

RÉSUMÉ DE THÈSE /
ACADEMIC THESIS ABSTRACT / RESUMEN DE TESIS ACADÉMICA**Contribution de la symbiose fixatrice d'azote dans l'adaptation d'une légumineuse à des sols contrastés : le modèle *Acacia spirorbis* et les contraintes édaphiques extrêmes rencontrées en Nouvelle-Calédonie**

Bryan VINCENT

RÉSUMÉ

Acacia spirorbis est une légumineuse endémique de Nouvelle-Calédonie se développant sur des sols calcaires, métallifères et volcano-sédimentaires, établissant des symbioses avec des bactéries fixatrices d'azote. Pour comprendre la contribution de la symbiose dans l'adaptation de la plante à des milieux contrastés et parfois extrêmes, nous avons évalué la fixation d'azote en conditions naturelles, caractérisé les rhizobia associés à cette plante et analysé la réponse adaptative de la plante aux éléments traces métalliques dans ses tissus racinaires, notamment au niveau des nodules. Nous avons mis en évidence que la symbiose rhizobienne fournissait plus de 80 % de l'azote total chez des populations naturelles d'*A. spirorbis* se développant sur des sites d'étude présentant des sols calcaires, métallifères et volcano-sédimentaires. Cette valeur est remarquable puisque, pour *A. mangium*, *A. melanoxylon* et *A. mucronata*, les valeurs moyennes sont respectivement de 50 %, 43 % et 58 %. Les rhizobia symbiotiques associés à *A. spirorbis* appartiennent aux α - et β -protéobactéries, genres *Bradyrhizobium* et *Paraburkholderia*, révélant ainsi une très large gamme de symbiontes et une faible sélectivité de partenaire. De manière remarquable, la taxonomie et le phénotype de ces souches sont structurés et adaptés aux conditions édaphiques. Enfin, les signatures chimiques des tissus internes des nodules reflètent les propriétés chimiques des sols dans lesquels ils se sont développés, indiquant une potentielle gestion des éléments traces métalliques dans ces tissus. Tous ces éléments suggèrent que la symbiose fixatrice d'azote contribue de manière significative dans l'adaptation d'*Acacia spirorbis* à des sols contrastés et pouvant présenter une toxicité polymétallique extrême.

Mots-clés : *Acacia spirorbis*, fixation d'azote, *Bradyrhizobium*, *Paraburkholderia*, éléments traces métalliques, contraintes édaphiques, Nouvelle-Calédonie.

Nitrogen-fixing contribution of a leguminous species towards adaptation to contrasting soils: the *Acacia spirorbis* model and extreme edaphic constraints found in New Caledonia.

ABSTRACT

Acacia spirorbis is an endemic leguminous tree from New Caledonia which is naturally found on a wide range of soils (calcareous, ultramafic and volcano-sedimentary) and able to establish symbioses with soil microorganisms, including nitrogen-fixing bacteria called rhizobia. The contribution of this symbiosis to plant adaptation to sometimes extreme contrasts in edaphic

environments was investigated according to (i) the nitrogen-fixing potential of *A. spirorbis* in its natural ecosystems, (ii) the genetic and phenotypic characteristics of the rhizobia involved in the symbioses and (iii) the plant adaptive response to heavy metals inside its root tissues, especially in nodules. This study reports that the nitrogen-fixing symbiosis provided more than 80% of the total plant nitrogen in a population occurring naturally on calcareous, ultramafic and volcano-sedimentary soils. This figure stands out from other *Acacia* species, with *A. mangium*, *A. melanoxylon* and *A. mucronata* presenting mean percentages of 50%, 43% and 58%, respectively. Furthermore, *Acacia spirorbis* established nitrogen-fixing symbioses with α - and β -proteobacteria, respectively of the genera *Bradyrhizobium* and *Paraburkholderia*, thus revealing broad symbiotic promiscuity. Notably, the taxonomy, symbiotic efficiency and metal tolerances of these symbionts are structured and adapted to edaphic parameters. Finally, heavy metals, i.e. nickel and cobalt, were detected inside nodule tissues without having an impact on the nitrogen fixation process, suggesting the possibility of metal tolerance mechanisms. Taken together, these results suggest that nitrogen-fixing symbiosis could be one of the keys to the successful adaptation of *Acacia spirorbis* to specific edaphic conditions found in New Caledonia.

