



ISOLEMENT, PRODUCTION ET MISE À L'ESSAI DE MYCORHIZES ÉRICOÏDES À HAUT POTENTIEL POUR L'INDUSTRIE DU BLEUET NAIN SEMI-CULTIVÉ

É. MERCIER¹, M. LAMBANY², F.P. BUREAU¹, M. BELLEMARE³, P.G. MALENFANT¹, ET S. BEAUSEIGLE¹

¹ Biopierre-Centre de développement des bioproduits, 1642, rue de la Ferme, Sainte-Anne-de-la-Pocatière (Québec) G0R 1Z0

² Cégep de La Pocatière, 140, 4^e Avenue, La Pocatière (Québec) G0R 1Z0

³ Club Conseil Bleuets, 112, Avenue de l'Église, Suite 202, Dolbeau-Mistassini (Québec) G8L 4W4

emilie.mercier@biopierre.com

MISE EN CONTEXTE

Le Québec est la principale province canadienne productrice de bleuets avec plus de 40 % de la production au pays¹, ce qui en 2014 représentait des recettes de 41,6 M\$ pour 35 598 tonnes de bleuets produits². L'industrie québécoise du bleuets nain écoule plus de 85 % de sa production sur les marchés internationaux dans un contexte de concurrence croissante avec d'autres pays³. Les producteurs remarquent que la productivité des plants de bleuets nains semi-cultivés (*Vaccinium angustifolium*) est très variable, parfois au sein d'un même champ. Le Syndicat des producteurs de bleuets du Québec a identifié l'utilisation de mycorhizes comme axe d'intervention prioritaire dans le but d'augmenter et d'uniformiser la production et, ainsi, appuyer le développement de ses marchés. On sait que les champignons mycorhiziens éricoïdes pénètrent dans les cellules corticales de la racine pour y former un amas d'hyphes nommé « peloton » engendrant une relation intime entre la plante et le champignon permettant l'échange de composés entre les deux organismes⁴. La plante hôte tire d'importants avantages de cette relation, entre autres parce que les éricoïdes possèdent une capacité accrue de dégradation de la matière organique issue des couches supérieures du sol⁵. Les genres éricoïdes fréquents comme *Oidiodendron* ont d'ailleurs démontré une sécrétion d'enzymes permettant l'assimilation de composés complexes contenant de l'azote et du phosphore, deux éléments essentiels au développement du bleuets⁶. Actuellement, aucun inoculant mycorhizien n'est commercialisé et, afin de répondre aux enjeux de l'industrie, Biopierre accompagne des entreprises du Lac-Saint-Jean dans le développement de produits permettant l'apport d'éricoïdes en bleuetièrre.

OBJECTIFS

- Isoler et produire des souches de champignons mycorhiziens éricoïdes à haut potentiel pour la production de bleuets nains semi-cultivés.
- Vérifier le potentiel inoculant des champignons mycorhiziens éricoïdes à coloniser les racines des plants de bleuets et évaluer l'impact des inoculants sur la productivité des plants de bleuets nains semi-cultivés.^{12,13}

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1 Isolement et identification moléculaire des champignons mycorhiziens éricoïdes

- Échantillonnage de racines de bleuets: 10 parcelles (Lac St-Jean) x 16 échantillons
- Isolement de souches fongiques endophytes sur milieux MMN et MA^{7,8}
- Sélection de 2 souches par morphologie par parcelle pour identification
- Séquençage et analyse du code-barre génétique (ITS)⁹

2 Production *in vitro* d'inoculants éricoïdes en milieu liquide

- Mise en culture des souches éricoïdes en milieu liquide (PDB)^{7,8,10,11}
- Incubation pendant 13 semaines sur table agitatrice, temp. 20 °C
- Extraction du mycélium par filtration (20-25µm)
- Fragmentation du mycélium et resuspension dans de l'agar 0,03% pour une conc. finale de 10g de mycélium par litre

3 Mise à l'essai de formulations d'inoculants mycorhiziens lors de deux dispositifs expérimentaux en serres

Essai 1: Sur plants de bleuets non stériles

- 3 cultivars (BB4, Brunswick et Girardville) de plants de bleuets x 6 traitements x 6 blocs pour un total de 108 unités expérimentales
- Inoculation des plants à T=0, T=4 semaines et T=8 semaines : 50 ml de la formulation est versé à la base du plant
- 4 souches d'éricoïdes testées seules et en consortium, et un traitement négatif (agar 0,03%)

