



LA DÉLIMITATION SPÉCIFIQUE DU GENRE *LOPHIRA* (OCHNACEAE) RÉVÈLE UNE VARIATION GÉNÉTIQUE CRYPTIQUE

Ewédjè E-E.B.K, G. Koffi, A. Staquet, R. Piñeiro, K. Dainou, A.B. Biwolé6, J-L. Doucet & O.J. Hardy

II^{ème} ÉDITION DE LA SEMAINE NATIONALE DE LA BIODIVERSITÉ

Cotonou, Mai 2019



Université Nationale des Sciences, Technologies,
Ingénierie et Mathématiques, UNSTIM-àbomey

Ecole Nationale Supérieure des Biosciences
et Biotechnologies Appliquées



- ✓ **Biomes tropicaux**, remarquable et importante diversité
- ✓ **délimitation d'espèce** = défi fondamental (rech. biaisées + biol. appl.)
- ✓ **Connaissance limitée de l'évolution des plantes** d'Afrique tropicale



✓ Deux facteurs de spéciation / différenciation génétique de espèces forestières d'Afrique tropicale (Duminil *et al.* 2013)

➤ **gradients écologiques**

➔ différenciation adaptative et écotypique

➤ **fragmentation/expansion forestière** en réponse aux changements climatiques passées (ex. Pléistocène)

✓ *Lophira* Banks ex C. F. Gaertn. (Ochnaceae), un genre intéressant avec **deux espèces à large distribution géographiques adaptées à deux environnements contrastés**



Importance socio-economique de *Lophira* spp.



Lophira alata

Azobé ou **Ekki**, importante espèce de bois d'oeuvre, **ports, infrastructures hydrauliques, voies ferrées, ponts.**



Lophira lanceolata



Fruits



Seeds



Edible oil

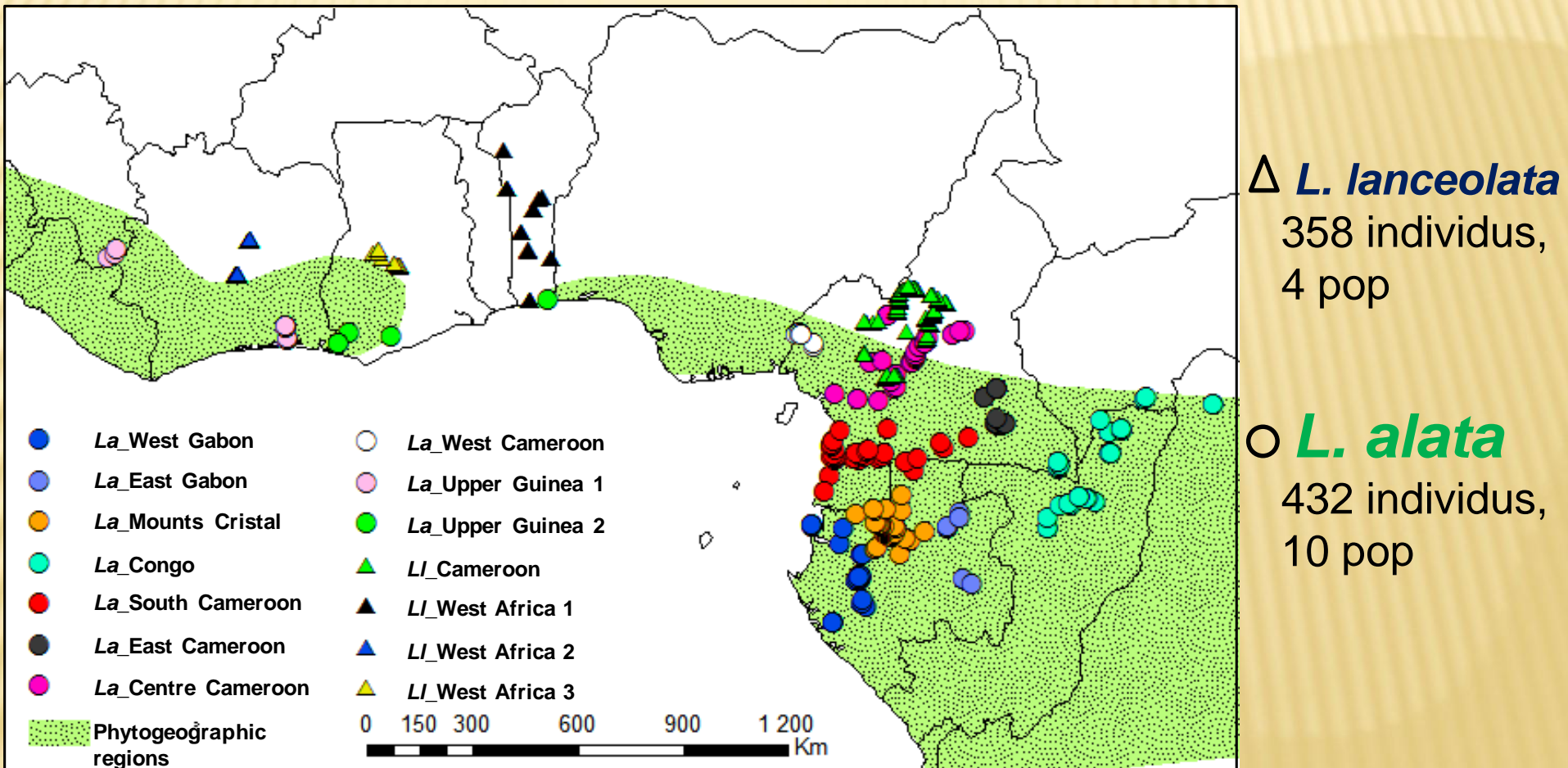
Divers caractères discriminants mais largement chevauchant



