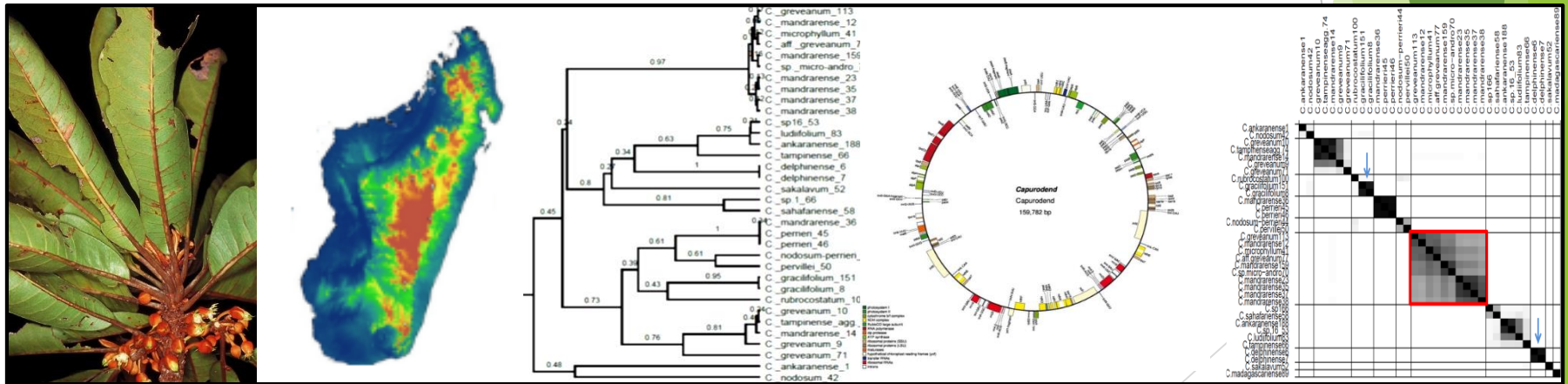


La délimitation des espèces chez *Capurodendron*: Une course contre l'extinction.

Carlos G. Boluda, Camille Christe, Laurent Gautier & Yamama Naciri
 Conservatoire et Jardin botaniques de la Ville de Genève



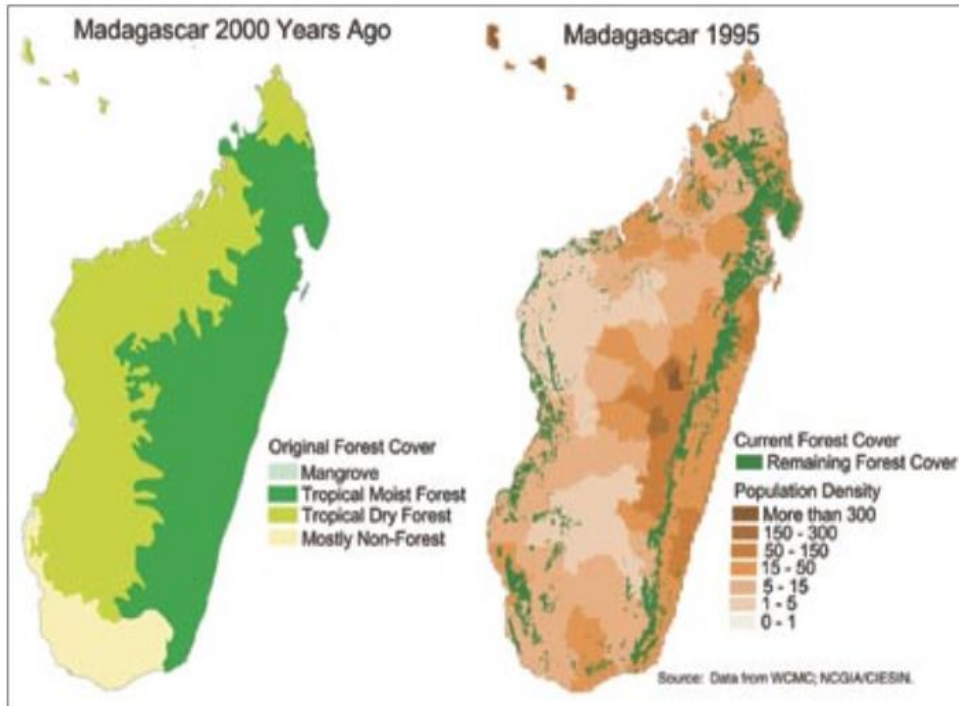
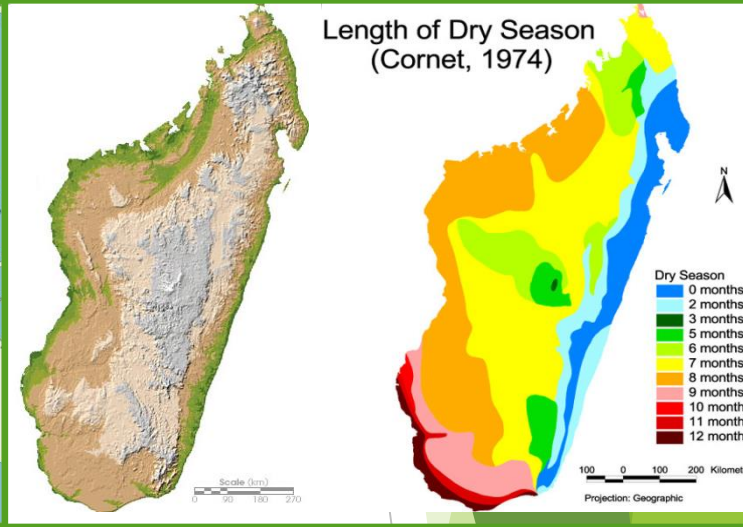
Conservatoire et Jardin botaniques de la Ville de Genève
 28-Mars-2019

Introduction

Madagascar:

- Isolé de l'Inde ~ 88 m.a.
(Crétacé supérieur).

- 82% des plantes sont
endémiques



Chazdon, R.P. and B. Eggleston. 2006. *Nature's Place: Human Population and the Future of Biological Diversity*. Washington, D.C.: Population Action International.

← Carte de la perte de forêt à Madagascar

Introduction

Certaines espèces probablement éteintes



Sartidia perrieri



Tinopsis tampoloensis

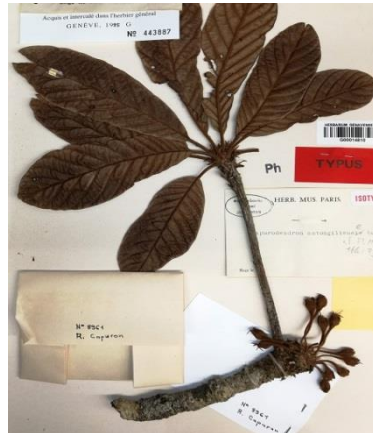
Causes principales d'extinction chez le Capurodendron



La déforestation



C. nanophyllum



C. antongiliense



Abattage de bois

Introduction

La famille Sapotaceae:

- Arbres ou arbustes tropicaux.
- Environ 1.200 espèces.
- Arbres à bois / fruits comestibles.
- Hautement représenté à Madagascar (~ 100 sp, 95% endémique).
- Peu étudié à Madagascar.



Espèce type de Sapotaceae:
Manilkara zapota

A new species, genus and tribe of Sapotaceae, endemic to Madagascar

Laurent Gautier,¹ Yamama Naciri,¹ Arne A. Anderberg,² Jenny E.E. Smedmark,³ Richard Randrianaivo⁴ & Ulf Swenson²

¹ Conservatoire et Jardin botaniques de la Ville de Genève and Laboratoire de botanique systématique et biodiversité, University of Geneva, Case Postale 60, 1292 Chambésy/GE, Switzerland

² Department of Botany, Swedish Museum of Natural History, P.O. Box 50007, 10405 Stockholm, Sweden

³ University Museum of Bergen, University of Bergen, P.O. Box 7800, 5020 Bergen, Norway

⁴ Missouri Botanical Garden, Madagascar Research and Conservation Program, B.P. 3391, Antananarivo 101, Madagascar

Author for correspondence

Abstract Phylogenetic relationships within Sapotaceae are unclear until now. Recent molecular studies, based on nuclear DNA sequences, were used to evaluate the monophyly of Sapotaceae. The recovered monophyletic relationships were used to recover monophyletic and sister to Sapotaceae

ARTICLE

Les Sapotaceae de Madagascar, deux nouvelles espèces du genre *Mimusops* L.

Richard Randrianaivo

Missouri Botanical Garden
Madagascar Research and Conservation Program
BP 3391, Antananarivo 101, Madagascar
E-mail: randrianaivo.richard@mobot-mg.org

ABSTRACT

Members of the family Sapotaceae, occurring in Madagascar's various forest types, are mostly known as *nanto* in local dialects; some of their cultural and social values are described

nanto a un rôle économique, culturel et biologique important à Madagascar. Son bois est souvent cité parmi les essences utilisées dans la construction traditionnelle. Le bon bois de *nanto* est recherché pour l'ébénisterie, la charpente, la parqueterie et

A REINSTATEMENT, RECIRCUMSCRIPTION AND REVISION OF THE GENUS *DONELLA* (SAPOTACEAE)

B. MACKINDER¹, D. J. HARRIS¹ & L. GAUTIER²

Donella Pierre ex Baill. is here reinstated and *Austrogambeya* Aubré. is placed in synonymy based on the findings of recent combined molecular studies. Seventeen species are recognised, two of which, *Donella ranisonii* and *D. humbertii* Capuron ex Mackinder & L. Gaut., are described here for the first time. The flowers of *Donella ambrensis* are described here for the first time, as are the fruits of *D. guerehana*, a species of Madagascar endemic to Madagascar. *Donella* is here reinstated and *Austrogambeya* is placed in synonymy based on the findings of recent combined molecular studies. Seventeen species are recognised, two of which, *Donella ranisonii* and *D. humbertii* Capuron ex Mackinder & L. Gaut., are described here for the first time. The flowers of *Donella ambrensis* are described here for the first time, as are the fruits of *D. guerehana*, a species of Madagascar endemic to Madagascar.

