



Analyse spatiale et fonctionnelle de la diversité d'un système symbiotique en milieux insulaire et continental : cas du *Pterocarpus officinalis* (Jacq) et de ses microorganismes associés en forêt marécageuse

Colloque du programme de
recherche ÉCOSYSTÈMES
FORESTIERS, 7-8 Novembre
2006, Paris

G. Béna (IRD)
J.M. Bouvet (CIRAD)
B. Dreyfus (IRD)
M. Dulormne (UAG)
D. Imbert (UAG)
C. Le Roux (CIRAD)
F. Muller (IRD/CIRAD/UAG)
C. Plenchette (INRA)
Y. Prin (CIRAD)
A. Rousteau (UAG)
A. Bâ (UAG)

Contexte du projet

Les forêts marécageuses représentent moins de 2% des terres émergées.

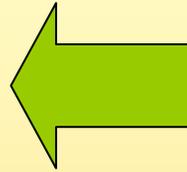
Les forêts marécageuses à *P. officinalis* sont localisées dans le bassin caribéen :

- *P. officinalis* représente $\epsilon\%$ de la strate arborée en milieu continental (ex: Guyane française)
- *P. officinalis* représente 90% de la strate arborée en milieu insulaire (ex: Guadeloupe)

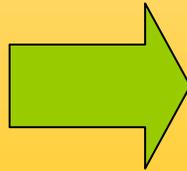




***P. officinalis* régresse à cause de l'extension des infrastructures urbaines et des activités agricoles**



***P. officinalis* pousse sur des sols pauvres (N et P) et périodiquement inondés et/ou salés**





***Pterocarpus officinalis* Jacq**

(*Fabaceae*)

- **Noms communs**
 - Mangle Médaille, Sang-dragon, Moutouchi
- **Localisation géographique**
 - Pourtour de la mer des Caraïbes et Amérique du Sud)
- **Habitat**
 - Arrière Mangrove (salinité et inondation)
 - Bordure de rivière (inondation)
 - Dépressions humides en montagne (inondation)
- **Intérêt**
 - Artisanat
 - Agroforesterie

seed disseminated by floating



pollinated by insect



20-30 Meter height

50 cm diameter

Blood color sap with pharmacology property



Buttress for instability



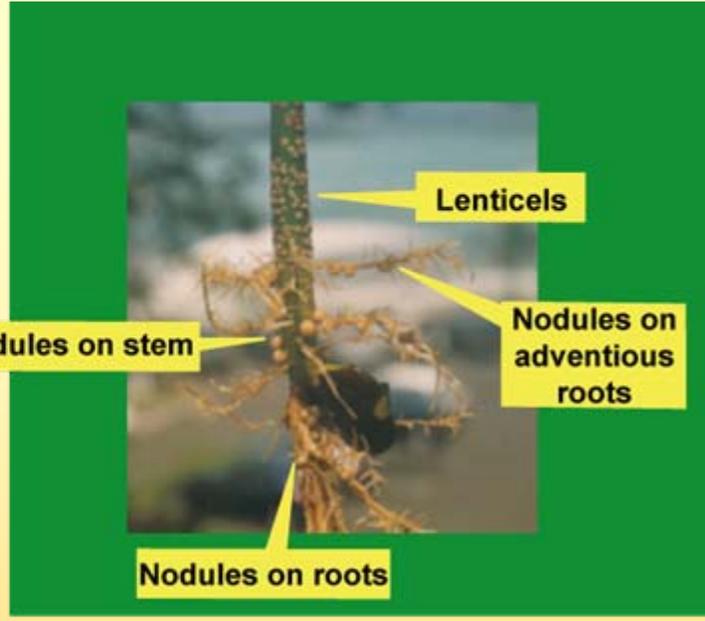
Nodule



symbiose with rhizobium



symbiose with mycorrhizae



Lenticels

nodules on stem

Nodules on adventitious roots

Nodules on roots

Hypothèses à l'origine du projet

Hypothèse 1:

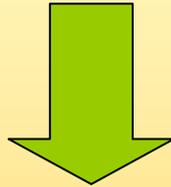
Les diversités génétiques de *P. officinalis* et des rhizobiums se sont structurées et ont évolué conjointement selon différentes échelles spatio-temporelles dans le bassin caribéen

Hypothèse 2:

La tolérance au sel et à l'inondation de *P. officinalis* est renforcée par les associations symbiotiques

Hypothèse 1 :

Les diversités génétiques de *P. officinalis* et de ses rhizobiums se sont structurées et ont évolué conjointement selon différentes échelles spatio-temporelles dans le bassin caribéen



