

DEMETER

DÉveloppement de METHodes agro-Ecologiques Respectueuses en production de champignon de couche et autres Champignons cultivés

Compte-rendu de réalisation 2020-22



« La responsabilité du ministère chargé de l'agriculture ne saurait être engagée »

Préambule

Le projet DEMETER vise à **acquérir pour l'ensemble des champignons cultivés des références techniques directement transposables dans les pratiques professionnelles sur des itinéraires de production agroécologiques respectueux de l'environnement et de la santé des consommateurs.**

En ce qui concerne le champignon de couche le développement de méthodes de production et de lutte alternative contre les bio-agresseurs des cultures constitue la priorité majeure.

Quant aux champignons de diversification, les enjeux de ce programme sont focalisés sur le renforcement de la gamme et la définition de modèles de production Biologique.

Les techniques de production étant différentes entre champignon de couche et autres champignons cultivés (notamment en termes de nature du substrat de culture, de durée d'incubation, etc ...), les actions du projet sont segmentées en fonction du type de champignon cultivé. Le projet est composé de trois actions.

Action spécifique au champignon de couche

Objectif : identifier toute solution, principalement issue de produits phytopharmaceutiques de biocontrôle, pour que les producteurs puissent préserver leur production en cas d'attaque fongique par l'agent de la maladie de la toile, de la maladie de la mole sèche ou de présence de moucheron Sciarides. Il s'agit en particulier de rechercher, identifier et évaluer les solutions de biocontrôle en culture du champignon de couche, en prenant en compte l'évolution et la diversité des systèmes de production français.

Réalisations

En 2020, 8 essais soit 648 parcelles élémentaires ont été mis en œuvre dans le cadre de cette action. Ils ont porté sur les problématiques suivantes :

- *Lecanicillium fungicola* (ou *Verticillium fungicola*) parasite fongique des carpophores de champignon de couche, agent de la maladie de la mole sèche du champignon (3 essais soit 108 parcelles élémentaires) ;
- *Lycoriella sp.*, moucheron sciarides, ravageurs des substrats de culture du champignon de couche dont les adultes (principaux vecteurs des agents pathogènes fongiques et bactériens des carpophores de champignon de couche) et les larves (qui dégradent le mycélium d'agaric dans le substrat de culture) provoquent de nombreuses nuisances dans les cultures (5 essais soit 120 parcelles élémentaires).

En 2021, 8 essais soit 528 parcelles élémentaires ont été mis en œuvre dans le cadre de cette action. Ils ont porté sur les problématiques suivantes :

- *L. fungicola*, (3 essais soit 108 parcelles élémentaires) ;
- *Lycoriella sp.*, moucheron sciarides (5 essais soit 420 parcelles élémentaires).

En 2022, 8 essais soit 612 parcelles élémentaires ont été mis en œuvre dans le cadre de cette action. Ils ont porté sur les problématiques suivantes :

- *L. fungicola* ; (2 essais soit 72 parcelles élémentaires) ;
- *Lycoriella sp.*, moucheron sciarides (6 essais soit 540 parcelles élémentaires).

Au total, ce sont donc 24 essais soit 1788 parcelles élémentaires qui ont été mis en place au cours des 3 années de ce programme dans le but de tester l'efficacité de 6 préparations insecticides et de 6 préparations fongicides contre les parasites fongiques et les insectes ravageurs des cultures de champignon de couche, de les comparer aux actuelles préparations commerciales de référence et de vérifier l'absence de sensibilité des cultures à certaines de ces préparations à l'étude.

Méthodologie

Les essais de ce programme ont été réalisés sur le site du Centre Technique de l'ANICC à Distré, dans le strict respect des BPE (Bonnes Pratiques d'Expérimentation), pour lesquelles le centre



technique bénéficie d'un agrément du Ministère de l'Agriculture (dernier renouvellement obtenu le 30 novembre 2018).

Les essais ont été réalisés sur un compost nutritif standard, en provenance de l'un des deux principaux sites français de production de compost, situés l'un à Longué-Jumelles dans le Maine-et-Loire et l'autre à Roiffé dans la Vienne, et sur l'un des deux types de terre de gobetage (terre "industrie" à environ 40 % de tourbe ou terre "frais" à environ 90 % de tourbe) couramment employés par les champignonnistes français.

La méthodologie des essais est adaptée à chaque parasite fongique ou ravageur :

*** Pour les essais d'efficacité contre *Lycoriella sp.* :**

Les parcelles des essais d'efficacité insecticide sont constituées par des pots rectangulaires d'une surface de 0,03 m², contenant 1,200 kg de compost recouvert après 13 jours d'incubation d'une couche de 3,00 cm d'épaisseur (soit un volume de 900 ml) de terre de gobetage. Ces parcelles sont disposées dans une salle de culture du centre technique selon un dispositif en blocs de Fischer (généralement 6 blocs) et maintenues dans les conditions d'incubation (environ 24,0 °C dans le substrat de culture) pendant toute la durée de l'essai.

Les essais d'efficacité contre les moucheron sciarides sont réalisés **selon la méthode CEB M208** : " Méthode d'essai de l'efficacité pratique de préparations insecticides destinées à lutter contre les moucheron sciarides du Champignon de Couche ".

Ces essais sont conduits sous infestation artificielle en moucheron sciarides, réalisée soit au lardage (le jour ou le lendemain du lardage), soit au gobetage (le jour ou le lendemain du dépôt de la terre de gobetage), par dépôt, dans chaque parcelle élémentaire, d'un pilulier contenant 15 ou 25 moucheron femelles, généralement issus d'un élevage réalisé au centre technique.

Une ancienne préparation commerciale de référence est incluse dans le dispositif expérimental pour valider l'essai et mieux apprécier l'intérêt du produit étudié (Trigard 75 WP, appliqué juste avant l'infestation des cultures).

Tous les produits (à l'étude et de référence) sont appliqués à la surface du compost ou de la terre de gobetage à l'aide d'un convoyeur de pulvérisation, équipé d'une rampe à jet projeté (buse à répartition uniforme de type TeeJet TP 95 02 EVS – pression de pulvérisation : 3 bars).

L'observation principale réalisée dans ces essais consiste au piégeage puis au comptage de l'ensemble des moucheron adultes de première génération émergeant du substrat de culture dans chacune des parcelles élémentaires.

