

# Diversité de champignons endophytes chez les essences *Paraberlinia bifoliolata*, *Desbordesia glaucescens* et *Scyphocephalum ochocoa* dans les forêts du sud-est du Gabon

Inès Nelly Moussavou B., M. Sc.,  
Étudiante au Doctorat en Sciences Forestières

Directeur: Louis Bernier (CEF, Ulaval)

Co directeur: Jean Bérubé (CFL)

Co directeur: Auguste Ndoutoume (IRAF, Gabon)

# Définitions

- Champignons endophytes: Champignons microscopiques se développant à l'intérieur d'un végétal, ayant un mode de vie symbiotique;
- OTU (Unité Taxonomique Opérationnelle): Définit une espèce selon un seuil de similarité nucléotidique. L'OTU peut contenir une ou plusieurs séquences nucléotidiques.

# Contexte

- Couverture forestière: près de 85 %;
- Exploitation Forestière: Activité importante;
- 2,6% du PIB en 2012 et 1<sup>er</sup> employeur;
- Beaucoup de recherches sur l'Okoumé (*Aucoumea klaineana*) principalement.



<http://carnetsdevoyages.jeanlou.fr/page173/page173.html>



# Contexte



- Manque d'études sur les pathologies des arbres du Gabon;
- Essences exploitables et abondantes dans les peuplements résiduels;
- Présence de caries abondantes sur les arbres.

# Intérêt

Les endophytes sont des champignons ou des bactéries qui, pour tout ou une partie de leur cycle de vie, envahissent les tissus de plantes vivantes ... mais ne provoquent aucun symptôme de maladie (Wilson, 1995);

Connaitre la flore fongique qui colonise les arbres et qui vit en symbiose avec l'arbre;

Il y a une transmission des endophytes des feuilles vers les tissus ligneux de la plante et qui jouent un rôle important dans la défense de l'hôte (Arnold et al., 2003).

# Sorro (*Scyphocephalum ochocoa*)



# Alep (*Desbordesia glaucescens*)



# Béli, (*Paraberlinia bifoliolata*)



# Recherches antérieures

- Les champignons endophytes vivent en symbiose et ont un rôle bénéfique pour la plante hôte car produisent des produits chimiques indispensables à la plante hôte (Maehara et al., 2013);
- Certains d'entre eux secrètent des substances bioactives leur permettant de se comporter comme anti-phytopathogène (Hanada et al., 2010; Xiao, Li, Li, Wang, & Li, 2013);
- Les arbres tropicaux comportent une grande diversité de champignons endophytes (A. Elizabeth Arnold & Lutzoni, 2007; Debdulal & Banerjee, 2011);
- Grande richesse de champignons endophytes isolés sur le bois (Sun, Ding, Hyde, & Guo, 2012).

# Objectif et Hypothèses

## Objectif

À partir des méthodes moléculaires:

- ✓ Identifier les champignons endophytes des 3 essences;

## Hypothèses

- Il y a une grande diversité de champignons endophytes colonisant les 3 essences dans la province de l'Ogooué-Lolo;
- Cette diversité est également présente dans les 3 sites de prélèvement.

