes
- 110 génotypes > 1 truffe
- 16 génotypes pérennes plus d'1 an
- 2 génotypes retrouvés sous différents arbres
- 30% des truffes produites par un génotype persistant

1 génotype retrouvé pendant 4 ans

- 18 truffes de ce génotype (9% de la production)
- Dans 2 zones différentes à 20m de distance
- Jamais retrouvé comme élément maternel
- Jamais retrouvé dans les ECM

↳ **Survie dans le sol ou bien associé à des plantes herbacées ?**

### Élément femelle

ASCOGONE ISSU D'UNE ECTOMYCORHIZE (n)



### Éléments mâles

MYCÉLIUM DU SOL (n)



et/ou

GERMINATION D'UNE SPORE (n)



et/ou

ECTOMYCORHIZE (n)



**TRÈS RARE**

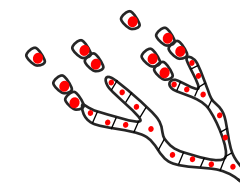
et/ou

PLANTES HERBACÉES



et/ou

CONIDIES (n)

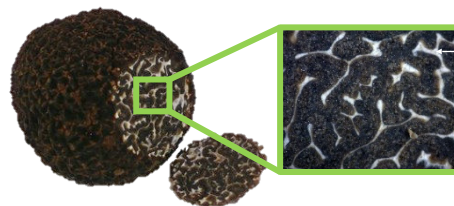


FÉCONDATION

CARYOGAMIE

MÉIOSE

TRUFFE MATURE



Veines blanches  
stériles MATERNEL (n)

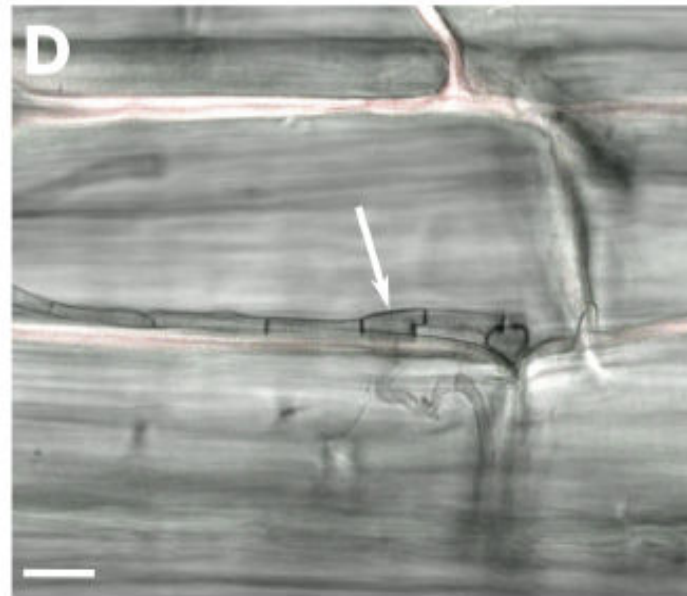
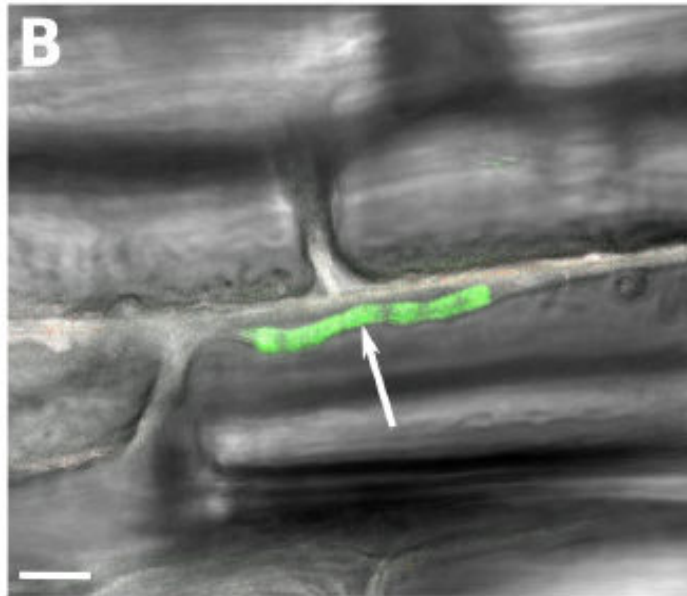
Veines noires fertiles (spores)  
MATERNEL (n) + PATERNEL (n)



Laure Schneider-Maunoury 2019 *Thèse de Doctorat*

Écologie et biologie reproductive de la Truffe noire

***Tuber melanosporum* colonise les racines des plantes herbacées = ENDOPHYTISME**



**↳ L'ADN extrait des racines des plantes herbacées est d'origine MATERNELLE**

### Élément femelle

ASCOGONE ISSU D'UNE ECTOMYCORHIZE (n)



