

Vers l'identification des symbiotes racinaires d'*Astragalus tragacantha*

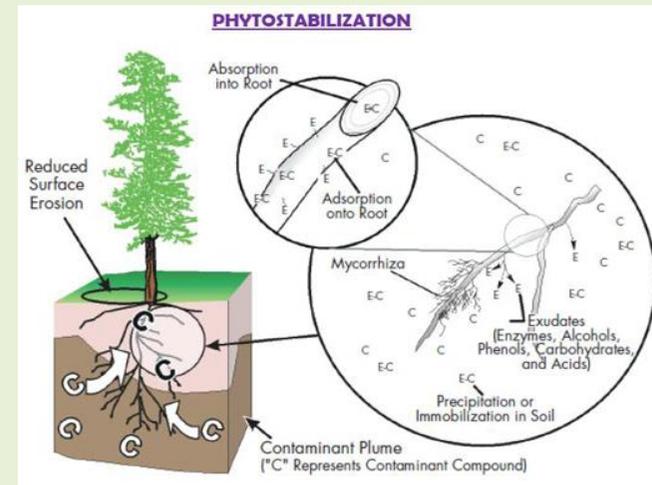
Miché Lucie, Laffont-Schwob Isabelle, Prudent
Pascale, Rabier Jacques, Mirleau Pascal, Baumel
Alex, Affre Laurence

Institut
Méditerranéen
de Biodiversité
et d'Ecologie
marine et continentale

Vers une opération pilote d'ingénierie écologique

2 bonnes raisons de conserver l'Astragale et ses habitats

Elle est très vulnérable face à des menaces multiples
Elle pourrait jouer un grand rôle de service écosystémique



Utilisation des plantes et de leurs microorganismes symbiotes pour piéger les ETMM au niveau du système racinaire

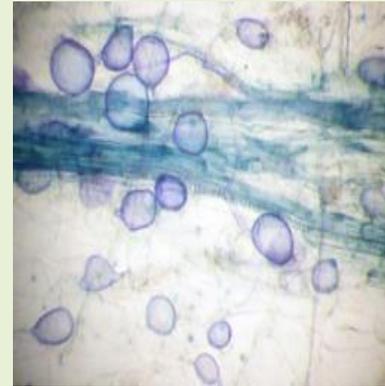
Manque de connaissances sur cette espèce pour sa conservation

Objectifs

Fabaceae: double symbiose racinaire (bactéries et champignons)



nodules



endomycorrhizes

- Evaluer la **diversité des symbiotes** naturellement associés aux racines d'*A. tragacantha*
- Analyser **si ces interactions symbiotiques sont modifiées** en conditions de fort stress métallique et d'exposition aux embruns (correspondant à sa zone de répartition actuelle)

Pollutions inorganiques et croissance de l'Astragale

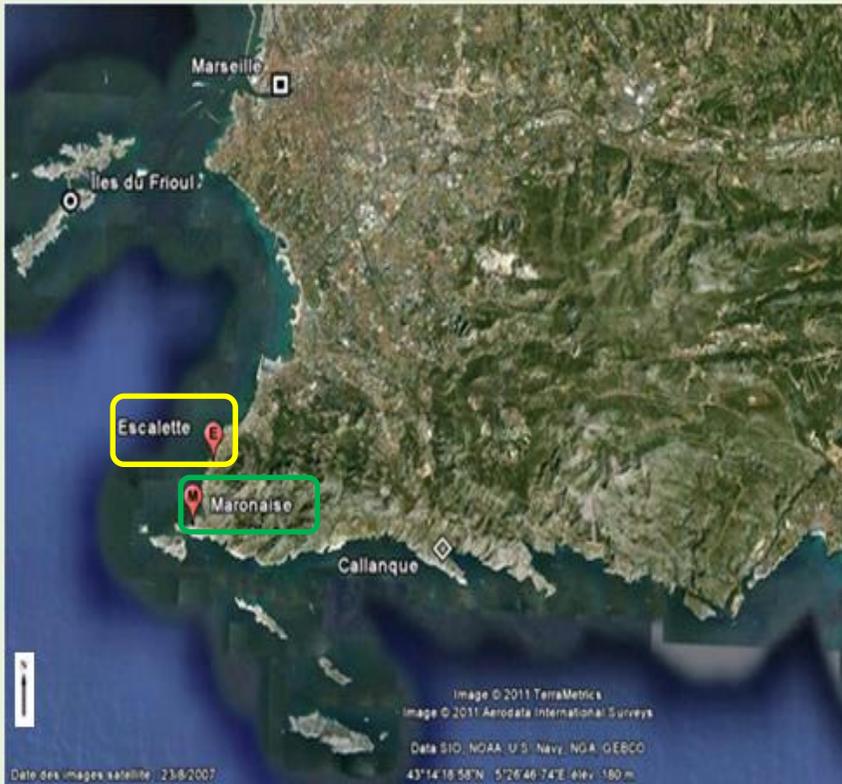
2 sites de prélèvement de sol
 (x5 répétitions)



Escalette



Maronaise



ETMM (µg/g)	Escalette	Maronaise
As	92 ± 21 a	48 ± 19 b
Pb	2145 ± 700 a	286 ± 135 b
Zn	1042 ± 37 a	187 ± 71 b
Sb	122 ± 38 a	7,6 ± 3,2 b

[selon le test de Kruskal-Wallis suivi d'un test post-hoc]

Sols de l'Escalette significativement plus pollués que ceux de la Maronaise pour As, Pb, Zn et Sb