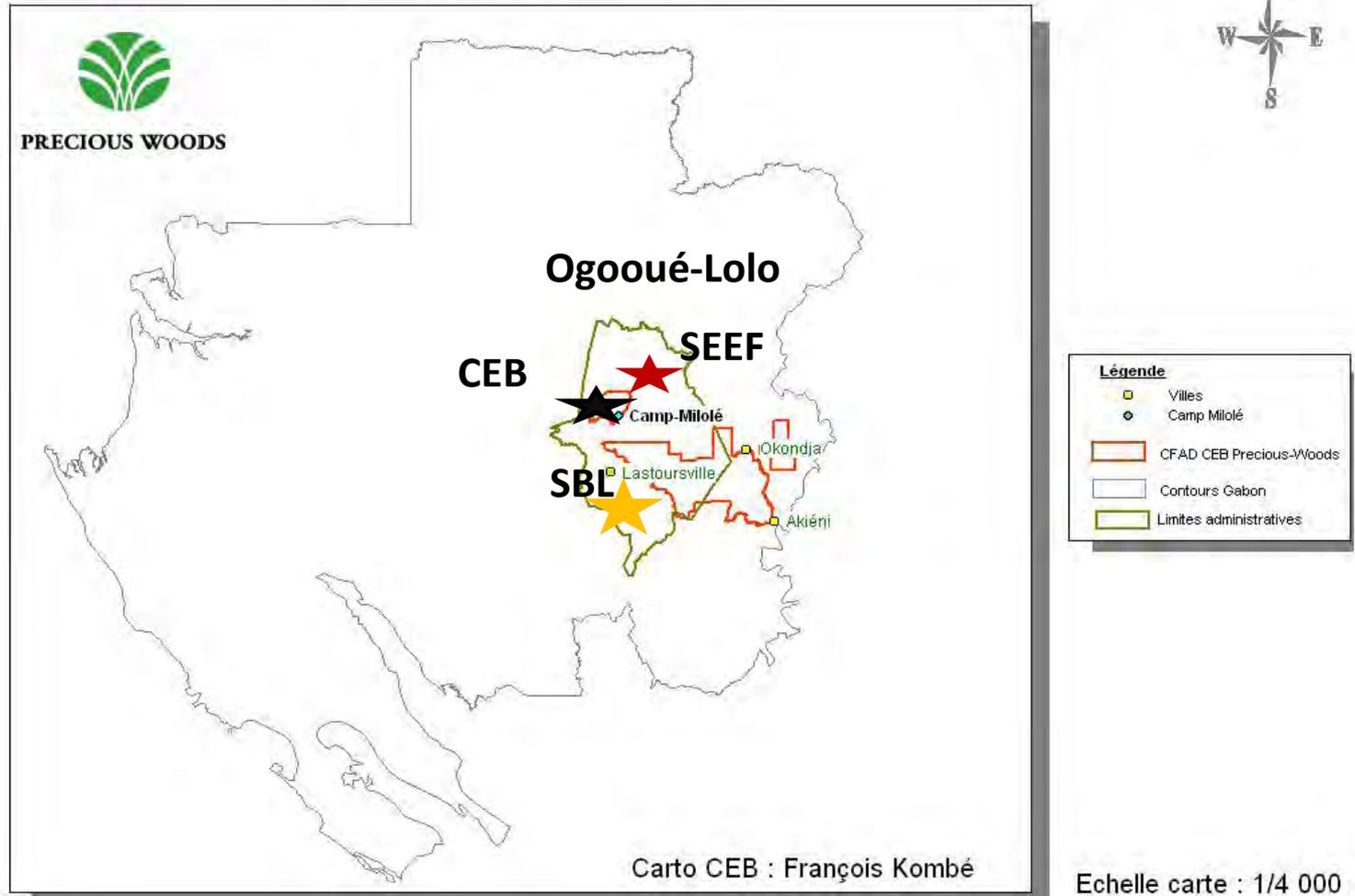
# Localisation



Source: <http://www.e-voyageur.com/atlas/carte/images/gabon.png>

# Sites d'étude

CARTE CFAD CEB



# COLLECTE DE DONNÉES ET MÉTHODOLOGIE

## Identification moléculaire des champignons endophytes

Prélèvement de carotte d'arbre



Brûlage à l'alcool



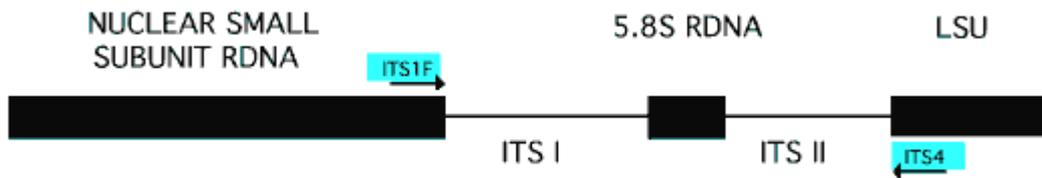
Glacière



# Analyses de Laboratoire



- Broyage des échantillons: Geno/Grinder 2000;
- Extraction d'ADN: Qiagen Plant Mini Kit;
- Amplification par PCR;
- Séquençage, méthode Sanger (d'électrophorèse capillaire, plateforme ABI 3730xl ).



