

# Impact des variations géographiques et temporelles sur le fonctionnement des communautés symbiotiques associées à *Acacia mangium*: diversité en zone d'origine et adaptation en zone d'introduction

*Perrineau M.M., Le Roux C., Galiana A., Ducouso M., Miana de Faria S., Duponnois R., Faye A., Goh D., Reddell P., Béna G. et Prin Y.*

# La famille des Leguminosae (Fabaceae)

– 650 genres, 18 000 espèces

– Trois sous-familles:

– **Papilionoideae** (nodulées à 97%)

» 13 400 espèces (herbacées à arborescentes, tempérées à tropicales)

– **Mimosoideae** (nodulées à 95%)

» 2 700 espèces (ligneux pérennes, tropicales)

– **Caesalpinioideae** (nodulées à 26%)

» 1 900 espèces (ligneux pérennes, tropicales)



## Le genre *Acacia* :

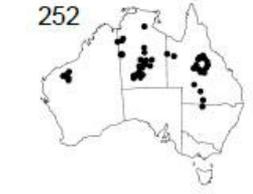
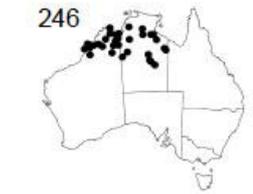
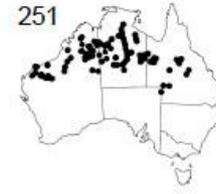
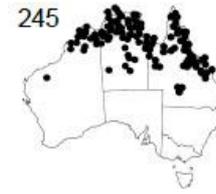
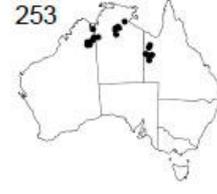
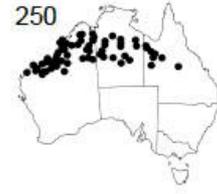
- Mimosoideae
- Environ 1400 espèces
- 960 in Australia
- 185 in the Americas
- 142 in Africa
- 73 in Asia

QuickTime™ et un  
décodeur vidéo  
sont requis pour visionner cette image.

QuickTime™ et un  
décodeur vidéo  
sont requis pour visionner cette image.



*Acacia mangium*, NQld, Aus



241. *Acacia cincinnata* (170)

244. *Acacia grandifolia* (172)

247. *Acacia pellita* (176)

250. *Acacia coleii* (178)

253. *Acacia thomsonii* (181)

242. *Acacia spirorbis*  
subsp. *solandri* (171)

245. *Acacia holosericea* (173)

248. *Acacia nesophila* (176)

251. *Acacia elachantha* (179)

254. *Acacia gonoclada* (182)

243. *Acacia mangium* (172)

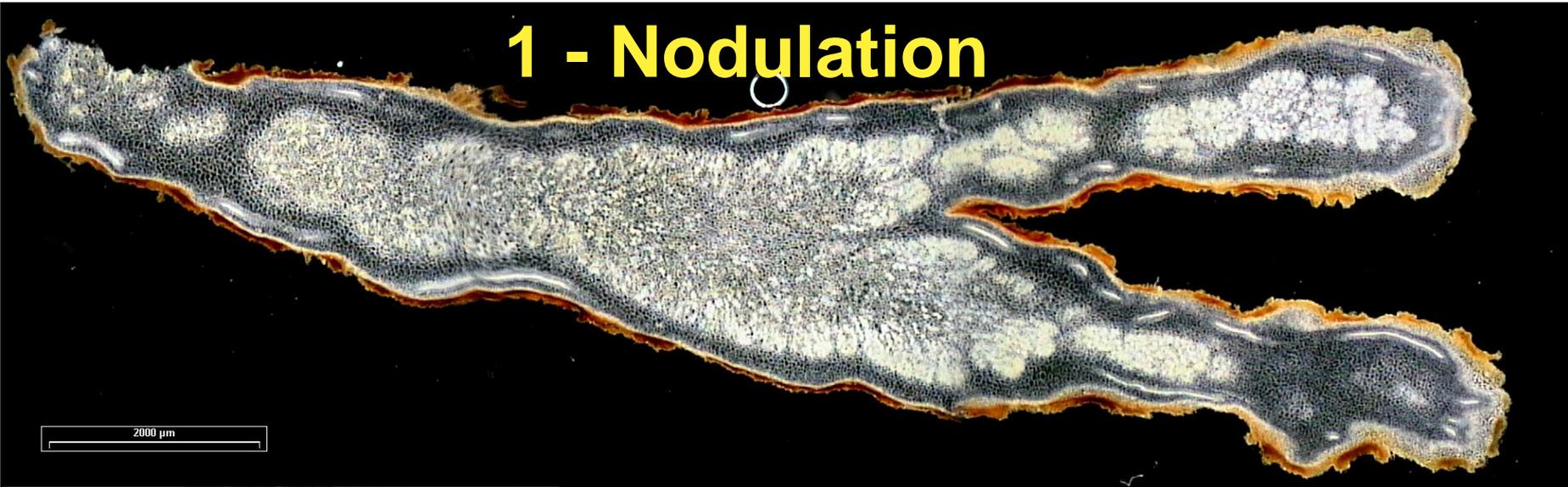
246. *Acacia neurocarpa* (174)

249. *Acacia sericiflora* (178)

252. *Acacia cowleana* (180)

