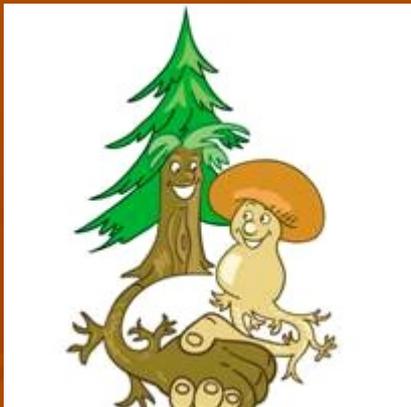


Les pépinières Robin



ROBIN Pépinières EARL
05500 Saint Laurent du Cros
France

Tél.: (33) 04 92 50 43 16

Fax: (33) 04 92 50 47 57

info @ robinpepinieres.com



Pierre Cammalletti

Les pépinières ROBIN

Présentation

Situées dans le Sud Est de la France, Les pépinières ROBIN ont une expérience dans la production de jeunes plants forestiers de 60 ans.

Elles produisent des jeunes plants en godets depuis plus de 50 ans.

Elles ont développé depuis 40 ans leur propre système de culture en godets :
Le Godet Robin ANTI CHIGNON® (modèle déposé et breveté) .

Elles sont la première entreprise certifiée ISO 9001 pour ses activités de :
Conception, production, vente et livraison et la garantie de reprise de
plants mycorhizés, de jeunes plants forestiers et d'ornement et de sapins de
Noël.

Les pépinières ROBIN



- Les Pépinières ROBIN ont mené dès 1960 des travaux sur la mycorhization en collaboration avec le professeur Moser (*Pinus cembra*, *Suillus plorans*).
- Se sont dotées, avec l'aide de l'ANVAR (Agence Nationale pour la Valorisation de la Recherche) de leur propre laboratoire dans les années 90.
- Produisent depuis 1990 des plants mycorhizés avec des champignons à intérêt comestible en étroite collaboration avec l'INRA.
- Ont participé à plusieurs programmes européens scientifiques multidisciplinaires.
- Ont participé à plusieurs colloques internationaux sur les champignons comestibles

ISO 9001

Différentes étapes

- Prise en compte des besoins du client
- Définition d'un produit → cahier des charges
- Etape de fabrication décrite → travail précis et reproductible
- Contrôle → suivi du niveau de qualité
- Enregistrements → traçabilité

Cadre d'organisation impliquant la responsabilité des intervenants depuis la direction jusqu'au simple intervenant



Les pépinières ROBIN

Les Mycorhizes

Ethymologie : Mycorhizes

Mukes : champignon

Rhiza : racines

Association(symbiose)

Champignon-racine

Les pépinières ROBIN

Les Mycorhizes

2 types différents

- Les endomycorhizes associées principalement avec des feuillus précieux : *Prunus*, *Acer*, *Sorbus*, *Fraxinus*...

Ou à des arbustes : *Buxus*, *Cornus*, *Cotynus*, *Amelanchier*

Ou à des conifères : *Taxus*, *Juniperus*, *Cupressus*...

- Les ectomycorhizes associées aux essences de reboisement classiques feuillues : *Quercus*, *Fagus*, *Carpinus*, *Betula*, *Castanea*...

Ou à des résineux : *Pinus*, *Picea*, *Larix*, *Cedrus*

Les pépinières ROBIN

Les Mycorhizes

Les endomycorhizes

- La forme de symbiose la plus répandue
- Concernent plus de 90% des plantes terrestres
- Quelques espèces fongiques non spécifiques
- Non visibles à l'œil nu

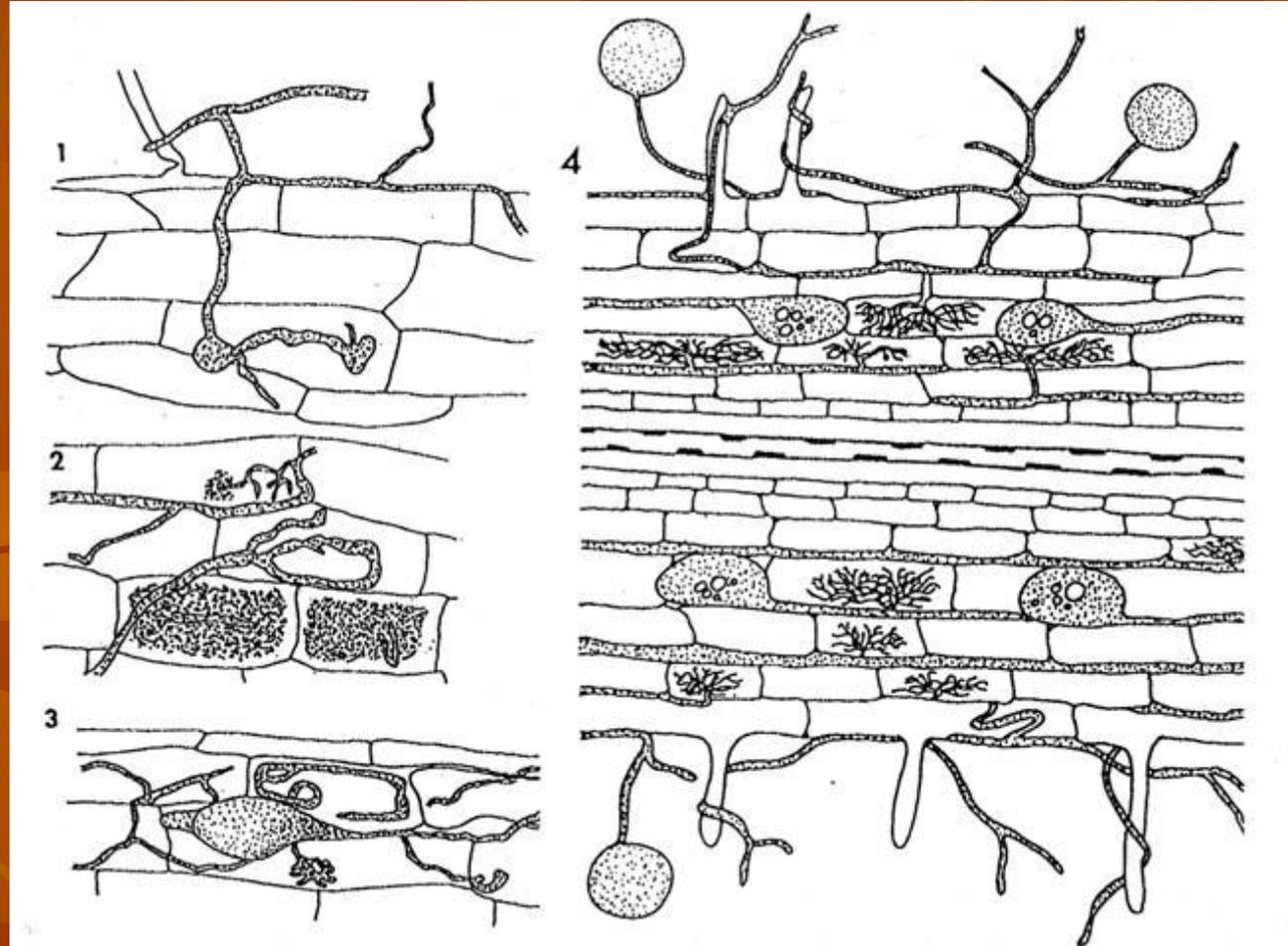


Les pépinières ROBIN

Les Mycorhizes

Formation et développement des endomycorhizes

- 1) Pénétration du mycélium qui s'est développé à partir des spores ou propagules
- 2) Développement du champignon à l'intérieur des cellules racinaires
- 3) Et 4 Développement des structures spécifiques de ces champignons (vacuoles, arbuscules et formation de spores externes)