## Amorces spécifiques

ITS1F: CTT GGT CAT TTA GAG GAA GTA A

ITS4: TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC

# Traitement des données

## Analyse des séquences:

Logiciel de lecture de séquences: BioEdit ;

Outil BLAST (blastn) de NCBI ;

Alignement des séquences (Clustal W);

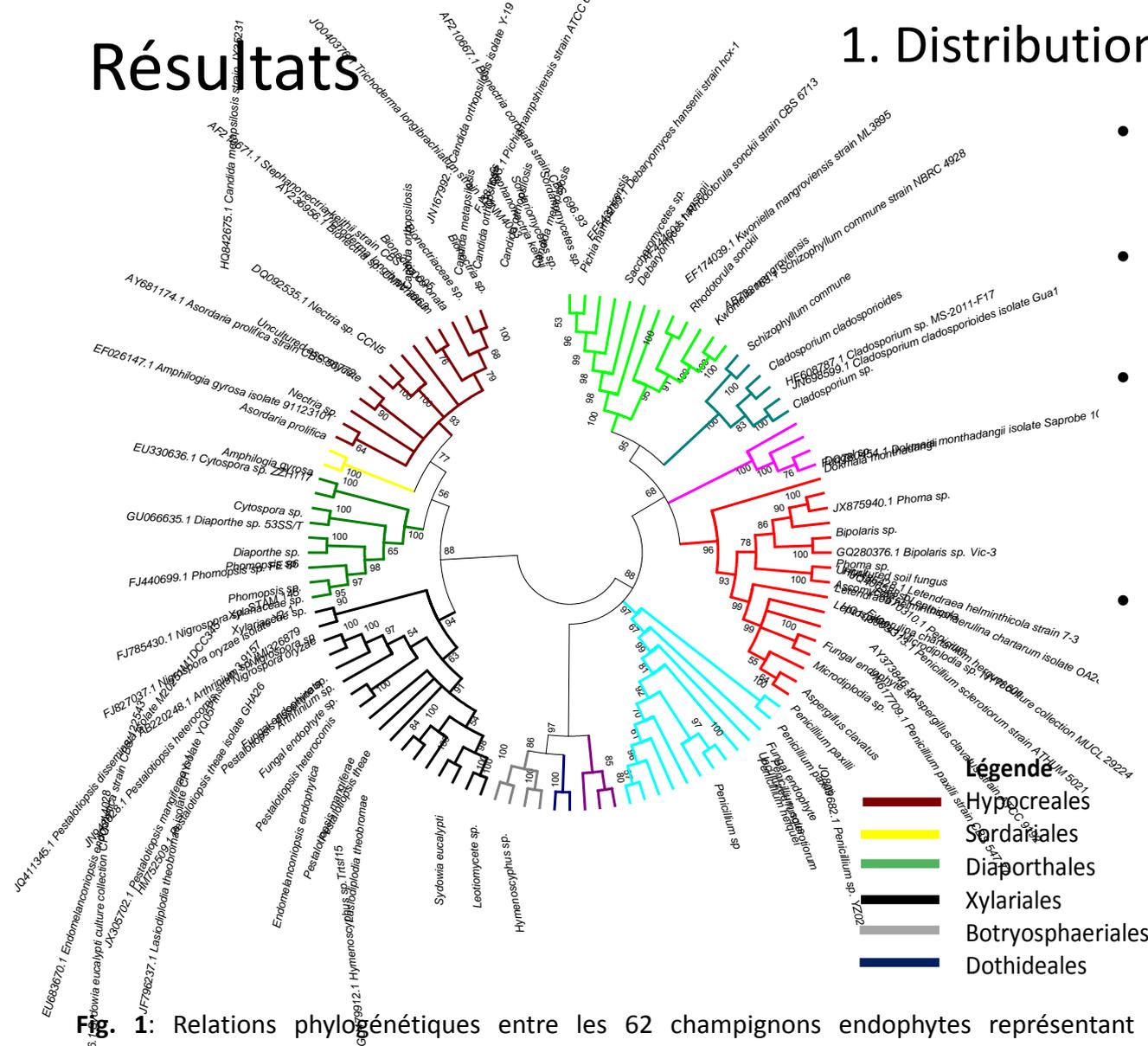
Études de diversité (Logiciel Mothur);

