



Une technique simple et peu coûteuse pour démarrer des cultures monosporales de culture des champignons mycorhiziens arbusculaires en utilisant un polymère superabsorbant

Louis Paré ¹, **Franck Stefani** ²,
Louis Bernier ¹, **Chantal Hamel** ³ **Claudia Banchini** ²

¹ Université Laval

² Agriculture et Agroalimentaire Canada

³ Agriculture et Agroalimentaire Canada (Chercheuse aujourd'hui retraitée)

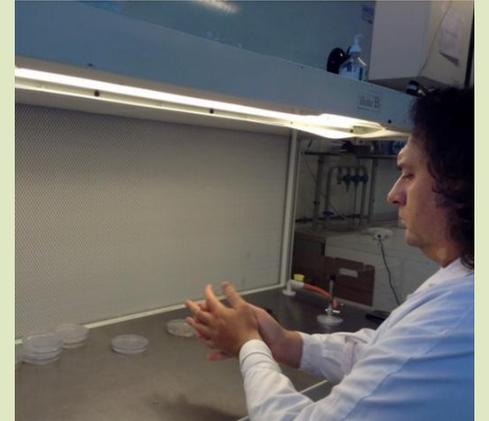


CONGRÈS
MYCÉLIUM

MYCELIUM
CONGRESS

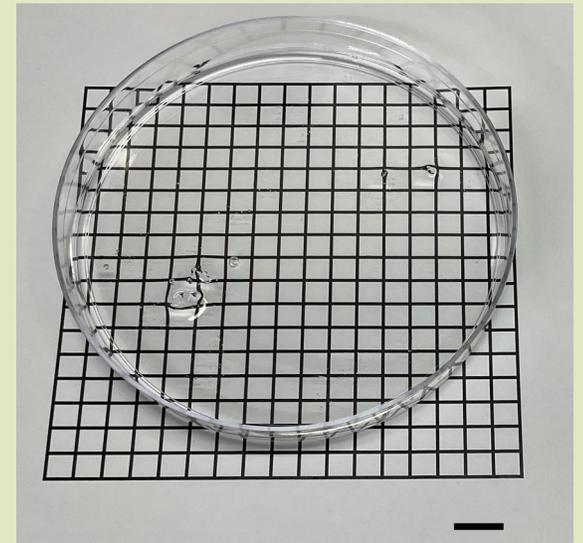
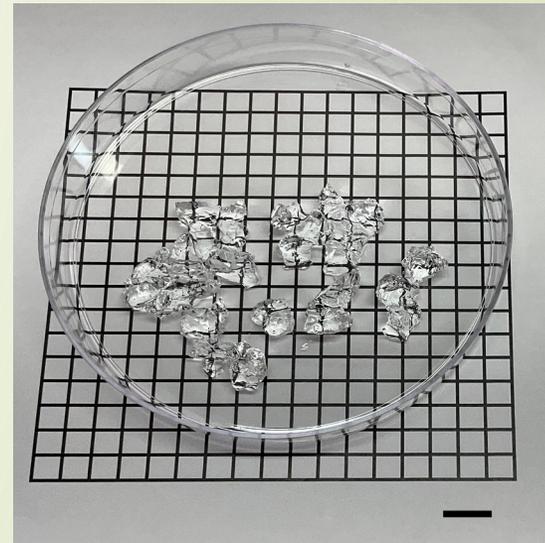
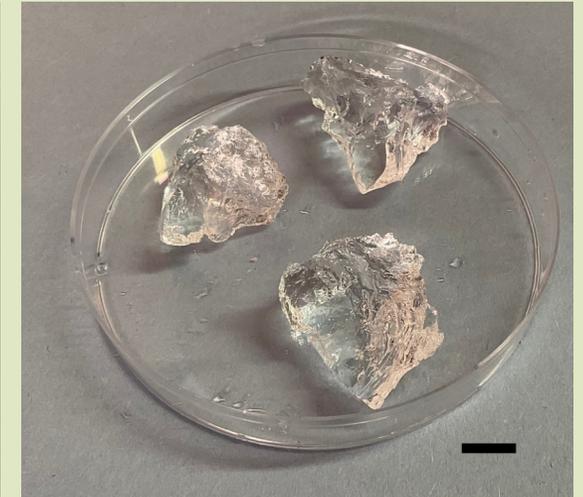
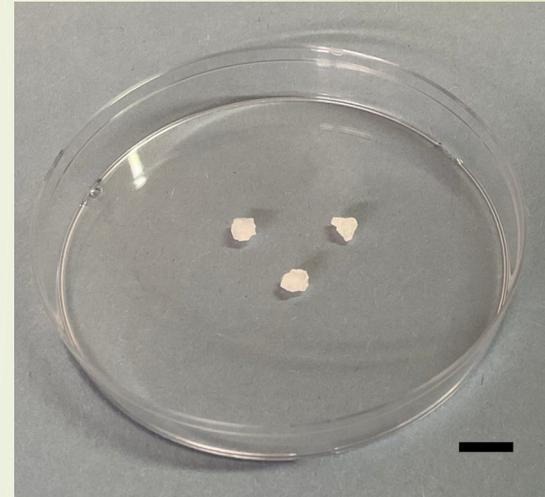
Objectifs du projet de recherche:

- ▢ La culture *in vitro* (Fortin et al.) avec des racines génétiquement modifiées est techniquement difficile et ne fonctionne bien qu'avec un nombre limité d'espèces de CMA;
- ▢ Plusieurs espèces de CMA ne peuvent être cultivées que sur une plante entière dans un pot avec du sol;
 - ▢ La relation entre le champignon et la plante est invisible dans le pot,
 - ▢ Les facteurs de croissance sont difficiles à gérer précisément dans un pot,
- ▢ Objectif: **Trouver une solution**
- ▢ **A) Techniquement facile à mettre en œuvre**
- ▢ **B) Transparente comme la culture in vitro**
- ▢ **C) Compatible avec plusieurs espèces de CMA.**



