

Des tomates mycorhizées dès la pépinière pour favoriser la nutrition et la protection des plantes : développement d'un dispositif-pilote

Philippe Julianus¹, Benjamin Perrin², Marie Chave¹

Résumé. Valoriser les mycorhizes est une alternative potentielle à l'utilisation d'engrais et de produits phytosanitaires. Nous avons conçu un dispositif-pilote basé sur deux étapes : une étape de piégeage et de multiplication de champignons mycorhiziens à arbuscules indigènes et une étape de mycorhization des plants de tomates par « effet-donneur ». Nous avons montré que ce dispositif-pilote permet de la mycorhization des tomates avant leur transplantation au champ. L'objectif est que ce dispositif soit utilisable, à terme, par les pépiniéristes et les agriculteurs qui produisent des plants maraîchers sur leur exploitation.

Mots-clés : agroécologie, mycorhize, maraîchage, biostimulant, conception innovante

Abstract. Valorizing mycorrhizae is a potential alternative to the use of fertilizers and pesticides. We designed a pilot device based on two steps: a step of trapping and multiplying native arbuscular mycorrhizal fungi and a step of mycorrhization of tomato plants by "donor effect". We have shown that this pilot device allows tomatoes mycorrhization before being transplanted into the field. The objective is that this system will eventually be usable by nurserymen and farmers who produce market gardening plants on their farms.

Keywords: agroecology, mycorrhizae, market gardening, biostimulant, innovative design

Introduction

Aujourd'hui l'agriculture conventionnelle n'inspire plus confiance aux consommateurs, en grande partie à cause des différents scandales liés à l'utilisation des pesticides dans le milieu agricole. Cela est particulièrement vrai dans les Antilles françaises (cf. crise du Chlordécone, un insecticide persistant, présent pour des siècles dans les sols). Une des alternatives à l'usage des pesticides est l'agroécologie qui assure, à travers la mobilisation des régulations naturelles, une transition vers une agriculture propre et durable.

Dans l'unité de recherche ASTRO (AgroSystèmes TROPicaux) de l'Inra Antilles-Guyane, notre laboratoire d'écologie des sols étudie en particulier la valorisation des mycorhizes. Ce sont des symbioses entre les racines des plantes et des Champignons Mycorhiziens à Arbuscules (CMA). Les CMA sont des microorganismes omniprésents dans les sols mais leur développement dépend de la capacité d'association symbiotique des espèces végétales cultivées et des pratiques agricoles. Ils apportent aux plantes de nombreux bénéfices en termes de nutrition et de protection des plantes. En se propageant sous forme de filaments (ou hyphes) mycéliens, ils permettent, en effet, un meilleur accès à différents éléments nutritifs (N, P, etc.) et une meilleure résistance aux attaques par les agents pathogènes. Nous avons ainsi développé une technique qui consiste à prémycorhizer des plants avant de les transplanter en plein champ. Le dispositif s'appuie sur les interactions biotiques complexes entre les racines des plantes et les filaments des CMA. Il s'agit, dans un premier temps, de placer des spores, ou fragments de racines mycorhizés, dans un réservoir contenant des plantes mycorhizotrophes afin de multiplier les CMA indigènes, naturellement présents dans le sol et donc adaptés aux

¹ ASTRO (UR 1321), Inra, 97170 Petit-Bourg (Guadeloupe), France

² Domaine expérimental Alénia Roussillon, Univ. Montpellier, Inra, 66200 Alénia, France

conditions pédoclimatiques locales. Dans un deuxième temps, ces plantes mycorhizotrophes dites « donneuses » sont associées à des plantes « receveuses » pour faciliter leur colonisation. Cette approche développée *in vitro* par Voets et al. (2009) a été validée *in situ* en Martinique et en Guyane (Chave 2015 ; Chave et al. 2018). L'effet dit « donneur » permet une colonisation plus rapide et importante des plantes receveuses, via le réseau mycorhizien (Brigido et al. 2017). C'est dans ce cadre que nous avons conduit une expérimentation sur des plants de tomates à prémycorhizer. Notre objectif : évaluer et optimiser le dispositif de mycorhization précoce pour la bio-protection de plants de tomate, culture majeure aux Antilles comme dans de nombreuses régions du monde. Cette expérimentation a consisté à mettre en place deux bacs-prototypes pour initier la mycorhization de la tomate avant de la repiquer en plein champ.