Les pépinières ROBIN

Les Mycorhizes

Les ectomycorhizes

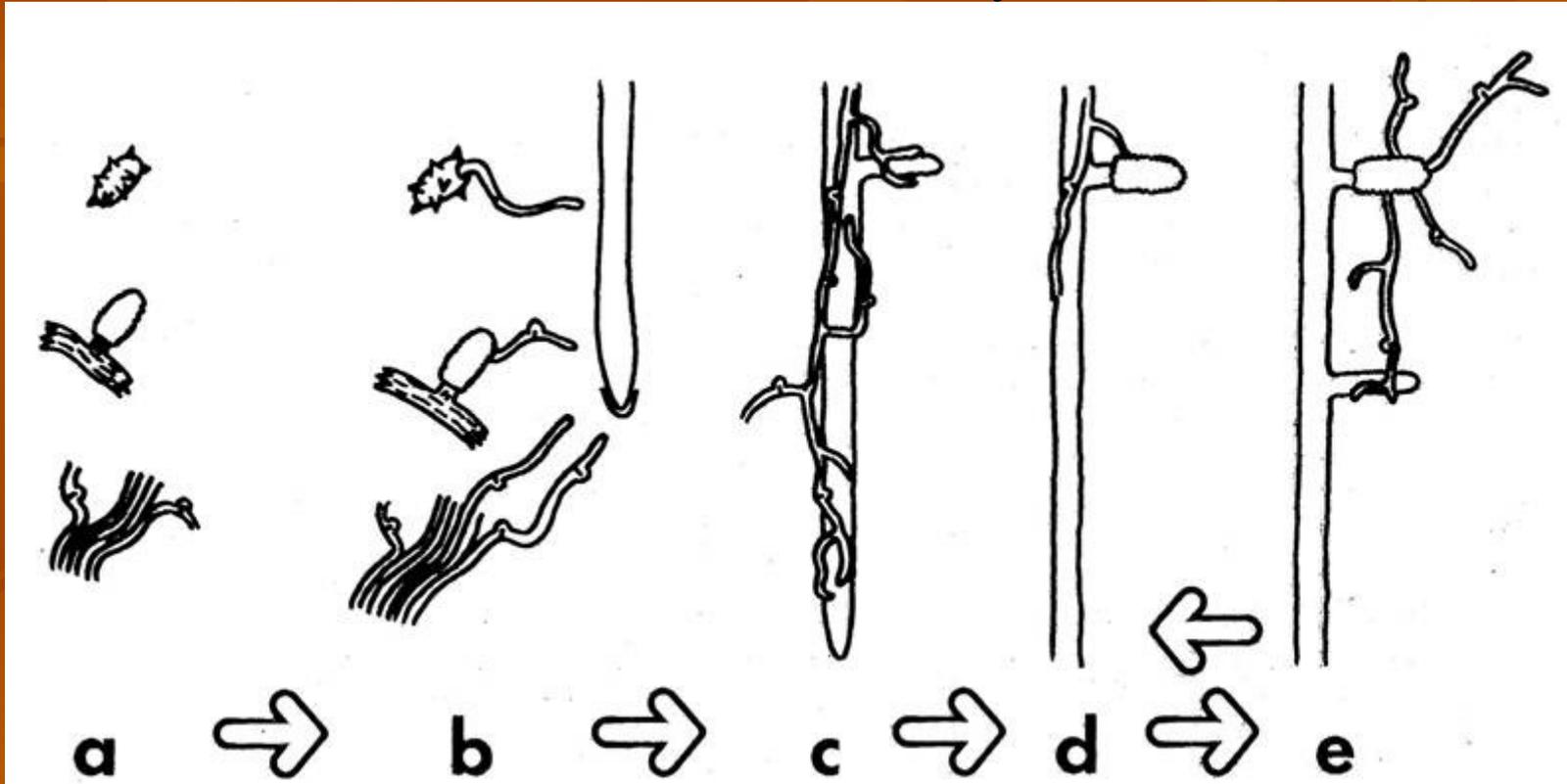
- Seulement 3 à 5% des espèces végétales terrestres
- Importance forestière considérable
- Plus de 200 espèces fongiques associées
- Spécificité plus ou moins étroite
- Production de champignons comestibles
- Reconnaisables à l'œil nu



Les pépinières ROBIN

Les Mycorhizes

Formation des ectomycorhizes



Germination

Développement

Colonisation

Formation

Infection

saprophytique

des racines
longues

d'une
mycorhize

secondaire

Les pépinières ROBIN

Les Mycorhizes

Les souches de champignons utilisés ont été sélectionnée lors de programme de recherche de la communauté européenne (PDZR, MYCOMED,MYCOREM) en collaboration avec des organismes scientifiques et techniques français(INRA, CEMAGREF, IDF) et étranger.

L'efficacité de ces souches sur le site même de plantation à été démontré lors de ces programmes sur des terrains variés et sur un large panel d'hôtes en comparaison avec des plants non mycorhizés ou portant des mycorhizes naturelles(adaptées aux conditions de la pépinière mais qui disparaîtront ou n'exerceront aucun effet de stimulation en plantation)

Cela avait déjà été démontré par l'INRA de Nancy dans le cadre de la mycorhization du douglas par la souche de Laccaria S238N

Les pépinières ROBIN

Plants mycorhizés HAUTE PERFORMANCE®

Plant inoculé /Plant mycorhizés

Il faut bien différencier un plant inoculé sur lequel on a apporté une forme d'inoculum d'un champignon, d'un plant mycorhizé qui ne peut être appelé ainsi qu'après contrôle par des professionnels expérimentés de la présence et l'évaluation du niveau de mycorhization (association du champignon inoculé avec les racines de la plante hôte) par ce champignon et le distinguer d'éventuels contaminants.

La production d'inoculum, l'inoculation en conditions contrôlées, le suivi de ces lots au cours de la saison d'élevage afin de permettre et de pérenniser l'association des deux symbiotes se fait dans le cadre de la norme ISO 9001 selon des processus bien définis.

Les pépinières ROBIN

Innovation - Laboratoire

- Maîtrise de A à Z de toutes les étapes de la mycorhization contrôlée

Schéma général =>



Les pépinières ROBIN

Plants mycorhizés HAUTE PERFORMANCE®

Contrôle des plants mycorhizés

Ces contrôles sont réalisés soit par du personnel spécialisé de notre entreprise dans le cadre de la norme ISO 9001 soit par des scientifiques de l'INRA dans le cas de plants sous licence (Douglas LaccariaS238N) selon des cahiers des charges précis décrivant la méthode de contrôle, la taille de l'échantillon statistiquement représentatif du lot contrôlé les critères d'acceptation de ce lot et sont repris dans des enregistrements permettant d'en assurer la traçabilité.

Les pépinières ROBIN

Plants mycorhizés HAUTE PERFORMANCE®

Contrôle des plants endomycorhizés

Dans le cas des plants endo mycorhizés l'association des deux symbiotes et invisible à l'œil nu et nécessite un traitement particulier des racines de la plante pour en permettre l'observation.

