

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

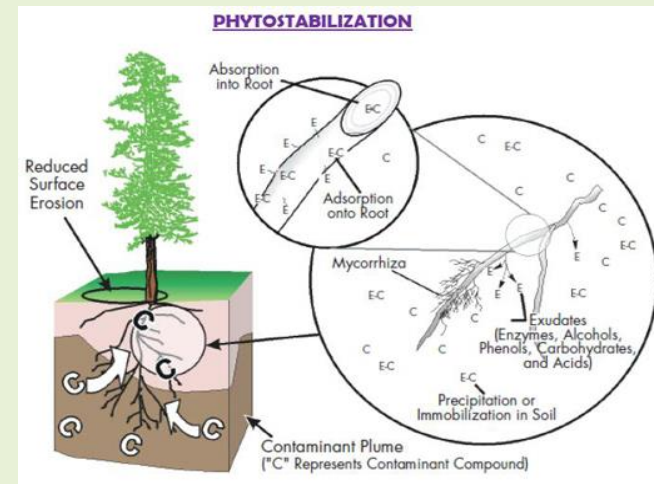
Miché Lucie, Laffont-Schwob Isabelle, Prudent  
Pascale, Rabier Jacques, Mirleau Pascal, Baumel  
Alex, Affre Laurence

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

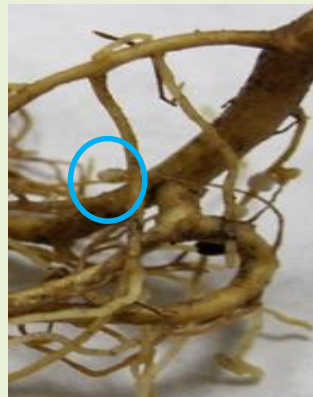


Utilisation des plantes et de leurs microorganismes symbiotes pour piéger les ETMM au niveau du système racinaire

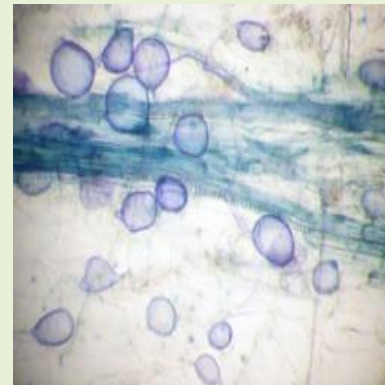
Manque de connaissances sur cette espèce pour sa conservation

# Objectifs

*Fabaceae*: double symbiose racinaire (bactéries et champignons)



nodules



endomycorhizes

- 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

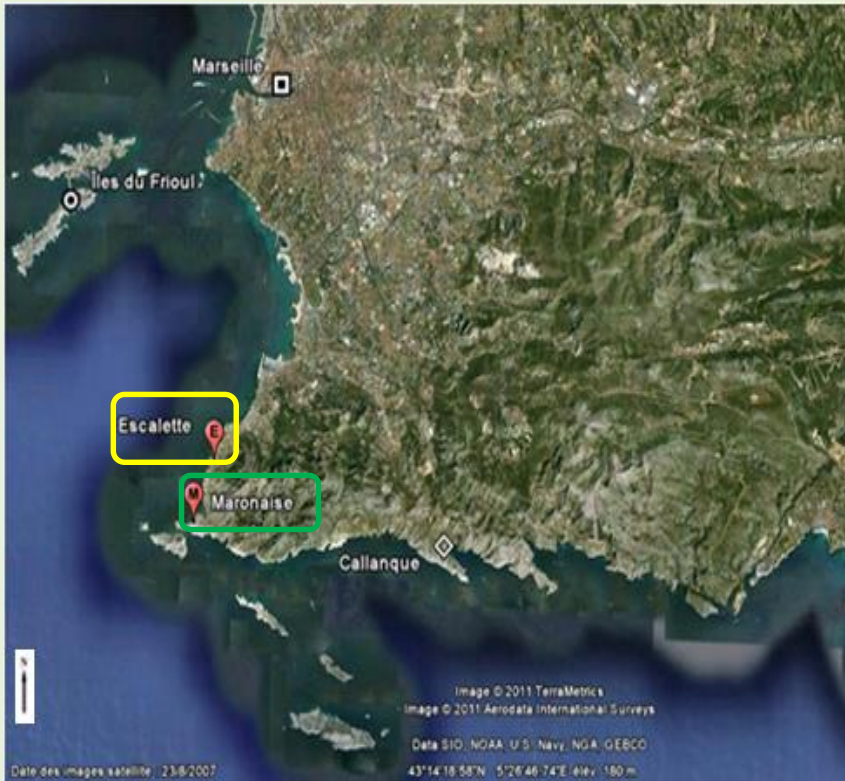
2 sites de prélèvement de sol  
 (x5 répétitions)