11. *Donella ranisonii* L. Gaut. & Mackinder sp. nov. Figs 6, 8, 9.

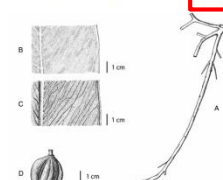


Fig. 8. *Donella ranisonii* L. Gaut. & Mackinder sp. nov. A, Branch with leaves and fruit. B, Detail of venation (adaxial side). C, Detail of venation (abaxial side). D, Dried fruit. E, Cross-section of fruit in fresh status. F, Seed from front and side view. Drawn from Gautier & Ranison 5387 by Gabriela Loza.

7. *Donella humbertii* Capuron ex Mackinder & L. Gaut. sp. nov. resembles *Donella perrieri* Lecomte but differs in having slender and shorter petioles, 5–7 mm (not 10–15 mm), narrower leaves 1.6–2.8 cm (not 2.1–6.9 cm) wide, pedicels slender and shorter 2–3 mm (not 4–7 mm) long and seed scar elliptic or narrowly elliptic (not linear). – Type: Madagascar, Vallée du Menavava, fl. xii. 1905, Perrier de la Bâthie 8783 (holo P (P00752279); iso P (P00752278)). Figs 3, 4.



Fig. 4. *Donella humbertii* L. Gaut. & Mackinder sp. nov. A, Holotype P00752279. B, Close-up of the leaves of isotype P00752278 to show venation above and below (Perrier de la Bâthie 8783).

Shrub or tree 2–13 m, dbh 25–30 cm measured on trees of 13 m and 10 m, respectively, bark rough. Petioles 5–7 mm long, ferruginous tomentose, later becoming glabrous or almost so. Leaves ovate, narrowly ovate or oblong-elliptic

Introduction

Certains espèces malgaches de Sapotaceae:



Faucherea littoralis sp. nov.



Labramia costata



Labramia costata



Mimusops coriacea



Labramia bojeri



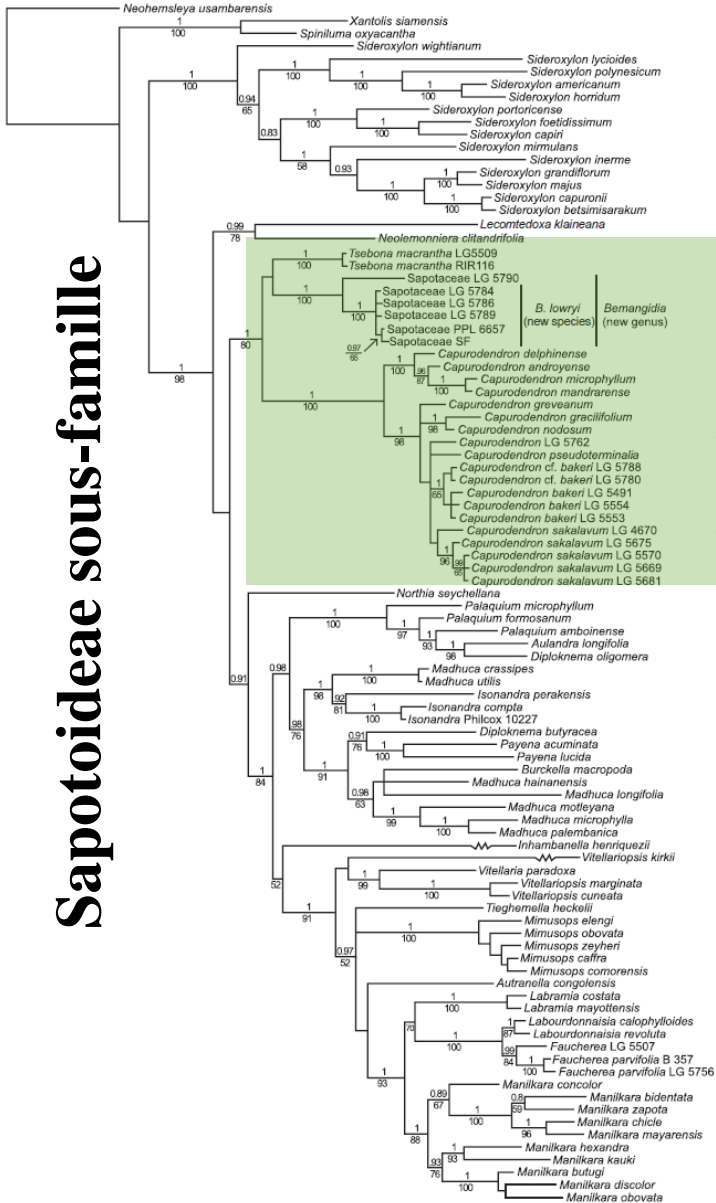
Capurodendron androyense



Mimusops coriacea

Sideroxylon cf. *betsimisarakum*

Introduction



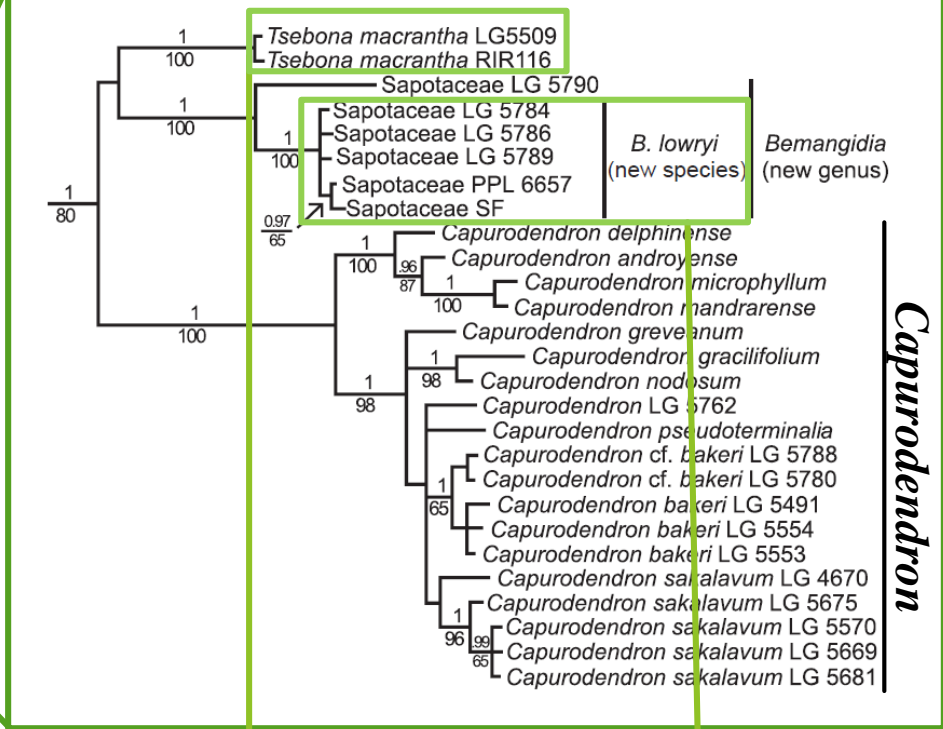
SIDEROXYLEAE

TSEBONEAE (new tribe)

ISONANDREAE

SAPOTEEAE

Tribu Tseboneae



Capurodendron



Tsebona macrantha

Bemangidia lowryi

Introduction

Genre *Capurodendron*:

- Troisième plus grand genre endémique à Madagascar (26 spp).
- Arbres, rarement arbustes.
- Des jungles humides aux terres arides.
- Fleurs homogènes entre les espèces.
- Feuilles, fruits et graines variables.



C. delphinense



C. greveanum



C. androyense



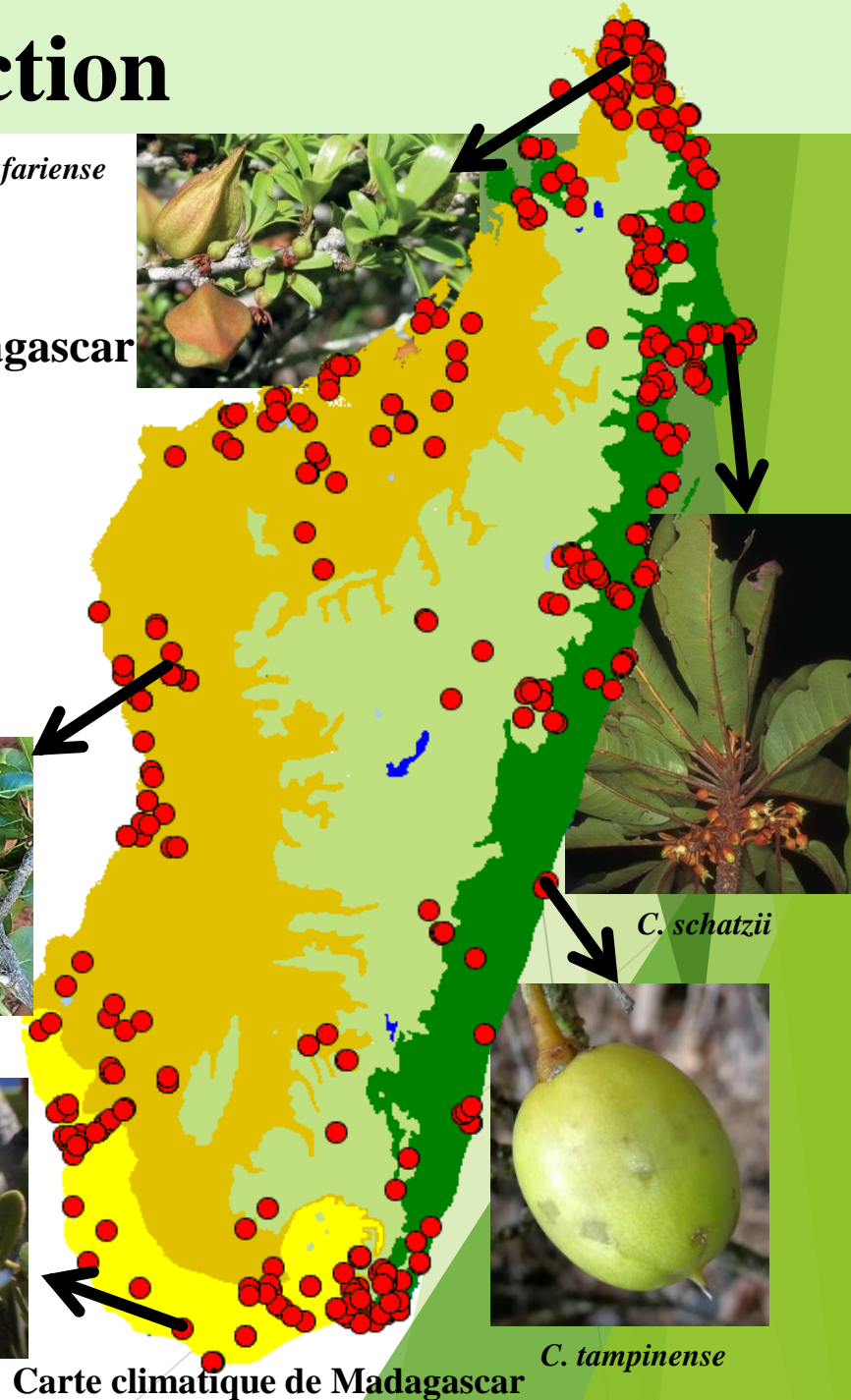
C. sahafariense



C. schatzii



C. tampinense



Carte climatique de Madagascar

Introduction

Genre *Capurodendron*:

Morphologies non décrites
Morphologies intermédiaires
Complexes de morpho-espèces



Espèces non décrites ?
Hybridation
Spéciation en cours



C. delphinense



C. greveanum



C. androyense



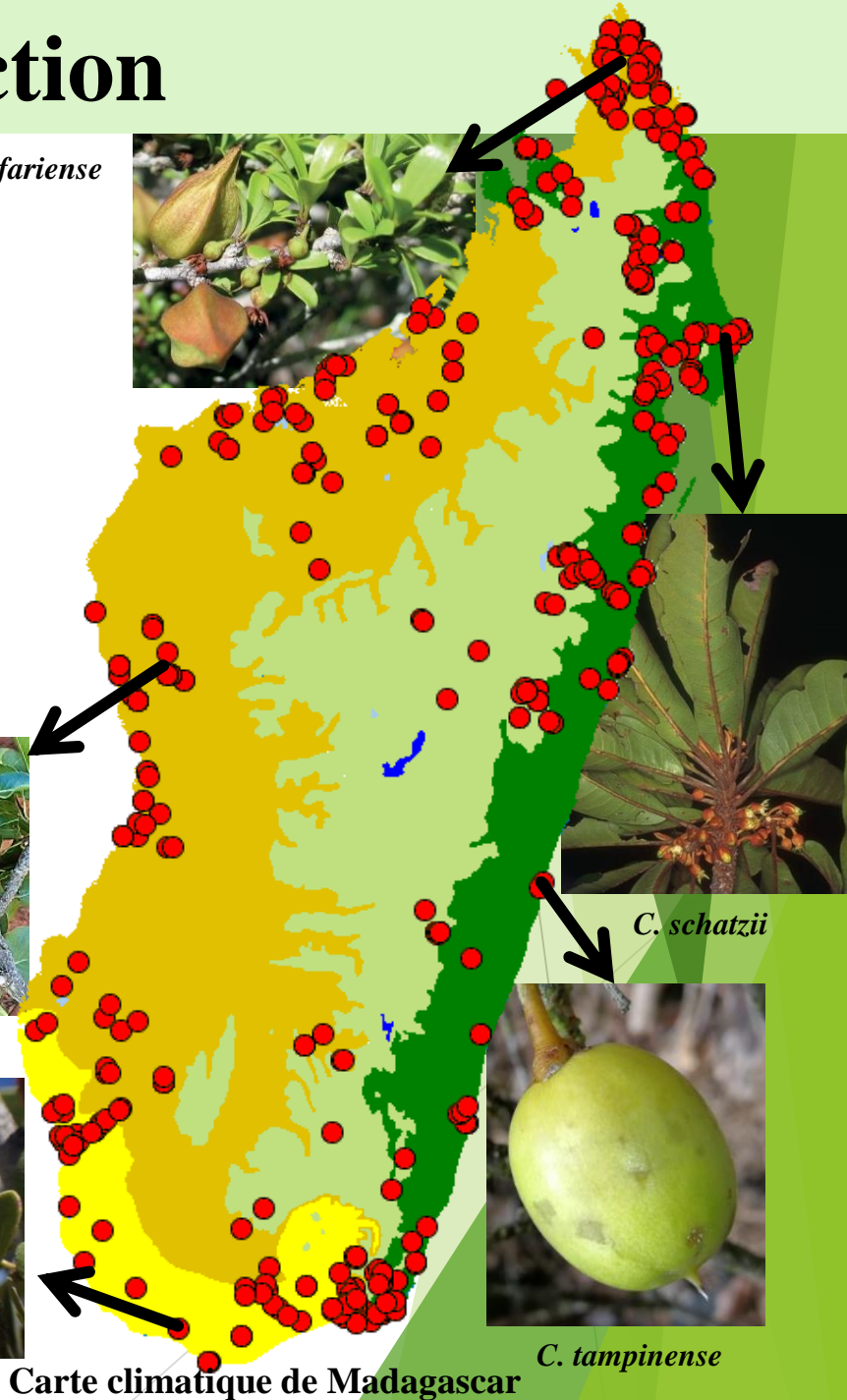
C. sahafariense



C. schatzii



C. tampinense



Carte climatique de Madagascar

Introduction

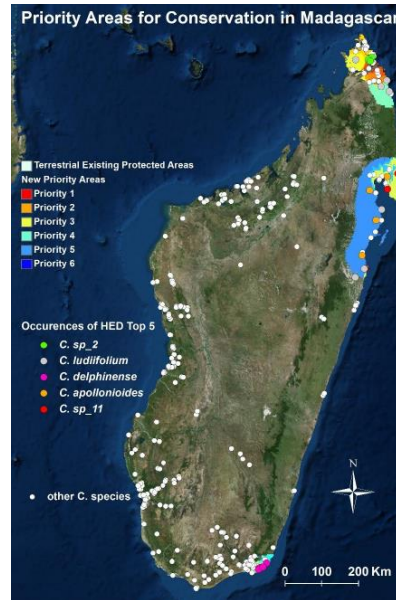
Objectifs principaux:

- 1° Délimiter l'espèce de *Capurodendron*
utilisant la phylogénomique.

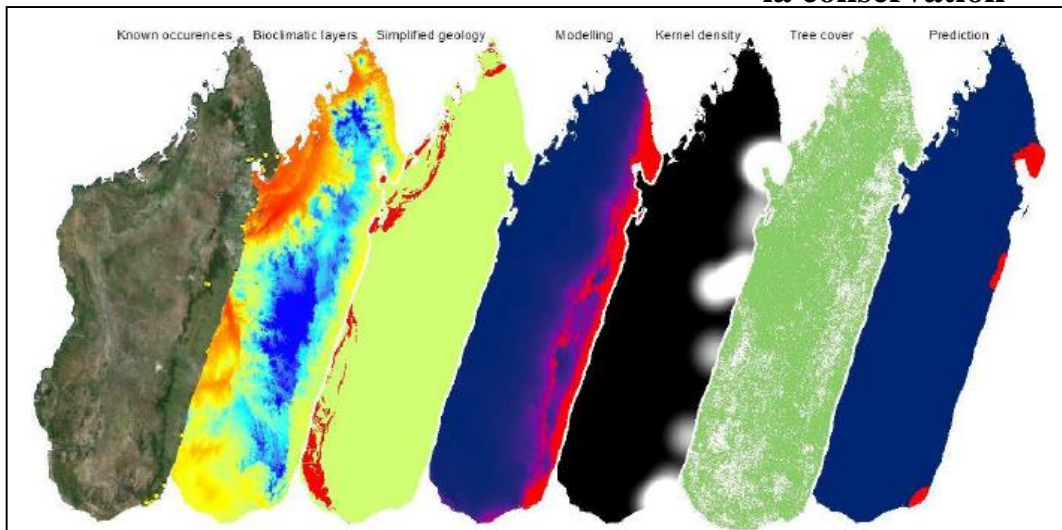
Introduction

Objectifs principaux:

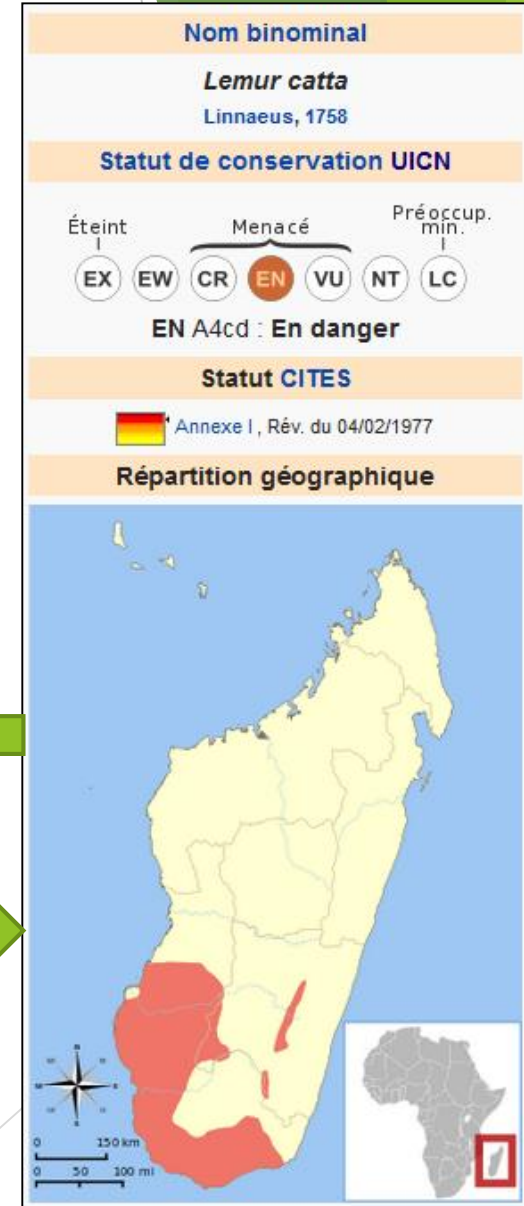
- 1° Délimiter l'espèce de *Capurodendron* utilisant la phylogénomique.
- 2° Estimer la répartition potentielle des espèces et établir les catégories de protection de l'IUCN.