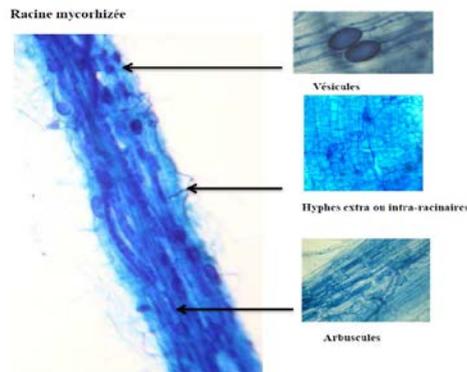


Figure 1. Racine de tomate mycorhizée et structures intra-racinaires (vésicules, hyphes et arbuscules), grossissement X40

Le dispositif expérimental : Un dispositif-pilote pour la mycorhization précoce des tomates en pépinière

Le dispositif expérimental en pépinière comportait deux étapes mises en place dans des bacs-prototypes différents :

- un bac de multiplication pour le piégeage et la multiplication des mycorhizes indigènes.
- un bac donneur pour la mise en place du réseau mycorhizien entre les racines des plantes-donneuses et des tomates.

La mycorhization en pépinière est suivie de la plantation des plants en plein champ pour comparer les caractéristiques des plants mycorhizés et non mycorhizés.

Le bac de multiplication

L'objectif du bac de multiplication (réf. Fiche technique « Multiplier des champignons mycorhiziens sur son exploitation ») est de piéger et de multiplier les CMA indigènes de la parcelle d'exploitation, par la culture de plants très mycorhizotrophes : par exemple les alliacées (oignon, cive, ail, poireau...), les graminées (sorgho, maïs, millet...) ou les légumineuses (luzerne, pois, trèfle, lentille, crotalaire...). Ces plantes joueront le rôle de plantes « pièges » et « donneuses », dans un deuxième temps. Le bac a été dimensionné en fonction de la quantité d'inoculum que l'on souhaitait produire, sachant qu'à l'inoculation, il faut compter environ un volume d'inoculum pour 5 à 10 volumes de sol exploré potentiellement par les racines.

Le sol est prélevé à 10-25 cm de profondeur, il contient des racines fines qui représentent l'inoculum initial. La surface de prélèvement est de l'ordre de 0.5 à 1 m² en fonction du besoin. L'inoculum initial peut être prélevé dans une zone non cultivée où des plantes locales sont en bonne santé (arbustes, légumineuses graminées ...). Lorsque cela est possible, on choisit une zone où se trouvent des plantes des mêmes familles que la culture cible.

Le Cahier des Techniques de l'Inra

Les dimensions du bac de multiplication fabriqué en PVC sont : 1 m/ 1 m et 20 à 25 cm de profondeur.

Le fond a été tapissé par une toile ombrière perméable de 80 % d'opacité dans laquelle nous avons placé trois couches de substrat :

- la couche inférieure 10 cm épaisseur un substrat inerte (type gravier).
- la couche médiane 5 cm d'épaisseur, le sol de l'exploitation qui est notre inoculum initial.
- la couche supérieure 5 cm d'épaisseur de substrat inerte.

Nous avons semé dans notre bac des graines de crotalaire sur une forte densité. L'espèce *Crotalaria* est une légumineuse à haut potentiel mycorhizotrophe, vigoureuse, facilement disponible et non hôte des principaux bioagresseurs de la tomate. Elle est aussi souvent utilisée comme plante nématicide (production d'alcaloïdes, toxines ...). Nous avons provoqué un stress hydrique volontaire, en limitant les arrosages quatre semaines après le semis, afin de stimuler la mycorhization.

Le bac donneur

L'objectif du bac donneur est d'installer un réseau mycélien, favorisant la mycorhization des plants de tomate par effet-donneur de plantes « donneuses » à des plantes « receveuses », à partir des filaments des champignons mycorhiziens. Notre bac donneur a été réalisé en fonction du nombre de plants de tomates que nous souhaitons prémycorhizer, soit une centaine de plants de tomate.

Les bacs donneur et témoin ont été réalisés en PVC : leurs dimensions sont 184 cm/96 cm sur 8 cm de profondeur. Le bac donneur a été divisé en cinq compartiments séparés par des poches de toiles croisées en inox de 35 µm de diamètre. Ces poches sont remplies de sable stérile (substrat inerte pour stimuler la mycorhization) où sont repiquées les plantes donneuses 4 à 5 semaines après le semis dans notre bac de multiplication. Quatre semaines après ce repiquage, les graines de tomate ont été semées dans notre bac donneur à l'intérieur des compartiments prédéfinis sur des mottes composées de terre et de terreau de semis (40/60 %). Nous avons veillé à bien combler les interstices entre les mottes de semis et la paroi de la toile croisée dans lequel sont maintenues les plantes mycorhizotrophes pour faciliter le développement du réseau mycélien. Idem pour le bac témoin non compartimenté semé uniquement avec des plants de tomates. Les plants de tomates des deux bacs ont reçu les mêmes arrosages jusqu'à la plantation et le suivi au champ.

