ISOLEMENT ET PRODUCTION DE MYCORHIZES ÉRICOÏDES À HAUT POTENTIEL POUR L'INDUSTRIE DU BLEUET

P. G. MALENFANT[1], M. LAMBANY[2], E. MERCIER[1], S. BEAUSEIGLE[1], M. BELLEMARE[3] ET F. GOBEIL[4]

[1] *Biopterre – Centre de développement des bioproduits, 1642, rue de la Ferme, Sainte-Anne-de-la-Pocatière (Québec) G0R 1Z0*
[2] *Cégep de La Pocatière, 140, 4e Avenue, La Pocatière (Québec) G0R 1Z0*
[3] *Club Conseil Bleuet, 112, Avenue de l'Église, Suite 202, Dolbeau-Mistassini (Québec) G8L 4W4*
[4] *Institut de technologie agroalimentaire, campus de La Pocatière, 401, rue Poiré, La Pocatière (Québec) G0R 1Z0*

pascale.malenfant@biopterre.com

MISE EN CONTEXTE

Le Québec est la principale province canadienne productrice de bleuets avec plus de 40 % de la production au pays[1], ce qui en 2014 représentait des recettes de 41,6 M$ pour 35 598 tonnes de bleuets produits[2]. L'industrie québécoise du bleuet nain écoule plus de 85 % de sa production sur les marchés internationaux dans un contexte de concurrence croissante avec d'autres pays[3]. Les producteurs remarquent que la productivité des plants de bleuets nains semi-cultivés (*Vaccinium angustifolium*) est très variable, parfois même 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 organismes[4]. 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 sol[5]. 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 bleuet[6]. Actuellement, aucun inoculant mycorhizien n'est commercialisé et, afin de répondre aux enjeux de l'industrie, Biopterre accompagne des entreprises du Lac-Saint-Jean dans le développement de produits permettant l'apport d'éricoïdes en bleuetière.

OBJECTIFS

PHASE 1: Isoler et produire des souches de champignons mycorhiziens éricoïdes à haut potentiel pour la production de bleuets nains semi-cultivés (*Vaccinum angustifolium).*

- Isoler des souches de champignons endophytes à partir d'échantillons de racines de plants de bleuets.
- Identifier, par séquençage du code-barre génétique, les espèces fongiques isolées.
- Optimiser les méthodes de production *in vitro* des éricoïdes en milieu liquide dans le but de développer des inoculums.

PHASE 2: (À VENIR) Vérifier le potentiel des inoculums de champignons mycorhiziens éricoïdes à coloniser les racines des plants de bleuets, déterminer les conditions optimales à la colonisation des systèmes racinaires, et évaluer l'impact des inoculums sur la productivité des plants de bleuets nains semi-cultivés[12,13].

MATÉRIEL ET MÉTHODE

1 Caractérisation des zones de production et échantillonnage

- 10 parcelles hautement productives en champs de bleuet au Lac-Saint-Jean
- Analyses de sol et caractérisation écologique des parcelles
- 3 plants prélevés par parcelle

2 Observation des champignons intraracinaires

- Optimisation de la méthode de coloration racinaire sur bleuet (8 traitements comparés)
- Validation par microscopie de la présence de champignons mycorhiziens éricoïdes

3 Isolement et sélection des souches

- 10 parcelles x 16 échantillons de racines x 2 milieux nutritifs
- Isolement de 120 souches fongiques endophytes[7,8]
- Sélection de 2 souches par morphologie par parcelle = 92 souches sélectionnées pour identification

4 Identification des champignons mycorhiziens éricoïdes

- Séquençage et analyse du code-barre génétique (ITS)[9]

5 Optimisation des méthodes de production en milieu liquide *in vitro*

- Mise en culture des souches éricoïdes en milieu liquide (MMN)[7,8,10,11]
- Incubation pendant 13 semaines sur table agitatrice, T. 20 °C

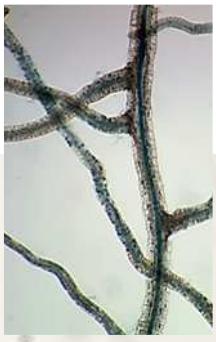

Figure 1 : Racines colorées au bleu trypan, 100X

Figure 2 : Hyphes pénétrant la racine - 400X

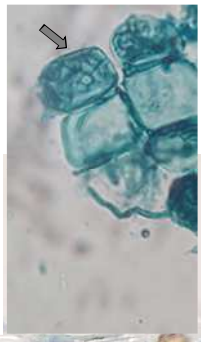

Figure 3 : Microsclérotes : structures fongiques des endophytes septés foncés (non mycorhiziens) – 400 X