Escalette



Maronaise



ETMM (µg/g)	Escalette	Maronaise
<b>As</b>	92 ± 21 a	48 ± 19 b
<b>Pb</b>	2145 ± 700 a	286 ± 135 b
<b>Zn</b>	1042 ± 37 a	187 ± 71 b
<b>Sb</b>	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

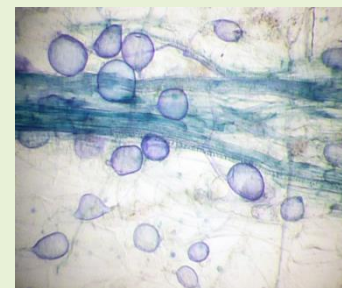
→ Récolte après 6 mois de culture



### Mesures de croissance:

- biomasse
- longueurs des parties aériennes et racinaires

### Colonisation des racines:

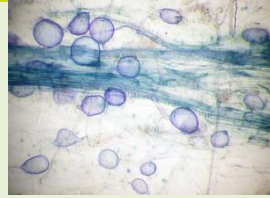


mycorrhizes

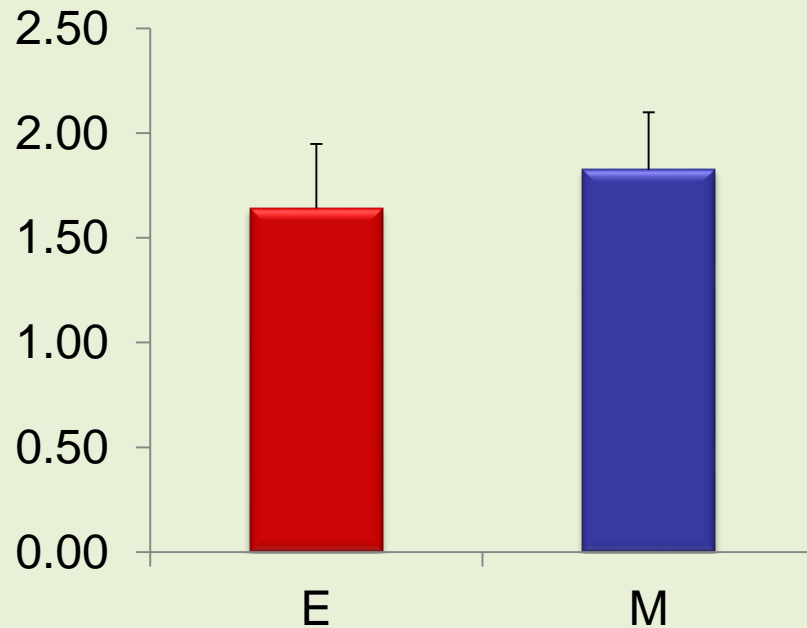


nodules

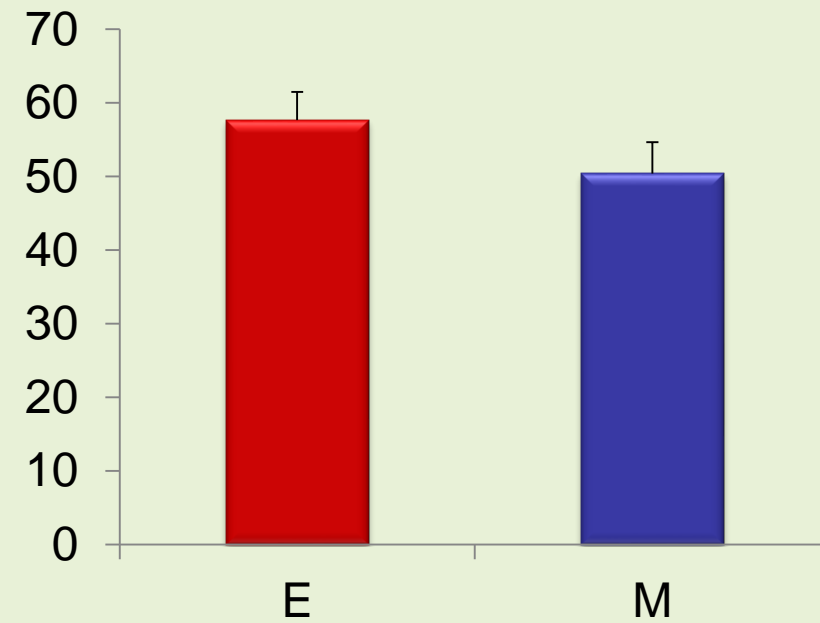
# Pollutions inorganiques et croissance de l'Astragale