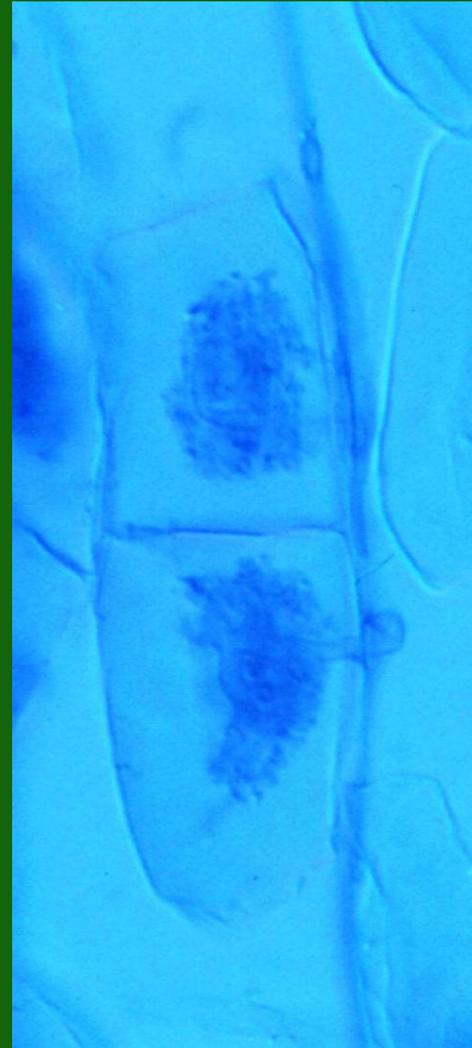
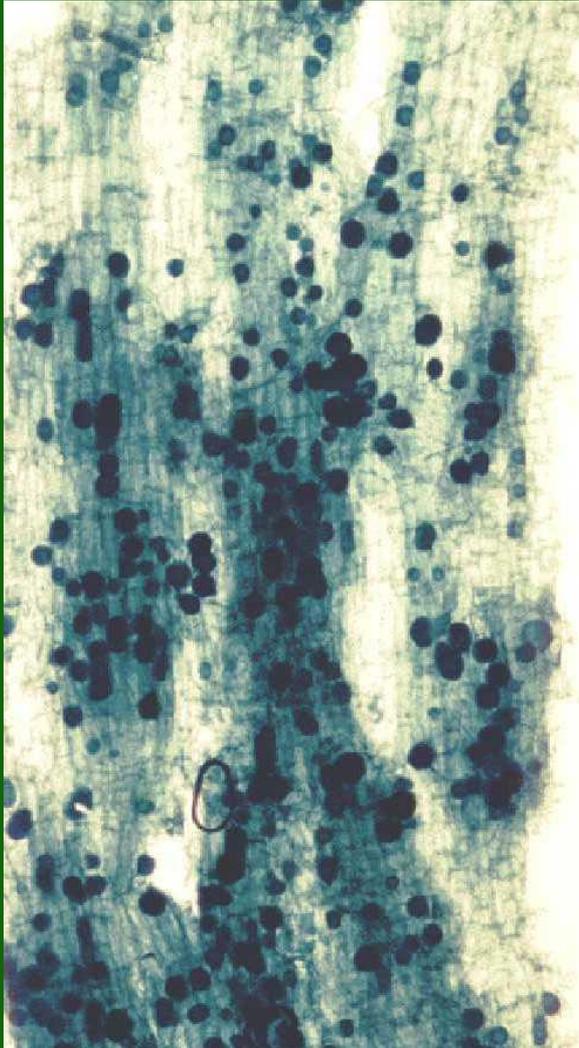
255. *Acacia laccata* (182)

