

UNIVERSITE D'ANTANANARIVO



Projet PARRUR

RAPPORT DE TRAVAIL DE RECHERCHE

Par

RAJAONARIMAMY Elinarindra

Doctorante en Biochimie (Option : Biotechnologie - Microbiologie)

Département de Biochimie Fondamentale et Appliquée

Faculté des Sciences

Université d'Antananarivo/Madagascar

Septembre 2013 au Juin 2014

Laboratoire d'accueil: Laboratoire de Microbiologie de l'Environnement du Centre

National de Recherches sur l'Environnement

« Impact de *Psidium cattleianum* sur le développement d'une essence autochtone (*Intsia bijuga*) de la forêt naturelle d'Ianjomara, Madagascar »

Directeurs de thèse : ANDRIANARISOA Blandine, Professeur Titulaire

RAMANANKIERANA Heriniaina, Docteur HDR

SOMMAIRE	1
PREAMBULE	2
I. INTRODUCTION	3
II. APPROCHE METHODOLOGIQUE :	3
II.1. Echantillonnage :	3
II.2. Caractérisation chimique de sol	4
II.3. Effet de <i>Psidium cattleianum</i> sur la régénération d' <i>Intsia bijuga</i>	4
II.3.1. Evaluation des paramètres	4
II.3.1.1. Biomasse aérienne	5
II.3.1.2. Biomasse racinaire	5
II.3.1.3. Taux de mycorhization	5
II.3.1.4. Teneur chimique des parties aériennes de <i>I. bijuga</i>	5
III. RESULTATS	6
III.1. Propriétés chimiques de sol	6
III.2. Développement de <i>I. bijuga</i>	6
III.3. Caractères chimiques de la partie aérienne de <i>I. bijuga</i>	7
IV. CONCLUSION	7
V. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	8

Préambule

Ce travail n'aurait pu se faire sans l'aide et le soutien des personnes et d'organismes suivants :

Je tiens donc à exprimer ma reconnaissance, tout particulièrement au projet PARRUR pour le soutien financier durant ce travail.

Je remercie chaleureusement Madame Pr REJO FIENENA Félicitée, Directeur du CNRE, qui a bien voulu nous accueillir et nous avoir permis d'effectuer des travaux de recherches au sein du LME, et plus exactement dans l'unité de recherche de microbiologie en milieux naturels.

Je voudrais adresser toute ma gratitude au Pr ANDRIANARISOA Blandine, pour la confiance qu'elle m'a accordée ainsi que pour son intérêt pour le déroulement de ce projet de recherche. Sa sympathie, son profond humanisme ainsi que son soutien scientifique m'ont profondément touchée.

Je remercie en particulier au Dr (HDR) RAMANANKIERANA Heriniaina pour avoir mis à ma disposition les moyens nécessaires à la réalisation de cette activité.

Mes plus vifs remerciements s'adressent également à toute l'équipe du LME pour leur multiple aide et pour leur soutien durant la réalisation de ce projet.

Je remercie vivement tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail

I. INTRODUCTION

Les perturbations engendrées par les espèces exotiques au niveau du développement des espèces autochtones et du fonctionnement microbien du sol constituent actuellement un des problèmes préoccupant pour les scientifiques. *Psidium cattleianum* Sabine (Myrtaceae) ou goyave de chine est classé parmi les 100 espèces exotiques envahissantes les plus néfastes au niveau mondial et est considéré comme la plante envahissante la plus sévère dans l'Océan Indien principalement à Madagascar. La propagation des espèces exotiques invasives conduit à la modification des caractéristiques physico- chimiques et microbiologiques du sol qui ne sont pas toujours favorables à la recolonisation du milieu par les espèces autochtones (Remigi et al, 2008 ; Kisa et al., 2007). Différents mécanismes biologiques sont à l'origine des perturbations induites par ces espèces invasives à savoir: (i) la modification des composantes microbiologiques et physico-chimiques du sol par l'intermédiaire des rhizodépôts ou de leurs litières et (ii) et la compétition avec les espèces autochtones pour l'acquisition des éléments nutritifs ou de la lumière (Vitousek et al., 1997 ; Rejmanek, 2000; Sanon, 2009). Malheureusement, la prise de conscience du problème lié aux invasions biologiques est très peu relayée à Madagascar (Binggeli, 2003). Peu ou pas d'études ont abordé la lutte contre l'invasion de *P. cattleianum* en exploitant la capacité des microorganismes telluriques d'atténuer ou d'empêcher sa propagation. L'objectif de cette recherche est d'évaluer l'influence du changement des propriétés du sol et du fonctionnement de la microflore tellurique après l'installation de *P. cattleianum* sur le développement d'*I. bijuga*

II. APPROCHE METHODOLOGIQUE :

II.1. Echantillonnage :

Les activités ont été réalisées dans le site situé dans l'écosystème forestier d'Ianjomara (Vatomandry)-Toamasina (19° 07'S; 48° 54'E). La descente sur le terrain a été effectuée pendant 10 jours (10 au 19 Octobre 2013) pour le prélèvement des échantillons de sol qui ont été utilisés pour la culture d'*Intsia bijuga* en serre, des racines, ainsi que des carpophores des champignons.