### Éléments mâles

MYCÉLIUM DU SOL (n)



et/ou

GERMINATION D'UNE SPORE (n)



et/ou

ECTOMYCORHIZE (n)



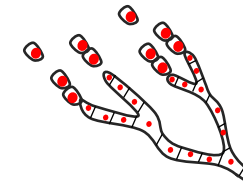
**TRÈS RARE**

et/ou

PLANTES HERBACÉES

et/ou

CONIDIES (n)

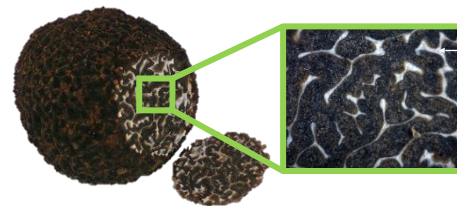


FÉCONDATION

CARYOGAMIE

MÉIOSE

TRUFFE MATURE



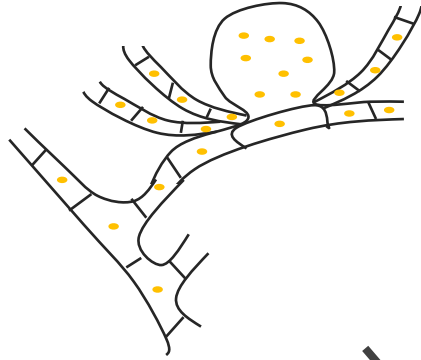
Veines blanches  
stériles MATERNEL (n)

Veines noires fertiles (spores)  
MATERNEL (n) + PATERNEL (n)

# LA REPRODUCTION DE LA TRUFFE | Les hypothèses sur l'origine du paternel

## Élément femelle

ASCOGONE ISSU D'UNE ECTOMYCORHIZE (n)



## Éléments mâles

MYCÉLIUM DU SOL (n)



et/ou

GERMINATION D'UNE SPORE (n)



et/ou

ECTOMYCORHIZE (n)



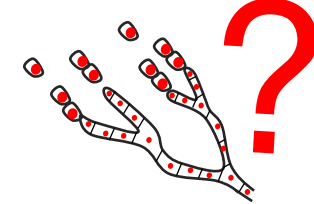
TRÈS RARE

et/ou

PLANTES HERBACÉES

et/ou

CONIDIES (n)

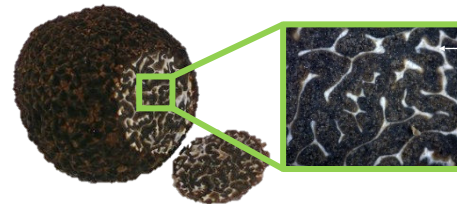


FÉCONDATION

CARYOGAMIE

MÉIOSE

TRUFFE MATURE



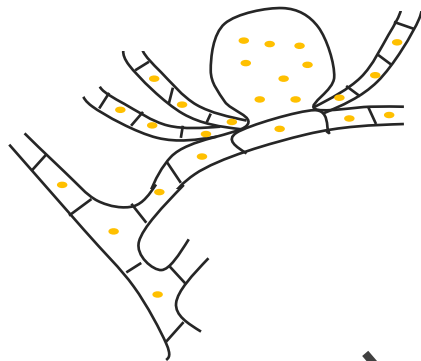
Veines blanches  
stériles MATERNEL (n)

Veines noires fertiles (spores)  
MATERNEL (n) + PATERNEL (n)

# LA REPRODUCTION DE LA TRUFFE | Les hypothèses sur l'origine du paternel

## Élément femelle

ASCOGONE ISSU D'UNE ECTOMYCORHIZE (n)



## Éléments mâles

MYCÉLIUM DU SOL (n)



et/ou

GERMINATION D'UNE SPORE (n)



et/ou

ECTOMYCORHIZE (n)



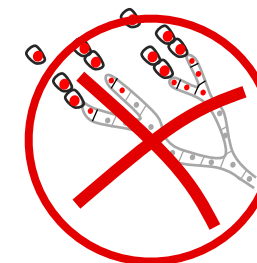
TRÈS RARE

et/ou

PLANTES HERBACÉES

et/ou

CONIDIES (n)



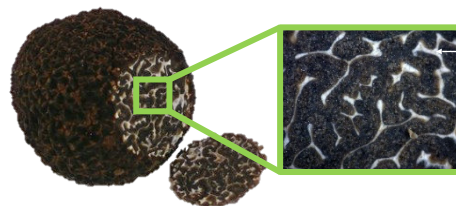
JAMAIS  
RETROUVÉ CHEZ  
*T. melanosporum*