Nombre de  
nodule/plante



% de colonisation  
endomycorhizienne

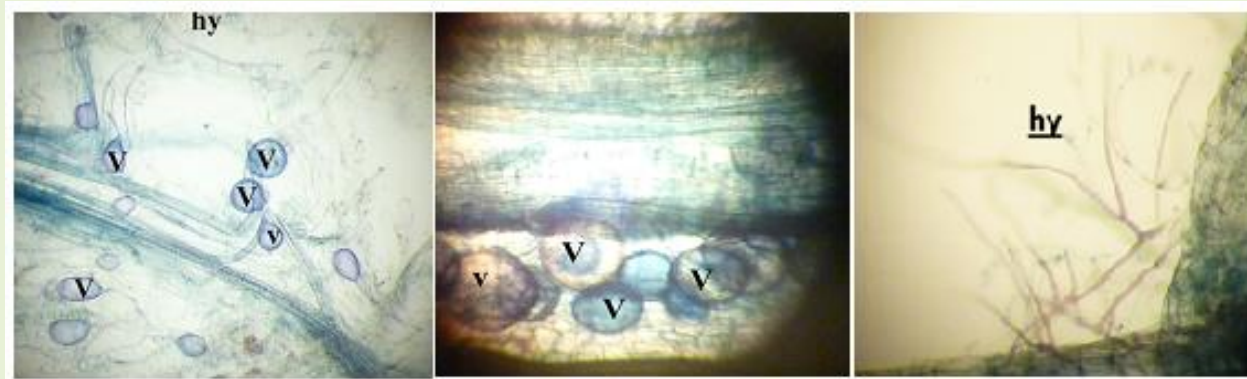


**Aucune différence entre types de sols sur :**

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

# Observations histologiques de la colonisation fongique

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



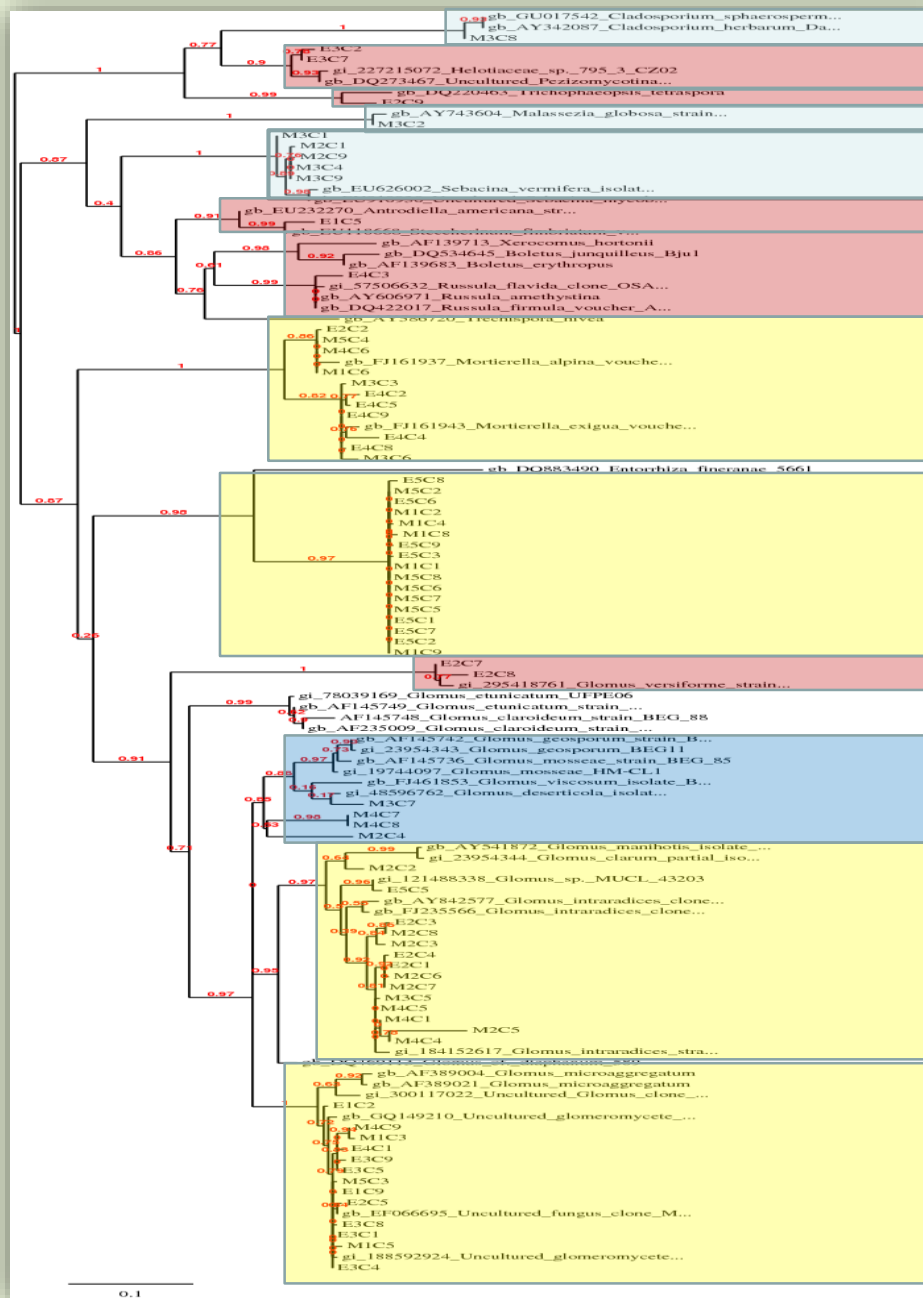
Observation microscopique (x400) de la colonisation **endomycorhizienne à arbuscules** dans le cortex des racines d'*A. tragacantha* : V, vésicule ; hy, hyphe

