

Des truffes nées de pères inconnus

FICHE QUESTIONS SUR... n° 06.04.Q04

Mots clés : *tuber magnatum* - *tuber melanosporum* - *tuber uncinatum* - brûlé

Si les truffes sont des trésors de saveurs, elles recèlent également bien des surprises au plan biologique, comme les mécanismes de germination de leurs spores, ou les liens ténus mais fondamentaux qu'elles entretiennent avec les arbres, ou encore avec les plantes herbacées alentour.

Leur reproduction sexuée commence à être élucidée. Mais, pour l'heure, on ne trouve pas de trace du père, autre que génétique ! Cette fiche, qui aborde ce point intrigant, synthétise un article paru dans le numéro 568 de la revue *La Recherche* (<https://www.larecherche.fr/les-truffes-naissent-elles-de-p%C3%A8re-inconnu>), avec l'aimable autorisation de la revue et des deux auteurs.

Depuis la naissance de la trufficulture (XIX^e siècle), la truffe est un joyau de notre gastronomie. Pourtant, sa production a énormément baissé : un millier de tonnes par an vers 1900, en France, contre quelques dizaines de tonnes aujourd'hui. La France, l'Italie et l'Espagne fournissent 99 % de la production mondiale actuelle. L'explication de ce déclin n'est pas facile : changement de climat, baisse de l'activité rurale ?

Les truffes ont longtemps conservé leurs secrets. Depuis une vingtaine d'années, des biologistes – surtout français et italiens – se sont intéressés à ce champignon apprécié mais méconnu. Des études génétiques ont notamment permis de mieux comprendre sa reproduction, et ont révélé la présence génétique d'un père, qui reste pour l'heure introuvable sur le terrain ! Le rôle des animaux dans la dissémination des spores et leur germination a aussi été précisé. Enfin, le lien avec les arbres et les plantes herbacées s'est avéré plus fort qu'on ne l'imaginait. Autant de pistes pour découvrir un champignon à la biologie complexe et originale.

Qu'est-ce vraiment que la truffe ?

Bien qu'il existe plus de 180 espèces de champignons souterrains du genre *Tuber* (toutes présentes dans l'hémisphère Nord), nous en consommons essentiellement trois :

- la truffe blanche du Piémont (*Tuber magnatum*), surtout collectée en Italie du Nord ;
- la truffe noire du Périgord (*Tuber melanosporum*), la plus méridionale et la plus prisée ; en France, elle pousse naturellement dans le Sud-Ouest et le Sud-Est ;
- la truffe noire de Bourgogne (*Tuber uncinatum*), qui s'étend au Nord de la France.

En 2022, leurs prix au kilogramme avoisinent respectivement 5 000 €, 1 000 € et 400 €.

La partie charnue, que nous consommons, est en fait l'organe reproducteur (ou fructification) qui comporte des spores destinées à être dispersées. Souterraine, sa situation est paradoxale car les spores n'ont pas accès au vent, contrairement aux autres champignons qui libèrent leurs spores dans l'air. La truffe a une stratégie de dispersion complètement différente, reposant sur l'ingestion par des animaux : les spores, à paroi épaisse, résistant à la digestion, sont dispersées dans les excréments¹. Les fructifications se développent donc quand la nourriture est peu abondante, lorsque les animaux fouillent le sol pour se nourrir : à l'automne pour la *Tuber melanosporum*, et jusqu'en hiver pour la *Tuber uncinatum*. Pour mieux séduire les disperseurs, les truffes sont devenues odorantes et comestibles.

Comment repérer les truffes ? Une légende tenace attribue l'attraction des cochons et des sangliers envers elles à l'émission d'une hormone sexuelle mâle, l'androstérone. En 1990, des chercheurs² ont enterré des leurres imprégnés d'androstérone ou de sulfure de diméthyle ; seuls les seconds – qui n'ont rien de sexuel – sont détectés par les cochons et les chiens³. Ce composé chimique volatil présent dans de nombreuses truffes – ou le bis(méthylthio)méthane dans la truffe du Piémont – contribue à l'odeur si caractéristique du

¹ S. SCHICKMANN et al., *Oecologia*, 170, 395, 2012.

² Équipe de Michel KULIFAJ, université de Toulouse.

³ T. TALOU et al., *Mycol. Res.*, 2, 277, 1990.

champignon. Les produits industriels *truffés* ou à *l'arôme de truffe* ne contiennent d'ailleurs souvent que ces composés.

Autre curiosité : la production naturelle de la truffe ne provient pas de gènes particuliers, mais uniquement de l'activité accrue de ceux qui sont présents chez de nombreux autres champignons⁴.

