Les symbioses végétales racinaires comme indicateurs de la santé des plantes et de l'environnement dans les écosystèmes perturbés du Québec

Christine Juge, Pierre Lafond, Samuel Ouellette, Normand Cossette
Thomas Jeanne & Richard Hogue

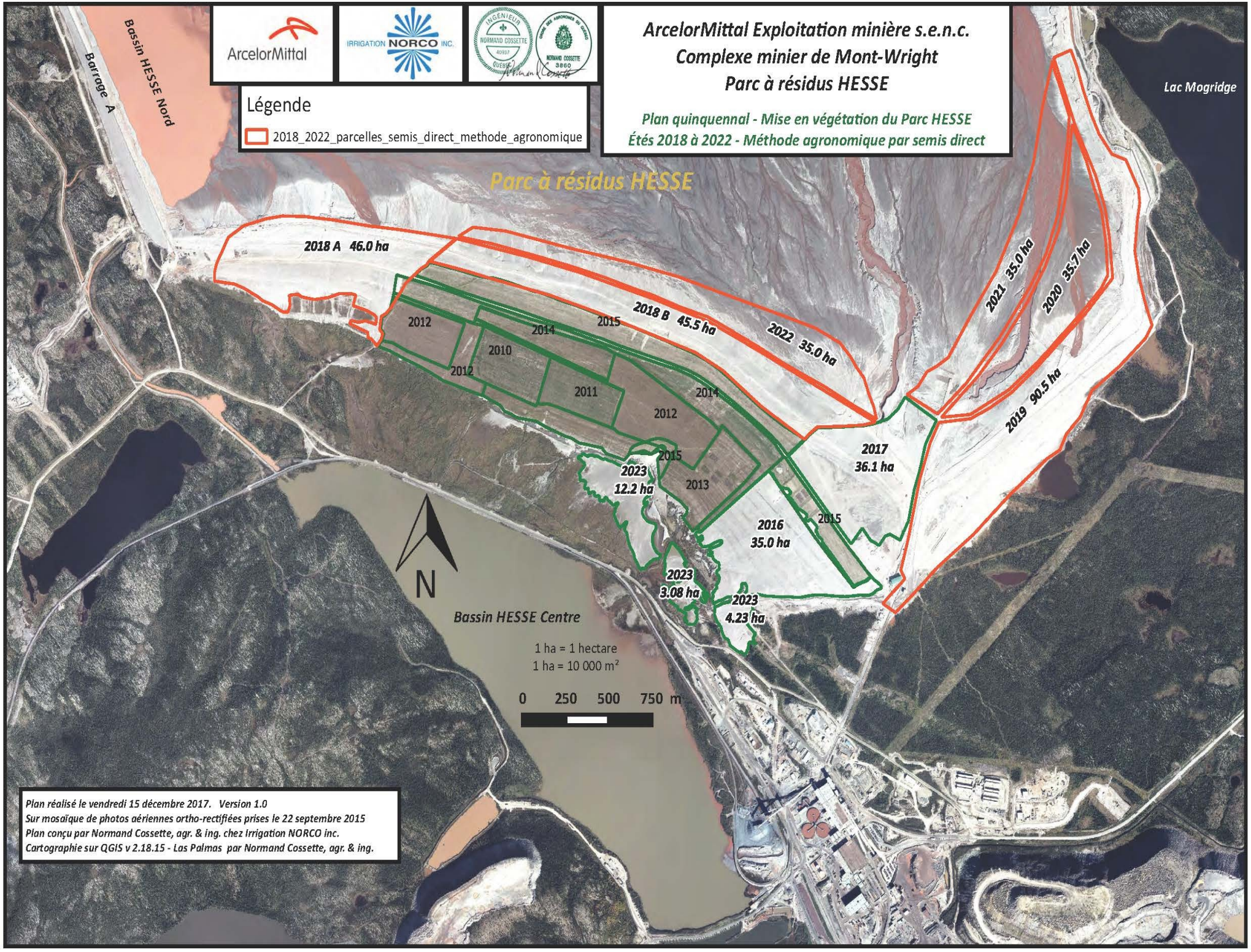
Mycorhizes 2019, Université Laval, 30 octobre 2019

IRRIGATION NORCO INC.

irda INSTITUT DE RECHERCHE ET DE DÉVELOPPEMENT EN AGROENVIRONNEMENT

1ère partie:
Végétalisation des «tailings» ou parcs à résidus miniers

MER DU LABRADOR
Hopedale
Schefferville
Labrador
Smallwood Reservoir
Naskaupi
Labrador City
mines de fer du Mont-Wright, du Lac Bloom et d'IOC
Happy Valley–Goose Bay
Goose-Bay
Rivière du Petit Mécatina
Natashquan
Henley Harbour
Détroit de Belle-Isle, Canada
ancienne mine de fer de Gagnon
Québec
St.-Augustin
LAURENTIDES
Rivière Manicouagan
SEPT-ÎLES-PORT CARTIER
Magpie
Sept-Îles
Baie-Comeau
Golfe du Saint-Laurent
Terre Neuve


ArcelorMittal
IRRIGATION NORCO INC.
INGÉNIEUR NORMAND COSSETTE 40937 QUÉBEC
NORMAND COSSETTE 3860
ArcelorMittal Exploitation minière s.e.n.c.
Complexe minier de Mont-Wright
Parc à résidus HESSE
Plan quinquennal - Mise en végétation du Parc HESSE
Étés 2018 à 2022 - Méthode agronomique par semis direct
Légende
2018_2022_parcelles_semis_direct_methode_agronomique
Parc à résidus HESSE
Barrage A
Bassin HESSE Nord
Lac Mogridge
2018 A 46.0 ha
2018 B 45.5 ha
2022 35.0 ha
2021 35.0 ha
2020 35.7 ha
2019 90.5 ha
2017 36.1 ha
2016 35.0 ha
2023 12.2 ha
2023 3.08 ha
2023 4.23 ha
2012
2014
2015
2010
2012
2011
2014
2012
2015
2013
2015
N
Bassin HESSE Centre
1 ha = 1 hectare
1 ha = 10 000 m²
0 250 500 750 m
Plan réalisé le vendredi 15 décembre 2017. Version 1.0
Sur mosaïque de photos aériennes ortho-rectifiées prises le 22 septembre 2015
Plan conçu par Normand Cossette, agr. & ing. chez Irrigation NORCO inc.
Cartographie sur QGIS v 2.18.15 - Las Palmas par Normand Cossette, agr. & ing.

Parc à résidus de Gagnon, 35 ans après...

Photos C. Juge 12/09/2019

Parc à résidus de Gagnon, 35 ans après...

Dryade de Drummond

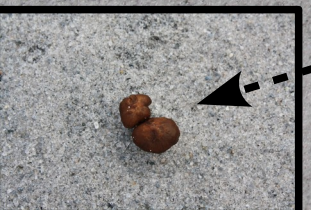
Immortelle

Fétuque rouge

Salix sp.

Photos C. Juge 12/09/2019

Parc à résidus de Gagnon, 35 ans après...



5 à 6 mètres!

Photos C. Juge 12/09/2019

Le travail d'Irrigation NORCO depuis plus de 25 ans: 4 sites de résidus miniers à végétaliser

- Site de Wabush (Labrador Ouest): 1996-2014: 1150 ha
Dont > 750 ha reverdis par Irrigation NORCO. Et le reste ?

- Site d'IOC (Labrador Ouest) depuis 1999 : > 1040 ha,
dont plus de 620 ha reverdis par Irrigation NORCO

- Site du Mont-Wright (Québec) depuis 2010 : > 1600 ha,
dont 320 ha reverdis par Irrigation NORCO (100ha/an depuis 2018)

- Site du Lac Bloom (Québec) depuis 2011 : capacité > 1100 ha,
67 ha reverdis par Irrigation NORCO

Végétalisation NORCO: étapes et technologies

- Système d'irrigation (Wabush, 1996-2006)
- Paillis = contrôle de l'érosion éolienne; haies micro brise-vents
- Semis direct ou à la volée de graines d'herbacées adaptées
- Plantation éventuelle de ligneux indigènes
- Bio-fertilisation: fumiers de volaille
- Hydrosemis sur les pentes
- Suivi annuel et fertilisation lorsque requis

Creusage de méandres et irrigation

Photos Normand Cossette

Paillis pour contrôler l'érosion éolienne

Photos Normand Cossette

Épandage d'amendements organiques

Photos Normand Cossette

Bio-fertilisation:
fumier de poules pondeuses séché granulé (actisol)

=> introduction de microorganismes et de spores dans le sol recréé = indispensables pour amorcer la trilogie : sol-plantes-microbes

Photos Normand Cossette

Semis du mélange de graines adaptées

Photo Normand Cossette

1ère année:
levée des semences d'annuelles

Photo Christine Juge 16/09/2016

Photo Normand Cossette 28/07/2017

2ème année: émergence de nouvelles espèces

Photo Christine Juge tailing du Mont-Wright 16/09/2016 végétalisé en 2015

2ème et 3ème année: croissance de la végétation

Photo Christine Juge tailing du Mont-Wright 16/09/2016 végétalisé en 2015

À partir de la 3ème année:

