



[www.mycotree.co.nz](http://www.mycotree.co.nz)



# La culture des champignons ectomycorhiziens comestibles (CEC): un art encore très jeune mais plein de promesses



Alexis Guerin-Laguette

Mycotree C/- Southern Woods Nursery, 1002 Robinsons Road, RD8,  
Christchurch, 7678, New Zealand



Mycorhizes 2022, 21 octobre - Centre d'étude de la forêt, Université Laval, Québec

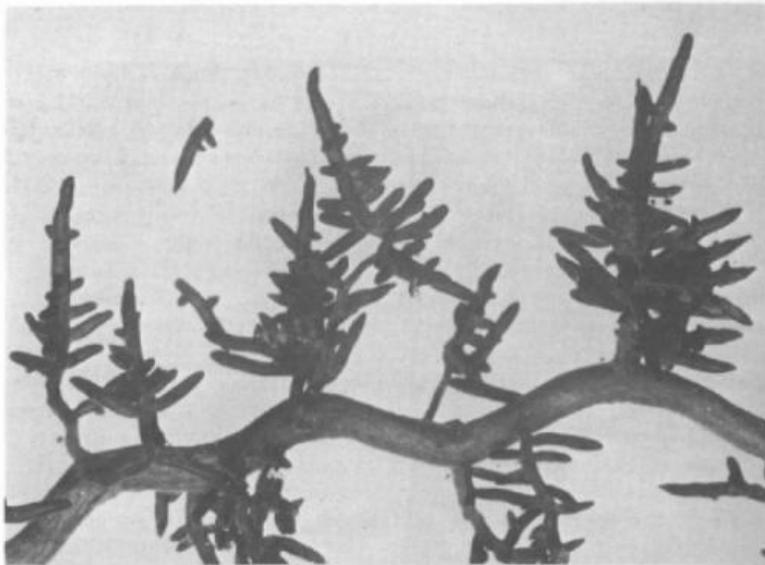


Fig. 9. Détail du système racinaire du plant de la figure 8 : mycorhizes de *T. melanosporum* très ramifiées.

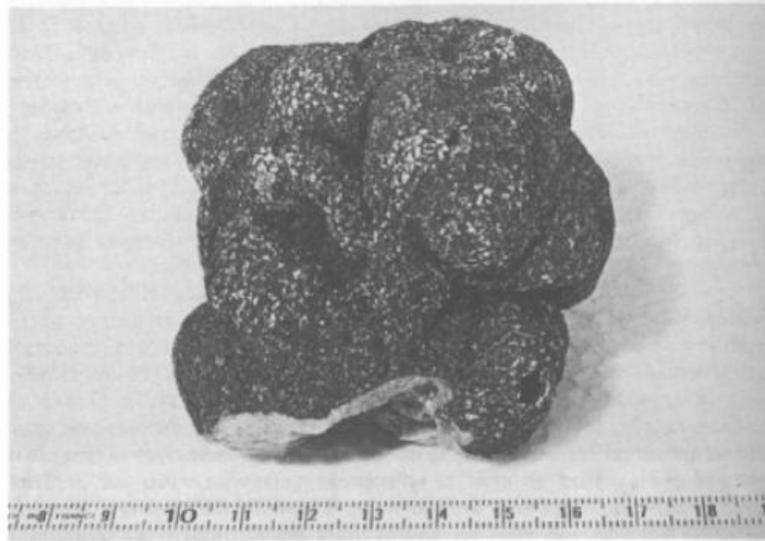


Fig. 10. Première truffe (*T. melanosporum*) produite par un arbre inoculé selon le procédé I.N.R.A.-A.N.V.A.R. (Noisetier de quatre ans et demi ; région de Chablis, Yonne, France).

Mushroom Science X (Part II)  
 Proceedings of the Tenth International Congress  
 on the Science and Cultivation of Edible Fungi  
 France, 1978.

# Un domaine qui fête ses 45 ans!

APPLICATION PRATIQUE DE LA SYMBIOSE ECTOMYCORHIZIENNE :  
 PRODUCTION A GRANDE ECHELLE DE PLANTS MYCORHIZES  
 PAR LA TRUFFE (*TUBER MELANOSPORUM* VITT.).

**1977:** Première culture de *Tuber melanosporum* sous noisetier grâce à la mycorhization contrôlée

Chevalier and Grente (1978) *Mushroom Science X, Part II*, 483-505

on se contente de planter l'arbre en zone propice et d'attendre l'implantation spontanée du champignon.

Les deux méthodes ont donné des résultats ; ceux de la culture indirecte ont parfois été spectaculaires (TALON, 1810 ; ROUSSEAU, 1850, in FERRY de BELLONE, 1888 et CHATIN, 1892) ; ceux de la culture directe sont sujets à caution : tous les résultats positifs ont été obtenus en zone truffière où devaient abonder les germes de la Truffe et les essais ne comportaient pas de témoins. Jusqu'à ces dernières années, la culture indirecte a été le mode de trufficulture le plus répandu en France ; en fait, on n'a cultivé que l'arbre hôte, comptant sur la présence fortuite de germes dans le sol pour ensemercer le champignon. Il n'est pas étonnant que les résultats aient été fort aléatoires.



# De plus en plus d'espèces de truffe cultivées, un peu partout dans le monde



*Tuber  
melanosporum*



*Tuber  
borchii*

Canterbury, Ile du Sud, Nouvelle Zélande

# Des espèces de champignons Basidiomycètes sont également devenues cultivées

Travail pionnier de [Poitou et al. \(1984\) \*PHM Revue Horticole\*, 244, 65–68.](#)

Des bolets de pin, puis des lactaires délicieux cultivés au champ à partir de 1982/1983.



# Suivi d'autres travaux dans les années 1990/2000

France



Culture non contrôlée!  
octobre 1997, INRA Montpellier, France  
1,5 ans après inoculation. *Can J Mic, 46, 790-799.*

Premier succès en Nouvelle Zélande en  
2002 par Wang Yun et al.



Nouvelle-Zélande

Shag Point, Otago, Ile du Sud

# Espèces de CEC cultivées au champ

*Lactarius deliciosus, L. vividus, L. hatsudake, Suillus luteus, Rhizopogon rubescens, R. roseolus, Cantharellus anzutake...*

*Tuber melanosporum, T. indicum, T. formosanum, T. brumale, T. aestivum, T. borchii, T. macrosporum, T. lyonii, T. canaliculatum, Terfezia claveryi, T. boudieri, T. crassiverrucosa, Picoa lefebvrei, et...*

# 2019: première culture de *Tuber magnatum*



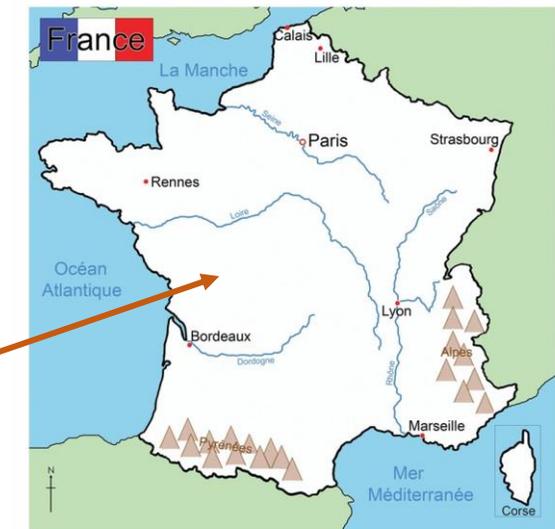
Novembre 2021



Mycorhizes de *T. magnatum*.

Bach et al (2021)  
*Mycorrhiza*, 31, 383–388

Culture de *T. magnatum* dans une plantation de chênes de l'ouest de la France, établie en mars 2015 et produisant depuis 2019.



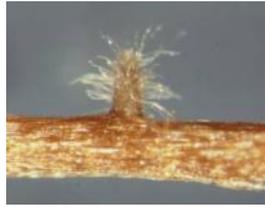
# Succès au champ, une “récolte”

Pour toutes les espèces, un cycle de culture  
en cinq étapes



# Cinq étapes clé

## 1. Synthèse mycorhizienne



Racine de pin

+



Mycélium/Spores

=



Jeune mycorrhize

→



## 2. Acclimatation



Plant mycorrhizé

↓



## 3. Plantation et suivi!

←



Persistence des mycorrhizes

←



## 4. Début de fructification



## 5. Vergers 'performants'





Review

## Successes and challenges in the sustainable cultivation of edible mycorrhizal fungi – furthering the dream

Alexis Guerin-Laguet

*Microbial Systems for Plant Protection, The New Zealand Institute for Plant & Food Research Limited, 74 Gerald Street, Lincoln 7608, New Zealand*

Open Access:

[Successes and challenges in the sustainable cultivation of edible mycorrhizal fungi – furthering the dream \(jst.go.jp\)](https://jst.go.jp)



**Même pour les espèces largement 'cultivées'**

**Chaque étape clé nécessite des recherches approfondies pour améliorer leur fiabilité, efficacité, et durabilité.**

**Quelques exemples**

# Etape1: Synthèse mycorhizienne

Environnement:  
biotique and abiotique

inoculum + racine non colonisée → mycorhize “cible”



Inoculum végétatif (culture pure, mycélium, mycorhizes) ou sporal

Pour les applications au champ, il est essentiel de maîtriser cette étape en conditions ‘naturelles’, propres (gnotoxénique) mais non-aseptiques (*in vitro*)