Zones prioritaires pour la conservation



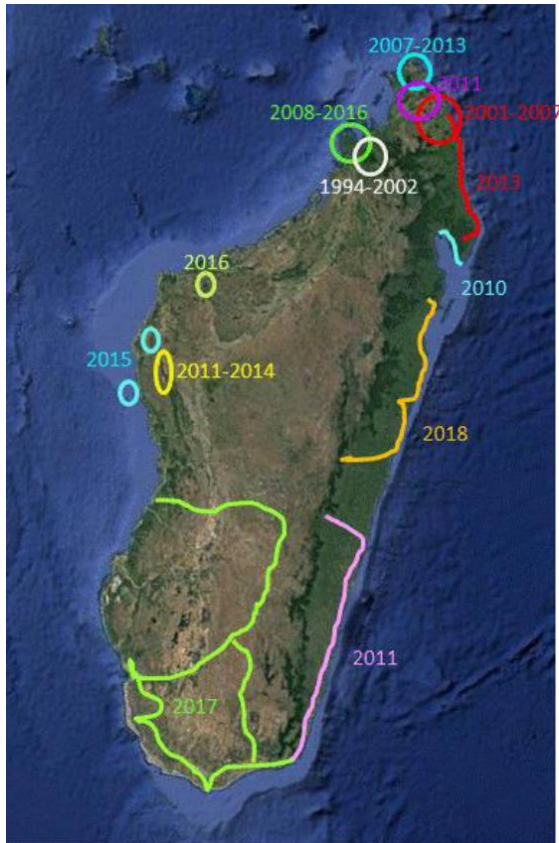
Couches de cartes climatique, géographique, dispersion, ...



Distribution potentielle, catégories IUCN

Échantillonnage

Madagascar:



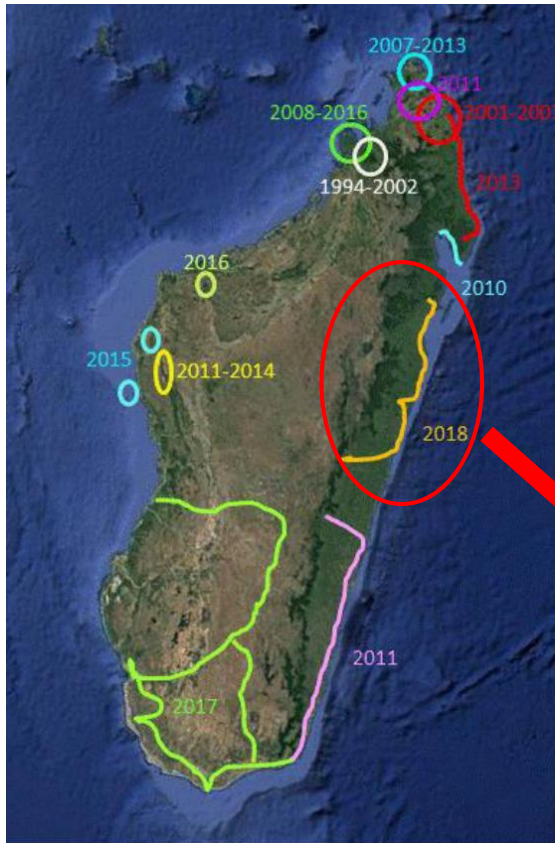
Zones échantillonnées



2017

Échantillonnage

Madagascar 2018 :



2017



2018



Zones échantillonnées

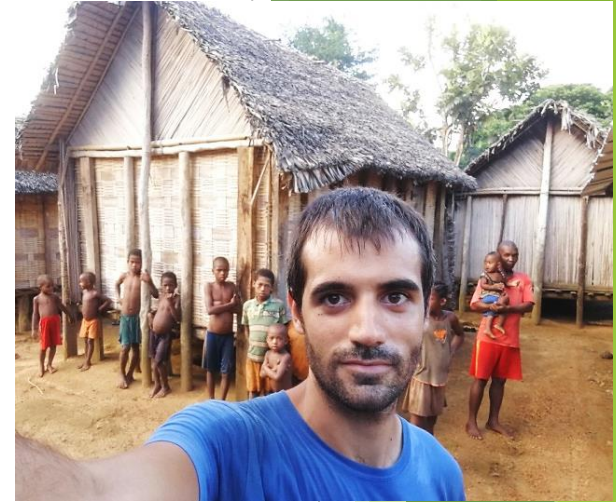
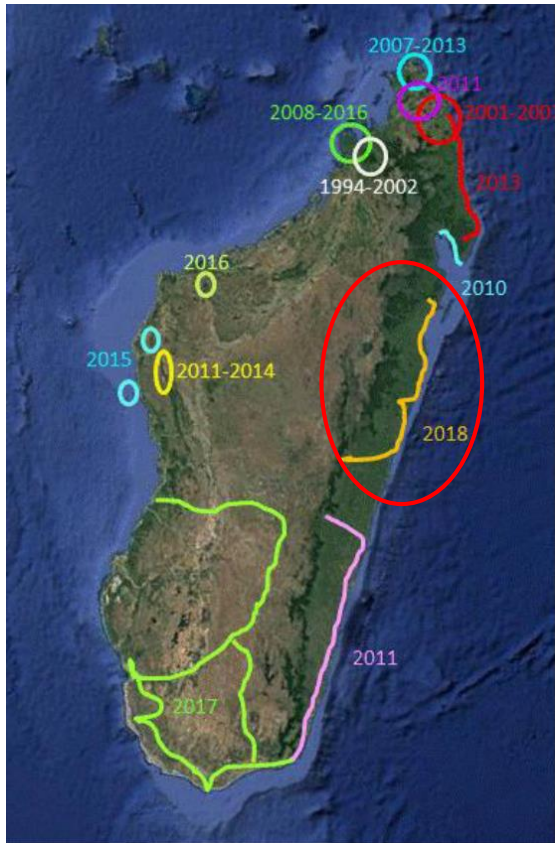
Échantillonnage

Mes vacances:



Échantillonnage

Madagascar 2018 :



Zones échantillonnées



Échantillonnage

Madagascar 2018 : Atteindre les zones d'échantillonnage.



Échantillonnage

Madagascar 2018 : Atteindre les zones d'échantillonnage.



Échantillonnage

Madagascar 2018 : Atteindre les zones d'échantillonnage.



Échantillonnage

Madagascar 2018 : Atteindre les zones d'échantillonnage.



Échantillonnage

Madagascar 2018 : Atteindre les zones d'échantillonnage.



Échantillonnage

Madagascar 2018 : des champignons.



Clathrus sp.



Coenogonium sp.



Phallus sp.



Cookeina sp.



Sordariomycetes sp.



Astraeus aff. pteridis.



Mutinus aff. ravenelii.



Galiella sp.



Geastrum calceum



Dacrymyces sp. nov.



Hypocreales sp.

Échantillonnage

Madagascar 2018 : des millipedes.



Archispirostreptus sp.

Zoosphaerium sp.



Zoosphaerium sp.



Zoosphaerium neptunus



Aphistogoniulus sp.



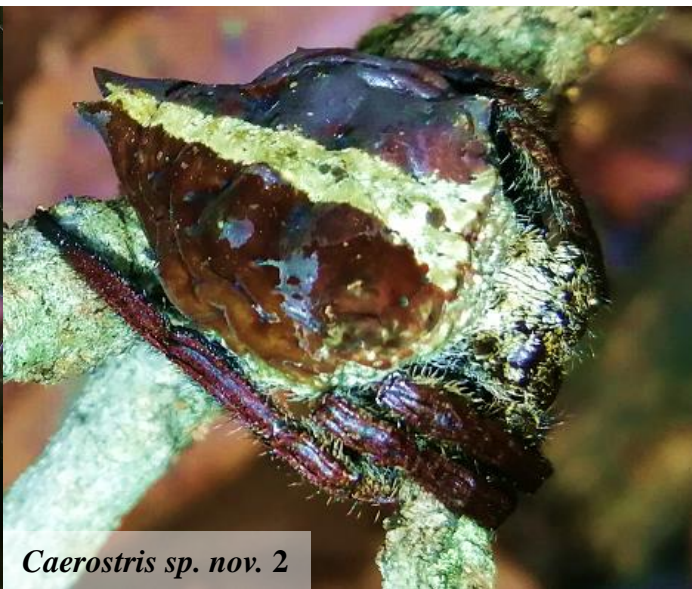
Pelmatojulus sp.

Échantillonnage

Madagascar 2018 : des animaux.



Caerostris sp. nov. 1



Caerostris sp. nov. 2



Gasterocantha sp.



Geoplanidae sp.



cf. Parectatosoma sp.



cf. Nepa sp.

Échantillonnage

Madagascar 2018 : des animaux.



Tettigonidae sp.



Phasmatodea sp.



Scolopendra sp.



Derbidae sp.

Helicophanta sp.



Échantillonnage

Madagascar 2018 : des animaux.



Échantillonnage

Madagascar 2018 : des animaux.



Échantillonnage

Madagascar 2018 : des animaux.



Échantillonnage

Madagascar 2018 : des plantes.



Schizaea sp.



Actinostachys sp.



Échantillonnage

Madagascar 2018 : des plantes.



Dracaena umbraculifera,
redécouvert en 2017



Stranala decussilvae
~200 individus connus

Échantillonnage

Madagascar 2018 : des plantes.



Tacca sp.



Hydrostachys sp.



Typhonodorum lindleyanum



Ochna sp.

Échantillonnage

Madagascar 2018 : des plantes.



Tambourissa sp. (fruit)



Tambourissa sp. (fruit)



Tambourissa sp. (fleurs ♀)



Tambourissa sp. (fleurs ♀)



Xylopia sp. (fruit)



Xylopia sp. (fruit)



Decarydendron sp. (fruit)



Tambourissa sp. (fleurs ♂)

Échantillonnage

Madagascar 2018 : des plantes.