- ❖ 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

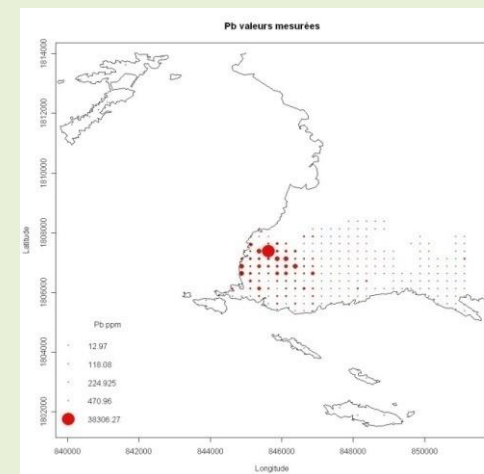
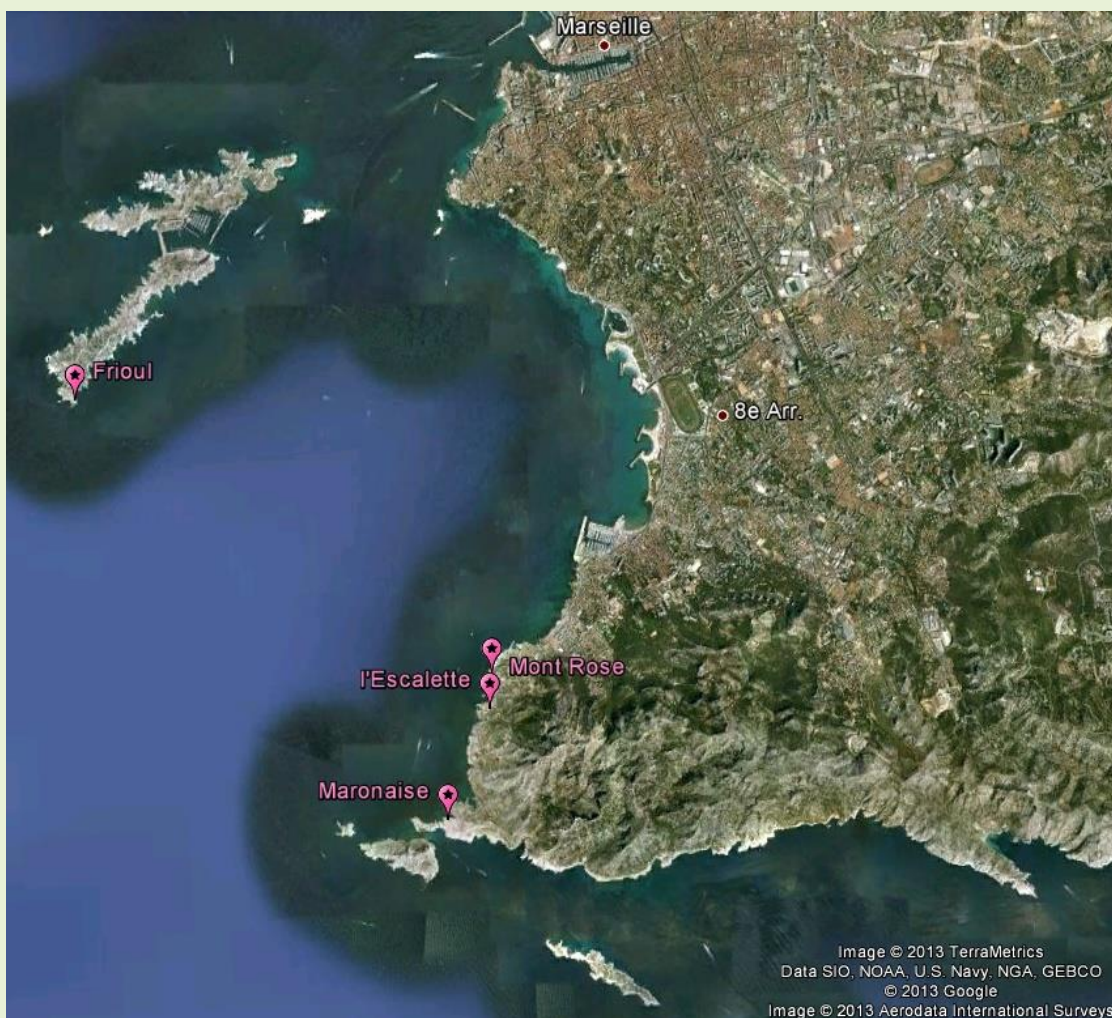
- Escalette
- Maronaise
- E & M