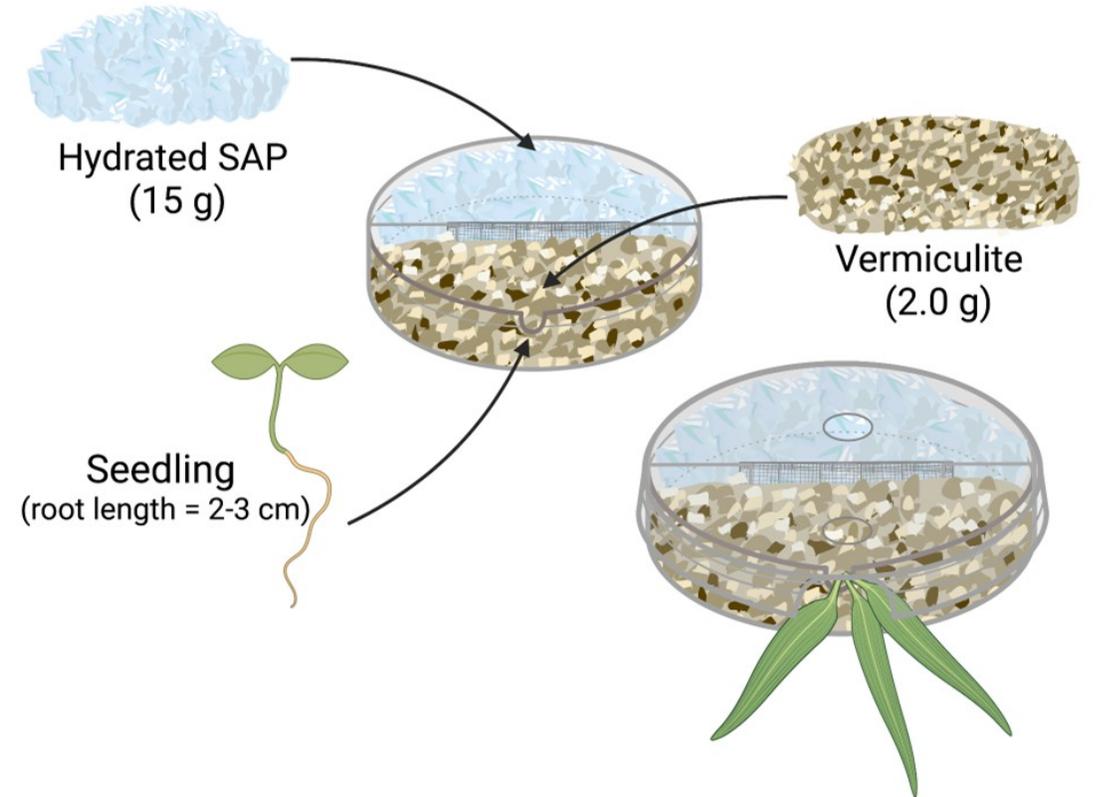
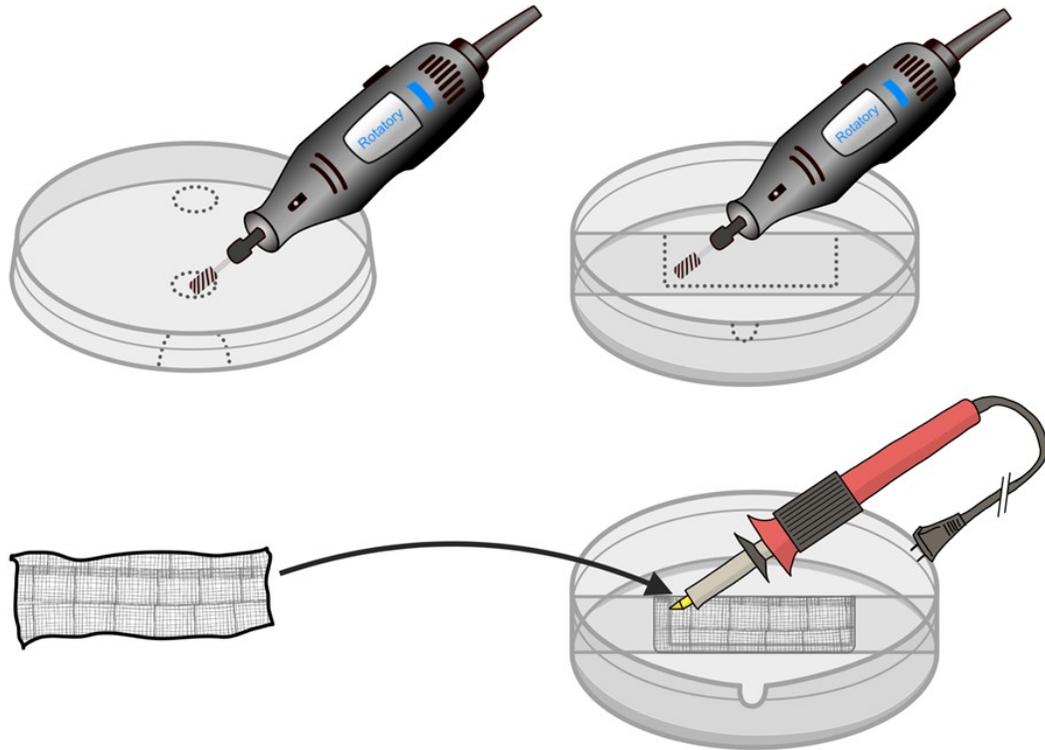
L'ingrédient-clé = Polymère « superabsorbant »

- Compatible avec la symbiose mycorhizienne (la plante et le champignon)
- Peu de carbone disponible, ce qui réduit fortement la sensibilité aux bactéries et autres contaminants
- Transparent
- Facile et sécuritaire à manipuler
- Économique