Pour examiner la délimitation spécifique au sein du genre *Lophira*, en lien avec l'histoire des populations, nous avons formulé les questions de recherche ci-après :

- ✓ *L. alata* et *L. lanceolata* forment-elles des espèces génétiquement distinctes ou sont-elles des écotypes d'une même espèce ?
- ✓ Existe t-il des signaux d'hybridation et/ou d'introggression entre *L. alata* et *L. lanceolata* dans la zone de contact ?
- ✓ Existe t-il au sein de chaque espèce, des clusters génétiques qui suggèreraient une fragmentation passée de la population ?

Milieu d'étude



Distribution spatiale de 14 populations échantillonnées

- **Amplification de 9 locus microsatellites nucléaires** (Pineiro *et al.* 2015) pour **790 individus**

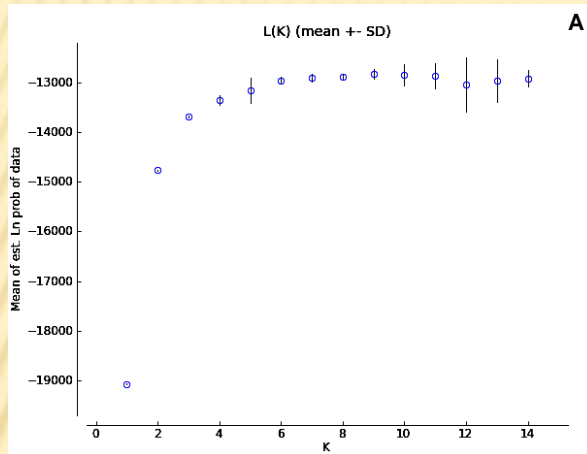
- **Analyses**
 - ❖ Diversité génétique (SPAGeDi 1.5 et INEst 2.1)

 - ❖ Identification des discontinuités génétiques (STRUCTURE)

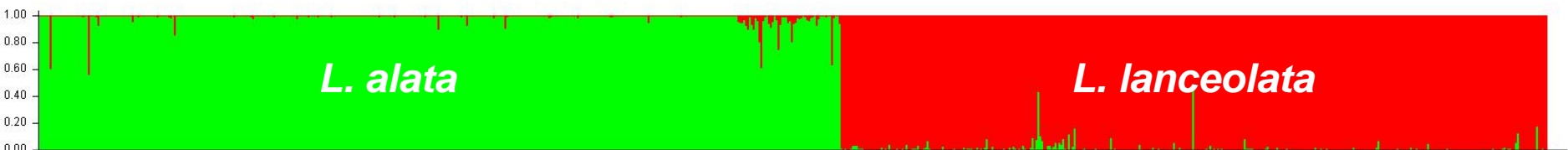
 - ❖ Différenciation génétique entre populations

 - ❖ Structure génétique spatiale et introgression

Discontinuités génétiques au sein de *Lophira* spp.

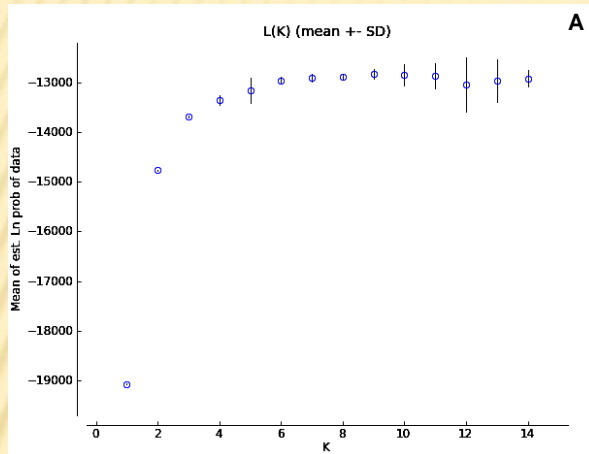


Log-likelihood des génotypes microsatellites des 790 individus (*Lophira* spp.) groupés en K clusters

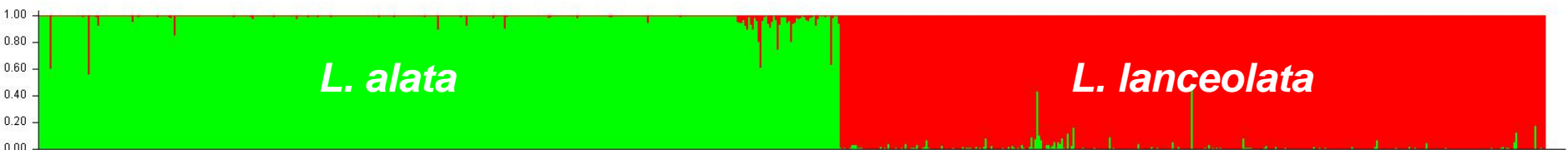


K = 2, \rightarrow les deux espèces sont bien séparées génétiquement

Discontinuités génétiques au sein de *Lophira* spp.