→ installation de la végétation pérenne

→ premières adventices indigènes

Photo Christine Juge tailing du Mont-Wright 16/09/2016 végétalisé en 2013

4-10 ans après: apparition spontanée des premiers saules

Tailing d'IOC le 08/09/2018
Parcelle végétalisée en 2014

Photo Christine Juge 08/09/2018

4-10 ans après: apparition spontanée des premiers saules

Tailing du Mont-Wright le 18/07/2019
Parcelle végétalisée en 2012

Photo Christine Juge 18/07/2019

4-10 ans après: apparition spontanée des champignons ectomycorhiziens

Mine AMMtWt le 18/07/2019
Parcelle végétalisée en 2012

Photo Christine Juge 18/07/2019

10 ans après:
les successions végétales en marche

Site de Wabush, 10 ans après

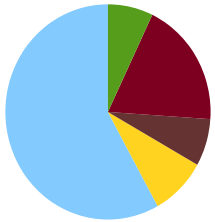
canal d'irrigation devenu ruisseau

opération de re-fertilisation

Photos Normand Cossette

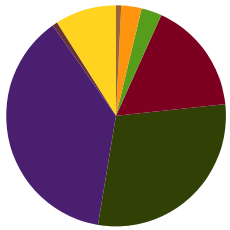
Suivis d'évolution des espèces végétales sur les tailings végétalisés – 1ère à 4e année

mean cover densities year 1 *



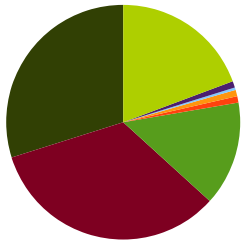
- *Avena sativa*
- *Sinapis alba*
- *Fagopyron esculentum*
- *Festuca sp.*
- *Trifolium sp.*

mean cover densities year 2 *



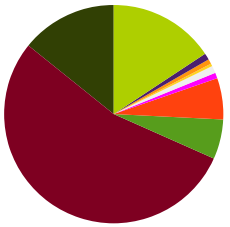
- *Sinapis alba*
- *Fagopyron esculentum*
- *Secale cereale*
- *Phleum pratense*
- *Festuca sp.*
- *Trifolium sp.*
- *Elymus trachycaulus*
- *champignons*

mean cover densities year 3 *



- *Phleum pratense*
- *Festuca sp.*
- *Trifolium sp.*
- *Rumex acetosella*
- *Hordeum jubatum*
- *Elymus trachycaulus*

mean cover densities years 4 to 8 *



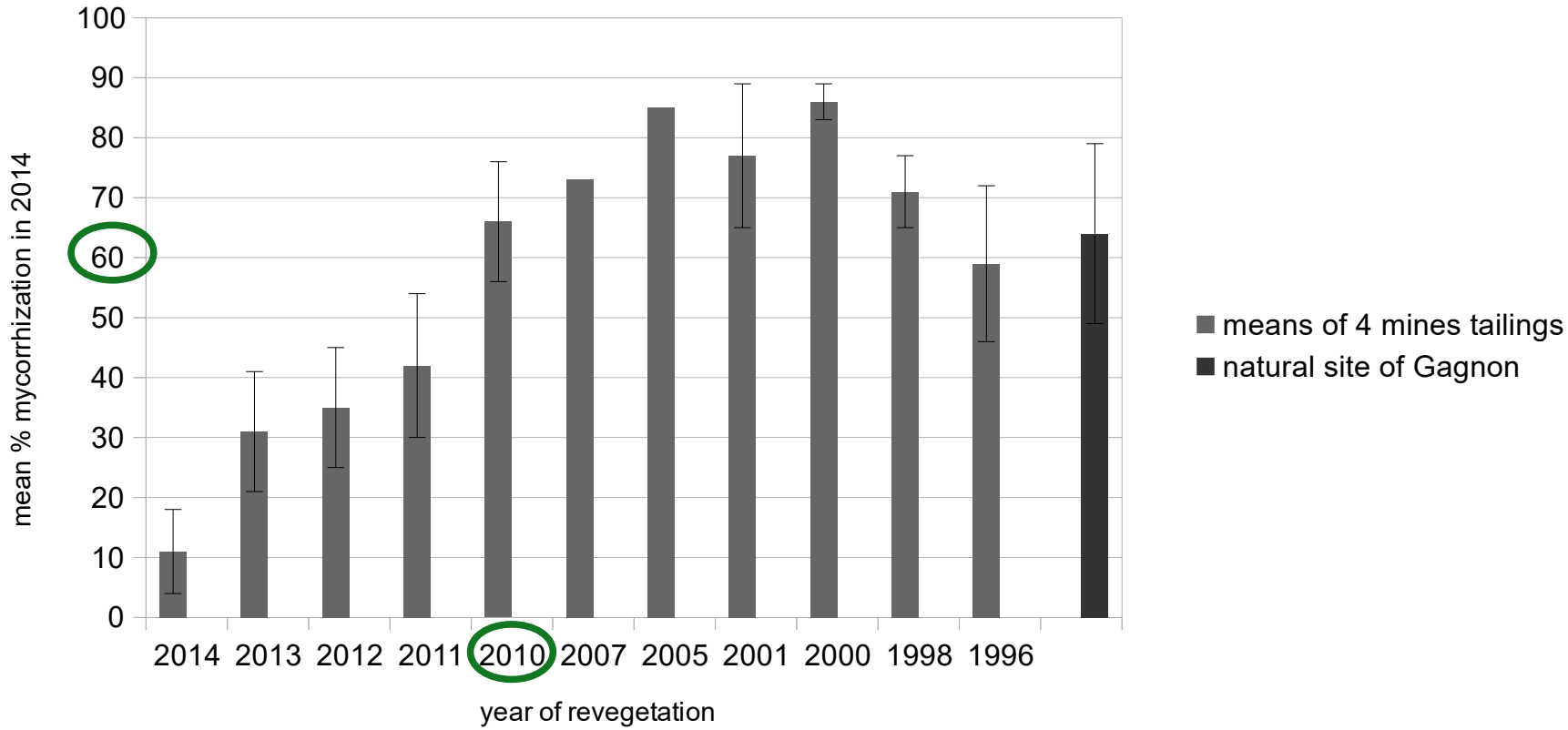
- *Phleum pratense*
- *Festuca sp.*
- *Trifolium sp.*
- *Rumex acetosella*
- *Epilobium angustifolium*
- *Achillea millefolium*
- *Solidago canadensis*
- *Hordeum jubatum*
- *Elymus trachycaulus*
- *mousses*

* means of 4 to 10 plant inventories from 2014 to 2017 on different sites revegetated from 2010 to 2017

- **1ère - 3ème année: évolution des espèces vers une végétation pérenne**

Juge *et al.* 2019a, in preparation

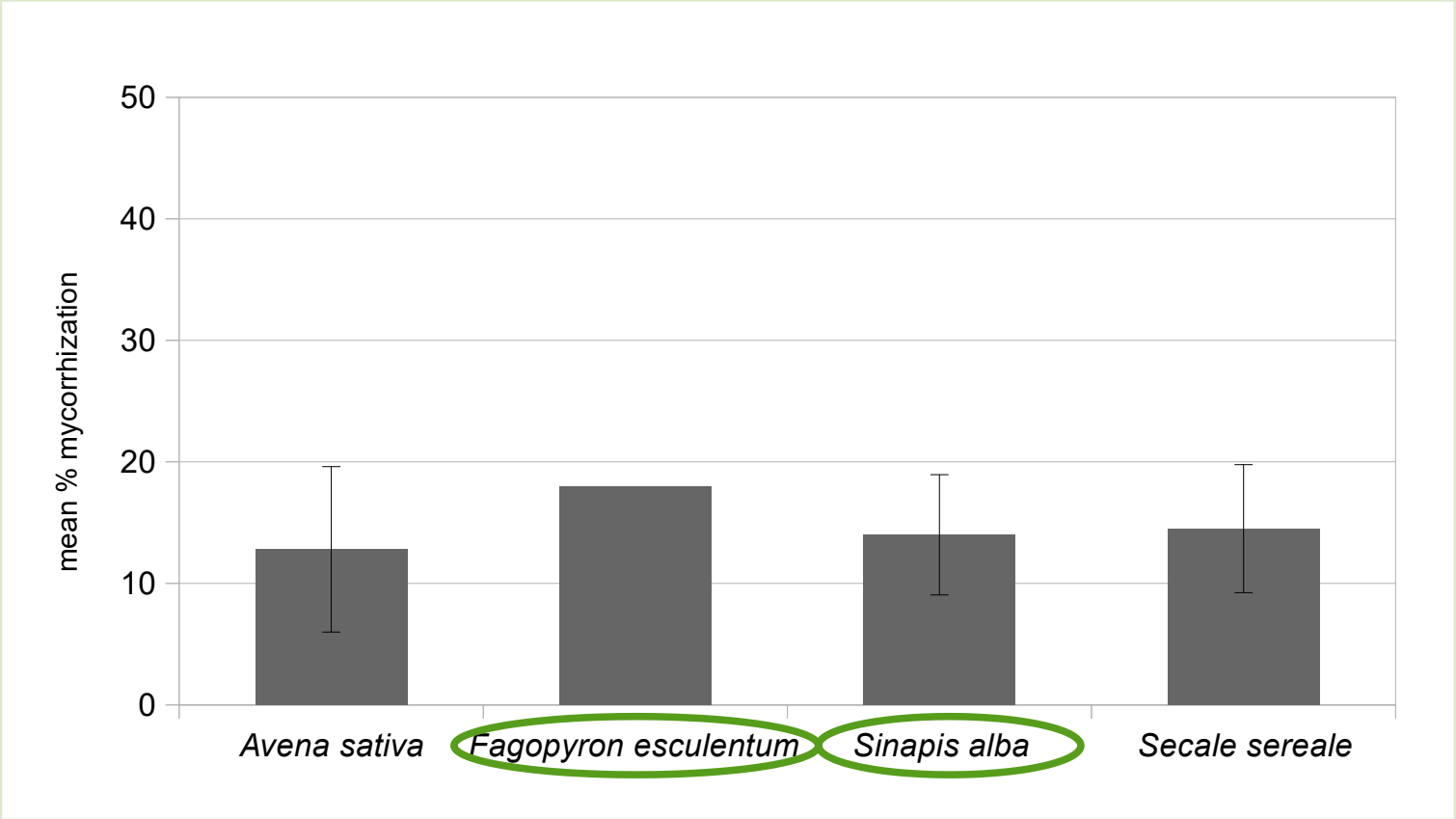
Évolution des taux de mycorhization sur 18 ans



>> excellents taux de mycorhization (> 60%) après seulement 4 ans de végétalisation