Le dispositif

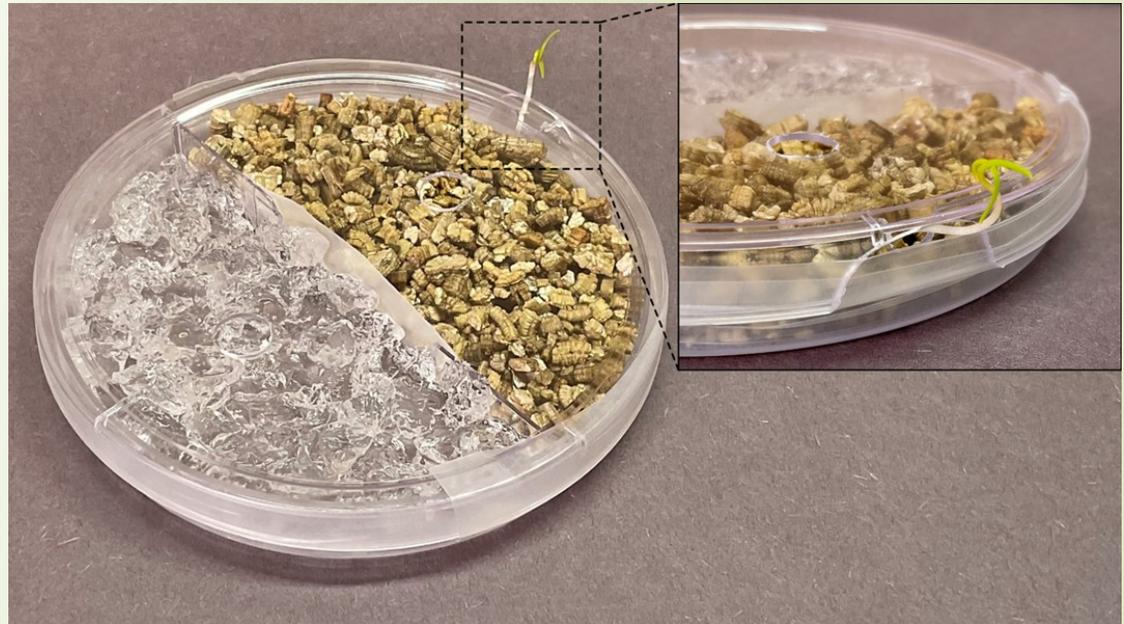
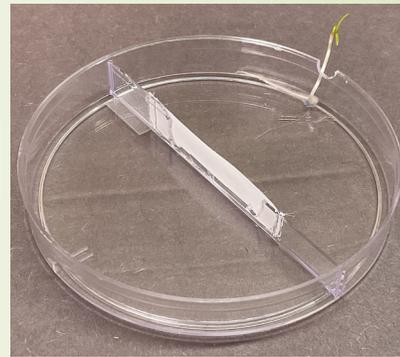
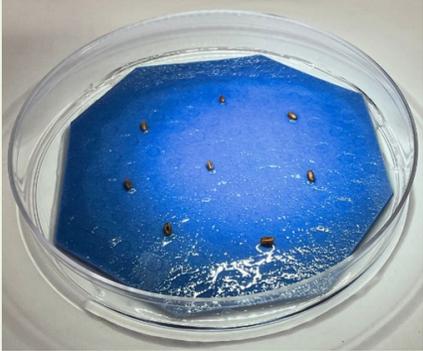
3



La solution hydratante/nutritive utilisée est le « minimal Medium », publié par Bécard et Fortin, Early events of vesicular-arbuscular mycorrhiza formation on Ri T-DNA transformed roots, 1988, dont on a omis le sucre, les vitamines et l'agar. Rien n'a été stérilisé dans nos essais.

3

Le dispositif, avec la plante *Plantago lanceolata*



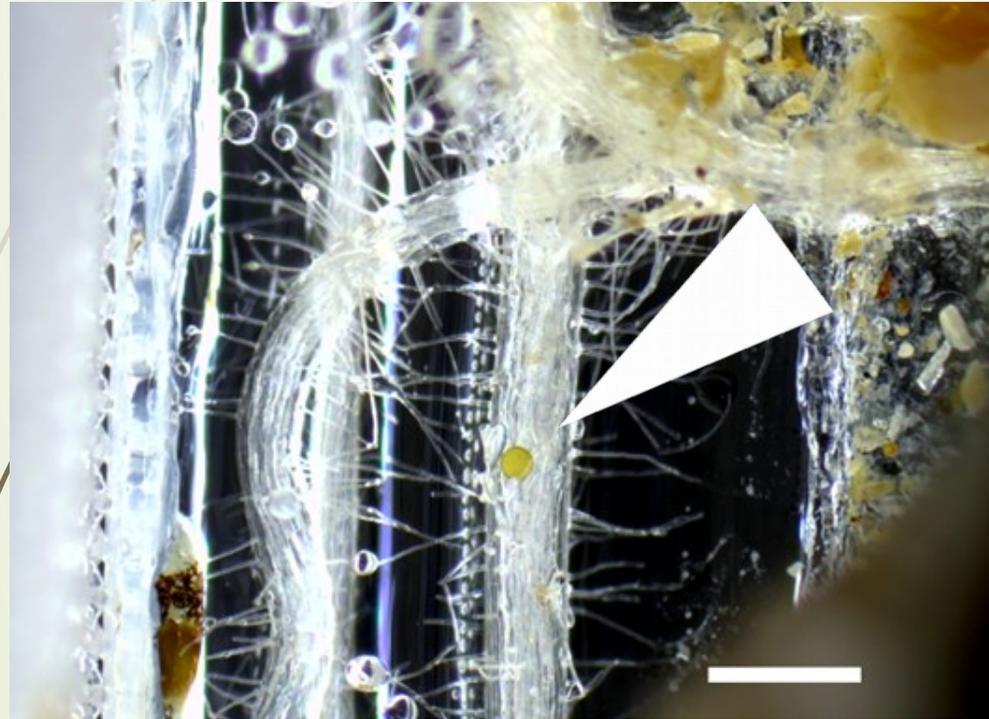
3

Croissance, en maintenant les racines dans l'obscurité.

