



Figure : Coupe de *T. melanosporum* illustrant la présence massive de bactéries (en rouge) à l'intérieur des ascocarpes de truffe (mycélium fongique en bleu). Photographie obtenue par hybridation in situ à l'aide d'un microscope confocal à balayage.

## **Functional characterization of bacterial communities of the black truffle *Tuber melanosporum* along its life cycle**

*Responsable scientifique* : Aurélie DEVEAU, UMR Interactions Arbres/Micro-organismes (IAM)

Partenaires Labex : UMR– Ecologie et Ecophysiologie Forestières, (EEF), UR Biogéochimie des Ecosystèmes Forestiers (BEF)

Collaborations : R. Splivallo (Frankfort University) , UMR Laboratoire Agronomie et Environnement. (LAE)

---

### **Contexte —**

En se développant sous terre, la truffe est en contact permanent avec un très grand nombre de bactéries, dont certaines sont capables de coloniser la surface et les tissus internes du carpophore de la truffe. Les truffes abriteraient ainsi des communautés bactériennes extrêmement denses et complexes– jusqu'à 100 millions de bactéries par gramme de truffe. Les groupes bactériens colonisant la surface des truffes changent au cours du processus de maturation, suggérant des interactions fortes entre les bactéries et la truffe. Comment expliquer ces phénomènes de sélection ? Ces bactéries sont-elles de simples opportunistes qui se nourrissent de la truffe ou bien coopèrent-elles avec le champignon et participent-elles à son développement, en améliorant par exemple sa nutrition ?

### **Objectifs —**

Les objectifs de la présente étude sont doubles : d'une part comprendre quels sont les mécanismes menant à la sélection de groupes particuliers de bactéries au sein de la truffe et d'autre part comprendre le rôle potentiel de ces bactéries dans le développement et la maturation de la truffe noire.

#### **Démarche —**

Une collection de souches bactériennes isolées à partir de carpophores de truffe, du sol environnant et d'ectomycorhizes –organe symbiotique reliant le champignon à la plante – sera caractérisée du point de vue taxonomique (identification des espèces) et fonctionnel. A l'aide de tests d'activité, nous nous intéresserons plus particulièrement à l'impact potentiel des ces différentes souches bactériennes sur le développement de la truffe, sa nutrition, la production d'arôme et la dissémination des spores.

#### **Résultats marquants —**

- 330 souches bactériennes ont été caractérisées au niveau taxonomique. Ces souches se répartissent en 31 genres bactériens appartenant à 7 classes.
- Plusieurs facteurs de structuration potentiels des communautés bactériennes ont été identifiés: l'existence de spécificités métaboliques des bactéries de la truffe, une capacité chitolytique accrue qui est corrélée avec la libération des spores et enfin une plus forte résistance au Cu et à l'Al des souches bactériennes de la truffe qui est corrélée avec l'accumulation importante de ces métaux dans la truffe.
- Aucune des bactéries isolées n'a la capacité de fixer l'azote atmosphérique, contrairement aux bactéries isolées de la truffe blanche *T. magnatum*
- Certaines bactéries participeraient à l'arôme de la truffe.
- Un composé qui permet d'éliminer les bactéries associées au mycélium de *T. melanosporum* a été identifié. Des études préliminaires indiquent que ce composé stimulerait la croissance du champignon.

#### **Principales conclusions incluant des points-clés de discussion —**

Les données que nous avons obtenues suggèrent que les bactéries qui colonisent les ascocarpes de la truffe noire ont des capacités métaboliques particulières et une résistance accrue aux métaux lourds qui sont naturellement accumulés dans la truffe. Ces éléments pourraient être impliqués dans la sélection des communautés bactériennes de la truffe. Il reste à savoir si ces bactéries jouent un rôle dans le développement de la truffe. Nos résultats suggèrent que certains de ces bactéries pourraient agir à deux niveaux : d'une part en participant à la libération des spores grâce à leur activité chitolytique et d'autre part via la production d'un facteur de croissance qui stimule le développement du champignon. Enfin certaines bactéries auraient un rôle dans l'élaboration de l'arôme complexe de la truffe.

#### **Perspectives —**

La modélisation des interactions entre micro-organismes au sein de la truffe est en cours et va être poursuivie par la biais du projet collaboratif TruFinet (PEPS Mirabelle) établi entre l'INRA, un groupe de statisticiens de l'IECL et du CRAN et un informaticien de l'INRIA.

D'autre part, des travaux additionnels vont être menés afin de confirmer les résultats préliminaires concernant le facteur de croissance bactérien identifié. Outre une plus complète caractérisation de sa production et de son effet, nous testerons s'il agit également sur la truffe blanche *T. magnatum*.

#### **Vlorisation scientifique —**

##### *Publications :*

1. Vahdatzadeh M., Deveau A., Splivallo R. (2015) The role of the microbiome of truffles in aroma formation: a meta-analysis approach. *Applied Environmental Microbiology*. 81(20) :6946-52.
2. Splivallo, R., Deveau, A., Valdez, N., Kirchhoff, N., Frey-Klett, P., Karlovsky, P. (2015). Bacteria associated with truffle-fruiting bodies contribute to truffle aroma. *Environmental Microbiology*, 17 (8), 2647-2660.
3. Deveau A., Antony-Babu S., Le Tacon F., Robin C., Frey-Klett P., Uroz S. (2016) Temporal changes of bacterial communities in the *Tuber melanosporum* ectomycorrhizosphere during ascocarp development. *Mycorrhiza Journal*. 26 (5), 389-399.
4. Uroz, S., Buée, M., Deveau, A., Mieszkin, S., Martin, F. (2016). Ecology of the forest microbiome: Highlights of temperate and boreal ecosystems. *Soil Biology and Biochemistry*, 103, 471-488.

*Three additional articles are underway*

Scientific conference :

Deveau A., Splivallo R., Kirchoff N., Nicolitch O., Bontemps C., Antony-Babu S., Le Tacon F., Frey-Klett P., Kohler A., Uroz S. The Black Truffle : more than a niche for bacteria ? International Mycology Conference, Bangkok, Session « Fungal-Bacterial Interaction », 3- 8 aout 2014. (Invited talk)

Deveau A., Taxonomic and functional characterization of the truffle microbiome MEM INRA meeting, 18.01.2017 (Invited talk)

Deveau A., Splivallo R., Palin B., Niccolitch O., Kohler A., Uroz S. Black truffles as a model in microbial ecology to analyse fungal-bacterial interactions. ISME Conference. 20-27.08.16. Montreal Canada. (Selected talk)

Conférence grand public:

Journées techniques des trufficulteurs de la région Est, 3-4 avril 2014 : « Les bactéries, des partenaires méconnus de la truffe »

Fête de la Truffe Jarnac, 21-22 janvier 2017 : « Les bactéries, des partenaires méconnus de la truffe »

**Effet Levier —**

Ce premier projet a permis la mise en place d'une collaboration avec R. Splivallo qui se poursuit activement et l'obtention d'un financement additionnel (Projet PEPS Mirabelle Trufinet).