Le principal critère de choix de l'emplacement des plots a été la physiologie de la végétation et la composition floristique. Selon Godron et al. (1983), l'aire de relevé a du être une zone homogène caractérisée par l'uniformité de ses conditions écologiques et par l'homogénéité apparente de la physiologie et de la composition floristique du couvert végétal. Le relevé floristique a été réalisé dans des plots circulaires de rayon de 10 m soit une surface de relevé de 314 m². Ils ont été espacés de 50 à 100 m selon la répartition des types de formations

Rapport de travail de recherche
végétales étudiées dans le paysage. Les plots ont été placés le long d'un transect partant à l'intérieur d'une forêt naturelle, passant par la végétation mixte (espèces natives et espèces exotiques) puis par la formation homogène de *P. cattleianum* jusqu'à la zone dégradée (ravagée par le feu). Des prélèvements d'échantillon de sol au niveau de la couche superficielle (0-20 cm) sous la litière ont été effectués pour chaque plot circulaire. Les échantillons ont été par la suite conservés à +4°C jusqu'à l'analyse au laboratoire. Cinq répétitions par type de sol ont été prélevées. Il convient de souligner que la profondeur du sol de 0 à 20 cm correspond à la zone d'activité microbiologique intense.

II.2. Caractérisation chimique de sol

Les taux de carbone et azote total de sol ont été déterminés par combustion sèche selon norme ISO13878 (N) et ISO10694 (C) sur équipement Thermo-Scientific Flash EA1112 (France - 2004), tandis que le taux de phosphore assimilable par la méthode Olsen modifiée Dabin. Ces analyses chimiques ont été réalisées au laboratoire pédologie du FOFIFA A ntsimbazaza.

II.3. Effet de *Psidium cattleianum* sur la régénération d'*Intsia bijuga*

Afin d'évaluer l'impact de cette espèce d'arbuste invasive (*Psidium cattleianum*) sur le développement de plantules d'*Intsia bijuga*, le dispositif expérimental suivant a été mis en place. Pour chaque plot, les échantillons de sol prélevés ont été mélangés, tamisés à 2mm et répartis dans des pots en plastique d'un litre. Après trempage dans de l'eau distillée tiède (20°C) pendant 24 h, les graines de *I. bijuga* ont été pré-germées dans des bacs en plastique contenant du sol sableux préalablement tamisé (2 mm) et stérilisé à l'autoclave (40 mn à 120°C). Les graines ayant germé dont la racine atteint 1,5 cm de long ont été repiquées respectivement sur les sols prélevés dans la forêt, sous la végétation mixte, sous population de *P. cattleianum* et dans la surface dégradée. Les pots avec 25 répétitions par type de sol, ont été ensuite déposés sous serre (photopériode 12 h, température moyenne 18 °C la nuit et 28°C le jour) et arrosés régulièrement (3 fois par semaine) avec de l'eau du robinet.

II.3.1. Evaluation des paramètres

Le développement d'*I. bijuga* a été évalué après 5 mois de culture en mesurant la hauteur, les biomasses aériennes et racinaires ainsi que l'évaluation du taux d'ectomycorhization de chaque plante. L'échantillonnage a été effectué en prenant cinq plantes au hasard pour chaque traitement.

II.3.1.1. Biomasse aérienne

La biomasse aérienne des plantes a été constituée par l'ensemble des feuilles et des tiges au dessus du collet. Après avoir évalué la hauteur des plantes, les parties aériennes ont été récupérées en coupant au niveau du collet. Après le lavage à l'eau de robinet, elles ont été enveloppées dans du papier aluminium, puis séchées dans une étuve pendant une semaine à 65°C. La biomasse aérienne a été par la suite évaluée en gramme de matière sèche sur une balance de précision.

II.3.1.2. Biomasse racinaire

Les plantes d'*I. bijuga* ont été déracinées pour chaque traitement. Les sols rhizosphériques ont été récupérés en secouant avec délicatesse les racines et éventuellement par rinçage à l'eau courante. Les substrats obtenus ont été séchés à l'air libre et conservés à +4°C pour des analyses microbiologiques ultérieures. Après avoir effectué les observations relatives au taux d'ectomycorhization, les systèmes racinaires ont été séchés à l'étuve pendant une semaine à 65°C. La biomasse racinaire a été évaluée sur une balance de précision.