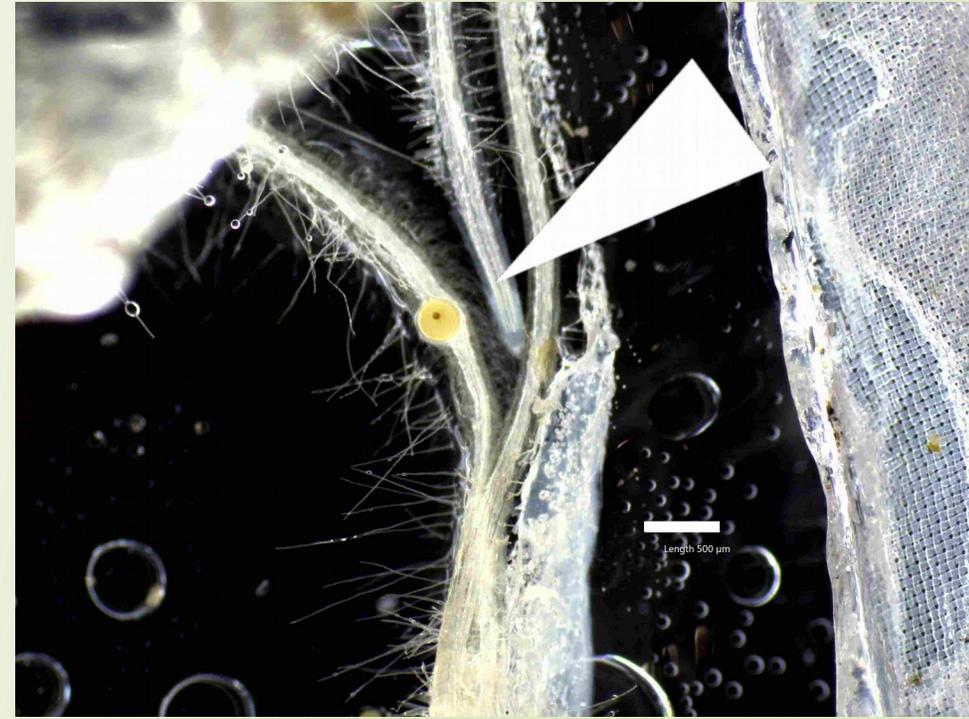


4

Inoculation monosporale, côté vermiculite, près de la membrane, là où se développeront les racines.



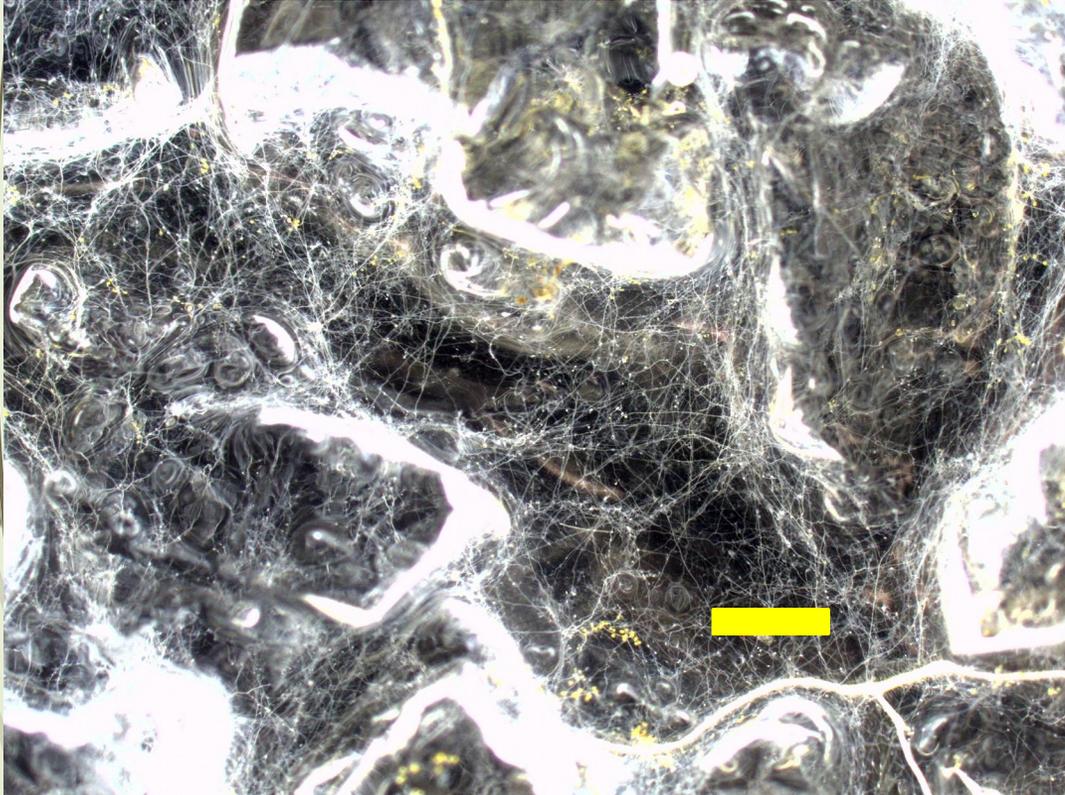
Rhizophagus irregularis
Échelle = 500 μ m