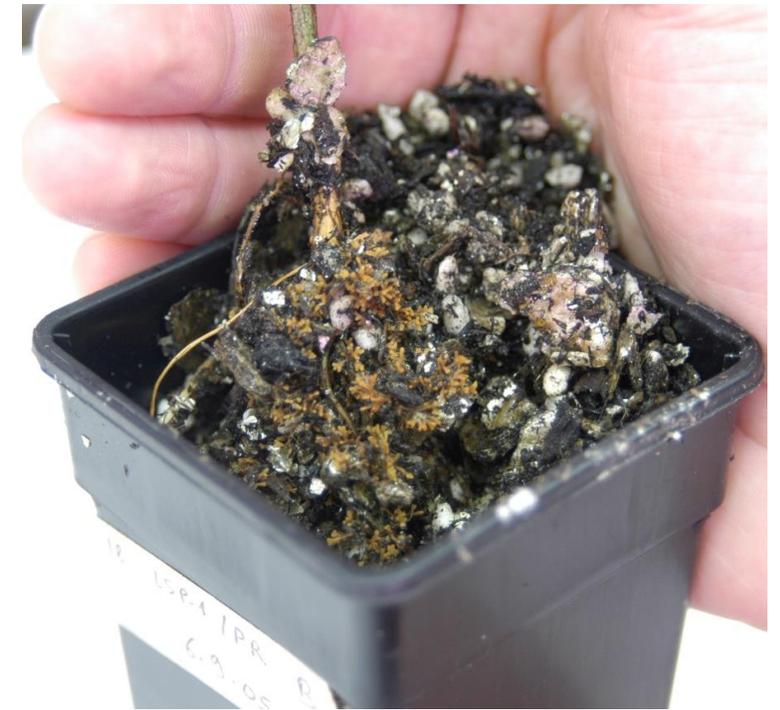
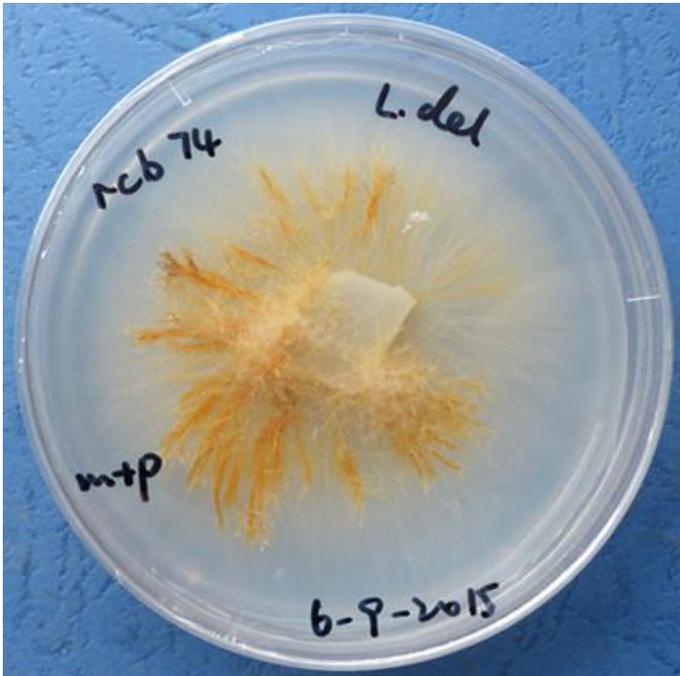
## Etape1: Synthèse mycorhizienne, ce que j'ai appris

*Lactarius sect. Deliciosi* – Lactaires à lait rouge

En conditions de pépinières, le mycelium cultivé ('blanc'),  
ou des mycorhizes excisées, fonctionnent mais pas les  
spores...

## Exemple de *Lactarius sect. Deliciosi*

Inoculum végétatif : **cultures mycéliennes pures** sur différents substrats (agar, liquide, 'inoculum solide') et nutriments: MMN+PDA (m+p)





*Lactarius deliciosus* - Saffron milk cap -  
Songrugu

*Lactarius vividus* – Lianglirugu

Thèse doctorale de Wang Ran, équipe de Yu FQ, KIB-CAS, Kunming, Chine



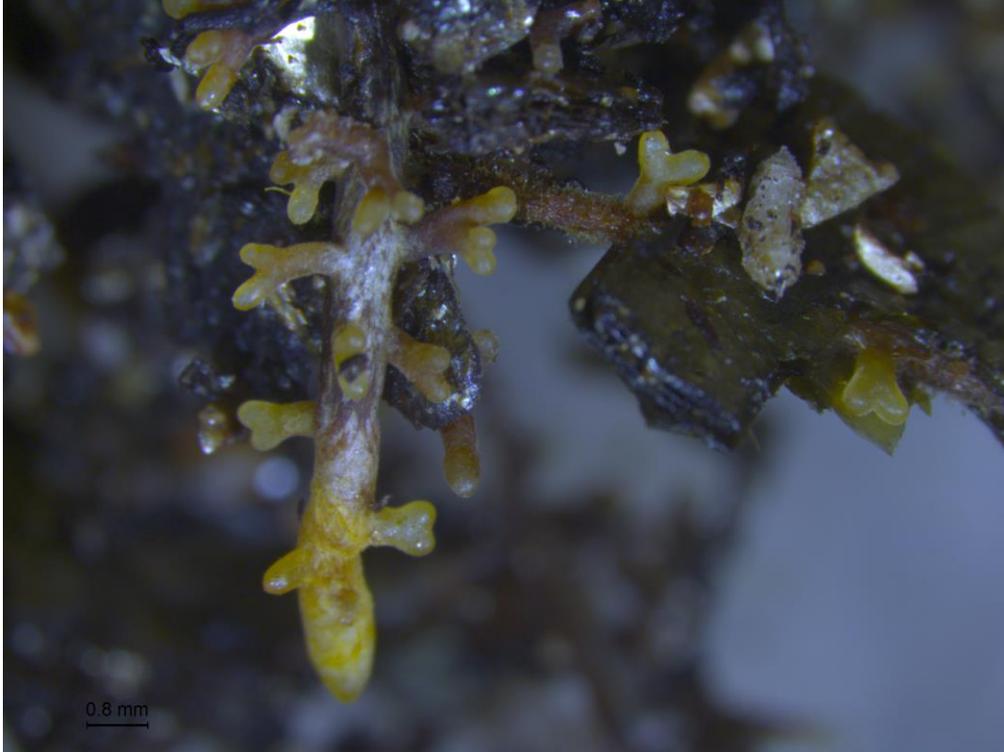
*L. hatsudake x Pinus yunnanensis*

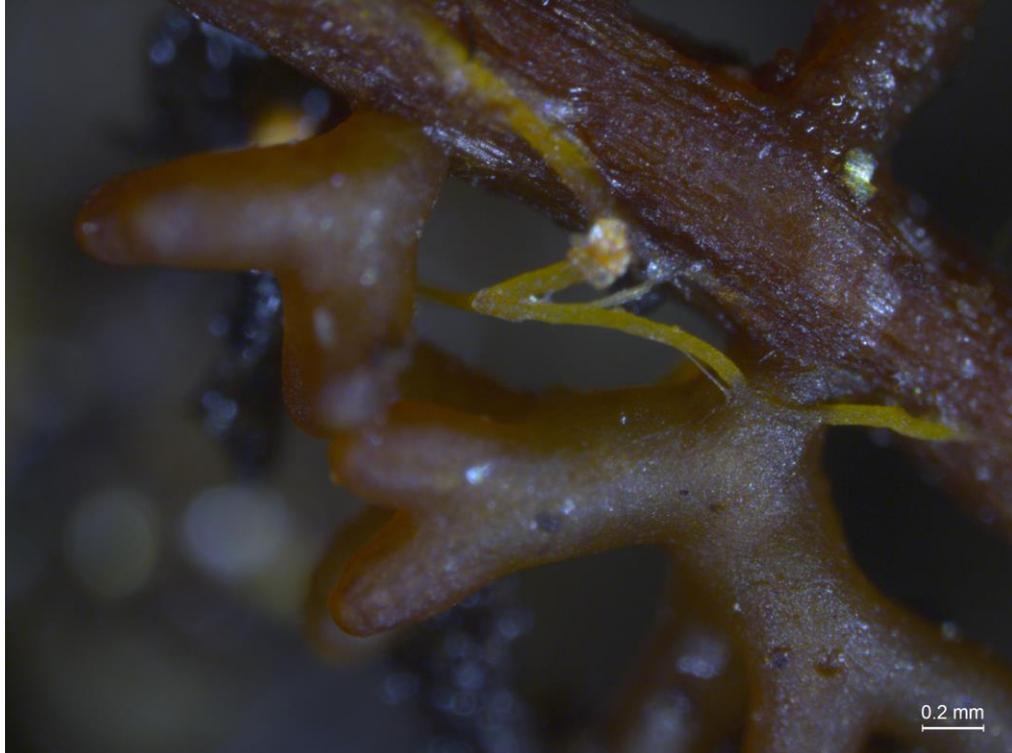
Thèse doctorale de Wang Ran KIB-CAS



*With Pinus pinea (2020)*  
Puding, Guizhou

*Lactarius hatsudake* -  
Hongzhirugu





## Exemple de *Lactarius sect. Deliciosi*

La synthèse mycorhizienne peut échouer!