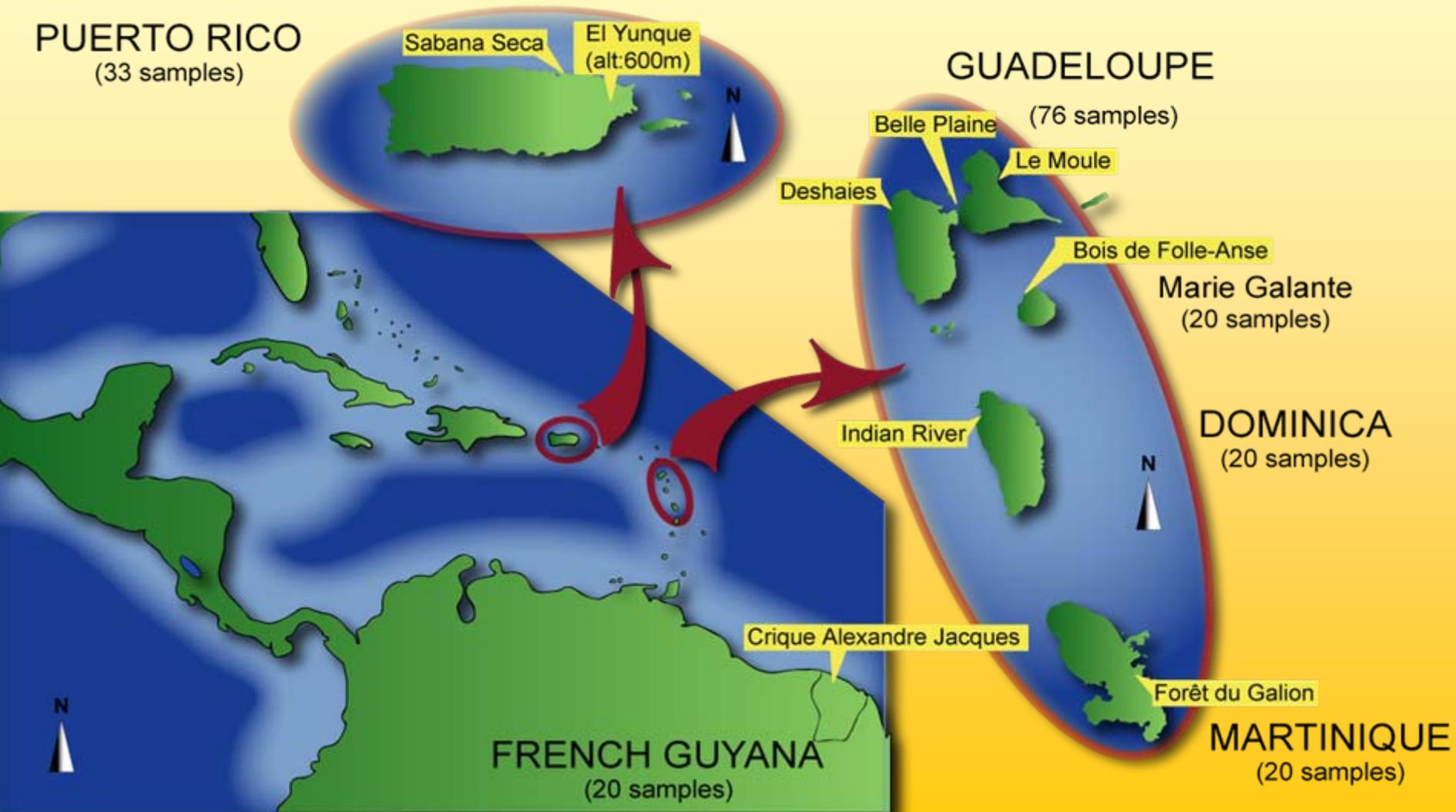
méthodologie :

Caractériser la diversité infra-spécifique de *P. officinalis* et de ses rhizobiums

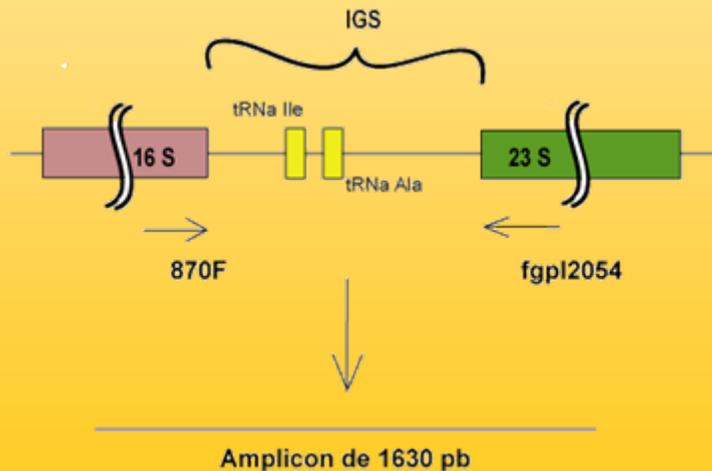
Matériels et méthodes

L'échantillonnage

9 populations de *P. officinalis* réparties sur différentes îles et sur le continent
20 individus échantillonnés par population



- Chez les bactéries
 - 10 nodules ont été récoltés sur chacun des 192 arbres
 - Séquençage de la région intergénique ITS 16S-23S des souches bactériennes