Juge *et al.* 2019b, in preparation

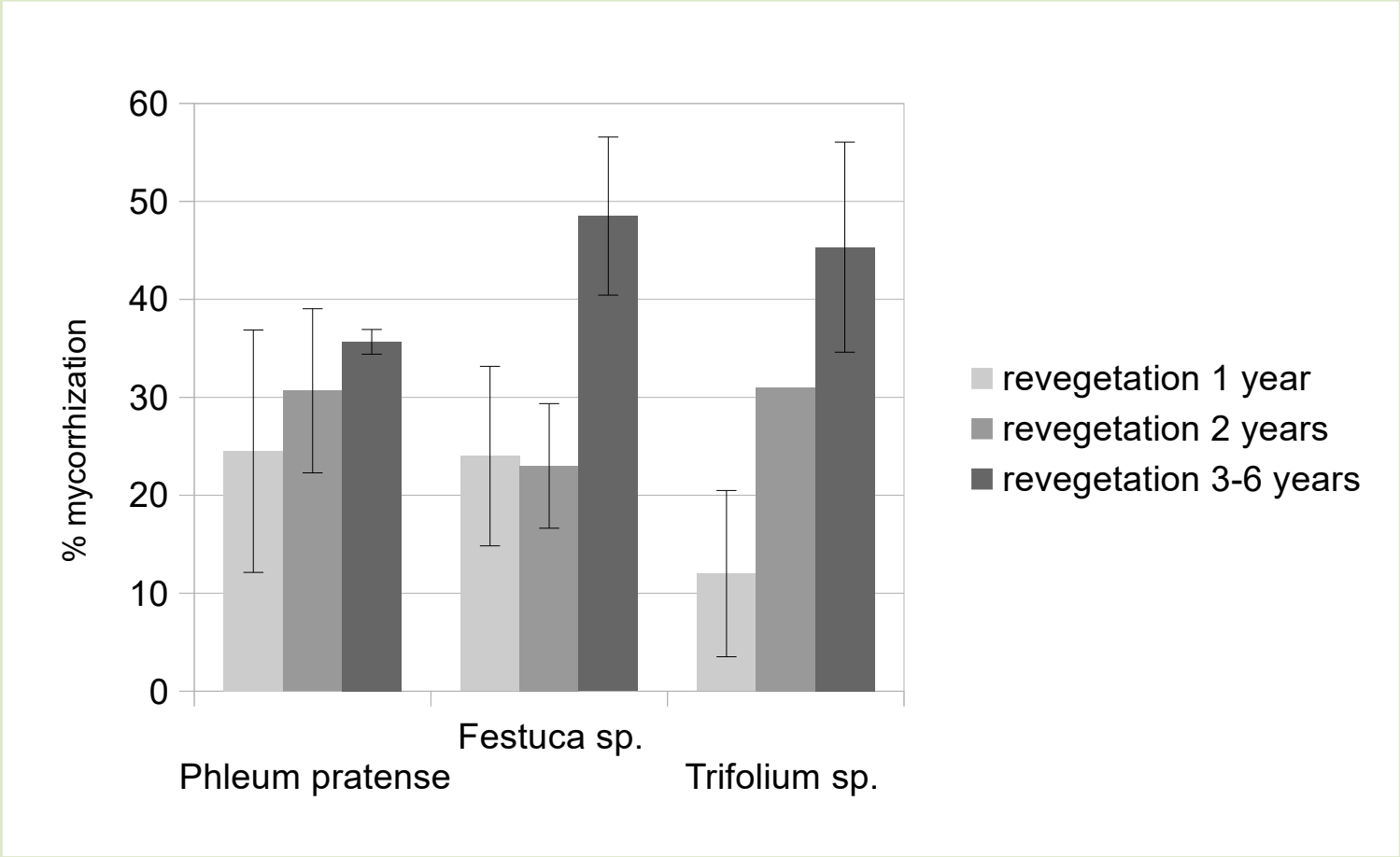
Taux de mycorhization des espèces annuelles de 1ère ou 2ème année



- **Les taux de mycorhization moyens des espèces annuelles restent faibles (13-18%)**
- **tester l'introduction d' inoculants mycorhiziens en semis direct**

Juge *et al.* 2019b, in preparation

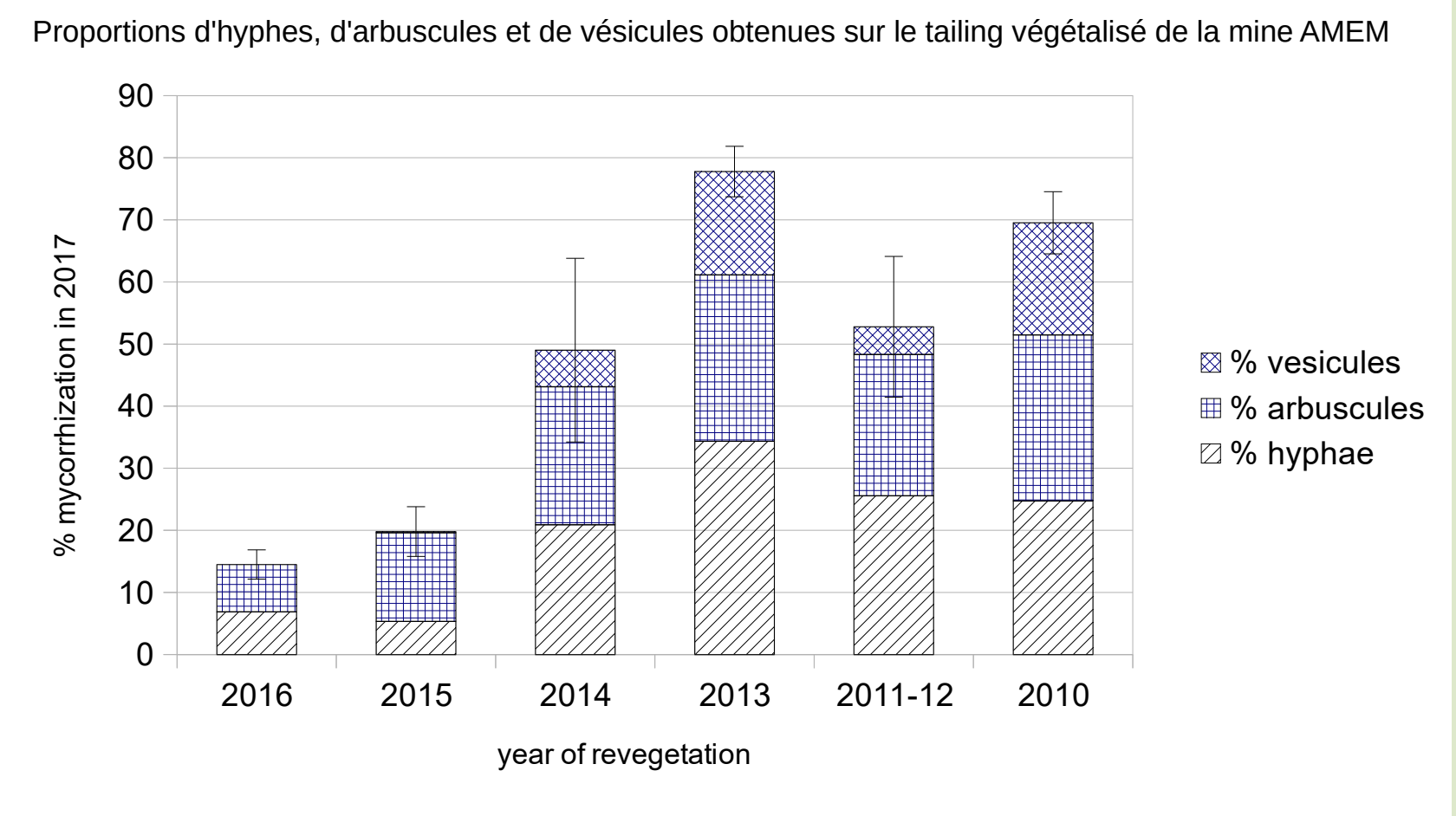
Résultats: évolution de la mycorhization des 3 principales espèces vivaces



- **Dès la 3ème année de végétalisation,**
  les taux de mycorhization dépassent généralement le seuil de 40%

Juge *et al.* 2019b, in preparation

Résultats: proportions d'hyphes, d'arbuscules et de vésicules de champignons mycorhiziens arbusculaires

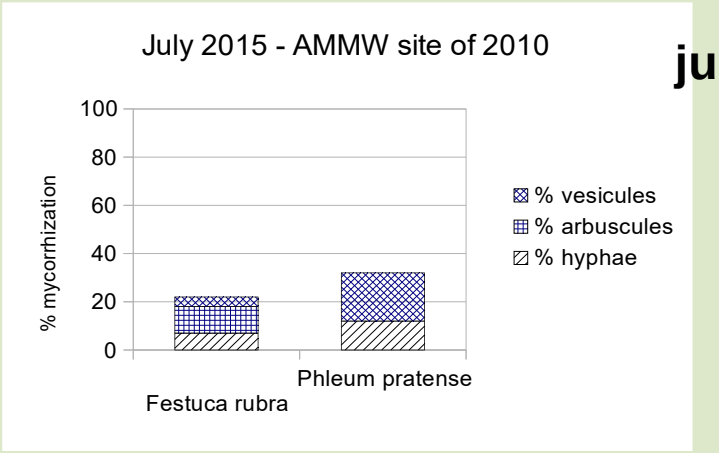


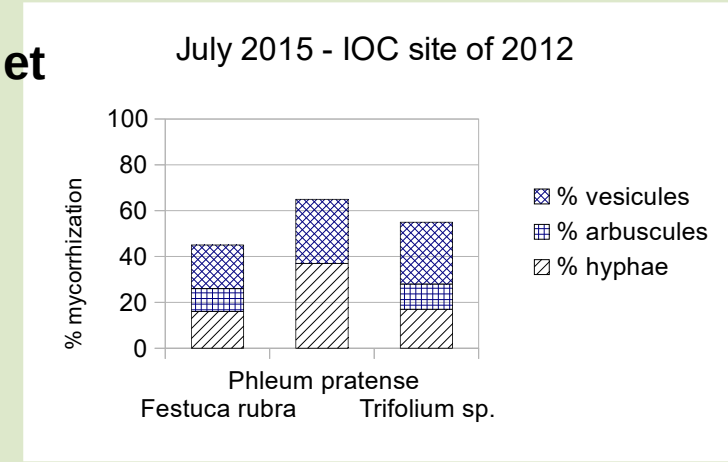
- **Les plus forts taux de vésicules sont observés lorsque les taux de mycorhization sont très élevés**

Juge *et al.* 2019b, in preparation

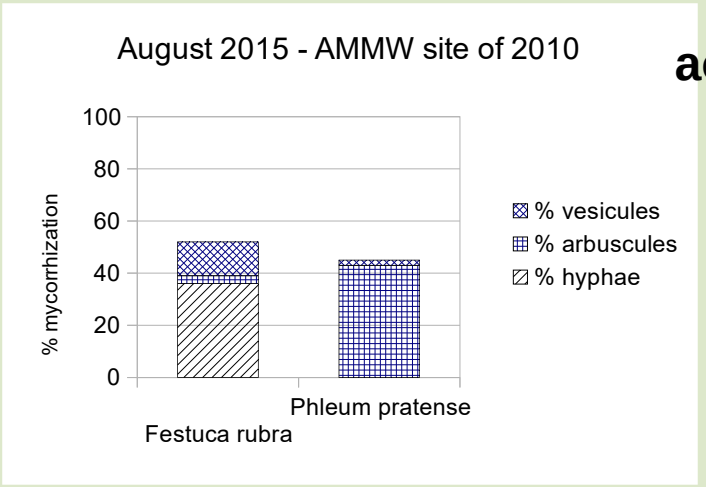
Résultats: évolution des structures des CMA au cours de la saison de végétation