Le contrôle se fait après un nettoyage soigneux du système racinaire des plants afin d'éliminer le substrat de culture sur un pool des racines courtes de l'échantillon prélevé sur lequel on prélèvera un sous échantillon .

Les racines de ce sous échantillon sont traitées avec KOH à chaud afin d'éclaircir les racines et sont ensuite colorées à chaud avec un colorant qui va rendre visible les formes caractéristiques de ces champignons au sein des racines de la plante hôte.

Cette observation se fait sous le microscope avec des grossissements de 200 à 400 fois et on recherche soit des vacuoles (petits sacs) soit des arbuscules (petit buisson) caractéristiques de ces champignons.

Les pépinières ROBIN

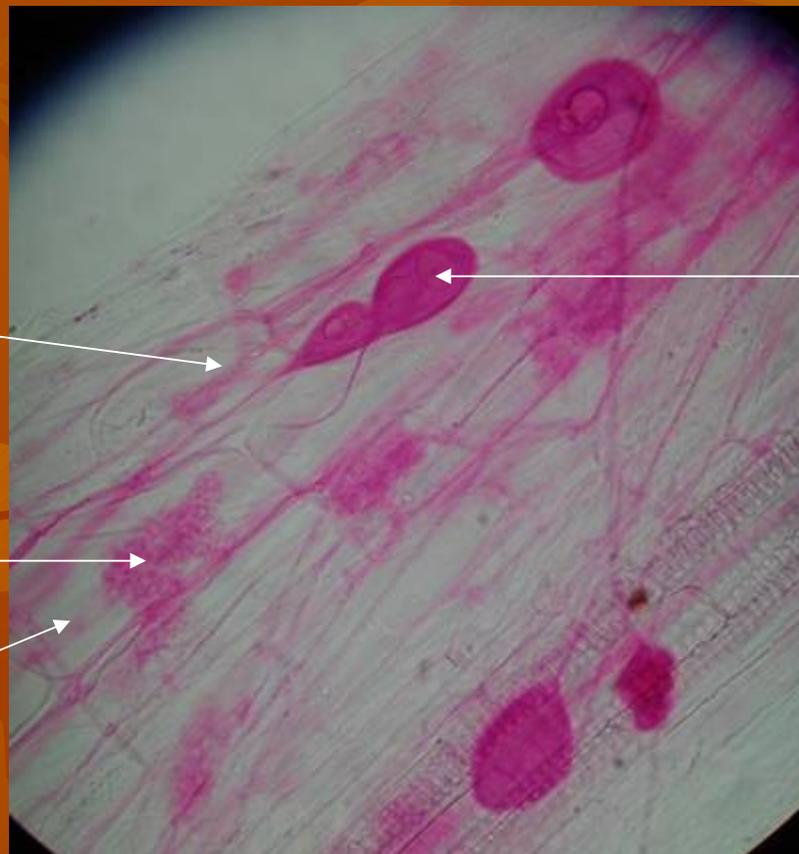
Plants mycorhizés HAUTE PERFORMANCE®

Racine
endomycorhizée

Mycélium du
champignon

Arbuscules

Cellule
racinaire



Vacuoles

Microscope X400

Les pépinières ROBIN

Plants mycorhizés HAUTE PERFORMANCE®

Contrôle des plants ectomycorhizés

Dans le cas des ectomycorhizes le résultat de cette association est visible sous la forme d'un manchon caractéristique autour des racinelles de ces plants qui peut être observé soit directement à l'œil nu soit sous une loupe binoculaire à faible grossissement(X 20)



Laccaria

Mycorhizes caractéristiques violacées
mycélium entourant la mycorhizes assez ras



Hebeloma

Mycorhizes blanches caractéristiques
Mycélium entourant les mycorhizes assez diffus

Les pépinières ROBIN

Plants mycorhizés HAUTE PERFORMANCE®

Critères d'acceptation des lots :

- Plants ectomycorhizés

80 % des plants de l'échantillon du lot (50 plants) doivent présenter une bonne mycorhization et un faible taux de contaminants.

- Plants endomycorhizés

50 % au moins des racines du sous échantillon d'un pool de racines de 5 plants du lot sont mycorhizées et présentent des formations caractéristiques des champignons endo mycorhiziens.

- Plants nodulés

80 % des plants de l'échantillon (1% du lot) doivent présenter un nombre suffisant de nodules.

D'autre part tous ces plants doivent être conformes sur les mêmes critères végétatifs appliqués aux autres plants de semis en godets.

Les critères d'acceptation des plants sous licence sont décrits dans les annexes confidentielles de ces licences.

Les pépinières ROBIN

Plants mycorhizés HAUTE PERFORMANCE®

Intérêt des mycorhizes

- Amélioration de la reprise
- Stimulation de croissance
- Amélioration de la nutrition minérale
- Amélioration de la nutrition hydrique
- Résistance à différents stress
- Résistances aux agents pathogènes du sol
- Production de champignons comestibles
(ectomycorhizes)