A partir de cette observation principale, le nombre de moucheron sciarides adultes de première génération capturés dans chaque parcelle est calculé puis soumis à une analyse de variance (après transformation logarithmique - $\log[x]$ et/ou racine carrée - $\sqrt{[x]}$). Cette analyse est complétée par des tests de DUNNETT et de NEWMAN-KEULS, au seuil de 5 %.

Le pourcentage d'efficacité des insecticides est uniquement utilisé pour réaliser une représentation graphique des résultats (histogramme).

*** Pour les essais d'efficacité sur *L. fungicola* :**

Les parcelles de ces essais sont constituées par des bacs rectangulaires de 0,10 m², contenant 9,000 kg de compost (soit 90 kg/m²) recouvert après 13 à 15 jours d'incubation d'une couche de 3,00 à 4,00 cm d'épaisseur (soit un volume de 3000 à 4000 ml/m²) de terre de gobetage. Ces parcelles sont disposées dans une salle de culture du centre technique selon un dispositif à 6 blocs de Fischer et suivent les différentes phases successives d'une culture de champignon de couche (Incubation, Post-incubation, Induction de fructification, Fructification puis Récolte).

Les essais d'efficacité sur *L. fungicola* sont réalisés **selon la méthode CEB M227** : “ Méthode d'essai de l'efficacité pratique de préparations fongicides destinées à lutter contre les parasites fongiques du carpophore du Champignon de Couche ”.

Les essais d'efficacité sont conduits avec inoculation artificielle par application d'une solution de spores à la surface de la terre de gobetage pour garantir une pression suffisante de *L. fungicola*, permettant d'estimer précisément le niveau de protection apporté par le produit étudié.

Une préparation commerciale de référence, est incluse dans le dispositif expérimental pour mieux apprécier l'intérêt du produit étudié (Sporgon, contenant 46,1 % de prochloraz sous forme d'un complexe manganèse et/ou Vivando, contenant 500 g/l de métrafénone).

Les préparations phytosanitaires (à l'étude et de référence) sont appliquées à la surface de la terre de gobetage à l'aide d'un convoyeur de pulvérisation, équipé d'une rampe à jet projeté (buse à répartition uniforme de type TeeJet TP 95 01 EVS – pression de pulvérisation : 3 bars).

Les observations principales réalisées dans ces essais consistent à la récolte et à la pesée des champignons sains et des champignons malades (avec symptôme de *L. fungicola*), tous les 1 à 3 jours, pendant environ 3 semaines, sur chaque parcelle élémentaire.

A partir de ces observations principales, la masse totale de champignons sains, la masse totale de champignons malades et la proportion de champignons malades de chaque parcelle élémentaire sont calculées puis soumises à une analyse de variance (après transformation angulaire, arcsinus racine carrée (arcsin√tx) pour la proportion de malades uniquement). Ces analyses sont complétées par des tests de DUNNETT et de NEWMAN-KEULS, au seuil de 5 %.

*** Pour les essais de sensibilité des cultures à un insecticide :**

Les parcelles de ces essais sont constituées par des bacs rectangulaires de 0,10 m², contenant 9,000 kg de compost (soit 90 kg/m²) recouvert après 13 à 15 jours d'incubation d'une couche de 3,00 à 4,00 cm d'épaisseur (soit un volume de 3 000 à 4 000 ml) de terre de gobetage. Ces parcelles sont disposées dans une salle de culture du centre technique selon un dispositif en blocs de Fischer (généralement 6 ou 12 blocs) et suivent les différentes phases successives de la conduite d'une culture de champignon de couche (Incubation, Post-incubation, Induction de fructification, Fructification puis Récolte).

Les essais de sensibilité des cultures aux insecticides sont mis en place en suivant les éléments relatifs à l'étude de la sensibilité des cultures et de la valeur pratique des traitements décrits



dans la **méthode CEB M208** : « Méthode d'essai de l'efficacité pratique de préparations insecticides destinées à lutter contre les moucheron sciarides du Champignon de Couche ».

Ces essais de sensibilité de la culture sont réalisés en l'absence de moucheron sciarides de manière à mesurer les effets de la préparation testée sur la mise à fructification et sur les rendements des cultures de champignon de couche.

La préparation à l'étude est comparée à un témoin non traité et éventuellement à une préparation fongicide de référence inclus dans le dispositif expérimental.

Les préparations phytosanitaires (à l'étude et de référence) sont appliquées à la surface de la terre de gobetage à l'aide d'un convoyeur de pulvérisation, équipé d'une rampe à jet projeté (buse à répartition uniforme de type TeeJet TP 95 02 EVS – pression de pulvérisation : 3 bars).

Les observations principales réalisées dans ces essais consistent à la récolte, au comptage et à la pesée des champignons sains ainsi qu'à la récolte et au comptage des champignons déformés, tous les 1 à 3 jours, pendant environ 3 semaines, sur chaque parcelle élémentaire.

A partir de ces observations principales, la masse totale, le nombre total, la masse moyenne (très bon indicateur du calibre) des champignons sains et la proportion de champignons déformés (en % du nombre) sont calculés pour chaque parcelle élémentaire puis soumis à une analyse de variance (après transformation angulaire, arcsinus racine carrée, $\arcsin\sqrt{x}$) pour la proportion de champignons déformés). Ces analyses sont complétées par des tests de DUNNETT et de NEWMAN-KEULS, au seuil de 5 %.

Résultats

Parmi les 6 préparations fongicides testées, 3 n'ont montré aucune efficacité contre *L. fungicola* (**SERIFEL**, à base de *Bacillus amyloliquefaciens* MBI 600, **BAS 9588 F** à base de *Pseudomonas chorographies* et **15-002-V** à base de *Trichoderma atroviride* souche I-1237).

Suite à l'absence de réponse de l'inoculation apportée dans un essai, il n'a pas été possible de conclure sur l'efficacité du fongicide **BAS 605 04 F** (à base de Pyrimethanil).

Sur terre de gobetage de type « frais », les deux derniers fongicides testés, **BAS 750 11 F** (à base de Mefentrifluconazole) et **BAS 500 02 F** (à base de Pyraclostrobine) ont retardé l'apparition des symptômes de *L. fungicola*, réduit leur importance tout au long des trois semaines de récolte et permis une amélioration significative du rendement sain des cultures. L'efficacité de ces deux fongicides est proche de celle des produits fongicides de référence.