II.3.1.3. Taux de mycorhization

Le système racinaire de chaque plantule a été soigneusement débarrassé de sa motte de terre à l'eau courante. Les racines latérales ont été séparées du pivot et observées sous la loupe binoculaire. Les ECM ou morphotypes (MT) ectomycorhiziens ont été différenciés par des caractères macroscopiques et microscopiques: texture et couleur du manteau fongique, présence des hyphes, de ramification. Les nombres d'apex mycorhizés et non mycorhizés ont été comptés sur les racines. Le pourcentage de mycorhization pour chaque morphotype a été par la suite calculé selon la formule : (nombre de racines mycorhizées/nombre total de racines observées x 100).

II.3.1.4. Teneur chimique des parties aériennes de *I. bijuga*

La caractérisation chimique des feuilles de *I. bijuga* a été effectuée dans le laboratoire pédologie de FOFIFA Antsimbazaza. La teneur en phosphore total a été déterminée par la méthode de Bray II. La détermination de la teneur en azote total est réalisée suivant la méthode classique de KJELDHAL.

III. RESULTATS

III.1. Propriétés chimiques de sol

D'après les résultats obtenus, cet écosystème forestier d'Ianjomara a été caractérisé par de sol à pH acide aux environs de 5. La teneur en carbone total, en azote total et en phosphore assimilable des échantillons de sol à l'état initial représentent des différences significatives entre les 4 parcelles, dont les valeurs plus élevées ont été trouvées sur le sol forestier.

III.2. Développement de *I. bijuga*

Tableau 1 : Poids sec (en g) de la biomasse aérienne, biomasse racinaire, hauteur et taux de mycorhization d'*I. bijuga* sur les quatre types de sol

	Sol forestier	Sol mixte	Sol sous <i>Psidium</i>	Sol dégradé
Hauteur d' <i>I. bijuga</i> en cm	31,233b	28,666ab	26,5ab	22a
Biomasse aérienne (en g poids sec)	3,499b	2,600ab	2,472ab	1,460a
Biomasse racinaire (en g poids sec)	0,909a	1,041a	0,870a	0,505a
Taux d'ectomycorhization en %	57c	39b	22a	18a

*les données de la même ligne suivies par les mêmes lettres n'ont pas de différence significative selon le test de Newman Keuls au seuil de probabilité 0,05.

Ce tableau 1 donne les valeurs de la biomasse aérienne, biomasse racinaire et la hauteur d'*I. bijuga* cultivé sur les différents type de sol (sol dégradé, sol sous *P. cattleianum*, sol mixte et sol forestier). Les expériences réalisées sous serre ont permis de démontrer que le développement de *Intsia bijuga* est fortement influencé par les caractéristiques du sol préalablement perturbé par *Psidium cattleianum* (avec des différences significatives par rapport aux plants cultivés sur le sol forestier). De plus, le taux d'ectomycorhization a été significativement élevé avec la plante cultivée sur le sol forestier par rapport à celles cultivées sur le sol préalablement colonisé par la plante invasive ainsi que sur le sol dégradé.

De même pour la hauteur et le poids sec de la biomasse aérienne d'*I. bijuga* observés chez le sol forestier sont significativement plus élevés par rapport aux autres types de sol. Par contre pour le poids sec de la biomasse racinaire, il n'y pas de différence significative dans chaque

Rapport de travail de recherche
types de sol. D'après ce résultat obtenu, on a observé que *I. bijuga* se développe mieux dans le sol forestier. La présence de l'arbuste exotique invasive semble donc limiter le développement d'*I. bijuga*. (Fig.1)

