

## 1 Introduction

Rares sont les secteurs agronomiques où les travaux de sélection ne sont pas prépondérants avec comme implications directes des offres variétales adaptées aux problématiques en cours.

Partant de ce constat, l'idée a donc émergé à Agritruffe d'aborder une approche de sélection en s'appuyant sur une aptitude naturelle des champignons à la reproduction végétative. Cette propriété se retrouve également chez les végétaux et son exploitation en horticulture regroupe toutes les techniques dites de bouturage.

Pour les champignons, le principe peut être simplifié ainsi : un filament de mycélium coupé en 2 génère 2 entités viables chacune pouvant alors se développer indépendamment l'une de l'autre. Ces 2 individus génétiquement identiques peuvent être appelés boutures ou clones. La multiplication végétative conserve à l'identique les caractères génétiques par opposition à la multiplication sexuelle qui, elle, crée de la diversité.

## 2 Principes de création des cultivars

La technique de création des cultivars est basée sur le bouturage de mycélium à partir de mycorhizes qui sont prélevées sur un plant puis redistribuées et multipliées sur plusieurs autres plantules non mycorhizées.

Le plant "mère" (ou plus exactement les "mycorhizes mères") qui va engendrer tous les autres est sélectionné selon un critère qualitatif impactant fortement sur l'itinéraire cultural de la truffe de la pépinière au champ. A ce jour, nous avons travaillé sur 2 critères :

**① "Agressivité mycorhizienne".** Le plant de départ est exceptionnellement bien mycorhisé avec une note supérieure ou égale à 4 sur 5 suivant l'échelle de notation de l'INRAe.

**② Production de truffe.** Les mycorhizes ne proviennent pas d'un plant de pépinière mais d'arbres de truffières qui produisent de façon importante et régulière d'une saison à l'autre.

Le choix de la multiplication végétative du champignon (bouture) doit permettre de conserver une certaine homogénéité génétique du champignon sur l'ensemble des plants pour qu'une fois en plein champ les arbres puissent exprimer à travers leur production de truffes des caractères communs et notamment ceux à intérêt agronomique. Cela correspond en agriculture à la définition du cultivar : les individus qui composent la population du cultivar ne sont pas identiques génétiquement mais ils expriment des caractères communs. L'objectif souhaitable est que parmi ces caractéristiques agronomiques communes figurent les critères de sélection de départ (bon niveau de mycorhization avec cette notion "d'agressivité", production généralisée et régulière de truffe).

### Remarque

Face à ce type d'approche, une critique récurrente se rattache à l'appauvrissement de la diversité génétique de la truffe au détriment de son potentiel de production. Cet argument est largement discutable car dans le cas particulier de la truffe, il semble que ce phénomène d'appauvrissement génétique se produise naturellement. Effectivement, les arbres producteurs sont dominés seulement par quelques individus qualifiés par les scientifiques de génotypes fongiques "exclusifs". L'arbre abriterait donc une diversité génétique faible concernant la truffe [1]. Dans le même ordre d'idée, un plant après 4 à 5 ans de plantation est dominé par un seul mating type ou genre sexuel [2] ce qui revient encore à diminuer de la diversité génétique.

Par ailleurs cette technique de multiplication ne semble pas empêcher la fructification car à partir d'essais analogues avec une autre espèce de truffe (*Tuber macrosporum*), un ascocarpe a été observé sur un plant de 2 ans à l'intérieur du godet (juin 2015).

## 3 Première phase de validation en pépinière

La première phase de validation des plants multipliés dépend de leur faculté à mycorhizer rapidement et massivement les systèmes racinaires ce qui représente un critère prépondérant dans nos exigences de pépiniériste.

### Principales phases dans la production des cultivars en serre (2013 à 2021)

**2013 à 2016 :** phase de sélection selon le niveau de mycorhization des cultivars. Sur 15 origines différentes testées, 4 ont été retenues pour être mises en production.