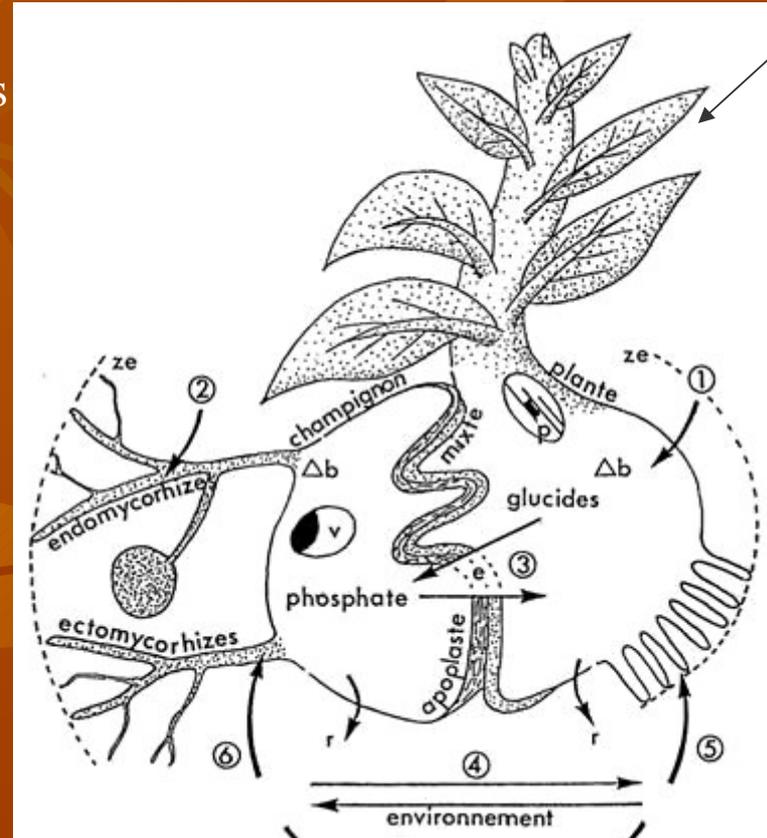
Les pépinières ROBIN

Les Mycorhizes

Photosynthèse

Modèle de fonctionnement des mycorhizes

Strullu 1988



2 Absorption par le champignon

Ze: zone d'épuisement

V: vacuoles de polyphosphates

e = échanges et double transfert

r = rejets dus à l'activité des organismes

1 Absorption par le végétal

Δb augmentation de la biomasse des partenaires

3 passage du phosphore vers la plante

4 Métabolites libérés
= 5 surplus d'absorption racinaire
Et
6 prélèvements par le champignon

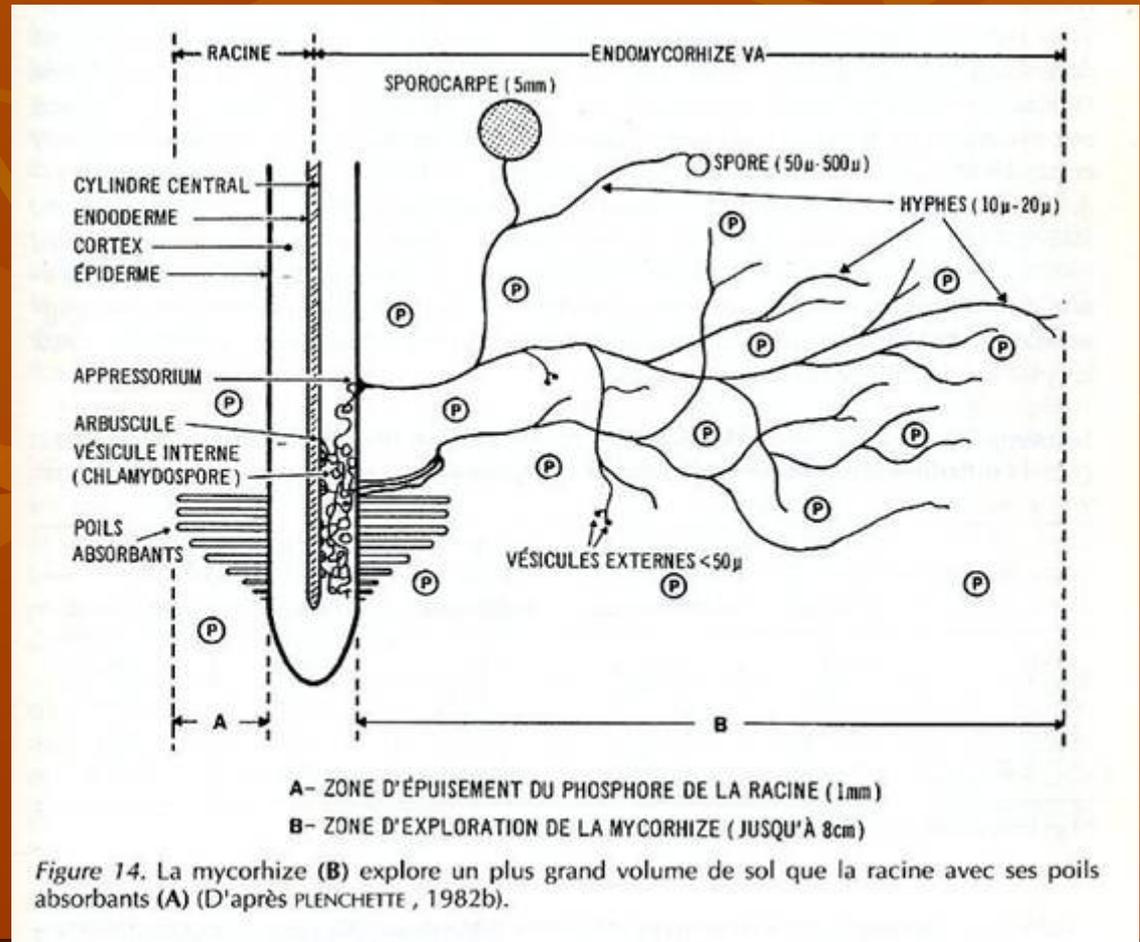
Les pépinières ROBIN

Les Mycorhizes

Intérêt et fonctionnement

Meilleure exploration du sol et meilleure nutrition azotée et phosphatée : zone d'exploration pratiquement multipliée / 100 par rapport à la zone d'échange normal entre la plante non mycorhizée et le sol au niveau des poils absorbants situés sur les racines courtes de celle-ci.

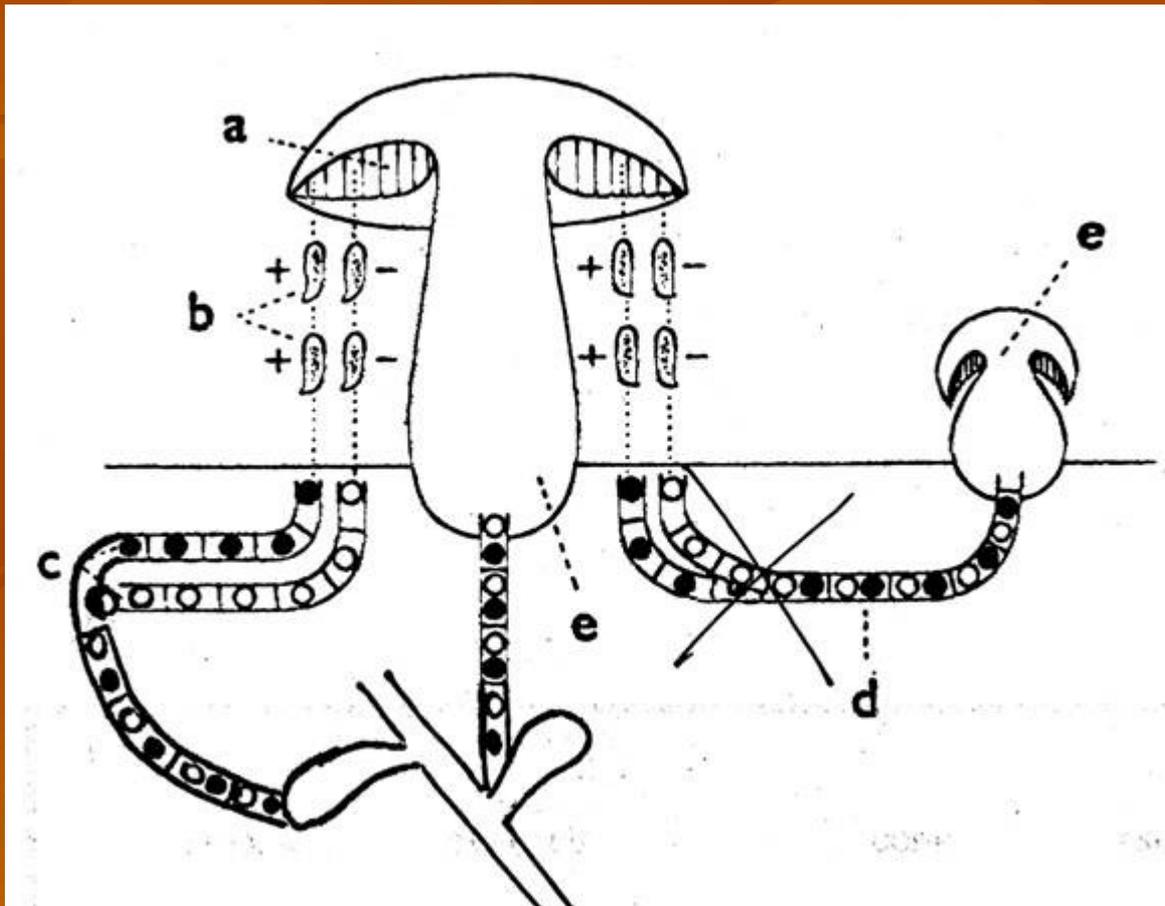
Meilleure reprise et développement de la plante mycorhizée.