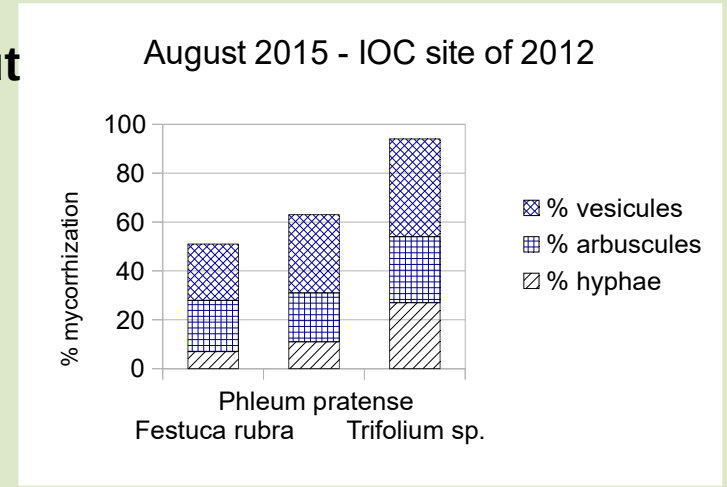
juillet





août

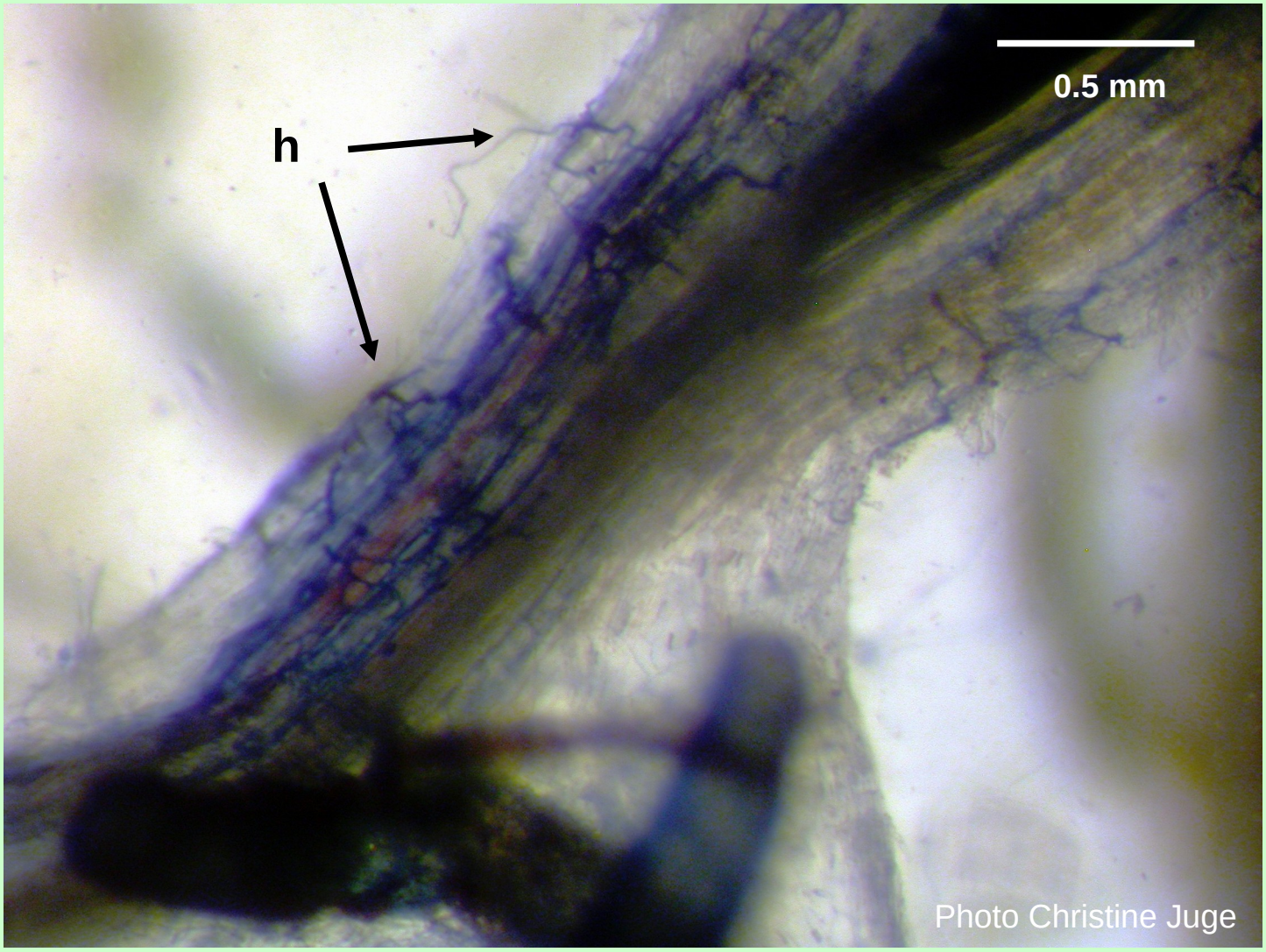




- **Selon les espèces et l'âge des parcelles,**
  le cycle de vie des champignons MA est très variable, parfois di-annuel

Juge *et al.* 2019b, in preparation

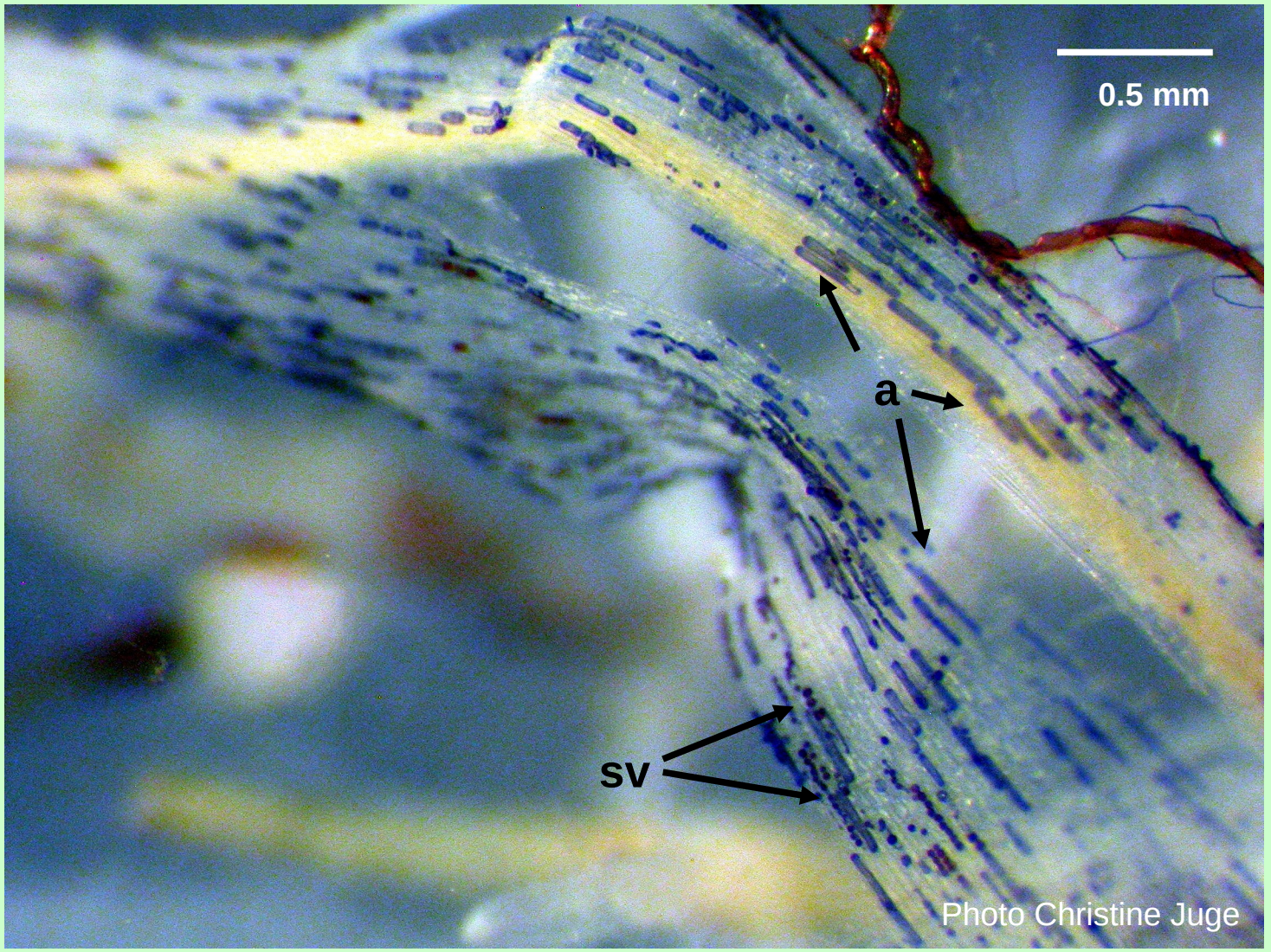
Cycle de vie du champignon mycorhizien arbusculaire (CMA ou AMF) : le stade *hyphal*



Racine de *F. rubra* prélevée en septembre 2015 sur une parcelle du tailing d'IOC revégétée en 2005, montrant de nombreux **hyphes (h)** colonisant la racine