# 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<sup>®</sup> 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) : **26.10<sup>6</sup> 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.



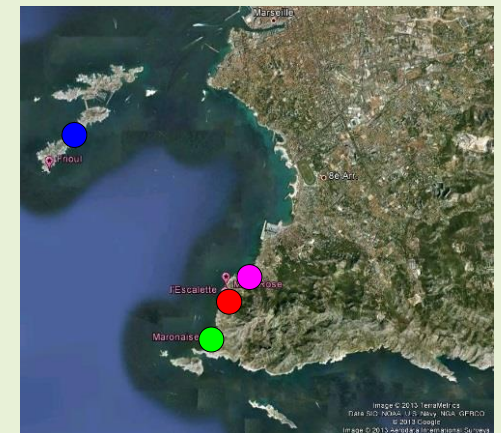
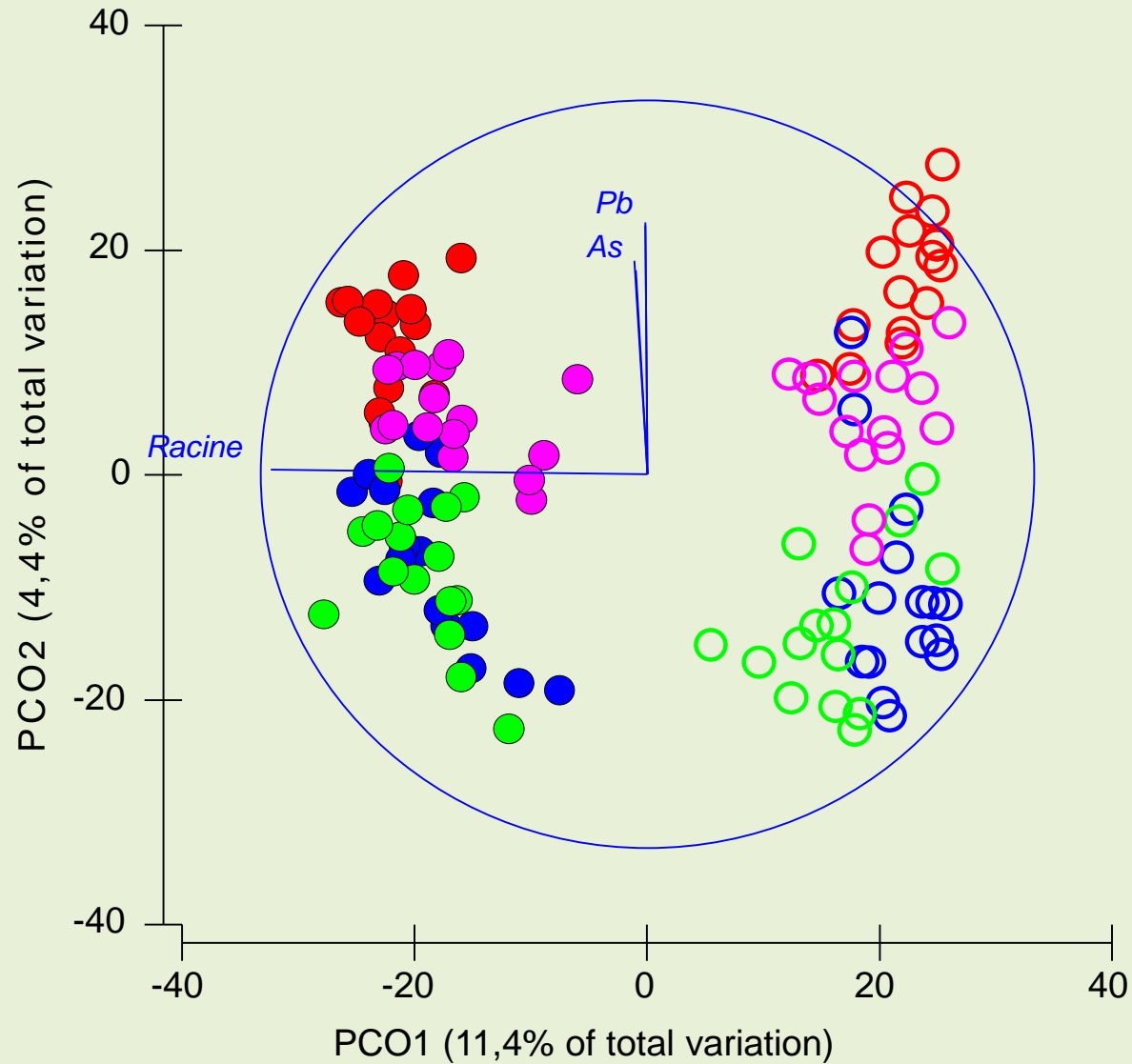
**mothur**