L'insecticide **ABP-617** (= **FLIPPER**, à base d'acide Gras C7 à C8), ne réduit pas significativement l'émergence des moucheron sciarides lorsqu'il est appliqué précocement ou tardivement à la surface du substrat de culture de champignon de couche.

Les insecticides **AZATIN EC** et **NEEMAZAL T/S** (à base de d'Azadiractine) obtiennent une efficacité intéressante lorsqu'ils sont appliqués, à dose élevée juste avant l'infestation des cultures par les moucheron sciarides adultes. Leur efficacité reste beaucoup plus faible lorsque leur application est réalisée à une date plus éloignée de l'infestation.

Aucun symptôme de sensibilité des cultures aux applications de **NEEMAZAL T/S**, n'a été décelé quels que soient la dose et le stade d'application de cet insecticide. Aucun résidu d'azadiractine



n'a été retrouvé dans les champignons récoltés quels que soient la dose et le stade d'application de l'insecticide à l'étude. En revanche, l'application la plus tardive de cet insecticide (à la surface de la terre de gobetage juste après son dépôt à la surface du compost incubé), entraîne la présence d'azadiractine dans le substrat de fin de culture et pourrait nuire à sa valorisation comme amendement organique répondant à la norme NF U44-051.

La nouvelle formulation encapsulée (**NEMAPLUS dépôt**) de nématodes entomopathogènes (*Steinernema feltiae*) ne réduit pas significativement les populations de sciarides, quels que soient, sa dose, son stade d'application et le stade d'infestation de la culture. L'ancienne formulation (**NEMYCEL**) confirme son efficacité plus particulièrement lorsqu'elle est appliquée en 2 apports fractionnés quelques jours après l'infestation des cultures par les sciarides adultes. Son efficacité reste toutefois inférieure à celle de l'ancien insecticide de référence.

L'insecticide **TRAUNEM MAX** (nématodes entomopathogènes - *Steinernema feltiae*) obtient une très bonne efficacité, équivalente à celle de l'insecticide de référence, lorsqu'il est appliqué 14 jours après l'infestation par les moucheron sciarides, à la dose de 2 000 000 nématodes/m².

L'association d'une demi-dose précoce de **NEEMAZAL T/S** et d'une demi-dose tardive de **TRAUNEM MAX** permet d'obtenir un niveau de protection équivalent à celui de l'insecticide de référence.

Enfin, l'insecticide **BOTANIGARD 22 WP** (à base du champignon entomopathogène *Beauveria bassiana* souche GHA) n'a montré aucune efficacité contre les moucheron sciarides lorsqu'une seule application est réalisée à la surface de la culture (sur compost, sur gobetage frais ou sur gobetage industrie). Une légère réduction de l'émergence des moucheron sciarides apparaît lorsque 2 ou 3 applications successives sont réalisées, mais demeure non significative et insuffisante pour contrôler les populations des sciarides. Aucun symptôme de sensibilité de la culture aux applications de **BOTANIGARD 22 WP** n'a été décelé quels que soient le stade et le nombre d'applications de cet insecticide.

Conclusion

Les essais conduits dans le cadre de ce programme ont permis d'identifier deux fongicides conventionnels potentiellement intéressants pour lutter contre *Lecanicillium fungicola*, parasite fongique des carpophores de champignon de couche, agent de la maladie de la mole sèche du champignon de couche. Leur autorisation de mise sur le marché permettrait aux producteurs d'alterner les produits appliqués sur les cultures et ainsi de réduire fortement le risque d'apparition de résistance de ce parasite fongique à la seule substance active actuellement autorisée pour cet usage. Des discussions sont en cours avec la firme phytosanitaire distributrice de ces fongicides pour étudier les suites à donner à ces résultats encourageants.

Ces essais ont également montré l'efficacité intéressante de deux insecticides à base d'azadiractine contre *Lycoriella sp.*, moucheron sciarides, ravageurs des substrats de culture du champignon de couche. Le niveau élevé de la dose efficace, la présence de résidus d'azadiractine dans le substrat en fin de de culture et le réexamen prochain de l'approbation européenne de cette substance active ne permettent toutefois pas d'envisager une demande d'Autorisation de Mise sur le Marché pour ces insecticides.



Ces essais ont enfin précisé les conditions (dose et stade d'application) permettant d'optimiser l'efficacité de deux préparations commerciales à base de nématodes entomopathogènes. Ces préconisations pourront directement être mises en œuvre par les producteurs puisque ces produits ne nécessitent pas d'AMM pour être utilisés.

Action spécifique aux champignons de diversification

Objectif : Développer la diversité des champignons cultivés selon des itinéraires de production Biologique. Améliorer les performances culturales et la qualité des champignons en priorisant les méthodes de lutte alternatives contre les bio-agresseurs, sans recours aux produits phytosanitaires de synthèse pour les champignons cultivés suivants : le lentin ou shiitaké, la pholiote du peuplier et le pleurote *eryngii*.

Réalisations

Dans le cadre du projet Demeter trois principaux champignons macroscopiques constituant cette gamme d'espèces fongiques de diversification, à savoir, le lentin ou shiitake, la pholiote du peuplier et le pleurote *eryngii* ont fait l'objet d'investigations. Au total, 36 essais représentant 1158 parcelles élémentaires et un volume global de plus de 52 tonnes de substrats ont été accomplis dans le cadre de ce projet. Par ailleurs, les thématiques engagées ont quelque peu varié selon les espèces.

- **En Lentin**, la finalité des travaux était de conjuguer une production conforme au cahier des charges de l'agriculture Biologique aux nécessités d'augmentation de la performance culturale et de renforcement de la qualité commerciale des champignons. Les études envisagées ont été, de ce fait, orientées tant sur le référencement d'un matériel fongique performant que sur l'adaptation des formulations de substrat et des conduites culturales.

