

# رام کردن دنبلان (ترافل)

تاریخچه، رموز و دانش پرورش  
گران ترین قارچ جهان!

نویسندگان:

ایان ر.هال  
گردون ت. براون  
الساندرا زامبونلی



ترجمه:  
صبح پیشدادی

## فهرست مطالب

Error! Bookmark not defined.....	فصل صفر
Error! Bookmark not defined.....	مقدمه مترجم
Error! Bookmark not defined.....	فصل اول
Error! Bookmark not defined.....	تاریخچه
Error! Bookmark not defined.....	مناطق مشهور
Error! Bookmark not defined.....	عارف بزرگ!
Error! Bookmark not defined.....	عصر طلایی ترافل
Error! Bookmark not defined.....	قدرت جادویی و خاصیت دارویی
۲.....	فصل دوم
۹.....	یک بحث جذاب علمی در مورد اینکه دنبلان(ترافل) چیست؟
۱۰.....	مایکوریزا: یک همزیستی سودبخش
۱۱.....	انواع مایکوریزا
۱۳.....	ساختار اکتومایکوریزا
۱۵.....	رقابت زیرزمینی
۱۶.....	جنگ جهانی دوم و فروپاشی تولید ترافل
۱۸.....	تکنیک های نوین کشت و تولید ترافل
۱۹.....	تولید نهال آغشته به ترافل با استفاده از اسپور
۲۷.....	اصلاح روش تالون
۲۸.....	آغشتن نهال با کشت های میسلیوم
Error! Bookmark not defined.....	فصل سوم
Error! Bookmark not defined.....	طبقه بندی و شناسایی انواع ترافل
Error! Bookmark not defined.....	نام گذاری و طبقه بندی علمی
Error! Bookmark not defined.....	شناسایی انواع ترافل
Error! Bookmark not defined.....	ترافل سیاه فرانسوی (Perigord Black Truffle (Tuber melanosporum)
Error! Bookmark not defined.....	(Tuber aestinum=Tuber uncinatum) Burgundy یا ترافل تابستانی
Error! Bookmark not defined.....	ترافل زمستانی(Tuber brumale)
Error! Bookmark not defined.....	ترافل بنگولی یا ترافل مزنتری-(Tuber mesentericum) Bangoli or Mesenterique
Error! Bookmark not defined.....	ترافل سیاه صاف(Tuber macrosporum)
Error! Bookmark not defined.....	ترافل های آسیایی

- Error! Bookmark not defined..... Tuber indicum
- Error! Bookmark not defined..... Tuber pseudoexcavatum
- Error! Bookmark not defined..... ترافل سفید ایتالیایی (Tuber magnatum)
- Error! Bookmark not defined..... Bianchetto(Tuber borchii=Tuber albidum) و دیگر انواع ترافل های رنگی اروپایی .....
- defined.**
- Error! Bookmark not defined..... Tuber maculatum
- Error! Bookmark not defined..... Tuber dryophilum
- Error! Bookmark not defined..... Tuber oligospermum
- Error! Bookmark not defined..... ترافل کمرنگ امریکای شمالی
- Error! Bookmark not defined..... ترافل سفید اوریگان (Tuber oregonense و Tuber gibbosum)
- Error! Bookmark not defined..... Pecan truffle(Tuber lyoniae=Tuber texense)
- Error! Bookmark not defined..... ترافل سیاه اوریگان (Leucangium carthusianum= Picoa carthusiana)
- Error! Bookmark not defined..... ترافل شیرین (Mattirolomyces terfezioides)
- Error! Bookmark not defined..... ترافل صحرائی (Eremiomyces, Kalaharituber, Terfezia, Tirmania)
- Error! Bookmark not defined..... ترافل های غیرخوراکی و سمی
- Error! Bookmark not defined..... دیگر گونه های ترافل
- Error! Bookmark not defined..... ترافل های دروغین (شبه ترافل ها)
- Error! Bookmark not defined..... شناسایی گونه های ترافل از روی مایکوریزای آنها
- Error! Bookmark not defined..... شناسایی انواع ترافل با استفاده از روش مولکولی (DNA)
- Error! Bookmark not defined..... فصل چهارم
- Error! Bookmark not defined..... زیستگاه بعضی از ترافل های تجاری
- Error! Bookmark not defined..... زیستگاه ترافل سیاه فرانسوی ( T.melanosporum )
- Error! Bookmark not defined..... زیستگاه ترافل تابستانی یا ترافل بورگاندی (Tuber aestivum)
- Error! Bookmark not defined..... زیستگاه ترافل سفید ایتالیایی ( Tuber magnatum )
- Error! Bookmark not defined..... بیانچیتو (Tuber borchii)
- Error! Bookmark not defined..... ترافل های صحرائی ( Eremiomyces, Kalaharituber, Terfezia, Tirmania)
- Error! Bookmark not defined..... فصل پنجم
- Error! Bookmark not defined..... تأسیس یک مزرعه پرورش ترافل
- Error! Bookmark not defined..... مبارزه با قارچ های همزیست رقیب ترافل
- Error! Bookmark not defined..... انتخاب زمین مناسب برای پرورش ترافل

- Error! Bookmark not defined..... خاک مناسب و زهکشی زمین
- Error! Bookmark not defined..... مواد مغذی و افزودنی خاک
- Error! Bookmark not defined..... آماده‌سازی زمین
- Error! Bookmark not defined..... تغییر و تعدیل خاک
- Error! Bookmark not defined..... کود دادن
- Error! Bookmark not defined..... فنس کشیدن
- Error! Bookmark not defined..... محافظ نهال و بادشکن
- Error! Bookmark not defined..... ترکم نهال‌ها و چیدمان کشت درختان
- Error! Bookmark not defined..... سیستم آبیاری
- Error! Bookmark not defined..... مبارزه با قارچ‌های اکتومایکوریزای رقیب در گل خانه
- Error! Bookmark not defined..... دیگر گیاهان رقیب
- Error! Bookmark not defined..... انتخاب گیاه(نهال) میزبان
- Error! Bookmark not defined..... کاشت دو یا چند نهال باهم یک روش برای بهینه‌سازی
- Error! Bookmark not defined..... چه وقت و چگونه نهال‌ها را بکاریم؟
- Error! Bookmark not defined..... ترافل صحرایی
- Error! Bookmark not defined..... فصل ششم
- Error! Bookmark not defined..... نگهداری و مراقبت از مزرعه ترافل
- Error! Bookmark not defined..... روش‌های مراقبت
- Error! Bookmark not defined..... مراقبت از زمین و خاک
- Error! Bookmark not defined..... برول (Brule) چیست؟ اصطلاحی در پرورش ترافل
- Error! Bookmark not defined..... علف‌کش‌ها برای مقابله با گیاهان خودرو
- Error! Bookmark not defined..... رطوبت خاک
- Error! Bookmark not defined..... آبیاری
- Error! Bookmark not defined..... مالچینگ یا پوشش دهی خاک
- Error! Bookmark not defined..... کود دهی
- Error! Bookmark not defined..... کمبود مواد مغذی خاک
- Error! Bookmark not defined..... پتاسیم ، منیزیم، گوگرد
- Error! Bookmark not defined..... عناصر کممقدار (Trace Elements)
- Error! Bookmark not defined..... مس (Cu)
- Error! Bookmark not defined..... بور (B)



Error! Bookmark not defined..... روی ( Zn )

Error! Bookmark not defined..... بیماری‌های درختان

Error! Bookmark not defined..... بیماری‌های قارچی

Error! Bookmark not defined..... بیماری‌های باکتریایی

Error! Bookmark not defined..... بیماری‌های ویروسی

Error! Bookmark not defined..... حشرات بی‌مهره

Error! Bookmark not defined..... حشره قارچ سیاه‌بال(سکیارید)

Error! Bookmark not defined..... سوسک سیاه

Error! Bookmark not defined..... دیگر حشرات

Error! Bookmark not defined..... حشرات و بیماری‌های خود ترافل

Error! Bookmark not defined..... هرس کردن

Error! Bookmark not defined..... فصل هفتم

Error! Bookmark not defined..... پاداش کار(برداشت ترافل)

Error! Bookmark not defined..... عوامل شکست

Error! Bookmark not defined..... کشت ترافل در خارج از اروپا

Error! Bookmark not defined..... بازدهی

Error! Bookmark not defined..... قیمت ترافل

Error! Bookmark not defined..... ترافل بدون گیاه میزبان

Error! Bookmark not defined..... آینده ترافل

Error! Bookmark not defined..... فهرست ضمیمه ها

Error! ..... ضمیمه ۱: گیاهانی که مایکوریزای درونی هستند و می‌توانند بدن ایجاد خطر آلودگی در مزارع ترافل رشد کنند.