- Inoculum faible (âge, isolats etc) or sensible
- Problèmes de conditions environnementales



## Exemple de *Lactarius* sect. *Deliciosi*

### Sensible à la chaleur?

*Pinus massoniana* x *L. vividus*118:

1/5 Noir, 5/5 Blanc

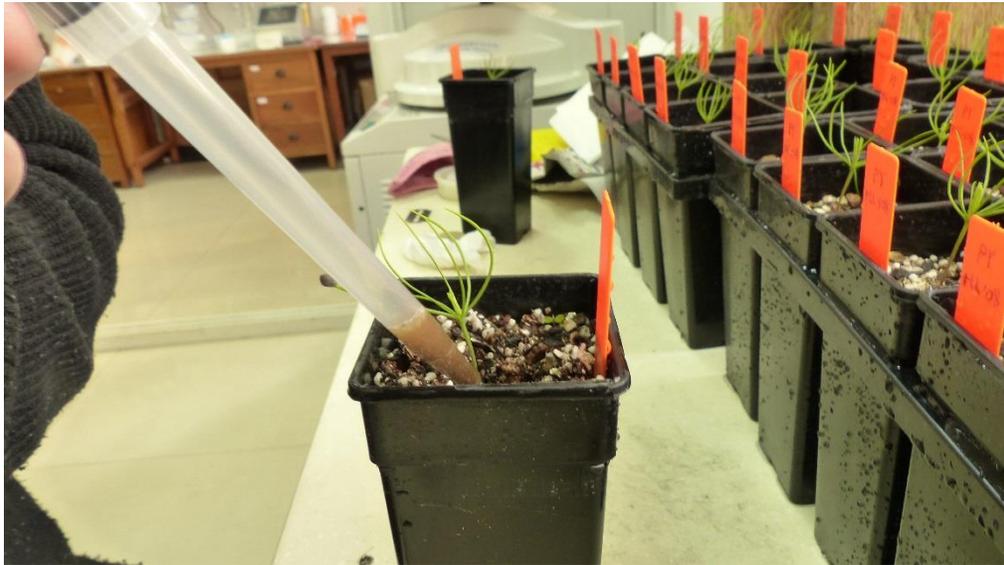
*P. yunnanensis* x *L. deliciosus*74:

0/5 Noir, 3/5 Blanc

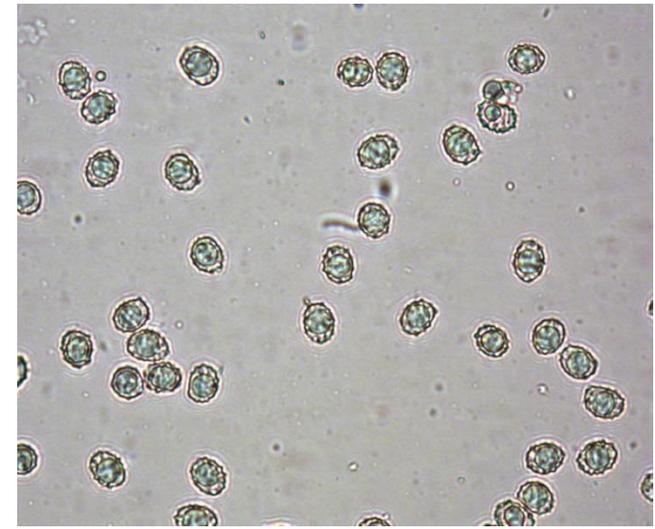


# Exemple de *Lactarius sect. Deliciosi*

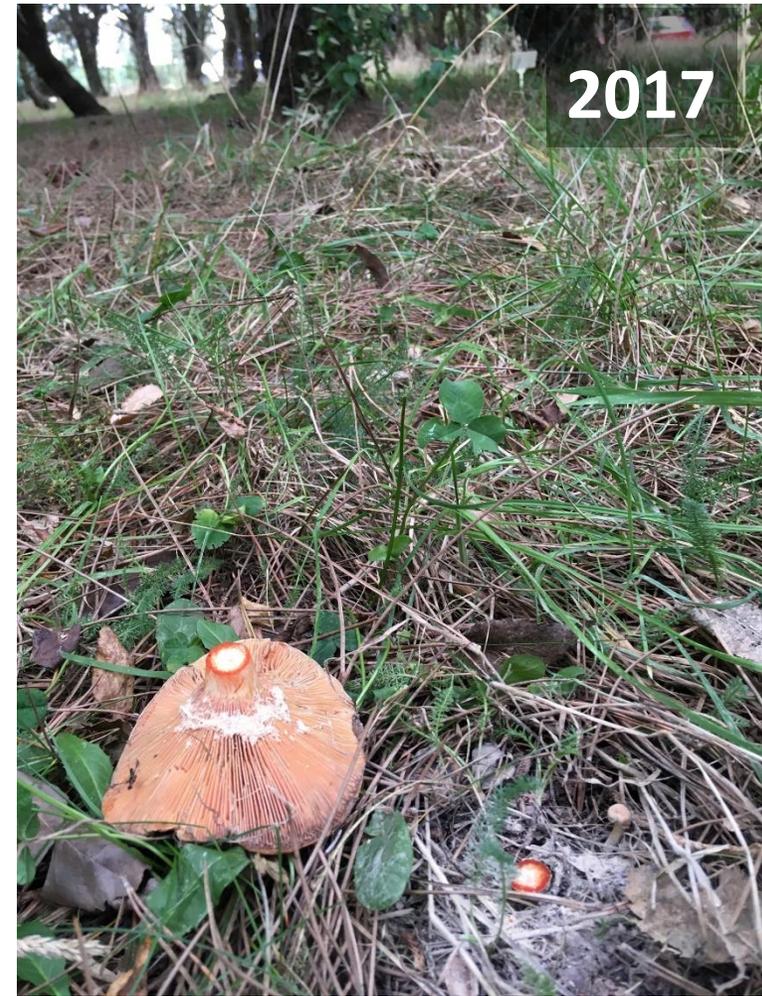
Inoculum sporal:  $60 \times 10^6$  spores



Chine – chapeaux séchés puis broyés



NZ – chapeaux frais broyés



Les humains ne savent pas encore utiliser les spores mais la Nature oui!!

Plantation de borchii à PFR-Lincoln : colonisation à partir de spores

# Step 1, Synthèse mycorhizienne

**Exemple des espèces de truffes (*Tuber*) de grande valeur**

**L'inoculum sporal est la norme chez les professionnels**

Un inoculum végétatif, **culture pure**, a été utilisé avec succès, e.g., *Tuber borchii*, mais c'est une technique plus coûteuse et de nombreuses espèces croissent encore trop lentement...