Keywords: *Acacia spirorbis*, nitrogen-fixing, *Bradyrhizobium*, *Paraburkholderia*, heavy metals, edaphic constraints, New Caledonia.

Contribución de la simbiosis fijadora de nitrógeno en la adaptación de una leguminosa en diferentes suelos: el modelo *Acacia spirorbis* y las condiciones edáficas extremas encontradas en Nueva Caledonia

RESUMEN

Acacia spirorbis es una leguminosa endémica de Nueva Caledonia que se desarrolla en suelos calcáreos, metalíferos y vulcanosedimentarios, estableciendo simbiosis con bacterias fijadoras de nitrógeno. Para comprender la contribución de la simbiosis en la adaptación de la planta en entornos variados y a veces extremos, hemos evaluado la fijación de nitrógeno en condiciones naturales, caracterizando los rizobios asociados a esta planta y analizando la respuesta adaptativa de la planta a los elementos traza metálicos en sus tejidos radiculares, especialmente al nivel de los nódulos. Se evidenció, que la simbiosis rizobiana suministraba más del 80 % del nitrógeno total a las poblaciones naturales de que crecen en suelos, calcáreos, metalíferos y vulcanosedimentarios estudiados. Este valor destaca, ya que en *A. mangium*, *A. melanoxylon* y *A. mucronata*, los valores

medios son respectivamente de 50 %, 43 % y 58 %. Los rizobios simbióticos asociados a *A. spirorbis* pertenecen a las proteobacterias α y β , géneros *Bradyrhizobium* y *Paraburkholderia*, lo que revela una amplia gama de simbiotes y una débil selectividad del huésped. De manera destacada, la taxonomía y el fenotipo de estas cepas están estructurados y adaptados a las condiciones edáficas. Finalmente, los metales pesados como el níquel y cobalto fueron detectados en los tejidos internos de los nodulos, reflejando las propiedades químicas de los suelos donde se han desarrollado, sugiriendo un posible mecanismo de tolerancia a metal pesados. Estar resultados, sugieren que la simbiosis fijadora de nitrógeno contribuye de manera significativa a la adaptación de *Acacia spirorbis* a condiciones edáficas específicas que pueden presentar una toxicidad polimetálica extrema.

Palabras clave: *Acacia spirorbis*, fijación de nitrógeno, *Bradyrhizobium*, *Paraburkholderia*, elementos traza metálicos, limitaciones edáficas, Nueva Caledonia.

Grade et diplôme : Doctorat
Université : Université de Montpellier, France
Date de soutenance : 24 octobre 2018
Composition du jury
Direction
Philippe Jourand (chercheur, IRD-LSTM, France)

Membres
Corinne Leyval (chercheur, Université de Lorraine-CNRS, France)
Daniel Wipf (professeur, Université de Bourgogne-INRA, France)
Hamid Amir (professeur, Université de Nouvelle-Calédonie, France)
Maria Fernandez (professeur, Université Claude Bernard Lyon 1, France)
Brigitte Brunel (professeur, Université de Montpellier, France)

Langue de rédaction : Français

Accès au manuscrit :

<http://www.biu-montpellier.fr/florabium/jsp/nnt.jsp?nnt=2018MONTG050>

Contact

IRD, LSTM UMR040, Cirad, Campus international de Baillarguet, TA-A82/J
34398 Montpellier Cedex 5, France

Adresse e-mail : bryan.vincent@ird.fr

Liste des articles publiés :

Vincent B., Jourand P., Juillot F., Ducousso M., Galiana A., 2018. Biological *in situ* nitrogen fixation by an *Acacia* species reaches optimal rates on extremely contrasted soils. *European Journal of Soil Biology*, 86: 52-62.