# 1 - Nodulation



*Bradyrhizobium Aust13c*

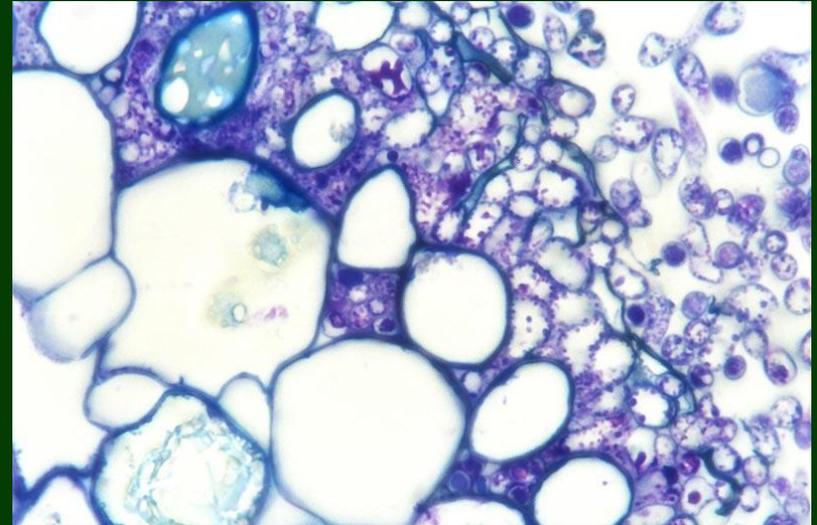
## 2 - Mycorrhization arbusculaire



# 3 - Ectomycorrhization



*Russula sp.*, N Qld, Australia



## Taxon / Pays

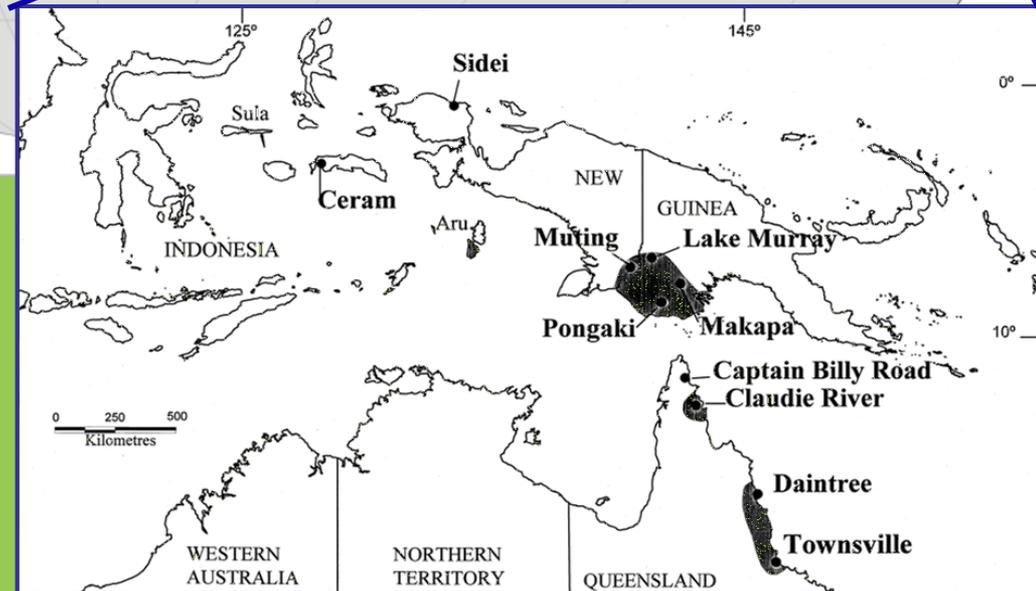
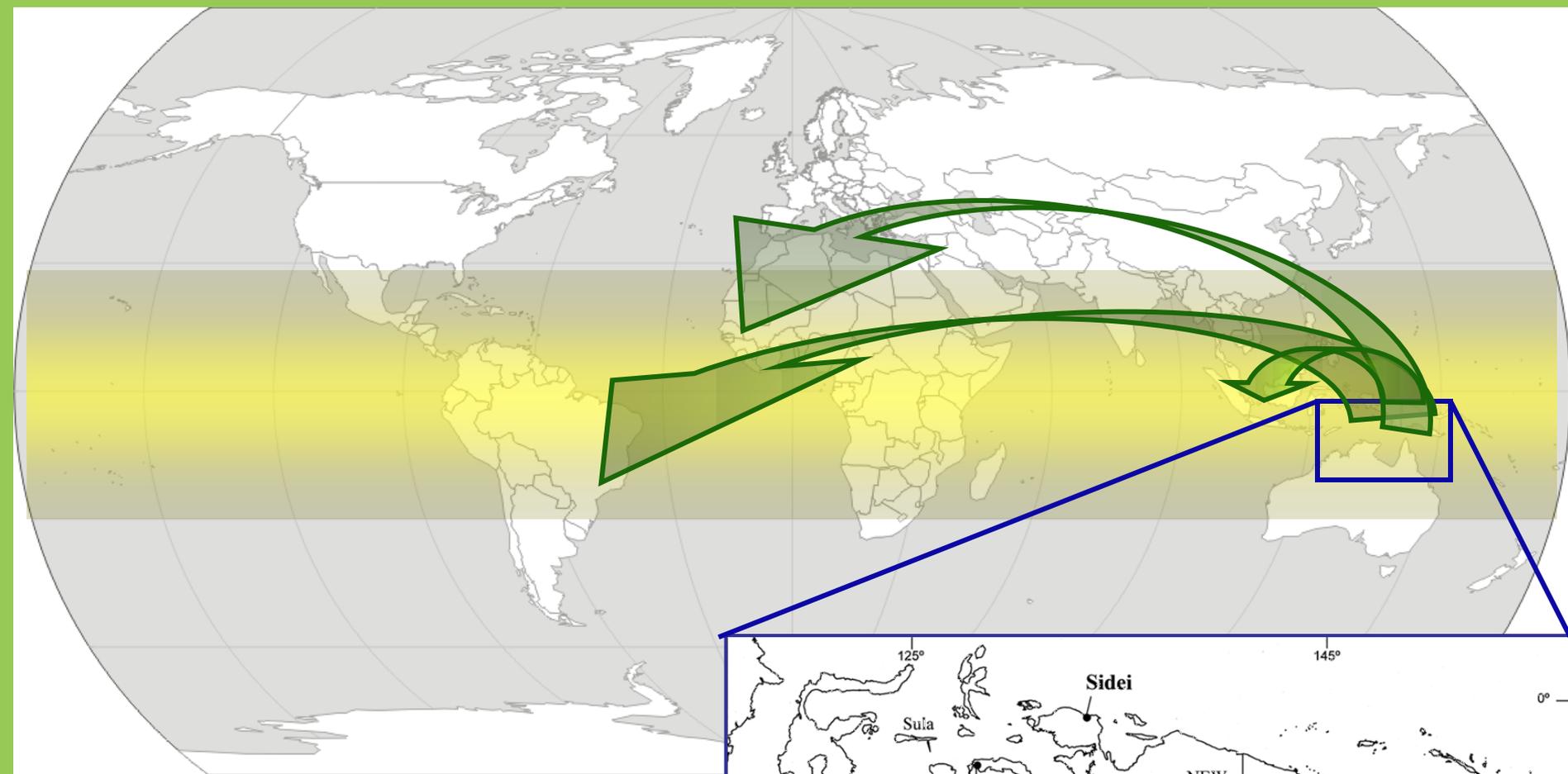
*Scleroderma sp.*/Congo  
*Pisolithus sp.*/Madagascar  
*Scleroderma sp.*/Madagascar  
*Xerocomus sp.*/Madagascar  
*Thelephora ramarioides*/Malaysia  
*Pisolithus albus* / Sénégal  
*Thelephora ramarioides*/Singapour

## Ectomycorrhizes

Whitish, sinuous  
Yellow-gold, straight  
Whitish, sinuous  
Yellow-brown, hairy  
Dark-brown  
Yellow-gold, straight  
Dark-brown



*Lactarius wirrabara*, N Qld, Australia



**1973 : premiers essais en plantation (Sabah)**

**2003 : plus de 800 000 ha plantés**

Jean Weber · Marc Ducouso · Foong Yee Tham ·  
Sophie Nourissier-Mountou · Antoine Galiana ·  
Yves Prin · Sing Kong Lee

## Co-inoculation of *Acacia mangium* with *Glomus intraradices* and *Bradyrhizobium* sp. in aeroponic culture



Agroforestry Systems 40: 297–307, 1998.  
© 1998 Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherlands.