- 3 banques MiSeq (paired-end: 2x250pb) = **26.10<sup>6</sup> séquences**

# Résultats

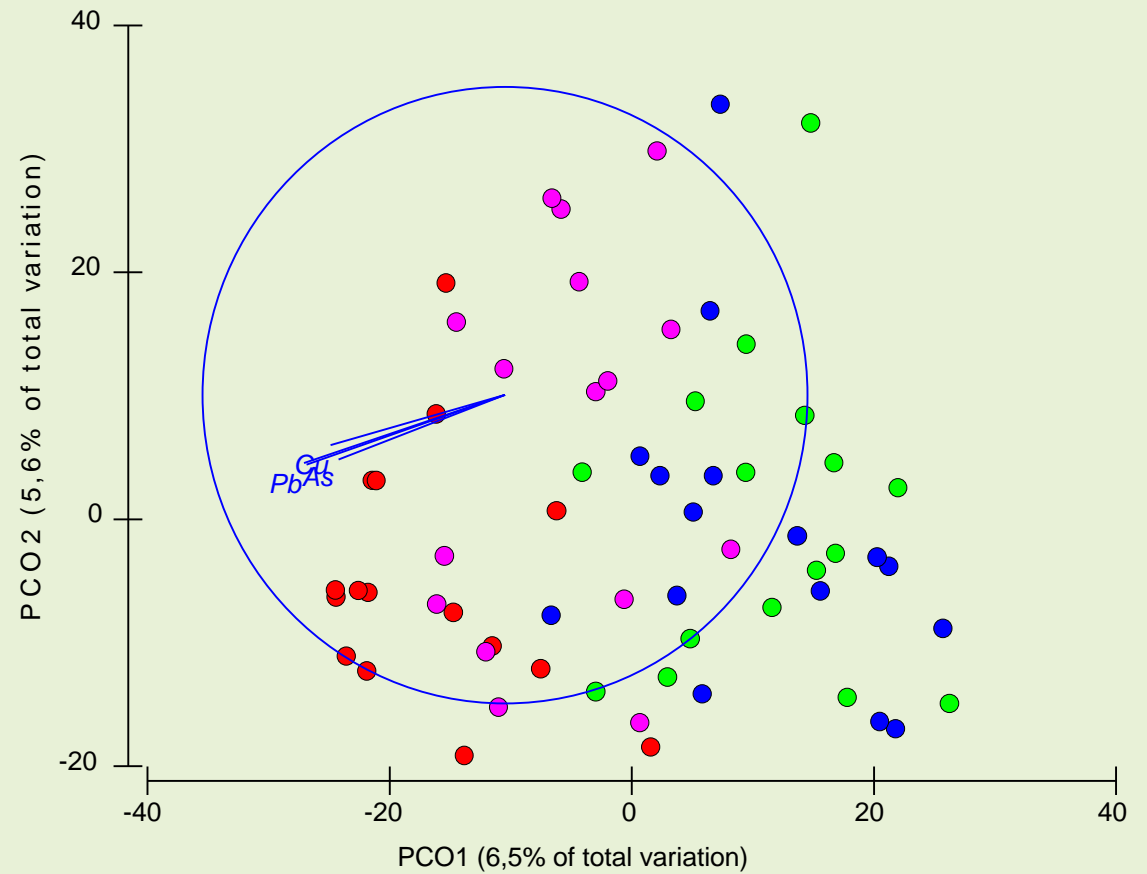