Essai 2: Sur plants de bleuets produits *in vitro* et stériles

- 1 cultivar (BB4) produit de manière *in vitro* par l'entreprise Végétolab x 12 traitements x 15 plants pour un total de 180 unités expérimentales
- Un litre de milieu de culture PDA a été coulé de manière stérile dans des contenants et inoculés par un des traitements (12 contenants au total)
- Une couche de 5 cm de substrat horticole stérile a été déposée et 15 plants *in vitro* ont été transférés par contenant
- Les mêmes traitements que l'essai 1 ont été testés avec l'ajout (seul ou en consortium) d'une souche endophyte septé foncé, *Phialocephala fortinii*, isolée de racines de bleuets pour tenter d'évaluer l'impact de ce dernier sur les plants de bleuets

Tableau 1. Liste des souches d'éricoïdes et d'endophyte utilisées lors des essais en serre

Souches testées lors des essais (seule et en consortium)	Isolées de	Provenance
<i>Oidiodendron maius</i> BIOP_F043	Racines de <i>Vaccinium angustifolium</i>	Lac St-Jean (QC)
<i>Oidiodendron maius</i> DAOMC 184108	Racines de <i>V. corymbosum</i>	Frelisburg (QC)
<i>Oidiodendron chlamyosporicum</i> DAOMC 229813	Sol de bleuetièrre	Englehart (ON)
<i>Rhizoscyphus ericae</i> DAOMC 191324	Racines de <i>V. angustifolium</i>	Lac St-Jean (QC)
<i>Phialocephala fortinii</i> DAOMC 235451 (dispositif 2 seulement)	Racines de <i>V. myrtilloides</i>	Alberta

- Le taux de mycorhization a été évalué pour chaque traitement via la méthode de coloration racinaire au bleu de Trypan (Figure 1), ainsi que plusieurs paramètres agronomiques (hauteur des plants, biomasse, teneur en N et P)
- Des analyses statistiques (ANOVA) ont été réalisées à l'aide du logiciel R 3.6.0 pour comparer les traitements entre eux.

RÉSULTATS

- 120 souches fongiques endophytes isolées dont 92 identifiées (Figure 2)
- 2 souches de champignons mycorhiziens éricoïdes isolées (*Oidiodendron maius*)
- 64 % des souches isolées = *Phialocephala fortinii* (endophyte septé foncé)



Figure 1. Hyphes pénétrant la racine du plant de bleuets - 400X

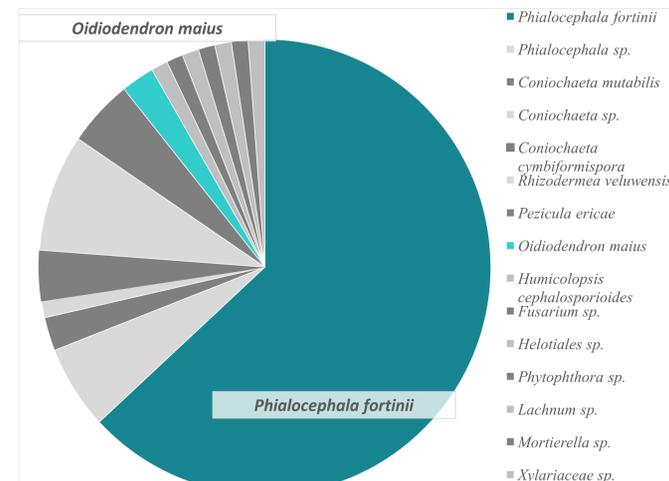


Figure 2. Diversité et abondance relative des champignons endophytes isolés à partir des racines des plants de bleuets

- Lors de l'essai 1, une différence significative a été observée entre les pourcentages de mycorhization racinaire des cultivars. Toutefois, à l'intérieur d'un même cultivar, le % de mycorhization ne varie pas selon le traitement d'inoculation, sauf pour le cultivar Brunswick (différence significative entre le consortium et la souche BIOP_F043) (Figure 3). Aucun effet significatif n'a été observé entre les traitements pour les paramètres agronomiques.