Échantillonnage

Madagascar 2018 : des plantes.



Petalodiscus sp.

Échantillonnage

Madagascar 2018 voyage, des plantes:



Gymnosiphon sp.
(Burmanniaceae)



Sciaphila sp. (Triuridaceae)



Seychellaria sp.
(Triuridaceae)

Plantes mycohétérotrophes

Échantillonnage

Madagascar 2018 voyage, des plantes:



Échantillonnage

Madagascar 2018 voyage, des plantes:



Échantillonnage

Reconnaître les Sapotaceae de Madagascar



Labramia bojeri

Échantillonnage

Reconnaître les Sapotaceae de Madagascar

Modèle de croissance d'Aubréville



feuille entière

feuilles jamais opposées

Latex blanc toujours présent



Échantillonnage

Reconnaître les Sapotaceae de Madagascar



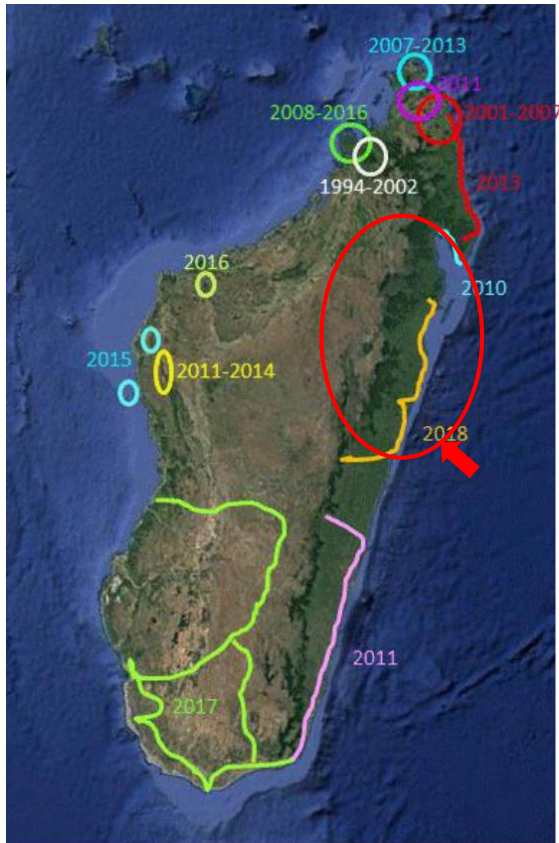
Échantillonnage

Madagascar voyage 2018 :



Échantillonnage

Madagascar voyage 2018 :



Zones échantillonnées

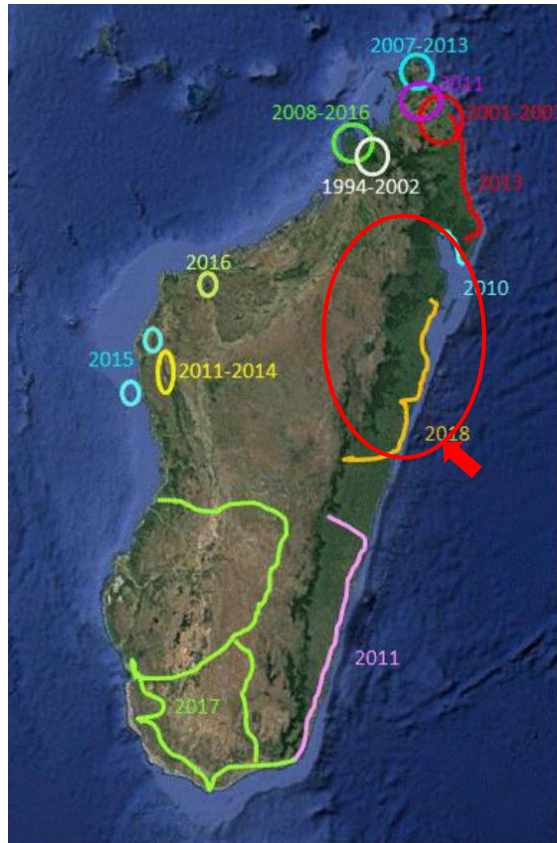


Séchage des échantillons

**362 spécimens collectés,
~25 morpho-espèces non
décrites de Sapotaceae d'une
seule expédition**

Échantillonnage

Madagascar voyage 2018 :



Zones échantillonnées

Capurodendron cf. sp. nov.



Capurodendron sp. nov.



Capurodendron sp. nov.



Capurodendron sp. nov.



Capurodendron sp. nov.

**362 spécimens collectés,
~25 morpho-espèces non
décrites de Sapotaceae d'une
seule expédition**

Matériaux et méthodes

Obtention de séquences:

Spécimens frais



Spécimens jusqu'à 80 ans



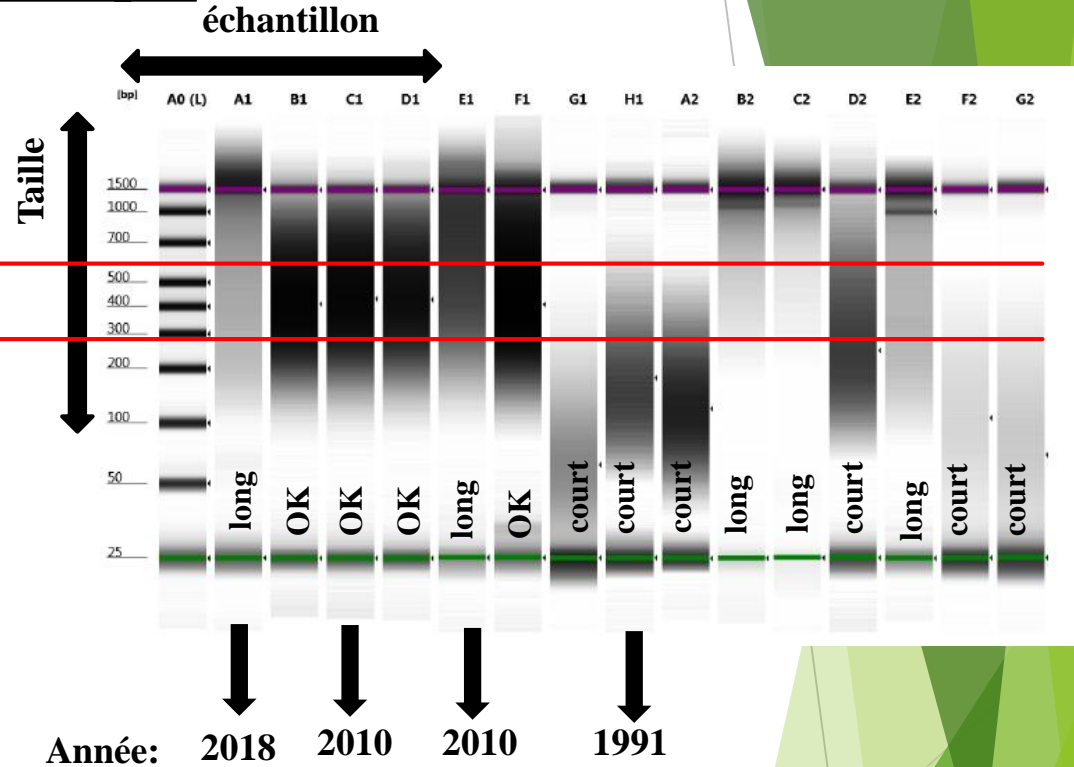
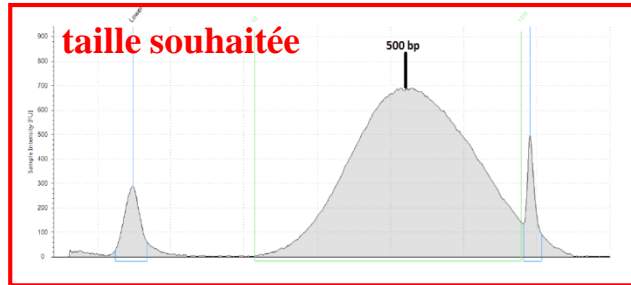
281 spécimens:

239 ingroup

42 outgroup

Matériaux et méthodes

Construction de la bibliothèque



Spécimens frais

Spécimens jusqu'à 80 ans



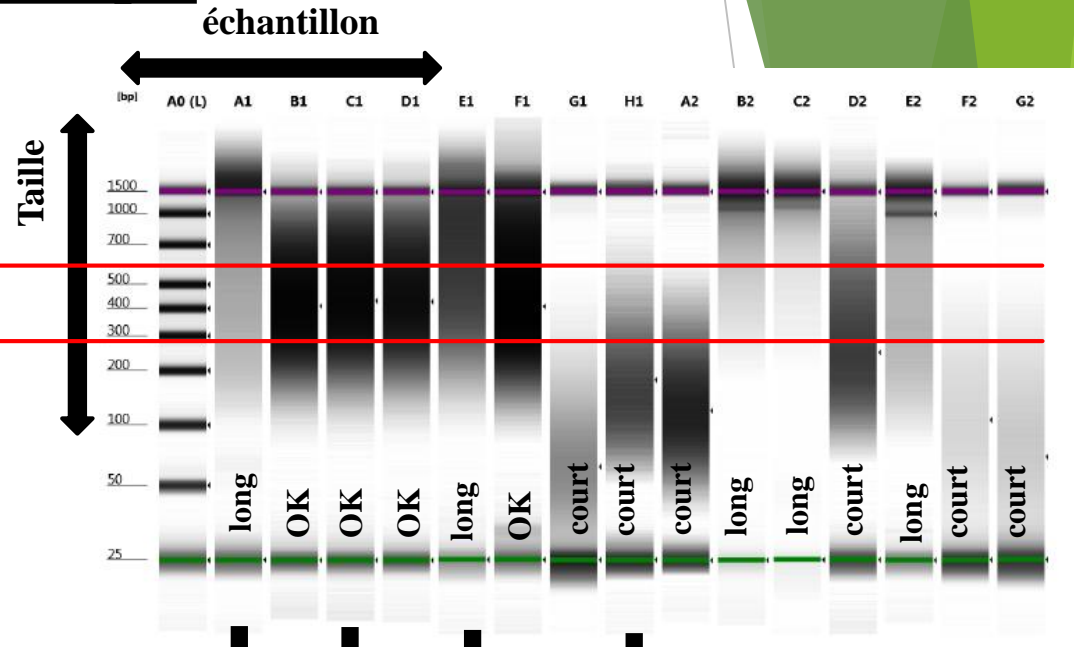
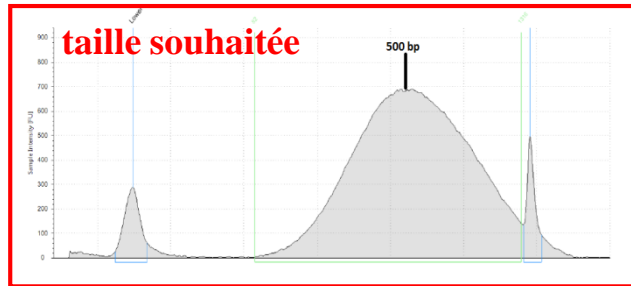
281 spécimens:

