

→ Comme cela a été plusieurs fois exposé dans les colonnes des derniers numéros du *Trufficulteur*, l'Agence Nationale de la Recherche (ANR) a financé le projet Systruf "Bases d'une gestion écologique durable des écosystèmes truffiers (producteurs de *Tuber melanosporum*)". Ce programme représentant le travail de plus de 30 personnes (étudiants et stagiaires compris) pour les prochains 4 ans (2010-2014) a débuté en Janvier 2010. Il est encore trop tôt pour avoir des résultats significatifs mais nous pouvons faire un premier bilan de certaines expériences qui ont été mises en place par les différents groupes de recherche.

Bilan des premières expériences du projet Systruf

PAR CLAUDE MURAT, clau.murat@nancy.inra.fr
FRANÇOIS LE TACON, JEAN-MARC OLIVIER ET MARC-ANDRÉ SELOSSE

Biodiversité microbienne des truffières

Communautés fongiques

Depuis quelques années les méthodes de séquençage de l'ADN ont connu une révolution permettant actuellement d'étudier la biodiversité fongique totale du sol. L'utilisation de ces techniques a montré une étonnante richesse fongique avec plusieurs centaines d'espèces de champignons dans quelques grammes de sol. Compte tenu de ces résultats nous avons utilisé la même approche pour faire une première analyse exploratrice des communautés fongiques présentes dans les sols des truffières de *T. melanosporum* et *T. magnatum*. L'un des résultats les plus intéressants est la mise en évidence d'une similarité entre les communautés fongiques trouvées dans ces deux truffières comparées à d'autres écosystèmes. Nous pouvons donc émettre l'hypothèse de la sélection par les différentes espèces de truffes d'une communauté fongique semblable. Afin de conforter cette hypothèse, nous avons réalisé dans

le cadre du projet Systruf un échantillonnage de six plantations de chênes pubescent inoculés avec *T. melanosporum* dans différentes régions (Nord de la Drôme, Vaucluse, Gard, Lot, Dordogne et Charente). Il est important de noter que nous avons choisi des truffières dans d'autres régions que la Lorraine et le Languedoc-Roussillon car le projet Systruf est bien un projet qui implique toutes les régions françaises. Pour chaque plantation six arbres bons producteurs (produisant régulièrement toutes les saisons) et six arbres non producteurs ont été échantillonnés. L'échantillonnage a été réalisé en juin 2010 et actuellement les sols sont en cours d'analyse.

Communautés bactériennes

Les communautés microbiennes jouent vraisemblablement un rôle important dans le développement des mycorhizes et des ascocarpes. À Rollainville, nous suivons les communautés bactériennes présentes et les communautés bactériennes

actives dans différents compartiments :

- sol de la truffière sans racines,
- racines et sol rhizosphérique,
- sol mycorrhizosphérique,
- mycorhizes,
- sol associé aux ascocarpes de *T. melanosporum*,
- ascocarpes de *T. melanosporum*.

Un premier prélèvement de l'ensemble de ces compartiments (sauf ascocarpe) a été effectué 48 heures après le marquage au $^{13}C_2$ du 17 juillet à Rollainville. Un second a été effectué le 28 septembre. Les analyses sont en cours sous la responsabilité de Sanjay Antony Babu de l'Université de Newcastle, recruté sur le contrat Systruf au 1^{er} octobre 2010 à l'UMR 1136.

Saprophytisme et exploitation du carbone et de l'azote par *Tuber melanosporum*

Mieux connaître la nutrition et l'exploitation du carbone et de l'azote par *T. melanosporum* est indispensable pour essayer de mieux maîtriser

son développement. Pour cela nous avons entrepris tout d'abord de doser l'abondance relative des isotopes naturels dans l'ascocarpe en isotope 15 de l'azote (^{15}N) et en isotope 13 du carbone (^{13}C). En effet cette abondance est différente en fonction des organismes et nous pouvons en partie différencier le carbone issu de la plante de celui issu de la décomposition de la matière organique. Pour le site de Château Vert (Vaucluse), les premiers prélèvements de feuilles "chêne vert", racines, mycorhizes, carpophores immatures et sols ont été effectués le 24 juin 2010 en vue de l'analyse de l'abondance naturelle des différents compartiments de l'écosystème truffier. Les mêmes prélèvements, mais sur noisetier ont été effectués à Rollainville début juillet 2010. Les résultats sont actuellement en cours d'analyse. Les carpophores des autres espèces fongiques, symbiotiques ou saprophytes, sont également prélevés et analysés.