**Bookmark not defined.**

Error! Bookmark not ..... ضمیمه ۲: درختانی که مایکوریزای بیرونی هستند و می‌توانند در مزارع ترافل ایجاد آلودگی کنند.

**defined.**

Error! Bookmark not ..... از این درخت ها برای حصار اطراف مزرعه و یا به عنوان بادشکن به هیچ عنوان استفاده نکنید.

**defined.**

Error! Bookmark not defined.... ضمیمه ۳: برخی از درختان میزبان همزیست گونه های تجاری ترافل.(آزمایش شده عملی)

Error! Bookmark not defined..... حرف "e" در جدول مواردی است که هنوز در حال آزمایش هستند.

Error! Bookmark not ..... ضمیمه ۳: اسامی ترافل ها و درختان میزبان با چهار زبان انگلیسی، ایتالیایی، فرانسه و اسپانیایی

**defined.**

ضمیمه ۴: مقدار برداشت ترافل سیاه فرانسه و سفید زمستانی در فرانسه و اسپانیا به تفکیک سال از ۱۹۹۰ تا ۲۰۰۵ ..... Error!

**Bookmark not defined.**

ضمیمه ۵: مقدار تولید انواع ترافل در ایتالیا ۲۰۰۶-۱۹۵۰ (بر حسب تن) ..... Error! Bookmark not defined.

ضمیمه ۶: جدول مشخصات بعضی از ترافل های صحرایی ..... Error! Bookmark not defined.

ضمیمه ۷: جدول مشخصات شرایط آب و هوایی نزدیک یا شبیه به شرایط آب و هوایی مناطقی که در آن ها انواع ترافل های سیاه

فرانسوی، سفید ایتالیایی، بورگاندی و بیانچیتو تولید می شود. .... Error! Bookmark not defined.

ضمیمه ۸: جدول مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک مناسب سفید ایتالیایی (Tuber magnatum) .. Error! Bookmark not

**defined.**

ضمیمه ۹: ویژگی های آب و هوایی مناطقی از فرانسه که در آن ها ترافل تولید می شود (گارد، دروم و واکلوس و همچنین میزان

تولید ترافل در کانپتراس فرانسه ۱۹۹۳-۱۹۸۷ (بر حسب تن) ..... Error! Bookmark not defined.

ضمیمه ۱۰: فاکتورهایی که ممکن است در تشکیل میوه ترافل و همچنین میزان باردهی مزارع ترافل موثر باشد. .... Error!

**Bookmark not defined.**

ضمیمه ۱۱: کودهای منگنزدار ..... Error! Bookmark not defined.

ضمیمه ۱۲: کودهای رایج مورد استفاده حاوی بور. .... Error! Bookmark not defined.

ضمیمه ۱۳: سازمان های مرتبط با ترافل و مراکز تامین کننده نهال و تجهیزات لازم جهت تولید ترافل (شامل: نهالستان های

تولیدکننده نهال ترافل، آزمایشگاه خاک، مراکز فروش تجهیزات و لوازم مربوط به ترافل ..... Error! Bookmark not defined.

منابع و رفرنس ها ..... Error! Bookmark not defined.

..... Error! Bookmark not defined.





## فصل دوم

- یک بحث جذاب علمی در مورد اینکه دنبان(ترافل) چیست؟
- میکوریزا
- ساختار اکتومایکوریزا
- رقابت زیرزمینی
- جنگ جهانی دوم و فروپاشی تولید ترافل
- روش‌های نوین کشت و تولید ترافل
  - ❖ تولید نهال آغشته به ترافل با استفاده از اسپور
  - ❖ اصلاح روش تالون
  - ❖ آغستن نهال با کشت‌های میسیلیوم



## یک بحث جذاب علمی در مورد اینکه دنبلان(ترافل) چیست؟

در اواخر قرن نوزدهم بحث پرورش و تجارت ترافل به اوج خود رسید. بریلات ساورین (Brillat Savrin) می‌نویسد: بازرگانی که این مسئله را زودتر درک کرده بودند، باقیمت بالایی ترافل‌ها را خریداری می‌کردند و به‌سرعت به بازارهای پاریس منتقل می‌کردند و این کار باعث بیشتر اوج گرفتن تجارت ترافل و قیمت بالای آن شد که در نتیجه میل و گرایش شدیدی به سمت برداشت و پرورش آن به‌صورت طبیعی و مصنوعی بین عموم مردم رواج یافت. تلاش برای اهلی سازی و کاشت دنبلان نتیجه‌بخش بوده است. مردم در طی قرن‌ها مشاهده کرده بودند که این قارچ فقط در زیر درختان خاصی رشد می‌کند.

اولین تلاش برای پرورش ترافل اوایل قرن نوزدهم یعنی در سال ۱۸۰۸، توسط ژوزف تالون (Joseph Talon) فرانسوی صورت گرفت. این مرد یک کشاورز روستانشین فرانسوی به نام حمزه ولوسه جوزف تالون بود که به‌طور اتفاقی یک روش اولیه کشت ترافل را کشف کرد. در کتاب سینگر و هریس (قارچ‌ها و ترافل‌ها ۱۹۸۷ میلادی) نوشته شده است: یک روش کشت غیرمستقیم ترافل سیاه فرانسوی توسط تالون اختراع شده است. او میوه‌های زیر درختان بلوطی که زیر آن‌ها ترافل سبز می‌شد را جمع‌آوری کرد و آن‌ها را در زمینی سنگلاخی که پر از سنگ‌های سیلیسی بود کاشت و چند سال بعد وقتی از زیر آن‌ها ترافل برداشت کرد، شگفت‌زده شد. تالون مرد زیرکی بود و درحالی‌که از این کشف خود در پوست خود نمی‌گنجید، در سال ۱۸۱۰ میلادی شروع به خرید زمین‌های سنگلاخی و بی‌ارزش کرد و در آن‌ها بلوط‌های بیشتری کاشت و سال‌ها این کشف خود را به‌عنوان رازی گران‌بها پیش خود نگه داشت تا زمانی که فهمید از این کارش می‌تواند سود زیادی به دست آورد. در سال ۱۸۵۵ میلادی یکی از تاجران ترافل به نام اوت روسو که یکی از دوستان نزدیک تالون بود، مقدار زیادی ترافل پرورشی مزرعه تالون را برای فروش به پاریس فرستاد و این باعث شد که اسرار چندین ساله تالون فاش شود و این بود که "روش کشت ترافل تالون" بر سر زبان‌ها افتاد. البته ناگفته نماند که در سال ۱۸۴۷، اوت روسو فرانسوی، خود با کاشتن میوه‌های جمع‌آوری شده از زیر درختان بلوط مزرعه تالون، یک مزرعه‌ای ۷ هکتاری دنبلان ایجاد کرد. او به همین دلیل در سال ۱۸۵۵ جایزه‌ای از نمایشگاه بین‌المللی دریافت کرد.