Les invertébrés sont de meilleurs disperseurs que les mammifères

Si l'on considère la faible valeur alimentaire des fructifications – dont la masse est dominée par des spores indigestes – on peut se demander si la truffe n'abuse pas les animaux par son parfum. En mesurant les grandes surfaces de truffières développées par l'humain, pour qui la truffe n'est pourtant qu'un condiment, on voit bien l'ampleur qu'a prise aujourd'hui cette manipulation par les truffes.

Outre les sangliers et les rongeurs, de nombreux invertébrés s'en nourrissent aussi, voire en font leur repas exclusif. Une grosse mouche (*Suillia gigantea*) y pond ses œufs : l'insecte peut servir à repérer les fructifications, au risque que celles-ci soient véreuses. Le coléoptère *Liodes cinnamomea* dévore les truffes et y creuse des cavités profondes, au grand dam des trufficulteurs qui utilisent des pièges contenant des phéromones sexuelles, pour détourner l'insecte. D'autres invertébrés font de la truffe un complément à leur alimentation : les limaces, en particulier *Deroceras invadens* abondante en Europe, ont un rôle important dans la dissémination des spores⁵. Nous avons montré la présence d'ADN de truffe dans le tube digestif de limaces ramassées dans les truffières, représentant parfois 100 % de l'ADN de champignons détectés, alors qu'il n'y en a pas dans celui des individus collectés sur des sites éloignés. Cela suggère que les spores restent vivantes malgré l'ingestion. Leur étude au microscope à force atomique montre que la paroi de ces spores est modifiée : elle est plus lisse et de composition moins homogène que celle de spores intactes ou ingérées par des souris. Nous avons aussi montré que le transit dans le tube digestif de la limace accroît la capacité des spores à germer, sans doute à cause d'une meilleure action des enzymes digestives du mollusque sur leur paroi. En effet, pour se nourrir, la limace racle ses aliments à l'aide d'une langue râpeuse, la radula, ce qui libère sans doute mieux les spores que lors de la mastication par la souris, les enzymes digestives ont donc un accès plus direct à la paroi, et les modifications résultantes améliorent probablement la germination des spores.

Cette meilleure maturation des spores par des invertébrés (comme les limaces) expliquerait une autre particularité de la truffe. L'étude de la variabilité génétique de ce champignon⁶ a en effet révélé que, si les individus voisins sont génétiquement proches, les différences augmentent vite avec la distance, dès le premier mètre : cela suggère que la dissémination s'effectue surtout à courte distance grâce aux invertébrés. En effet, les dispersions des spores par les mammifères se faisant sur de plus grandes distances, elles devraient homogénéiser les populations ; en revanche, avec les invertébrés comme les limaces, la maturation des spores est plus efficace, et un transport moins loin conserve des différenciations génétiques à faible distance. Les mammifères seraient des utilisateurs indécidés des truffes, en tout cas peu utiles !

L'arbre est la source majeure de la biomasse des fructifications

Transitoire, la fructification est nourrie et développée par la partie pérenne du champignon : les hyphes, filaments souterrains microscopiques dont le réseau forme le mycélium. On sait que les truffes poussent sous les chênes, les charmes, les noisetiers, voire les pins. En 1885, le biologiste allemand Albert Frank observa que certains filaments de truffe sont associés aux racines des arbres, et nomma mycorrhize cette structure mêlant filaments fongiques et racines (du grec *mukes*, champignon, et *rhiza*, racine).

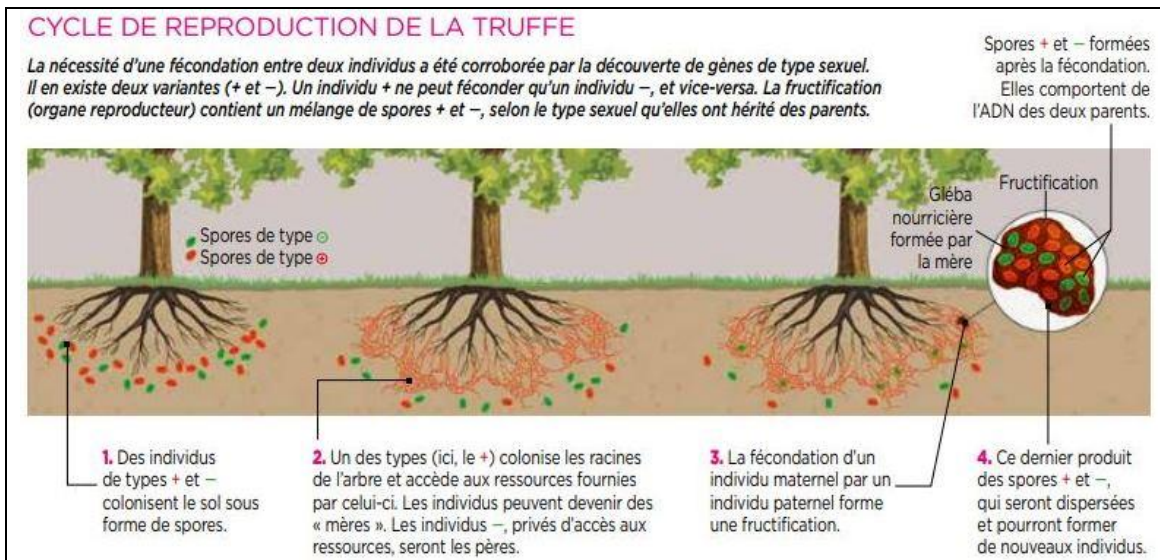
La mycorrhize est vitale pour les deux partenaires : le champignon explore le sol et y prélève de l'eau et des sels minéraux (azote, potassium et phosphore) qu'il partage avec la plante, tandis que celle-ci lui fournit du sucre et sans doute des vitamines. La fructification des truffes est reliée aux mycorrhizes par des filaments très ténus : on a même un temps cru qu'elle perdait rapidement toute connexion au reste du mycélium et se nourrissait directement de la matière organique morte du sol. Toutefois, des travaux réalisés entre 2013 et 2018⁷ ont prouvé que si l'on marque au carbone 13 (isotope rare) la photosynthèse d'un arbre, on retrouve