Pollutions inorganiques et croissance de l'Astragale

Germination des graines & Culture en Phytotron



5 pots/sol natif
et
3 répétitions/pot

= 150 pots

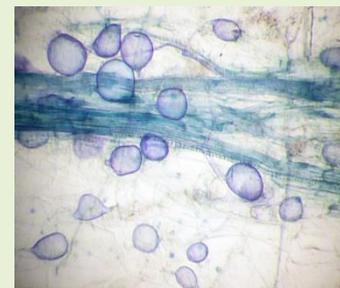
→ Récolte après 6 mois de culture



Mesures de croissance:

- biomasse
- longueurs des parties aériennes et racinaires

Colonisation des racines:

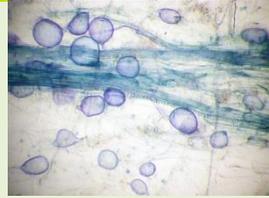


mycorhizes

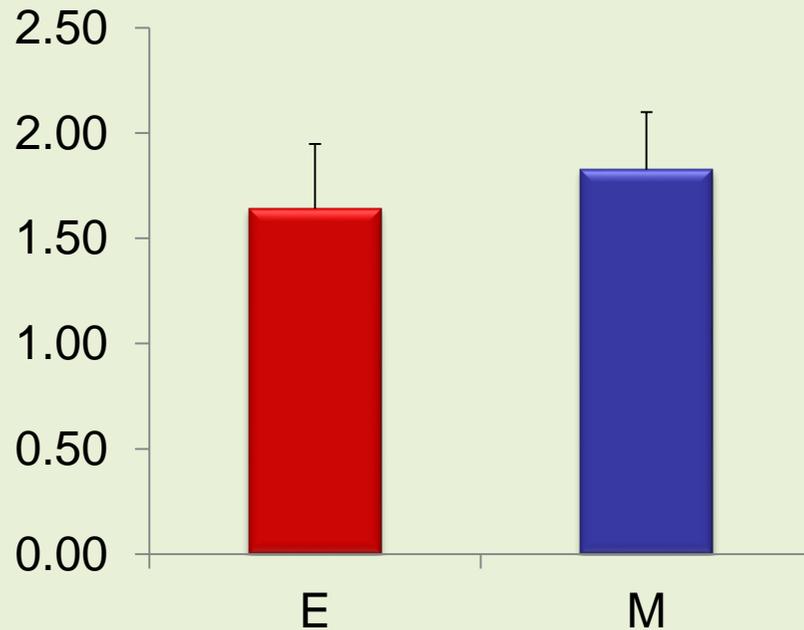


nodules

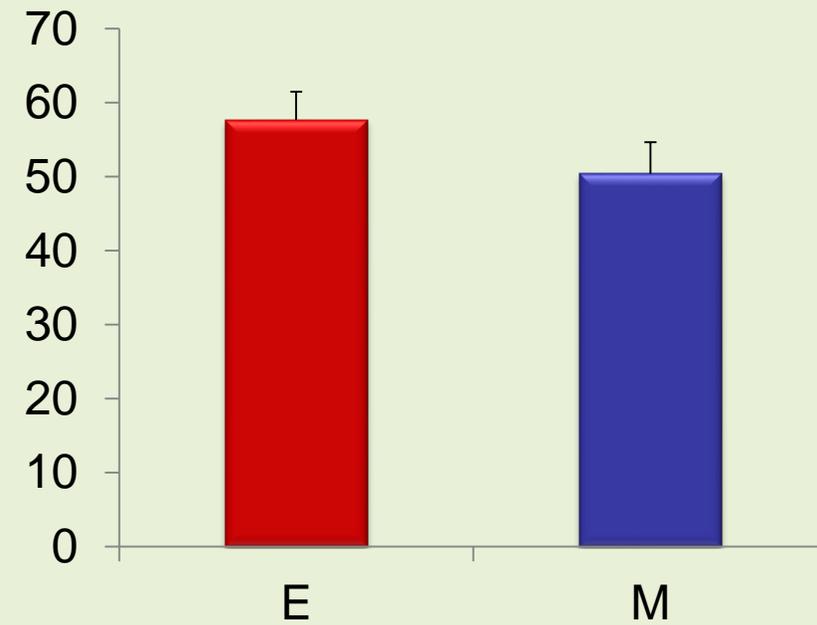
Pollutions inorganiques et croissance de l'Astragale



Nombre de
nodule/plante



% de colonisation
endomycorhizienne

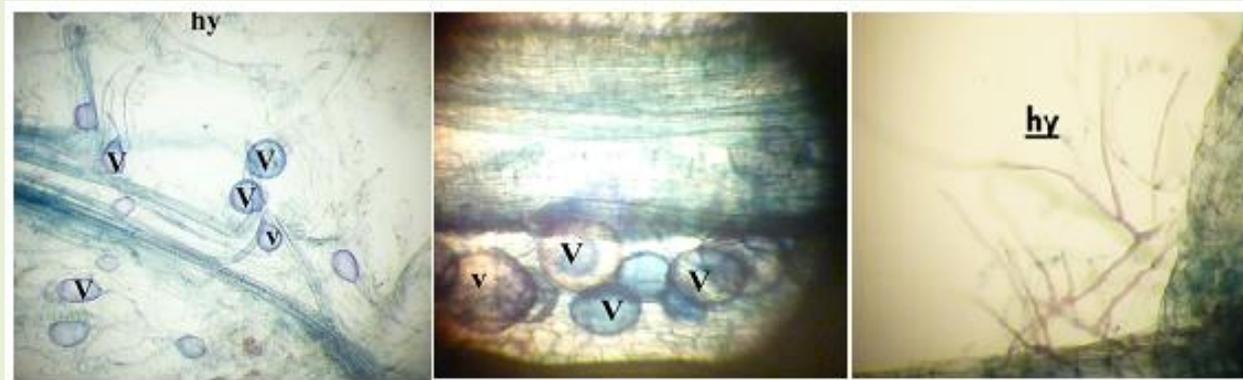


Aucune différence entre types de sols sur :