Les pépinières ROBIN

Les Mycorhizes

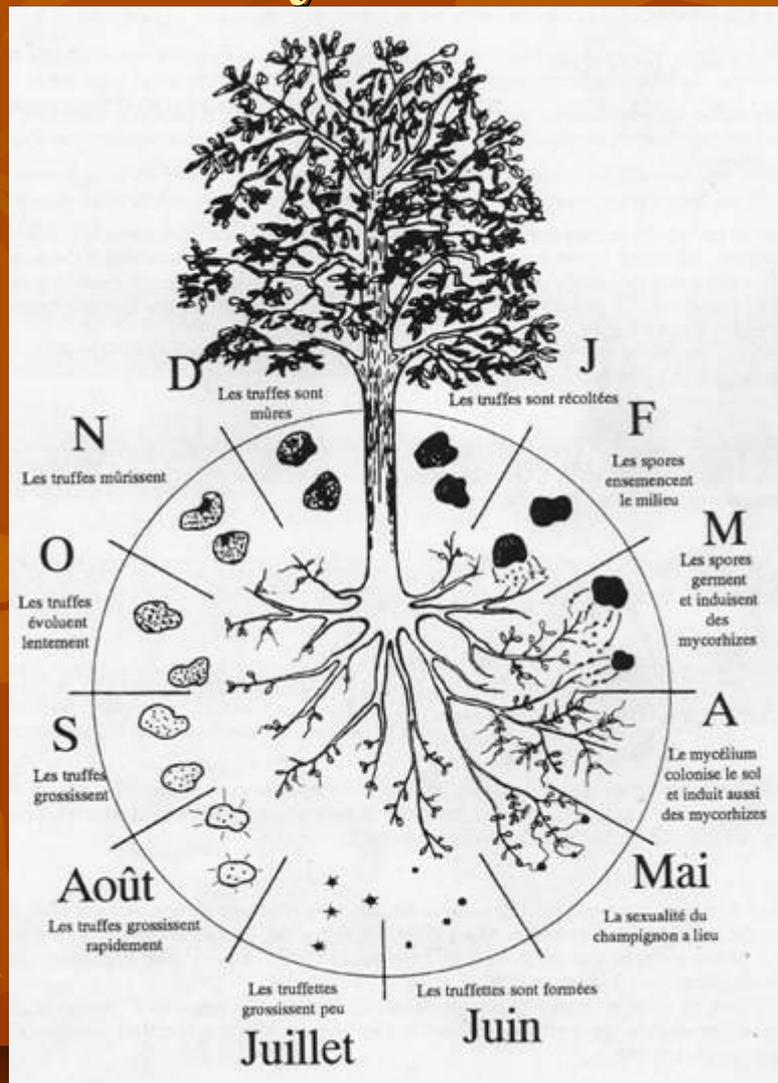
Fructification des champignons mycorhiziens obligatoires



Les pépinières ROBIN

Les Mycorhizes

Cycle
biologique
de la Truffe



Les pépinières ROBIN

Plants mycorhizés HAUTE PERFORMANCE®

Utilisations

- Application forestière (Amélioration de la survie, augmentation de la croissance et diminution du nombre de dégagement)
- Revégétalisation abord d'autoroute, lignes TGV, Carrières, friches industrielles ...
- Bioremédiation : utilisation pour revégétaliser des terrains salins ou exposés au sel, pollués par les métaux lourds, hydrocarbures, produits chimiques...

Les pépinières ROBIN

Plants mycorhizés HAUTE PERFORMANCE®

Conditions d' utilisations

Le paramètre essentiel qui permet de choisir au mieux le champignon à utiliser est le PH du sol .

Celui-ci sera déterminé par une analyse du sol .

Laccaria bicolor et laccata, (Sol acide ou décarbonaté)

Hebeloma crustuliniforme, (Terrain calcaire)

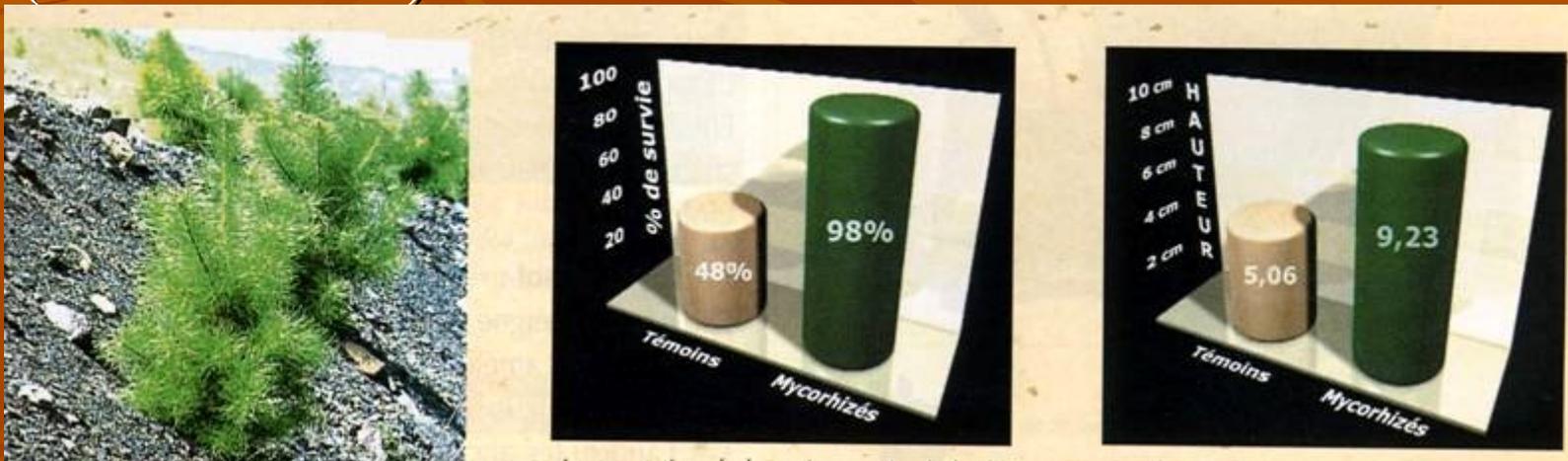
Les champignons endomycorhiziens sont quand à eux indifférents aux conditions de PH du sol .

Les plants nodulés avec des bactéries fixatrices d'azote également.