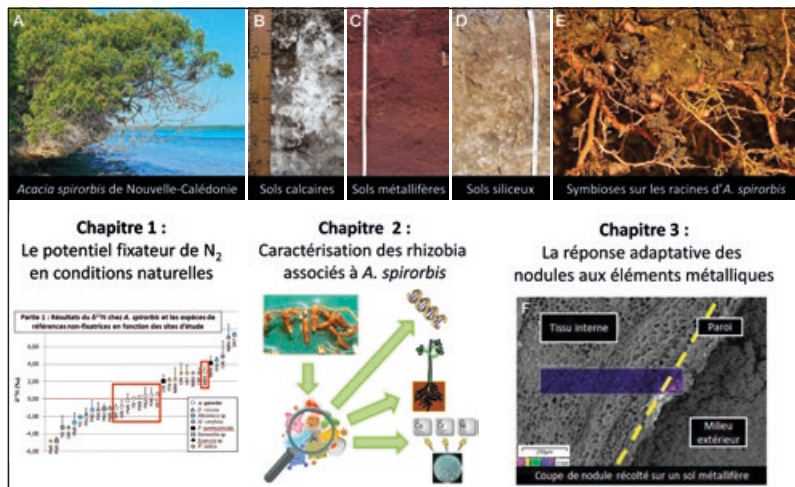
Vincent B., Juillot F., Fritsch E., Klonowska A., Gerbert N., Acherar S., et al., 2019. A leguminous species exploiting alpha- and beta-rhizobia for adaptation to ultramafic and volcano-sedimentary soils: an endemic *Acacia spirorbis* model from New Caledonia. *FEMS Microbiology Ecology*, fizo99.

Doi : [10.19182/bft2019.341.a31757](https://doi.org/10.19182/bft2019.341.a31757)

Droit d'auteur © 2019, Bois et Forêts des Tropiques © Cirad
Date de publication : 20 juillet 2019



Licence Creative Commons :
Attribution - Pas de Modification 4.0 International.
Attribution-NoDerivatives 4.0 International (CC BY-ND 4.0)



Chapter 1: Nitrogen-fixing potential under natural conditions
Chapter 2: Characterisation of rhizobia associated with *A. spirorbis*
Chapter 3: Adaptive response of the nodules to metallic elements
Capítulo 1: El potencial fijador de N₂ en condiciones naturales
Capítulo 2: Caracterización de los rizobios asociados a *A. spirorbis*
Capítulo 3: La respuesta adaptativa de los nódulos a los elementos metálicos

Photos.

Acacia spirorbis subsp. *spirorbis* Labill. (A) est une légumineuse endémique de Nouvelle-Calédonie. Elle a la particularité de se développer dans des sols calcaires (B), métallifères (C) et siliceux (D). De plus, la plante établit des symbioses au niveau de ses racines (E) avec des microorganismes du sol, dont les rhizobias. Cette association plante-bactérie forme des nodules capables de fixer l'azote atmosphérique et de le transformer en une forme assimilable par la plante. Néanmoins, les éléments métalliques (Cr, Co, Fe, Ni et Mn) en fortes proportions dans les sols miniers peuvent inhiber ce processus de fixation d'azote. De ce fait, nous avons analysé les éléments métalliques présents dans les nodules (F) en utilisant un microscope électronique à balayage couplé à une technique d'ICP-MS à ablation laser. Photos B. Vincent.

Photos.

Acacia spirorbis subsp. *spirorbis* Labill. (A) is a leguminous species endemic to New Caledonia. A particular feature of the species is its ability to thrive in calcareous (B), metal-bearing (C) and siliceous (D) soils. Furthermore, it establishes symbioses between its roots (E) and soil microorganisms, including rhizobia. This association between plant and bacteria produces nodules capable of fixing nitrogen from the air and transforming it so that it can be assimilated by the plant. However, metals found in high proportions in soils affected by mining (Cr, Co, Fe, Ni and Mn) can inhibit the nitrogen fixing process. We therefore analysed the metallic elements found in the nodules (F), using a scanning electron microscope coupled with ICP-MS laser ablation. Photos B. Vincent.

Fotos.