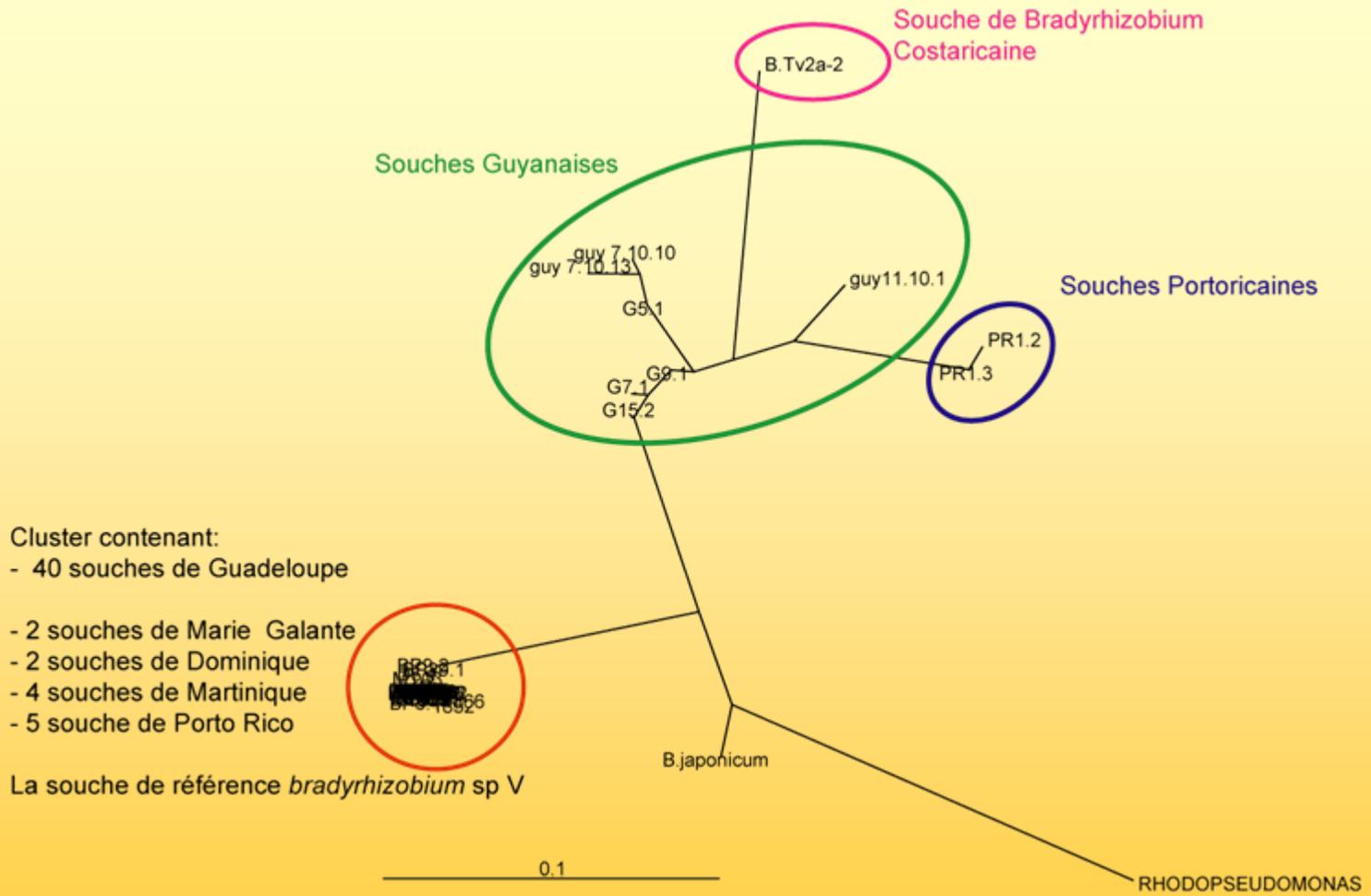


Résultats

Les bactéries



Diversité bactérienne:



- La diversité est plus forte sur le continent que dans les îles
 - Une très forte homologie entre des souches insulaires et *Bradyrhizobium* sp V originaire d'Afrique de l'Ouest



Une forte homologie des souches insulaires:

- sélection, sous fortes contraintes édaphiques, d'une population bactérienne, présentant un fort potentiel infectieux?

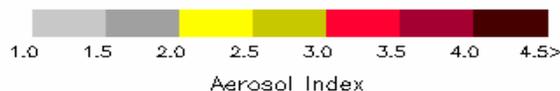
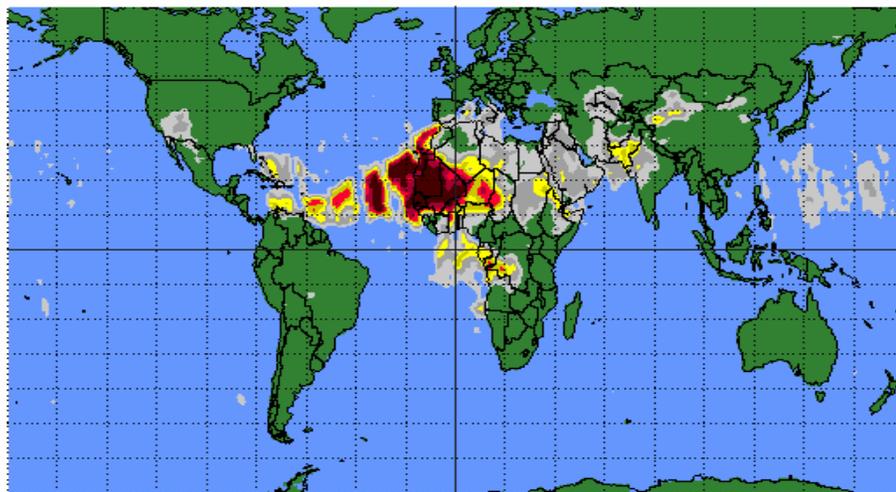
- Un effet de fondation, suivi par un phénomène de dérive accentué en milieu insulaire?

- les deux?

***Bradyrhizobium* sp V a été isolé en Afrique de l'ouest !**

- Un système de dissémination transatlantique (Griffin et al., 2003)?

Earth Probe TOMS Version 8 Aerosol Index
on June 23, 1998



Goddard Space
Flight Center

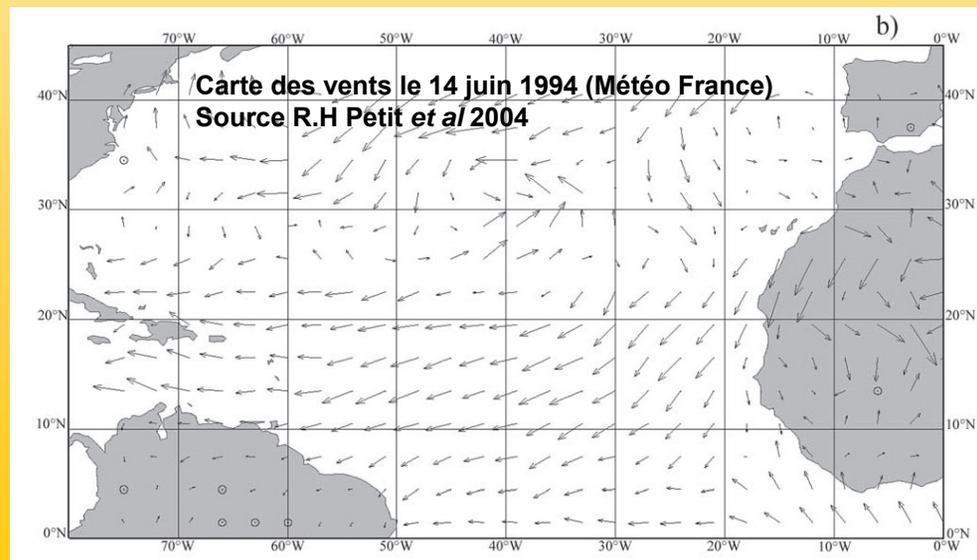
**Le flux de poussières émanant d'Afrique est estimée à 1 milliard de tonnes/an
(Moulin et al., 1997)**