با وجود اینکه اولین نوشته رسمی در مورد پرورش ترافل در سال ۱۸۰۷ میلادی توسط جیاکومو ساچتی دبیر آکادمی سینا منتشر شده است اما اولین روش کشت عملی ترافل به تالون نسبت داده شده است. کشت وسیع مزارع ترافل با استفاده از روش

تالون از اواخر قرن نوزدهم تا نیمه دوم قرن بیستم گواهی محکمی بر موفقیت آمیز بودن این روش است. در اواخر قرن نوزدهم آفت اغلب کرم‌های ابریشم را در جنوب فرانسه از بین برد، و در نتیجه باغات توت بلااستفاده شدند. نتیجه آنکه زمین زیادی برای پرورش دنبلان در دسترس قرار گرفت. در سال ۱۸۹۰ حدود ۷۵۰ هکتار درختان تولیدکننده دنبلان در فرانسه کشت شده بود. گاسپارد آدولف چاتین (۱۸۹۲) می‌نویسد: در سال ۱۸۶۸ حدود ۱۵۰۰ تن و در سال ۱۸۹۰ نزدیک به ۲۰۰۰ تن ترافل در فرانسه تولید شد. بعضی‌ها معتقدند که آقای گاسپارد چاتین بزرگ‌نمایی کرده و احتمالاً تولید در این سال‌ها حدود ۱۰۰۰ تن بوده باشد. در هر صورت این آمار و ارقام نشان می‌دهد که اواخر قرن نوزدهم، دوران طلایی تولید ترافل بوده است.

### مایکوریزا: یک همزیستی سودبخش

در سال ۱۸۸۵ آلبرت برنارد فرانک از طرف پادشاه پروس مأمور شد تا روشی معتبر برای کشت ترافل پیدا کند. او حین کارش متوجه شد که رابطه سودبخشی بین ریشه گیاهان و قارچ‌ها وجود دارد. جوزف گیلی دوسال قبل از او هنگامی که بر روی بیماری جوهر شاه‌بلوط کار می‌کرد متوجه این رابطه شده بود. اما این فرانک (۱۸۷۷-۱۸۸۸) بود که برای اولین بار اصطلاح "Mykorrhizen" (برگرفته از واژه یونانی Myco به معنی قارچی و rhiza به معنی ریشه در انگلیسی "Mycorrhiza") را برای این نوع رابطه همزیستی به کاربرد. سرانجام این کشف بزرگ پرده از راز روش تالون برداشت و دانشمندان به صورت علمی می‌توانستند توضیح دهند که روش تالون چطور کار می‌کرد و چرا موفقیت‌آمیز بود.

یک دهه بعد از کشف فرانک دانشمندان دریافتند که براسیکای‌ها (Brassicaceae)، خانواده گزنه‌ها (Urticaceae)، خانواده پیچک‌ها (Convolvulaceae) و خانواده هفت‌بندها (Polygonaceae) گروه‌های بزرگی از گیاهانی هستند که رابطه مایکوریزا (همزیستی) با قارچ‌ها دارند.

مایکوریزا به معنی همزیستی سازنده بین یک قارچ و ریشه‌های یک گیاه است. قارچ‌های مایکوریزا، نقش عمده‌ای در ریزوسفر دارند، زیرا به عنوان پیوندی مهم در تبادل مواد مغذی بین گیاه و خاک عمل می‌کنند. محیط اطراف ریشه گیاهان را ریشه‌گاه یا ریزوسفر (Rhizosphere) می‌گویند. این قارچ‌ها در این فرایند، هم تغذیه گیاه و هم ثبات خاک را بهبود می‌بخشند. با توجه به اینکه ثبات خاک برای رشد بهینه گیاهان ضروری است، زنجیره بسته‌ای از رابطه‌های علّت و معلولی را در کارکرد قارچ‌های مایکوریزایی در سیستم گیاه-خاک می‌بینیم: قارچ‌ها رشد گیاه را از طریق جذب مواد معدنی از خاک و مقاوم‌تر کردن گیاهان در برابر فشار تقویت می‌کنند؛ گیاه بزرگ‌تری که حاصل این کارکرد است، دارای منبع کربن بیشتری در خاک است که این مسئله فعالیت میکروارگانیسم‌های خاک را افزایش می‌دهد؛ و ساختار بهتر خاک باعث رشد بهتر گیاه می‌شود.

## انواع مایکوریزا

چند نوع مایکوریزا (همزیستی) بین گیاه و قارچها وجود دارد:

### ۱ - اکتومایکوریزا (Ectomycorrhiza)

مایکوریزای بیرونی که بیشتر درختان و درختچه‌های مناطق معتدل این حالت را دارند. هیف‌های قارچی یک غلاف نسبتاً ضخیم در اطراف ریشه ایجاد می‌کنند (در برخی از ریشه‌ها، میسلیوم وارد فضای بین سلولی یا آپوپلاستی سلول‌های پوسته ریشه می‌شود و یک شبکه‌ی بین سلولی را ایجاد می‌کند) و با این کار می‌توانند در جذب عناصر و مواد غذایی توسط ریشه نقش داشته باشند.

### ۲ - اندومایکوریزا (Endomycorrhiza)

مایکوریزا یا همزیستی درونی که در اکثر گیاهان و درختان مشاهده می‌شود. در این همزیستی، ریشه‌های قارچی وارد سلول‌های پوست می‌شوند و در داخل این سلول‌ها ساختارهای بسیار منشعبی بنام آربوسکول (Arbuscular mycorrhiza) را ایجاد می‌کنند که منجر به افزایش جذب عناصر خاک توسط ریشه می‌شود.

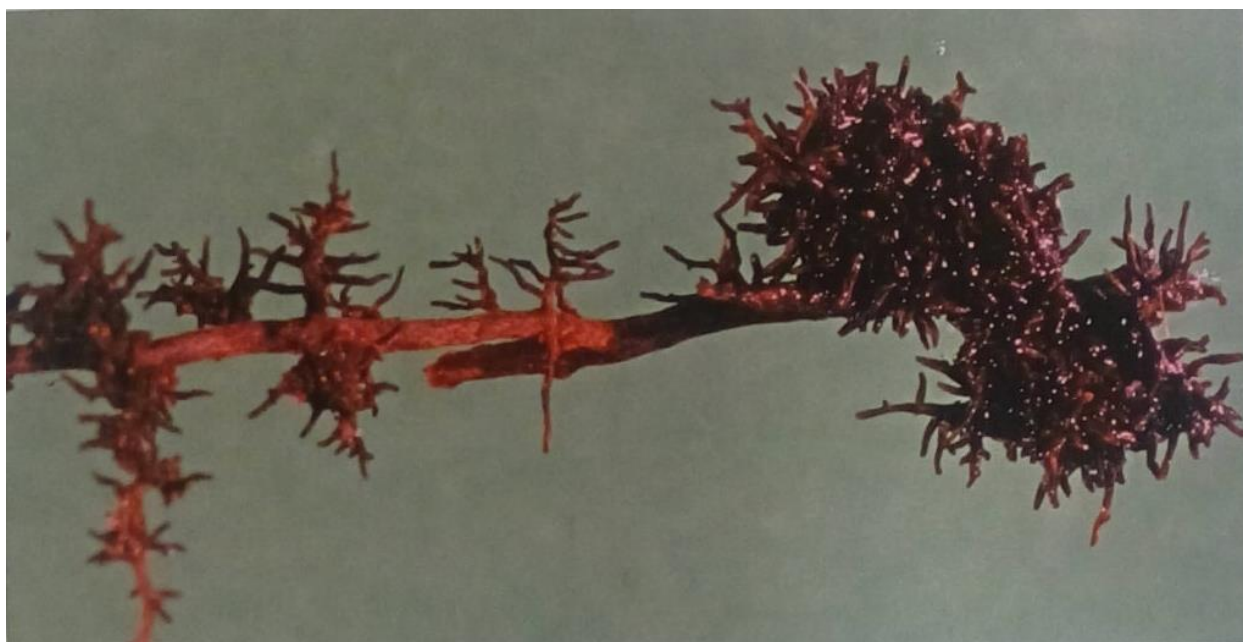
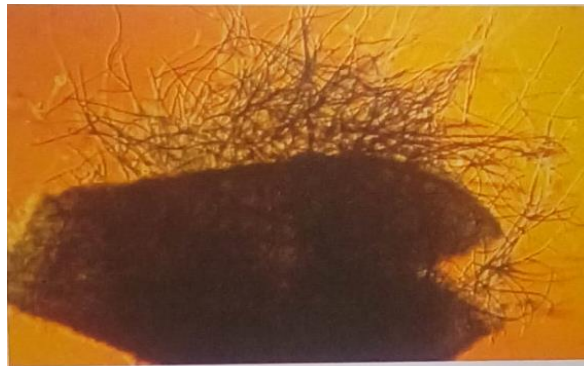
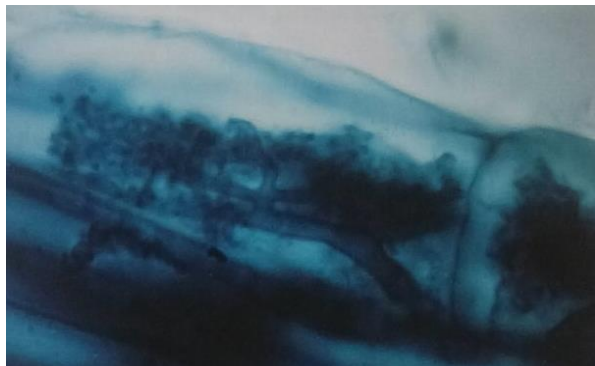
اکتواندومایکوریزا (Ectoendomycorrhiza) یا مایکوریزای بیرونی-درونی:

در این حالت ریشه‌های قارچ علاوه بر اطراف سلول‌های پوست وارد سلول‌های داخلی پوست نیز می‌شوند و در داخل این سلول‌ها ساختارهای هیفی را ایجاد می‌کنند.