- le nombre de nodules par plantes
- le % de colonisation fongique

Observations histologiques de la colonisation fongique

- ❖ Dans les **deux sols** (Escalette et Maronaise)



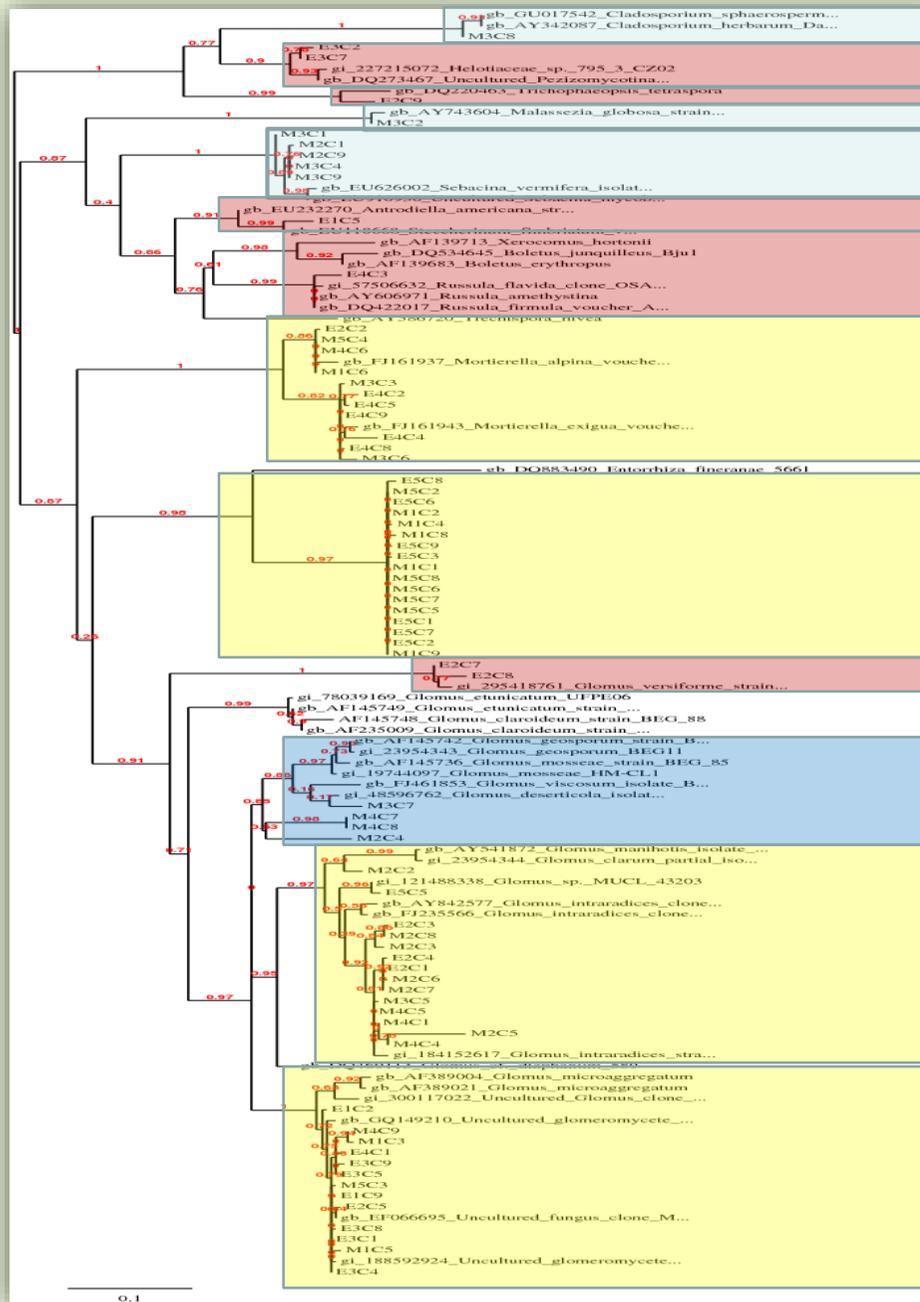
Observation microscopique (x400) de la colonisation **endomycorhizienne à arbuscules** dans le cortex des racines d'*A. tragacantha* : V, vésicule ; hy, hyphe

- ❖ Dans le **sol** de l'Escalette



colonisation par des endophytes (x400) « **Dark Septate Endophyte** » (DSE)
M, microsclérote

Identification moléculaire de la colonisation fongique (28S)



Ascomycètes (#3)

Malassezia sp.

Agaricomycètes (#3)

Mortierella sp.

Inconnu

Glomus sp. (#4)
(*Rhizophagus* sp.)