Acacia spirorbis subsp. *spirorbis* Labill. (A) es una leguminosa endémica de Nueva Caledonia. Tiene la particularidad de desarrollarse en suelos calcáreos (B), metalíferos (C) y silíceos (D). Además, la planta establece simbiosis al nivel de las raíces (E) con microorganismos del suelo, entre ellos, los rizobios. Esta asociación planta-bacteria forma nódulos capaces de fijar el nitrógeno atmosférico y transformarlo en una forma asimilable para la planta. Sin embargo, los elementos metálicos (Cr, Co, Fe, Ni y Mn) altas concentraciones mineras pueden inhibir este proceso de fijación de nitrógeno. Por ello, hemos analizado los elementos metálicos presentes en los nódulos (F) mediante un microscopio electrónico de barrido acoplado con técnica de ICP-MS de ablación láser. Fotos B. Vincent

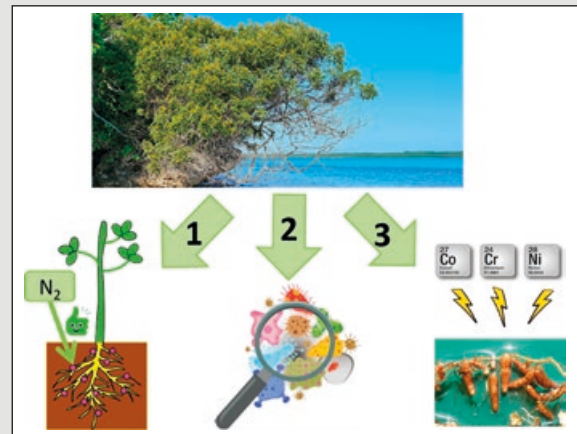


Figure 1.

Acacia spirorbis subsp. *spirorbis* Labill. est une légumineuse endémique de Nouvelle-Calédonie. Cette plante a la particularité d'établir des associations bénéfiques (symbioses) avec des bactéries du sol (rhizobias) et de se développer dans des environnements variés et parfois extrêmes. Pour mieux comprendre le rôle que joue la symbiose dans l'adaptation remarquable de la plante aux conditions édaphiques, trois approches ont été adoptées :

- 1) Une évaluation du potentiel fixateur d'azote (N₂) de la plante sur le terrain en utilisant l'abondance naturelle d'un isotope lourd de l'azote, le ¹⁵N.
- 2) Une caractérisation des rhizobias associés à la plante à travers une description taxonomique, des cultures *in vitro* et des tests de tolérance aux éléments métalliques.
- 3) Une analyse de la réponse adaptative de la plante aux éléments métalliques présents dans les sols de Nouvelle-Calédonie en dosant les métaux présents dans les organes symbiotiques (nodules) au niveau des tissus racinaires internes de la plante.

Figure 1.

Acacia spirorbis subsp. *spirorbis* Labill. is a leguminous species endemic to New Caledonia. A particular feature of the species is its ability to establish beneficial associations (symbioses) with soil bacteria (rhizobia) and to thrive in varied and sometimes extreme conditions. A study involving three complementary approaches was undertaken to further our understanding of the role of symbiosis in this plant's remarkably effective adaptation to different edaphic conditions:

- 1) Assessment of the plant's nitrogen-fixing potential in field conditions, using the natural abundance of a heavy nitrogen isotope, ¹⁵N.
- 2) Characterisation of the rhizobia associated with the plant through a taxonomic description, *in vitro* cultures and tests for tolerance to metallic elements.
- 3) Analysis of the adaptive response of the plant to metallic elements found in soils in New Caledonia, by dosing the metals found in the symbiotic organs (nodules) on the internal root tissues of the plant.

Figura 1.

Acacia spirorbis subsp. *spirorbis* Labill. es una leguminosa endémica de Nueva Caledonia. Esta planta tiene la particularidad de establecer asociaciones benéficas (simbiosis) con bacterias del suelo (rizobios) y desarrollarse en entornos variados y a veces extremos. Para comprender mejor el rol que juega la simbiosis en la adaptación de la planta a las condiciones edáficas, se abordaron tres enfoques:

- 1) Una evaluación del potencial fijador de nitrógeno (N₂) de la planta sobre el terreno utilizando la abundancia natural de un isótopo pesado del nitrógeno, el ¹⁵N.
- 2) Una caracterización de los rizobios asociados a la planta mediante una descripción taxonómica, cultivos *in vitro* y tests de tolerancia a los elementos metálicos.
- 3) Un análisis de la respuesta adaptativa de la planta a los elementos metálicos presentes en los suelos de Nueva Caledonia mediante la dosificación de los metales presentes en los órganos simbióticos (nódulos) a escala de los tejidos radicales internos de la planta.