قارچ‌هایی که همزیستی درونی دارند با قارچ‌هایی که همزیستی بیرونی دارند کاملاً از همدیگر متفاوت هستند، بنابراین قارچ‌هایی که اکتومایکوریزا هستند نمی‌توانند اندومایکوریزا باشند و برعکس.

شاید این سؤال برای شما پیش بیاید که پس چطور گیاهانی وجود دارند که هر دو رابطه اکتواندومایکوریزا را دارند آیا با این گفته بالا متناقض نیست؟

در جواب این سؤال باید توجه داشته باشید که درست است که گیاهان می‌توانند هم مایکوریزای داخلی و هم خارجی تشکیل دهند اما این بدان معنا نیست که قارچی که با آن همزیست است نیز هم همزیست درونی و هم همزیست بیرونی است. این نوع درختان ممکن است با یک نوع قارچ رابطه مایکوریزای درونی ولی همزمان با یک نوع قارچ دیگر رابطه مایکوریزای بیرونی داشته باشد.



بالا- راست: یک آربسکول (یعنی "درخت کوچک") به وسیله قارچ میکوریزای آربسکولار در داخل سلول ریشه تولید شده است. (جی.گیردمان)  
 بالا - چپ: رنگ آبی و نورپردازی به روش تداخل نوارسکی برای نشان دادن هیف های داخلی (سیستیدیا) بر روی سطح میکوریزای ترافل سیاه فرانسوی (*T.melanosporum*) (ایان ر. هال)

پایین: اکتومایکوریزای ترافل سیاه فرانسوی (*T.melanosporum*) بر بروی ریشه درخت بلوط معمولی (*Quercus robur*) که در خاک به شدت آهکی و با زهکشی بالا و سرشار از خاکستر آتشفشانی در نیوزیلند رشد کرده است. (ایان ر. هال)

بعضی از گونه‌های عجیب مانند ترافل صحرایی هردو نوع رابطه میکوریزا را با درختان مختلف تشکیل می‌دهند. بیشتر قارچ‌هایی مانند قارچ دکمه‌ای سفید که ما در سوپرمارکت‌ها می‌بینیم بر روی بقایای مرده جانداران رشد می‌کنند درحالی‌که بعضی نیز بر روی بافت‌های زنده گیاهان رشد می‌کنند.

دنبلان یا ترافل یک قارچ اکتومایکوریزا است. در واقع به‌طور تخمینی از بین ۵۰۰۰ الی ۶۰۰۰ گونه از قارچ‌های اکتومایکوریزا، حدود ۹۰۰ نوع آن خوراکی هستند.

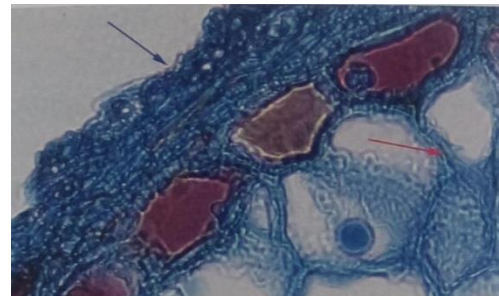
تکنیک‌هایی که ما در این فصل و فصول ۵ و ۶ در مورد پرورش ترافل با شما در میان می‌گذاریم میراث علوم کاربردی است و حاصل تجربه و میراثی علمی است که متأسفانه برای ۲ قرن متوالی مخفی نگه‌داشته شده است و فقط در انحصار یک عده محدود بوده است. از آنجاکه دنبلان یک قارچ اکتومایکوریزا است قصد داریم در اینجا به‌طور مختصر ساختار و رفتار آن را بررسی کنیم.

### ساختار اکتومایکوریزا

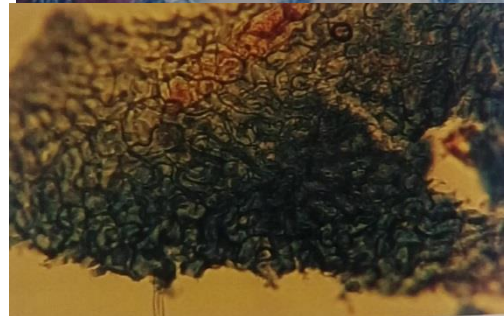
قارچ‌های اکتومایکوریزا یک لایه غلاف مانند از ریشه به نام Mantle به دور ریشه گیاه تشکیل می‌دهند. ریشه‌های منتل ساختاری سه‌بخشی دارند که به آن شبکه هارتیگ (Harig) می‌گویند. همان‌طور که در شکل مشاهده می‌کنید بخشی از ریشه‌ها در بین سلول‌های آجری شکل ریشه نفوذ می‌کنند و یک بخش که هیف‌های به هم تنیده هستند و بخش میانی را تشکیل می‌دهند و یک بخش از هیف‌ها نیز که از طرف لایه بیرونی منتل به درون خاک نفوذ می‌کنند. (شکل‌های صفحه بعد را مشاهده کنید).

تشخیص نوع قارچ‌ها از روی هیف‌ها و نوع میکوریزای آن‌ها کاری پیچیده است و نیازمند میکروسکوپ‌های پیشرفته است و گاهی حتی متخصصان قارچ‌شناسی را نیز گمراه می‌کند. مبتدی‌ها در ابتدای کار احتمالاً در تشخیص میکوریزای کوچک و سس مانند ترافل سیاه فرانسوی بر روی ریشه با گونه مشابه آن مثل قارچ *Sphaerosporella brunnea* با مشکل جدی روبرو شوند. لایه‌های میکوریزای ترافل‌های جوان در حال رشد با لایه‌ای از برآمدگی‌های میکروسکوپی سوزنی شکل به نام سیستیدیا (Cystidia) پوشیده شده‌اند که به‌طرف بیرون کشیده شده‌اند و مثل یک لوله‌شور آزمایشگاهی بسیار ظریف دیده می‌شود. به‌راحتی می‌تواند با استفاده از اندازه و حالت این لایه‌ها و ساختار منتل، نوع و گونه ترافل را تشخیص داد. (فصل ۳ را ببینید)

بالا: یک برش عرضی از اکتومایکوریزای تشکیل شده ترافل سیاه فرانسوی ( *T.melanosporum* ) که بر روی ریشه درخت تشکیل شده و با رنگ آبی نشان داده شده است. هیف های منتل به داخل ریشه نفوذ کرده و بر روی سلول های داخلی ریشه تشکیل شبکه هارتیگی ( Hartig net ) داده اند. (الساندرا زامبونلی)



وسط: تصویری از لایه بیرونی منتل ترافل سیاه فرانسوی تشکیل شده بر روی ریشه. ظاهر منتل در گونه های مختلف متفاوت است و این به عنوان یک شاخص تعیین گونه ها به کار می رود. (ایان ر. هال)



پایین: عکس برداری به روش الکترو میکروگراف از اکتومایکوریزای ترافل بیانچیتو نشان می دهد. هیف های پرز مانند ترافل بیانچیتو که یکی از شتخصه های آن است در این تصویر به خوبی نمایان است. (الساندرا زامبونلی)