73 séquences

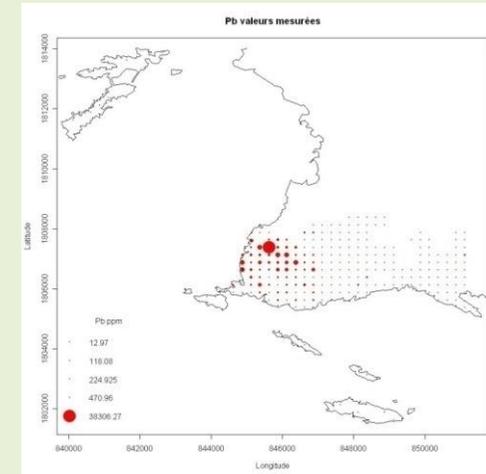
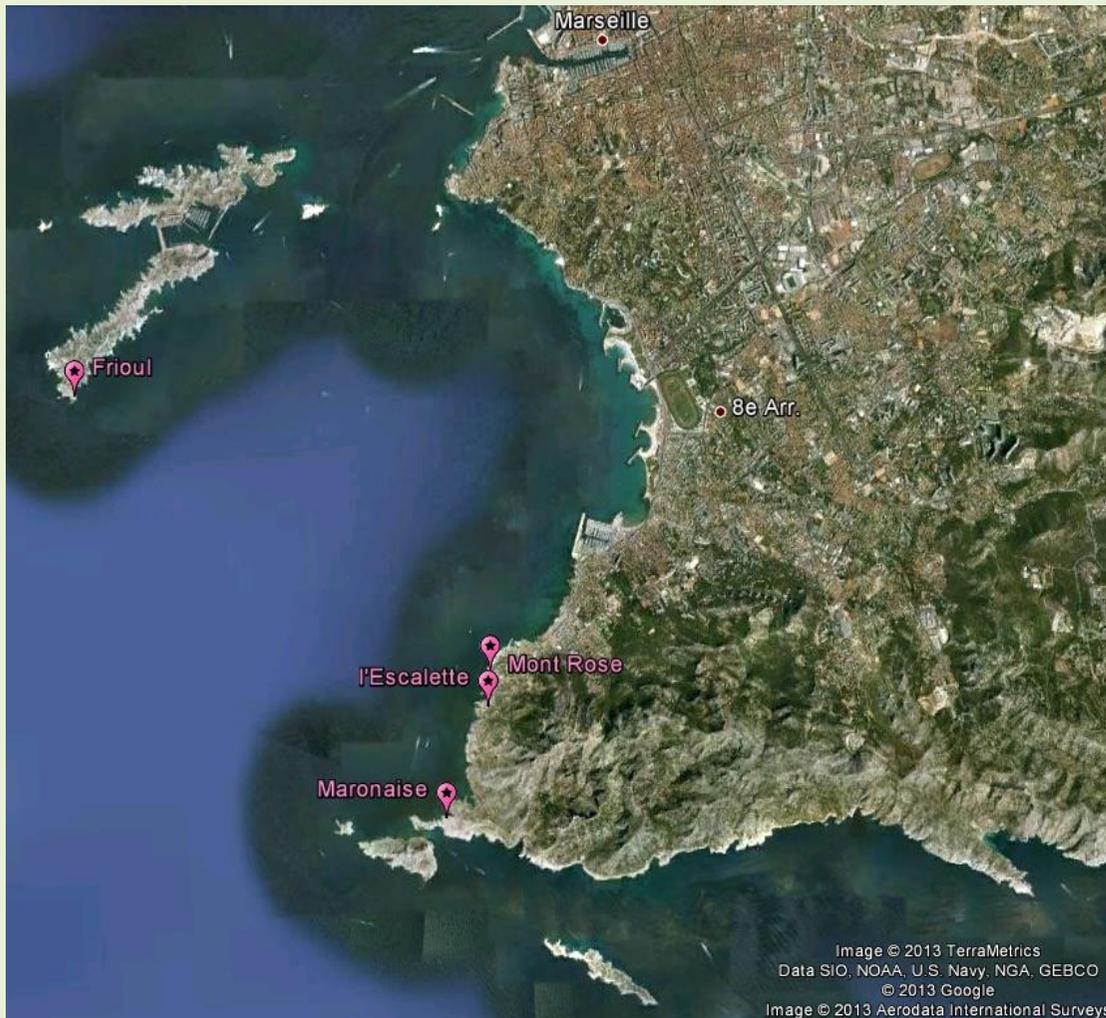
13 clades

- Escalette
- Maronaise
- E & M

Impact de la pollution sur la biodiversité symbiotique

Démarche expérimentale:

4 sites de prélèvements selon un gradient de pollution



Concentrations en Pb mesurées
(ANR-CESA-018
Marséco)



Multiplex[®] Force-A:
évaluation de la
santé des plantes
par suivi *in situ* de
biomarqueurs de
stress

Prélèvements non
destructifs de
quelques fragments
racinaires et de sol



Démarche expérimentale

Identification des communautés microbiennes symbiotiques

Séquençage de « codes-barres » ADN à haut débit :

- 4 sites de prélèvements selon un gradient de pollution
- 8 plantes saines / 8 brûlées par site
- Échantillons racinaires & sols mycosphériques
- Diversité bactérienne & fongique (16s/dnak ; ITS/18s)



→ **512 conditions**

(x3 = 1536 runs PCR)

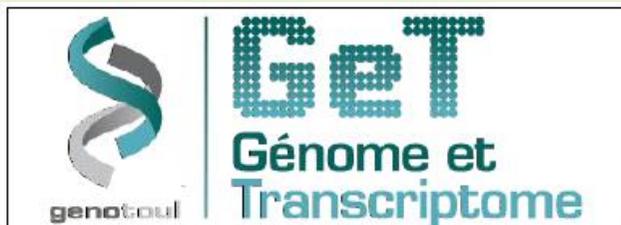


Démarche expérimentale

- Caractérisation des communautés microbiennes par pyroséquençage haut débit (« code barre ») à partir des ADN extraits



- 3 banques MiSeq (paired-end) : **26.10⁶ séquences**



Olivier Bouchez, Céline Jeziorski
GeT-PlaGe
Géropole Toulouse/Midi-pyrénées

Démarche expérimentale

Analyses bioinformatiques des séquences « codes-barres »

- Comparer l'**abondance** et la **richesse spécifique** des microorganismes présents dans les sols et racines des Astragales, **selon un gradient de pollution** multi-métallique et d'exposition aux embruns.