FÉCONDATION

CARYOGAMIE

MÉIOSE

TRUFFE MATURE



Veines blanches  
stériles MATERNEL (n)

Veines noires fertiles (spores)  
MATERNEL (n) + PATERNEL (n)

### Élément femelle

ASCOGONE ISSU D'UNE ECTOMYCORHIZE (n)



### Éléments mâles

MYCÉLIUM DU SOL (n)



et/ou

GERMINATION D'UNE SPORE (n)



et/ou

ECTOMYCORHIZE (n)



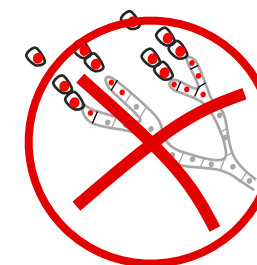
**TRÈS RARE**

et/ou

PLANTES HERBACÉES

et/ou

CONIDIES (n)



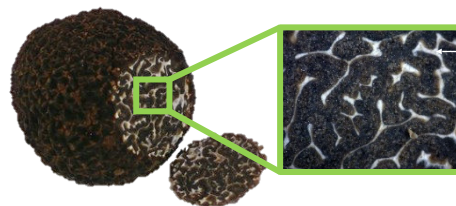
**JAMAIS  
RETROUVÉ CHEZ  
T. melanosporum**

FÉCONDATION

CARYOGAMIE

MÉIOSE

TRUFFE MATURE



Veines blanches  
stériles MATERNEL (n)

Veines noires fertiles (spores)  
MATERNEL (n) + PATERNEL (n)

**Franck Richard, Marc-André Selosse et al.** *données non publiées*

Expérience « pièges à truffe »

## Caractérisation génétique des spores avant de faire les pièges



↳ quelques génotypes des spores ont été retrouvés comme paternel mais aucun comme maternel

**Leonardi et al. 2019** *Environmental Microbiology*

Génotypage et analyse de *mating type* des mycorhizes et du mycélium du sol d'une truffière *Tuber borchii*

- ➔ plants inoculés à partir de mycélium
- ➔ pas d'apport de spores

**Résultats de production** : bonne production sans apport de spores

Oui mais,

**Résultats de génotypage** :

- ➔ ADN **MATERNEL** = ADN du mycélium de départ
- ➔ ADN **PATERNEL** = croisement d'ADN des mycéliums de départ

**↳ Les spores jouent bien un rôle dans la reproduction de la truffe**



# LA REPRODUCTION DE LA TRUFFE | Les hypothèses sur l'origine du paternel

Élément femelle

ASCOGONE ISSU D'UNE ECTOMYCORHIZE (n)



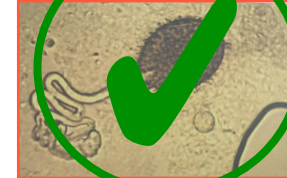
Éléments mâles

MYCÉLIUM DU SOL (n)



et/ou

GERMINATION D'UNE SPORE (n)



et/ou

ECTOMYCORHIZE (n)



TRÈS RARE

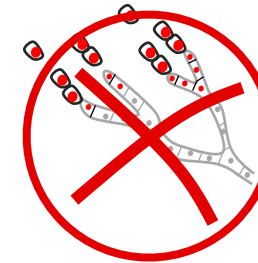
et/ou

PLANTES HERBACÉES



et/ou

CONIDIES (n)



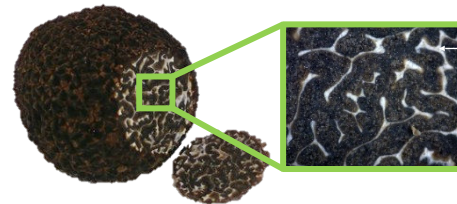
JAMAIS  
RETROUVÉ CHEZ  
*T. melanosporum*

FÉCONDATION

CARYOGAMIE

MÉIOSE

TRUFFE MATURE



Veines blanches  
stériles MATERNEL (n)

Veines noires fertiles (spores)  
MATERNEL (n) + PATERNEL (n)



Les observations issues des expérimentations :

- ECM **MAT-1** + ECM **MAT-2** ne veut pas forcément dire **reproduction sexuée** et **production** de truffes  
*Exemple : Rollainville*
- Les truffes sont hermaphrodite, oui mais...  
**1 truffe = 1 génotype** qui fera plus spécialement un MAT ou l'autre

↳ **Apporter des spores augmente les chances de rencontre entre 2 génotypes compatibles !**

**Importance de la banque de spores dans le sol !**