Log-likelihood des génotypes microsatellites des 790 individus (*Lophira* spp.) groupés en K clusters

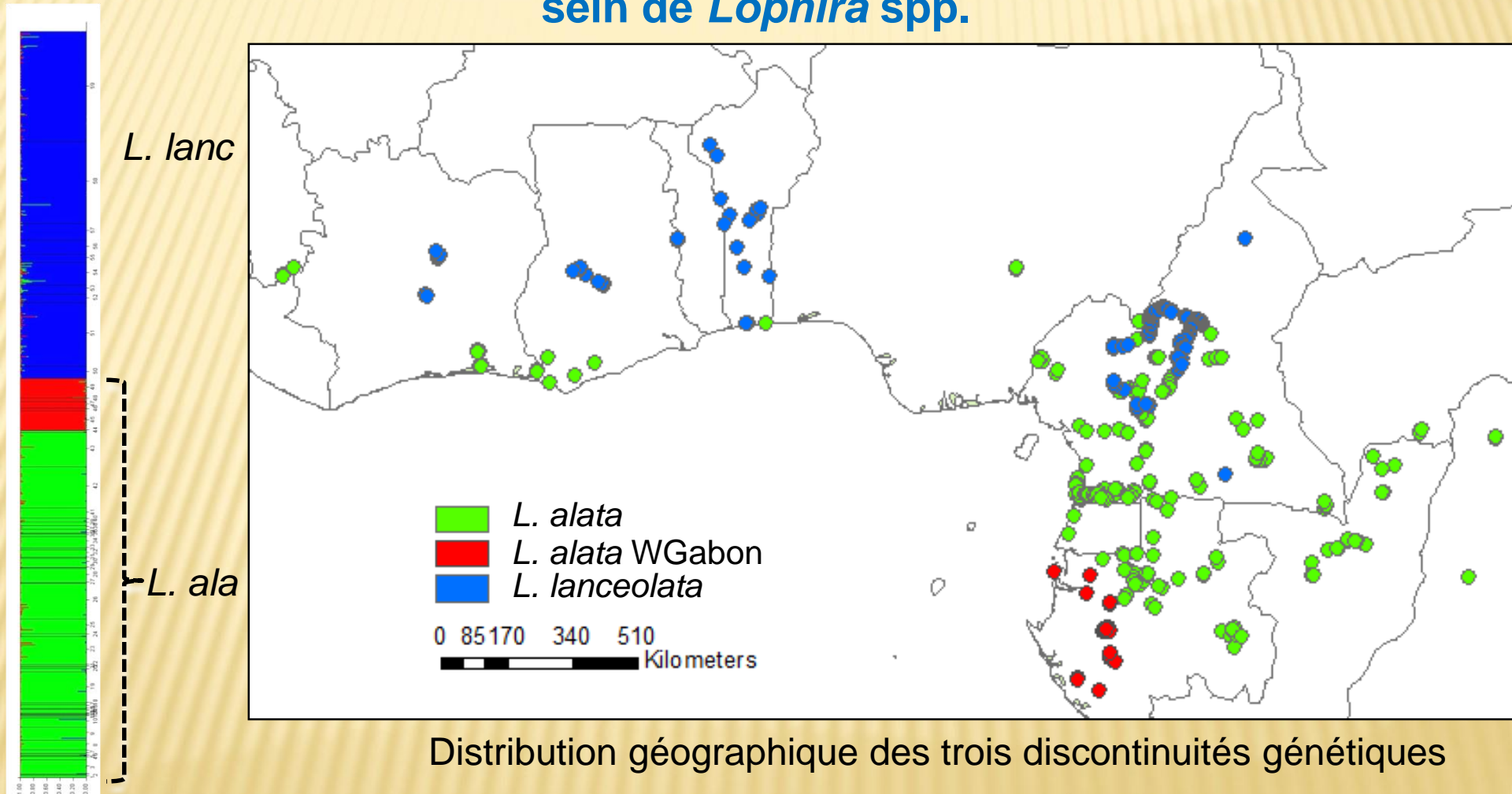


K = 2, \rightarrow les deux espèces sont bien séparées génétiquement

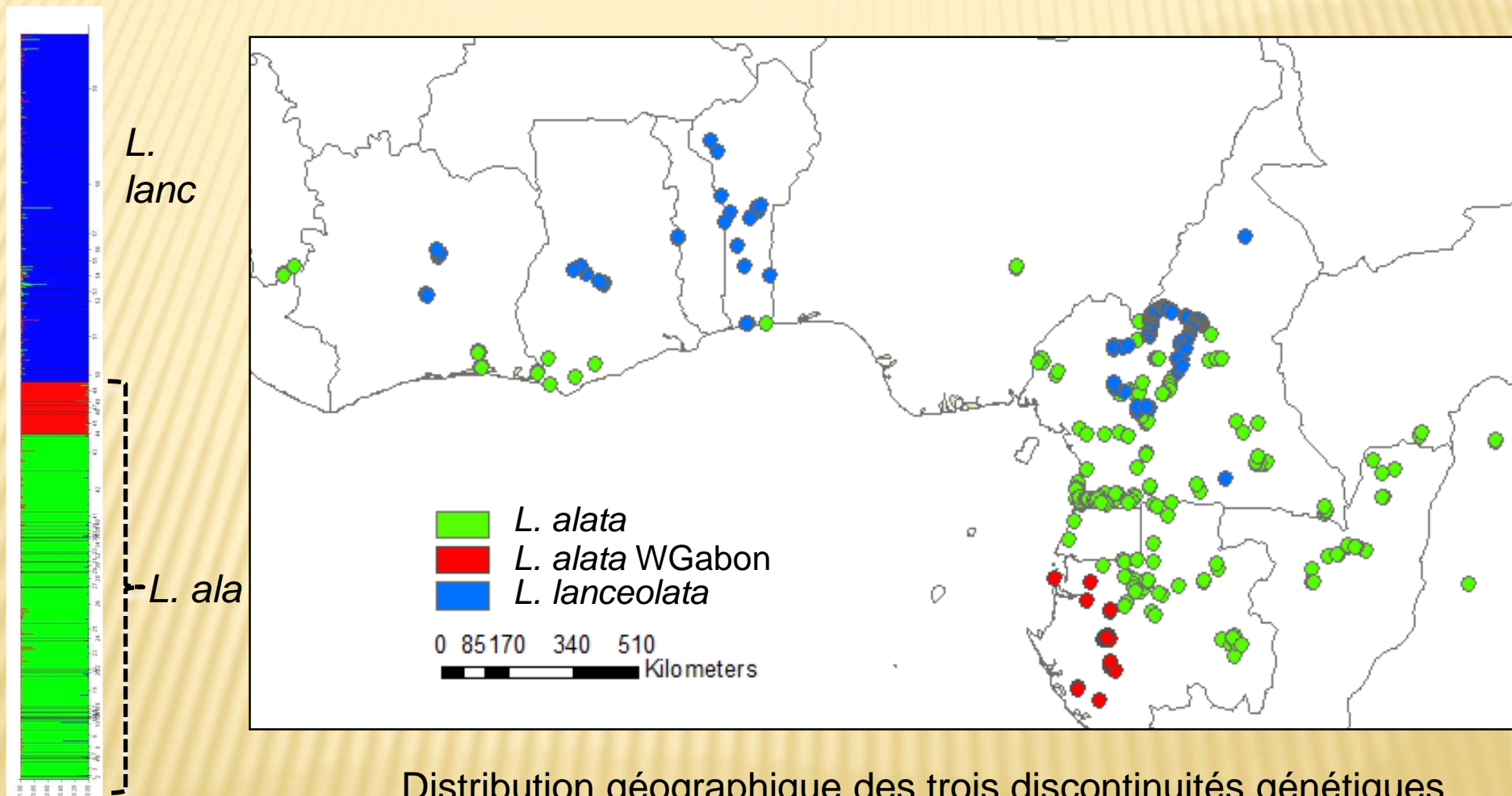


K = 3

3 groupes génétiques révélant une différenciation substantielle au sein de *Lophira* spp.



3 groupes génétiques au sein de *Lophira* spp.



Distribution géographique des trois discontinuités génétiques

→ **Surprenante et inattendue faible différenciation entre Afrique Ouest vs. Af. Centrale** surtout chez *L. alata* vs. autres espèces d'arbres forestiers (Gomez et al. 2009, Koffi et al. 2011)