## Improvement of nitrogen fixation in *Acacia mangium* through inoculation with rhizobium

A. GALIANA<sup>1,\*</sup>, G. M. GNAHOUA<sup>2</sup>, J. CHAUMONT<sup>1</sup>, D. LESUEUR<sup>1</sup>,  
Y. PRIN<sup>1</sup> and B. MALLET<sup>1</sup>  
<sup>1</sup> CIRAD-Forêt, Campus international de Baillarguet, Montferrier-Sur-Lez, BP 5035  
34032 Montpellier, Cedex 1, France; <sup>2</sup> Institut des Forêts-Département de la Foresterie  
(IDEFOR/DFO), 08BP33 Abidjan 08, Côte d'Ivoire (\*Author for Correspondence: E-mail  
galiana@cirad.fr)

APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY, Nov. 1994, p. 3974–3980  
0099-2240/94/\$04.00+0  
Copyright © 1994, American Society for Microbiology

## Inoculation of *Acacia mangium* with Alginate Beads Containing Selected *Bradyrhizobium* Strains under Field Conditions: Long-Term Effect on Plant Growth and Persistence of the Introduced Strains in Soil

ANTOINE GALIANA,<sup>1\*</sup> YVES PRIN,<sup>1</sup> BERNARD MALLET,<sup>2</sup> GUY-MODESTE GNAHOUA,<sup>3</sup>  
MIREILLE POITEL,<sup>1</sup> AND HOANG GIA DIEM<sup>1</sup>

Journal of Tropical Forest Science 19(2): 103–112 (2007)

103

## EFFECTS OF NITROGEN SOURCE ON THE GROWTH AND NODULATION OF *ACACIA MANGIUM* IN AEROPONIC CULTURE

J. Weber<sup>1,2,3,\*</sup>, F. Y. Tham<sup>3</sup>, A. Galiana<sup>3</sup>, Y. Prin<sup>1</sup>, M. Ducouso<sup>1</sup> & S. K. Lee<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire des Symbioses Tropicales et Méditerranéennes, UMR 113 Agro-M / CIRAD / INRA / IRD / Université Montpellier II, TA 10/J Campus International de Baillarguet, 34398 Montpellier Cedex 5, France

<sup>2</sup>UMR INRA-University H. Poincaré Nancy, Interactions Arbres / Microorganismes, Faculté des Sciences, BP239, 54506 Vandœuvre-lès-Nancy Cedex, France

<sup>3</sup>National Institute of Education, Nanyang Technological University, Natural Sciences and Science Education, 1 Nanyang Walk, Singapore 637616

Vol. 60, No. 11

**Dans ce contexte :**

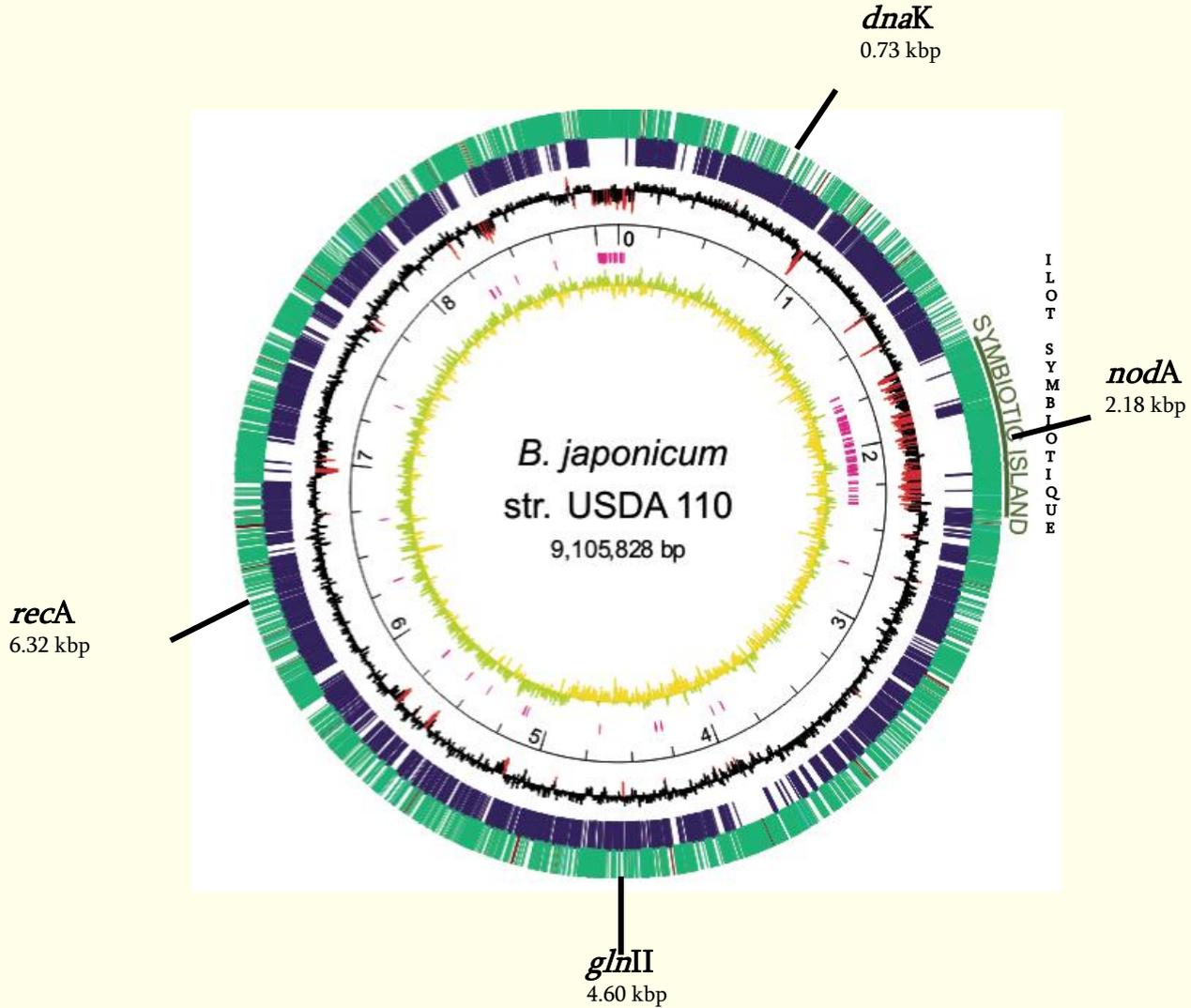
**1- Dans une forêt tropicale non perturbée, dans son aire d'origine, comment la diversité des symbiotes bactériens a-t-elle évolué sur 20 ans ?**