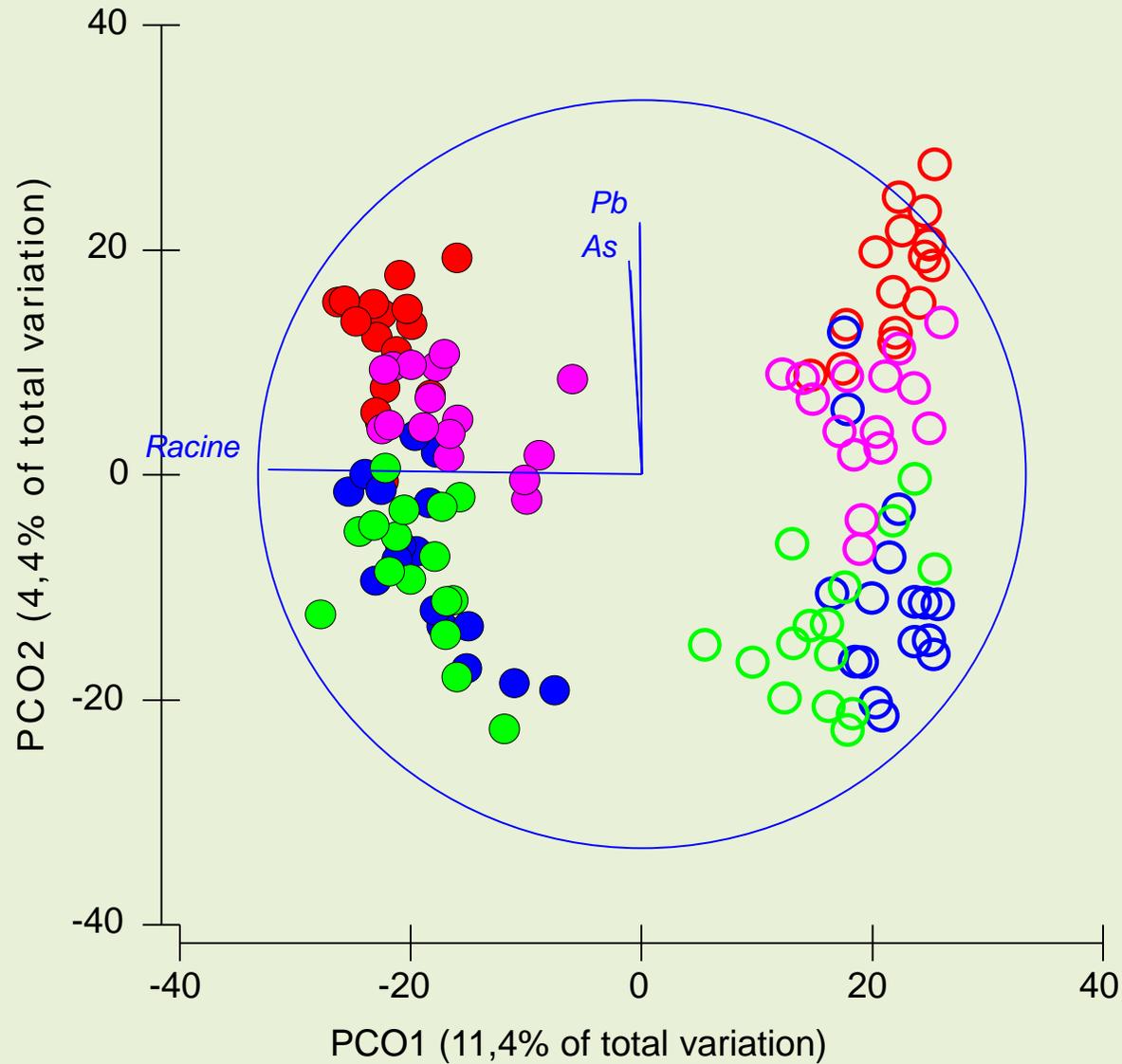
mothur



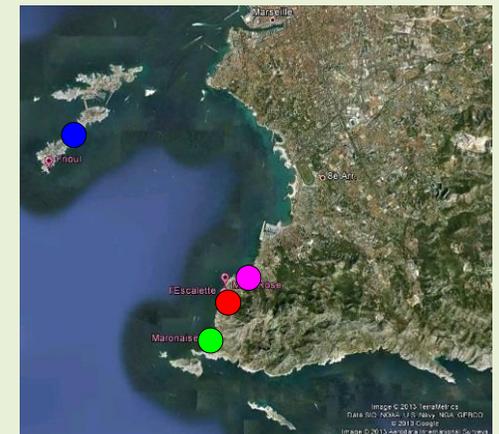
- 3 banques MiSeq (paired-end: 2x250pb) = **26.10⁶ séquences**

Résultats

- Ressemblance entre communautés bactériennes (16S)