Juge *et al.* 2019b, in preparation

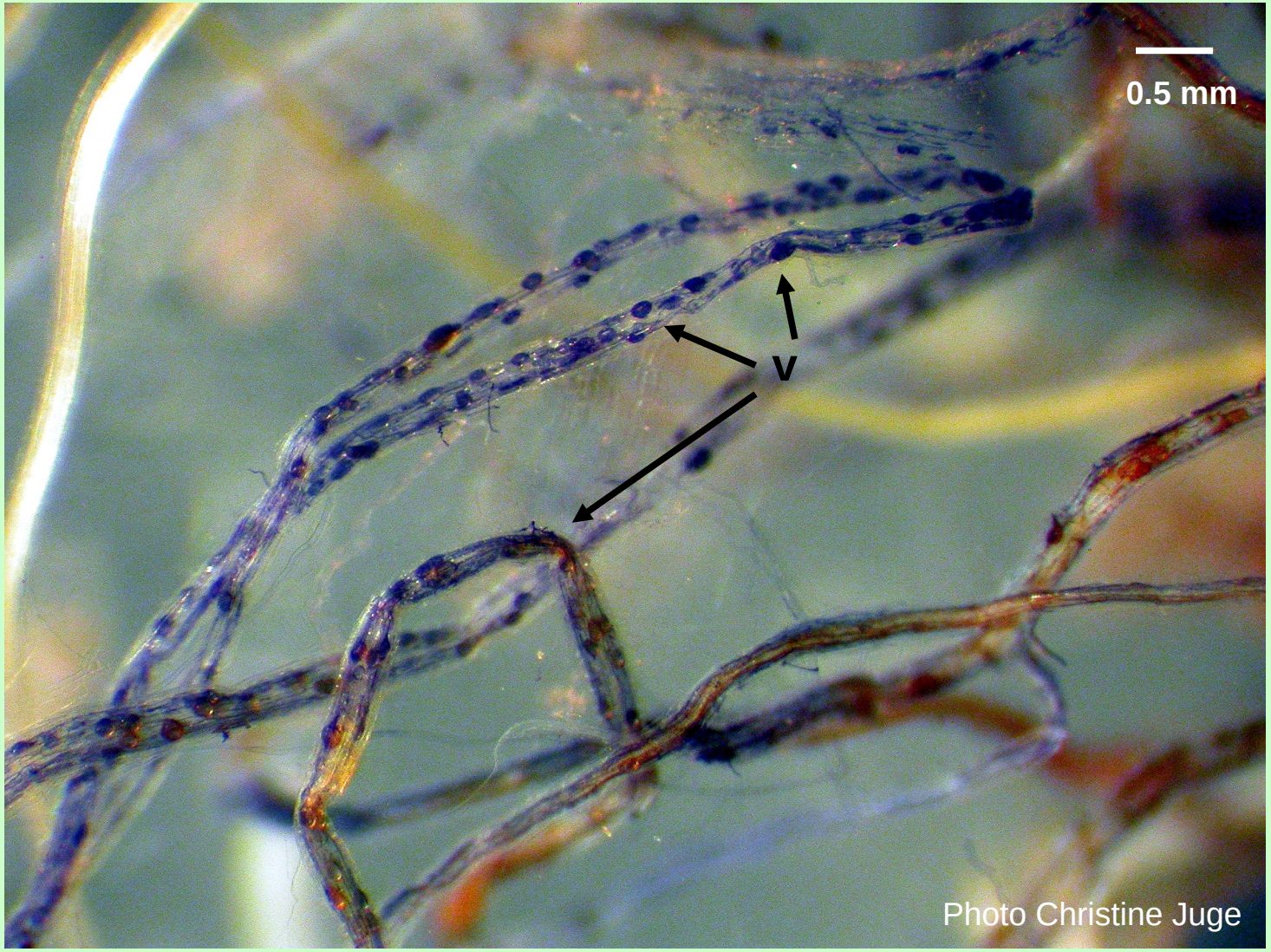
Cycle de vie du champignon mycorhizien arbusculaire (CMA ou AMF) : le stade *arbusculaire*



Racines de *A. millefolium* prélevées en septembre 2016 sur une parcelle du site d'AMEM végétalisée in 2010, montrant de nombreux **arbuscules (a)** et de petites vésicules (sv) d'un autre endophyte non mycorhizien

Juge *et al.* 2019b, in preparation

Cycle de vie du champignon mycorhizien arbusculaire (CMA ou AMF) : le stade *vésiculaire*



Racines fines d'*Anaphalis margaritacea* prélevées en septembre 2016 sur une parcelle du site d'AMEM végétalisée en 2010, remplies de **vésicules (v)** de CMA

Juge *et al.* 2019b, in preparation

Analyses de taxonomie moléculaire : PCR ciblée des AMF (2018) Mont-Wright – parcelles végétalisées 2010-2017

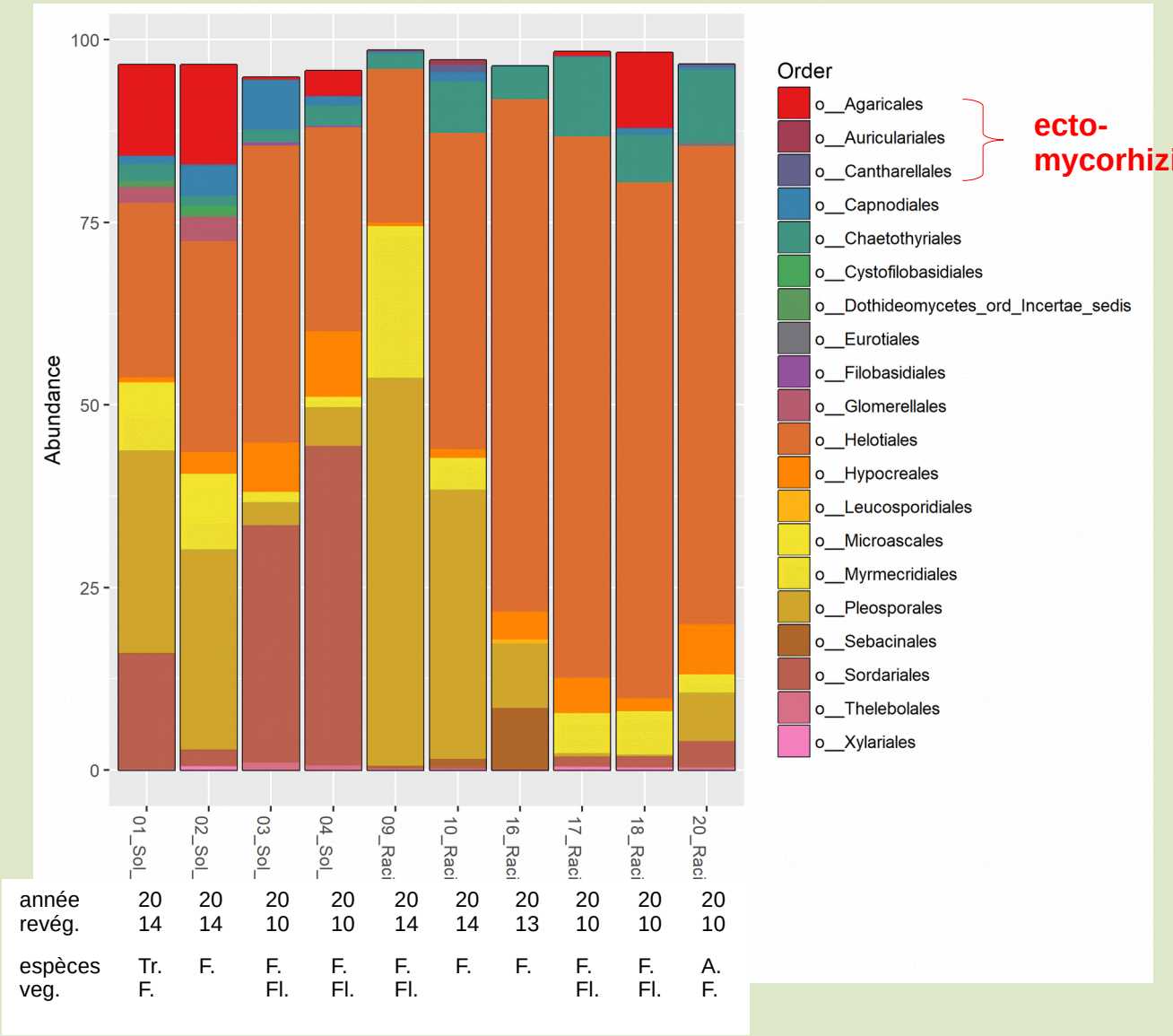
Deux espèces principales suivant âge parcelle et espèce végétale :

- ***Claroideoglomus Claroideum***
- ***Rhizophagus intraradices***
  ≈ *Rhizophagus irregulare* (Walker and Schuβler 2010) *ex Glomus intraradices*
- **aucune amplification de séquence d'AMF dans les racines faiblement mycorhizées**
- **mélange possible d'espèces (limites de la GenBank)**

>> faible variabilité taxonomique des AMF

Juge *et al.* 2019b, in preparation

Résultats 2018 métagénomique ciblée : champignons totaux parcelles du Mont-Wright (2010-2014)