**Pour la Caraïbe l'optimum est situé entre juin et octobre (15° à 25° de latitude nord)
(Graham, 1995)**

Source: http://toms.gsfc.nasa.gov/ep_toms/ep.html

**Apport de poussières pour la Floride: 10 à 100 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{an}$
(Prospero et al., 2005)**

**Estimation de la durée d'un voyage trans Atlantique: 5 à 7 jours
(Griffing et al., 2001)**



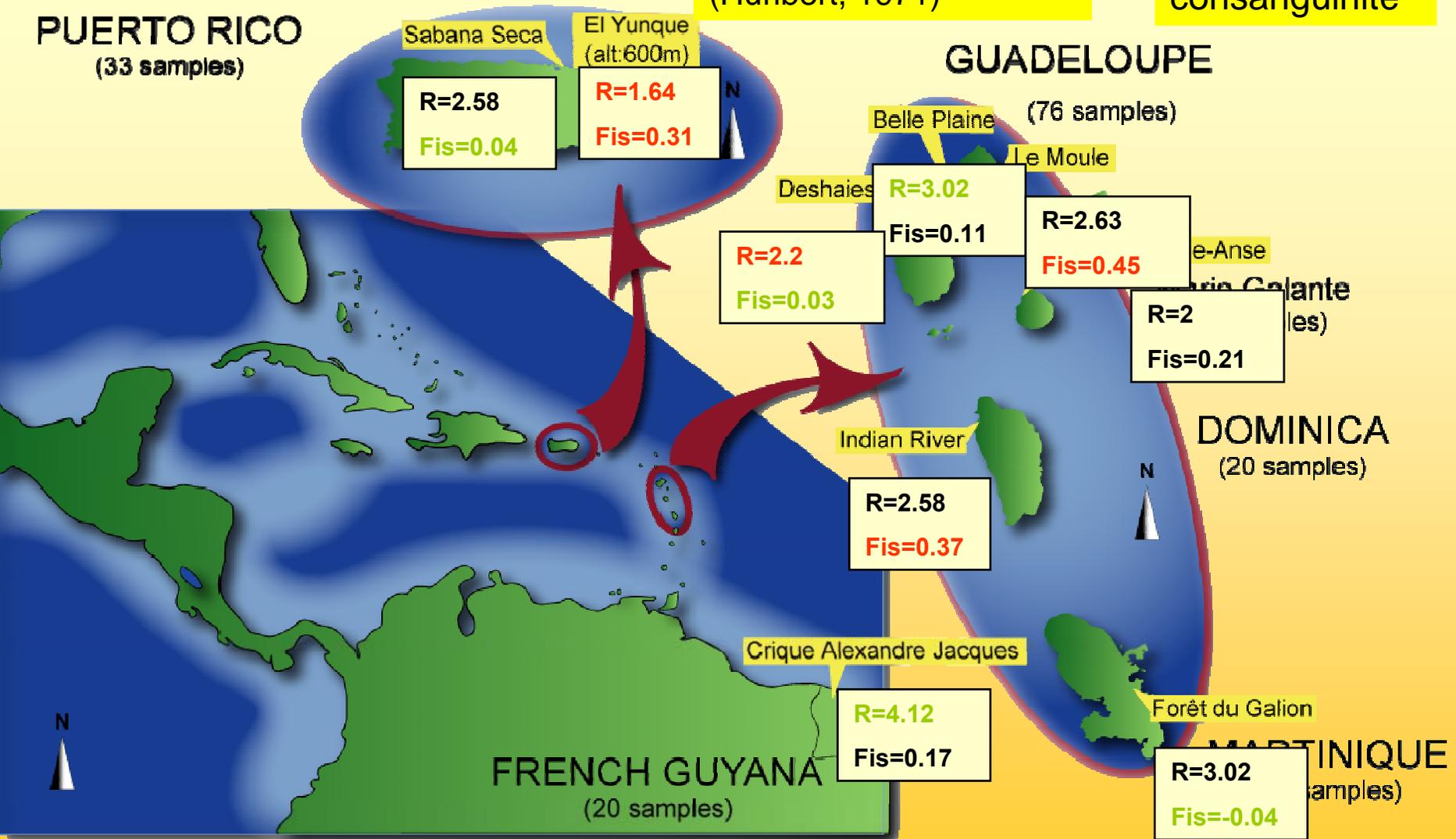


P.officinalis

Microsatellites nucléaires:

R=richesse allèlique
(Hurlbert, 1971)

Fis: Indice de
consanguinité



- La diversité est plus forte sur le continent que dans les îles
- La consanguinité est importante dans certaines populations insulaires



Structuration et dissémination:

Marqueurs nucléaires

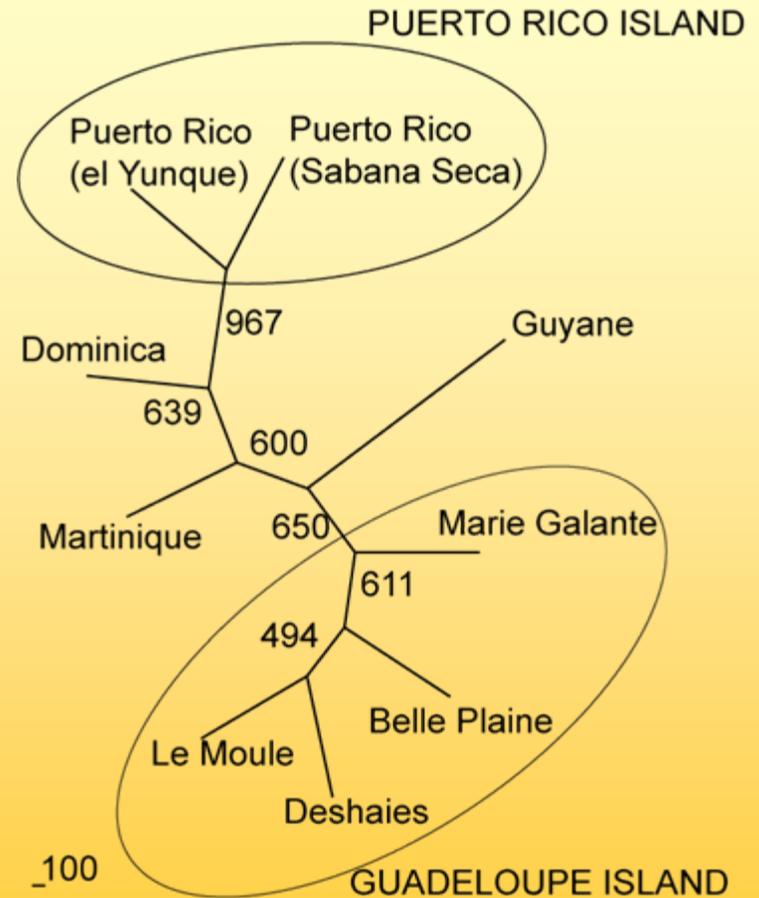
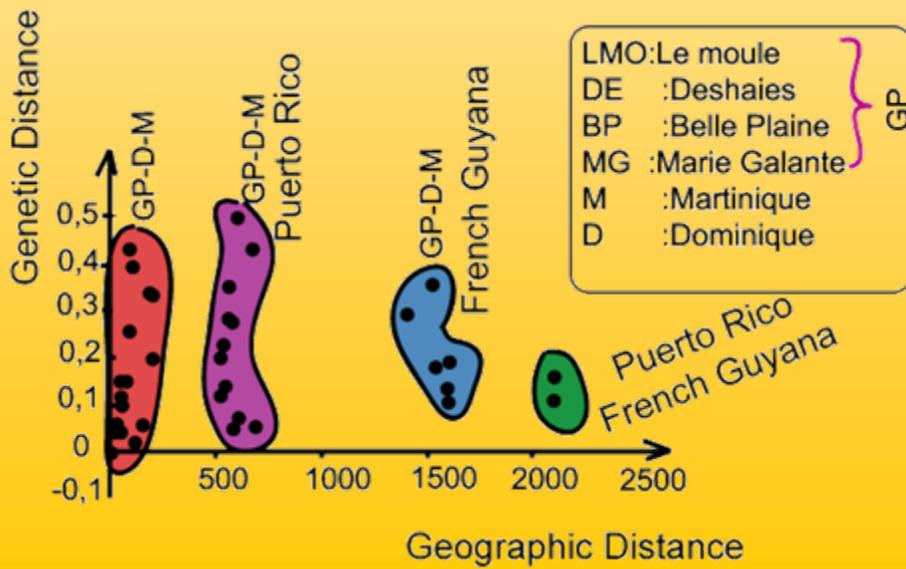
Fst 0,53 (0,06)

Toutes populations confondues / 3 populations guadeloupéennes

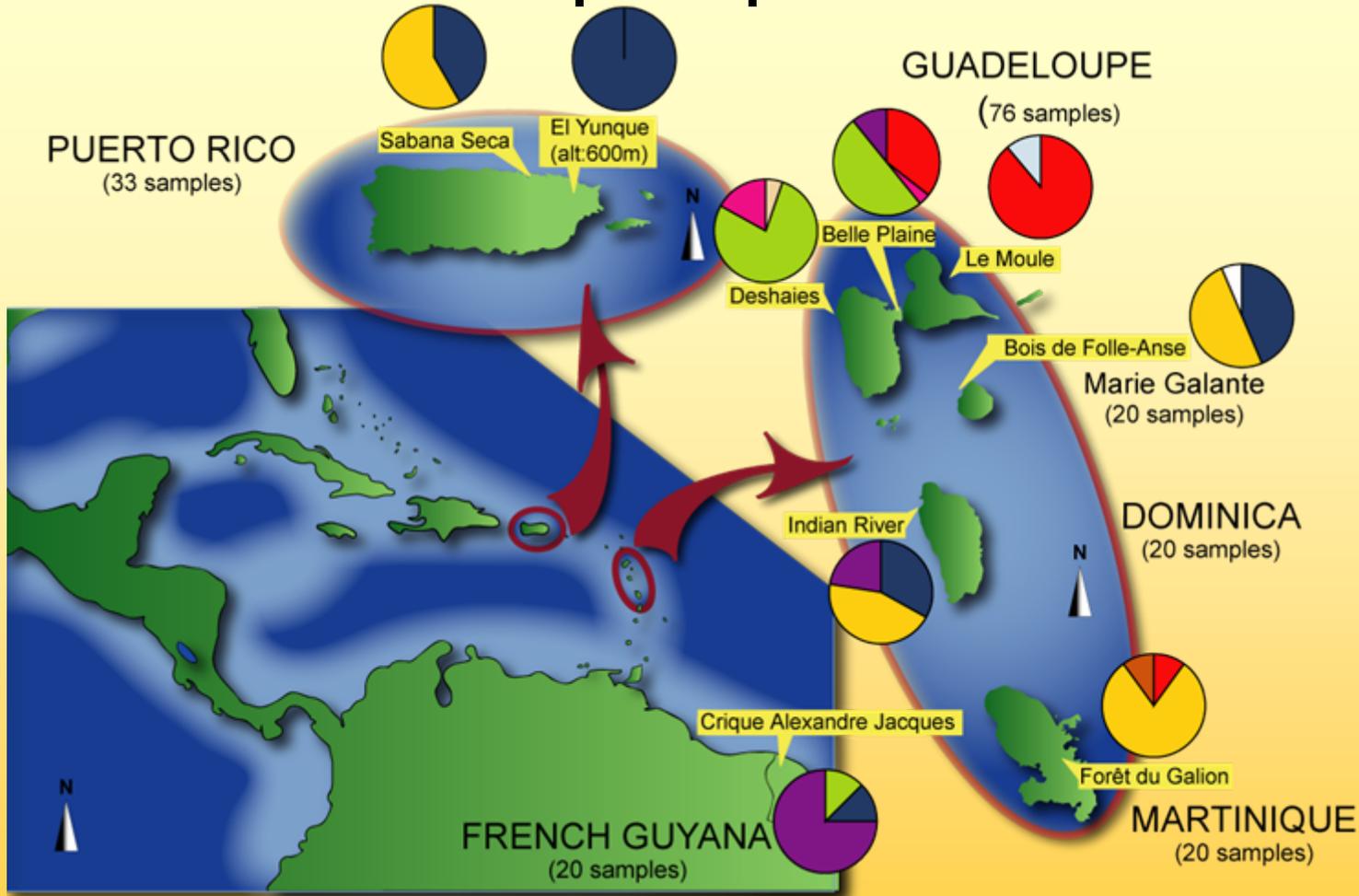
Bibliographie Fst microsatellites:

Espèces insulaires 0,33-0,53

Espèces continentales 0,05-0,22



Microsatellites chloroplastiques:



- Il y a trois chlorotypes majoritaires
- Les populations éloignées présentent des chlorotypes identiques



Dissémination des graines par flottaison?

Structuration et dissémination:

Marqueurs chloroplastiques

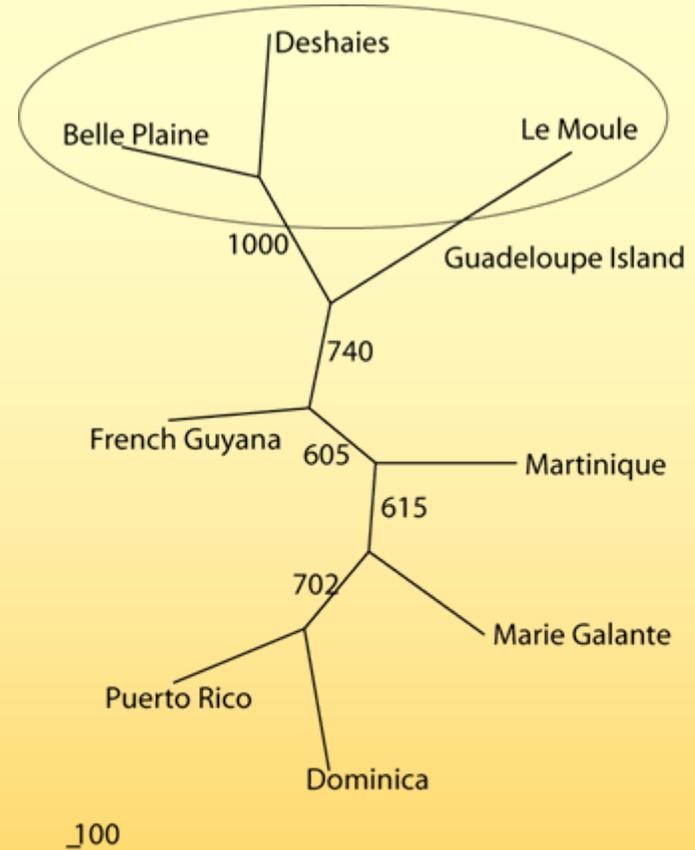
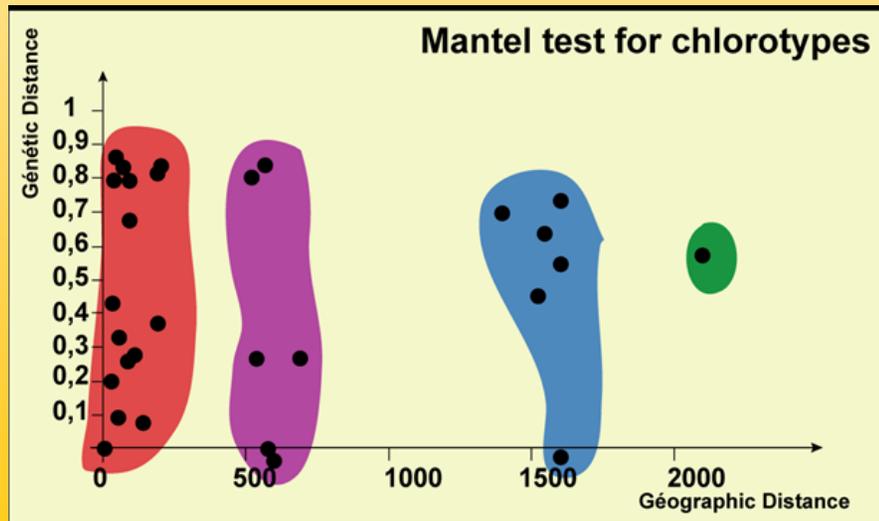
Fst 0,51 (0,46)

Toutes populations confondues / 3 populations guadeloupéennes

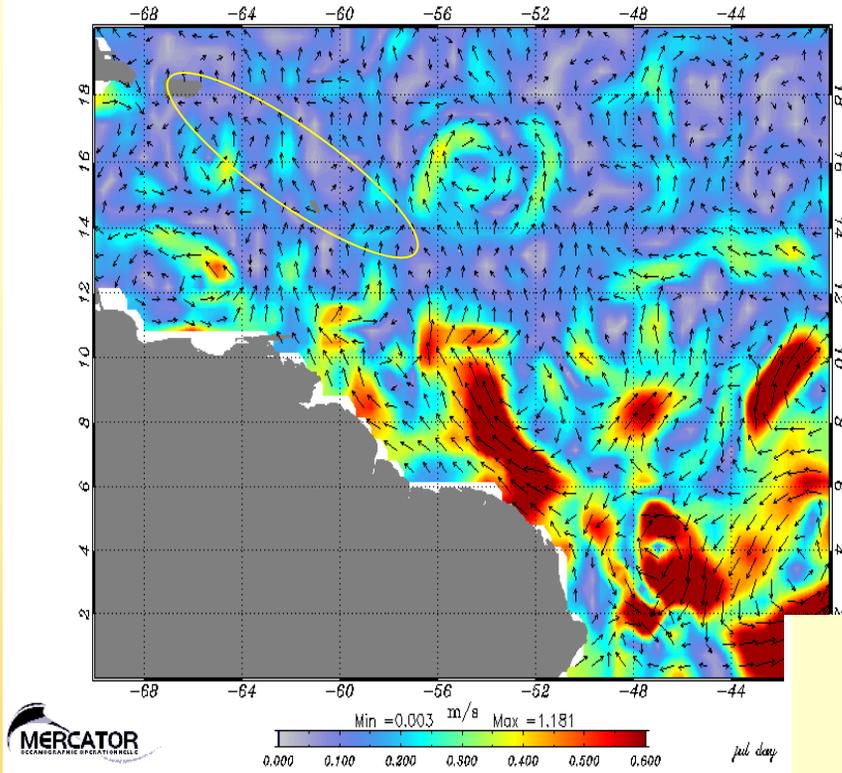
Bibliographie Fst microsatellites:

Espèces insulaire 0,51-0,67

Espèces continentales 0,57-0,84



initial velocity : UV on 28-04-2004 near 0m



**Courants marins
pouvant expliquer les
flux de gènes par
graines**



Phylogéographie de *P.officinalis*:

Forte ressemblance de *P.officinalis* (Caraïbes) avec de *P.giletti* (Afrique de l'ouest)

Pollen de *P.officinalis* en Amérique il y a 5 millions d'années (Graham, 1995)

2 clusters de *P.officinalis* distincts pour Rivera-Occasio et al. (2002)

1 continentale: Venezuela, Panama, Costa Rica

1 insulaire: Guadeloupe, République Dominicaine, Trinidad, Porto Rico



L'importance des courants marins et des flux de gènes sont limités entre les deux clusters

La Guyane occupe une position centrale avec nos marqueurs nucléaires et chloroplastiques

Pas de corrélation entre les distances génétiques et géographiques (tests de Mantel), et absence d'isolement génétique



Les populations des îles seraient-elles originaires des populations du continent (Brésil, Guyanes)?

Principales conclusions

Diversité plus forte sur le continent que dans les îles (bactéries et plantes)

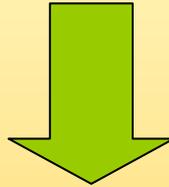
Structure des populations liée à leur modalité de reproduction (plantes)

Origine Africaine des deux symbiotes ?

Consanguinité en milieux insulaires (plantes) et pressions croissantes exercées par l'homme sur ce type de milieux

Hypothèse 2 :

La tolérance au sel et à l'inondation de *P. officinalis* est renforcée par les associations symbiotiques



méthodologie :

Déterminer le rôle des symbioses fixatrices d'azote et mycorhiziennes sur l'adaptation de *P. officinalis* en milieu salé ou inondé

Matériels et méthodes

Expérience 1 : Effet de la salinité sur la croissance et la nutrition azotée de *P. officinalis* inoculé avec deux souches de *Bradyrhizobium* sp (OM2 isolée de milieu salé et OM6 isolée de milieu non salé) ($P < 5\%$) (Dulormne *et al.*, en préparation)

Expérience à 2 facteurs:

Facteur « salinité » à 3 niveaux : 0, 10 et 20 g/l de NaCl

Facteur « inoculation » à 3 niveaux : témoin, *Bradyrhizobium* sp. OM2, *Bradyrhizobium* sp. OM6

9 traitements

10 répétitions par traitement

Randomisation totale

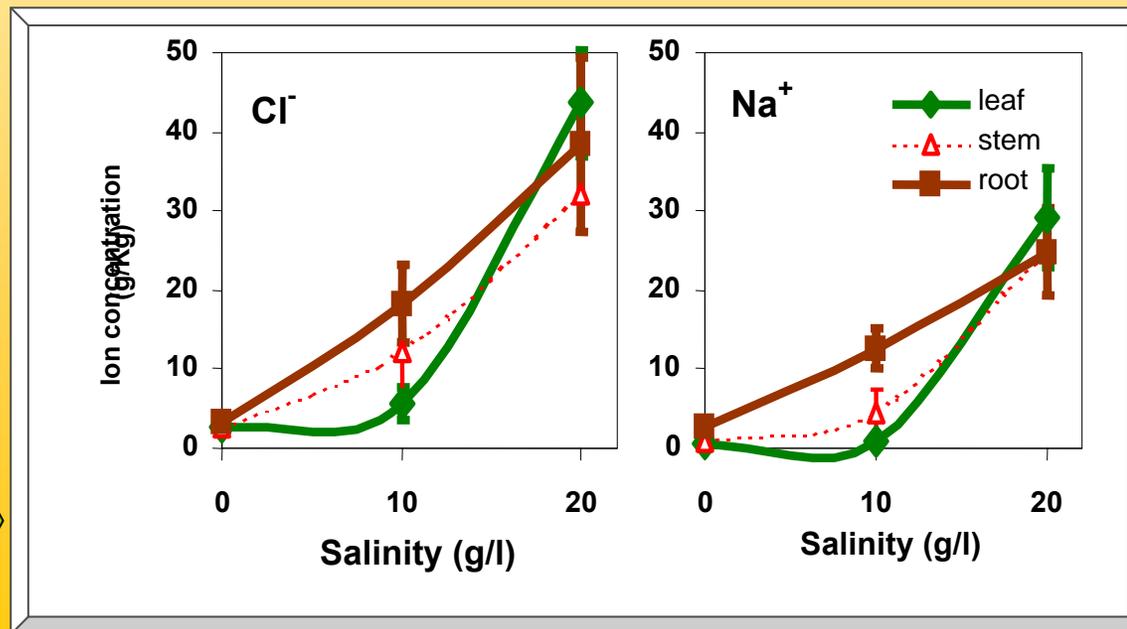
Durée: 4 mois en serre

Résultats

NaCl (g/l)	Inoculation	Hauteur (cm)	Nombre de nodules	Fixation d'azote ($\mu\text{mol C}_2\text{H}_4/\text{h/g}$ de nodules secs)	Azote foliaire (%)	Biomasse totale (g)
0	T̄ moin	28,9 a	0 a	0,00 a	1,24 a	2,7 a
	OM2	38,5 b	100 b	6,53 b	2,31 bc	3,6 b
	OM6	35,3 b	90 b	6,55 b	2,43 b	4,0 b
10	T̄ moin	28,6 a	0 a	0,00 a	1,66 ac	2,3 ac
	OM2	28,5 a	37 c	0,00 a	1,91 abc	2,1 ac
	OM6	28,0 a	14 c	0,17 b	2,63 bc	2,0 c
20	T̄ moin	17,0 c	0 a	0,00 a	1,91 bc	0,3 d
	OM2	19,8 c	0 a	0,00 a	2,39 bc	0,6 d
	OM6	20,4 c	0 a	0,00 a	2,60 bc	0,8 d