Le référencement de matériel fongique : De nouvelles variétés commerciales hautement qualitatives sont proposées par les sociétés semencières (Amycel, Somycel et Mycelia). D'origine asiatique, ces nouvelles souches affichent un potentiel de rendement très élevé sur les milieux stérilisés. Sur les substrats pasteurisés par contre, l'amélioration de la performance culturale est une nécessité et les axes de travail aborderont, de ce fait, tant les formulations de substrat que les conduites culturales :

- La formulation du substrat :

Outre l'élaboration et l'évaluation des substrats conformes aux critères de l'Agriculture Biologique, l'enjeu des expérimentations est de renforcer la sélectivité du substrat en phase d'incubation et d'améliorer la performance culturale en fructification

- En incubation: Il s'agit de renforcer la fiabilité des substrats en limitant le développement des moisissures compétitrices de genre *Trichoderma*. Les investigations ont veillé de ce fait à appréhender les conditions favorables à la prolifération de ces *Trichoderma sp* lors du process de fabrication de substrat, et de poursuivre le travail sur l'évaluation de méthodes alternatives de lutte contre ces moisissures compétitrices par le référencement de biomatériaux potentiellement sélectifs et l'évaluation de biofongicides homologués.
 - En fructification : De nouvelles formulations de substrats et de nouveaux enrichissements à base de cosses de sarrasins ou de drêches de brasseries ont été étudiés afin d'augmenter le potentiel de rendement de ces références commerciales en fructification.
- Les conduites de cultures : Il s'agissait de préciser l'itinéraire cultural le mieux adapté à la valorisation du potentiel fructifère de ces variétés hautement qualitatives et les travaux ont visé à mesurer l'incidence de certains paramètres en incubation (perméabilité des films et dimension des contenants, barèmes de température, durée et stade de débâchage...), l'objectif étant d'accroître le degré de maturité des substrats lors du transfert en fructification afin de favoriser l'induction fructifère en début de culture.
- **En Pholiote du peuplier**, l'amélioration de la productivité culturale était au cœur des priorités et il s'agissait de poursuivre les investigations entamées dans les précédents programmes, tant en matière de formulation de substrat que de référencement variétal, afin d'accroître le rendement et de réduire la durée de fructification.
 - Enfin, **en Pleurote *eryngii***, le renforcement de la sélectivité des substrats sur *Trichoderma sp* en incubation constituait le défi majeur à relever. Il s'agissait d'apprécier l'effet des composts d'agarics pasteurisés (sortie phase n°2), éventuellement associés à l'application d'un biofongicide (Amylo-X®) au lardage, sur l'inhibition de la moisissure compétitrice. En parallèle, les effets d'un apport de composts d'agarics usagés à l'encontre de l'agent antagoniste ont été également jaugés.

Méthodologie

Les études sur les champignons de diversification sont accomplies sur la Station expérimentale du CATE basée à Saint Pol de Léon dans le Finistère. La station apporte son expertise depuis plus de 30 ans sur ces espèces fongiques émergentes et possède l'ensemble des installations et équipements requis (chambre de pasteurisation, broyeur, mélangeur, salles de cultures climatisées...) pour mener à bien ces études sur les substrats pasteurisés.

Il s'agit de définir pour chaque espèce fongique des formulations de substrat conjuguant sélectivité pour limiter le développement de moisissures antagonistes de genre *Trichoderma* en incubation et performance culturale en fructification notamment en matière de rendement en

champignons pour assurer une rentabilité économique suffisante à l'échelon de la production. Les études visent également à retenir un matériel fongique vigoureux pour limiter le développement des bio-agresseurs en culture et de qualité pour satisfaire les attentes des consommateurs. Enfin, il s'agit d'adapter les conduites de culture pour optimiser les performances culturales sur l'ensemble du cycle de production et de limiter l'émergence de pathogènes.

Par ailleurs la méthodologie mise en œuvre est adaptée à chacune des espèces étudiées :

- **Pour le lentin**, chaque modalité comporte un ensemble de 9 blocs de substrat conditionnés en sacs transparents lors de la mise en place de l'essai (lardage). Les essais sont conduits en blocs d'hétérogénéité de Fisher à 3 répétitions de dimension de parcelle élémentaire de 3 pains de 15 kg soit un ensemble de 45 kg de substrat.

Les paramètres de suivi de culture analysés sont, quant-à-eux, définis comme suit :

- En Incubation : évaluation de la sensibilité des substrats à *Trichoderma sp*
Le degré de sensibilité des substrats à *Trichoderma sp* est évalué en mesurant pour chaque parcelle élémentaire le pourcentage de la surface totale envahie par l'agent antagoniste au terme de l'incubation. Notons par ailleurs, qu'afin de mieux apprécier la résilience des substrats à l'émergence de *Trichoderma sp*, le taux de lardage peut-être réduit au seuil de 3%, et ce, afin de favoriser le développement de l'agent antagoniste.

- En Fructification :

- Les rendements : les rendements en champignons sont exprimés pieds coupés à 1 cm de la base de lamelle et sont définis en pourcentage de poids total de substrat.
- Les calibres : les champignons sont répartis en 2 catégories. La catégorie I représentant les champignons commercialisables, cette dernière étant elle-même subdivisée en 2 catégories selon le diamètre de chapeau (Cat.I 3-6 cl et Cat.I 6-9 cm). Le second choix (cat.II) qui comprend, pour sa part, les hors types, sous-calibre (< 3 cm), déformés et altérés.
- La durée de culture en fructification peut être également déterminée et exprimée en semaines d'occupation de salle.

- **Pour la Pholiote du peuplier et le Pleurote *eryngii***, chaque traitement comporte un ensemble de 7 blocs de substrat :

- 1 bloc de 15 kg de substrat conditionné en sac transparent pour l'appréciation de la vigueur de l'implantation mycélienne et le suivi du développement de *Trichoderma sp* en incubation.

- 6 blocs conditionnés en sacs noirs operculés pour la mesure des paramètres de performance culturale en fructification. Les essais sont conduits en blocs d'hétérogénéité de Fisher à 2 répétitions de dimension de parcelle élémentaire de 3 pains de 15 kg soit un ensemble de 45 kg de substrat.

Les paramètres de suivi de culture analysés sont, quant-à-eux, précisés comme suit :

- En Incubation : évaluation de la sensibilité des substrats à *Trichoderma sp*

Le degré de sensibilité à *Trichoderma sp* est jaugé en visualisant la qualité sanitaire du substrat sur le sac transparent. Outre le développement des moisissures antagonistes, la vigueur de l'implantation mycélienne est également appréciée.

- En Fructification :

- Les rendements : les rendements en champignons sont exprimés pieds parés et sont définis en pourcentage de poids total de substrat.
- Les calibres :
 - Pour la Pholiote du peuplier : aucun calibre n'est réalisé, les champignons étant vendus sans catégorie commerciale.
 - Pour le Pleurote *eryngii* : les champignons sont répartis en 2 catégories. La catégorie I représentant les champignons commercialisables et le second choix (cat.II) comprenant les hors types (trop gros, déformés) ou altérés par la tache bactérienne .
- La durée de culture en fructification est déterminée et exprimée en semaines d'occupation de salle.