### **2017 à 2019, phase de production en pépinière**

Années de production	2017	2018	2019
Nombre de cultivars de chênes verts produits	1041	1050	0
Nombre de cultivars de Chênes pubescents produits	1487	727	510

### **2020 à 2021, phase de "nettoyage" des cultivars et auto-critique**

### **2022 à 2024, relance de la multiplication des cultivars**

La multiplication végétative du mycélium par bouturage de mycorhizes en pépinière est reconnue pour être une approche à risques en termes de contamination [3], phénomène qui s'est produit après 5 ans de multiplication en pépinière.

Durant ces 2 années (2020 - 2021), les plants ont été contrôlés un à un, de façon très drastique, pour repartir dans des phases de multiplication avec des plants mères exempts de toute contamination.

## 4 Seconde phase de validation en truffière

### 4 . 1 Données de plantation

En 2015, 3 parcelles de cultivars ont été plantées dans la région Nouvelle Aquitaine. L'une d'elles a été suivie régulièrement et les données proviennent de cette dernière.

42 plants truffiers y ont été installés au printemps 2015 en 7x7 sans aucun apport de spores (réensemencement) ni à la plantation ni durant les saisons suivantes. Tous les plants étaient issus d'un seul et même cultivar dit "agressif en mycorhization". Jusqu'à présent, les plants n'ont pas été taillés. Les interventions restreintes (taille, arrosage, ensemencement) sont des choix volontaires, de façon à apprécier la capacité de production des plants cultivars en limitant au maximum l'influence d'autres facteurs.

2 essences, chêne vert et pubescents, ont été testées avec diverses origines (provenance géographique des glands).

Essence	Age	Effectifs	Nombre d'origines
Pubescents	1	6	2
	2	4	1
	3	1	1
C. vert	1	8	3
	2	14	2

Les principales phases d'entretien de la parcelle sont répertoriées dans le tableau ci-dessous.

0 à 4 ans
Travail du sol avec 5 à 6 passages au vibroculteur, 2 à 4 sarclages au pied.
De mai à juillet exclusivement sur les chênes pubescents : 4 à 6 traitements d'un mélange soufre/cuivre (respectivement 5,5g/l et 5g/l) et un traitement cuivre en novembre (30g/l).
Pas d'arrosage excepté 1 fois à la plantation (10l/pied).
5 à 8 ans
1 passage du vibroculteur (février mars)
Inter-rangs gyrobroyés 1 fois/an et fauchage autour des arbres à la débroussailleuse en septembre

La parcelle de cultivars est insérée entre 2 plantations plus anciennes. Le propriétaire connaît bien le comportement de ses premières plantations ce qui nous a procuré des éléments de comparaison dans le suivi de ces cultivars.

### 4 . 2 Observation des brûlés (2020, 5 ans de culture)

Le relevé des brûlés a été effectué selon une échelle de notation décrite dans le tableau ci-dessous.

Note	Observations
0	pas de brûlé visible
1	brûlé diffus
2	brûlé prononcé non exclusif* avec circonférence incomplète mal bordurée
3	brûlé significatif exclusif avec circonférence incomplète mal bordurée

4	brûlé significatif exclusif avec circonférence incomplète bien bordurée
5	brûlé significatif exclusif avec circonférence complète borduré bien nette

\* en rapport avec la présence/absence de végétation sur le brûlé.

Les résultats sont synthétisés dans le tableau ci-dessous.

Essence	Age	Effectifs	Note moyenne des brûlés
Pub	1	6	2
	2	4	3,5
	3	1	4
C. vert	1	8	3,5
	2	14	4



Brûlés nettement marqués sous les cultivars (note 4,5 selon le barème mis en place)

#### Analyse des relevés

De façon générale, tous les arbres présentent un brûlé plutôt bien marqué (note > 2,5).

Les chênes verts ont un brûlé plus intense que les pubescents.

Toutes essences confondues, les brûlés issus des plants de 2 ans sont plus marqués que ceux issus des plants de 1 an.

