



TRUFFELSEKS: WAAR ZIJN DE MANNEN?

Thom W. Kuyper

thom.kuyper@wur.nl

Kuyper, T.W. 2018. Truffle sex: where are the males? *Coolia* 61(2): 71–74.

The life cycle of the Périgord truffle (*Tuber melanosporum*) is similar to that of other heterothallic ascomycetes in that the fruitbody tissue (apart from the ascospores) consists almost exclusively of female tissue. Ectomycorrhizas in soil also consist of female tissue. The opposite sexual compatibility type (male) neither forms fruitbodies nor ectomycorrhizas, but does occur in the ascospores. Their ecological niche remains poorly known. Curiously, the mating type genes, which regulate sexual attraction between the opposite types, are closely connected to the somatic incompatibility genes, which prevent fusion between mycelia of opposite mating type. Apparently there is a delicate balance between somatic repulsion and sexual attraction.

Enkele jaren geleden werd ik uitgenodigd om op een nascholingscursus voor leraren biologie een voordracht over paddenstoelen te houden. Om de aandacht van het publiek bij de voordracht te houden had ik enkele meerkeuzevragen, en aan het eind van de voordracht was er een prijs voor degene die de meeste antwoorden goed had. Een van de vragen luidde: waarom moet je truffels zoeken met beren (mannelijke varkens)? De volgende keuzemogelijkheden waren gegeven:

- a. Onzin, dat is een fabeltje, want dieren vinden geen truffels
- b. Onzin, je moet honden gebruiken
- c. Onzin, je moet juist zeugen (vrouwelijke varkens) gebruiken
- d. Dat klopt, want de geur van een truffel is die van een loopse zeug.

Voor mycologen met kennis van truffels is het antwoord eenvoudig. Het juiste antwoord is c. Een van de driehonderd geurcomponenten van truffels is androstenol, een sekshormoon dat door beren wordt geproduceerd.

Niet alleen spelen beren dus geen grote rol bij de (onbedoelde) verspreiding van truffel-sporen, maar uit recent onderzoek blijkt dat ook de mannetjes van truffels een onbeduidende rol spelen. Om die rol te begrijpen zal ik eerst de levenscyclus van truffels kort beschrijven. Bij basidiomyceten is die cyclus beter bekend: een spore kiemt en vormt een eenkernig mycelium, monokaryon genaamd. Twee monokaryons kunnen fuseren, mits ze verschillend zijn in twee genen die te maken hebben met de seksuele compatibiliteit. Doordat beide genen in zeer veel varianten voorkomen zijn er duizenden combinaties van twee monokaryons die kunnen fuseren, terwijl tegelijkertijd inteelt vermeden wordt. Na versmelten van die twee monokaryons ontstaat een tweekernig weefsel, het dikaryon, waarin de kernen nog niet versmelten. Dat laatste gebeurt pas in de basidiën waarna de sporen gevormd worden en een nieuwe cyclus kan beginnen. Dikaryons kunnen verder niet fuseren door een proces van somatische incompatibiliteit; als twee mycelia daarin genetisch verschillen kan verdere uitwisseling van genetisch materiaal niet plaatsvinden. Daardoor behouden individuen hun eigen territorium. Die interactie kunnen we zien met behulp van de zogenaamde demarcatielijnen waarmee schimmelindividuen hun territorium verdedigen.

Bij ascomyceten is sprake van een ander patroon. Daar vindt de vorming van een tweekernig weefsel alleen plaats in de cellen die de ascus vormen. Het mycelium in de bodem is eenkernig en het grootste deel van het vruchtlichaam is ook eenkernig. Een ander verschil





Figuur 1. *Brûlé (of pianello): een kale plek waar truffels alle vegetatie gedood hebben.*
(Foto: Thom Kuyper)

tussen basidiomyceten en ascomyceten is dat in dit laatste geval er sprake is van één gen in twee varianten die de versmelting mogelijk maakt. Daardoor lijkt het alsof we kunnen spreken van mannelijke en vrouwelijke individuen. Strikt genomen is dit niet helemaal correct: het gaat om de mannelijke en de vrouwelijke rol. Zowel het ene als het andere compatibiliteitstype (kruisingstype) kan de vrouwelijke of mannelijke rol vervullen. In genderneutraal jargon: het gaat om de kruisingstypen MAT 1-1 en MAT 1-2.