3 groupes génétiques révélant une différenciation substantielle au sein de *Lophira* spp.

| F_{ST} / R_{ST} | <i>L. alata</i> _West Gabon | <i>L. alata</i> | <i>L. lanceolata</i> |
|-----------------------------|-----------------------------|-----------------|----------------------|
| <i>L. alata</i> _West Gabon | | 0.47* | 0.28 ^{NS} |
| <i>L. alata</i> | 0.33 | | 0.53* |
| <i>L. lanceolata</i> | 0.37 | 0.39 | |

* $p < 0.05$

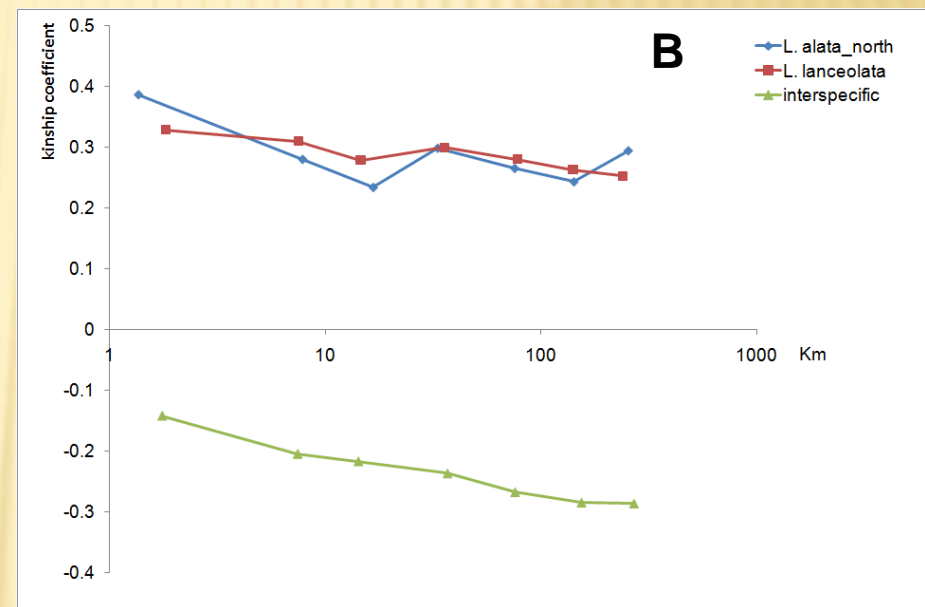
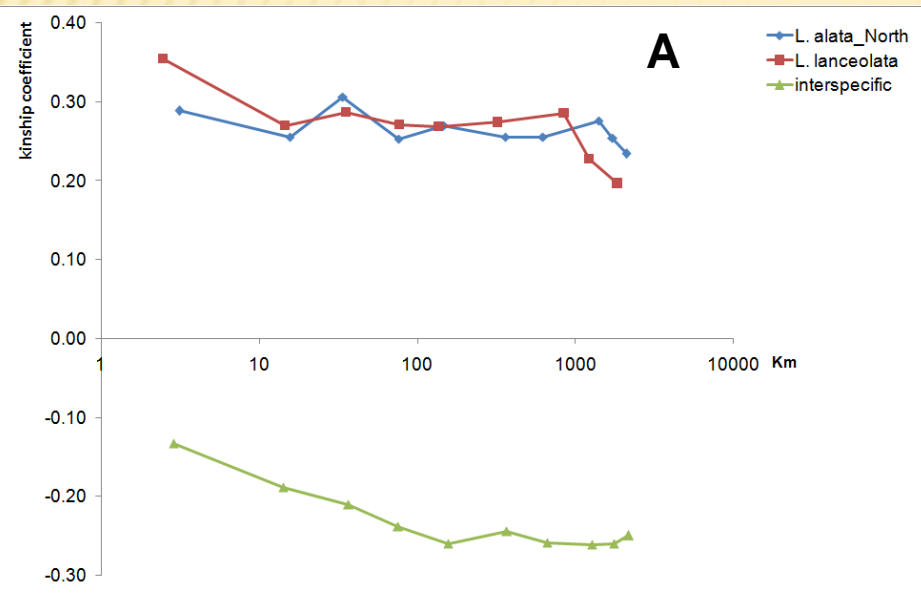
$$R_{ST} \gg F_{ST}$$