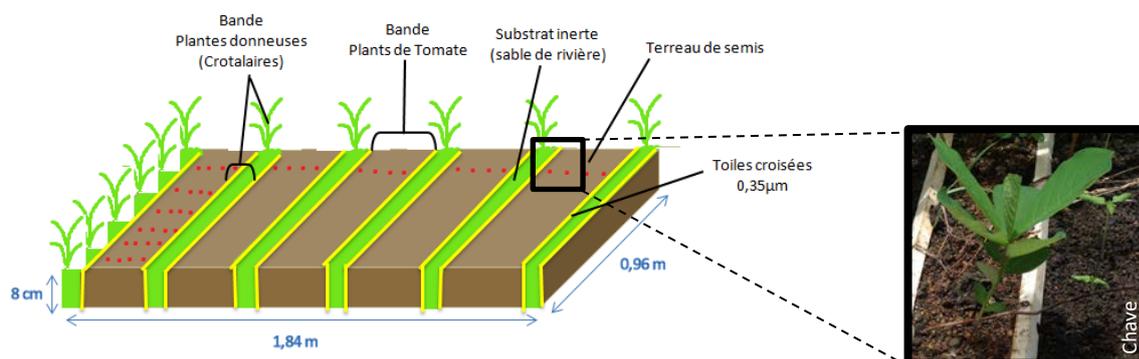


Figure 2. Bac donneur pour mycorhizer les plants de tomate par effet-donneur (d'après Julian 2017)

Note : La propriété de la toile croisée est d'être assez poreuse pour laisser passer les hyphes mycéliens sans laisser passer les racines entre les compartiments et ainsi limiter la compétition par les racines entre les plantes donneuses et les receveuses.

Ce dispositif-pilote permet d'étudier la capacité des plantes-donneuses à multiplier et à transmettre un pool de mycorhizes indigènes à des plants de tomates en conditions de production.

La plantation en plein champ des plants tomates et impact sur la croissance

Pour évaluer et suivre l'impact de la prémycorhization sur la production primaire de la tomate en plein champ : deux modalités expérimentales ont été mises en place :

- Les plants mycorhizés dans le bac-donneur
- Les plants non mycorhizés

Préparation du terrain

Avant plantation, le terrain a été préparé par un labour superficiel de 10 à 15 cm de profondeur afin d'égaliser la surface et ne pas casser le réseau mycorhizien déjà en place sur la parcelle. Du paillage à base de canne à sucre y a été apporté pour lutter contre le développement d'adventices. Un système d'arrosage au goutte à goutte a été installé pour permettre une meilleure assimilation et limiter les pertes par évaporation et l'apparition de pathogène fongique sur la partie aérienne.

Suivi de la croissance des plants de tomates

Un tuteurage, de type palissage horizontal, a été effectué au début de la floraison et l'étude de comparaison des différentes modalités a été définie selon trois indicateurs :

- I) la longueur des tiges,
- II) la biomasse fraîche et sèche totale des plants prélevés.

L'évaluation des taux de mycorhization

Sur chaque plant prélevé, les taux de mycorhization racinaire ont été évalués. Les taux de mycorhization ont été déterminés sur les racines des plantes donneuses cultivées en bac de multiplication et en bac donneur ; puis sur les racines des plants de tomates en pépinière et au champ.

Afin d'évaluer le taux de mycorhization des racines, nous avons d'abord mis en évidence les structures fongiques par la méthode de Philips et Hayman (1970). Son principe consiste, dans un premier temps, à décolorer toutes les cellules végétales et fongiques, en conservant leurs parois. Puis au moyen d'un colorant, le bleu de méthyle, spécifique de la callose, un des composés majeurs de la paroi des champignons, les différentes structures mycorhiziennes intra racinaires (hyphes, arbuscules, vésicules) sont colorées pour être observables au microscope.

Les analyses sur les prélèvements des plantes donneuses en pépinière ont permis d'évaluer le taux de mycorhization par la méthode de Trouvelot et al. (1986). Pour ce faire, un barème permet de classer et d'apprécier le degré de la colonisation mycorhizienne de chaque fragment au moyen de six classes notées de 0 à 5 (Figure 3).