*Iotti et al (2016) Mycorrhiza, 26, 793–798*

## Exemple des truffes



**Inoculum sporal :**

Equivalent 1 g frais de truffe par plant

Suspension sporale





*Tuber melanosporum*

Truffe du Périgord

+ 3 mois



*Tuber melanosporum*

Truffe du Périgord

+ 6 mois



*Tuber melanosporum*

Truffe du Périgord

+ 9 mois

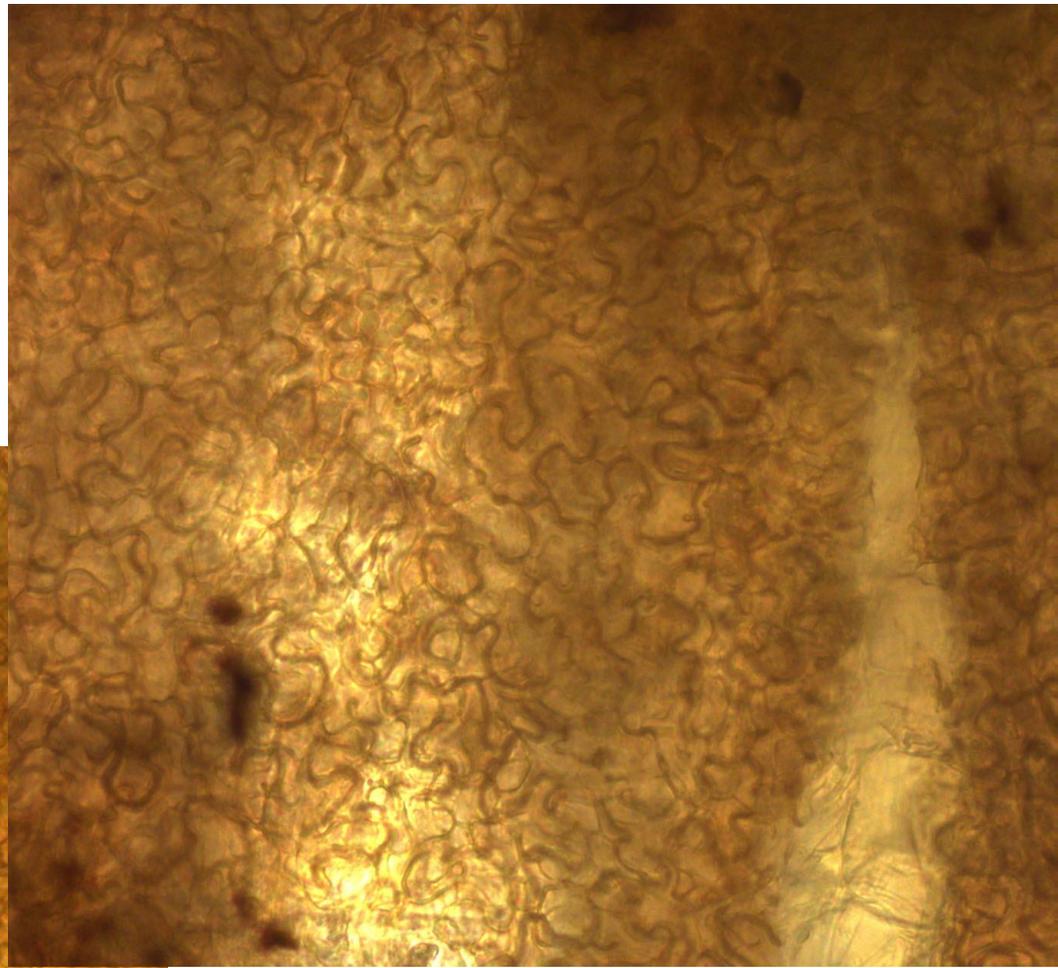
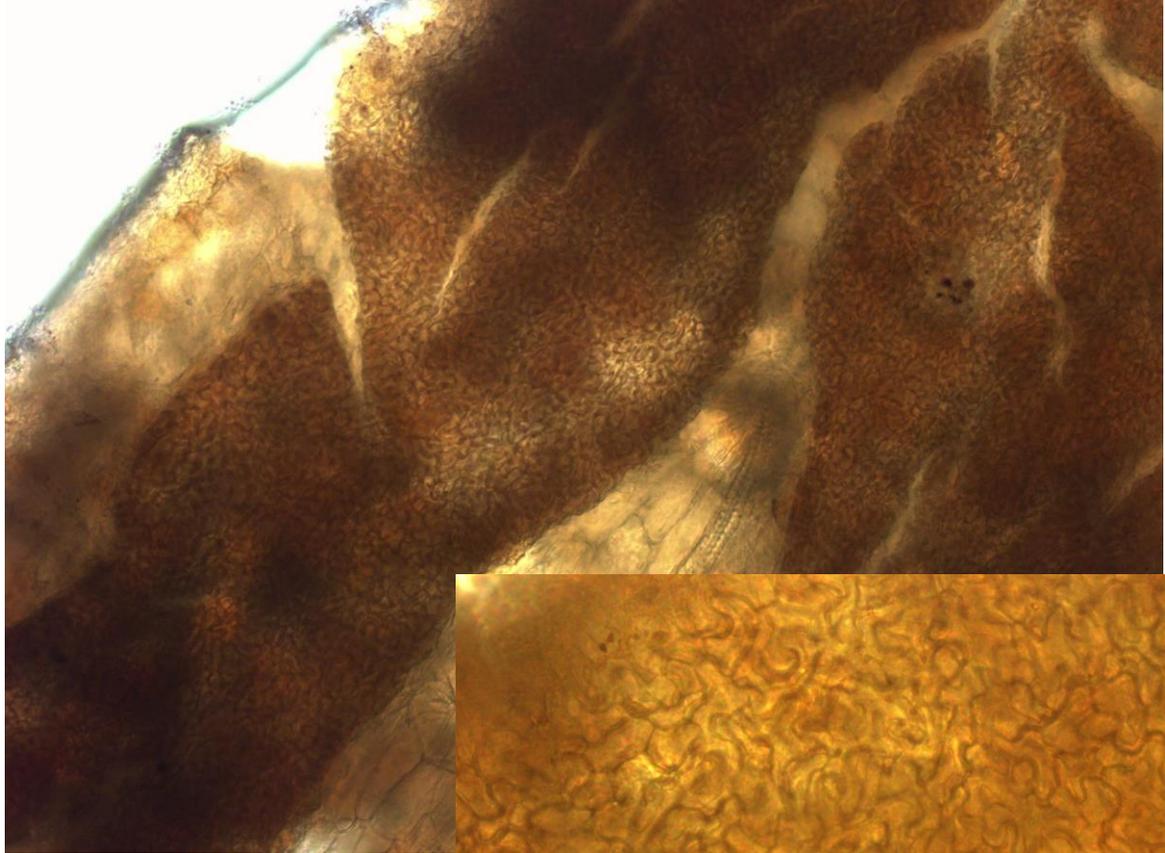