Faible différenciation entre pop. au sein de chaque espèce,
 $F_{ST} < 0.1$

Espèces d'arbres forestiers révèlent discontinuités génétiques intra-spécifiques fréquentes ($F_{ST} < 0,15$; Demenou et al. 2016, Duminil et al. 2013)

mais 2 clusters génétiques fortement différenciés
 chez *L. alata* => **évidence d'espèces cryptiques ?**

Décroissance du coefficient de parenté avec la distance indiquant une hybridation occasionnelle à courte distance

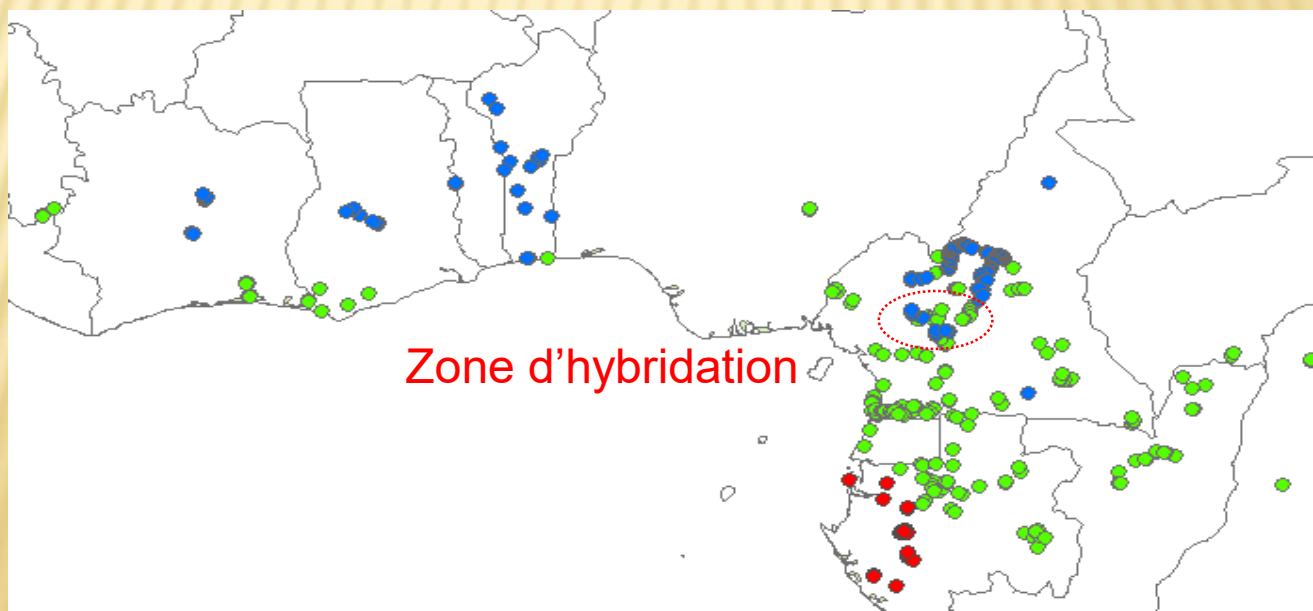


Coefficient moyen de parenté entre individus en fonction de la distance
(A- large échelle, **B-** fine échelle autour de la zone de contact forest-savane_Caméroun

The two species can occasionally hybridize

Locus et allèles en fonction de l'espèce

| Cluster génétique | P18 | P34 | P40 | P47 | P51 | P62 | P12 | P31 | P53 | P66 |
|---|---------------|----------|----------|--------------------|---------------|--------------------|---------------|---------------|--------------------|---------------|
| <i>L. alata</i> _Nord | 133, 137 | 163, 166 | 176, 181 | 181, 183, 185 | 191, 193, 195 | 257, 259, 261, 264 | 105, 111, 120 | 158, 161, 167 | 202, 204 | 275, 277, 279 |
| <i>L. lanceolata</i> | 130, 133, 137 | 160, 163 | 171, 176 | 181, 183, 185, 189 | 191, 193 | 257, 259 | 114, 123 | 152, 158 | 204, 207, 209, 211 | 269, 271, 273 |
| Genotypes de deux individus | | | | | | | | | | |
| <i>L. alata</i> dans la zone de contact | 133-133 | 163-163 | 171-181 | 181-181 | 191-193 | 259-259 | 105-114 | 152-158 | 200-204 | 269-277 |
| | 133-137 | 163-163 | 171-181 | 181-181 | 193-193 | 259-261 | 105-123 | 158-158 | 204-204 | 273-277 |