**2- Lors de son introduction hors de son aire d'origine, sans son cortège symbiotique originel, avec quels partenaires microbiens *Acacia mangium* a-t-il réalisé sa symbiose ?**

**3- Dans le cas où les plantations d'*A. mangium* ont été faites en association avec des souches sélectionnées, que sont devenues ces souches ?**



**Méthodologie**



## 1- Isolement des souches nodulantes

Pays	Année	Isolement	Isolats re-nodulants
Australie	1986	Serre	76
Australie	2007	Serre	103
Australie	2007	Broyat direct	69
Australie	2009	Broyat direct	109
Malaisie	2007	Broyat direct	61
Sénégal	2007	Broyat direct	52
Brésil	2007/09	Broyat direct	96
Total			566



Essai d'inoculation de Luasong, 15 ans après sa mise en place

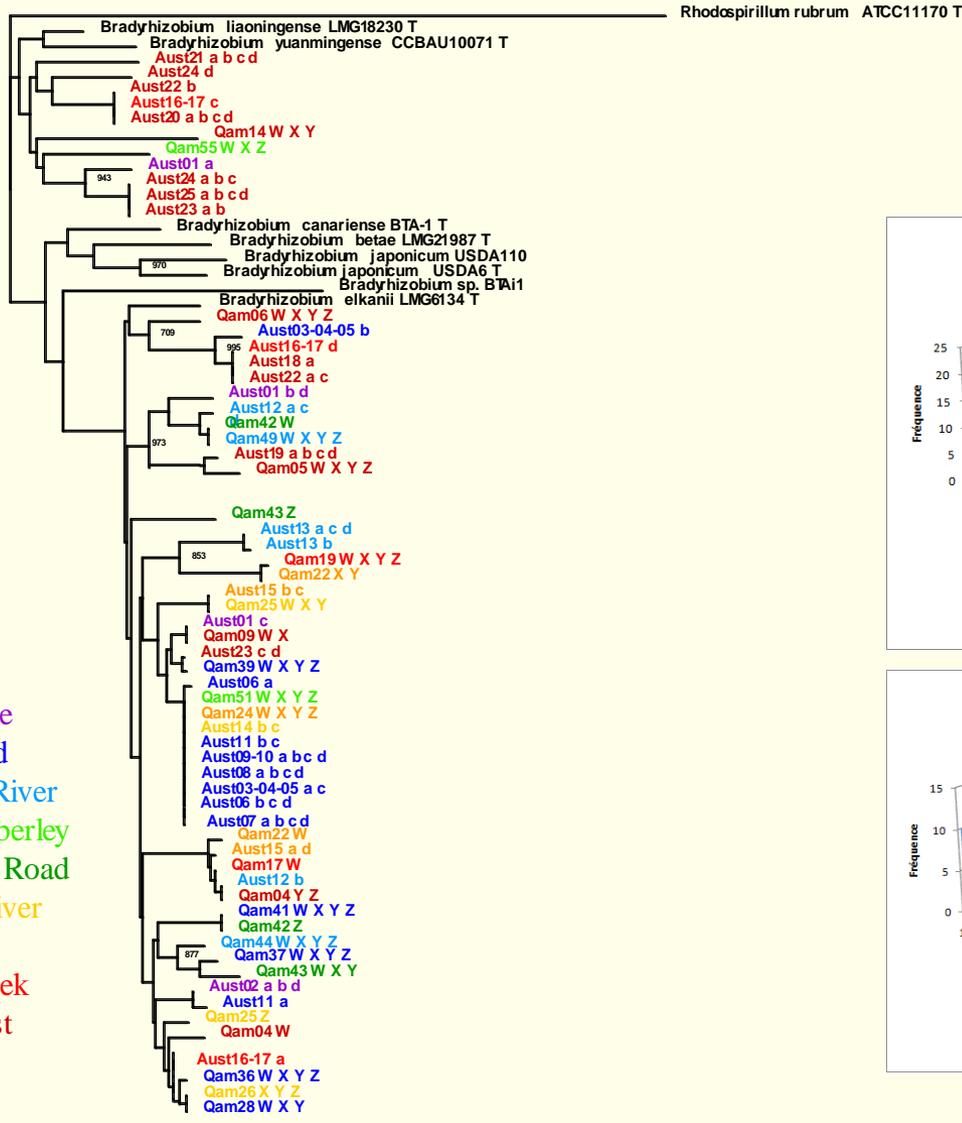


Essai de revégétalisation à Porto Trombetas

<b>Pays</b>	<b>Site</b>	<b>Inoculum</b>	<b>Age à la récolte</b>	<b>Isolats renodulants</b>
Brésil	Seropedica	BR3609 et BR6009	5 mois	15
Brésil	Porto Trombetas	BR3609 et BR6009	8 ans	18
Brésil	Itatinga	BR3609 et BR6009	6 ans	22
Malaisie	Luasong	Aust11c ou Aust 13c	15 ans	28
Sénégal	Richard Toll	Aust 13c	5 ans	25