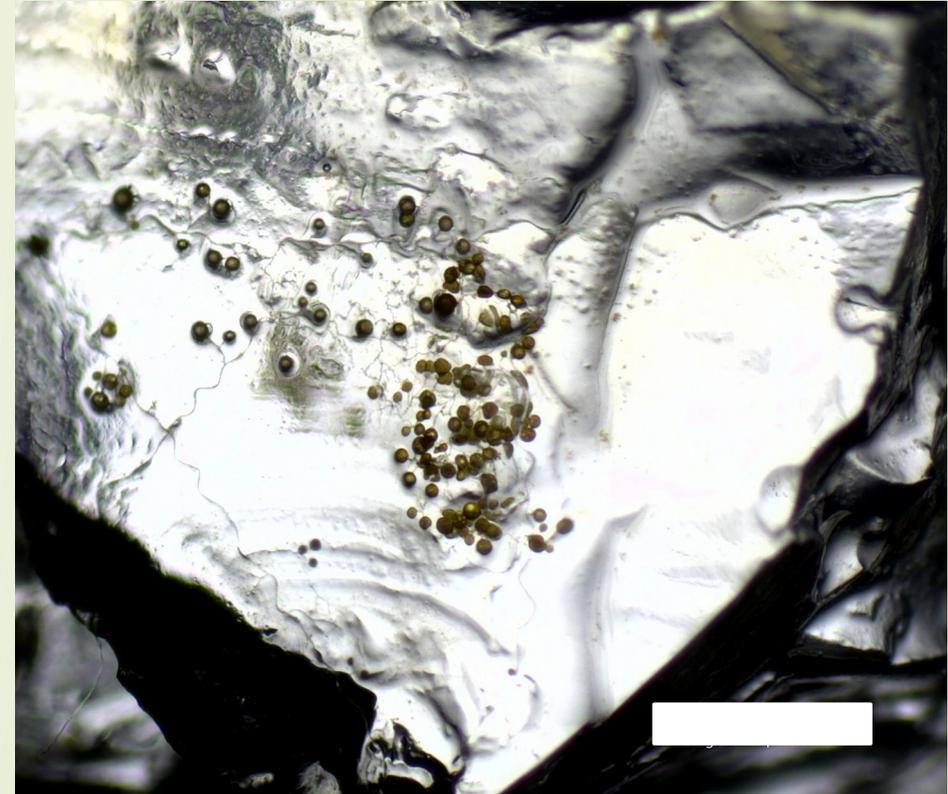
Gigaspora rosae
Échelle = 500 μ m

5

Résultats de colonisation, observés sans perturbation



Échelle = 2000 μm

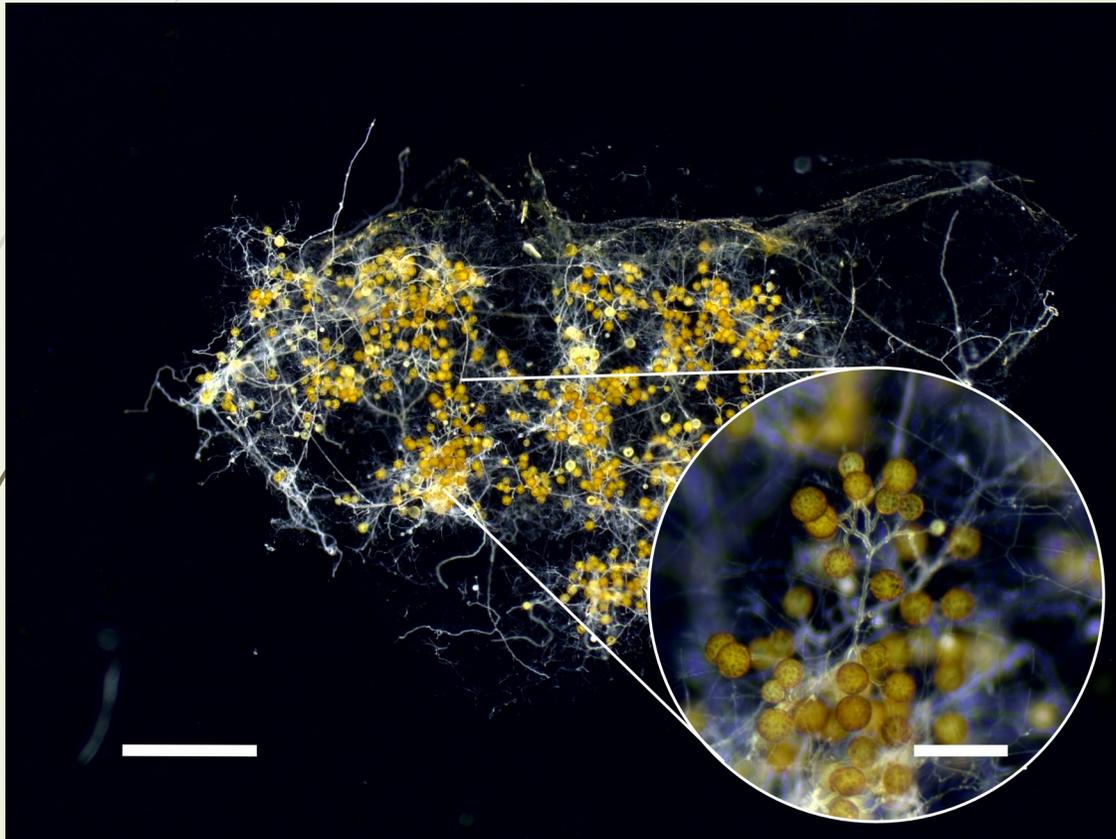


Échelle = 1000 μm

Rhizophagus irregularis: Dense réseau d'hyphes, des spores dans les grains de polymère

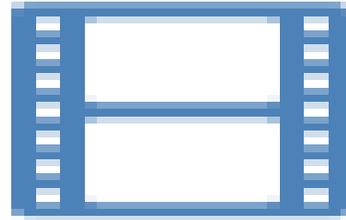
5

R. irregularis, plusieurs centaines de spores à l'intérieur d'un seul grain de polymère



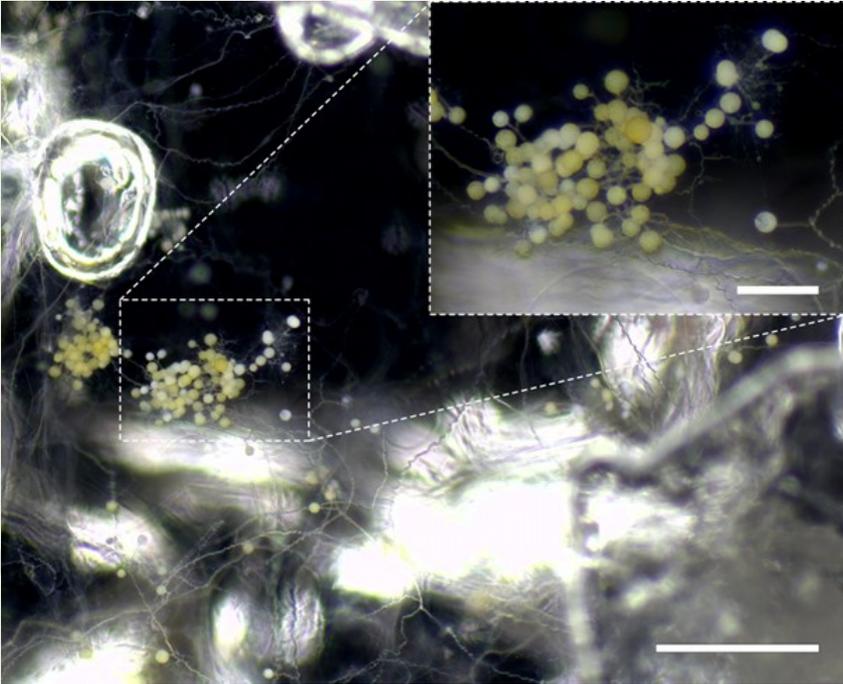
Échelle: 1000 μm et 200 μm

Circulation dans un hyphe de *R. irregularis* observé sans perturbation, après irrigation.