Les pépinières ROBIN

Plants mycorhizés HAUTE PERFORMANCE®

- Exemples d'application forestière (reboisement)



Verses de houillères (Ales 30)

Les pépinières ROBIN

Plants mycorhizés HAUTE PERFORMANCE®

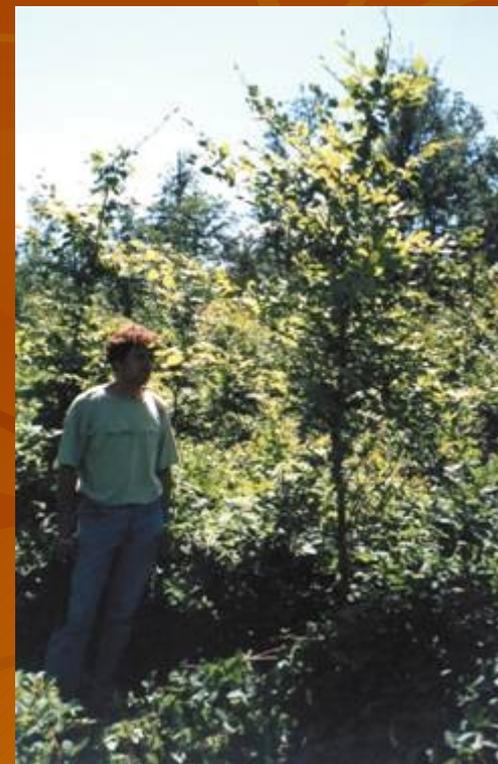


Reboisement en terrain
acide et superficiel
(groupement forestier
Champenois51)

Reboisement en
terrain sableux très
acide (Propriétaire
privé M. Meyer 44)

Pinus pinaster Lb

2001 8+cm /2003 2m

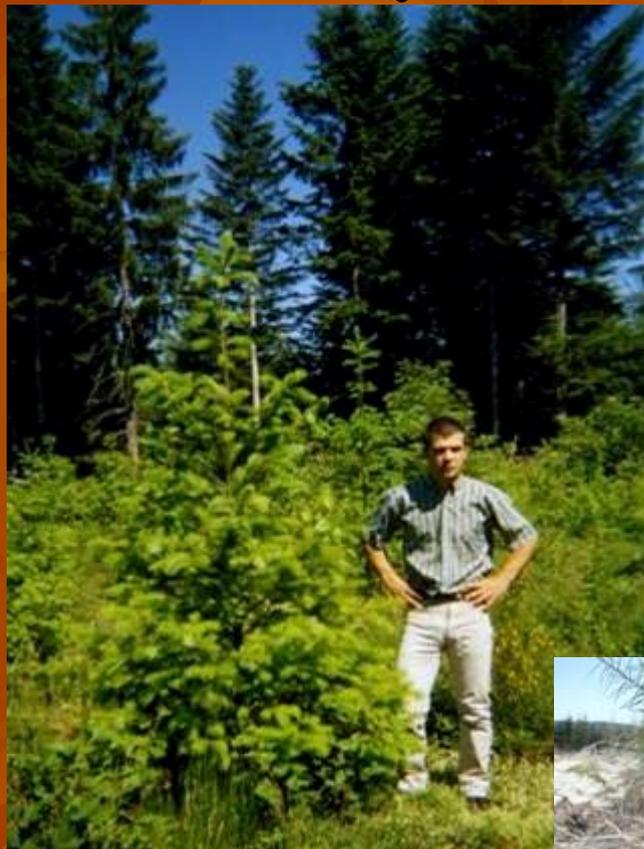


Fagus sylvatica Lb

1997 30cm+ /2003 3,5 4m

Les pépinières ROBIN

Plants mycorhizés HAUTE PERFORMANCE®



Douglas Lb S238N R200
taille à la plantation
15/30cm 4ans après
hauteur moyenne 200
taux de reprise > 80%

(Chantier CFBL Giat 63)



Cedrus atlantica Lb
Automne 2008 12cm/
+ Automne 2009
80cm/+

(Coopérative
forestière CAFSA 86)



Les pépinières ROBIN

Plants mycorhizés HAUTE PERFORMANCE®

Chantier COFORET

Pain Bouchin (42)

Chantier CFBL
(Morvan)



Douglas Lb S238N R300

Plantation avril 2009

Photo novembre 2009 50cm de pousse



Douglas Lb S238N R200

plantation printemps
2009

Photo Juillet 2010

Les pépinières ROBIN

Plants mycorhizés HAUTE PERFORMANCE®



Carrière VICAT Créchy (03)

Plantation automne 2009

Photo avril 2010



Pinus nigra austriaca Hc

Prunus mahaleb endomycorhizés

Robinia nodulés

Alnus cordata nodulés

Les pépinières ROBIN

Plants mycorhizés HAUTE PERFORMANCE®



Chantier de
réhabilitation usine
AZF Toulouse



Revégétalisation de carrière
(La grave de Peille 06
Société Vicat)



Prunus mahaleb
endomycorhizés

20/+cm 6mois après
60/80 cm

Pinus halepensis Hc

2001 10cm

2003 120cm

Les pépinières ROBIN

Plants mycorhizés HAUTE PERFORMANCE®



Rosmarinus officinalis
endomycorhызés

20cm 6mois après 30/50

Reprise 100%



Chantier SCREG vitrolles (13)

terrain très calcaire, caillouteux, filtrant,
pauvre en Mo et très venté



Cistus albidus Hc

20 cm 6mois après
30/40cm

reprise 100%



Pinus halepensis
Hc 10cm 6mois
après 20/+cm

Reprise 100%



Quercus
pubescens Hc
20/+cm 6mois
après 30/50
reprise 80%

Les pépinières ROBIN

Plants mycorhizés HAUTE PERFORMANCE®

ONF Guillaumes
RTM (06)



Pinus nigra ausriaca Hc

Alnus nodulés

Cytisus nodulés

Hippophae rhamnoides
nodulées endomycorhizées

Les pépinières ROBIN

Plants mycorhizés HAUTE PERFORMANCE®

- Bioremédiation (Tolérance aux sels)



Robin
Mycorhizés
Laccaria bicolor

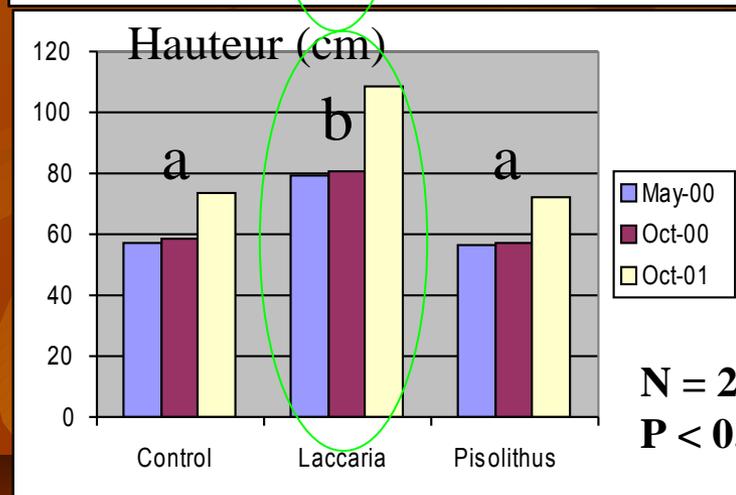
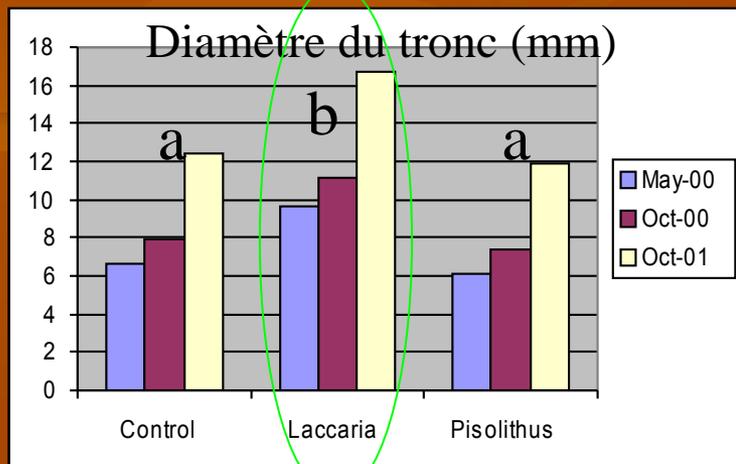
Phc
Inoculés
Pisolithus
tinctorius