*Tuber melanosporum*

Truffe du Périgord

+ 9 mois

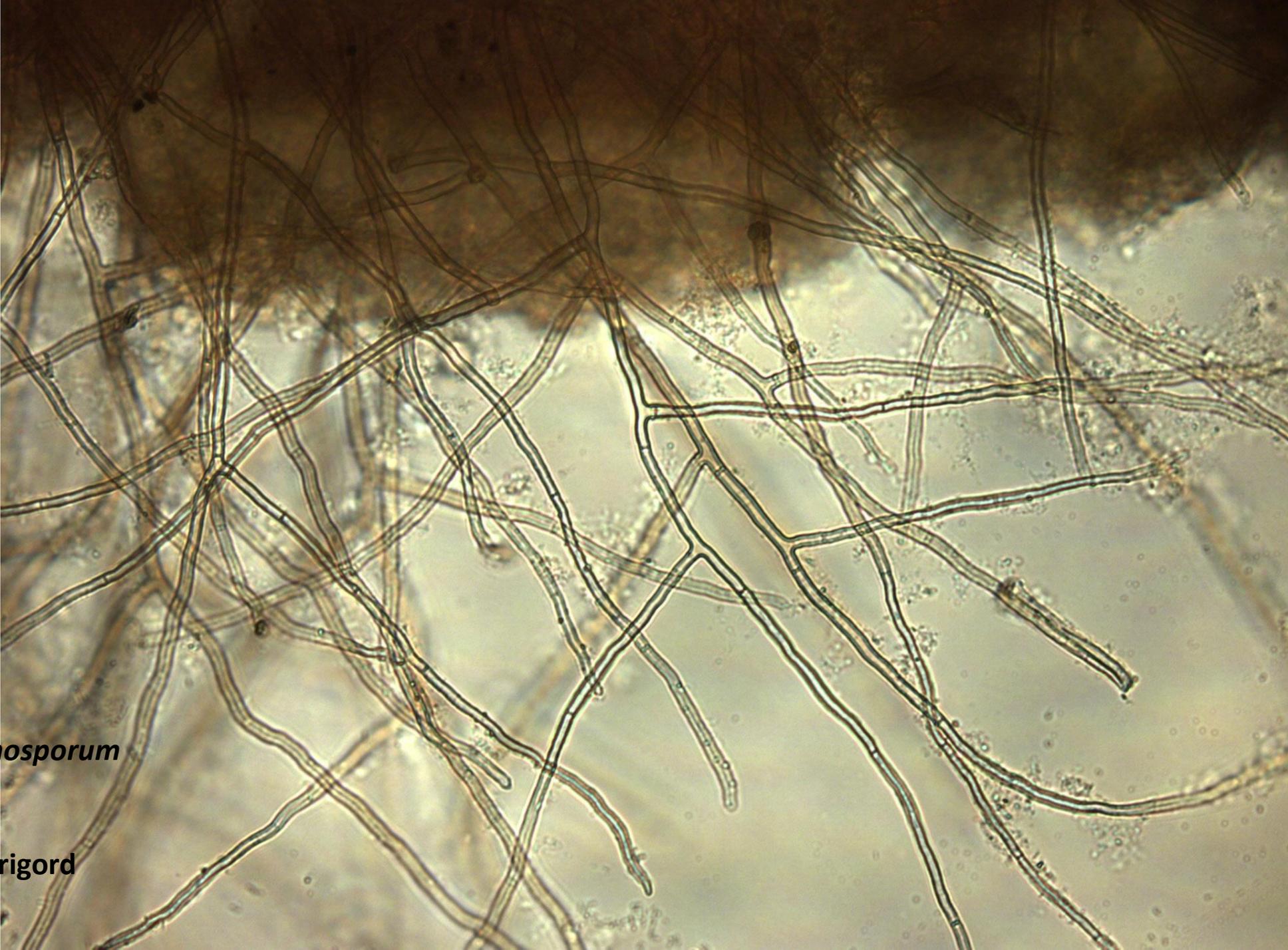
Cellules du manteau en puzzle



*Tuber melanosporum*

Truffe du Périgord





*Tuber melanosporum*

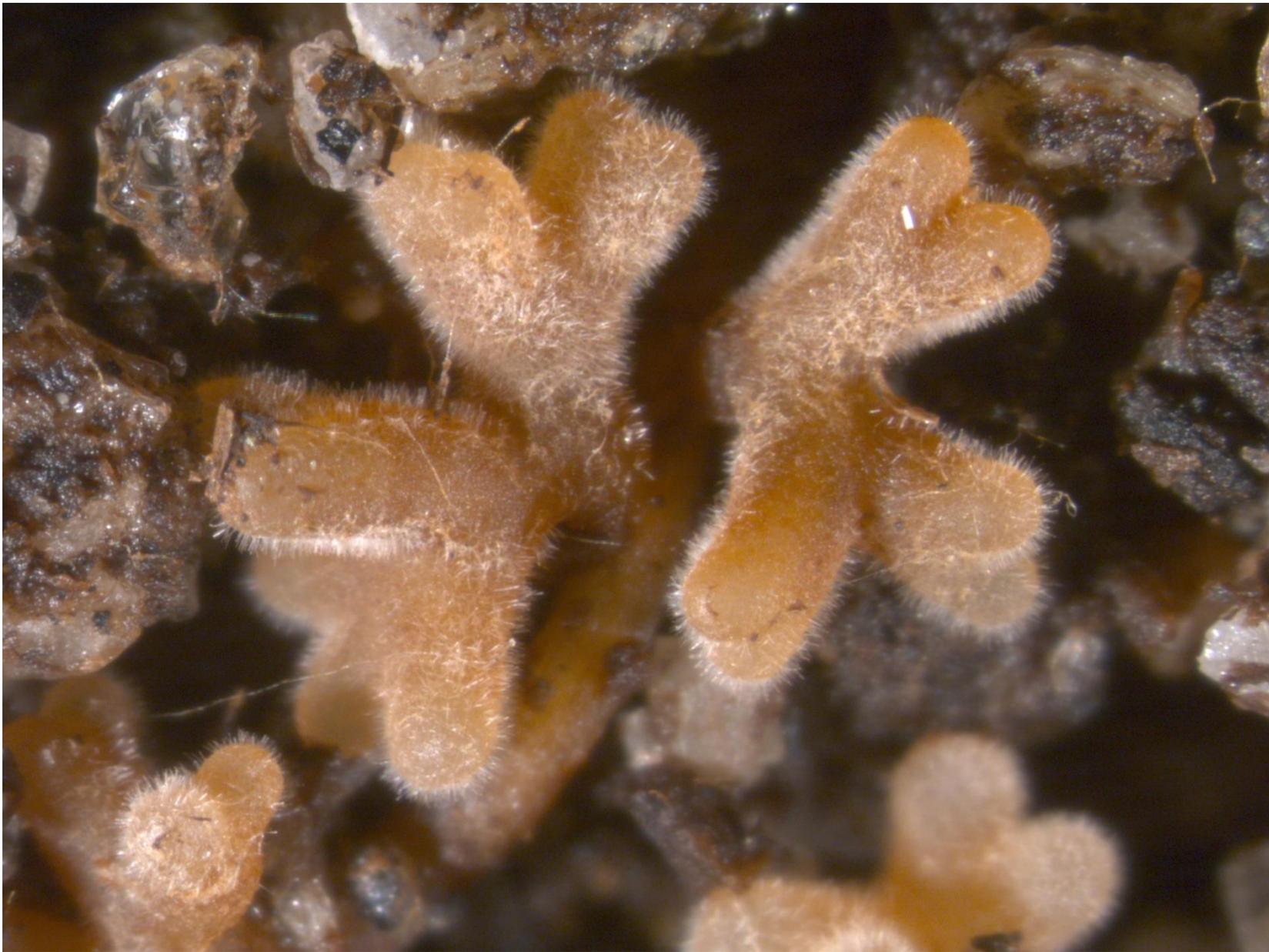
Truffe du Périgord



*Tuber aestivum* syn. *T. uncinatum*

Truffe d'été ou de Bourgogne





*Tuber borchii*

Truffe blanquette

Bianchetto

DNA typing

## Exemple des truffes

Huang et al (2021)

*Mycoscience*, 62, 322–330

L'inoculation sporale marche mais...

Pas un succès à 100%, variabilité importante (temporelle, entre plants, selon les combinaisons etc)

Combien de spores sont nécessaires? Pourcentage de germination?

Optimisation: degré de broyage, comment appliquer les spores, composition du substrat de croissance des plants, pasteurisation etc.

Quels critères retenir pour l'inoculum?

## Etape 2: Acclimatation en pépinière



Risqué?



# Acclimatation (pépinière), ce que j'ai appris

## **Exemple 1: Contamination croisée, *insoupçonnée!*, entre espèces de truffe**

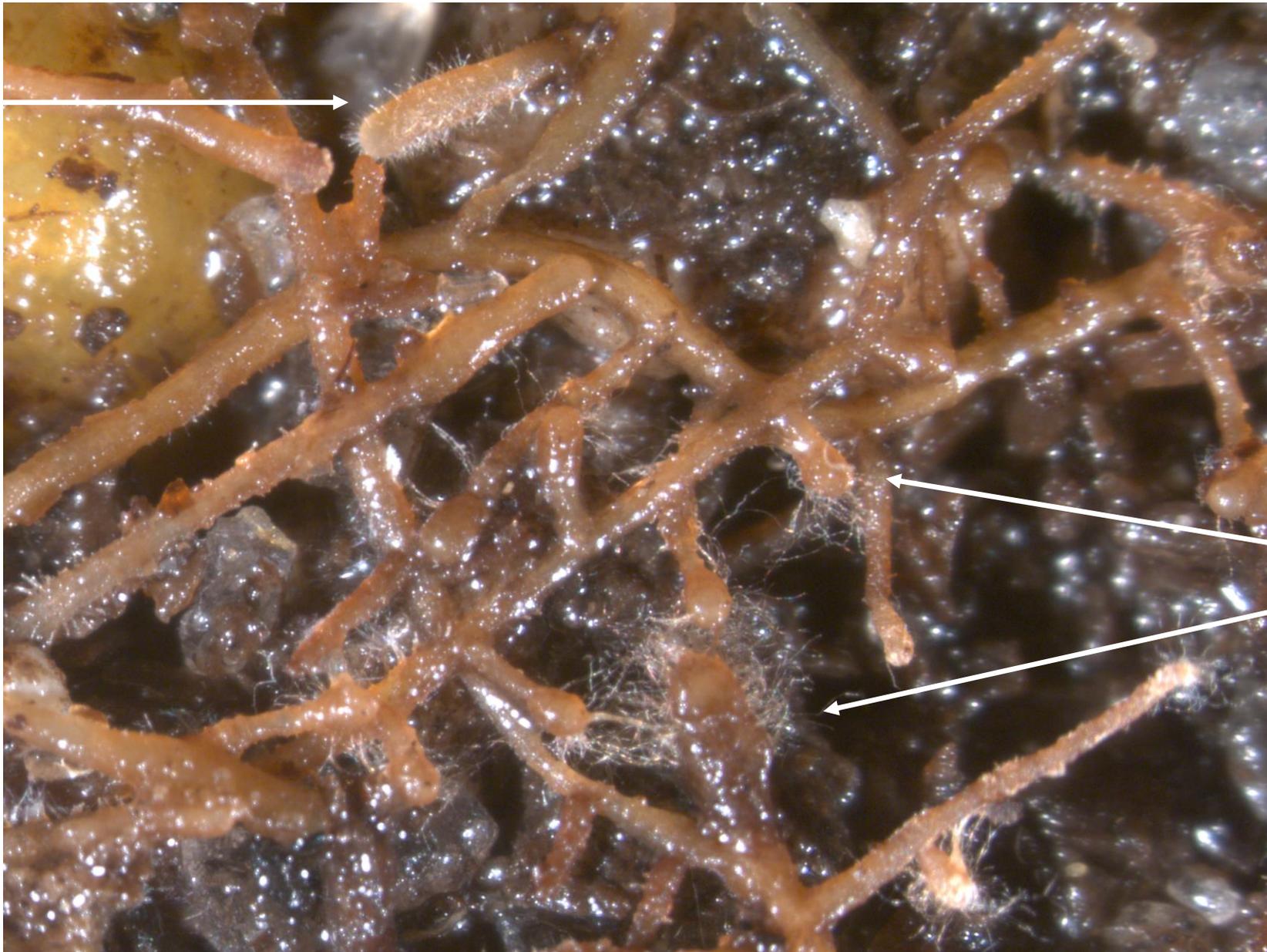
En utilisant des suspensions sporales “pures” d'espèces données, inoculées séparément aux plants, i.e., je ne parle pas de suspensions sporales contaminées par d'autres espèces de truffe!, et en élevant ces plants dans une même serre...





**Mycorhize 'surprise' apparaissant sur des plants inoculés par la seule truffe du Périgord!**

*T. borchii*



*T. aestivum*



Je parle de mycorhization **non contrôlée** probablement générée par des mouvements d'insectes et/ou des spores asexuées fabriquées par des espèces comme *T. borchii*.

Urban et al (2004)

*Mycol. Res.*, 108, 749–758

Contamination similaire théoriquement possible entre toutes les espèces *Tuber* mais détectables seulement avec des espèces **agressives** telles *T. borchii*