Un échantillon comprend un minimum de 30 fragments observés

N : nombre de fragments observés ; n : nombre de fragments mycorhizés

n1, n2, n3, n4, n5 sont les nombres de fragments notés selon les classes de 1 à 5 respectivement.

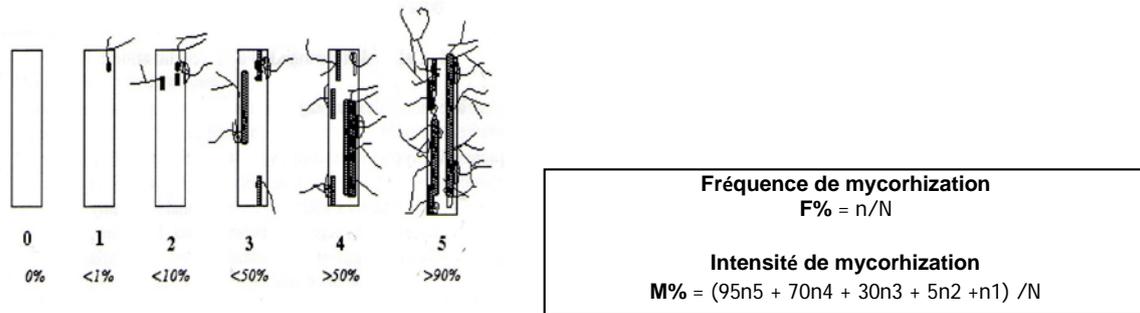


Figure 3. Estimation de la fréquence et de l'intensité de mycorhization (Trouvelot et al. 1986)

Premiers résultats

Rappelons que l'objectif de cette expérimentation est d'évaluer l'efficacité d'un dispositif de pré-mycorhization de plants de tomate en pépinière avant repiquage en plein champ.

Les plantes donneuses

Le processus de colonisation racinaire des crotalaires s'est fait progressivement par une augmentation de la fréquence et de l'intensité de mycorhization au cours du temps : après 3 semaines dans le bac de multiplication : $F=90\%$, $M=13,4\%$; après 8 semaines dans le bac de multiplication : $F=95\%$, $I=18\%$ et après 2 semaines dans le bac donneur : $F=95\%$, $I=27,6\%$.

Les plantes donneuses ont bien joué le rôle de piègeage et de multiplication des CMA indigènes dans notre sol local.

Les plants de tomates.

En pépinière afin de suivre l'effet donneur, des prélèvements ont été effectués sur des plants de tomates issus du bac-donneur et des témoins non mycorhizés.

Deux semaines après le semis, on observe les premiers filaments de mycélium au sein des racines de tomates cultivées en association avec les plantes donneuses (fréquence de l'ordre de 18% , intensité inférieure à 5%) alors qu'aucune structure n'est observée sur les racines des témoins.

D'après Ballhorn et al. (2004), il faut attendre en moyenne deux semaines avant de pouvoir observer une colonisation racinaire à partir de spores.

Ces résultats confirment l'effet-donneur des mycorhizes, démontré *in vitro* par Voets et al. (2005), et en *in situ* par Chave (2015). La multiplication de CMA et la mobilisation d'un réseau mycorhizien par une plante donneuse permettent donc une mycorhization potentiellement rapide d'une autre plante transplantée dans ce réseau.

La transplantation de ces plants de tomates au champ a permis d'observer six semaines après transplantation cette même dynamique de mycorhization. Effectivement, le taux de mycorhization des plants de tomates issus du bac donneur avait augmenté jusqu'à atteindre une fréquence supérieure à 50% alors que les plants de tomates non pré-mycorhizés, provenant du bac témoin, présentaient une fréquence proche de 30% . Au champ, les plants témoins ont donc subi une colonisation racinaire à partir des CMA présents dans le sol de la parcelle de plantation.

Influence de la mycorhization sur la taille et la biomasse.

En ce qui concerne la hauteur de tige, les plants mycorhizés ont toujours présenté une taille, une biomasse

fraîche et sèche de 30 à 40 % supérieures à celles des plants-témoins.