Reconstruction des arbres phylogénétiques par la méthode du Neighbor Joining avec MEGA 5.

# Résultats

## 1. Distribution

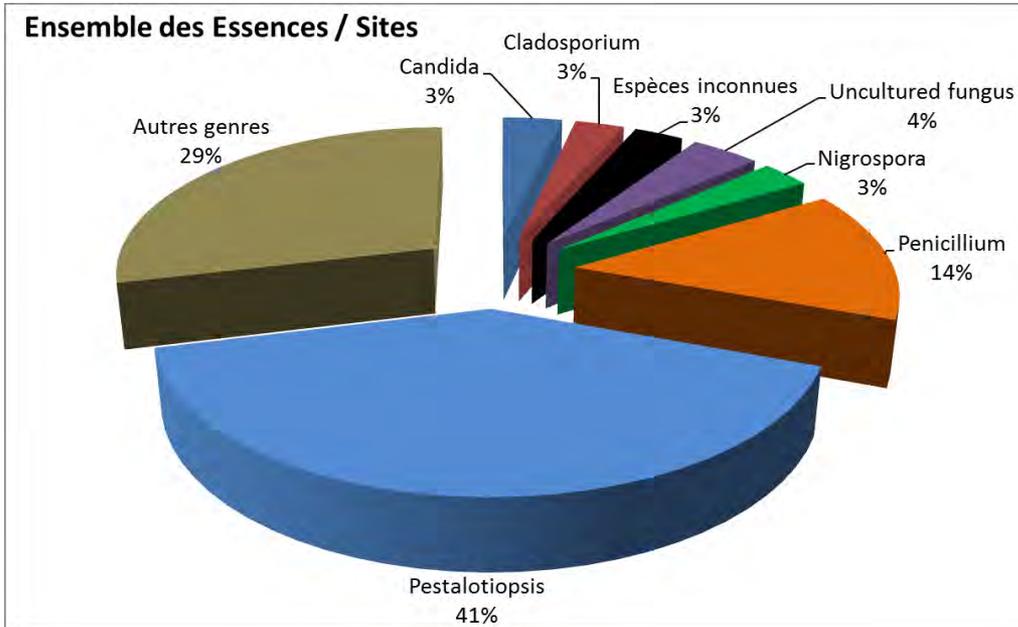
- Nombre total d'arbres échantillons: **499**;
- Nombre de séquences identifiées sur NCBI : **223**;
- Nombre de séquences utilisées dans l'analyse (> 90% d'identité maximum): **170 (62 OTUs)**;
- **37 genres et 41 espèces** distinctes de champignons endophytes.