## رقابت زیرزمینی

در جنگل‌های نیمکره‌ی شمالی زمین، که درختان اکتومایکوریزا یا همزیست بیرونی فراوان‌ترند، غیرمعمول نخواهد بود اگر بر روی یک درخت واحد انواع گوناگونی از قارچ‌های همزیست بیرونی را مشاهده کنیم. اما این قارچ‌ها باهم در صلح و آرامش زندگی نخواهند کرد. درواقع یک رقابت شدید بین آن‌ها برای جای‌گیری بر روی ریشه درختان و به دست آوردن مواد غذایی صورت می‌گیرد. جرارد کوالیری این رقابت شدید را به‌طور خلاصه نبرد زیرزمینی می‌نامد. بعضی از این قارچ‌های زیرزمینی تاکتیک سریعی را در این نبرد برای آلوده کردن ریشه‌ها از خود نشان می‌دهند و قبل از آن‌که دیگر انواع بتوانند به ریشه برسند آن را آلوده می‌کنند (بررسی ریشه درختان). این در حالی است که بعضی دیگر تاکتیک شیمیایی برای حفظ جایگاه و سهم خود از فضا به کار می‌برند. بعضی از ترافل‌ها مانند Burgundy و Perigord (ترافل سیاه فرانسوی) تحمل‌پذیری زیادی نسبت به انواع خاک نشان می‌دهند که دیگر انواع از آن جان سالم به در نمی‌برند. مانند همه جنگ‌های روی زمین، درک اینکه کدام‌یک از طرف‌های جنگ، خوب و کدام‌یک بد است، کار مشکلی است و برنده این جنگ بسته به شرایط متفاوت است. بعضی از قارچ‌های اکتومایکوریزا (همزیست بیرونی) موجودات همزیست خوبی هستند. این نوع قارچ‌ها سهم مواد غذایی خود را از ریشه درختان تأمین می‌کنند درخت میزبان نیز مواد غذایی موردنیاز خود را به کمک این قارچ‌ها از خاک دریافت می‌کنند. همچنین این قارچ‌ها از ریشه گیاه میزبان محافظت می‌کنند. این سودمندی قارچ‌ها برای ریشه از ارزش مواد غذایی برای گیاه میزبان بیشتر است. بهر حال بعضی از قارچ‌های همزیست بیرونی به‌وسیله ترشح آنزیمی، مواد غذایی خود را به‌طور مستقیم از مواد طبیعی داخل خاک دریافت می‌کنند.

بعضی از گیاهان و درختان به خاطر وجود نوعی قارچ بر روی ریشه آن‌ها دچار کم‌رشدی می‌شوند و حتی در پاره‌ای شرایط دیده شده است که قارچ ژاپنی ماتسوتاکی (*Tricholoma Matsutake*) به گیاه میزبان آسیب جدی می‌زند.

بعضی از قارچ‌های همزیست بیرونی، تنها مهمان یک نوع میزبان نمی‌شوند. به‌عنوان مثال، قارچ قرمز و سفید فلایاگاری (*Amanita Muscaria*) بر روی درختان اکالیپتوس، کاج یا صنوبر، بلوط و توس (درخت فان) مشاهده شده است. به‌طور مشابه بعضی از میزبان‌ها هم می‌توانند همزیست درونی گروهی از قارچ‌ها به‌طور همزمان باشند. اما نکته مهم این است که بعضی از قارچ‌های همزیست بیرونی بعضی از میزبان‌ها را بر دیگری ترجیح می‌دهند و نتیجه متقابل خوبی هم از این همزیستی را نتیجه می‌دهد. به‌عنوان مثال: در انگلیس حدود ۴۰ درصد از قارچ‌های همزیست بیرونی فقط با یک‌گونه صنوبر داگلاسی یا شاه درخت (*Pseudotsuga menziesii*) مشارکت دارند و جالب اینجاست که تعداد زیادی از گونه‌های مشارکت‌کننده چیزی حدود ۱۰ درصد احتمال دارد که با گونه‌های دیگر همزیست شوند. به‌طور مشابه یک نوع ترافل احتمال دارد که با چند نوع میزبان (درخت و گیاه) همزیست باشد (ضمیمه ۳). به‌عنوان مثال قارچ‌هایی که با درختان کاج (صنوبر)،

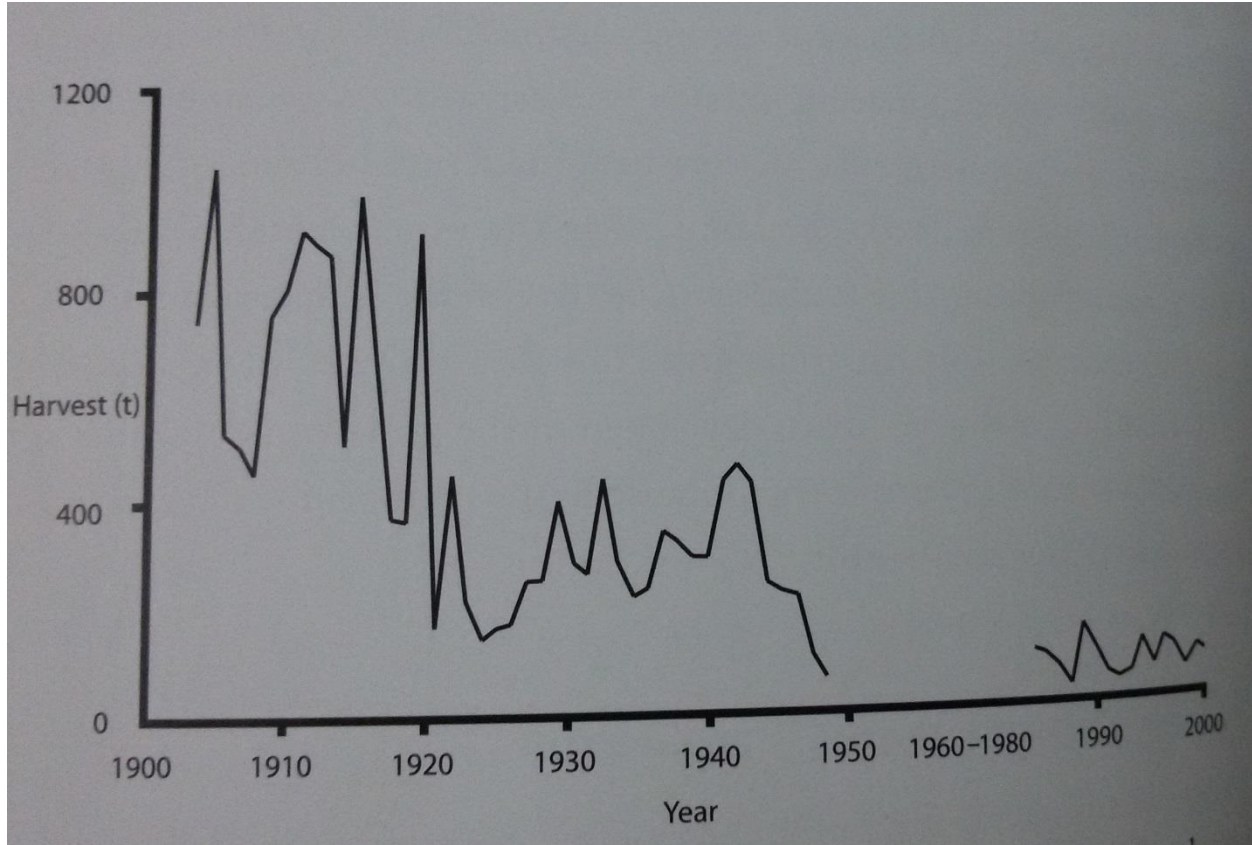


سپیدار و بید همزیستی دارند بسیار نادر است که با اکالیپتوس رابطه همزیستی داشته باشند و بسیار نادر است که اکالیپتوس رابطه همزیستی با قارچ‌های غیربومی استرالیا تشکیل دهند.