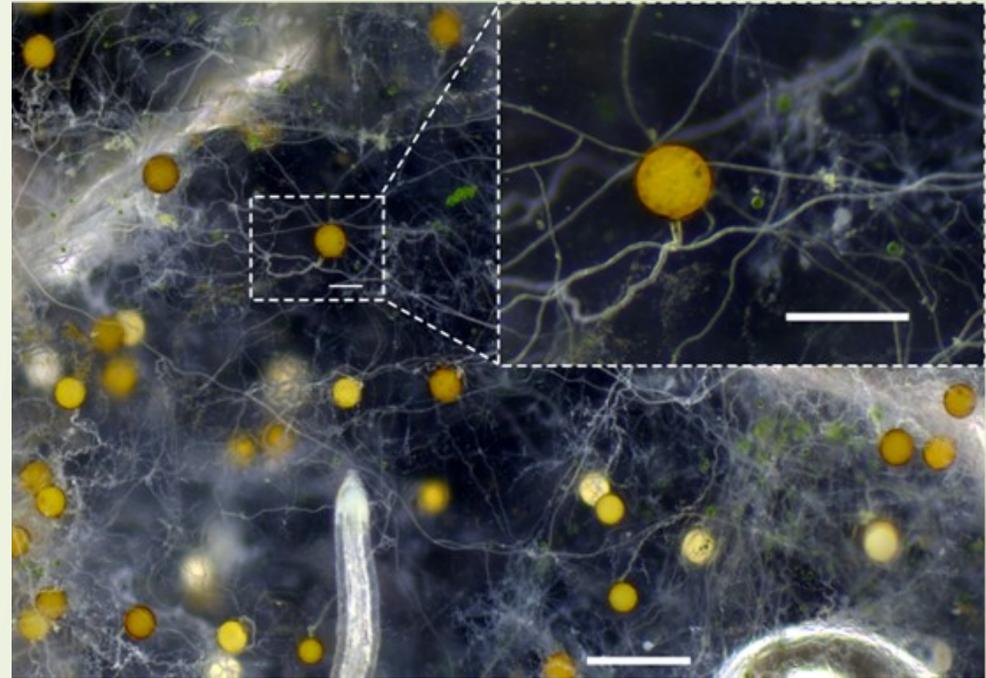


5

Résultats, dans le polymère



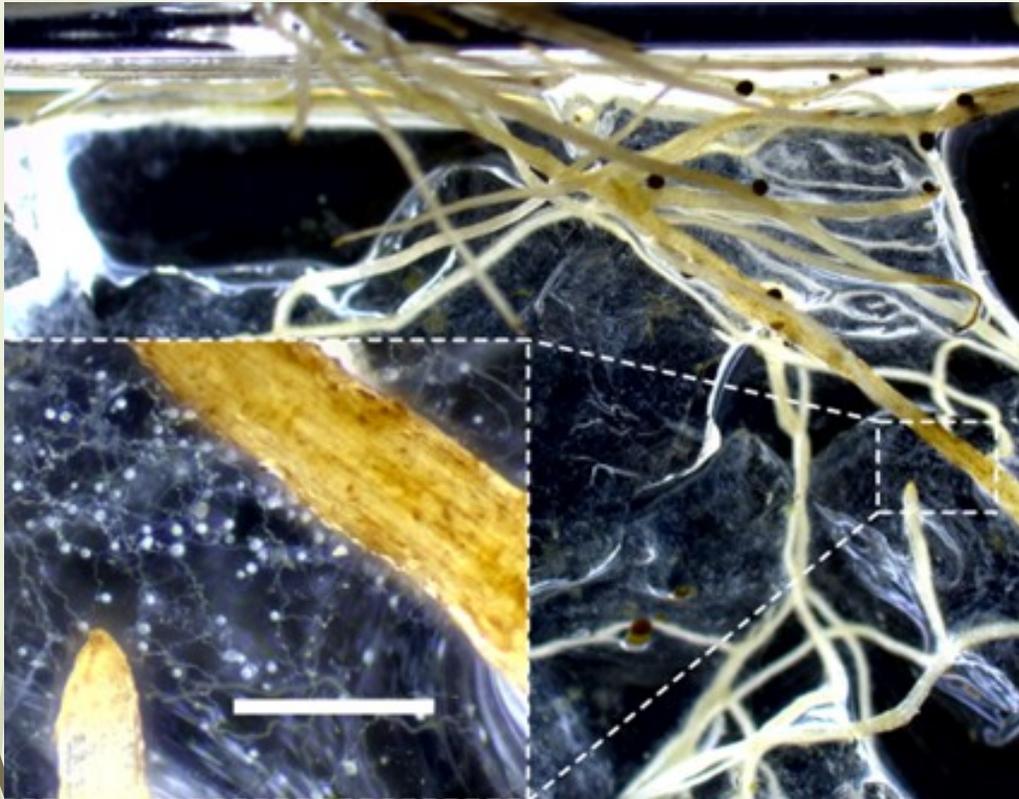
Rhizophagus intraradices,
Échelle = 1000 et 250 μm



Funneliformis geosporum
Échelle = 500 et 250 μm

5

Résultats, *Sclerocystis* sp.