Résultats

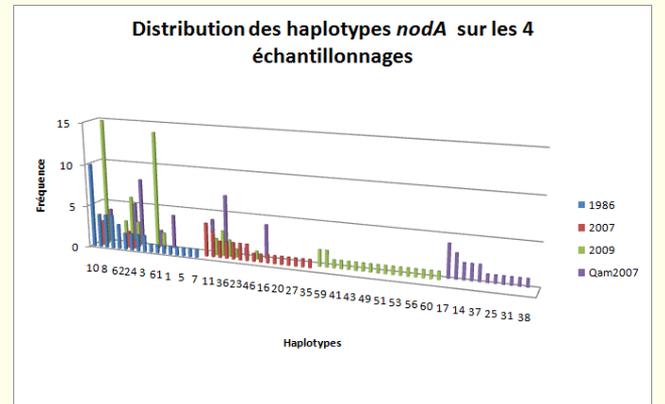
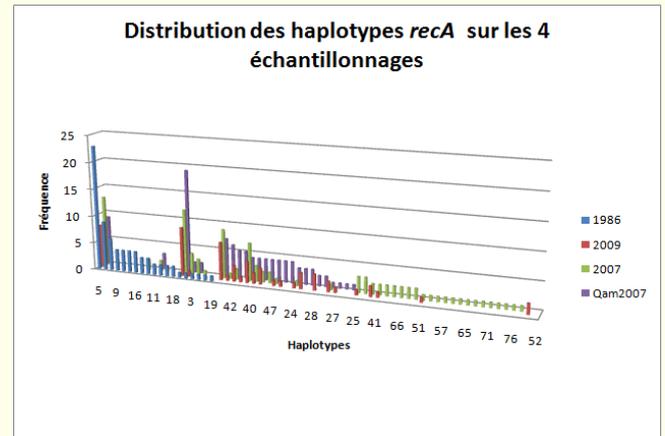
1- Dans une forêt tropicale non perturbée, dans son aire d'origine, comment la diversité des symbiotes bactériens a-t-elle évolué sur 20 ans ?



- Iron Range
- Bloomfield
- Daintree River
- Cape Kimberley
- Mossman Road
- Murray River
- Ellerbeck
- Arnot Creek
- Lannercost