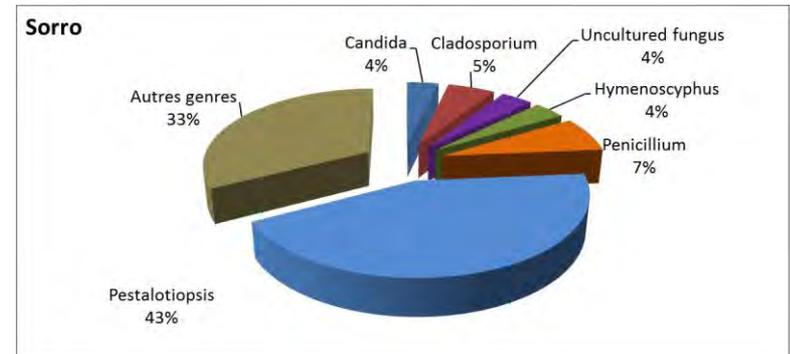
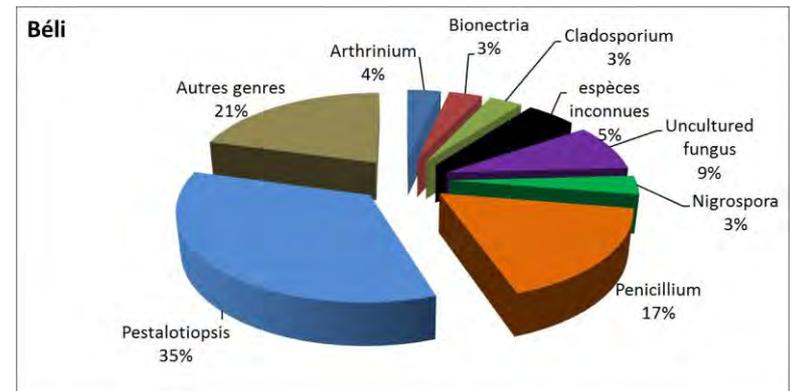
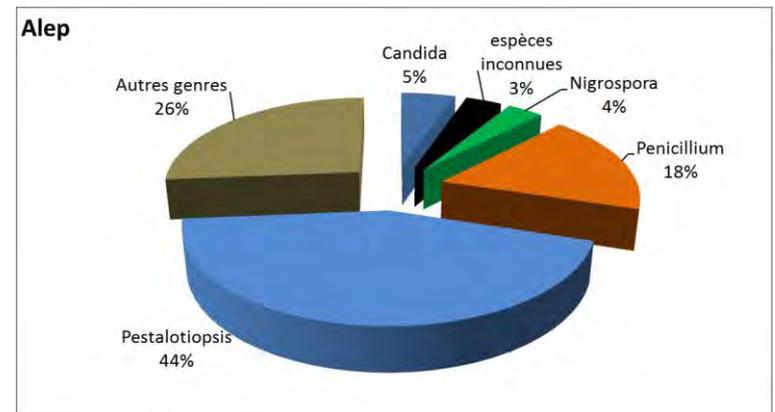
**Fig. 1:** Relations phylogénétiques entre les 62 champignons endophytes représentant chacune des OTUs constituant la richesse totale des 3 essences forestières étudiées du sud-est du Gabon, avec les séquences des régions ITS ADN<sub>r</sub> ayant eu une forte similarité à l'aide des Blasts de GenBank identifiées par leurs numéros d'accèsion. L'arbre a été construit par la méthode du Neighbor Joining. Les valeurs de Bootstrap ont été obtenues avec 1000 répétitions et les distances évolutives ont été calculées à l'aide de la méthode p-distance.