Échelle blanche = 500 μ m

Dans le polymère

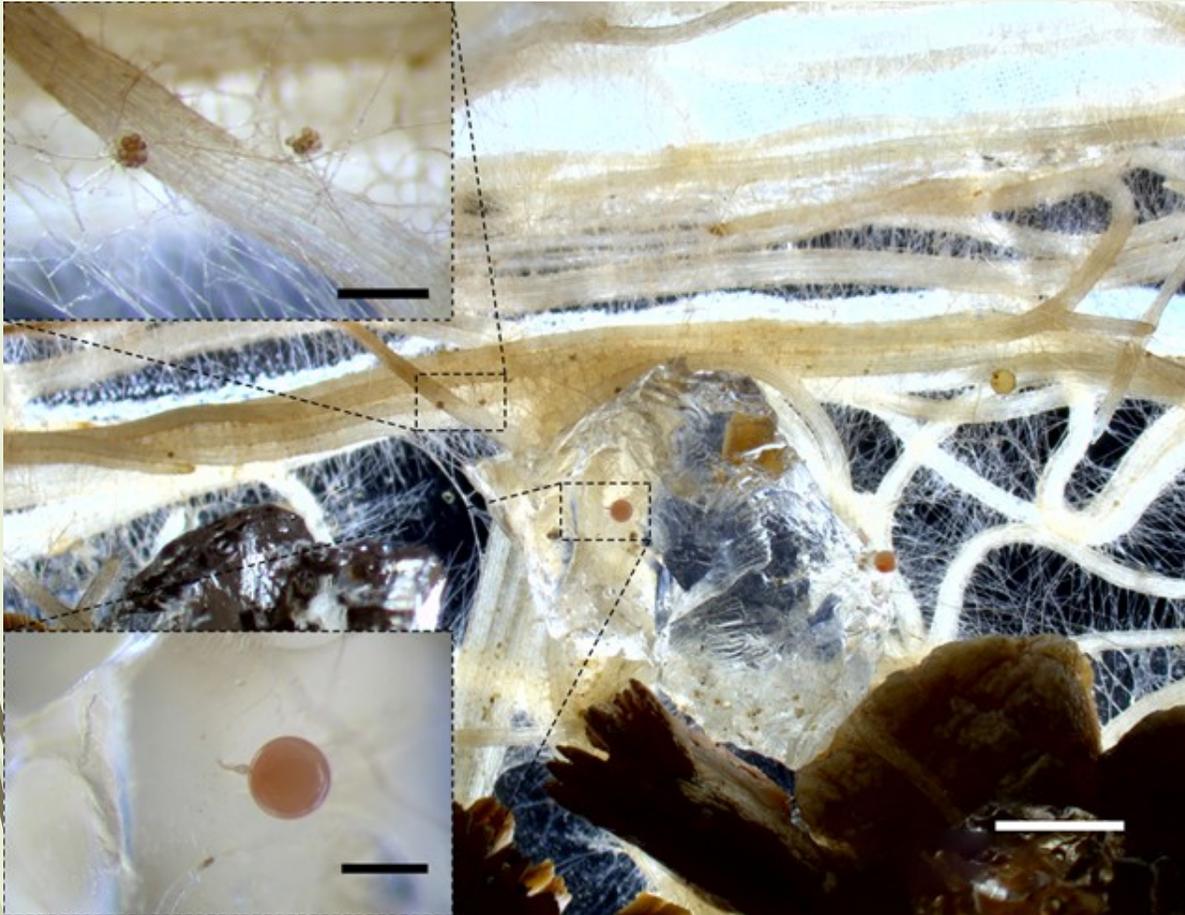


Échelle noire = 500 μ m

Sur la vermiculite

5

Gigaspora rosae, spores et cellules auxiliaires

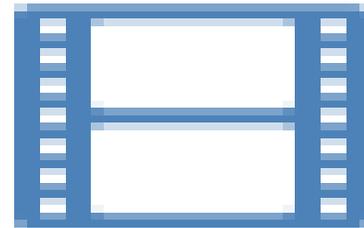


Échelle 100 μm

Échelle blanche = 2000 μm et noire = 250 μm

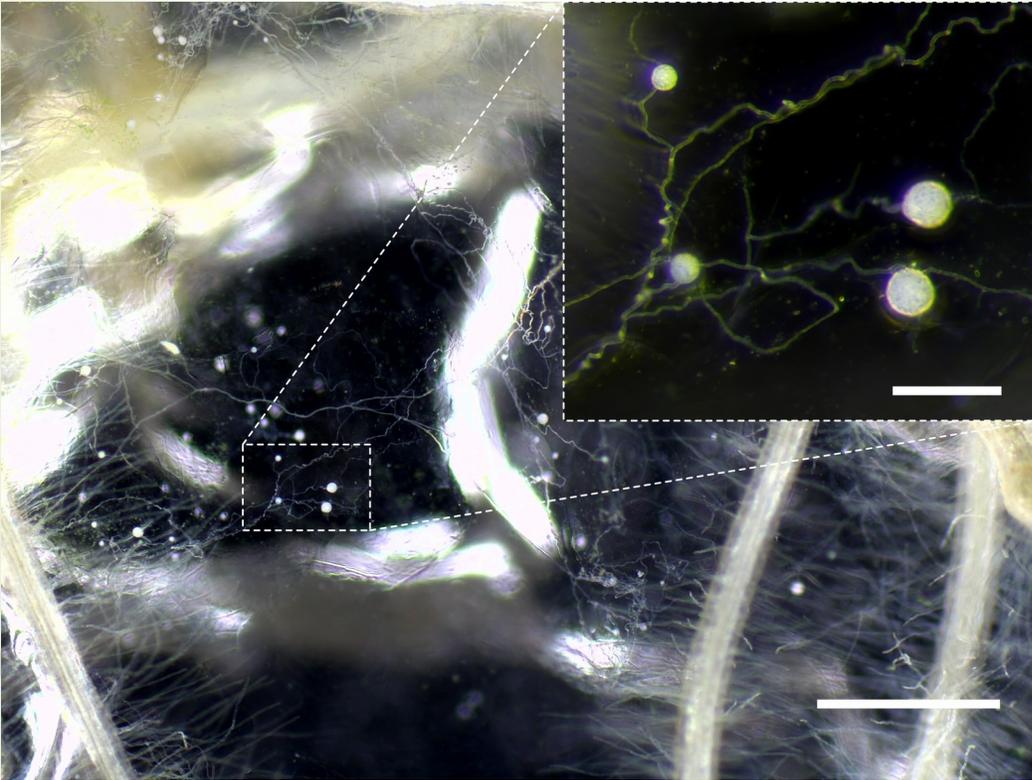
Circulation dans un hyphe de *Gigaspora rosae*

5

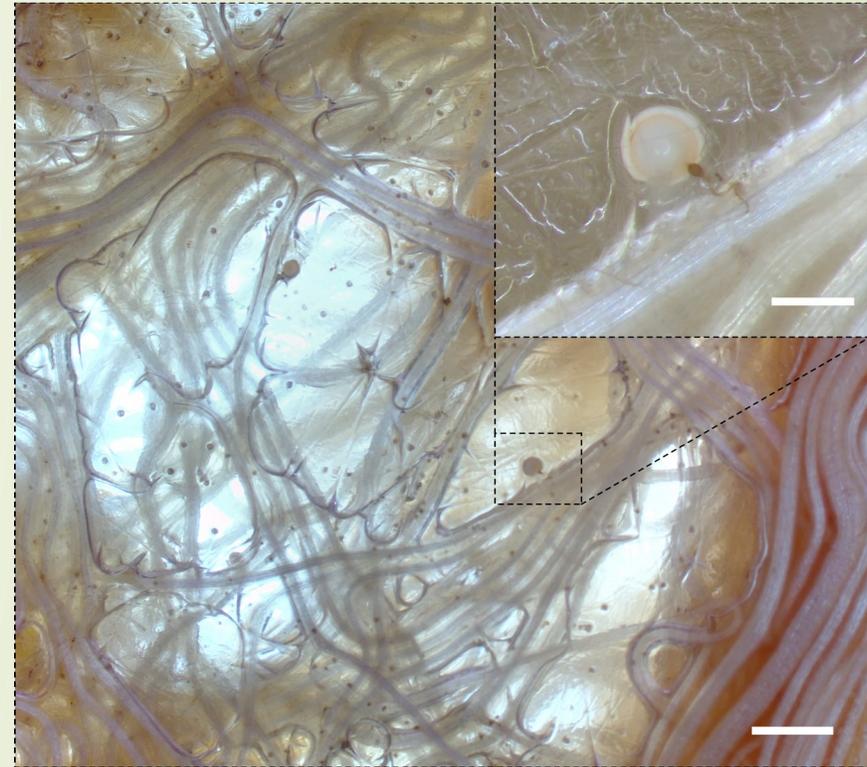


D'autres espèces...