*recA*

0.1

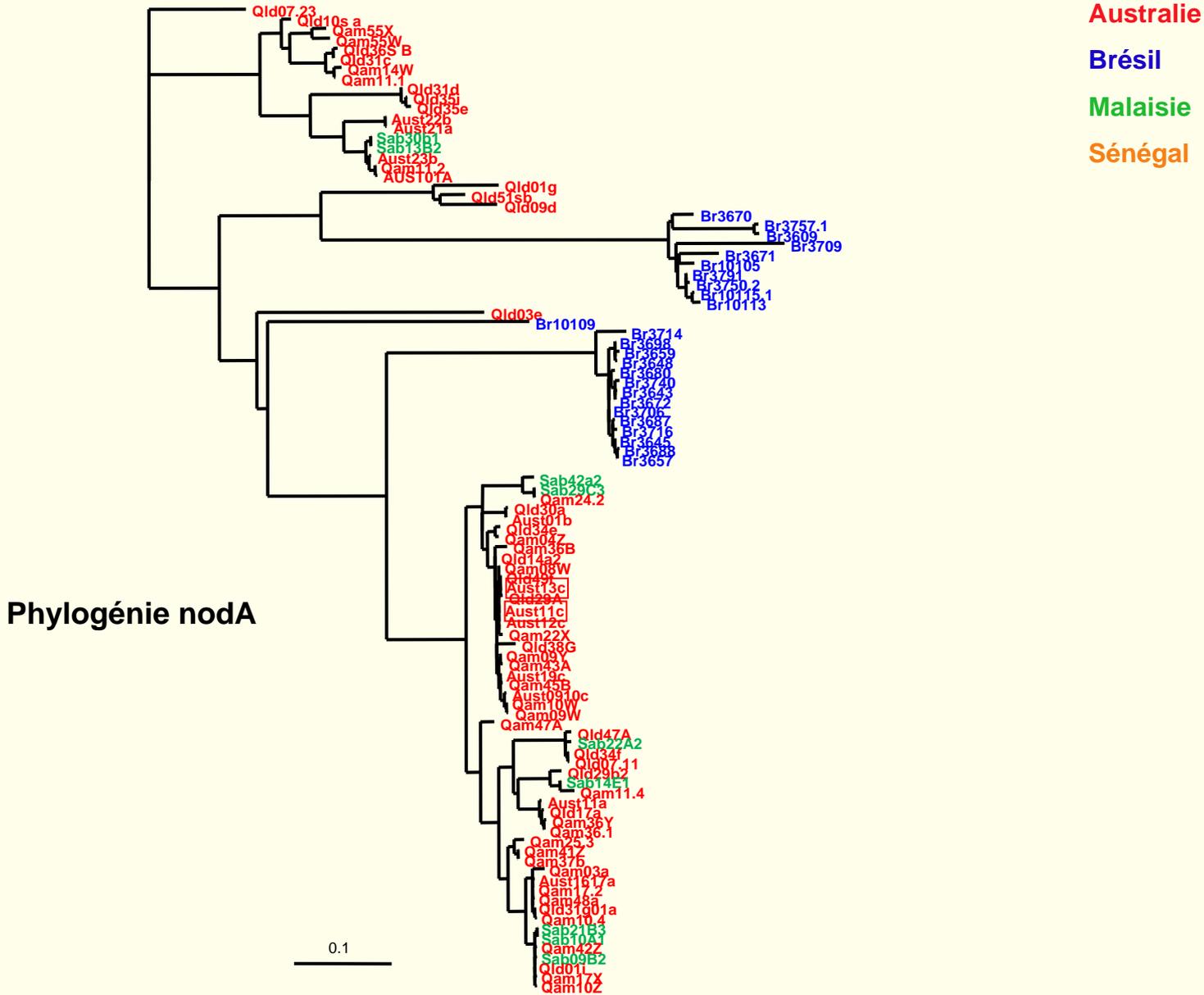


## 1- Conclusion aire d'origine:

- Diversité restreinte au genre *Bradyrhizobium*, mais majoritairement plus proche de l'espèce *B. elkanii* : Il existe une vraie spécificité d'*A.mangium*
- Sur 20 ans, on a une modification de la composition des populations bactériennes, mais pas de perte de diversité (les estimateurs de diversité sont constants entre les années)
- Certains haplotypes sont retrouvés sur les 20 ans: Evolution lente de cette diversité.
- Pas de structuration géographique importante de la diversité génétique en fonction du peuplement échantillonné : il suffit de se focaliser sur un site pour récupérer une diversité bactérienne importante



2 - Dans les zones d'introduction, sans inoculation, et par rapport à l'aire d'origine, avec quels partenaires bactériens *Acacia mangium* a-t-il réalisé sa symbiose ?



## 2 - Conclusion zones d'introduction

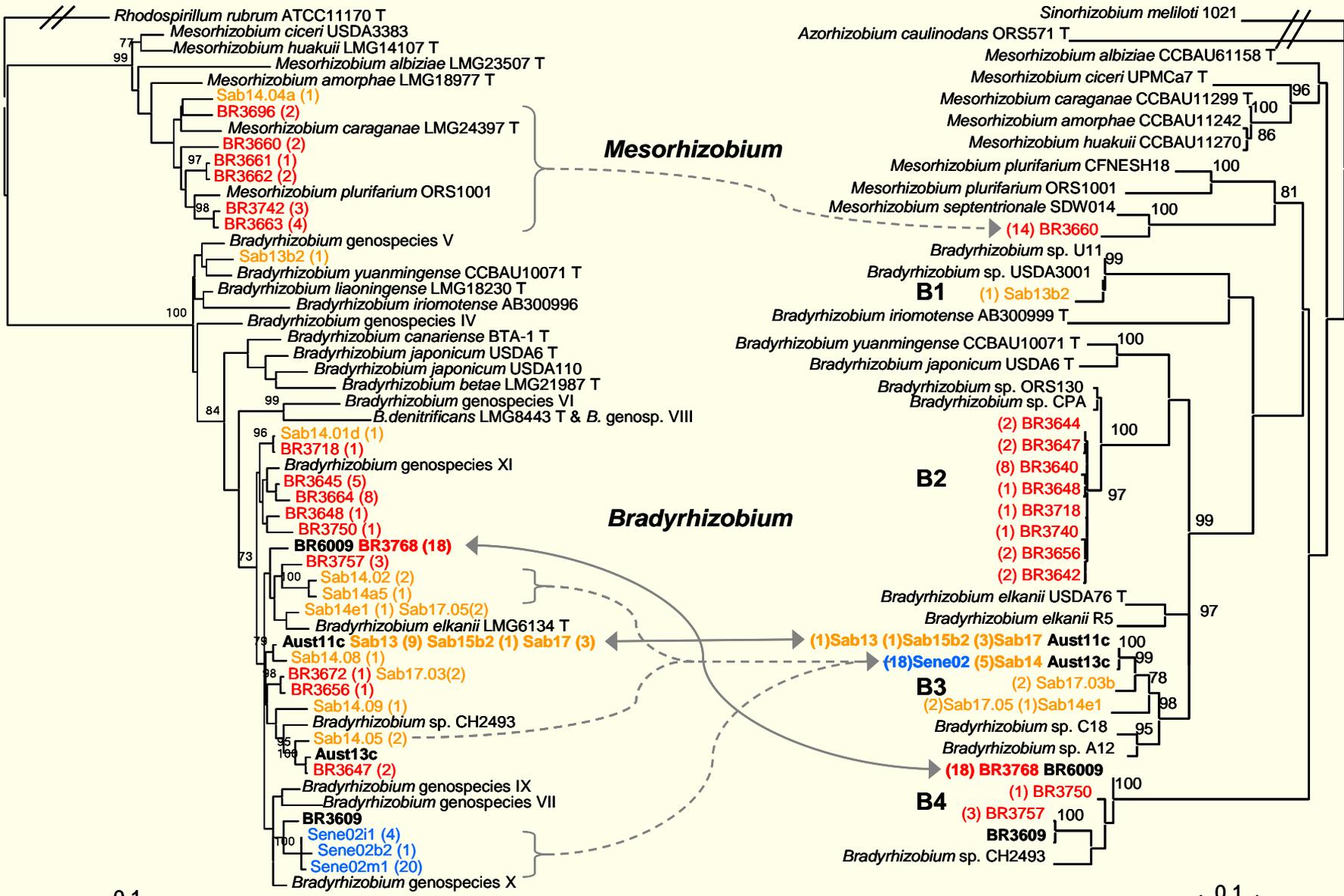
### Marqueur *recA* :