### 4 . 3 Début de production

Durant la saison 2021/2022, 11 chênes verts sont entrés en production (tous avaient une note de brûlé comprise entre 4 et 5 en 2019) soit 11 producteurs/22 plantés (50%).

Les cultivars devraient aussi faire ressortir l'influence de l'arbre (essence et origine) puisqu'ils sont génétiquement semblables au niveau du champignon. Mais dans la réalité il est difficile de discerner l'influence d'une origine sur l'autre pour l'entrée en production. Le nombre de plants testés n'est peut-être pas suffisant non plus. Toutefois, la production semble se déclarer de façon plus fréquente sur les chênes verts issus de plants de 2 ans.

La truffière est gérée sans irrigation et en 2022/23 avec un été particulièrement chaud et sec, aucun plant n'a produit. Durant la saison 2023/24, la production s'est encore étendue. Les fréquences de production par années et essences sont répertoriées dans le tableau ci-dessous.

Age (à la plantation)	Saisons				
	2021/22		2023/24		
	Nombre	Pourcentage	Nombre	Pourcentage	
Pubescent	1	0	0%	2	20%
	2	0	0%	3	43%
C. vert	1	6	40%	12	80%
	2	5	71%	6	86%

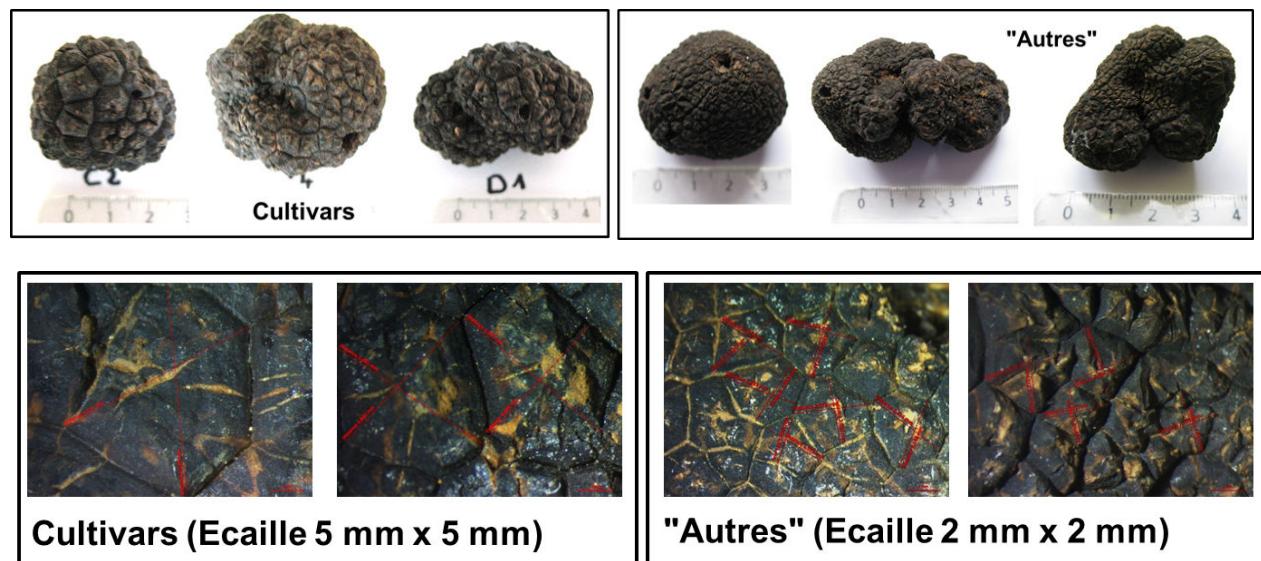
Lors de la première mise en production (données entourées sur le tableau) la proportion d'arbres issus de plants de 2 ans est supérieure à celle issue de plants de 1 an sur les deux essences testées (chêne vert ou pubescent)

#### 4 . 4 Morphologie des truffes

Le propriétaire a également noté que le phénotype (morphologie externe) des truffes était identique sur tous les cultivars et surtout qu'il était différent de tout ce qu'il avait jusqu'alors observé sur ses autres plantations quelques soient les saisons de récolte et les origines de plants (essences et pépinières).