### جنگ جهانی دوم و فروپاشی تولید ترافل

در نیمه اول قرن بیستم به خاطر دو جنگ بزرگ جهانی در اروپا و بحران‌های اقتصادی و در نتیجه آن مهاجرت مردم از روستاها به شهر، پرورش ترافل به فراموشی سپرده شد همراه با صنعتی شدن فرانسه و تخلیه روستاها، اغلب این مزارع رها شده و جزئی از طبیعت وحشی گردیدند و تولید آن به صورت قابل توجهی کاهش یافت. دلایل این کاهش بسیار زیاد هستند که اشاره کردن به بعضی از آن‌ها خالی از لطف نیست. با شروع جنگ جهانی اول بسیاری از مردانی که ترافل پرورش می‌دادند کشته شدند و راز پرورش ترافل را نیز با خود دفن کردند. از طرفی با صنعتی شدن اروپا اختلافات طبقاتی باعث شد که مردم به شهرها مهاجرت کنند و به همین دلیل بسیاری از مزارع ترافل به دامان طبیعت وحشی پیوست. از آنجا که ترافل در زمین‌هایی که گیاه زیاد در آن می‌روید خوب رشد نمی‌کند پس طبیعی است که با تخلیه مزارع و رشد گیاهان خودبه‌خود مزارع ترافل از بین می‌رفتند.





نمودار میزان تولید ترافل سیاه فرانسوی (*T.melanosporum*) و ترافل زمستانی (*Tuber brumale*) باهم سال های ۱۹۰۲-۲۰۰۰.

قیمت ترافل پایین آمد تا جایی که در سال ۱۹۱۴ در فرانسه قیمت یک کیلو ترافل ۱۰ فرانک بود و حتی در خلال جنگ جهانی دوم این قیمت به کیلویی ۳ فرانک نیز کاهش یافت. ویرانی‌های جنگ جهانی دوم و قطع جنگل‌های ترافل به این مشکل دامن زد و درنهایت با پایان یافتن جنگ جهانی دوم کشت و پرورش ترافل کاملاً از رونق افتاد. اوایل ۱۹۶۰ قیمت ترافل دوباره بالا رفت و تلاش‌های دوباره برای پرورش آن شروع شد. (ضمیمه ۵۴)

جنگل های فرانسه امروزی از یک قرن پیش متراکم تر هستند و احتمالا تولید کمتری نسبت به قبل دارند. (ایان ر. هال)



### تکنیک های نوین کشت و تولید ترافل

اگرچه روش تالون بیشتر از ۱۵۰ سال پایه پرورش ترافل سیاه فرانسوی بود اما این روش بسیار ناقص و ناکارآمد است و امروزه دیگر صرفه اقتصادی ندارد زیرا نهالها با انواع آفات و بیماریها مانند نماتد ها و حشرات و همچنین قارچهای همزیست رقیبی که سرعت رشدشان بسیار سریعتر است آلوده است. در سال ۱۹۶۰ با تلاش دوباره برای پرورش ترافل، نیاز شدیدی

به یک روش جدید و کارآمدتر احساس می‌شد. در آن زمان از روش مستقیم کاشتن ترافل در زیر درختان (مانند کاشتن سیب‌زمینی) استفاده می‌کردند که از روش تالون بهتر بود زیرا تالون دانه درختانی را که امکان داشت هیچ بذری روی آن نباشد، می‌کاشت. سینگر (۱۹۶۱) می‌نویسد: موج جدید پیشرفت‌ها، روش‌های جدید کنترل بیماری‌ها و تطابق‌های اصولی و عقلانی و بررسی‌های تئوری و آزمایش‌های عملی پرورش ترافل در اروپا و سراسر جهان در طول قرن بیستم، تکاپوی جدیدی برای پرورش ترافل در فرانسه جنوبی به وجود آورد.

اواخر سال ۱۹۶۰ دانشمندان فرانسوی و ایتالیایی با روش‌های جدیدی برای تولید نهال‌های آغشته به ترافل تحت شرایط کنترل‌شده گلخانه‌ای پرداختند که در آن نهال‌ها را با ترافل خالص، اسپور ترافل، کشت آزمایشگاهی و یا با بخشی از ریشه‌های درختان آغشته به ترافل آغشته می‌کردند. عاقبت این تلاش‌ها نتیجه‌بخش بود و در دسامبر ۱۹۷۷ اولین ترافل‌ها در اگریمونت فرانسه برداشت شد. دانشمندان ایتالیایی و فرانسوی عاقبت نفس راحتی کشیدند. اما دانشمندان اسپانیایی هم بی‌کار ننشستند و اولین مزارع ترافل را اوایل سال ۱۹۷۰ تأسیس کردند. البته اسپانیایی‌ها چندین دهه پیش ترافل‌های طبیعی را از جنگل‌هایشان برداشت می‌کردند.

امروزه روش‌های مدرن و کامل کشت ترافل توسط کمپانی‌های بزرگ برای تولید سالیانه هزاران هزار نهال تلقیح شده با ترافل انجام می‌گیرد و آن را به صورت یک راز بزرگ پنهان می‌کنند. اگرچه روش‌های عمومی و کاربردی اکنون به خوبی مستند شده‌اند، اما این مستندات فقط در دسترس خوانندگان محدود است. ما در اینجا سعی می‌کنیم روش کامل این کار را برای شما توضیح دهیم.

### تولید نهال آغشته به ترافل با استفاده از اسپور

هرسال بحث زیادی می‌شود در مورد اینکه در مزرعه‌های کوچک تعدادی اندک نهال آغشته تولید کنیم بهتر است یا این که ده‌ها هزار نهال آغشته به ترافل را که عاری از هر نوع آلاینده هست تولید کنیم. خیلی‌ها معتقدند انتشار جزئیات روش منتشرشده سال ۱۹۶۰ تا ۱۹۷۰ کار درستی نیست چون این روش مقرون‌به‌صرفه نیست و کسی که از آن استفاده می‌کند دچار زیان اقتصادی خواهد شد. اما سرانجام مجموعه‌ای دستورالعمل در سال ۱۹۷۶ توسط مانوزی تورینی (Mannozi Torini) که بر اساس آزمایش‌هایی که در سال‌های ۱۹۶۵ تا ۱۹۷۶ انجام گرفته بود منتشر شد. روش مانوزی تورینی توسط دانشمندان اصلاح‌گردید و روش جدیدی در سال ۱۹۸۲ توسط بنچوانگا (Bencivenga) و توکسینی (Tocchini) منتشر شد. این روش‌ها و اصلاحات بعدها در سال ۱۹۹۲ توسط الساندرزا زامبونلی (Alessandra Zambonelli) و روزیلا دی میونو (Rozella Di Munno) خلاصه شد.

دستورالعمل این روش که توسط زامبونلی و دی میونو خلاصه شده است به صورت زیر است:

۱. ابتدا میوه‌های بلوط را به مدت ۲۰ دقیقه در محلول 0.1 درصد نیترات نقره غرق می‌کنیم تا پوست آن کاملاً استریلیزه شود، سپس توسط آب مقطر استریلیزه کاملاً شستشو می‌دهیم تا نیترات نقره کاملاً از پوسته آن پاک شود. زیرا در غیر این صورت نیترات نقره مانع از رشد اسپور ترافل بر روی آن می‌شود. این بلوط‌ها را یا فوری استفاده می‌کنیم و یا آن را در ماسه استریل فرومی‌بریم تا بعداً استفاده کنیم.
۲. ترافل‌های خوبی را که بالغ و رسیده باشند را برای تولید اسپور انتخاب کرده و کاملاً بررسی می‌کنیم که برای این کار مناسب باشند و آن‌ها را با آب استریل خوب شستشو می‌دهیم تا تکه‌های خاک از سطح آن پاک شوند. ترافل‌ها را در یک شیشه آب استریل قرار می‌دهیم و برای چند روز به حال خود می‌گذاریم تا مانند حالت فاسد شدن طبیعی آن در طبیعت فاسد (فرسوده) شوند. (آب به تسریع این کار کمک می‌کند).
۳. یک کیلوگرم شکر را در ۲۰ لیتر مخلوط آب و ترافل که از قبل آماده شده است، اضافه می‌کنیم تا حالتی چسبناک‌تر به خود بگیرد.
۴. ۳ عدد از بلوط‌هایی که قبلاً در مرحله ۱ استریل کرده‌ایم جدا کرده و با محلول شکر و ترافل که از قبل در مرحله ۲ آماده کرده بودیم آغشته می‌کنیم تا حداقل ۲ تا ۳ گرم ترافل بر روی هر دانه بلوط قرار بگیرد. این بلوط‌ها را در بطری‌های حاوی ۲ تا ۳ کیلوگرم خاک طبیعی ترافل (که قبلاً در اتوکلاو در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ تا ۳ ساعت حرارت داده‌ایم تا استریل شود و همه آلاینده‌های آن کشته شوند) می‌کاریم.