# Résultats

## 2. Abondance



**Fig. 2: Composition de l'ensemble des champignons endophytes dans tous les sites échantillonnés**



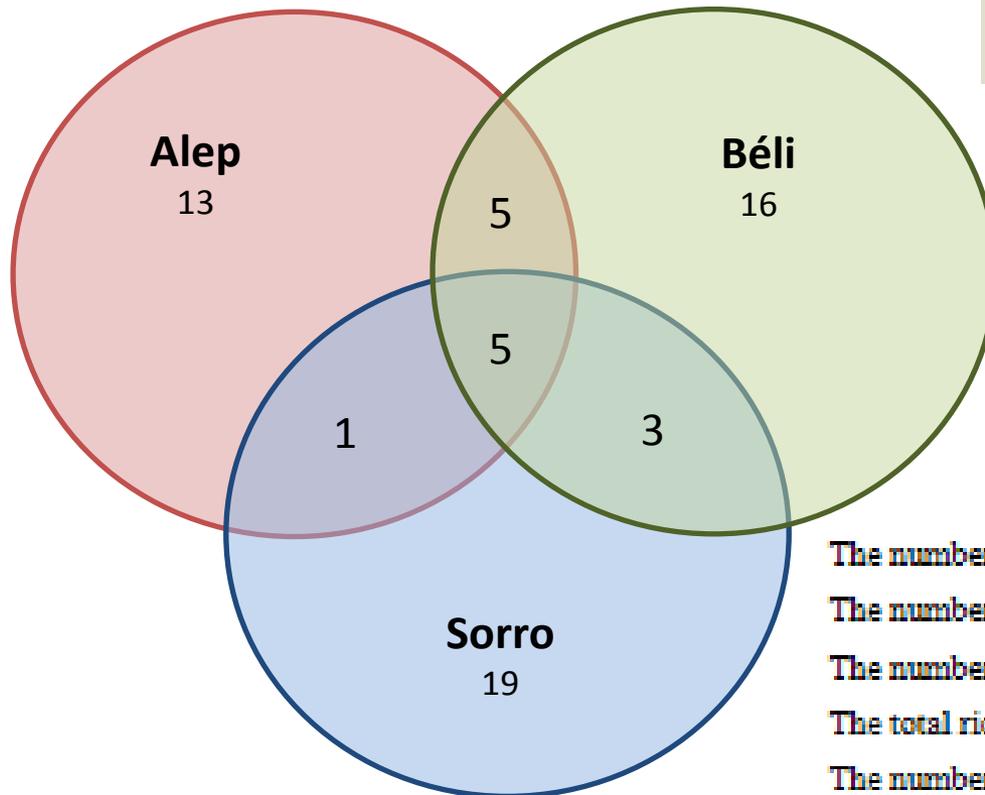
**Fig. 3 : Composition en champignons endophytes chez chacune des espèces de l'ensemble des sites échantillonnés**

# Résultats

## Essences

### 3. Étude de Richesse (seuil 0,05 %)

Richesse totale en OTUs: 62;  
Nbre d'OTUs singletons: 43 (69,35%);