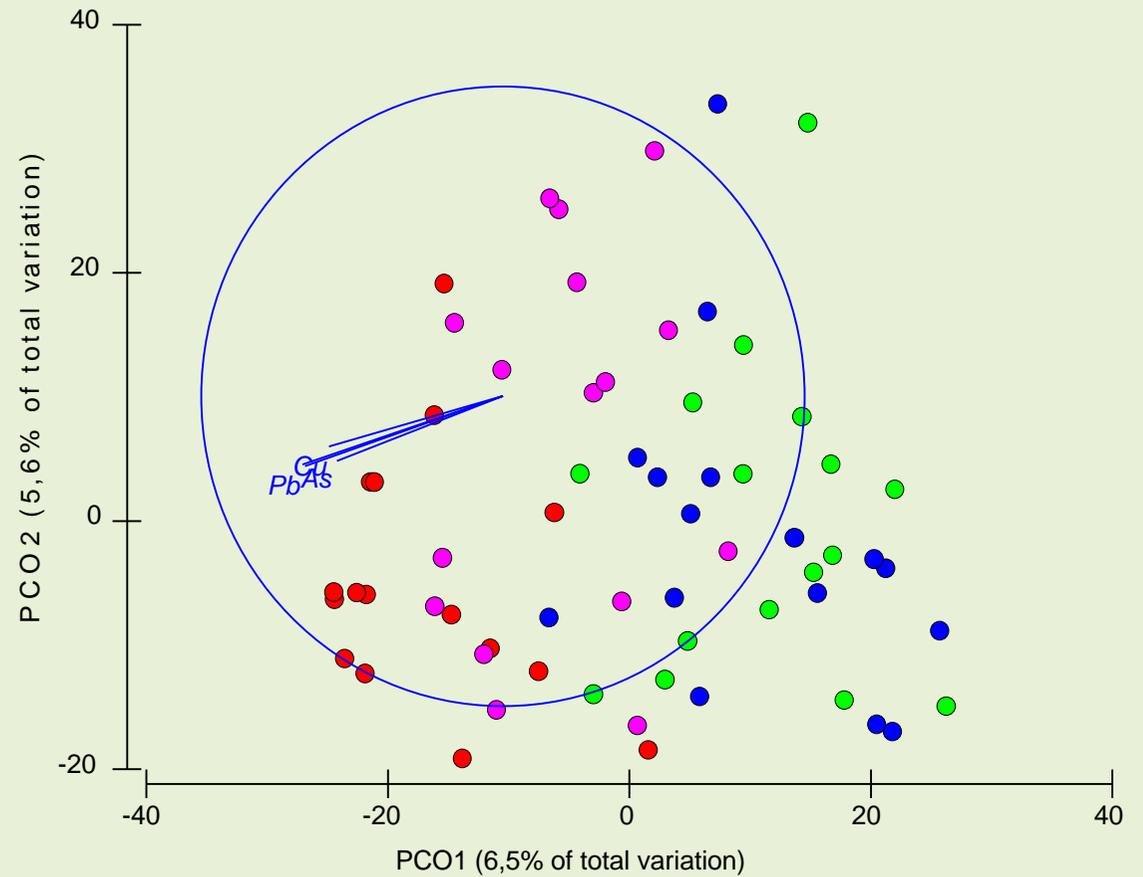
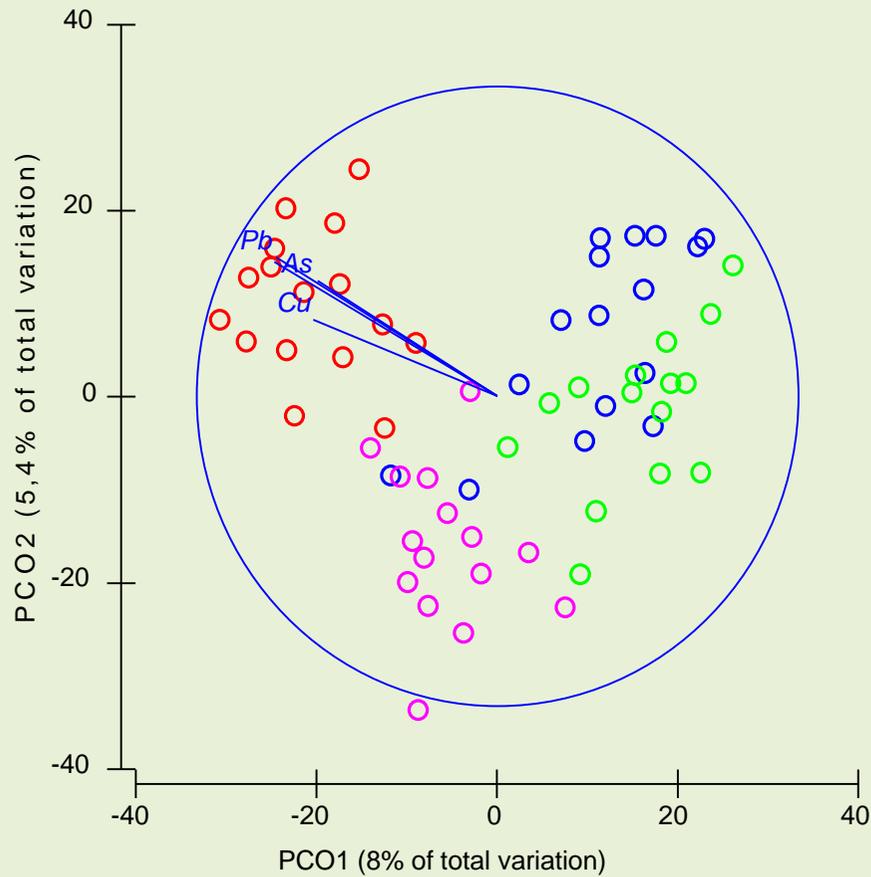
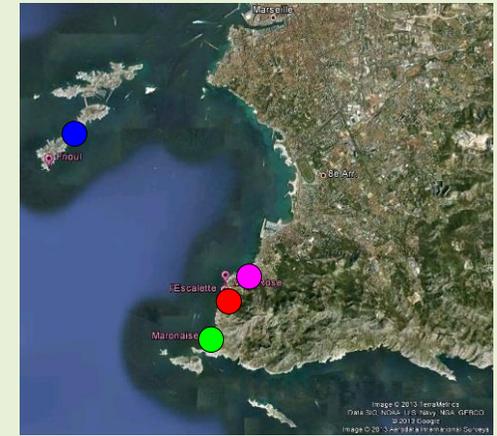
- Escalette
- Frioul
- Maronaise
- Mont Rose
- Racine
- Sol