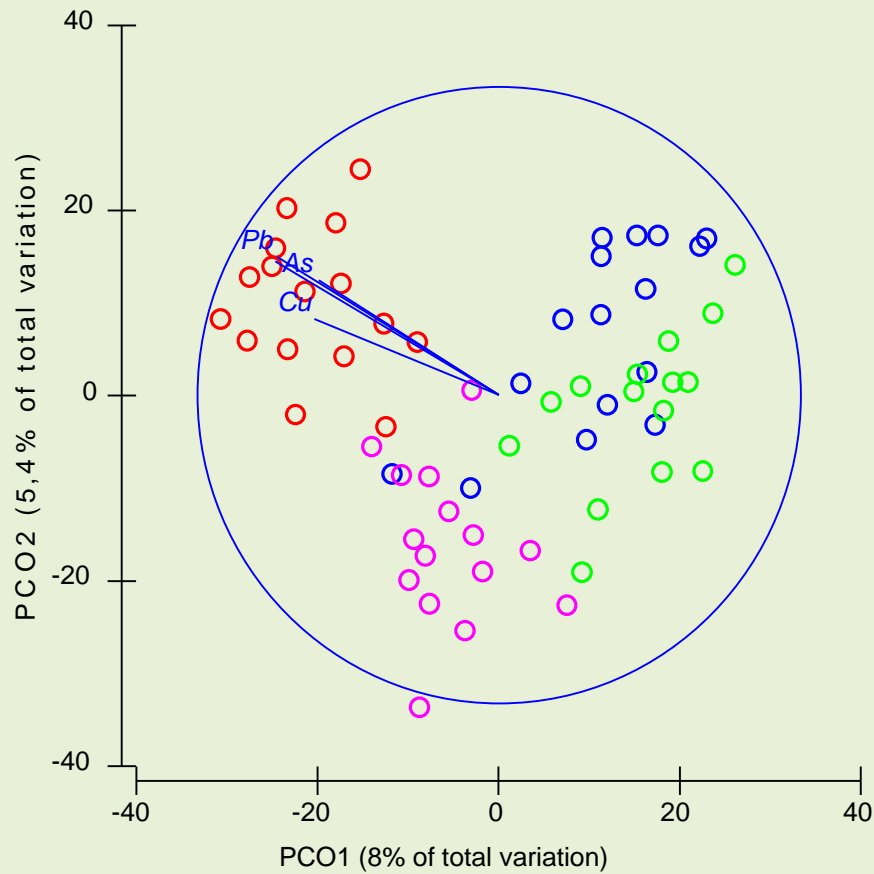
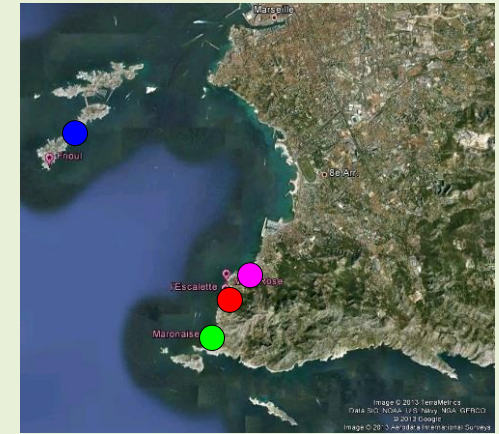
- Ressemblance entre communautés bactériennes (16S)