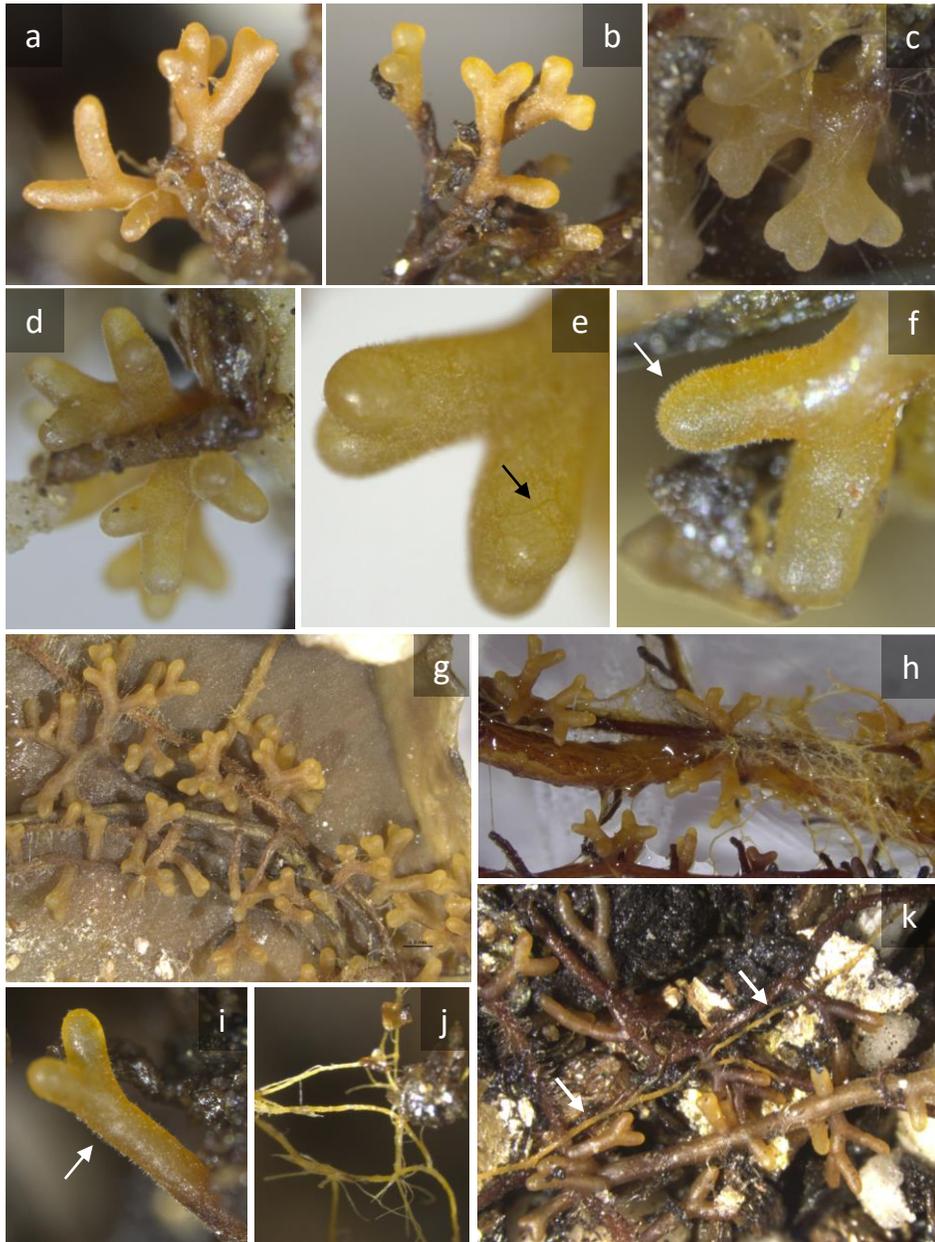
Hypothèses à tester rigoureusement

# Acclimatation (pépinière)

Exemple 2: *Lactarius* spp., un autre cas d'organisme tiers (e.g., compétiteurs mycorhiziens, 'prédateurs')

Collaboration avec le Kunming Institute of Botany





**Dévorées par *Bradysia impatiens* !! :(**

Wang R et al (2019) *Can. J. For. Res.*, 49, 616–627

## Etapes 3 & 4: plantation/suivi et début de fructification

Caractéristiques du sol et du climat sont cruciales !

On comprend très peu ce qui déclenche la fructification...

Quand celle-ci débute, c'est encourageant mais la 'culture', à proprement parler, ne fait que commencer!

## Etape 5: Etude des rendements des CEC

*Lactarius deliciosus*

*Tuber melanosporum, T. aestivum*

Très peu de travaux publiés sur ce sujet!



# Step 5: Etude des rendements du Lactaire délicieux

Suivi de 2 plantations en Nouvelle-Zélande  
pendant 12 ans



# 'Tank site' créée en décembre 2007 à PFR-Lincoln, Canterbury

Pin de Monterey, *Pinus radiata* D. Don



2011



2019, petite forêt

Site géré intensivement :  
irrigation, tonte de l'herbe, données de recherche

**'House site'** créée en décembre 2007 à PFR-Lincoln, Canterbury

Pin sylvestre, *Pinus sylvestris* L.



2012



2019, canopée ouverte et pelouse

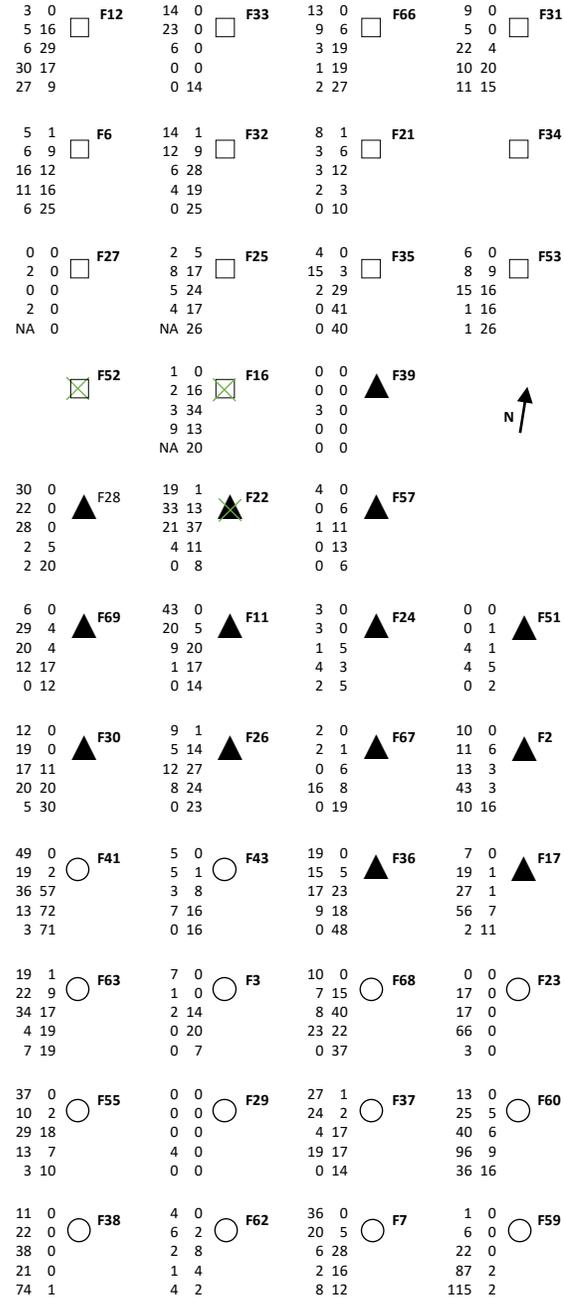
Même gestion intensive



Plantation *Pinus radiata*

décembre 2007

39 arbres ont survécu



Suivi de la production de champignons par arbre pendant 10 ans

2015  
2016  
2017  
2018  
2019

2010  
2011  
2012  
2013  
2014

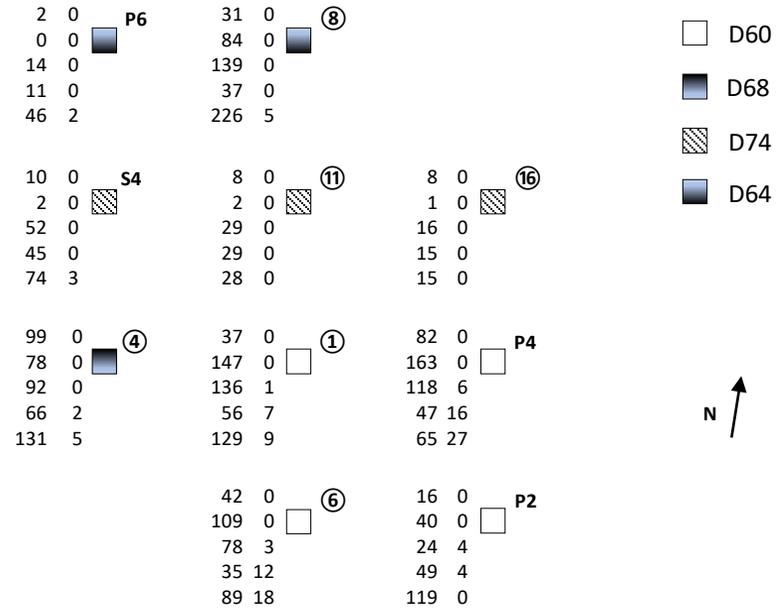
**F31**  
□



Plantation *Pinus sylvestris*

décembre 2007

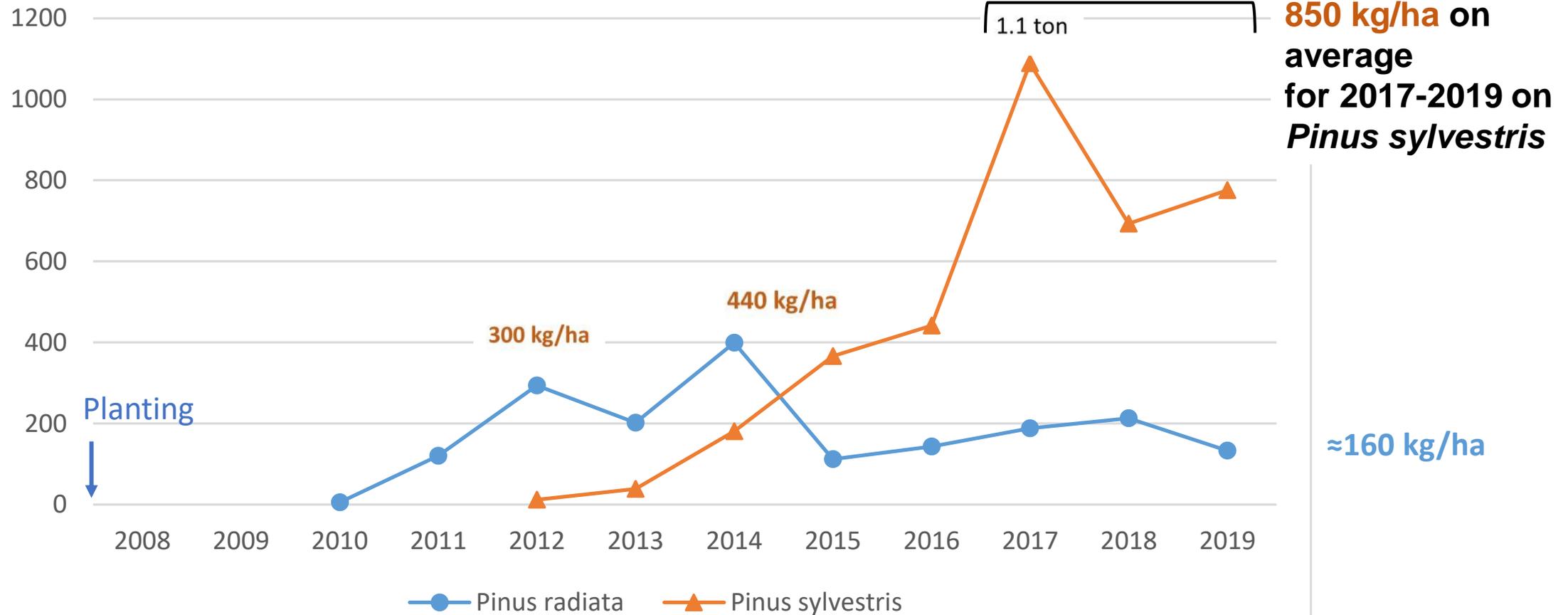
10 arbres (aucune perte)