Control
Non
inoculés

Les pépinières ROBIN

Plants mycorhizés HAUTE PERFORMANCE®

■ Bioremédiation (Tolérance aux sels)



Fagus sylvatica mycorhizés avec *Laccaria bicolor* et des témoins non inoculés fournis par les pépinières Robin



Effet de la mycorhization sur la croissance des plantes

Les pépinières ROBIN

Plants mycorhizés HAUTE PERFORMANCE®

- Bioremédiation
(Tolérance aux sels)



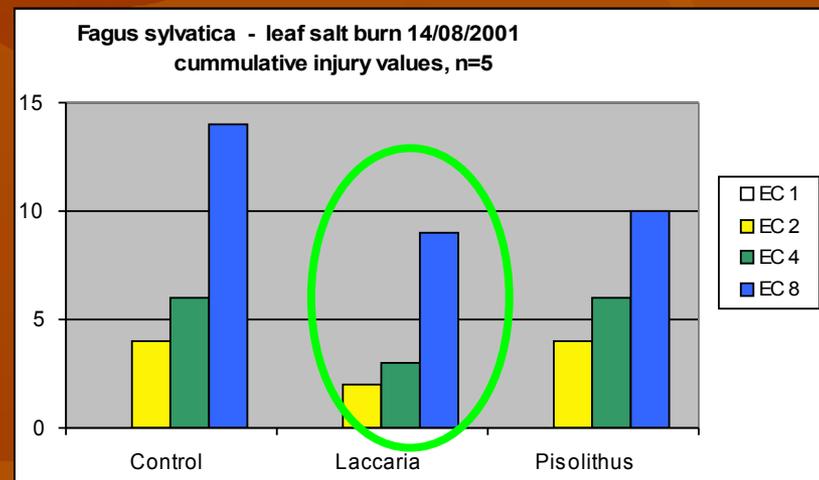
Niveau de brûlure :

0: Pas de brûlures

1: Bordures de la feuille brûlée

2: > 20% de la feuilles brûlée

3: > 50% de la feuilles brûlée



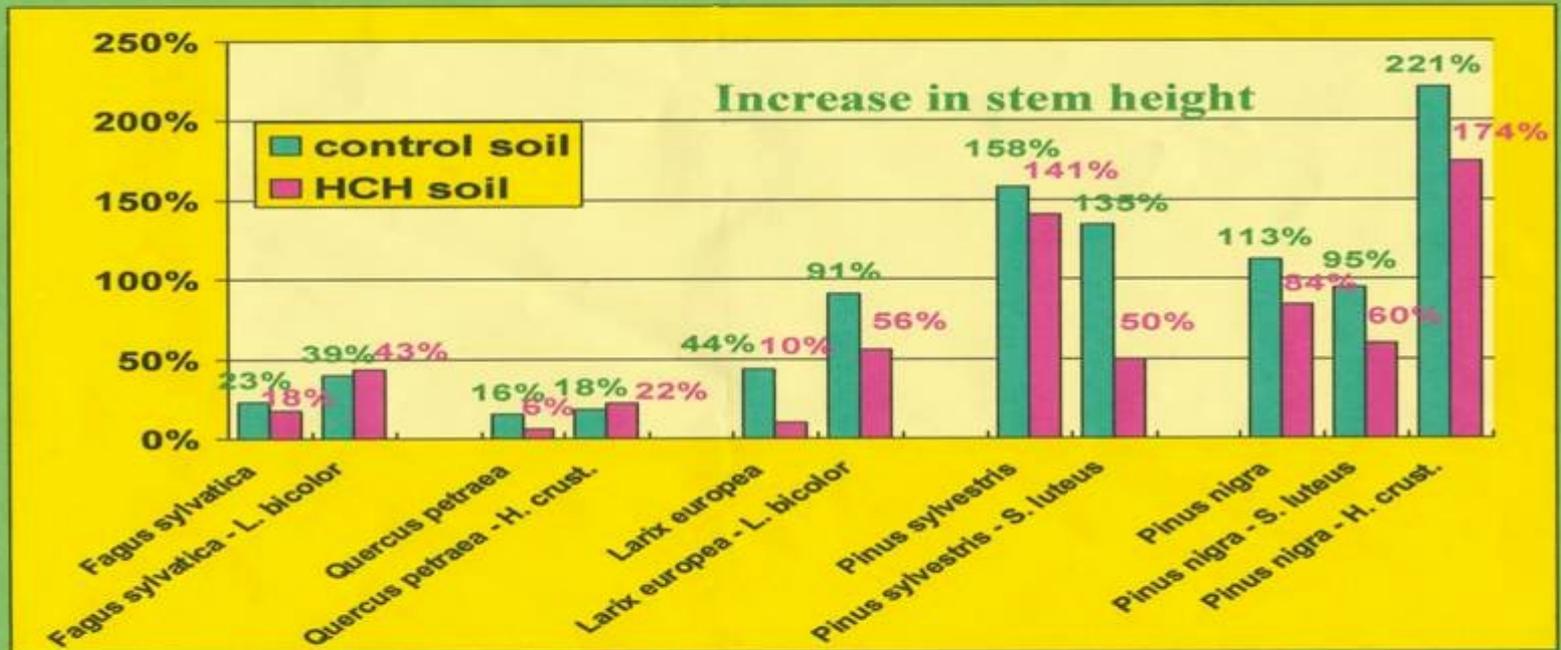
Travail réalisé par le Dr Ingrid Weissenhorn dans le cadre du programme MYCOREM avec des plants mycorhizés et des témoins fournis par les Pépinières Robin.

L'inoculum de *Pisolithus* provenait d'une autre société

Les pépinières ROBIN

- Plants HAUTE PERFORMANCE®
- Bioremédiation (pollution avec du Lindane)

Growth response for potted trees under outdoor conditions



Résultats obtenus dans le cadre de MYCOREM par TRITON en utilisant des plants mycorhizés produits par Les pépinières Robin

Bactéries fixatrices d'azote

- La fixation biologique de l'azote est un processus permettant de produire des substances organiques à partir de l'azote gazeux de l'atmosphère.
$$\text{N}_2 + 3\text{H}_2 \longrightarrow 2\text{NH}_3$$
- En effet N_2 compose 78% de notre atmosphère ce qui constitue une réserve quasi illimitée.
- La fixation de l'azote ambiant n'est réalisée que par certaines espèces de bactérie et d'algues bleues .

Bactéries fixatrices d'azote

- Cette activité de fixation de N_2 atmosphérique peut produire jusqu'à 300kg de N /ha
- Au niveau mondial on estime à 100 millions de tonnes /an le volume d'azote ainsi fixé soit l'ordre de grandeur de la production Chimique.