L'ensemble des données collectées font l'objet d'un traitement statistique et la procédure d'analyse appliquée diffère selon la nature des variables rencontrées :

- **Variables quantitatives** : analyse de variance et discrimination des modalités à l'aide d'un test post hoc de Newman-Keuls ou de Tukey ($p < 0.05$).

- **Variables qualitatives** : dénombrement - transformation angulaire ($\arcsin(x)$). Analyse de variance suivie d'un test post hoc de Newman-Keuls ou de Tukey ($p < 0.05$).

Résultats

Engagé sur une période initiale de 3 ans (2020-2022), le programme Demeter a permis d'établir, au terme de sa réalisation, les principaux enseignements suivants:

En Lentin ou Shiitake :

- **Lutte alternative contre les *Trichoderma sp* compétiteurs dans les substrats**

Les biomatériaux potentiellement sélectifs : Il s'agissait de poursuivre le **référencement de biomatériaux riches en tanins ou en polyphénols** potentiellement sélectifs sur les moisissures antagonistes du genre *Trichoderma* en incubation. A ce sujet, les études ont été spécifiquement consacrées aux **écorces de peupliers broyées**, et les résultats révèlent que ce coproduit issu des fabriques d'emballage ne répond pas aux exigences souhaitées car il pénalise la qualité sanitaire du substrat et affecte le rendement en fructification. A ce jour, la sciure de chêne et la cocofine demeurent les biomatériaux les plus efficaces pour inhiber les moisissures antagonistes en incubation, et ce, pour des niveaux d'addition de 15 % de la matière sèche et au-delà. Viennent ensuite, avec une efficacité moindre, la pulpe de raisins rouges déshydratée et la tourbe blonde. Enfin, le marc de café séché et les écorces de peuplier concassées s'avèrent être hautement pénalisants et seront donc proscrits.

L'intérêt du Protensil® à base de mélasse de châtaignier déshydratée : De par sa haute teneur en ellagitanins (15% m.s), le Protensil® semblait présenter les caractéristiques élémentaires à inhiber activement les *Trichoderma sp* en incubation. Les études entreprises sur l'incorporation du Protensil® dans les substrats ne confirment toutefois pas cette observation, et à ce sujet, le composé pourrait même tendre à fragiliser l'état sanitaire du Shiitake en incubation. En fructification, le Protensil® apparaît être sans bénéfice notable sur la performance culturale et notamment sur le rendement en champignons.

L'addition de biofongicides au lardage: L'incorporation de certains biofongicides au lardage a été mesurée. Il s'agissait de préciser l'intérêt du Julietta®, une spécialité commerciale à base d'une souche de levure sélectionnée, *Saccharomyces cerevisiae* LS02, et d'apprécier l'efficacité du Rhapsody®, du Serifel® et de l'Amylo-X® composés de bactéries telluriques du genre *Bacillus*, à savoir respectivement *B subtilis*, *B amyloliquefaciens* MBI 600 et *B amyloliquefaciens spp plantarum*. Les visualisations entreprises dans le cadre du projet Demeter semblent attester de la propriété potentielle du Julietta®, du Serifel® et de l'Amylo-X® à endiguer le développement des moisissures antagonistes du genre *Trichoderma* en incubation, mais ces résultats dont l'efficacité demeurent malgré tout assez aléatoire et globalement inférieure à une lutte chimique conventionnelle à base de Prochloraze, ne permettent pas de construire une stratégie de lutte efficiente à l'encontre des compétiteurs de genre *Trichoderma* en incubation.

L'incidence des paramètres physico-chimiques du substrat : La finalité des expérimentations menées sur ce thème visait à mesurer l'incidence de certains paramètres physico-chimiques ou inhérents à la préparation des substrats sur la sensibilité à l'encontre des moisissures de genre *Trichoderma sp* en incubation. Il s'agissait en outre de répondre aux impératifs de renforcer la sélectivité du milieu afin de développer des variétés hautement qualitatives de type 4325-4500-3790. A cet effet plusieurs paramètres tels, le seuil d'humidité du substrat, l'incidence de l'origine de l'eau et de son acidité lors de la fabrication, ou encore l'importance de l'épaisseur

des films utilisés pour le conditionnement ont été visualisés, et les résultats font apparaître les enseignements suivants :

- **Le taux d'humidité du substrat en sortie de pasteurisation** : l'abaissement du seuil d'humidité du substrat pourrait permettre d'améliorer la sélectivité du milieu à l'encontre des moisissures du genre *Trichoderma* si l'on se réfère aux résultats obtenus sur l'essai 21-16, mais son efficacité pour lutter contre l'agent antagoniste demeure malgré tout très aléatoire et trop incertaine. Par ailleurs, la réduction du taux d'humidité du substrat tend à pénaliser le rendement en fructification.
- **L'origine de l'eau et son acidité** : 2 origines d'eau rentrant dans la préparation des substrats ont été analysées, l'une basique à pH 7.7 provenant du réseau collectif de distribution et la seconde à pH acide (pH=6.2) issue d'un forage. Les résultats mettent clairement en évidence que l'eau à pH acide issue de forage fragilise aussi bien la qualité sanitaire du substrat en incubation que le potentiel rendement en champignons en fructification.
- **L'épaisseur du film PEbd servant au conditionnement du substrat** : 2 épaisseurs de film en PEbd (70 μ et 110 μ) ont été comparées, et les observations ne mettent pas en évidence de relation entre ce paramètre et la sensibilité du substrat envers les *Trichoderma sp* compétiteurs en incubation ni en matière de potentiel de rendement du Lentin en fructification.
- **L'incidence de la supplémentation** : Plusieurs niveaux de suppléments ont été associés et analysés à l'occasion de ces essais sur les paramètres physico-chimiques du substrat et les conclusions attestent que la formulation de référence additionnée d'oligoéléments Mn+Zn (MnSO₄=150 à 250 g/ ZnSO₄=300 à 500 g/t) seuls ou complétés de sons de blé (20 kg/t) présentent le meilleur compromis entre sélectivité à l'égard de *Trichoderma sp* en incubation et productivité en fructification. Par ailleurs, les formulations non supplémentées ou uniquement enrichies en tourteau de soja 48 (4 kg) ou en sons de blé (20 kg/t), ne permettent pas de renforcer la qualité sanitaire du substrat en phase d'incubation et tendent à pénaliser le rendement en fructification.