Résultats

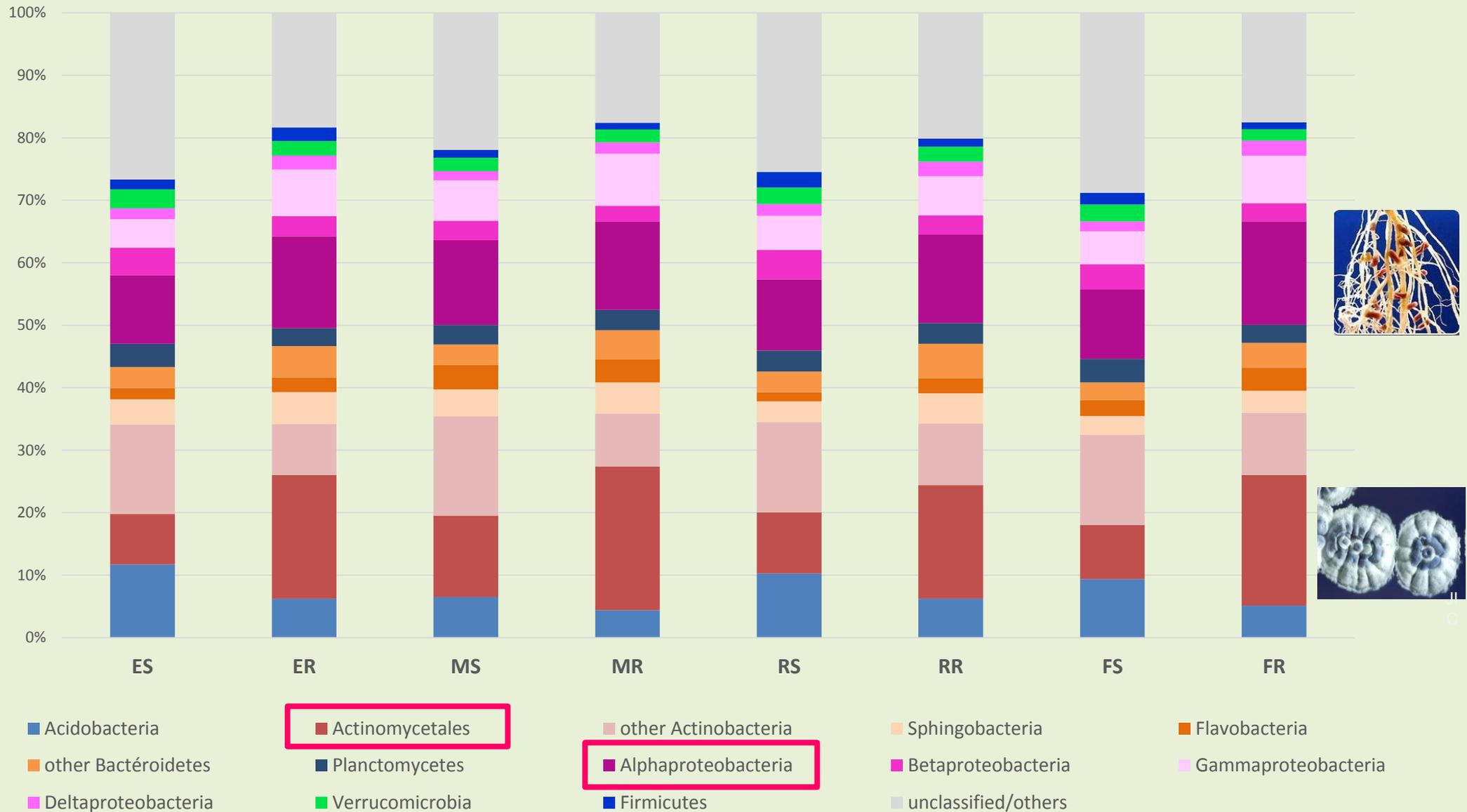
- Influence du stress métallique sur les communautés

- Escalette
- Maronaise
- Racine
- Frioul
- Mont Rose
- Sol



Résultats

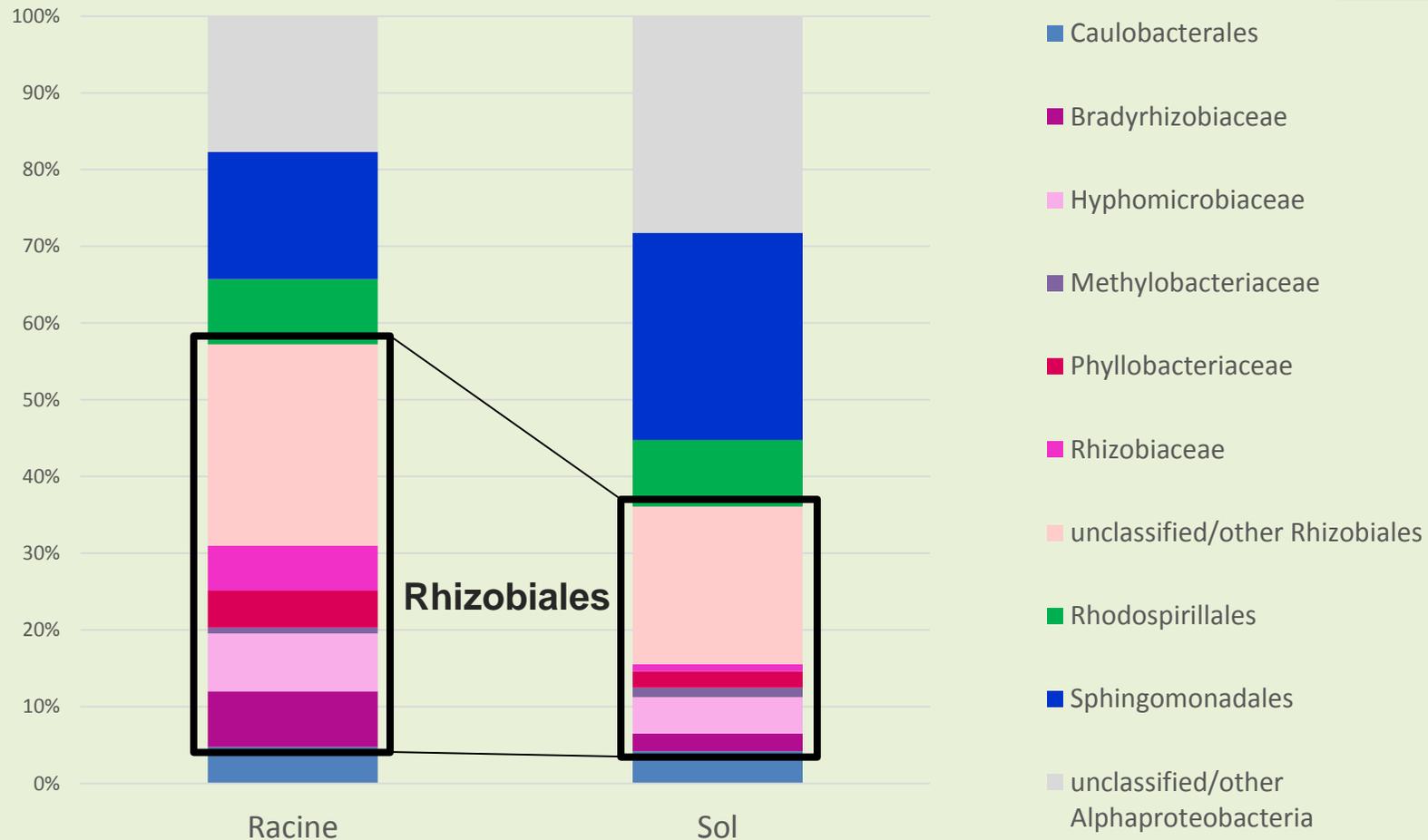
• Principales divisions bactériennes représentées (16S)