Deze levenscyclus is ook van toepassing op truffels; en vanwege het commerciële belang is de levenscyclus van de Périgordtruffel (*Tuber melanosporum*) uitgebreid onderzocht. Over de resultaten van dat onderzoek (en dus over het seksleven van de truffel) verschenen recent enkele overzichtsartikelen (Rubini et al., 2014; Le Tacon et al., 2016; Selosse et al., 2017). Op basis daarvan en enkele andere recente artikelen (Selosse et al., 2013; Taschen et al., 2016; De la Varga et al., 2017) heb ik deze bijdrage geschreven.

Het was bekend dat vruchtlichamen rondom één boom zeer weinig genetische variatie vertoonden en dat er slechts sprake was van één compatibiliteitstype. De onderzoekers interpreteerden die uitkomst aanvankelijk door aan te nemen dat truffels zich uitsluitend via zelfbevruchting voortplanten. Later onderzoek liet echter zien dat er op grotere ruimtelijke schaal aanzienlijke genetische variatie bestond. Ook bleek dat de genetische variatie in truffelsporen veel groter was dan in de vruchtlichamen, en dat betekende bewijs voor kruisen tussen genetisch verschillende individuen. De beperkte variatie van een vruchtlichaam bleek een andere verklaring te hebben: weefsel bestaat slechts uit één compatibiliteitstype, want het weefsel is monokaryotisch. Dat weefsel vervult dus de vrouwelijke rol. Ook de gemycorrhizerende worteltopjes bevatten slechts vrouwelijk weefsel. Zowel kruisingstype MAT 1-1 als MAT 1-2 bleken de vrouwelijke rol te kunnen vervullen.

Opmerkelijk was dat in truffelgaarden individuen van het ene kruisingstype dichtbij elkaar voorkwamen en ruimtelijk gescheiden waren van het andere kruisingstype. Dat bleek



zowel uit de analyse van truffelmycelium, gemycorrhizeerde worteltopjes, en vruchtlichamen. Men zou vrezen dat dit ruimtelijke patroon een beperking is voor de productiviteit van truffelgaardes, want alleen in de contactzone zou dan truffelseks kunnen voorkomen en zouden vruchtbare nakomelingen gevormd kunnen worden. Maar onderzoek liet zien dat in de contactzone niet meer vruchtlichamen gevormd werden dan elders in de plantage, zodat die verklaring verworpen moest worden. Door wie worden die truffels dan wel bevrucht? Waar zijn die mannen, truffels die de mannelijke rol vervullen?

Met moleculaire methoden is die vraag relatief gemakkelijk te beantwoorden. Door analyse van het DNA van sporen van een vruchtlichaam (waarin het erfelijke materiaal van man en vrouw aanwezig moet zijn) en van het vruchtlichaam zelf (met uitsluitend het vrouwelijke DNA) kunnen we de samenstelling van de mannelijke bijdrage aan het DNA reconstrueren, en daarmee dus gericht op zoek gaan naar die mannen. We kunnen dan apart populatiebiologisch onderzoek doen aan mannelijke en vrouwelijke truffels (individueen die de mannelijke en vrouwelijke rol vervullen). Uit dat onderzoek bleek dat de vrouwelijke individuen vaak grote territoria bezetten en gedurende een aantal jaren op dezelfde plek gevonden worden. Mannelijke individuen bezetten gewoonlijk veel kleinere territoria en ook is hun levensduur korter.

Aangezien truffels niet alleen werden gevormd in de contactzone tussen beide kruisingsstypen, maar ook daar waar slechts één type voorkwam, moeten die mannelijke individuen dus tussen de vrouwelijke individuen voorkomen, maar zonder dat ze ectomycorrhiza vormen (want die behoren altijd tot de vrouwelijke rol). Een mogelijke verklaring is dat vrouwelijke truffels mycorrhiza vormen en dus van voordeel zijn voor de boom waarmee ze geassocieerd zijn, terwijl de mannen zich als plantenparasieten gedragen. Rijke vindplaatsen van de Périgordtruffel zijn gemakkelijk in het veld te herkennen doordat de vegetatie er als het ware als na een brand uitziet. In Frankrijk heten zulke plekken *brûlé*, in Italië *pianello*;

Figuur 2. *Tuber melanosporum*. (Foto: Thom Kuyper)





ze zijn gekarakteriseerd doordat de kruidachtige vegetatie daar afgestorven of weinig vitaal is. Persoonlijk acht ik die verklaring niet erg plausibel, want een genetische basis voor die rolverdeling is nog onbeschreven. Het is aannemelijker dat de mannelijke rol vervuld wordt door gekiemde ascosporen vanuit een sporenbank of door ongeslachtelijke sporen zoals die van verschillende ascomyceten en verschillende andere truffelsoorten bekend zijn (Healy et al., 2013). Of die mannen nog kleine, kortlevende mycelia kunnen vormen met een saprotrofe levenswijze, is onbekend. Die verklaring is in overeenstemming met de ervaring van truffelkwekers dat het uitstrooien van truffelsporen de productiviteit in een truffelgaard vergroot.