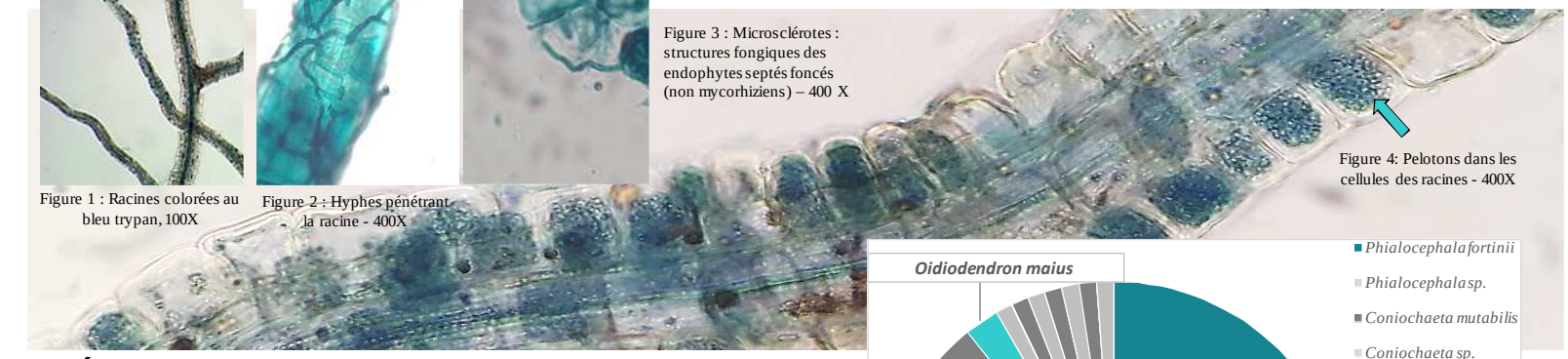

Figure 4: Pelotons dans les cellules des racines - 400X

RÉSULTATS

- 120 souches fongiques endophytes isolées = 92 identifiées (figure 4)
- 64 % = *Phialocephala fortinii* (endophyte septé foncé)
- 2 souches de champignons mycorhiziens éricoïdes de l'espèce = *Oidiodendron maius*
- 5 souches conservées dans la collection de microorganismes Micropterre et pour lesquelles une production de mycélium en milieu liquide a été réalisée.
- Le potentiel mycorhizien et la croissance rapide des souches d'*Oidiodendron maius* font d'elles de bons candidats pour la production d'inoculum.

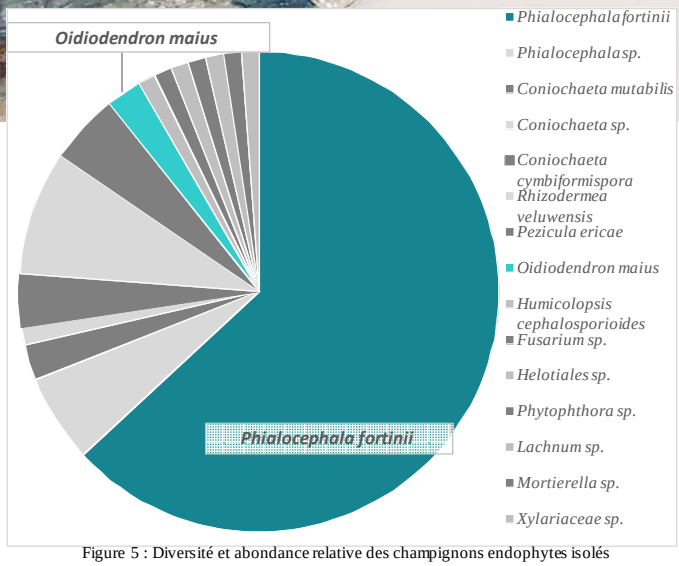

Figure 5 : Diversité et abondance relative des champignons endophytes isolés à partir des racines des plants de bleuet

RÉFÉRENCES

1. Bérubé, 2015. *Saison noire pour le bleuet*. La Presse. Lien Internet: http://www.lapresse.ca/actualites/national/201507/16/01-4886150-saison-noire-pour-le-bleuet.php
2. CRAAQ, 2014. Feuillet sur la production de bleuets sauvages. *La production en chiffres*.
3. CRAAQ, 2010. Feuillet sur la production de bleuets sauvages. *Un aperçu de l'industrie du bleuet sauvage au Québec*. Lien Internet : http://portail.bioenergie.qc.ca/images/stories/communications/agroenergie/production/0001-2010.pdf.
4. Fortin, J.A., Piché, Y. & Plenchette, C., 2015. *Les mycorhizes: l'essor de la nouvelle révolution verte*. Édition revue et augmentée, Montréal (Québec): Éditions Multimondes.
5. Read, D.J., Leake, J.R. & Perez-Moreno, J., 2004. *Mycorrhizal fungi as drivers of ecosystem processes in boreal and temperate ecosystems*. Canadian Journal of Botany, 82(8), p. 1243-1263.
6. Kerley, S.J. & Read, D.J., 1998. *The biology of mycorrhiza in the Ericaceae. XI. Plant and mycorrhizal interactions as a nitrogenous substrate for the ericoid mycorrhizal fungus Hymenoscyphus ericae and its host*. New Phytologist, 139(2), p. 353-360.
7. Pearson, V. & Read, D.J., 1973. *The Biology of Mycorrhiza in the Ericaceae. I. the Isolation of the Endophyte and Synthesis of Mycorrhizas in Aseptic Culture*. New Phytologist, 72(2), p. 371-379.
8. Mukerji, K.G., Manoharachary, C. & Chamola, B.P. éd., 2002. *Techniques in Mycorrhiza Studies*, Dordrecht: Springer Netherlands. Lien Internet: http://link.springer.com/10.1007/978-94-017-3289-3.
9. White, T.J. et al., 1990. *Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics*. PCR protocols: a guide to methods and applications, 18(1), p. 315-322.
10. Morisette, N., 2011. *Les mycorhizes éricoïdes : un potentiel biotechnologique pour favoriser l'établissement des plants de bleuet 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.
11. Jansa, J. & Vosátka, M., 2000. *In vitro and pot-vitro inoculation of micropropagated Rhododendrons with ericoid mycorrhizal fungi*. Applied Soil Ecology, 15(2), p. 125-136.
12. 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.
13. Stagnol, 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.