زامبونلی و دی میونو اصلاحات زیر را در این روش انجام داده‌اند:

۱. به جای دانه‌های بلوط، نهال‌های جوان و استریلیزه که در خاکی کاملاً استریلیزه (ورمی کولایت یا پرلیت) همراه با مواد مغذی رشد کرده‌اند را با اسپور ترافل آغشته می‌کنیم.
۲. محلول سوسپانسیون ترافل را باهم زدن کاملاً همگن می‌کنیم تا اسپورهای ترافل از کیسه‌هایی (asci) که در آن شکل گرفته‌اند، رها شوند.
۳. سرانجام گلدان‌های حاوی مخلوط خاک کشت را در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ ساعت در داخل اتوکلاو حرارت دهیم و همچنین آغشته کردن ریشه‌ها را در شرایط کنترل شده و کاملاً استریل انجام می‌دهیم.

این اصلاحات چند فایده دارد:

۱. یک. استفاده کردن از نهال به جای دانه‌ها باعث می‌شود که اسپورهای محلول ترافل فوری بر روی ریشه‌ها بچسبند و تشکیل میکوریزا دهند.



دو. همگن کردن محلول باعث می‌شود که ریشه‌ها به‌طور مؤثرتری آغشته شوند و درصد موفقیت بالاتر رود.  
سه. دقت و توجه زیاد به شرایط و تلقیح و آغستن در شرایط استریل به ما اطمینان بیشتری می‌دهد که قارچ‌های آلوده‌کننده رقیب کاملاً از بین رفته‌اند و این درصد موفقیت را تا حدود زیادی بالا می‌برد.



از اوایل ۱۹۸۰ به بعد اصلاحات دیگری نیز انجام گرفت که در زیر به آن‌ها اشاره می‌کنیم:

- ذخیره و انبار کردن ترافل در شرایط استریل و در سردخانه هنگامی که قیمت آن پایین است و استفاده از آن در بهترین زمان مناسب برای کشت. این کار قدرت جوانه‌زنی دنبلان را بالا می‌برد و این احتمالاً به خاطر تأثیر میکروارگانیزم‌ها و ترشح التهابی ریشه‌ها، اسپورها نیازی نیست که از کیسه‌ها رها شوند و به آسانی جوانه می‌زنند.
- استفاده از تعداد شمارش شده‌ای از اسپور به جای استفاده از وزن مشخصی از ترافل برای هر نهال. زیرا تعداد اسپورهای موجود در یک گرم محلول ترافل، از ترافلی به ترافل دیگر متفاوت است و مقدار ترافل اضافه‌شده به محلول روی نتیجه کار تأثیرگذار است.
- آغشته کردن نهال‌ها با مقدار اقتصادی‌تر و مشخص‌تری از ترافل مثلاً ۱ گرم ترافل شامل  $10^5$  تا  $10^7$  اسپور ترافل است. آغشته‌سازی با  $10^2$  اسپور برای هر نهال احتمال موفقیت را تا حدود زیادی پایین می‌آورد.
- استفاده از اسپور منجمد شده و یا اسپور خشک‌شده یا اسپور خشک منجمد برای آغشته‌سازی نهال‌ها.
- استریل کردن دانه‌های کاشته شده قبل از کشت با محلول هیپوکلریت سدیم یا پراکسید هیدروژن (آب اکسیژنه).
- مخلوط کردن ورمی کولایت استریل به نسبت ۱ به ۶ در محلول اسپور ترافل برای توزیع همگن‌تر آن بر روی ریشه‌ها.
- جایگزینی خاک به کاربرده شده با مخلوط‌های بدون خاک استریل مانند: ترکیب پیت ورمی کولایت یا ترکیبی از پیت، پرلیت و سنگ‌آهک به پیمانه‌های مساوی و یا ترکیبی از ۲۰ درصد خاک خشک مخصوص یا رندزینا (Rendzina) و ۳۰ درصد پیت یا کمپوست و ۵۰ درصد ورمی کولایت با دولامیت برای بالا بردن PH و این ترکیب را با پوششی از کود گرانوله ضعیف بیوشانیم.
- استفاده از انواع گلدان‌های متفاوت مانند: جعبه‌های پلاستیکی مربعی، کیسه‌های سلولوزی، کیسه‌های پلی تنی سیاه و طبقه‌های پلی تنی سیاه که در اطراف آن شیارهایی برای رفت و آمد هوا وجود دارد.
- استفاده از گلدان‌های کوچک‌تر که کمتر از ۱ کیلوگرم خاک بگیرند تا فضای کمتری در گلخانه را اشغال کنند و بتوان جعبه‌های بیشتری را جا داد.

- دو بار حرارت دادن گلدان‌ها قبل از مصرف در دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس یا میکروب‌کشی کردن ترکیب خاک با اضافه کردن محلول متیل برومیل ، جهت کنترل بیشتر آلوده‌کننده‌ها بعد از تلقیح (آغشتن).



اسپور جوانه زده ترافل سیاه فرانسوی ( Tuber melanosporum ) ( س. فیشر و س. کولیناس )

بهر حال هرچقدر هم که این روش‌ها پیشرفته باشند، باغبان باید همیشه تک‌به‌تک نهال‌ها را از نظر آلودگی بررسی کند. درواقع هر نوع سهل‌انگاری در مراقبت باعث می‌شود که تعداد نهال‌هایی که تلقیح نشده زیاد شوند و یا نهال‌هایی که اسپور به صورت کامل روی آن‌ها رشد نکرده را به مزرعه منتقل کنیم که این خود باعث می‌شود قارچ‌های رقیب سریع ریشه‌ها را آلوده کنند و این از نظر اقتصادی هزینه‌های جبران‌ناپذیری را بر پروژه تحمیل می‌کند که ممکن است منجر به شکست پروژه شود.

گاهی اوقات بعضی از پرورش‌دهندگان ترافل برای صرفه‌جویی اقتصادی از مقدار کمتری اسپور برای تلقیح نهال‌ها استفاده می‌کنند تا بتوانند باقیمت کمتری آن را به فروش برسانند و این ضربه بزرگی به اعتبار کاری آن‌ها وارد می‌کند زیرا نهال‌ها از مرغوبیت کافی برخوردار نخواهند بود و درصد جوانه‌زنی پایین می‌آید و مشتری‌ها از دست وی ناراضی خواهند بود که درازمدت اعتبار آن‌ها خدشه‌دار خواهد شد.

تا اینجا روش تلقیح از طریق اسپور برای تولید تجاری نهال آغشته به اسپور گونه‌های *T. Melanosporum*, *T. orchii*, *T. aestivum*, *T. brumale*, *T. macrosporum* را توضیح دادیم. این روش همچنین برای گونه *T. magnatum* نیز آزمایش شده است اما به کار بردن مقدار کم اسپور برای این‌گونه باعث ایجاد مشکل می‌شود تا جاییکه میکروارگانیسم‌های آلوده‌کننده رقیب آن را از بین می‌برند. پس دقت داشته باشید که باید مقدار بیشتری اسپور استفاده شود.

علاوه بر روش‌های معمول کاشت ترافل در اسپانیا، محققان والنسیا و بارسلونا تلاش‌هایی برای تلقیح درختان بلوط و فندق طبیعی انجام داده‌اند. برای این کار ریشه درختان را با دستگاه‌ها از خاک بیرون می‌کشند و ریشه و خاک اطراف آن را یا استریل می‌کنند و یا بدون استریل کردن، ریشه را با حجم زیادی از اسپور آماده آغشته کرده و دوباره در زیر خاک



قرار داده سپس آن را آبیاری می کنند. مزارع ترافل زیادی با این روش تأسیس شده اند اما هنوز زود است که قضاوت کنیم که آیا این روش صرفه اقتصادی دارد یا نه.