⁴ Claude MURAT et al., Université Nancy, Nat. Ecol. Evol., 12, 1956, 2018

⁵ F. ORI et al., Fungal Biol., 125, 796, 2021.

⁶ Elisa TASCHEN et al., Mol. Ecol., 25, 5611, 2016

⁷ François LE TACON et al., Inrae Nancy, PLoS ONE, 8, e64626, 2013



ce carbone marqué dans les mycorhizes, puis dans les fructifications développées sous l'arbre. En revanche, si l'on introduit dans le sol des feuilles mortes enrichies en carbone 13, les fructifications n'en contiennent pas. Donc l'arbre (via les mycorhizes) est bien la source majeure de la biomasse des fructifications. En 2018, ces travaux ont culminé avec l'observation du lien de la fructification au mycélium : un spéléologue, intrigué par de petites boules noires pendant du plafond d'une grotte de l'Oise, a en fait découvert des petites fructifications précisément suspendues par ces liens.

Les spores sont le produit de la fécondation entre deux individus

Comment savoir à quel individu appartient une mycorhize ou une fructification ? La réponse a été donnée via des techniques génétiques révélant des portions du génome variables entre individus : les microsatellites. L'analyse de ces derniers a montré que les mycorhizes voisines des fructifications semblent formées par le même individu que celui de la fructification, à un détail près : des extractions plus destructives, détruisant la paroi résistante des spores, ont révélé la présence de l'ADN d'un second individu.

Les spores sont donc le produit de la fécondation entre deux individus. Le premier – considéré comme la mère – forme et nourrit la fructification, et son mycélium est présent sur les mycorhizes voisines où il se nourrit. Le second ne laisse que des gènes : c'est le père.

Père et mère sont génétiquement très proches, et le père est donc sans doute dans l'environnement immédiat de la mère. Pourtant, les tentatives pour retrouver les traces du père sont restées vaines, car on ne détecte jamais son ADN sur les mycorhizes voisines. Nous nous sommes donc demandé si l'écologie des pères n'était pas un peu différente. Il existe, en effet, un phénomène qui suggère que le mycélium de la truffe interagit avec de petites plantes herbacées : autour des arbres "produisant" de la truffe, apparaît une zone de végétation rabougrie, peu dense et faite d'herbes mal développées. On l'appelle *brûlé*, car elle semble incendiée : elle est composée de la même végétation qu'aux alentours, mais moins dense et avec des individus plus chétifs. On a cherché⁸ si la truffe interagissait avec les racines de ces plantes, et si l'on trouvait là ces pères invisibles par ailleurs ; après avoir détecté de l'ADN sur les racines de ces plantes, nous avons eu recours à une méthode de coloration spécifique des filaments de truffe : l'hybridation *in situ* en fluorescence. Dans cette méthode, un fragment d'ADN – dont la séquence est propre à l'espèce recherchée – est marqué à l'aide d'un colorant fluorescent, puis déposé sur des racines fines ; là, après un traitement adapté, il s'attache à des fragments d'ADN présentant une séquence identique (s'il y en a) et les rend fluorescents. Cette méthode a révélé des filaments de truffes colonisant les racines et grandissant entre les cellules racinaires sans y pénétrer. Il ne s'agit cependant pas de mycorhizes : la structure n'est pas organisée, les filaments de truffe sont plutôt rares et épars, et aucun symptôme ni déformation n'affecte les racines. On parle d'une



⁸ Laure SCHNEIDER-MAUNOURY et al., New Phytol., 225, 2542, 2019

colonisation endophyte. Pour étudier d'éventuels liens avec les truffes, des expériences ont mis des plantes herbacées en contact avec des chênes verts, mycorhizés ou non par la *Tuber melanosporum*.