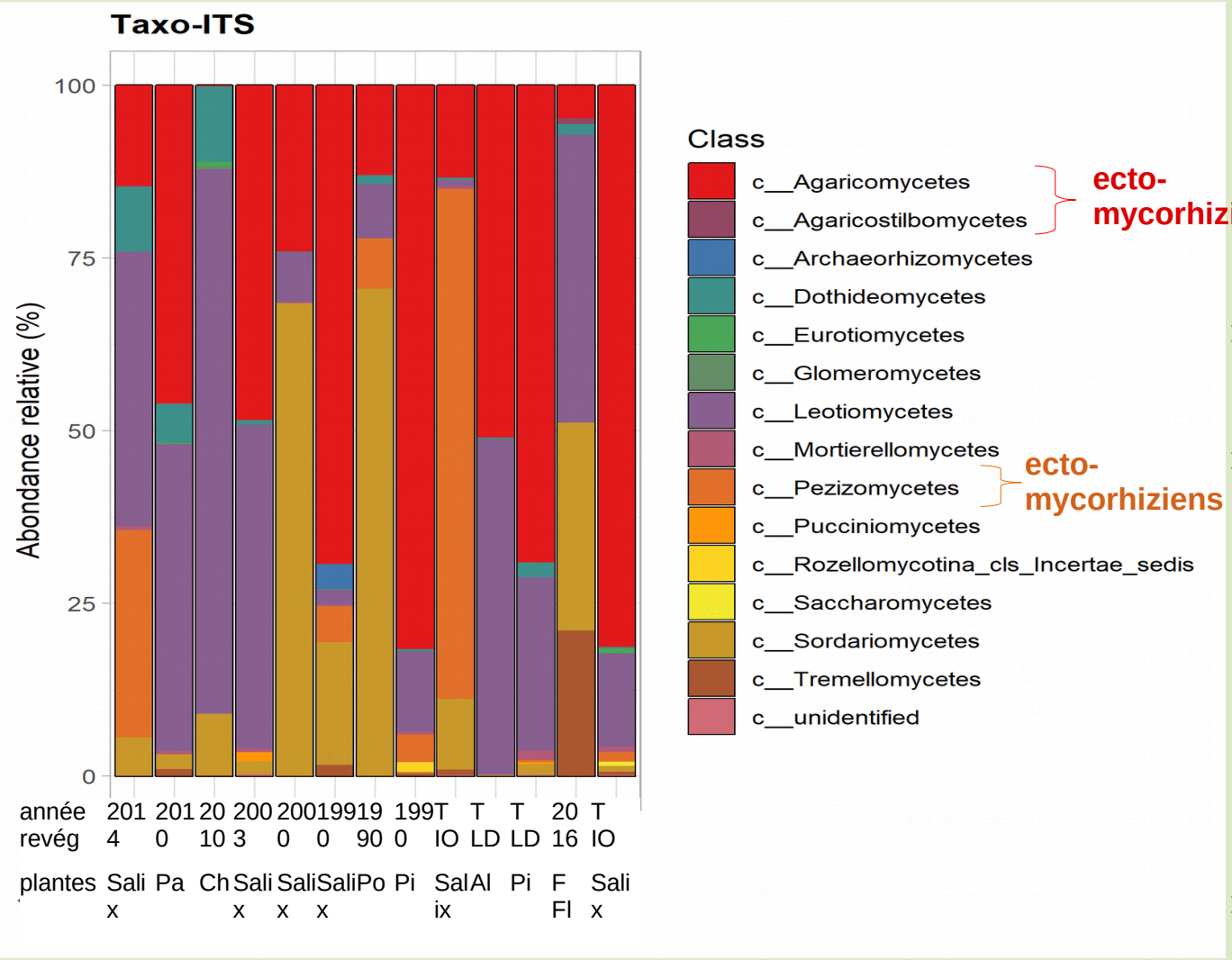


amplification région ITS 1 selon méthode McGuire *et al*. 2013

- **7 classes représentées**
- **faible proportion d'ectomycorhiziens**
- **très faible proportion de Gloméromycètes (2 séquences / 30 000)**

Juge *et al.* 2019b, in preparation

Résultats 2019 métagénomique ciblée : champignons totaux parcelles de la mine d'IOC (1990-2016)

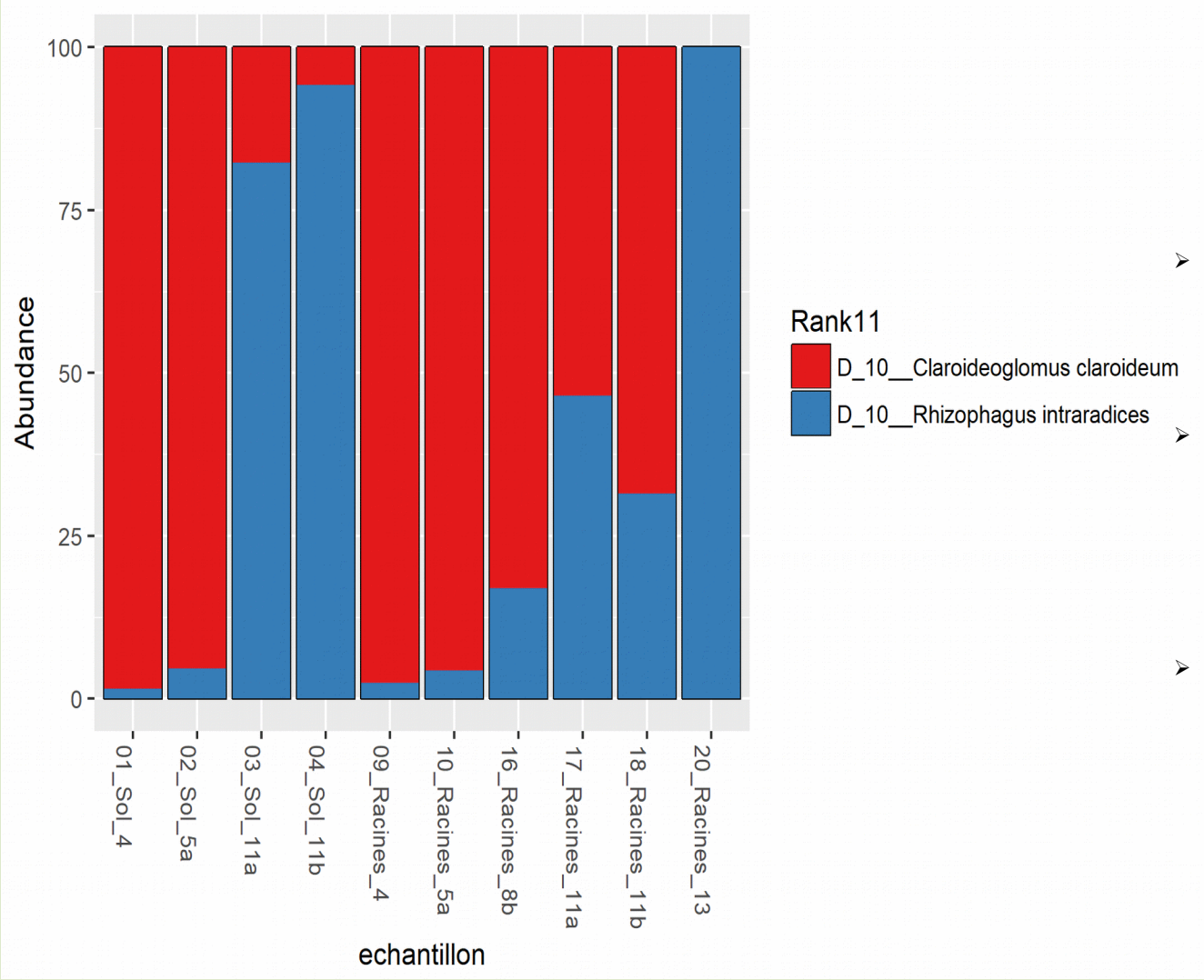


amplification région ITS 1 selon méthode McGuire *et al*. 2013

- **15 classes représentées**
- **bonne proportion de basidiomycètes et d'ascomycètes ectomycorhiziens dans parcelles les + anciennes et témoins**
- **gloméromycètes faiblement représentés**

Juge *et al.* 2019b, in preparation

Résultats métagénomique ciblée de 2018: CMA parcelles de végétalisation récente (2010-2014) mine AMEM



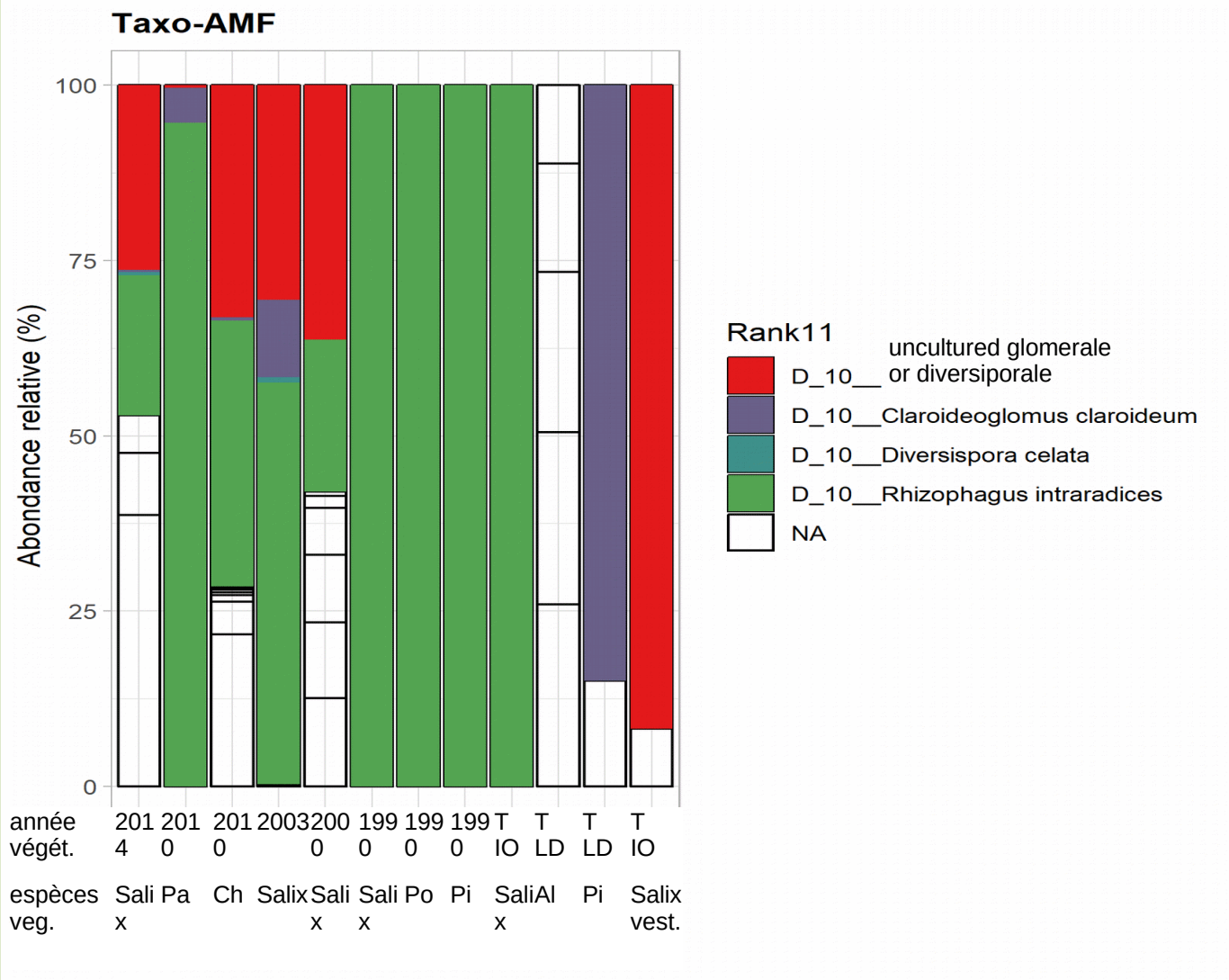
année	2014	2014	2010	2010	2014	2014	2013	2010	2010	2010
revég.										
plantes	Tr. F.	F.	F. Fl.	F. Fl.	F. Fl.	F.	F.	F. Fl.	F. Fl.	A. F.

amplification 18Sr ARN selon méthode Lumini *et al.* 2010

- **site 2014 (racines + sols):**
  C. claroideum 95-98%
- **site 2013 :**
  racines fétuque =
  C. claroideum 83%
- **site 2010:**
  - sols = *R. intraradices* 82-95%
  - roots = *C. claroideum* 55-70%
    + *R. intraradices* 30-45%
  - racines achillée =
    R. intraradices 100%