- **Amélioration de la performance culturale**

L'objectif des travaux sur l'amélioration de la productivité culturale est de renforcer le potentiel de rendement des substrats afin de développer les variétés hautement qualitatives mais trop moyennement productives sur les formulations actuelles. A cet effet, 3 nouveaux intrants, les cosses de sarrasins, les drêches de brasserie humides, et les drêches de distillerie déshydratées, ont été additionnés aux formulations de substrats de base "paille de blé" et les résultats révèlent :

- **Les cosses de sarrasins** n'apparaissent pas accroître directement le potentiel de rendement du substrat mais leur incorporation pourrait néanmoins contribuer à

l'amélioration de la productivité sur certaines variétés faiblement vigoureuses affichant une faible densité mycélienne, et ce, en favorisant l'aération du substrat notamment en conditions d'humidité excessives.

- **Les drêches de brasserie humide** : L'addition de drêches de brasserie humide contribue activement à améliorer le potentiel de rendement du substrat. Selon nos études, un seuil d'incorporation de 30 à 40 kg d'équivalent matière sèche /tonne de substrat constitue le meilleur compromis entre l'amélioration du rendement et de la performance culturale en fructification et le maintien d'une sélectivité satisfaisante à l'encontre des *Trichoderma sp* compétiteurs en incubation. A ces niveaux d'apport, le gain de rendement engendré sur le témoin habituel supplémenté de sons de blé à 20 kg/t atteint allègrement 25 à 30% de la productivité initiale et s'avère conséquent en matière de rentabilité économique. Les drêches de brasserie humides s'avèrent être toutefois grandement fermentescibles et peu sujettes au stockage ce qui complique leur utilisation dans les process de production de substrat.
- **Les drêches de distillerie déshydratées** sont quant-à-elles non sujettes à fermentations ce qui favorise leur intégration dans les schémas de fabrication de substrats. Par ailleurs, tout comme les drêches humides, leur association aux formulations de base génère une augmentation très significative du rendement et de la qualité du champignon en fructification. Le meilleur compromis entre l'amélioration de la performance culturale en fructification et le maintien d'une sélectivité satisfaisante à l'encontre des moisissures antagonistes en incubation est atteint pour des seuils d'incorporation de 30 à 40 kg d'équivalent matière sèche /tonne de substrat ; A ces niveaux d'addition, les rendements atteignent allègrement les 25 à 30% de productivité cumulée en fructification et rejoignent sensiblement les performances culturales enregistrées sur les substrats stérilisés. Malgré tout, les drêches de distillerie déshydratées tendent à fragiliser quelque peu l'état sanitaire des substrats en phase d'incubation, et leur utilisation peut être envisagée à ce jour uniquement pour des variétés hautement vigoureuses (4320, 3782, 4082). Pour des références commerciales très sensibles aux *Trichoderma sp* (4325, 4500), l'amélioration parallèle de la sélectivité du substrat constituera une priorité indispensable.
- **La définition de formulations adaptées au type 4325-4500** : Les variétés de type 4325 (Somycel) et 4500 (Amycel) sont des souches hautement qualitatives très prisées du négoce. Originaire d'Asie, ces variétés sont traditionnellement cultivées sur des substrats stérilisés où la base lignocellulosique est très majoritairement composée de sciures et de copeaux d'essences de feuillus (chêne, hêtre et châtaignier principalement).

En revanche, sur les substrats pasteurisés où le matériau lignocellulosique est majoritairement constitué de paille de blé, les souches affichent une maîtrise technique délicate et s'avèrent être sujettes à *Trichoderma sp* en incubation, et en fructification, leur performance culturale en matière de rendement demeure trop souvent insuffisante sur le plan économique.

L'objectif des expérimentations visait à préciser les formulations les plus adaptées à ce type variétal permettant de sécuriser l'incubation et d'optimiser le rendement en champignons en fructification. Il s'agissait d'une part de préciser l'équilibre lignocellulosique le plus adapté en ajustant notamment la proportion de sciure de chêne, et, d'autre part, de visualiser l'intérêt d'enrichir ces formulations par une supplémentation à base des activateurs enzymatiques Mn+Zn et/ou en sons de blé. 3 concentrations en sciures de chêne pour des niveaux de 15 à 45% de la matière sèche ont ainsi été comparés et les résultats mettent en évidence :

- En incubation : l'augmentation des niveaux de sciure de chêne des substrats à des concentrations de 30 à 45% de la matière sèche, permet de limiter le développement et la gravité des contaminations par *Trichoderma sp*.
- En fructification : l'élévation du niveau en sciure de chêne tend à limiter le rendement en champignons. Les plus hauts seuils d'incorporation (45% m.s) seront, de ce fait, à éviter sous peine de pénaliser la productivité des substrats, le meilleur compromis entre sélectivité et productivité se situant aux alentours de 25 à 30% de la matière sèche.
- Concernant de supplémentation, l'addition des oligoéléments manganèse et zinc (150/300 g/t) conjointement associée aux sons de blé à 20 kg/t constitue la formulation la plus fiable pour améliorer le rendement en champignons sans fragiliser outre mesure la qualité sanitaire de l'incubation.

En conclusion, ces études sur l'adaptation des substrats au type variétal 4325-4500 ont permis de visualiser les formulations associant le meilleur compromis entre sélectivité en incubation et performance culturale en fructification. Ainsi, avec 41.4% de rendements en champignons de Cat.I répartis sur 17 semaines d'occupation de salle, les meilleurs résultats enregistrés sur la Station du CATE depuis plus de 30 ans en culture de Shiitake sur substrats pasteurisés ont été établis. Cette performance enregistrée sur une formulation additionnée de sciure de chêne à 15% de m.s et supplémente en oligoéléments MnSo₄/ZnSo₄ (150/300g/t) et en sons de blé (20kg/t), permet d'atteindre des niveaux de productivité équivalents voire supérieurs aux rendements enregistrés sur les substrats stérilisés d'origine chinoise. En cas de forte pression de contaminations par *Trichoderma sp* en incubation, on pourra renforcer la proportion de sciure de chêne dans la limite des 25 à 30% m.s du substrat sans altérer outre mesure le rendement en fructification. Les prochains programmes d'expérimentations s'attelleront à confirmer ces informations.