# Résultats

- Influence du stress métallique sur les communautés

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



# Résultats

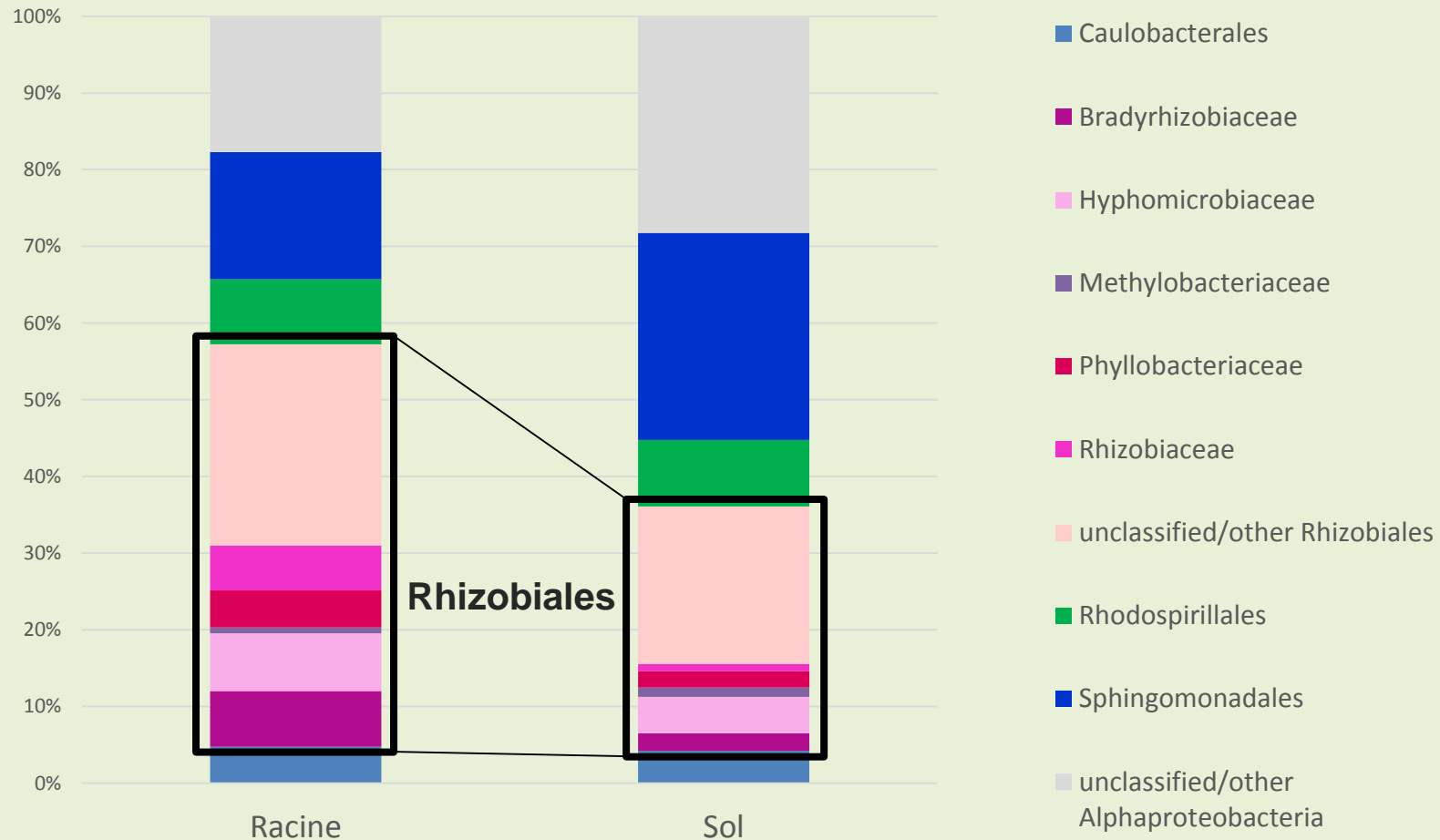
## • Principales divisions bactériennes représentées (16S)



# 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.

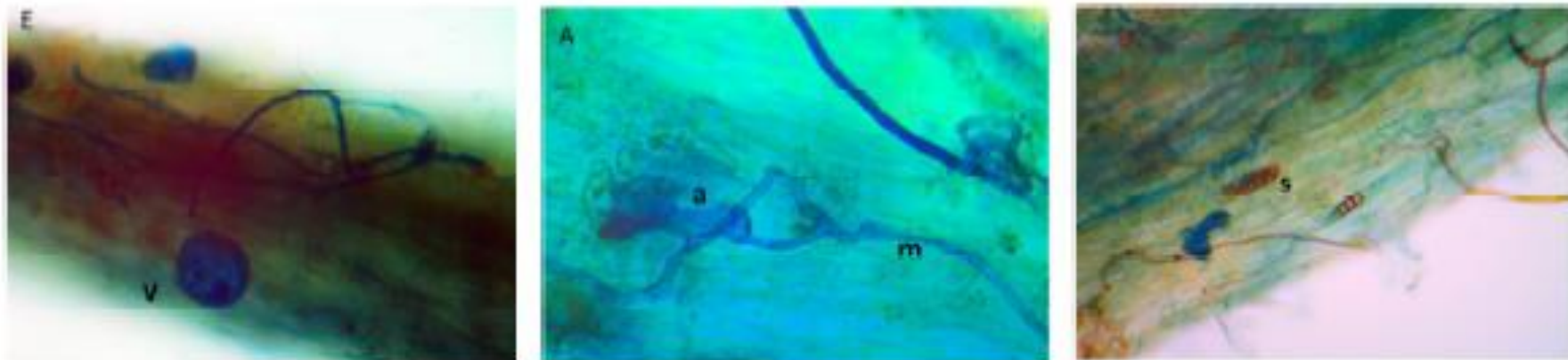
Ces résultats ouvrent de nouvelles perspectives et pistes de recherche sur le rôle des microorganismes associés aux racines, dans la polluotolérance d'*Astragalus tragacantha*.

## **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