Suivi de la production de champignons par arbre pendant 10 ans



Estimated yields per ha for each pine species



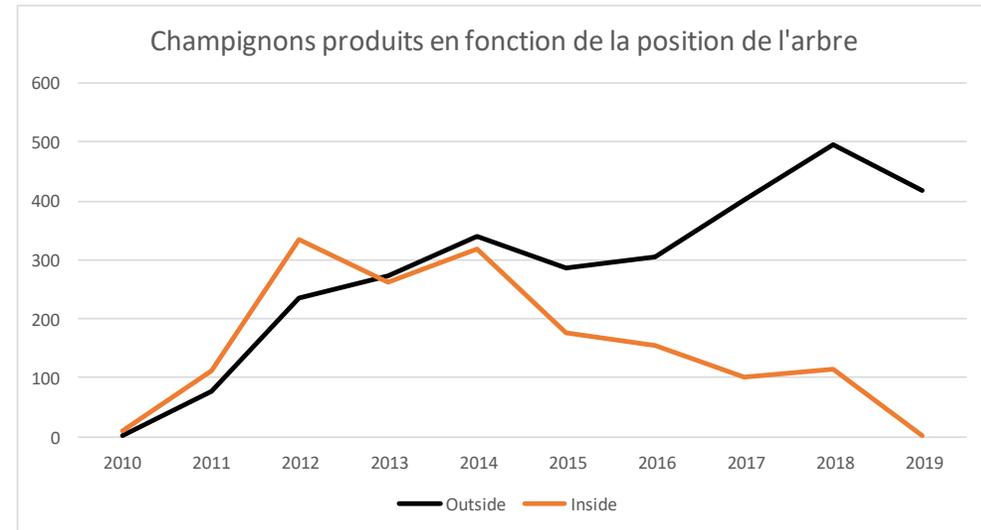
Jesús Pérez-Moreno  
Alexis Guerin-Laguette  
Roberto Flores Arzú  
Fu-Qiang Yu Editors

Mushrooms,  
Humans and  
Nature in a  
Changing World

Perspectives from Ecological,  
Agricultural and Social Sciences

Springer

3 0 5 16 6 29 30 17 27 9	F12	14 0 23 0 6 0 0 0 0 14	F33	13 0 9 6 3 19 1 19 2 27	F66	9 0 5 0 22 4 10 20 11 15	F31	
5 1 6 9 16 12 11 16 6 25	F6	14 1 12 9 6 28 4 19 0 25	F32	8 1 3 6 3 12 2 3 0 10	F21		F34	
0 0 2 0 0 0 2 0 NA 0	F27	2 5 8 17 5 24 4 17 NA 26	F25	4 0 15 3 2 29 0 41 0 40	F35	6 0 8 9 15 16 1 16 1 26	F53	
⊗	F52	1 0 2 16 3 34 9 13 NA 20	⊗	F16	0 0 0 0 3 0 0 0 0 0	▲	F39	
30 0 22 0 28 0 2 5 2 20	▲	F28	19 1 33 13 21 37 4 11 0 8	▲	F22	4 0 0 6 1 11 0 13 0 6	▲	F57
6 0 29 4 20 4 12 17 0 12	▲	F69	43 0 20 5 9 20 1 17 0 14	▲	F11	3 0 3 0 1 5 4 3 2 5	▲	F24
12 0 19 0 17 11 20 20 5 30	▲	F30	9 1 5 14 12 27 8 24 0 23	▲	F26	2 0 2 1 0 6 16 8 0 19	▲	F67
49 0 19 2 36 57 13 72 3 71	○	F41	5 0 5 1 3 8 7 16 0 16	○	F43	19 0 15 5 17 23 9 18 0 48	▲	F17
19 1 22 9 34 17 4 19 7 19	○	F63	7 0 1 0 2 14 0 20 0 7	○	F3	10 0 7 15 8 40 23 22 0 37	○	F23
37 0 10 2 29 18 13 7 3 10	○	F55	0 0 0 0 0 0 4 0 0 0	○	F29	27 1 24 2 4 17 19 17 0 14	○	F37
11 0 22 0 38 0 21 0 74 1	○	F38	4 0 6 2 2 8 1 4 4 2	○	F62	36 0 20 5 6 28 2 16 8 12	○	F7
						1 0 6 0 22 0 87 2 115 2	○	F59

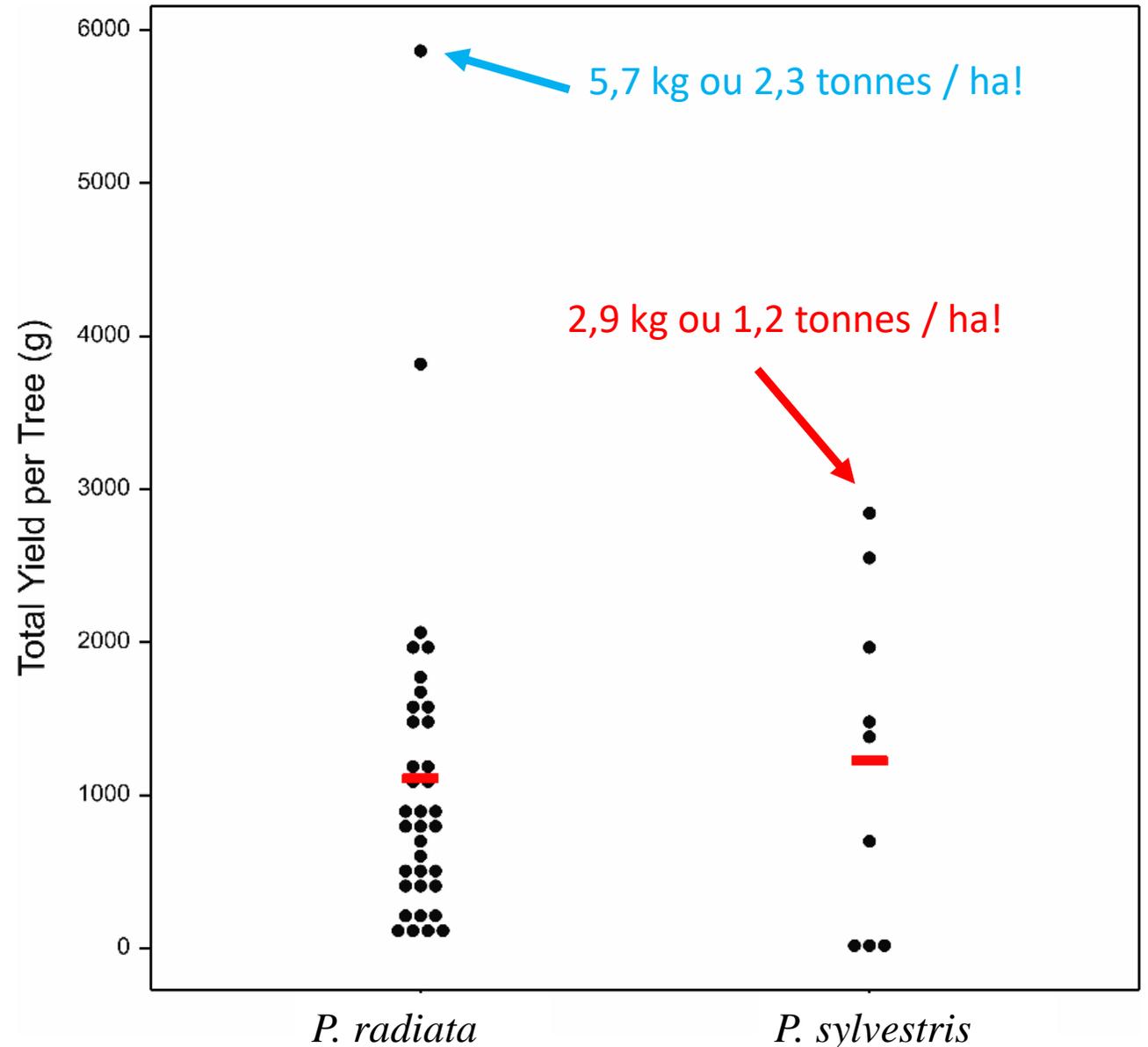


Hypothèse:  
La taille maintient les rendements

# Variation entre les arbres!

Histogramme: rendement par  
arbre pour les saisons de  
fructification  
2014 (*P. radiata*) et  
2016 (*P. sylvestris*)

Barres rouges: rendement  
moyen par espèce d'arbre  
pour ces deux années.