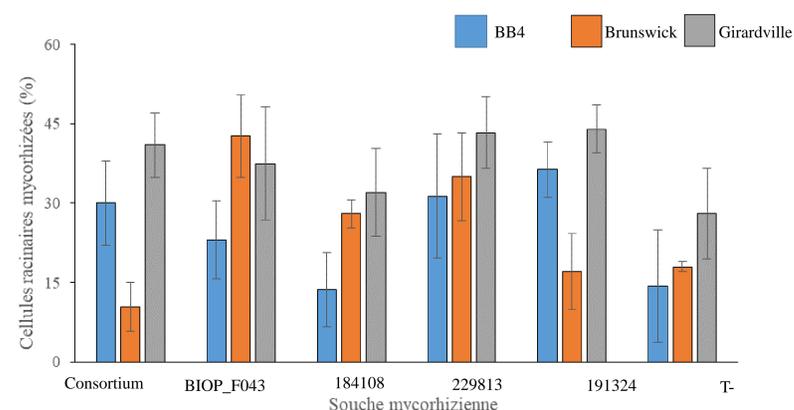


Figure 3. Pourcentage moyen de cellules racinaires mycorhizées des trois cultivars de bleuets nains en fonction des formulations inoculées.

- Pour l'essai 2, les résultats sont actuellement en cours d'analyse.

RÉFÉRENCES

- Béché, 2015. Saison noire pour le bleuets. La Presse. Lien Internet: <http://www.lapresse.ca/actualites/national/2015/07/16/01-4886150-saison-noire-pour-le-bleuets.php>
- CRAAQ, 2014. Feuilles sur la production de bleuets sauvages. La production en chiffres.
- CRAAQ, 2010. Feuilles sur la production de bleuets sauvages. Un aperçu de l'industrie du bleuets sauvage au Québec. Lien Internet: <http://perlebleue.ca/images/documents/amenagement/guidedproduction/001-2010.pdf>
- Fortin, J.A., Piché, Y. & Planchette, C., 2015. Les mycorhizes: l'essor de la nouvelle révolution verte. Édition revue et augmentée. Montréal (Québec): Éditions MultiMondes.
- Read, D.J., Leake, J.R. & Perez-Moreno, J., 2004. Mycorrhizal fungi as drivers of ecosystem processes in heathland and boreal forest biomes. Canadian Journal of Botany, 82(8), p. 1243-1263.
- Kerley, S.J. & Read, D.J., 1998. The biology of mycorrhizas in the Ericaceae. XX. Plant and mycorrhizal necromass as nitrogenous substrates for the ericoid mycorrhizal fungus *Hymenoscypha ericae* and its host. New Phytologist, 139(2), p. 353-360.
- Pearson, V. & Read, D.J., 1973. The Biology of Mycorrhizas in the Ericaceae. I. The Isolation of the Endophyte and Synthesis of Mycorrhizas in Aseptic Culture. New Phytologist, 72(2), p. 371-379.
- Mikereji, K.G., Manoharathary, C. & Chandra, B.P. ed., 2002. Techniques in Mycorrhizal Studies. Dordrecht: Springer Netherlands. Lien Internet: <http://link.springer.com/10.1007/978-94-017-3209-3>.
- White, T.J. et al., 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal DNA genes for phylogenetics. PCR protocols: a guide to methods and applications, 18(1), p. 315-322.
- Morissette, N., 2011. Les mycorhizes éricoïdes: un potentiel biotechnologique pour favoriser l'établissement de plants de bleuets sur les sites perturbés par l'exploitation des sables bitumineux en forêt boréale canadienne. Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures de l'Université Laval, 102 p.
- Janoš, J. & Vosátka, M., 2000. In vitro and post vitro inoculation of micropropagated *Rhododendrons* with ericoid mycorrhizal fungi. Applied Soil Ecology, 15(2), p. 125-136.
- Leopold, D.R., 2016. Ericoid fungal diversity: Challenges and opportunities for mycorrhizal research. Fungal Ecology. Lien Internet: <http://dx.doi.org/10.1016/j.funeco.2016.07.004>.
- Scigel, C.F., Wagner, A. & Winiarski, P., 2005. Inoculation with Ericoid Mycorrhizal Fungi Alters Root Colonization and Growth in Nursery Production of Blueberry Plants from Tissue Culture and Cuttings. Small Fruits Review, 4(4), p. 113-135.