- **Le matériel fongique**

Le facteur variétal constitue un facteur essentiel dans la maîtrise culturale du lentin sur substrats pasteurisés. Les expérimentations menées sur le matériel fongique visent à sélectionner des références variétales hautement vigoureuses présentant une aptitude à coloniser rapidement le substrat en incubation afin de limiter l'expansion de moisissures antagonistes, et en fructification, les souches doivent combiner les notions de productivité et de qualité du champignon afin de répondre aux impératifs de rentabilité économique et de satisfaire l'intérêt des consommateurs.

A ce jour, les variétés 3782 (Mycelia), 4320 (Somycel) et 4082 (Amycel) confirment leur supériorité parmi l'éventail de références commerciales adaptées à la culture sur substrats pasteurisés. Par ailleurs, quatre nouveautés commerciales hautement qualitatives, 4093 et 4500 (Amycel), 3100 (Mycelia) et 4325 (Somycel) ont été également évaluées dans le cadre de ce programme. D'origine asiatique, ces références affichent des caractéristiques agronomiques intéressantes telles une qualité de carpophore et une aptitude à la conservation post-récolte remarquables, ce qui renforce leur attractivité commerciale. En matière de rendement et d'adaptabilité à la culture sur substrats pasteurisés, seule la souche 4325 (Somycel) a présenté, à ce jour, un potentiel sensiblement équivalent voire supérieur aux variétés de référence ($\geq 20\%$ cat.I) associée à une régularité de comportement sur l'ensemble des essais.

- **Les conduites de culture : Incidence de la taille et du diamètre des contenants**

Les expérimentations abordées dans le cadre du projet Demeter avaient pour objectif d'établir la relation entre le diamètre des contenants et l'intensité du rendement en fructification notamment en début de culture. Au vu des résultats, la réduction de la taille des contenants ne permet pas d'accroître le potentiel de rendement et de stimuler l'induction fructifère en début de cycle des cultures établies sur des substrats pasteurisés.

- **Problèmes parasitaires : suivi de la nuisibilité de *Chaetosphaeria sp* en fructification.**

Un problème sanitaire important, entraînant une chute conséquente du rendement et induit par le développement d'un champignon filamenteux, *Chaetosphaeria sp*, avait été régulièrement observé en fructification à partir de 2015. Nos études avaient permis d'isoler et de confirmer le haut pouvoir pathogène de ce champignon filamenteux aussi bien en incubation qu'en fructification. Au terme de l'année 2022, ce problème parasitaire apparaît être circonscrit. A ce sujet, un transfert-débâchage plus tardif en fructification, à 5 semaines après lardage et au-delà, associé au renforcement des mesures prophylactiques des salles de cultures et au choix de variétés commerciales plus résilientes ont permis de juguler ce problème.

En Pholiote du peuplier :

- **Les formulations de substrat** : Les investigations sur les formulations de substrat visaient à poursuivre les travaux d'amélioration de la productivité culturale de cette espèce délicate à maîtriser sur milieux pasteurisés. Dans le cadre des thématiques engagées, il s'agissait de confirmer l'intérêt des écorces de peuplier broyées et d'acquérir des références sur les incorporations de cosses de sarrasin et de drêches de brasserie humides. Par ailleurs, en matière de process de fabrication de substrat, les travaux ont été focalisés sur l'intérêt d'un allongement de la période de fermentation.

Il en ressort au terme de ces études que :

- **Les écorces du peuplier** : Dans la très grande majorité des essais, l'incorporation d'écorces de peuplier améliore la sélectivité du substrat à l'encontre des moisissures antagonistes *Trichoderma harzianum* en incubation et accroît le rendement en fructification. Les études sur l'ajustement des doses d'incorporation révèlent que les niveaux de 20 à 30% de m.s semblent être les plus opportuns. Il apparaît cependant que les écorces du peuplier constituent un support lignocellulosique particulièrement hétérogène, stocké en extérieur et sujet à fermentations, ce qui génère des résultats aléatoires et rend leur utilisation malgré tout particulièrement risquée en culture.
 - **Les drêches de brasserie** : l'addition de drêches de brasserie apparaît être un facteur d'amélioration de la productivité du substrat pour un seuil d'incorporation de 25 à 30 kg d'équivalent matière sèche /tonne, si l'on se réfère à l'ensemble des études accomplies dans le cadre du projet Demeter.
 - **Les cosses de sarrasin** : l'absence d'amélioration de la productivité culturale lors de l'incorporation aux formulations de substrat de cosses de sarrasin se confirme sur l'ensemble des essais. L'emploi de ce biomatériau ne présente de ce fait aucun intérêt majeur et ne nécessite plus de nouvelles investigations.
 - **Les fermentations longues de type "outdoor + indoor"** où le substrat est préalablement fermenté sur une aire extérieure pendant une semaine avant d'être pasteurisé puis refermenté est hautement préjudiciable au rendement en fructification et s'avère de ce fait à proscrire.
- **Le matériel fongique** : Aucune nouvelle référence commerciale n'a été proposée par les sociétés semencières au cours du programme Demeter et parmi l'éventail des variétés commerciales disponibles, les références AA (Italspawn), 5300 (Amycel), 4022 (Somycel) et 4101(Mycelia) constituent les souches de référence sur les substrats pasteurisés. D'autres références issues de la collection variétale de l'Inrae de Bordeaux (SM 741, SM 061006 et SM49) pourraient également venir étayer l'étendue des variétés adaptées.

En Pleurote eryngii :

Les formulations de substrat : Les thématiques engagées dans le cadre du projet Demeter visaient à améliorer la sélectivité des substrats à l'encontre des moisissures compétitrices du genre *Trichoderma* en intégrant à la formulation de base une fraction de **composts d'agarics pasteurisés**. L'inoculation du substrat par certains micro-organismes thermophiles associés à la phase de compostage, à savoir des actinobactéries de genre *streptomyces* et des champignons de type *Scytalidium thermophilum* pourrait permettre de renforcer l'antagonisme à l'encontre des moisissures compétitrices, et les expérimentations entreprises veillaient à mesurer cette information. En outre, afin de renforcer cette sélectivité des substrats sur *Trichoderma sp*, il s'agissait en parallèle à ces formulations additionnées de composts pasteurisés d'évaluer l'intérêt d'une **association complémentaire d'un biofongicide, l'Amylo-X®**, en mélange à la semence au lardage.