Parmi les principaux critères de distinction (photos ci-dessous), on peut énumérer :

- le périadium avec des écailles plus grossières,
- le calibre légèrement supérieur aux autres. Ce critère sera à confirmer car les premières truffes produites ont aussi tendance à être souvent plus grosses.
- une forme un peu plus lobée.



Ce constat a remis en cause les réflexions du propriétaire basées sur une relation de cause à effet entre les conditions édaphiques et la morphologie des corps fructifères.

## 5 Conclusion

Au final, les cultivars sont capables de produire des brûlés bien marqués en 3 à 4 ans et les premières truffes en 5-à 6 ans avec un démarrage de la production exclusivement sur les chênes verts. Les premières productions sont aussi plus fréquentes sur les arbres issus de plants de 2 ans. Ces observations sont tout à fait similaires avec celles relevées sur les plantations adjacentes que l'on qualifiera de "conventionnelles".

En pépinière, ces cultivars créent une offre inédite dans le secteur des plants truffiers en proposant pour le champignon des profils génétiques pérennisables car reproductibles au fil des saisons. Toutefois comme il a été déjà évoqué précédemment, il n'est pas facile de maintenir ce type de plants en pépinière. Le propriétaire a d'ailleurs réalisé cette année une nouvelle plantation avec le même cultivar afin de voir si un comportement analogue sera constaté à partir de plants ayant subi des cycles de multiplication durant 8 années en serre.

Face aux contraintes de cultures de ces cultivars, une approche parallèle a été aussi développée : l'inoculum est du mycélium de truffe cultivé indépendamment en laboratoire avec lequel le risque de contamination est maîtrisé. Après des résultats de mycorhization satisfaisants, les premiers plants issus de ce mycélium sont en cours de plantation.

Côté expérimentale, ce travail a peut-être révélé un marqueur génétique lié à la morphologie des corps fructifères dont l'expression est dominante sur la totalité des cultivars ayant commencé à produire. N'ayant pas les moyens techniques suffisants pour vérifier cette hypothèse, le sujet n'a pas été approfondi.

Les résultats valident donc l'approche expérimentale de départ à savoir la sélection et multiplication de caractère génétique en pépinière avec un maintien de celui-ci tant dans l'espace que le temps sur la truffière. Concernant la parcelle d'étude, il sera intéressant de poursuivre nos observations suivant la conduite culturale appliquée pour savoir si ce caractère va plutôt disparaître, persister ou s'étendre en étudiant notamment l'impact du réensemencement.

## Remerciements

La société Agritruffe tient à remercier particulièrement le trufficulteur du groupement local de St Pantaly d'Excideuil en Dordogne qui a accepté de "porter" et suivre en toute visibilité et confiance cette expérimentation.

## Références bibliographiques

- [1] Murat C, Rubini A, Riccioni C, De la Varga H, Akroume E, Belfiori B, Guaragno M, Le Tacon F, Robin C, Halkett F, Martin F, Paolocci F. Fine-scale spatial genetic structure of the black truffle (*Tuber melanosporum*) investigated with neutral microsatellites and functional mating type genes. *New Phytol.* 2013 Jul;199(1):176-187.
- [2] F. Letacon F dans "Les truffes, biologie, écologie et domestication", édité par AgroParisTech en 2017 (p91).
- [3] Iotti, M., Piattoni, F., & Zambonelli, A. (2013). Techniques for host plant inoculation with truffles and other edible ectomycorrhizal mushrooms. In *Edible Ectomycorrhizal Mushrooms: Current Knowledge and Future Prospects* (pp. 145-161). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.