Juge *et al.* 2019b, in preparation

Résultats métagénomique ciblée de 2019: gloméromycètes parcelles mine IOC (végétalisation 1990-2014)



amplification 18Sr ARN selon méthode Lumini *et al.* 2010

- **sites 2000-2014**
  = *R. intraradices* + autres espèces
- **site 1990 et témoin IOC**
  = *R. intraradices* 100 %
- **site témoin IOC *S. vestita***
  = autre espèce
- **site témoin Lac Daviault forêt boréale**
  = *C. claroideum*

Conclusions : installation de la mycorhization sur les sites miniers végétalisés

- **mycorhization racinaire s'installe très rapidement sans aucun apport d'inoculants mycorhiziens**

- **cycle des CMA semble di-annuel en conditions nordiques**

- **faible diversité des espèces de CMA :**

  ***Claroideoglomus claroideum* semble majoritaire sur sites les + récents au Mont-Wright + associé aux herbacées de la forêt boréale voisine**

  ***Rhizophagus intraradices* majoritaire sur sites végétalisés les + anciens du Mont-Wright et d'IOC = semble plus résistant aux conditions du résidu minier**

Juge *et al.* 2019b, in preparation

2ème partie:
Végétalisation naturelle d'une halde minière

Photo drone Samuel Ouellette 22/06/2019

halde minière = zone d'accumulation de roches stériles issues de l'exploitation minière
=> pas d'érosion éolienne ≠ sites de résidus miniers
=> végétation capable de se réinstaller naturellement

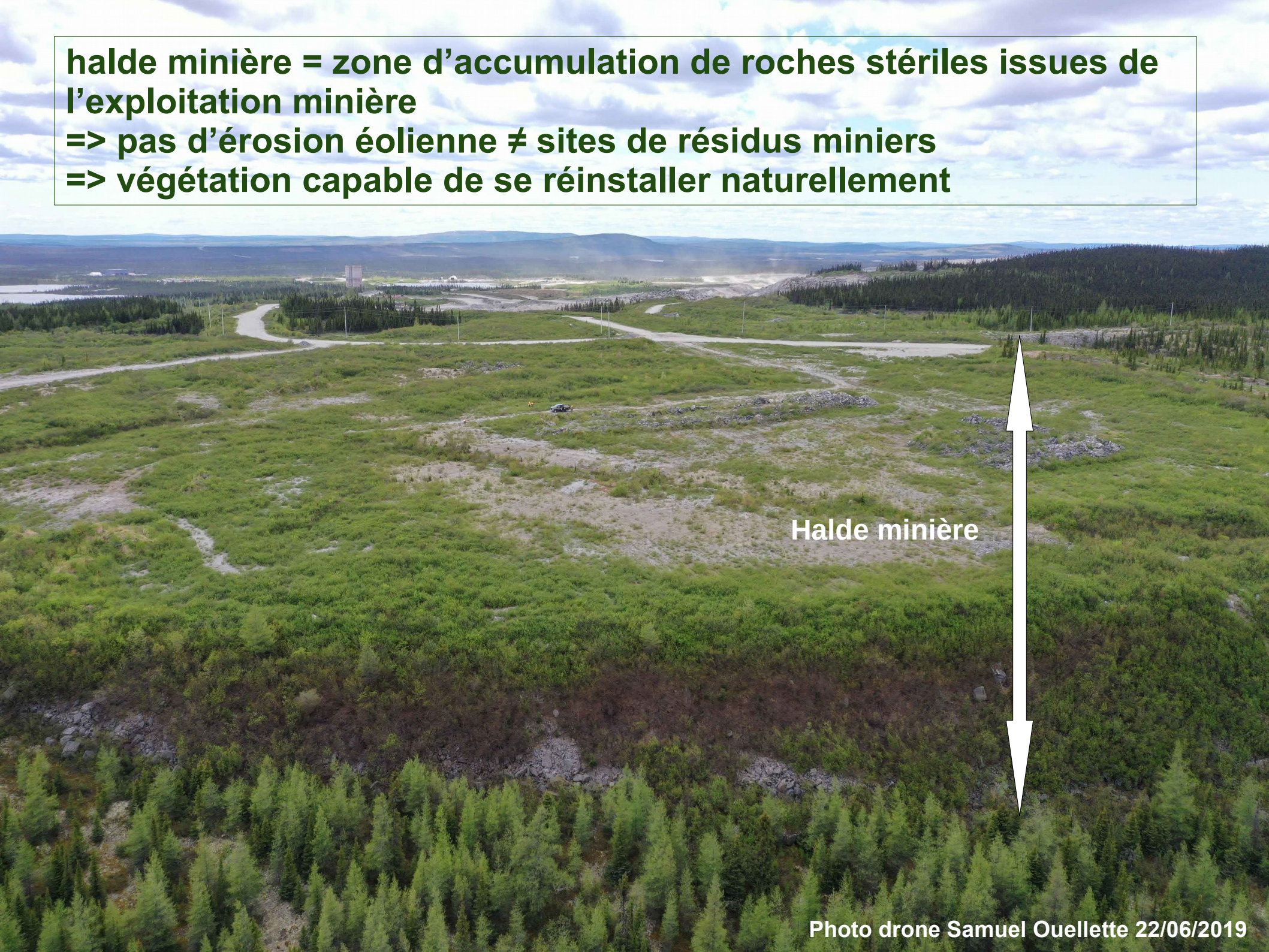


Photo drone Samuel Ouellette 22/06/2019

Évaluation environnementale de la halde 2 de la mine de Fire Lake = végétalisation naturelle depuis 35 ans

Localisation des points d'échantillonnage
Photo drone Samuel Ouellette 22/06/2019

À chaque point d'échantillonnage:1. inventaires floristiques

noms communs	noms latins	% recouvrement
Aulne crispé	*Alnus viridis subsp. crispa*	60
Saules	*Salix planifolia, discolor, bebbiana, argyrocarpa*	5
Épinette blanche et noire	*Picea glauca + mariana*	5
Lichens (dont lichens des rennes)	*Cladina rangiferina+ stellaris; Stereocaulon paschale; Cladonia deformis, Umbilicaria deusta*	10 à 50
Mousses	*N.D.**	10 à 20
Épilobe à feuilles étroites	*Chamerion angustifolium*	1
Mélèze	*Larix laricina*	2
Immortelle de Virginie	*Anaphalis margaritacea*	1
Graine rouge ou Airelle vigne d'Ida	*Vaccinium vitis-idaea*	1
Bleuet boréal + myrtille des marais	*Vaccinium boreale + uliginosum*	5 à 10
Thé du Labrador	*Rhododendron groenlandicum*	5 à 10
Kalmia à feuilles d'andromède	*Kalmia polyfolia*	1

2. Mise en évidence des symbioses racinaires

Apex ectomycorhiziens (e) et structures mycorhiziennes arbusculaires (a) sur racines de Saule au point d'échantillonnage 4

Mise en évidence des symbioses racinaires

Hyphes (h) et arbuscules (a) de champignons mycorhiziens arbusculaires dans racines colorées d'Épilobe et d'Immortelle au Point 3

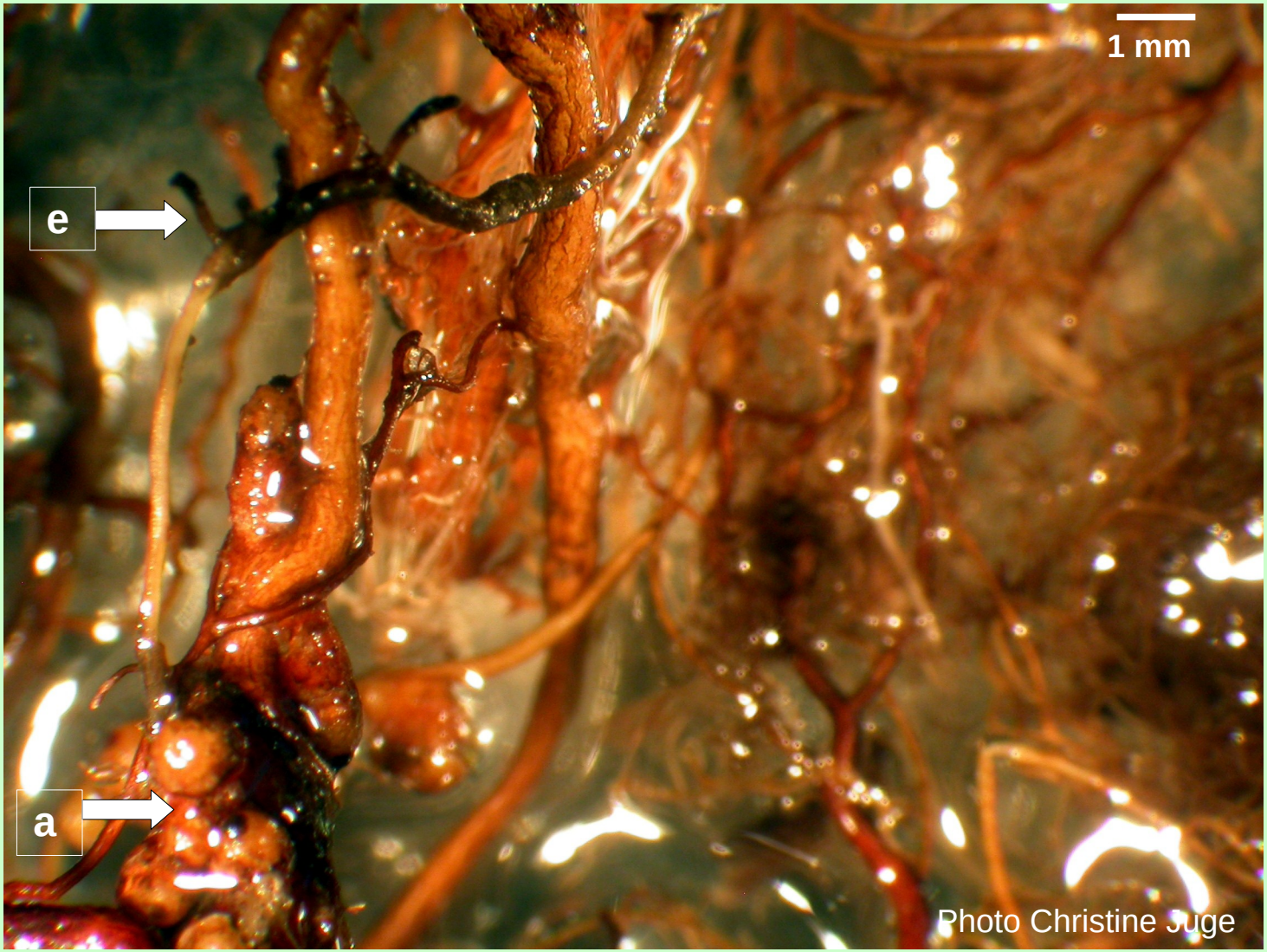
Mise en évidence des symbioses racinaires