Résultats



• Alpha-protéobactéries



Enrichissement : - des racines en Rhizobiales
- du sol en Sphingomonadales

Conclusion / Perspectives

Les études sur les microorganismes édaphiques du littoral méditerranéen sont rares et leur diversité largement méconnue.

Biodiversité discrète mais indispensable au fonctionnement des écosystèmes.

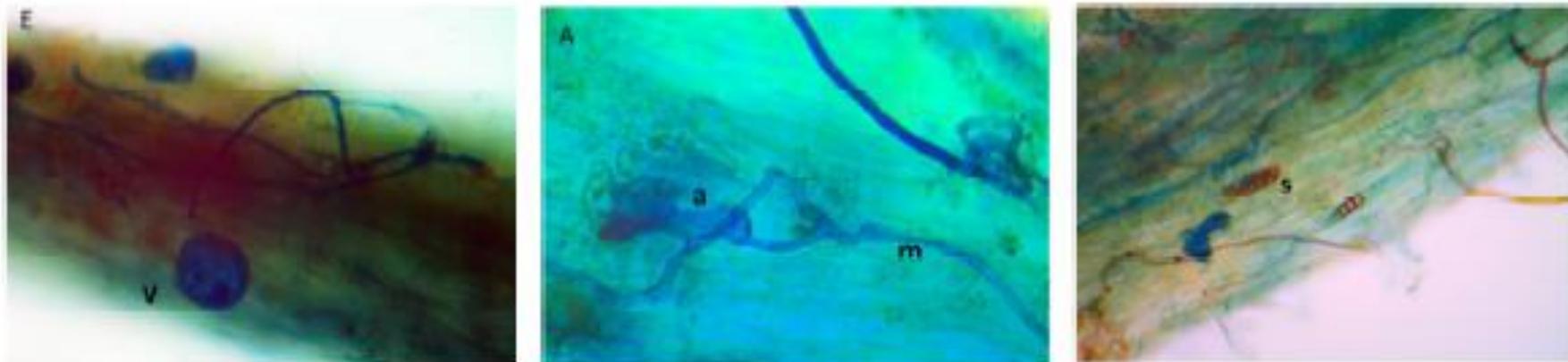
Ces résultats ouvrent de nouvelles perspectives et pistes de recherche sur le rôle des microorganismes associés aux racines, dans la polluotolérance d'*Astragalus tragacantha*.

Perspectives:

- Préciser la richesse (infra)-spécifique des communautés à l'aide d'autres marqueurs complémentaires (*dnaK*, ...)

Conclusion / Perspectives

- Déterminer si les profils observés pour les bactéries sont extrapolables aux communautés fongiques ; ou si celles-ci répondent différemment aux facteurs environnementaux



Observations cytologiques: forte colonisation par des espèces fongiques endomycorhiziennes, et des endophytes septés foncés (DSE).

Permet d'attester d'une **bonne fonctionnalité de la symbiose *in situ***.

- Détecter les symbiotes (ou endophytes) potentiellement les plus intéressants à utiliser dans un objectif de **restauration écologiques**/ renforcement des populations d'Astragales/**phytostabilisation de la pollution**.

Un grand merci!



IMBE : Dumas Pierre-Jean, Moussaoui Louiza, Labrousse Yoan, Djitte Fatoumata, Pricop Anca, Salducci Marie-Dominique, Devic Florence , Scibek Pauline , Martineau Antoine , Juin Marinick, Bence Alain, Portha Marion, Laugier Robin, Péron Kévin, Moussaoui Louiza (M2R), Djitte Fatoumata (BTS), Pricop Anca (Dr), Labrousse Yoan

LCE : Vassalo Laurent, Coulomb Bruno

Parc National des Calanques : Lemire-Pêcheux Lidwine & Debbize Elodie

DDTM 13 : Grébet Pascal - **CEN PACA** : Gallimard Lilas