239 ingroup

42 outgroup

Matériaux et méthodes

Construction de la bibliothèque



Spécimens frais

Spécimens jusqu'à 80 ans



281 spécimens:

239 ingroup

42 outgroup

Année:

2018

2010

2010

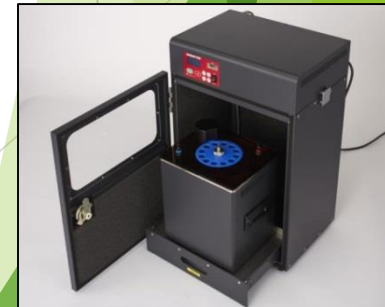
1991

Sonication:
cycles

8x

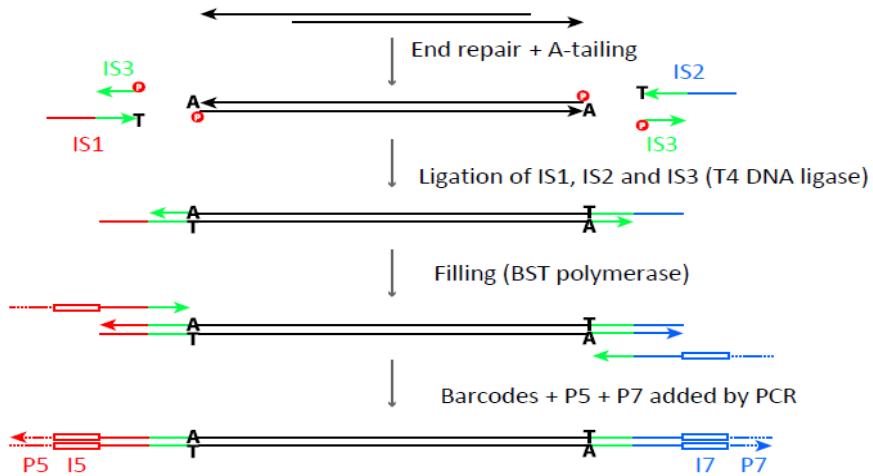
2x

Bioruptor



Matériaux et méthodes

Construction de la bibliothèque



(Kircher 2011)



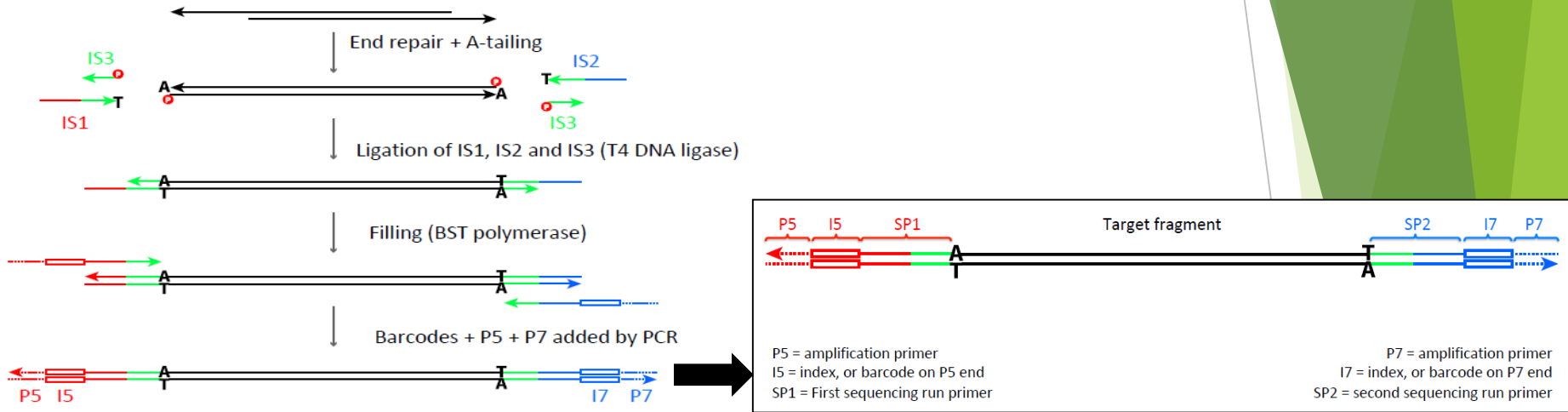
281 spécimens:

239 ingroup

42 outgroup

Matériaux et méthodes

Construction de la bibliothèque



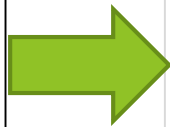
(Kircher 2011)



281 spécimens:

239 ingroup

42 outgroup



**Bibliothèque
construction**

Matériaux et méthodes

Baits désign



281 spécimens:

239 ingroup

42 outgroup



**Bibliothèque
construction**

Matériaux et méthodes

Baits désign

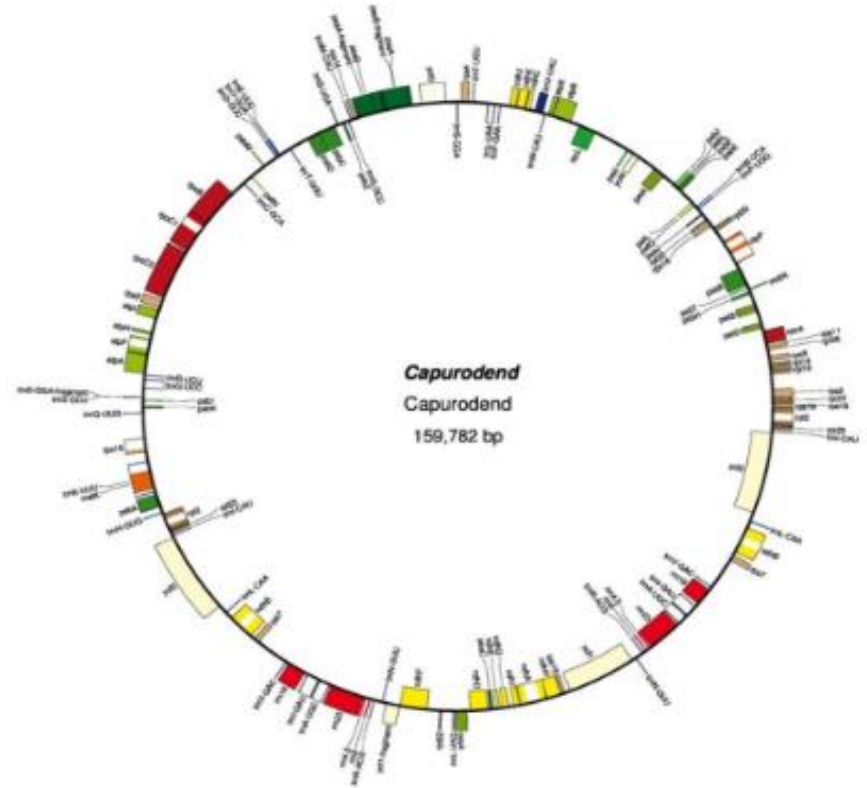
Nouvellement séquencé génomes



Bemangidia lowryi
81 million de lectures
20x – 40x



C. delphinense
51 million de lectures
2x – 20x



281 spécimens:

239 ingroup

42 outgroup

Bibliothèque
construction

Matériaux et méthodes

Baits désign

GenBank transcriptome



Manilkara zapota



Nouvellement séquencé génomes



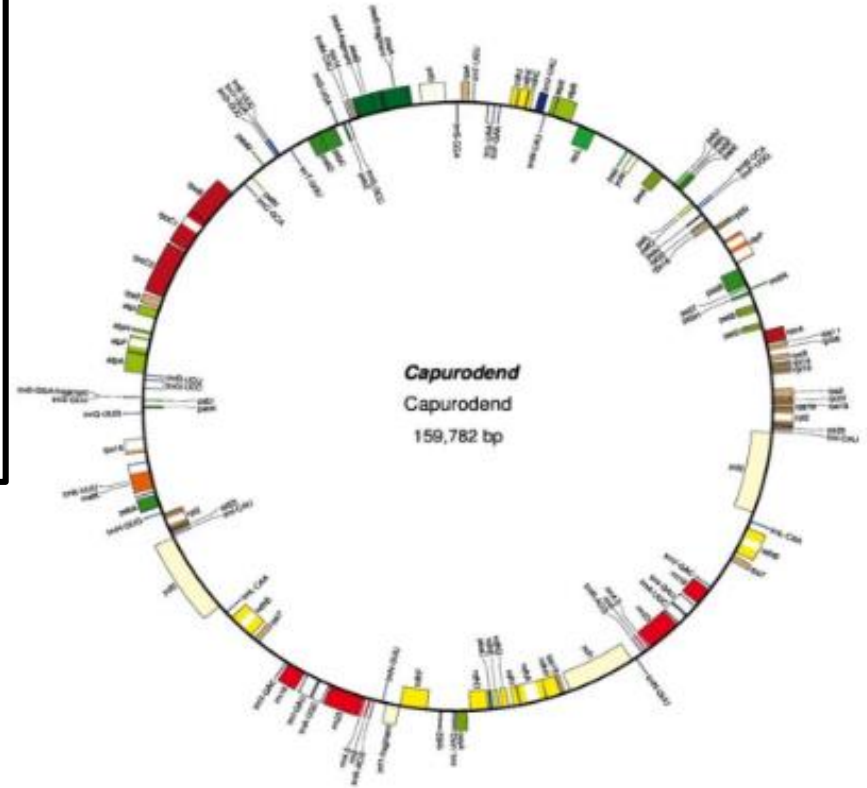
Bemangidia lowryi

81 million de lectures
20x – 40x



C. delphinense

51 million de lectures
2x – 20x



281 spécimens:

239 ingroup

42 outgroup



Bibliothèque
construction

Matériaux et méthodes

Baits désign

GenBank transcriptome



Manilkara zapota



Nouvellement séquencé génomes



Bemangidia lowryi

81 million de lectures
20x – 40x



C. delphinense

51 million de lectures
2x – 20x

Baits désign

Baits: petites séquences d'ADN complémentaires d'un loci qui nous permettent de capturer ces loci à partir d'une solution d'ADN génomique par hybridation.