- ✓ Les deux espèces sont génétiquement séparées, cependant hybridation occasionnelle
- ✓ Un seul cluster génétique détecté dans *L. lanceolata*
vs. deux discontinuités génétiques fortement différenciées chez *L. alata* résultant des barrières passées à la dispersion de gènes

Perspectives

→ Révision taxonomique de *Lophira* spp.

THANK YOU ALL FOR YOUR KIND
ATTENTION!

Merci à



and to their partners

Evolutionary Biology
and Ecology

ULB



Genetic differentiation between regions

| <i>F_{ST}</i> \ <i>R_{ST}</i> | <i>Lophira lanceolata</i> | | | | <i>Lophira alata</i> | | | | | | | | | |
|---|---------------------------|------|-------|-------|----------------------|-----------|--------|-------|-------|-------|-------|--------|-------|--------|
| | Cameroun | WA1 | WA2 | WA3 | WGabon | MtCristal | EGabon | Congo | SCam | ECam | CCam | WCam | UG1 | UG2 |
| Cameroun | | 0.08 | 0.06 | 0.05 | 0.24 | 0.47* | 0.47 | 0.45* | 0.48* | 0.44 | 0.39 | 0.50* | 0.51* | 0.49* |
| WA1 | 0.11 | | -0.00 | 0.02 | 0.38 | 0.56* | 0.56* | 0.55 | 0.56* | 0.53* | 0.48* | 0.58* | 0.57* | 0.57* |
| WA2 | 0.06 | 0.01 | | -0.00 | 0.38 | 0.59* | 0.61* | 0.53 | 0.58 | 0.06 | 0.47 | 0.65* | 0.62* | 0.62* |
| WA3 | 0.03 | 0.05 | 0.00 | | 0.30 | 0.55* | 0.55* | 0.50* | 0.54* | 0.06 | 0.44* | 0.58** | 0.58* | 0.55** |
| WGabon | 0.38 | 0.37 | 0.35 | 0.33 | | 0.46* | 0.46* | 0.41 | 0.45 | 0.41 | 0.38 | 0.50* | 0.48* | 0.49 |
| MtCristal | 0.42 | 0.41 | 0.41 | 0.36 | 0.32 | | -0.00 | 0.05* | 0.00 | 0.04 | 0.01 | 0.00 | 0.06 | 0.06 |
| EGabon | 0.44 | 0.43 | 0.46 | 0.39 | 0.34 | 0.02 | | 0.02 | -0.00 | 0.03 | 0.01 | -0.01 | 0.05 | 0.04 |
| Congo | 0.40 | 0.40 | 0.40 | 0.35 | 0.33 | 0.03 | 0.04 | | 0.03* | 0.01 | 0.04* | 0.03 | 0.10 | 0.08 |
| SCam | 0.40 | 0.40 | 0.39 | 0.35 | 0.30 | 0.00 | 0.03 | 0.01 | | 0.03 | 0.02* | 0.00 | 0.05 | 0.02 |
| ECam | 0.41 | 0.41 | 0.40 | 0.35 | 0.33 | 0.05 | 0.06 | 0.06 | 0.03 | | 0.01 | 0.03 | 0.09 | 0.08* |
| CCam | 0.35 | 0.36 | 0.34 | 0.30 | 0.31 | 0.02 | 0.02 | 0.02 | 0.01 | 0.02 | | 0.03* | 0.06 | 0.06 |
| WCam | 0.43 | 0.43 | 0.44 | 0.38 | 0.35 | 0.02 | 0.03 | 0.03 | 0.01 | 0.04 | 0.01 | | 0.06 | 0.04 |
| UG1 | 0.45 | 0.45 | 0.47 | 0.42 | 0.40 | 0.09 | 0.06 | 0.08 | 0.07 | 0.09 | 0.06 | 0.05 | | 0.03* |
| UG2 | 0.46 | 0.44 | 0.47 | 0.40 | 0.35 | 0.06 | 0.05 | 0.05 | 0.04 | 0.07 | 0.04 | 0.03 | 0.00 | |