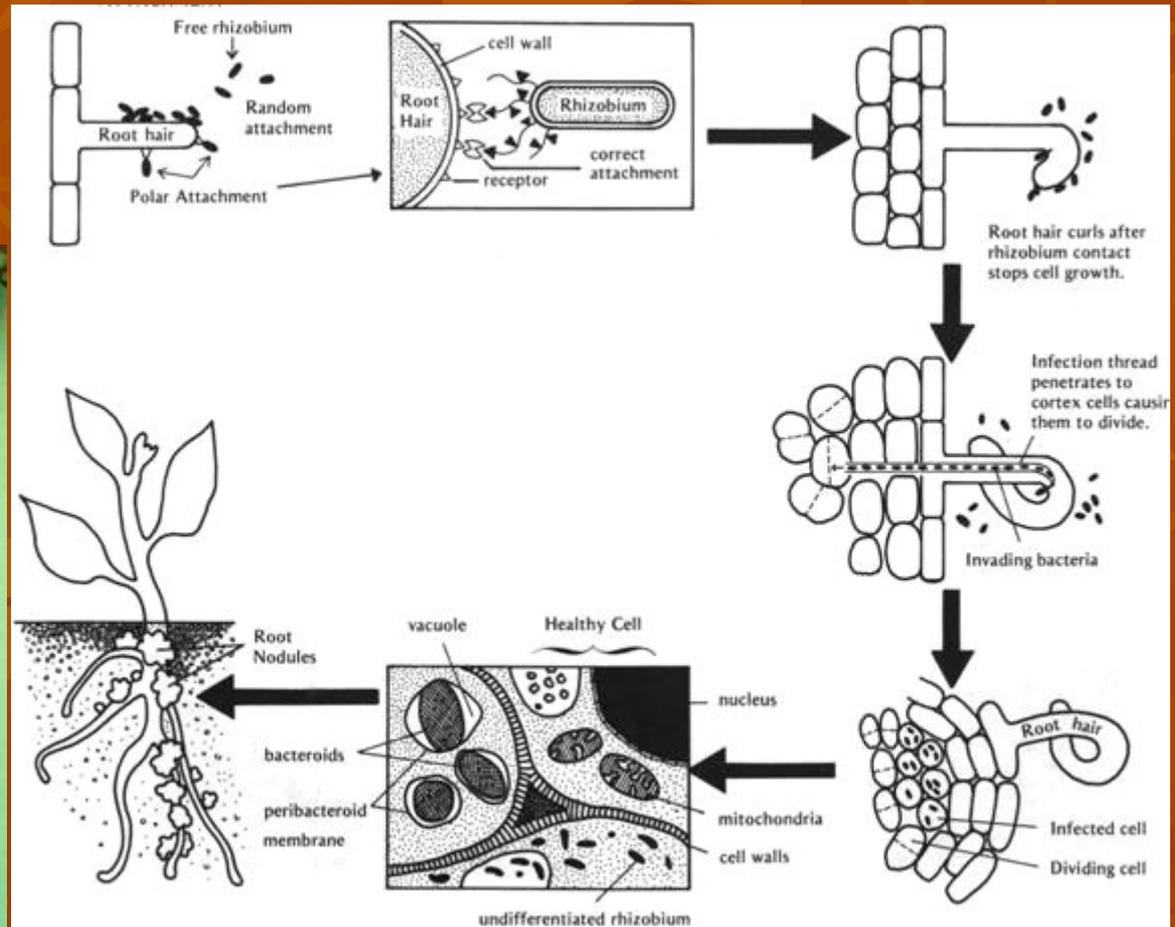
Bactéries fixatrices d'azote

- Certaines plantes légumineuses, arbres et arbustes (*Alnus* et *Hypophae*) réalisent la fixation de N_2 de façon indirecte grâce à la symbiose avec des bactéries (*Rhizobium* et *Frankia*) qui vivent dans des petites tumeurs sur leurs racines appelées nodules.
- Les nodules sont le siège d'une activité symbiotique la plante fournissant les sucres et l'énergie issus de la photosynthèse, et bénéficie en retour des acides aminés qui y sont produits.
- Ces organismes vivent en l'absence de O_2 ou possèdent un pigment fixateur d'oxygène car l'enzyme responsable de la fixation de N_2 ne fonctionne pas en présence d'oxygène.

Bactéries fixatrices d'azote

- Les racines des plantes produisent des substances chimiques de reconnaissance.
- Ces exsudats attirent la bactérie qui fabrique et sécrète des facteurs de nodulation qui lui sont spécifiques et reconnus par la plante hôte.
- La bactérie colonise la racine au niveau d'un poil absorbant et se développe pour atteindre les cellules racinaires. Celles ci se multiplient et forme un nodule.

Bactéries fixatrices d'azote



Bactéries fixatrices d'azote

Les symbioses avec des nodosités sont des fixateurs de N plus efficaces que les bactéries libres.

- Elles disposent d'une structure interne pour l'apport des produits de la photosynthèse.
- Les nodules protègent les bactéries contre la compétition d'autres microorganismes.
- L'enzyme utilisée pour la fixation est protégée de l'O₂ de l'air .
- Elles permettent le transfert des produits de la fixation vers les parties aériennes des plantes hôtes .



Bactéries fixatrices d'azote



Nodules de *Rhizobium* sur
Robinia pseudo acacia



1+0
Nodules de *Rhizobium*
sur *Cytisus alpinum*



2+0

Bactéries fixatrices d'azote



Nodules de *Frankia* sur
Hypophae et *Alnus*

Bactéries fixatrices d'azote

Différences entre *Rhizobium* et *Frankia*

Rhizobium : nodules fugaces, production de leghémoglobine, fixation au niveau de la plante pas de libération de NH_3 dans le sol.

Frankia : nodules pérenns accroissement de la taille des nodules chaque année, pas de leghémoglobine, fournissent 70% de l'azote à la plante et enrichissement de la litière .

Les deux fixent le plus d'azote atmosphérique quand les taux d'azote du sol sont les plus faibles.

Bactéries fixatrices d'azote

Chantier Colas (Argiesans 90)



Alnus cordata nodulés et
endomycorhizés

2006 20/+cm

2007 80/120cm

Reprise 99%

Alnus cordata nodulés
endomycorhizés

2008



Robinia pseudo accacia
nodulés

2006 20/+cm

2007 80/120cm

Reprise 99%



Bactéries fixatrices d'azote



RTM (05)



Hippophae rhamnoides nodulées et
endomycorhizées

Revégétalisation griffes d'érosion sur
sol marneux



Alnus cordata nodulés endomycorhizés
Revégétalisation griffes d'érosion sur sol
marneux

2005 20cm

2006 40/60

Reprise >90%

Bactéries fixatrices d'azote

Applications

- Revégétalisations et restaurations de sol perturbés grâce à l'enrichissement du sol et à l'augmentation de la survie et de la croissance des espèces hôtes .
- Stabilisations de talus et production de fruits comestibles avec les *Hypophae* .
- Amélioration du développement d'espèces ornementales (*Alnus*) ou de bois d'importance économique considérable (*Robinia*).
 - En développant l'utilisation de plants nodulés on limitera l'utilisation d'engrais azotés.

Les pépinières ROBIN

Plants biotisés HAUTE PERFORMANCE®

Ces plants sont de qualité supérieure

Ils offrent :

Une nette amélioration du taux de reprise = suppression des regarnis = économie sur les chantiers

Une augmentation de la croissance juvénile = diminution voir suppression des entretiens des premières années

Ce qui évite également l'emploi de fertilisants chimiques et d'herbicides

Tout en étant plus efficaces ils respectent l'environnement et apportent une réponse aux problèmes de reboisement en condition difficiles et hostiles et aux problèmes de revégétalisation de : carrières, de terrains perturbés et de terrains industriels perturbés ou pollués.