Afin d'estimer la capacité de *T. melanosporum* à dégrader la matière organique, nous avons enrichi des feuilles de noisetier en isotopes stables (donc non dangereux !), en fournissant de la matière organique enrichie en ^{15}N et en ^{13}C , on pourra déterminer si ces isotopes se retrouvent dans la Truffe, ce qui impliquerait qu'elle puisse utiliser cette matière organique. Après incorporation de cette matière organique au sol, il sera possible de suivre la

Pépinière



Route de Saumur 37500 CINAIS

Tel/Fax 02 47 95 86 12

www.truffehouette.com

Crif



Plants truffiers

Tuber melanosporum

taille truffière



quantité de carbone et d'azote que les truffes assimileront et de déterminer ainsi la capacité de *T. melanosporum* à utiliser la matière organique morte. Pour cela nous avons choisi le noisetier (*Coryllus avellana*) pour la production d'une litière fortement enrichie en 13C et 15N. Des jeunes plantes de noisetier (hauteur 60-80 cm) ont été plantées dans des conteneurs. En mars, 620 conteneurs ont été placés dans deux cellules de marquage piloté par le CEA. Pendant 6 mois les arbres sont restés dans les cellules où ils ont été soumis à un apport continu de CO₂ enrichi en 13C et de nitrate enrichi en 15N. Les feuilles sénescentes seront collectées cet automne et leur composition chimique, biochimique et isotopique mesurée. En novembre, cette matière organique marquée sera incorporée au sol sous un noisetier producteur à Rollainville et à Château-Vert sous un chêne pubescent ou un chêne vert producteur. D'autre part pour déterminer réellement les photosynthétats de l'arbre transférés aux ascocarpes nous avons marqué à Rollainville un noisetier producteur au 13C à l'aide de CO₂ enrichi injecté dans une enceinte recouvrant tout l'arbre et montée grâce à un échafaudage (ure 2). Le premier marquage a eu lieu le 10 juillet dans des conditions difficiles (température élevée et sécheresse) et le second le 31 août dans d'excellentes conditions. Les flux potentiels et réels d'assimilation de CO₂ ont été mesurés en fonction de la hauteur et de l'azimut. Malgré les conditions difficiles, le marquage de juillet a été convenable dans les feuilles. Le transfert de carbone vers les parties souterraines est très lent. Nous n'avons pas observé de transfert après 48 h. Après 15 jours, les fines racines étaient significativement marquées au 13C. Le rapport isotopique 13C/12C avait commencé à se modifier dans les mycorhizes de *T. melanosporum* et *Boletus luridus*, mais de manière très faible. De nouveaux pré-

lèvements de feuilles de racines, de mycorhizes et peut-être d'ascocarpes seront effectués le 28 septembre. Pour éviter que les feuilles marquées qui tombent ne viennent perturber le dispositif, l'arbre a été entièrement recouvert d'un filet qui piège les feuilles.

En 2011, le marquage au 13C sera renouvelé à Rollainville et la même opération sera effectuée à Château Vert sur un chêne pubescent ou un chêne vert producteur.

À Rollainville et à Château Vert, nous avons commencé la détermination des enzymes excrétées par les mycorhizes de *T. melanosporum* et pouvant jouer un rôle dans le prélèvement de carbone ou d'éléments minéraux à partir de la matière organique du sol. Nous avons mesuré les activités Xylosidase, Glucuronidase, Cellobiohydrolase, Chitinase, Phosphatase, Leucine aminopeptidase et Laccase des mycorhizes de *T. melanosporum* prélevées en juin à Rollainville et à Château Vert. Nous avons détecté essentiellement une activité glucosidase. De nouveaux prélèvements seront effectués sur les deux sites à la fois pour les mycorhizes, les ascocarpes et les sols mycorrhizosphériques et non mycorrhizosphériques.