- Diversité toujours restreinte au genre *Bradyrhizobium*, et majoritairement toujours plus proche de l'espèce *B. elkanii*.
- Tout est partout, c'est à dire qu'il n'y a pas, d'un point de vue phylogénétique, de structuration de la diversité des bradyrhizobiums. On ne détecte pas de phylum spécifique de zone géographique.
- Un seul cas d'haplotype partagé entre deux pays dans notre échantillonnage (entre Malaisie et Australie) : Effet combiné de la mutation et de la dérive sur les populations bactériennes
- Par contre lorsque l'on analyse les données en population par site d'origine au sein de chaque pays, on révèle que les souches ayant une même origine se ressemblent plus entre elles.
- Par contre les niveaux de diversité estimés sont variables en fonction des sites

### Marqueur *nodA* :

- Phylogénie : image beaucoup plus contrastée
- Deux clades complètement isolés incluant toutes les souches du Brésil
- Quelques haplotypes de Malaisie s'intercalant avec l'Australie mais visuellement beaucoup plus d'haplotypes australiens.
- Les souches de *Bradyrhizobium* se distribuent au niveau mondial, mais en un site donné, les échanges génétiques font que les gènes symbiotiques sont profondément modifiés par des remplacements ou des pertes. Donc, en zone d'introduction, les souches locales doivent être étudiées d'un point de vue taxonomique mais aussi symbiotique.

### 3- Devenir des souches inoculums dans les essais d'inoculation en zone d'introduction ?



0.1  
**Arbre recA**

0.1  
**Arbre nodA**

### 3 - Conclusion : devenir des inoculums

- Apparition du genre *Mesorhizobium*, uniquement sur les sites brésiliens inoculés
- Sur les 3 sites brésiliens, aucune des souches n'est identique à la souche inoculum BR3609. La 2<sup>nd</sup>e souche inoculum BR6009 n'est détectée que sur un des 3 essais. Ainsi, sur le site d'Itatinga, les séquences des 4 loci sont identiques à l'inoculum pour 18 des 22 isolats, soit 82% des nodules.
- Sur le site malaisien (Luasong), inoculé par les deux souches de *Bradyrhizobium* sp. australiennes (Aust11c et Aust13c), la souche Aust11c est re-détectée sur 13 souches parmi les 28 isolats (46%). Ils possèdent sur les 4 loci exactement la même séquence que la souche inoculum.
- Toujours sur le site de Luasong, la souche Aust13c n'a jamais été détectée par le gène *recA*. Cependant 5 souches possèdent exactement la copie du gène symbiotique *nodA* d'Aust13c.
- Les mêmes résultats sont retrouvés sur les isolats du Sénégal. Parmi les 25 isolats, on ne retrouve aucune séquence *recA* identique à la souche Aust13c alors que pour le gène *nodA*, 100% les souches séquencées possèdent une copie identique à l'inoculum Aust13c.
- Donc, difficile de prévoir le devenir d'un inoculum (3 sites, 4 cas rencontrés)!

## Conclusion : et la gestion des écosystèmes tropicaux?

- L'introduction et l'utilisation d'essences forestières exotiques est une pratique ancienne, qui peut comporter des risques mais peut apporter des réponses adaptées aux situations locales dans des délais rapides.
- Les partenaires symbiotiques ne sont pas toujours présents ou pas toujours efficaces et l'inoculation avec des souches adaptées doit être pratiquée.
- Si les souches locales ne sont pas suffisamment efficaces, ou incompatibles ou non disponibles, l'utilisation de souches inoculums sélectionnées et validées peut être pratiquée avec suivi sur des parcelles d'essais avant utilisation à grande échelle.
- Ce projet montre que l'aire d'origine de l'arbre est un réservoir privilégié d'inoculums efficaces et compétitifs. L'arbre doit être préservé dans son aire d'origine aussi pour y préserver ses partenaires symbiotiques.
- Quel risque y- a-t-il, lors de l'introduction d'une essence forestière exotique, à simultanément introduire ses partenaires symbiotiques naturels? Il ne semble pas se dégager de règle générale, cependant:
  - On estime entre 600 et 100 000 le nombre d'**espèces** bactériennes par g de sol.
  - Il peut se produire des transferts spontanés de gènes (symbiotique dans notre cas) avec des souches locales. Mais ces transferts horizontaux de gènes font partie intégrante du fonctionnement biologique des sols et de l'évolution du monde bactérien. Des gènes symbiotiques sont retrouvés au sein des communautés bactériennes dans pratiquement tous les écosystèmes y compris marins.
- L'utilisation d'essences forestières locales doit être privilégiée, mais dans le respect des écosystèmes et pas seulement des législations et des frontières politiques.



## Les loci ciblés

- Le gène *recA* code pour la protéine RecA qui rentre en jeu dans le processus de réparation de l'ADN par recombinaison homologue.
- La protéine chaperone DnaK, dit de choc thermique (ou Heat Shock Proteins), codée par le gène *dnaK*, garantit la bonne conformation des protéines de la cellule et donc une protection contre leur dénaturation notamment à la chaleur (Stepkowski et al. 2003).
- Le gène *glnII* code pour la glutamine synthétase II qui joue un rôle dans la synthèse de la glutamine et donc dans le métabolisme azoté.
- Nous avons également choisi d'amplifier le gène de nodulation *nodA* afin de voir s'il existait un transfert de ce gène symbiotique entre souches, notamment de l'inoculum vers les bactéries indigènes. Chez les rhizobia, les gènes de nodulation et de fixation d'azote sont souvent regroupés en un îlot symbiotique, localisé sur un plasmide ou sur le chromosome, comme pour la souche de *Bradyrhizobium* USDA100 (MacLean et al. 2007). *nodA* est un gène commun de nodulation qui code pour une acyltransferase. Comme les gènes *nodB* et *nodC*, il code pour la synthèse du squelette des facteurs Nod, qui sont des lipochitooligosaccharides, molécules signales induisant la formation des nodules.