Vésicules de champignons mycorhiziens arbusculaires dans racines colorées d'Immortelle au Point 4

Mise en évidence des symbioses racinaires

Grappe de nodules actinorhiziens fixateurs d'azote sur racine d'Aulne crispé au point d'échantillonnage 3

Mise en évidence des symbioses racinaires



Symbioses ectomycorhiziennes (e) et actinorhiziennes (a) chez l'Aulne crispé au Point d'échantillonnage 5

Mise en évidence des symbioses racinaires

Symbiose endomycorhizienne chez l'Aulne crispé au Point 5

Mise en évidence des symbioses racinaires

Hyphes et pelotons d'hyphes de la symbiose mycorhizienne éricoïde dans racines de bleuet boréal au Point 6

Conclusions: évaluation environnementale de la halde minière

Symbioses végétales racinaires bien présentes chez les plantes réinstallées naturellement :

- **actinorhizes, ecto- et endo-mycorhizes chez les aulnes rugueux largement majoritaires sur la halde 2**
- **symbiose éricoïde chez les 2 espèces de bleuets (*Vaccinium angustifolium* et *Vaccinium borealis*) et le thé du labrador**
- **symbiose ectomycorhizienne chez les saules, les mélèzes et les épinettes en émergence**
- **symbiose mycorhizienne arbusculaire chez les herbacées**

=> durabilité de l'écosystème anthropique
=> vitalité des plantes et du sol => pédogenèse en marche
=> successions végétales en marche sans aucun besoin d'intervention humaine

MERCI !
IRRIGATION NORCO INC.
irda
INSTITUT DE RECHERCHE
ET DE DÉVELOPPEMENT
EN AGROENVIRONNEMENT

Matériel et Méthodes: PCR ciblée des AMF

- **Extraction des ADN**

Kit commercial FastDNA Spin kit for Soil (MP Biomedicals)

- **Amplification**

Amplification spécifique des CMA (Simon *et al.,*1992)

- **Séquençage Sanger**

Plateforme de Séquençage et de Génotypage des Génomes (CRCHUL)

Juge *et al.* 2019b, in preparation

Métagénomique ciblée : Matériel et Méthodes

- **Amplification PCR**
  - Champignons totaux sur la région ITS1 (McGuire *et al.* 2013)
  - Groupes mycorhiziens (18Sr ARN) (Lumini *et al.* 2010)

- **Séquençage haut débit (IBIS-Ulaval)**

Séquençage avec stratégie 2X300 sur MiSeq (Illumina)

- **Traitement bio-informatique**

Sur Qiime2 (Caporaso *et al.* 2011) en utilisant les bases de références UNITE (Koljalg *et al.* 2013) et SILVA119 (Quast *et al*. 2013)

Juge *et al.* 2019b, in preparation

Conclusions : analyse métagénomique des AMF sur les sites miniers végétalisés

- **Gloméromycètes = proportion très faible / autres classes de champignons**

- **Faible diversité des espèces d'AMF dans les sites naturels et végétalisés**
  2 principales sur les sites végétalisés = *C. Claroideum* et *R. intraradices*
  conforme aux résultats de la PCR ciblée des AMF

- **Répartition des espèces d'AMF sur le site du Mont-Wright:**
  - *C. claroideum* : majoritaire sur sites récemment végétalisés;
  - *R. intraradices* : proportion ↑ avec les années :
  17% sur le site de 2013, jusqu'à 95% dans les sols rhizosphériques végétalisés en 2010, 100% dans les racines d'Achillée millefeuille (espèce spontanée)

- **Répartition des espèces d'AMF sur le site d'IOC:**
  - 100 % *R. intraradices* sur site végétalisé en 1990 et site IOC témoin
  - 100 % *C. claroideum* sur racines de *Picea mariana* sur site naturel voisin
  - mélange d'espèces sur sites végétalisés de 2000 à 2014

Juge *et al.* 2019b, in preparation

Discussion

- **<u>successions végétales</u> : évolution des espèces vers le climax de la forêt boréale jusqu'à *Picea mariana* (Young *et al*. 2013, mine végétalisée du Manitoba abandonnée en 1943)**
  => approche agronomique de végétalisation minière : appropriée dans un contexte nordique

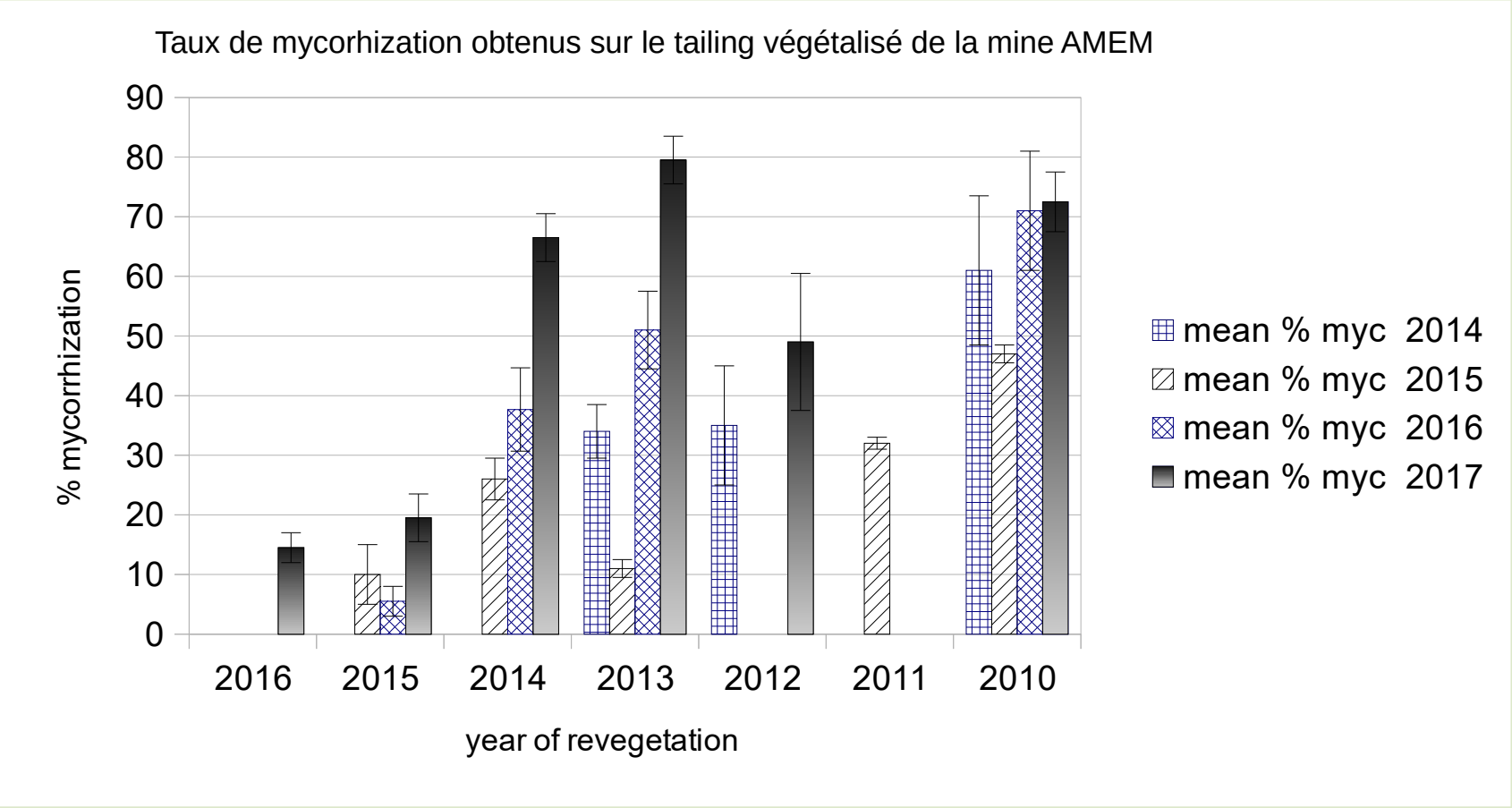
- **<u>installation de la mycorhization racinaire</u>: favorable et rapide dans le cas des mines à ciel ouvert (Allen and Allen, 1980; Frost *et al.* 2001), plus lente sur les tailings de mines de charbon (Gould *et al*., 1996), et très difficile sur les sites miniers à drainage acide (Straker *et al*., 2008)**

- **<u>protocoles pour l'installation des CMA</u>: en cas d'inoculation, les espèces locales sont les plus favorables (Orlowska *et al*. 2011).**

- **<u>diversité des espèces de CMA sur les sites de résidus miniers</u>: *Glomus* = genre le + fréquent; les 2 espèces *C. claroideum* et *R. intraradices* ont été identifiées sur des tailings de mines de fer (Noyd *et al.*, 1996)**

Juge *et al.* 2019b, in preparation

Résultats tailing végétalisé du Mont-Wright: évolution des taux de mycorhization



- **taux de mycorhization généralement très bons (≥ 50%) à partir de la 3ème année post-végétalisation**

Juge *et al.* 2019b, in preparation

Analyses de taxonomie moléculaire des champignons totaux et des CMA

- **2018 : Mont-Wright** – 20 échantillons de racines mycorhizées sur parcelles végétalisées de 2010 à 2017
  + 4 échantillons de sol rhizosphérique

- **2019 : IOC** – 15 échantillons de racines mycorhizées prélevées en 2018 sur 5 parcelles végétalisées de 1990 à 2014 sur la mine d'IOC

1ère étape (2018): PCR ciblée (Glomeromycota)

Métagénomique ciblée sur Illumina MiSeq (2018 et 2019) :

- 2018 : sur 10 échantillons d'intérêt, selon les résultats de la 1ère étape – 2 X 300pb, 1 cible (champignons ITS)
- 2019 : sur les15 échantillons racinaires des parcelles d'IOC

Juge *et al.* 2019b, in preparation