The number of species in group Alep is 24

The number of species in group Béli is 29

The number of species in group Sorro is 28

The total richness of all the groups is 62

The number of species shared between groups Alep and Béli is 10

The number of species shared between groups Alep and Sorro is 6

The number of species shared between groups Béli and Sorro is 8

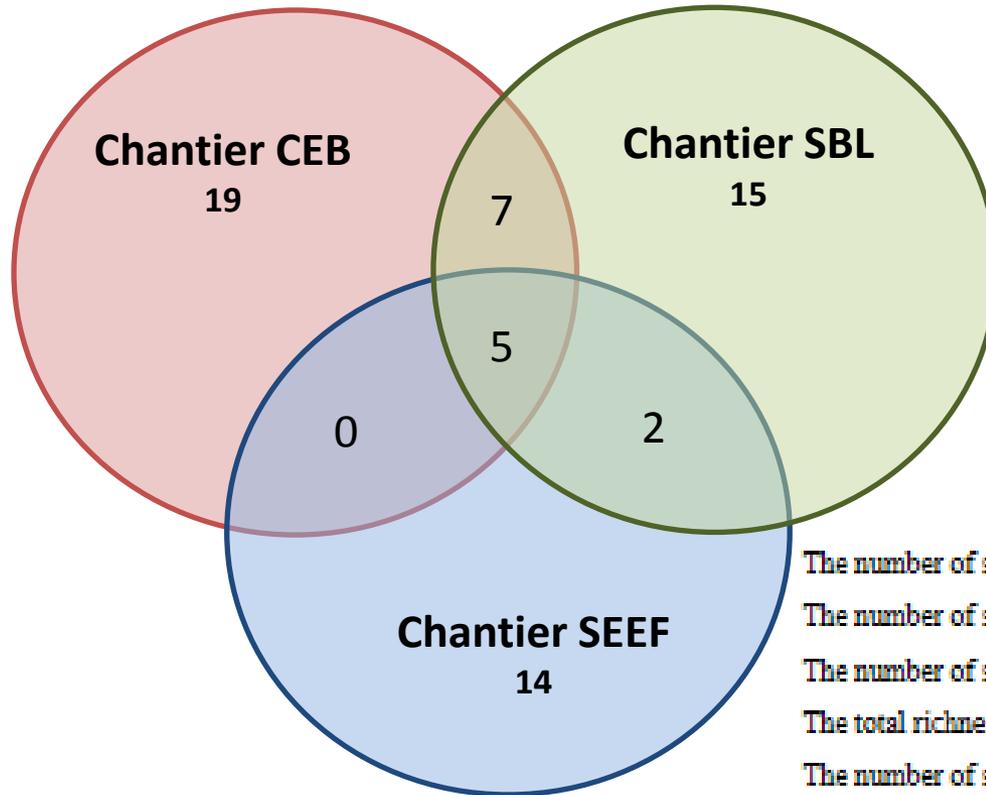
The total shared richness is 5

Fig. 4: Distribution de la Richesse en champignons endophytes chez les 3 essences forestières

# Sites

# Résultats

## 3. Étude de Richesse (seuil 0,05 %)



The number of species in group ChantierCEB is 31

The number of species in group ChantierSBL is 29

The number of species in group ChantierSEEF is 21

The total richness of all the groups is 62

The number of species shared between groups ChantierCEB and ChantierSBL is 12

The number of species shared between groups ChantierCEB and ChantierSEEF is 5

The number of species shared between groups ChantierSBL and ChantierSEEF is 7

The total shared richness is 5

Fig. 5: Distribution de la Richesse en champignons endophytes dans les 3 sites

# Résultats

## 4. Étude de Diversité (seuil 0,05 %)

L'indice de diversité de **Shannon – Wiener** est généralement compris entre **1,5 et 3,5**; 1,5 représente la plus faible diversité et 3.5 la plus élevée. L'Indice de diversité de **Simpson** est compris entre **0 et 1**; 1 étant une population avec 1 espèce (Gazis & Chaverri, 2010).

**Tableau 1:** Indices de diversité de champignons endophytes chez les 3 essences et dans les 3 sites

Essence	Indices de Diversité	
	Shannon	Simpson
<i>D. glaucescens</i>	2.49	0.15
<i>P. bifoliolata</i>	2.72	0.13
<i>S. ochocoa</i>	2.82	0.09
Chantier CEB	2.83	0.10
Chantier SBL	2.69	0.13
Chantier SEEF	2.45	0.14
Total	3.11	0.12

# Conclusions

- Les essences *D. glaucescens*, *S. ochocoa* et *P. bifoliolata* renferment une relative grande diversité de champignons endophytes, comme la plupart des essences tropicales (A. Elizabeth Arnold & Lutzoni, 2007; Debdulal & Banerjee, 2011);
- La diversité a également été observée dans les 3 sites de prélèvement;
- les champignons des genres *Pestalotiopsis* et *Penicillium* sont communs à nos trois essences tropicales gabonaises dans les trois sites;
- Les champignons du genre *Pestalotiopsis*, groupe important de cette étude, sont des endophytes couramment isolés chez les plantes tropicales et subtropicales (Joshi et al. 2009) et produisent beaucoup de métabolites secondaires importants ayant une utilisation potentielle pour les maladies des plantes (Kumar et al. 2004, Ding et al. 2009, Liu et al. 2009);
- Certaines OTUs de champignons endophytes sont spécifiques à une essence;
- Beaucoup d'OTUs de champignons endophytes sont rares.



## Les Sociétés forestières:

- **CEB-Precious Woods;**
- **Société des Bois de Lastourville (SBL);**
- **Société Équatoriale d'Exploitation Forestière (SEEF).**

- **Techniciens de Laboratoire:**  
Boris Makanga et Patrick Yangari du CIRMF;
- **Aides de terrain:** Engamba Boniface (CEB), Nyamangoye Alain et Mbela-Koudou (SBL), Mikouanga Syvestre (SEEF), Serge Corbet (Étudiant ENEF).