در مورد این سؤال که آیا استفاده از ترافل های کوچک و نامرغوب برای تلقیح باعث تولید ترافل کوچک و نامرغوب می شود و برعکس، اطلاعات دقیقی در دسترس نیست اما عاقلانه تر آن است که نهال ها را با مرغوب ترین و بهترین نوع ترافل ها آغشته کنیم. استفاده از گونه شناخته شده دلخواه باعث می شود که احتمال رویش گونه اشتباه ترافل نیز از بین برود. خطر این کار زمانی بیشتر می شود که با ترافل ارزان قیمت یا قطعه های کوچک ترافل یا قطعه های خشک شده ترافل از منبعی نامعلوم برای تلقیح استفاده کنیم. به علاوه تشخیص نوع و گونه یک ترافل ۲۰۰ گرمی خیلی آسان تر از بازشناختن ۲۰ ترافل کوچک ۱۰ گرمی است.

پس هنگام شروع کار حتماً به این نکات ریز توجه دقیقی داشته باشید تا بعداً با مشکل روبه رو نشوید.



بالا: نهال تلقیح شده با ترافل که در گلدان های سلولزی پرورش داده شده اند. لیبل های روی نهال نشان می دهد که این نهال ها با مقدار زیادی اسپور ترافل سیاه فرانسوی آغشته شده است و عاری از هرگونه آلودگی است. (ایان ر. هال)

پایین: گلدان های ویژه پرورش نهال که در پایین آن دارای شیارهایی است که ریشه از طریق آن با هوا در تماس است.  
(ایان ر. هال)

## اصلاح روش تالون

اگرچه تلقیح با استفاده از اسپور، روش ترجیحی اکثر پرورشگاه های ترافل است اما روش های دیگری نیز از سال ۱۹۶۰ به بعد برای این کار ابداع شد. یکی از این روش ها، استفاده از گیاه مادر است که بر اساس روش تالون استوار است.

نهال های تلقیح نشده با نهال های آغشته به ترافل در کنار هم و در اتاق های کنترل شده استریل کاشت می شدند. یک روش مشابه هم توسط کاولیری و گرنتا (۱۹۷۳) توصیف شده است که توسط هال (۱۹۷۳) برای نهال های همزیست درونی توسعه یافت و به دنبال آن توسط جیوانتی (۱۹۸۰) این روش بدون استفاده از گیاه مادر، ثبت و منتشر شد. در این روش به جای استفاده از گیاه مادر، ریشه آغشته به اسپور را از نهال مادر جدا کرده و کنار ریشه استریل نهال جدید می کاریم. لوبو و همکارانش (۱۹۹۰) از این تکنیک استفاده کردند. آن ها از بطری های استریل پلی اکریل امید که کناره های آن دارای درز بودند برای نهال های آغشته استفاده کردند و اجازه دادند که ریشه های آغشته از کناره های گلدان بیرون بیاید و از این ریشه های آغشته برای نهال های جدید استفاده می کردند. به هر حال توجه اقتصادی این روش های هزینه بردار و گران هنوز باید اثبات شود.

روش های جدید به آسانی وابستگی به نهال مادر را حل کردند. به جای استفاده از ریشه تلقیح شده، از ریشه های دگرگون شده ای که می توانند بدون جوانه هم رشد کنند استفاده می کنند. این روش برای قارچ های آربسکولار (همزیست درونی) هم به کار برده می شود. واردا کاجان زور (Varda Kagan- Zur) و همکارانش (۲۰۰۲) این روش را ابداع کرده اند. نهال بدون ریشه راکوب (Cistus Incanus) را با آگروباکتریوم ریزوژن (agrobacterium rhizogenes) (یک نوع باکتری که محرک ریشه است و باعث تحریک ریشه بعضی درختان و ریشه زایی می شود) آغشته کردند. تارهای نازک و ظریف پرزدار ریشه از نقاط تلقیح شده به A.rhizogen ۸ تا ۱۱ روز بعد از تلقیح پدیدار شدند و سپس به طور جداگانه، این ریشه ها به محیط کشت مایع آنتی بیوتیک دار منتقل شدند. این ریشه ها سپس به محیط کشت جامد با غلظت کمتر نیترات و آنتی بیوتیک منتقل شدند و سپس به محیط کشت جامد آماده شده برای نهال های اکتومایکوریزا انتقال یافتند. ریشه های کشت شده حتی بعد از چندین ماه به حیات خود ادامه دادند و بدون محیط کشت رشد خوبی از خود نشان دادند. سپس یک قطعه آگار آغشته به میسلیم تازه ترافل سیاه فرانسوی را در وسط ریشه هایی که در محیط کشت جامد رشد کرده بودند قرار دادند. تقریباً ۳ ماه بعد تجمع مایکوریزایی در طول ریشه های کشیده شده

گسترش یافت و دو ماه بعد ریشه‌های خاج مانند ترافل کاملاً قابل مشاهده بود. امروزه این تکنیک ها تا جایی گسترش یافته‌اند که به راحتی می‌تواند به صورت تجاری از آن‌ها استفاده کرد.

### تلقیح نهال با کشت‌های میسلیم

در سال ۱۹۰۳ لوئیس ماتراچوت (Louis Matruchot) برای اولین بار توانست در آزمایشگاه کشت میسلیم خالص ترافل سیاه فرانسوی (Perigord Black Truffle) را تولید کند. بعد از او جرارد چيوالیر (Gerard Chevalier) یک روش جدید تلقیح نهال با اسپورهای جوانه زده یا میسلیم در محفظه‌های مخصوص ابداع کرد. الیساندرامبونلی و همکارانش در سال ۱۹۸۹ روش‌های نوین را بیشتر اصلاح و توسعه دادند و روش‌های استاندارد برای تلقیح نهال‌ها در لوله آزمایشگاه با استفاده از کالچر میسلیم که از میوه ترافل بیانچیتو (Bianchetto) گرفته شده بود ابداع کردند. این تکنیک ها هنوز هم برای کشت ترافل زمستانی به کار برده می‌شوند. آزمایش‌های مقدماتی نشان داده‌اند که می‌تواند با استفاده از میسلیم ترافل سیاه فرانسوی (Perigord Black Truffle) و ترافل بورگاندی (Burgundy) نهال‌های تلقیح شده تولید کرد.

در سال ۱۹۹۴ آسونسیون مورت (Asuncion Morte) و ماریو هونروبیلا (Mario Honrubia) یک روش منحصر به فرد برای تلقیح گل‌سنگ (Helianthemum almeriense) با کالچر میسلیم ترافل صحرایی (Terfezia claveryi) ابداع کردند که شبیه روشی بود که قبلاً در ایتالیا به کار می‌بردند. در این روش ابتدا گیاه H.almeriense را در شرایط (حرارت و نور) کنترل شده در محیط کشت بدون هورمون نگهداری می‌کنند. کالچر میسلیم ترافل T.claveryi از روش کشت بافت با PH ۸ تهیه شده است. گیاه یا میسلیم تلقیح می‌شود و در انکوباتور نگهداری می‌کنند تا میکوریزا تشکیل شود. سپس گیاه را به محیط کشت جامد که خاک آن ترکیبی از پیت، ورمیکولايت و شن با نسبت مساوی هست منتقل کرده و در گلخانه نگهداری می‌کنند. به طور مشابه به همین روش گیاه بادمجان (Robinia pseudoacacia) را با قارچ (Mattirolomyces terfezioides) تلقیح می‌کنند. و همچنین گل‌سنگ H.ovatum را نیز به همین روش تلقیح می‌کنند که این موارد آخری کمی عجیب و موردی نادر به نظر می‌رسند.

چنین روش‌هایی از کشت بافت خالص امروزه این امکان را فراهم کرده است که به آسانی می‌تواند تولید دنبان (ترافل) را با روش تلقیح نهال‌های عاری از هر نوع آلودگی را در شرایط خاص آب‌وهوایی و ترکیبات خاک و انواع نهال میزبان انجام داد.