*p<0.05

Population-level genetic diversity indicated high estimates in West Gabon

| Species | Populations | Regions | N | Ar | Apriv | Ho | H _E | Fis | Fis' | HPD interval |
|----------------------|----------------------------|---|-----|-------------|-------------|------|----------------|-------|------|--------------|
| <i>L. lanceolata</i> | <i>Ll_Cameroon</i> | Centre-West Cameroon | 99 | 2.71 | 0.35 | 0.34 | 0.38 | 0.12* | 0.04 | 0.00-0.10 |
| | <i>Ll_West Africa1</i> | Benin | 47 | 2.92 | 0.34 | 0.36 | 0.47 | 0.23* | 0.04 | 0.00-0.13 |
| | <i>Ll_West Africa2</i> | Ivory Coast | 205 | 2.86 | 0.19 | 0.31 | 0.44 | 0.30* | 0.01 | 0.00-0.04 |
| | <i>Ll_West Africa3</i> | Ghana | 18 | 2.46 | 0.13 | 0.29 | 0.36 | 0.22* | 0.13 | 0.00-0.28 |
| <i>L. alata</i> | <i>La_WestGabon</i> | West Gabon | 56 | 3.08 | 0.62 | 0.43 | 0.56 | 0.24* | 0.05 | 0.00-0.11 |
| | <i>La_Mounts Crist.</i> | Mounts Cristal (Gabon) | 45 | 2.64 | 0.09 | 0.32 | 0.46 | 0.28* | 0.07 | 0.00-0.18 |
| | <i>La_EastGabon</i> | East Gabon | 22 | 2.33 | 0.02 | 0.24 | 0.36 | 0.34* | 0.18 | 0.02-0.37 |
| | <i>La_Congo</i> | Congo | 38 | 2.57 | 0.01 | 0.35 | 0.42 | 0.18* | 0.06 | 0.00-0.15 |
| | <i>La_SouthCameroon</i> | Camer., EquatorialGuinea | 43 | 2.75 | 0.12 | 0.35 | 0.46 | 0.24* | 0.10 | 0.01-0.23 |
| | <i>La_EastCameroon</i> | East Cameroon | 49 | 2.52 | 0.04 | 0.34 | 0.44 | 0.22* | 0.04 | 0.01-0.09 |
| | <i>La_WestCameroon</i> | West Cameroon | 35 | 2.43 | 0.03 | 0.31 | 0.39 | 0.20* | 0.03 | 0.00-0.10 |
| | <i>La_CentreCameroon</i> | Centre Cameroon | 38 | 2.64 | 0.03 | 0.30 | 0.42 | 0.30* | 0.26 | 0.16-0.34 |
| | <i>La_UpperGuinea 1</i> | RCI, Guinea | 83 | 2.44 | 0.06 | 0.31 | 0.36 | 0.13* | 0.03 | 0.00-0.07 |
| | <i>La_ Upper Guinea 2</i> | Benin, Ghana | 12 | 2.37 | 0.13 | 0.26 | 0.33 | 0.20* | 0.15 | 0.00-0.32 |
| Genetic cluster1 | <i>L. alata_West Gabon</i> | West of Gabon | 56 | 3.38 | 1.00 | 0.43 | 0.56 | 0.24* | 0.05 | 0.00-0.11 |
| Genetic cluster2 | <i>L. alata_North</i> | East Gabon + Congo+ Cameroon + Guinea + Ivory Coast + Ghana + Benin | 367 | 3.10 | 0.66 | 0.32 | 0.43 | 0.26 | 0.08 | 0.04-0.11 |
| Genetic cluster3 | <i>L. lanceolata</i> | Cameroon + Ivory Coast + Ghana + Benin | 367 | 3.41 | 1.00 | 0.32 | 0.45 | 0.27 | 0.02 | 0.00-0.06 |

*p<0.05

3. Material and Methods

Morphological analyses:

*17 morphological characters measured on 65 individuals herbaria (16 *L. lanceolata*): leaf, sepals, fruits