# Etape 5: Et les truffes?

Agroforest Syst (2013) 87:1439–1449  
DOI 10.1007/s10457-013-9649-2

---

## Monitoring the fate of a 30-year-old truffle orchard in Burgundy: from *Tuber melanosporum* to *Tuber aestivum*

Virginie Molinier · Marie-Lara Bouffaud · Thierry Castel ·  
Arnaud Mounier · Annie Colombet · Ghislaine Recorbet ·  
Henri Frochot · Daniel Wipf

100 kg/ha maximum  
de *T. melanosporum*  
15 ans après  
plantation

Received: 12 March 2013 / Accepted: 4 October 2013 / Published online: 11 October 2013  
© Springer Science+Business Media Dordrecht 2013

**Abstract** Truffles, i.e. tree root-associated fungal fruiting bodies, clearly range among the world's most

delayed, but rather fast replacement of inoculated *T. melanosporum* by naturally occurring *T. aestivum* and

# Que sait-on des rendements en truffes aujourd'hui?

## Données de l'industrie

### *Tuber melanosporum* ou Truffe du Périgord

- Australie jusqu'à 500 kg / ha ( $\approx 1,25$  kg / arbre)
- Europe jusqu'à 200 kg / ha ( $\approx 0,5$  kg / arbre)

**50-100 kg/ha de *T. melanosporum* (125-250g/arbre) c'est bien!**



## Etape 5: Etude des rendements des CEC

Ce dont je rêve:

Des **vergers expérimentaux** dédiés (1) au suivi des rendements et (2) à l'étude de l'effet des techniques de gestion sur ces rendements!



# Espèces 'récalcitrantes'

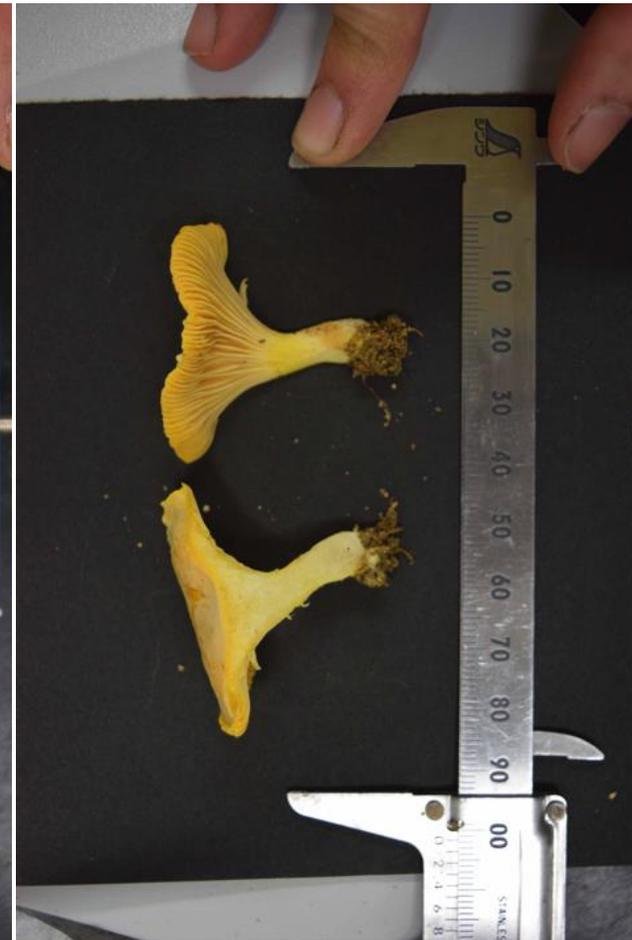
*Tricholoma matsutake*, *Boletus edulis*, *Amanita caesareoides*,  
*Hydnum* sp. : étape 1 seulement..., et encore seulement *in vitro* ...

*Cantharellus cibarius*, *C. anzutake*: jusqu'à l'étape 4!



# Girole dorée du Japon (*Cantharellus anzutake*)

Fructifications répétées en pots, en chambre de croissance



Fructifications de la souche EN-51 le 2 avril 2015 au laboratoire KOA, Nagano, Japon  
Ogawa et al. (2019) *Mycorrhiza* 29, 519–530 Photos, courtesy Prof Akiyoshi Yamada

# Un travail fascinant pour des générations de chercheurs

Développer la culture de nouvelles espèces, comprendre leur biologie

Des questions complexes mais des outils d'analyse plus performants que jamais!



# Collaborations internationales sur les CEC

Plant Soil (2021) 467:391–403  
<https://doi.org/10.1007/s11104-021-05112-7>

ORIGINAL ARTICLE



## Mycorrhization of *Quercus mongolica* seedlings by *Tuber melanosporum* alters root carbon exudation and rhizosphere bacterial communities

Yanliang Wang · Ran Wang · Bin Lu · Alexis Guerin-Laguette · Xinhua He · Fuqiang Yu

Received: 5 April 2021 / Accepted: 29 July 2021 / Published online: 11 August 2021  
© The Author(s), under exclusive licence to Springer Nature Switzerland AG 2021



Research

## Comparative genomics reveals a dynamic genome evolution in the ectomycorrhizal milk-cap (*Lactarius*) mushrooms

Annie Lebreton<sup>1,2\*</sup> , Nianwu Tang<sup>2,3\*</sup> , Alan Kuo<sup>4</sup> , Kurt LaButti<sup>4</sup> , William Andreopoulos<sup>5</sup> , Elodie Drula<sup>6,7</sup> , Shingo Miyauchi<sup>8</sup> , Kerrie Barry<sup>4</sup> , Alicia Clum<sup>4</sup> , Anna Lipzen<sup>4</sup>, Daniel Mousain<sup>9†</sup>, Vivian Ng<sup>4</sup>, Ran Wang<sup>3</sup> , Yucheng Dai<sup>1</sup> , Bernard Henrissat<sup>10,11</sup> , Igor V. Grigoriev<sup>4,12</sup> , Alexis Guerin-Laguette<sup>13</sup> , Fuqiang Yu<sup>3</sup> and Francis M. Martin<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Beijing Advanced Innovation Center for Tree Breeding by Molecular Design, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China; <sup>2</sup>Université de Lorraine, INRAE, Unité mixte de recherche Interactions Arbre/Microorganismes, Centre INRAE, Grand Est-Nancy, 54280 Champenoux, France; <sup>3</sup>Germplasm Bank of Wild Species, Yunnan Key Laboratory for Fungal Diversity and

Mycorrhiza (2022) 32:341–351  
<https://doi.org/10.1007/s00572-022-01081-6>

ORIGINAL ARTICLE

## Ectomycorrhizal synthesis between two *Tuber* species and six tree species: are different host-fungus combinations having dissimilar impacts on host plant growth?

Lan-Lan Huang<sup>1,2</sup> · Yan-Liang Wang<sup>2</sup> · Alexis Guerin-Laguette<sup>3,4</sup> · Ran Wang<sup>2</sup> · Peng Zhang<sup>2</sup> · Yong-Mei Li<sup>1</sup> · Fu-Qiang Yu<sup>2</sup>

Received: 25 November 2021 / Accepted: 9 May 2022 / Published online: 24 May 2022  
© The Author(s), under exclusive licence to Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2022

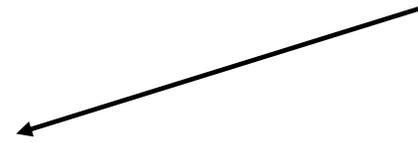
**Mycorrhizés**

**Contrôles**



**2,8 ans après inoculation**

**Débourrement accéléré** des  
plants de *Q. mongolica*  
mycorrhizés par *T. melanosporum*



Clockwise from top left: *Quercus longispica*, *Quercus senescens*, and *Quercus mongolica*.



# Une diversité impressionnante de CEC



Photo: Guibertau ©  
Forêt de Morgon / Pontis OS  
Janvier 2013

# Une diversité impressionnante de CEC

Received: 19 September 2020

Revised: 13 March 2021

Accepted: 19 March 2021

DOI: 10.1002/ppp3.10199

REVIEW

Plants People Planet PPF  
Open Access

## Edible mycorrhizal fungi of the world: What is their role in forest sustainability, food security, biocultural conservation and climate change?

Jesús Pérez-Moreno<sup>1</sup>  | Alexis Guerin-Laguette<sup>2</sup>  | Andrea C. Rinaldi<sup>3</sup>  |  
Fuqiang Yu<sup>4</sup>  | Annemieke Verbeken<sup>5</sup>  | Faustino Hernández-Santiago<sup>1</sup>  |  
Magdalena Martínez-Reyes<sup>1</sup> 

<sup>1</sup>Colegio de Postgraduados, Texcoco, Mexico

<sup>2</sup>Mycotree C/-Southern Woods Nursery,  
Christchurch, New Zealand

<sup>3</sup>Department of Biomedical Science,

### Societal Impact Statement

Edible mycorrhizal fungi (EMF) have been consumed since ancestral times by humans either as food, medicine or for ceremonial use. Nowadays, they are a non-timber forest

Décrire et connaître

Protéger

Utiliser durablement

≈1000 espèces de CEC au monde!



# Nouvelle-Calédonie



# Bénéfices environnementaux de la culture des CEC

Stockage du carbon storage: arbre **et sous-sol!**

Habitat pour la faune sauvage

En NZ, haies brise-vent/barrières avec des espèces natives

Au delà du revenu, beaucoup de bénéfices: nature, santé, bonheur!







Merci!



Photo courtesy Wayne Tewnion and Cassie, Canterbury, NZ