Il apparaît que les hyphes de truffe noire sont deux fois plus abondants dans le sol en présence de plantes herbacées ; la truffe réduit de 40 % le développement des plantes et les appauvrit en azote et en phosphate⁹.

En présence de mycélium de truffe, la germination de mauvaises herbes est réduite de près de 25 %.

Notre maîtrise de la production de truffe reste imparfaite

Cette interaction – sans doute parasitaire – avec les plantes herbacées a complexifié la vision de l'écologie de la truffe : on ne connaît pas encore en détail les échanges, ni leur rôle dans l'alimentation du champignon, mais cela explique l'origine du brûlé.

Les pères se trouvent-ils sur les racines des plantes herbacées, comme nous l'espérons ? Les typages génétiques n'ont détecté malheureusement que les ADN des mères voisines, et non ceux des pères !

Comment donc expliquer que ces pères soient indétectables, alors que – génétiquement proches des mères – ils devraient vivre à leurs côtés ? Bien que d'autres compartiments du sol restent à explorer, les études réalisées sur des populations de truffes *melanosporum* et *uncinatum* suggèrent une piste : le suivi de parcelles truffières a révélé que les individus femelles forment souvent plusieurs fructifications et peuvent persister plusieurs années, ce qui suggère que leur mycélium est bien établi, pérenne et couvre plusieurs dizaines de centimètres carrés. À l'inverse, la plupart du temps, les pères ne sont détectés que sur une seule fructification et durant une seule année. Pour expliquer cette fugacité, nous avons proposé que des spores restées dans le sol fécondent les grands individus déjà établis. Ces petites germinations (de tout petits mycéliums, peut-être même pas connectés aux plantes voisines) n'auraient pas les ressources pour nourrir une fructification, d'autant que, sur place, la concurrence des individus déjà établis doit être forte ; mais elles peuvent se comporter en mâles, avant de disparaître après la fécondation.

Des examens du sol, en fin de saison, ont relevé que près de 40 % des fructifications restent dans le sol, non récoltées¹⁰ sans que l'on sache pourquoi : ont-elles été oubliées par les chiens des trufficulteurs, ou ont-elles mal mûri et n'ont jamais émis d'odeur ? Mais elles accumulent des spores dans le sol, susceptibles de germer et de féconder leurs grands voisins. Cela expliquerait pourquoi les pères et les mères sont génétiquement proches, car ces spores non déplacées ont souvent pour mère l'individu qu'elles fécondent.

Ces nouvelles découvertes enrichissent notre vision de ces champignons, qui, au cours de leur évolution, ont mis en place de nombreux liens d'entraide ou d'exploitation avec des espèces végétales ou animales. Le plus récent de ces liens reste très aléatoire : celui à l'Homme, car notre maîtrise de la production de truffe demeure imparfaite. Bien sûr, l'inoculation de la truffe sur de jeunes arbres, avant leur installation en truffière, a été un progrès : 80 % des *melanosporum* et *uncinatum* proviennent aujourd'hui de la plantation de tels arbres, et l'inoculation de la truffe du Piémont vient d'être maîtrisée par des équipes de l'Inrae.

Mais il reste à faire. Les travaux récents, qui suggèrent un rôle des invertébrés dans la germination des spores, ou l'importance des herbacées dans la nutrition du mycélium, permettront peut-être d'utiliser demain les interactions de la truffe avec les organismes qui les entourent.

Marc-André SELOSSE, membre de l'Académie d'Agriculture de France, et Liam LAURENT-WEBB, tous deux du Muséum National d'Histoire Naturelle

février 2022

Ce qu'il faut retenir :

La truffe est un champignon nourri par les racines des arbres, sur lesquels il forme des mycorhizes, et par les racines des plantes herbacées qu'il colonise de façon diffuse (endophytes) et parasite. Cette dernière interaction forme le brûlé, zone dévégétalisée caractéristique de la présence de mycélium de truffe.

La partie charnue et comestible est un organe portant les spores, formé par la fécondation entre de grands individus en place et, semble-t-il, des spores non dispersées en germination. La moitié au moins des spores est dispersée par les animaux, les invertébrés ayant une plus grande efficacité que les mammifères.

⁹ E. TASCHEN et al., Plant Soil, 446, 577. 2020.

¹⁰ Laure SCHNEIDER-MAUNOURY et al., Mycorrhiza, 29, 663, 2019