Bij het populatieonderzoek bleek sprake van ruimtelijke scheiding tussen de beide kruisingstypen. Dat betekent dat na sporenkieming er sterke concurrentie optreedt tussen mycelia. Een mogelijke verklaring voor die ruimtelijke scheiding is dat de genetische informatie over seksuele compatibiliteit (kruisbaarheid) nauw gekoppeld is aan de informatie over somatische incompatibiliteit. Individuen die somatisch compatibel zijn, kunnen met elkaar fuseren, hun territoria vergroten door hulpbronnen te delen, succesvoller ectomycorrhiza vormen en suikers van de boom krijgen om daarmee vruchtlichamen te kunnen vormen. Zulke fusies leiden tot grotere concurrentiekracht maar zullen individuen van het andere kruisingstype (want het andere type van somatische compatibiliteit) verdringen. Blijkbaar hebben truffels moeite de juiste balans te vinden tussen seksuele aantrekking en lichamelijke afstoting. Door die ruimtelijke structuur zullen de meeste truffels ook bevrucht worden door mannelijke individuen die nauw verwant zijn aan het vrouwelijke individu. Onderzoekers vonden dan ook dat de mannelijke component in het truffelweefsel zeer nauw verwant is aan die vrouwelijke component, veel nauwer dan je zou verwachten indien de kruisingen toevallig plaatsvonden. Daardoor is er sprake van inteelt in truffelpopulaties. Maar doordat truffels het grootste deel van hun leven als monokaryon doorbrengen vermijden ze toch de gevaren die normaal aan inteelt verbonden zijn.

Literatuur

- De la Varga, H., F. Le Tacon, M. Lagogue, F. Todesco, T. Varga, I. Miquel, D. Barry-Etienne, C. Robin, F. Halkett, F. Martin & C. Murat. 2017. Five years investigation of female and male genotypes in Périgord black truffle (*Tuber melanosporum* Vittad.) revealed contrasted reproduction strategies. *Environmental Microbiology* 19: 2604–2615.
- Healy, R.A., M.E. Smith, G.M. Bonito, D.H. Pfister, Z.-W. Ge, G.G. Guevara, G. Williams, K. Stafford, L. Kumar, T. Lee, C. Hobart, J. Trappe, R. Vilgalys & D.J. McLaughlin. 2013. High diversity and widespread occurrence of mitotic spore mats in ectomycorrhizal Pezizales. *Molecular Ecology* 22: 1717–1732.
- Le Tacon, F., A. Rubini, C. Murat, C. Riccioni, C. Robin, B. Belfiori, B. Zeller, H. de la Varga, E. Akroume, A. Deveau, F. Martin & F. Paolocci. 2016. Certainties and uncertainties about the life cycle of the Périgord black truffle (*Tuber melanosporum* Vittad.). *Annales of Forest Science* 73: 105–117.
- Rubini, A., C. Riccioni, B. Belfiori & F. Paolocci. 2014. Impact of the competition between mating types on the cultivation of *Tuber melanosporum* : *Romeo and Juliet* and the matter of space and time. *Mycorrhiza* 24 (Suppl.): S19–S27.
- Selosse, M.-A., E. Taschen & T. Giraud. 2013. Do black truffles avoid sexual harassment by linking mating type and vegetative incompatibility? *New Phytologist* 199: 10–13.
- Selosse, M.-A., L. Schneider-Manoury, E. Taschen, F. Rousset & F. Richard. 2017. Black truffle, a hermaphrodite with forced unisexual behaviour. *Trends in Microbiology* 25: 784–788.
- Taschen, E., F. Rousset, M. Sauve, L. Benoit, M.P. Dubois, F. Richard & M.-A. Selosse. 2016. How the truffle got its mate: insights from genetic structure in spontaneous and planted Mediterranean populations of *Tuber melanosporum*. *Molecular Ecology* 25: 5611–5627.