*mean and variability of each trait within each species

*groups of individuals with similar traits using a hierarchical cluster analysis

Mean (\pm sd) and variance of each morphological trait

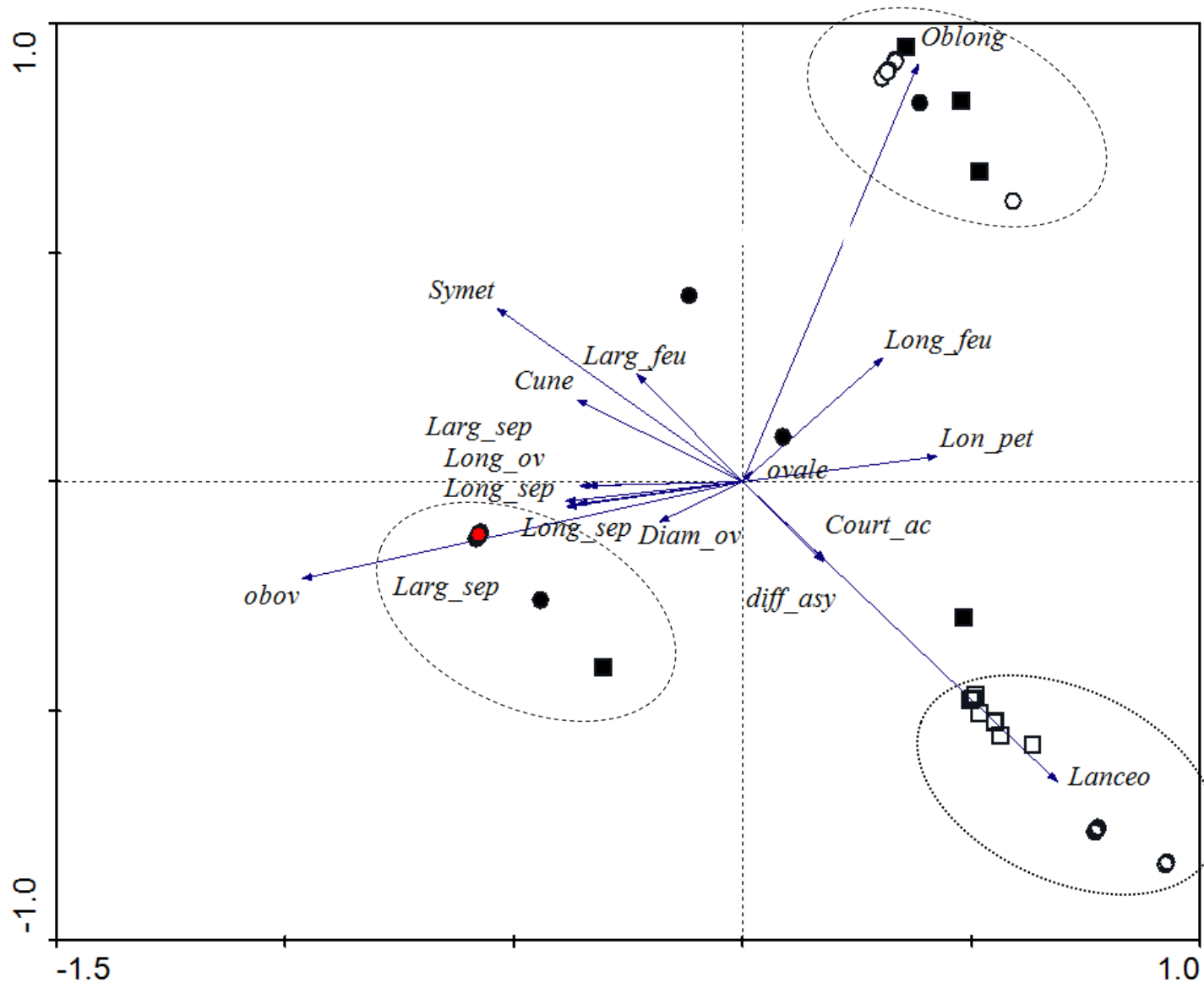
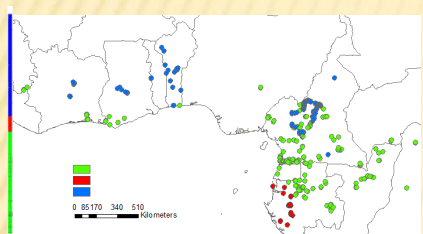
| Traits | Symetric | Asymmetric diff.* | Leaf width*** | Leaf length | Petiol length** | Sepal1 width | Sepal1 length | Sepal2 width | Sepal2 length | Fruit diameter | Fruit length* |
|----------------------|-------------------|-------------------|--------------------|-------------------|-------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|
| <i>L. alata</i> | 97.22 \pm 13.29 | 0.19 \pm 0.04* | 6.35 \pm 1.91*** | 23.49 \pm 15.62 | 1.75 \pm 0.94** | 1.73 \pm 0.62 | 7.48 \pm 2.71 | 0.77 \pm 0.21 | 3.32 \pm 1.10 | 0.56 \pm 0.22 | 2.95 \pm 0.45* |
| <i>L. lanceolata</i> | 91.66 \pm 11.71 | 0.34 \pm 0.12 | 4.08 \pm 1.29 | 18.92 \pm 6.70 | 2.74 \pm 1.15 | 1.23 \pm 0.65 | 4.71 \pm 3.27 | 0.62 \pm 0.35 | 2.47 \pm 1.76 | 0.53 \pm 0.47 | 2.29 \pm 0.38 |
| variance inter-pop | 10.04 | 0.01 | 4.89 | 4.52 | 0.89 | 0.03 | 3.55 | 0 | 0 | 0 | 0.32 |
| Total variance | 180.34 | 0.02 | 8.07 | 199.62 | 1.89 | 0.42 | 11.09 | 0.04 | 1.31 | 0.02 | 0.52 |
| % inter-pop | 5.57 | 56.87 | 60.57 | 2.26 | 47.33 | 7.73 | 32.03 | 0 | 0.24 | 0 | 61.64 |

| Traits | Symetric | Asymmetric diff.* | Leaf width*** | Leaf length | Petiol length** | Sepal1 width | Sepal1 length | Sepal2 width | Sepal2 length | Fruit diameter | Fruit length* |
|----------------------|---------------|-------------------|----------------|---------------|-----------------|--------------|---------------|--------------|---------------|----------------|---------------|
| <i>L. alata</i> | 97.22 ± 13.29 | 0.19 ± 0.04* | 6.35 ± 1.91*** | 23.49 ± 15.62 | 1.75 ± 0.94** | 1.73 ± 0.62 | 7.48 ± 2.71 | 0.77 ± 0.21 | 3.32 ± 1.10 | 0.56 ± 0.22 | 2.95 ± 0.45* |
| <i>L. lanceolata</i> | 91.66 ± 11.71 | 0.34 ± 0.12 | 4.08 ± 1.29 | 18.92 ± 6.70 | 2.74 ± 1.15 | 1.23 ± 0.65 | 4.71 ± 3.27 | 0.62 ± 0.35 | 2.47 ± 1.76 | 0.53 ± 0.47 | 2.29 ± 0.38 |
| variance inter-pop | 10.04 | 0.01 | 4.89 | 4.52 | 0.89 | 0.03 | 3.55 | 0 | 0 | 0 | 0.32 |
| Total variance | 180.34 | 0.02 | 8.07 | 199.62 | 1.89 | 0.42 | 11.09 | 0.04 | 1.31 | 0.02 | 0.52 |
| % inter-pop | 5.57 | 56.87 | 60.57 | 2.26 | 47.33 | 7.73 | 32.03 | 0 | 0.24 | 0 | 61.64 |



Discriminant morphological traits

4. Results and Discussion



Adansonia digitata