Les résultats attestent que l'addition de composts d'Agarics non lardés avant pasteurisation participe activement à renforcer la sélectivité du substrat à l'encontre des moisissures du genre *Trichoderma* en incubation et nos études révèlent que les seuils de 10 % à 30 % du poids brut constituent un bon compromis entre sélectivité en incubation et performance culturale en fructification. Aucune différence significative n'a cependant été à ce jour relevée dans nos études entre les 3 seuils d'incorporation tant en matière d'amélioration de la sélectivité à l'égard de *Trichoderma sp* en incubation que de potentiel de rendement en fructification et de nouvelles investigations devront être accomplies pour affiner le seuil d'apport. Les niveaux d'addition de 50% de composts et au-delà pénalisent, quant-à-eux, le rendement en fructification.

L'association complémentaire à ces formulations additionnées de composts d'agarics pasteurisés de l' **Amylo-X®** à base de *Bacillus amyloliquefaciens spp plantarum*, en mélange à la semence au lardage, s'avère sans effet sur le renforcement de la sélectivité du substrat à l'encontre des *Trichoderma* compétiteurs en incubation. Le biofongicide tendrait même à fragiliser l'état sanitaire des substrats en phase d'incubation, et son utilisation sera de ce fait exclue

Enfin, les premiers travaux sur **l'intégration de composts d'agarics usagés** (substrat en fin de culture) ont été envisagés. L'objectif de ces études était, en s'appuyant sur les principes d'économie circulaire, de mesurer le potentiel d'exploitation de cette biomasse abondante et peu valorisée afin de produire des champignons à haute valeur commerciale.

A ce sujet, l'aboutissement de nos premières expérimentations paraissent attester que l'addition de composts d'agarics usagés à des niveaux de 15 à 20 % du poids brut de substrat présente également une capacité potentielle à renforcer la sélectivité à l'encontre des moisissures compétitrices du genre *Trichoderma*, mais de nouvelles visualisations devront être mises en œuvre pour confirmer ces résultats et affiner les doses d'incorporation.

Conclusion

Les expérimentations engagées dans le cadre du programme Demeter ont permis de renforcer considérablement la performance culturale des champignons de diversification sur les substrats pasteurisés :

- **En lentin**, l'objectif était de développer des variétés hautement qualitatives selon des modes de production conforme au cahier des charges de l'Agriculture Biologique. Pour ces variétés particulièrement délicates à maîtriser sur les substrats pasteurisés, il s'agissait, d'une part, de renforcer la sélectivité en incubation à l'égard des moisissures compétitrices de genre *Trichoderma sp*, et, d'autre part, d'améliorer la performance culturale en matière de rendement en fructification. Avec 41.4 % de rendements en champignons de Cat.I répartis sur 17 semaines d'occupation de salle, les meilleurs résultats jamais observés pour une culture de Lentin sur substrats pasteurisés ont été atteints. Le programme Demeter a, de ce fait, pleinement répondu aux objectifs visés, à savoir, obtenir des niveaux de performance économique a minima, équivalents à ceux enregistrés sur milieux stérilisés. Reste à présent à confirmer ces bons résultats dans les futurs programmes.
- **En Pholiote du peuplier**, les études sur les formulations de substrat ont mis en évidence l'intérêt, sur l'amélioration du rendement en fructification, des drêches de brasseries aux doses de 25 à 50 kg de matière sèche /tonne de substrat en association à la pulpe de raisins rouges déshydratée (20 % m.s). Avec des niveaux de 16.0 à 20.0 % de productivité cumulée, le niveau de performance en matière de rendement est désormais satisfaisant mais le cycle cultural, de l'ordre de 15 à 18 semaines en fructification demeure malgré tout encore un peu long.
- Enfin, **en Pleurote eryngii**, le renforcement de la sélectivité sur *Trichoderma sp* était l'objectif de ce programme, et à ce sujet, l'addition de composts d'agarics pasteurisés non lardés (sortie phase n°2), apporte une solution efficace au problème posé. Par ailleurs, d'après nos études, les seuils de 10 à 30 % de poids brut de compost associent le meilleur compromis entre l'amélioration de la sélectivité en incubation et le rendement en champignons en fructification. Sur ce type de formulations, le taux de perte par *Trichoderma sp* en incubation apparaît être négligeable et les rendements en fructification, de 20 à 25 % de productivité cumulée en 14 semaines de culture, rejoignent les niveaux de performance enregistrés sur les substrats stérilisés.



Conclusion générale

Le programme Demeter a permis d'approfondir les connaissances associées à la maîtrise des cultures de champignons cultivés et des maladies/ravageurs associés.

En champignon de couche, deux fongicides conventionnels testés permettraient d'améliorer la lutte contre l'agent de la maladie de la mole sèche. Des discussions sont en cours avec la firme phytosanitaire concernée pour étudier les suites à donner à ces résultats encourageants. En revanche, les deux insecticides testés pour lutter contre les moucheron sciarides ne permettent pas de donner de suite en vue d'une autorisation d'usage du fait du niveau élevé de la dose efficace. Ces essais ont enfin précisé les conditions (dose et stade d'application) permettant d'optimiser l'efficacité de deux préparations commerciales à base de nématodes entomopathogènes. Ces préconisations pourront directement être mises en œuvre par les producteurs puisque ces produits ne nécessitent pas d'AMM pour être utilisés.

En autres champignons cultivés, les essais ont permis de renforcer grandement la performance culturale des champignons de diversification sur les substrats pasteurisés, en définissant des solutions alternatives efficaces afin de lutter contre les développements des *Trichoderma sp* en incubation et en identifiant des leviers d'amélioration de rendements pertinents en fructification. Pour le lentin et le pleurote *eryngii*, les performances culturales atteignent désormais celles enregistrées sur les substrats stérilisés, voire même parfois davantage. Ces résultats obtenus sans recours à l'utilisation de produits phytosanitaires de synthèse ni aux engrais minéraux confortent l'intérêt de la production de champignons sur les substrats pasteurisés en définissant des itinéraires de culture à la fois plus économes en énergie et plus respectueux de l'environnement. Les futures études s'attacheront toutefois à confirmer ces observations.