5



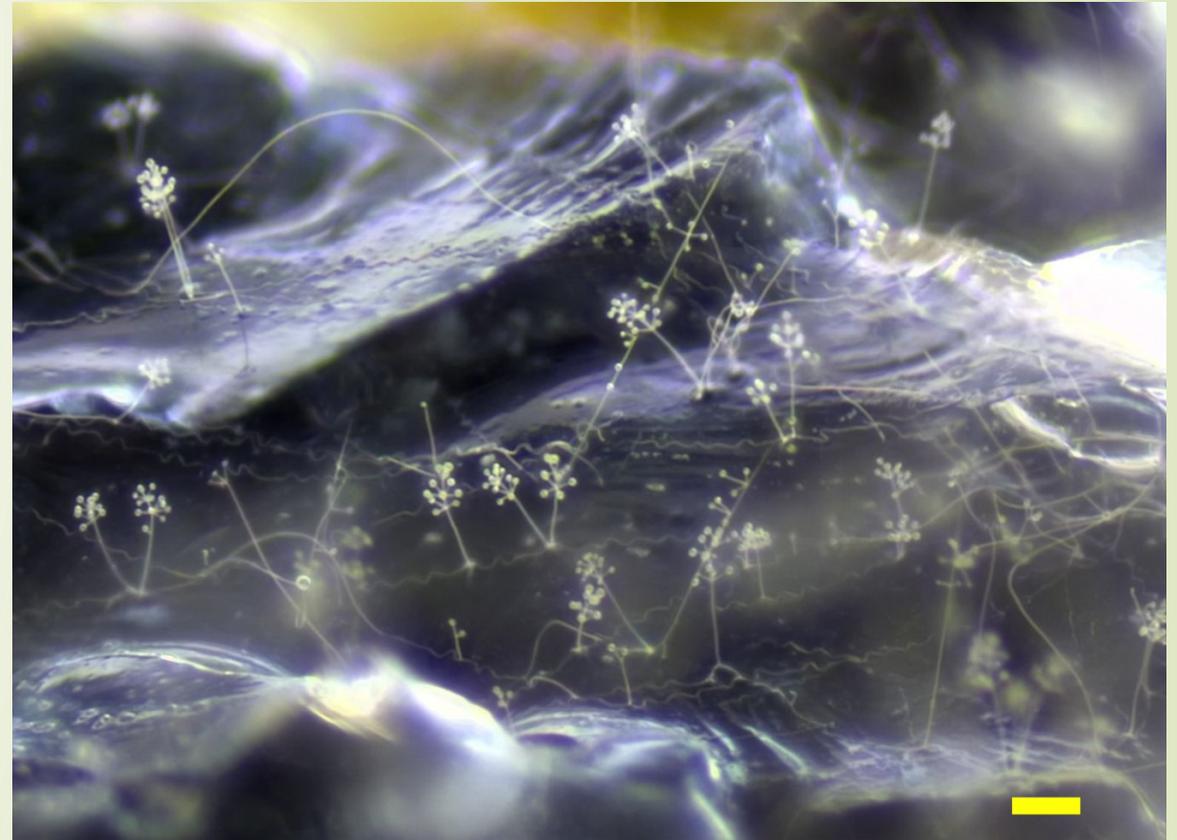
Diversispora varaderana, Échelles
1000 μm et 125 μm



Racocetra fulgida, Échelles= 1000
et 250 μm

Culture en conditions non stérile

- ▮ Présence de micro-organismes, comme dans la nature.
- ▮ Carbone/Énergie limité = croissance très limitée
- ▮ Contrôle des algues par l'obscurité sur les racines (utilisation de la vermiculite)



Micro-organisme non identifié
Échelle = 100 μm

Flexibilité du système de culture

6



Daucus carota, dispositif à quatre compartiments



P. lanceolata, dispositif à deux boîtes de Petris imbriqués

Flexibilité du système de culture (Leçons de plus de 200 essais)

6

- ❑ Différents fournisseurs de polymère/solution nutritives. Résultats= très bon à mauvais
- ❑ Différentes plantes-hôtes: Résultats= très bon à mauvais
- ❑ Différents dispositifs: Résultats= très bon à mauvais
- ❑ Il existe donc des millions de combinaisons de Plante/CMA/Polymère/Solution nutritive/Dispositif. Nous ne les avons pas toutes essayées !!!



Éprouvette =
insatisfaisant

Perspectives futures

- ▢ Grand nombre d'espèce de CMA et de plantes à tester
- ▢ Différentes réponses des différents CMA au milieu, (vermiculite et polymère)
- ▢ Étudier les interactions de plusieurs CMA entre eux, dans une même boîte de Petri
- ▢ Faisabilité d'introduire des bactéries sélectionnées ?
- ▢ Solution nutritive différentes selon les espèces de CMA ?
- ▢ Etc.

En conclusion

- **Protocole facile à mettre en œuvre, ne requiert pas la stérilité**
- **Transparence qui permet l'observation en temps réel et en continu, sans perturbation**
- **Permet la culture de plusieurs espèces de CMA**
- **Aucun produit dangereux à manipuler**
- **Ingrédients peu coûteux**
- **Nombreuses possibilités de recherche la portée des laboratoires les plus modestes**

Détails techniques disponibles sur la thèse de maîtrise de Louis Paré (UL) et/ou dans la revue Symbiosis à:

<https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s13199-022-00878-5.pdf>.



Remerciements chaleureux car cette recherche a été un gros travail d'équipe:

- ▣ Chantal Hamel, Franck Stefani et Agriculture et Agroalimentaire Canada
- ▣ Louis Bernier, Université Laval
- ▣ Martin Trépanier et Premier Tech
- ▣ L'équipe du CRD de Ste-Foy et du CCMA de Ottawa(AAC)
- ▣ Jean-Guy Catford et André Gagné (Université Laval)
- ▣ Chantal Fily (mon épouse)
- ▣ Et plusieurs autres...

Période de questions

9