Grâce à l'étude du génome de *T. melanosporum* nous pouvons maintenant analyser l'expression dans les mycorhizes et les ascocarpes des gènes impliqués dans le métabolisme du carbone et de l'azote. Cela complètera les

expériences précédentes. Les premiers prélèvements de mycorhizes de *T. melanosporum* ont été effectués à Rollainville le 5 mai 2010 et à Château Vert le 24 juin. Les ARN messagers ont été extraits des mycorhizes et sont en cours d'analyse. Le même travail sera réalisé sur les ascocarpes prochainement. De nouveaux prélèvements ont eu lieu le 28 septembre à Rollainville.

Les autres plantes réservoirs de *Tuber melanosporum* dans les truffières

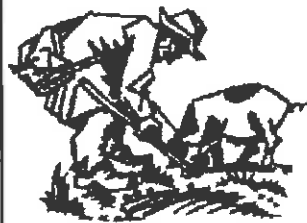
Par ailleurs, l'étude des plantes de la truffière comme hôte pour la Truffe continue : en effet, des plantes du brûlé ou des arbustes voisins peuvent abriter la truffe et, qui sait, contribuer à la nourrir. Nos premiers travaux révèlent une diversité de truffes d'espèces variées sur un petit arbrisseau discret et souvent négligé des truffières, l'Hélianthème (*Helianthemum oelandicum*) dont *T. melanosporum* ! L'importance d'un tel lien pour la Truffe reste à étudier. D'autres études ont lieu sur d'autres plantes – nous en saurons plus bientôt, car de nombreux échantillons ont été collectés !

Recherche de la présence de *Tuber indicum* en France

Comme cela nous a été demandé par l'ANR dans le cadre du projet Systruf, nous avons entrepris une recherche préliminaire pour dé-

tecter si une introduction accidentelle de la truffe chinoise, *T. indicum*, a eu lieu dans les écosystèmes truffiers français : en effet, cela a été démontré en Italie. La présence de *T. indicum* dans l'écosystème de *T. melanosporum* pourrait poser plusieurs problèmes. Il s'agit en effet de deux espèces très proches et une hybridation entre elles ne peut pas être exclue. D'autre part, des expériences in vitro ont montré que *T. indicum* est très compétitive. L'introduction de cette espèce exotique peut donc représenter un risque écologique pour *T. melanosporum*. Cette partie du projet est réalisée en collaboration avec la société ALCINA, qui a commencé les échantillonnages. Concernant ce projet, si vous voulez proposer des sites pour la recherche de *T. indicum* vous pouvez contacter Claude Murat (coordonnées ci-dessous).

En conclusion, après six mois d'existence le projet Systruf a bien débuté et de nombreuses expériences ont été mises en place. Les premiers résultats devraient commencer à être disponibles au début de l'année prochaine. Nous ne manquerons pas de faire part aux lecteurs du Trufficulteur des résultats les plus importants. Les équipes de Systruf seront aux côtés de la FFT et de la Fédération Régionale Languedoc-Roussillon aux Journées d'Uzès (15 et 16 janvier 2010).



PÉPINIÈRE WOLLNER

www.pepiniere-wollner.fr

Plants truffiers

mycorhizés par *T. melanosporum*, certifiés CTIFL
La méthode mycélienne : procédé breveté

PLANTATION RIBES

Conseil en trufficulture

Visite de notre plantation innovante

Nina WOLLNER - 22, bd de l'Artilier - 66390 BAIXAS

Tél. 04 68 64 13 51 - Port. 06 85 54 36 30

E. mail : n.wollner@libertysurf.fr

Roger RIBES - 101, chemin de la Glacière - 66000 PERPIGNAN

Tél. 04 68 22 26 46 (H.R.) - Port. 06 22 29 88 13