Conclusion

L'objectif de l'expérimentation présentée ici était d'évaluer un dispositif de mycorhization précoce de plants de tomate en pépinière via l'utilisation de plantes donneuses avant repiquage en plein champ. Pour ce faire, nous avons pu observer un effet donneur résultant de la mise en place d'un réseau mycélien actif dans les bacs, puis au champ. Le caractère « mycorhizés » et « non mycorhizés » de ces plants de tomate provenant respectivement du bac donneur et du bac témoin, nous a permis :

- dans un premier temps, de montrer qu'il y avait prolongement du phénomène de mycorhization au champ sur les plants de tomates préalablement mycorhizés par effet donneur en bac ; leur taux de mycorhization étant supérieurs à ceux des tomates témoins (non mycorhizés) qui ont subi uniquement une mycorhization au champ.
- dans un deuxième temps, de confirmer que la mycorhization des plants tomate par effet donneur ont une biomasse plus importante au champ qu'en l'absence de ce procédé.

Perspectives

Le dispositif-pilote présenté a permis la prémycorhization de plantes à forte valeur agronomique comme la tomate. Il peut également permettre d'évaluer :

- 1) l'impact de cette symbiose mise en œuvre de façon précoce face à des stress biotiques et abiotiques sous abris,
- 2) le potentiel de biocontrôle des mycorhizes en plein champ.

Les CMA apportent aux plantes de nombreux bénéfices en termes de nutrition et de bio-protection. Evaluer différentes plantes donneuses et différentes plantes d'intérêt agronomique permettra d'orienter nos systèmes de cultures vers des plantations en association ou en rotation en serre ou au champ Walder et al. (2012) sans induire de compétition, tout en maintenant et en améliorant la biodiversité de notre environnement.

Remerciements

Les remerciements sont adressés à tous les techniciens des unités ASTRO, UE PEYI et UE Alénya qui ont contribué à la mise au point de cette technique.

Cet article est publié sous la licence Creative Commons (CC BY-SA).



<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>

Pour la citation et la reproduction de cet article, mentionner obligatoirement le titre de l'article, le nom de tous les auteurs, la mention de sa publication dans la revue « Le Cahier des Techniques de l'Inra », la date de sa publication et son URL).

Bibliographie

Ballhorn DJ, Younginger BS, Kautz S (2004) An aboveground pathogen inhibits belowground rhizobia and arbuscular mycorrhizal fungi in *Phaseolus vulgaris*. *BMC plant biology*, 14(1):321.

Brígido C., van Tuinen D., Brito I., Alho L., Goss M. J. and Carvalho M. (2017) Management of the biological diversity of AM fungi by combination of host plant succession and integrity of extraradical mycelium. *Soil Biology Biochemistry* 112, 237–247. doi: 10.1016/j.soilbio.2017.05.018.

Le Cahier des Techniques de l'Inra

Chave M (2015) Ingénierie agroécologique et santé des cultures : conception de systèmes de culture recourant aux plantes mycorhizotrophes pour la bioprotection de la tomate contre le flétrissement bactérien. Thèse de doctorat, Université des Antilles et de la Guyane. France. 204 p.

Chave M, Perrin B, Dufils A (2017) Fiche technique : « Multiplier des champignons mycorhiziens sur son exploitation ».

http://geco.ecophytopic.fr/documents/20182/21720/pdf_Multiplier_des_champignons_mycorhiziens_sur_son_exploitation_1.pdf

Chave M, Angeon V (2018) Du partage de connaissances à la co-conception d'innovations agroécologiques : Exemple de la mobilisation des mycorhizes en Guyane. *Innovations Agronomiques* 64:97–111.

Chave M, Angeon V, Paut R, Collombet R, Tchamitchian M (2019) Codesigning biodiversity-based agrosystems promotes alternatives to mycorrhizal inoculants. *Agronomy for Sustainable Development*, december 2019, 39-48.

Julan C (2017) Evaluation d'un dispositif de mycorhization de plants de tomate en pépinière et suivi en parcelle agricole. Rapport de stage de Master 2, Université des Antilles.

Phillips JM, Hayman DS (1970) Improved procedures for clearing roots and straining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society* 55:158-161.

Trouvelot A, Kough JL, Gianinazzi-Pearson V (1986) Mesure du taux de mycorhization VA d'un système racinaire. Recherches et méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle. Aspects physiologiques et génétiques des mycorhizes, actes de conférence Inra, 7-221.

Voets L, de la Providencia IE, Fernandez K et al. (2009) Extraradical mycelium network of arbuscular mycorrhizal fungi allows fast colonization of seedlings under in vitro conditions. *Mycorrhiza* 19(5):347–356.

Walder F., Niemann H., Natarajan M., Lehmann M. F., Boller T. and Wiemkenf A. (2012) Mycorrhizal networks: Common goods of plants shared under unequal terms of trade. *Plant Physiology* 159, 789–797. doi:10.1104/pp.112.195727.