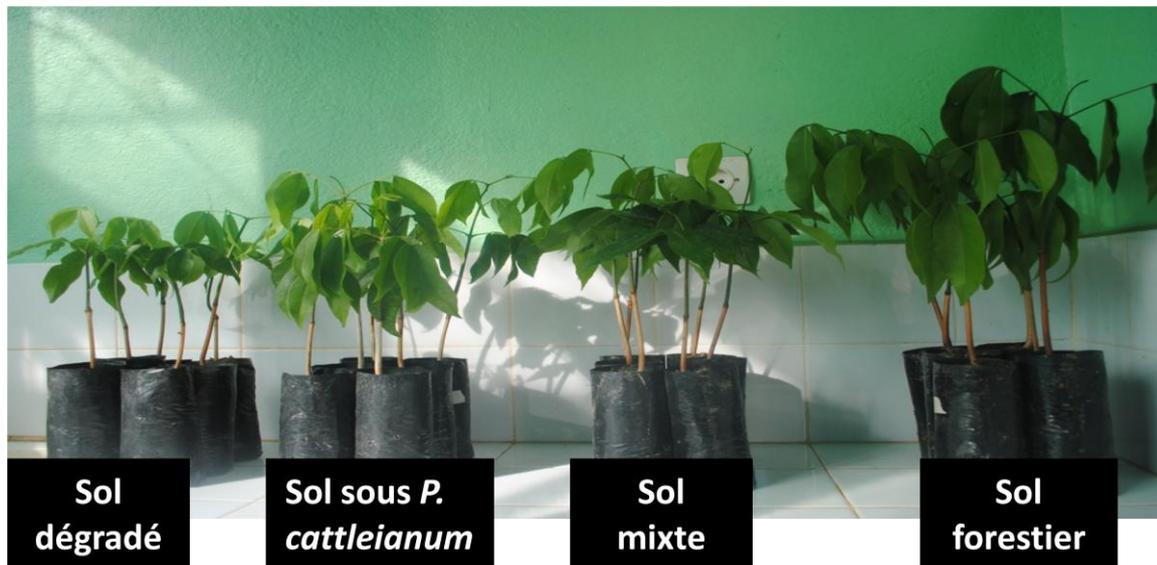


Figure 1 : Développement de *Intsia bijuga* après 5 mois de culture en serre

III.3. Caractères chimiques de la partie aérienne de *I. bijuga*

Les résultats obtenus ont montré que les quantités d'azote et phosphore accumulés dans les feuilles des plantes cultivées sur le sol forestier ont été significativement élevées par rapport à celles cultivées sur les autres types de sol qui sont : sol sous *P. cattleianum*, sol dégradé et sol mixte.

IV. CONCLUSION

Les résultats obtenus ont permis de mettre en évidence les impacts que peut avoir l'invasion biologique de la forêt sclérophylle d'Ianjomara par *Psidium cattleianum*. En effet, cet arbuste exotique perturbe profondément les propriétés physico-chimiques du sol au détriment des espèces végétales autochtones telles qu'*Intsia bijuga*. Cependant, pour pouvoir appuyer l'implication de la symbiose ectomycorhizienne dans l'atténuation de ces effets négatifs sur la régénération des essences ligneuses induites par *Psidium cattleianum*, la réalisation d'une inoculation d'*I. bijuga* pourra améliorer la régénération des essences.

V. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Binggeli, P. (2003). Introduced and invasive plants. In: The Natural History of Madagascar. S. M. Goodman and J. P. Benstead (eds.), pp 257-268. The University of Chicago Press, Chicago.
- Godron M., daget P., Long G., Sauvage C., Emberger L., Le Floch E., Poissonet J. et Wacquart J.P., 1983.- Relevé méthodologique de la végétation et du milieu : code et transcription sur cartes perforées. CNRS, Paris, 281p.
- Kisa, M., Sanon, A., Thioulouse, J., Assigbetse, K., Sylla, S., Spichiger, R., Dieng, L., Berthelin, J., Prin, Y., Galiana, A., Lepage, M. & Duponnois, R. (2007). Arbuscular mycorrhizal symbiosis can counterbalance the negative influence of the exotic tree species *Eucalyptus camaldulensis* on the structure and functioning of soil microbial communities in a sahelian soil, *FEMS Microbiology Ecology*, 62 (1): 32-44
- Rejmanek M (2000) Invasive plants: approaches and predictions. *Austral Ecology* 25:497-506.
- Remigi, P., Faye, A., Kane, A., Deruaz, M., Thioulouse E, J., Cissoko, M., Prin, Y., Galiana, A., Dreyfus, B. & Duponnois, R., (2008). The exotic legume tree species *Acacia holosericea* alters microbial soil functionalities and the structure of the arbuscular mycorrhizal community, *Applied and Environmental Microbiology*. 74 (5): 1485-1493.
- Sanon A., Bguiristain T., Cébron A., Berthelin J., Ndoye I., Leyval C., Sylla S., Duponnois R. (2009) Changes in soil diversity and global activities following invasions of the exotic invasive plant, *Amaranthus viridis* decrease the growth of native sahelian *Acacia* species. *FEMS Microbiol Ecol* 70:118–131
- Vitousek PM, D'Antonio CM, Loope LL, Rejmanek M, Westbrooks R (1997) introduced species: a significant component of human-caused global change. *New Zealand Journal of Ecology* 21: 1-16.