- La salinité a un effet dépressif sur la symbiose fixatrice d'azote chez *Pterocarpus* quelque soit l'origine de la bactérie

- Pterocarpus* tolère jusqu'à 10 g/l de NaCl en séquestrant les ions toxiques Na^+ et Cl^- dans les racines



Expérience 2 : Effet de l'inoculation avec *Glomus intraradices* (Gi) et *Bradyrhizobium* sp. (Br) sur la croissance et la nutrition de *Pterocarpus officinalis* en milieu inondé ($p < 5\%$) (Fougnies *et al.* 2006).

Expérience à 2 facteurs:

Facteur « régime hydrique » à 2 niveaux : inondé, non inondé

Facteur « inoculation » à 3 niveaux : témoin, *Bradyrhizobium* sp., *Glomus intraradices*

6 traitements

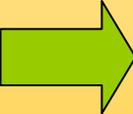
10 répétitions par traitement

Randomisation totale

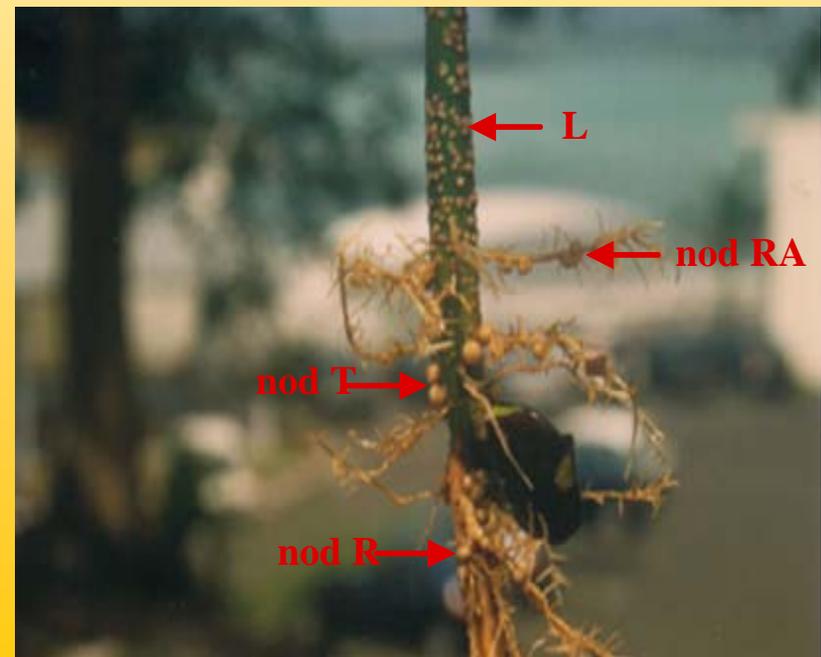
Durée: 4 mois en serre

Résultats

Treat ments	Number of nodules	Nitro gen fixation ($\mu\text{mol C}_2\text{H}_4/\text{h} / \text{g}$)	N in leaves (%)	AM colonization (%)	P in leaves (%)	Number of adventitious roots	Total Biomass (g)
<i>Flooded</i>							
Control	5.3 a	1.7 a	1.5 a	0.0 a	0.05 a	4.1 b	5.8 bc
Gi	3.3 a	1.8 a	1.4 a	66.1 d	0.10 c	4.6 b	7.1 d
Br	44.6 bc	9.0 b	2.1 b	0.0 a	0.06 ab	4.1 b	6.7 cd
Gi + Br	60.3 c	8.4 b	2.2 b	69.6 d	0.11 c	4.8 b	7.6 d
<i>Non-flooded</i>							
Control	1.3 a	0.0 a	1.5 a	0.0 a	0.07 b	0.0 a	3.6 a
Gi	8.5 a	1.8 a	1.4 a	28.6 b	0.11 c	0.0 a	5.6 bc
Br	50.5 c	8.3 b	2.2 b	0.0 a	0.06 ab	0.0 a	4.7 b
Gi + Br	31.8 b	6.9 b	2.2 b	44.7 c	0.13 c	0.0 a	4.8 b

- ***Pterocarpus* pousse mieux en milieu inondé grâce au développement de lenticelles, de racines adventives et d'aérenchymes** 

- ***Glomus intraradices* améliore la croissance et la nutrition en P de *Pterocarpus* en milieu inondé**



Conclusions et perspectives

Au niveau génétique:

- La diversité est plus faible dans les îles que sur le continent
- Appauvrissement génétique inquiétant de certaines populations insulaires de *Pterocarpus*
- Étayer l'échantillonnage (Costa Rica, Venezuela, Trinidad) et le marquage pour comprendre la co-variation entre *Pterocarpus* et ses rhizobiums

Au niveau fonctionnel :

- *Pterocarpus* et ses bactéries ne tolèrent pas le NaCl>10g/l;
- La tolérance à l'inondation de *Pterocarpus* est renforcée par le champignon;
- Quel est le rôle des symbioses dans l'adaptation du *Pterocarpus* à l'inondation et à la salinité en arrière de la mangrove?

Résultats pouvant contribuer à la politique de conservation de l'espèce:

- définition des populations à conserver
- techniques de restauration