Baits conçu pour:

227 microsatellites → Complexes d'espèces

532 gènes de *Tseboneae* → Espèce

262 gènes d'angiospermes → Genre
(Johnson *et al.* 2018)



281 spécimens:

239 ingroup
42 outgroup

Baits pour 1020 loci

793 gènes
227 microsatellites

Bibliothèque
construction

Matériaux et méthodes

Capture de gènes

GenBank transcriptome

Nouvellement séquencé génomes



Manilkara zapota

Bemangidia lowryi

C. delphinense

81 million de lectures
20x – 40x

51 million de lectures
2x – 20x

Baits désign



Baits pour 1020 loci

793 gènes
227 microsattellites

281 spécimens:

239 ingroup
42 outgroup

Bibliothèque
construction

Capture de gènes

Matériaux et méthodes

Capture de gènes

GenBank transcriptome



Manilkara zapota



Nouvellement séquencé génomes



Bemangidia lowryi

81 million de lectures
20x – 40x



C. delphinense

51 million de lectures
2x – 20x

(Kircher 2011)

Baits désign



281 spécimens:

239 ingroup

42 outgroup

Bibliothèque construction

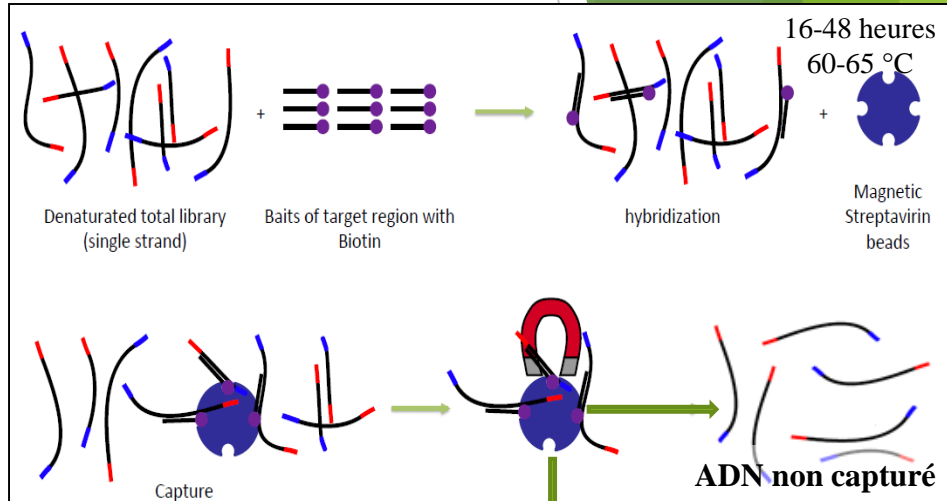
Capture de gènes

Baits pour 1020 loci

793 gènes

227 microsatellites

Capture de gènes



Matériaux et méthodes

Séquençage

GenBank transcriptome



Manilkara zapota



Nouvellement séquencé génomes



Bemangidia lowryi

81 million de lectures
20x – 40x



C. delphinense

51 million de lectures
2x – 20x

(Kircher 2011)

Baits désign



281 spécimens:

239 ingroup
42 outgroup

Baits pour 1020 loci

793 gènes
227 microsattellites

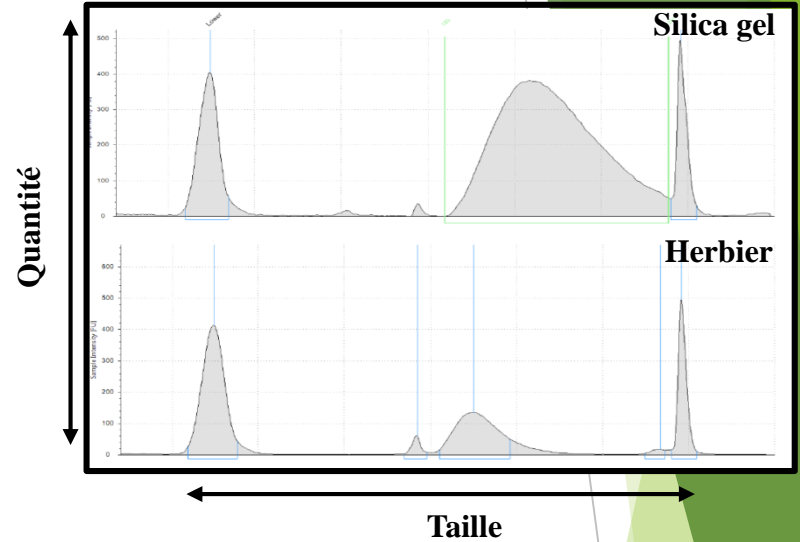
Bibliothèque
construction

Capture de gènes

Loci capturé

Illumina
séquençage

Exemple de tubes envoyés à la séquençage



Matériaux et méthodes

Séquençage

GenBank transcriptome



Manilkara zapota



Nouvellement séquencé génomes



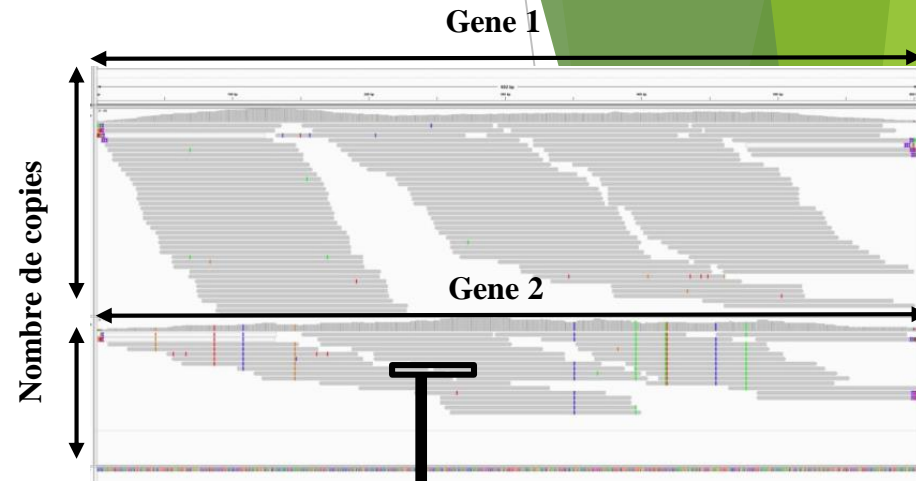
Bemangidia lowryi

81 million de lectures
20x – 40x



C. delphinense

51 million de lectures
2x – 20x



Baits désign



Baits pour 1020 loci

793 gènes
227 microsatellites

```
CTCACAATCCCTACACTCGGTTATGAAATGGAAACAGTAAGTTCCTCAGTCCCCATTATTAATAATATAA  
CTCACAATCCCTACACTCGGTTATGAAATGGAAACAGTAAGTTCCTCAGTCCCCATTATTAATAATATAA  
GTCGACAATGCCATGTGAAGCAATGGCTGGCTCTAAAAGGACCAGAGGCTGCTGGTCTTTTCTTTTGT  
GTCGACAATGCCATGTGAAGCAATGGCTGGCTCTAAAAGGACCAGAGGCTGCTGGTCTTTTCTTTTGT  
GAAATGACAATATAAATAACCCATTTTCAAGATCAAGGTAACATCACTCAACATGCATCGCTCTTTTACAT  
GAAATGACAATATAAATAACCCATTTTCAAGATCAAGGTAACATCACTCAACATGCATCGCTCTTTTACAT
```

exemple des séquences

281 spécimens:

239 ingroup
42 outgroup

Bibliothèque
construction

Capture de gènes

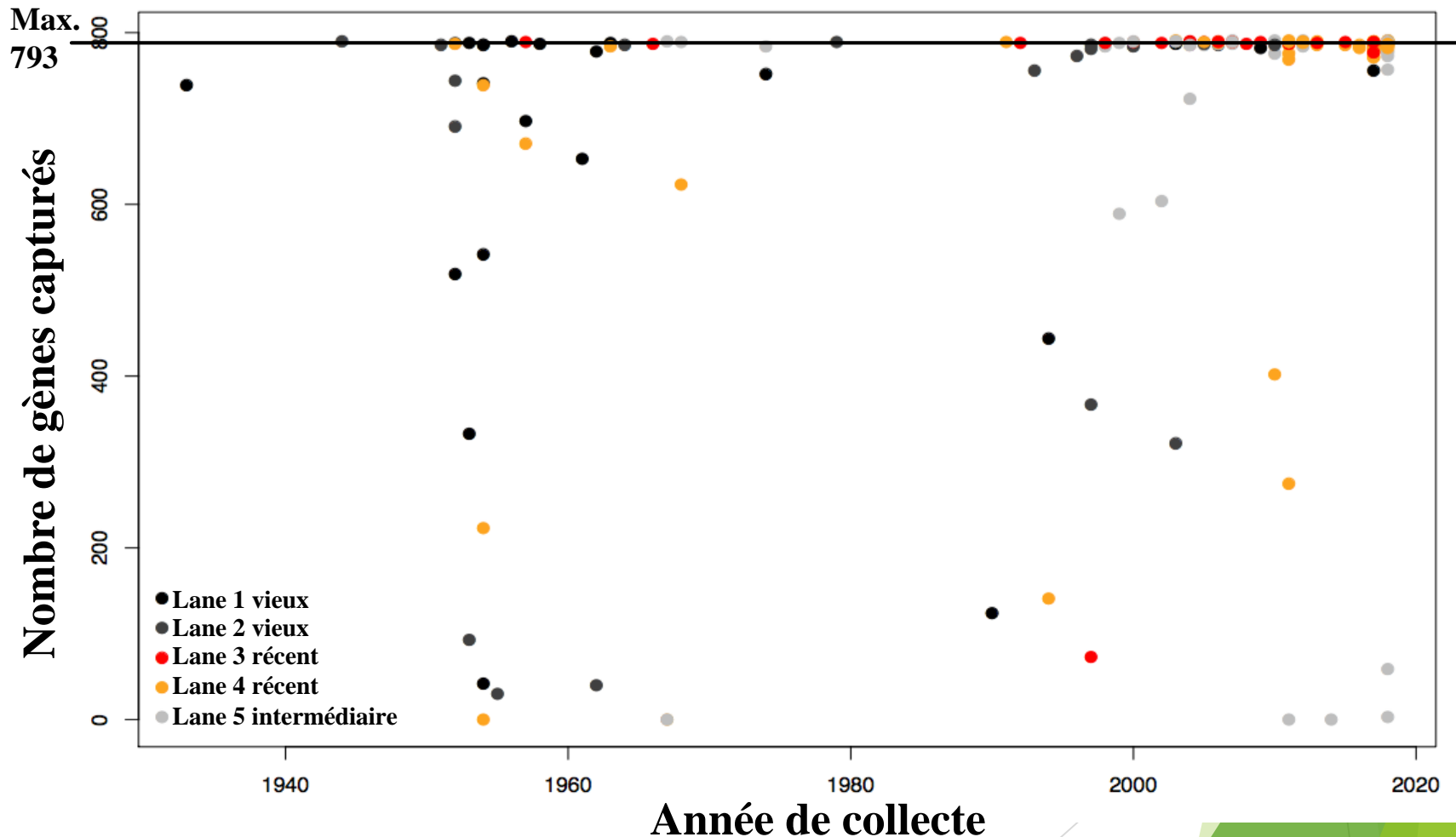
Loci capturé

Illumina
séquençage

Séquences pour analyses
phylogénomiques

Résultats préliminaires

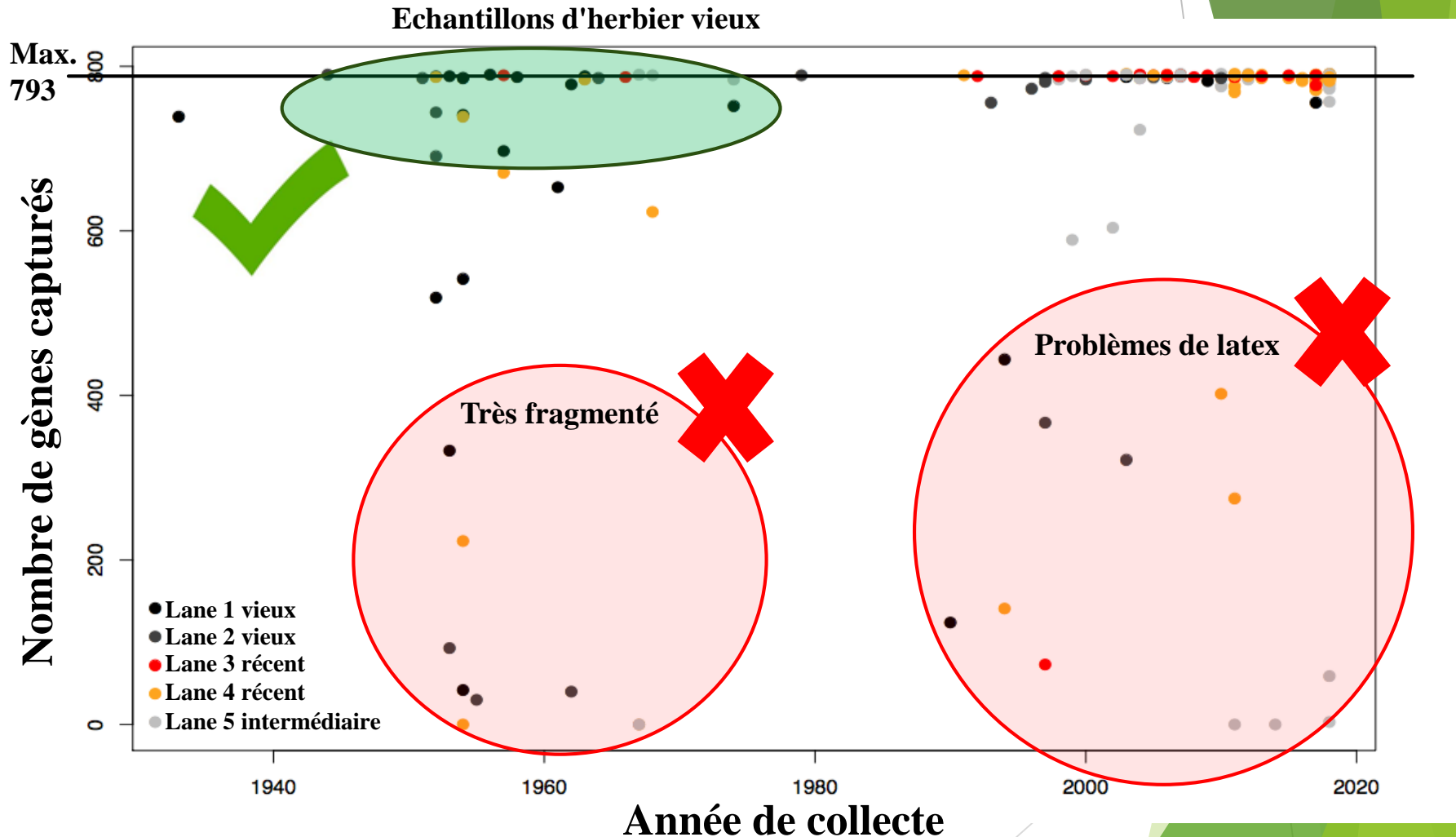
Efficacité de la capture des gènes



La capture de gènes est efficace dans les échantillons frais et anciens

Résultats préliminaires

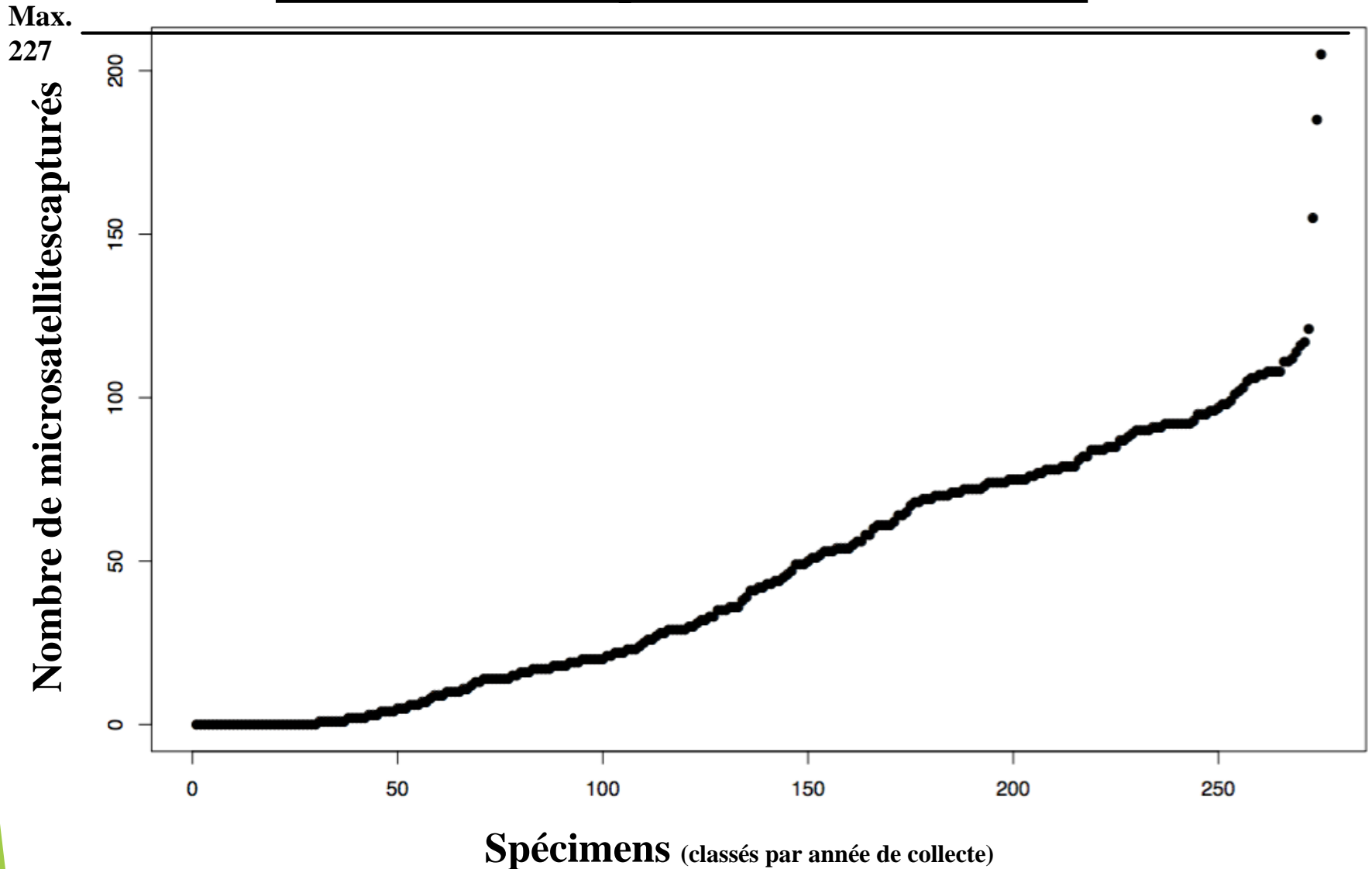
Efficacité de la capture des gènes



La capture de gènes est efficace dans les échantillons frais et anciens

Résultats préliminaires

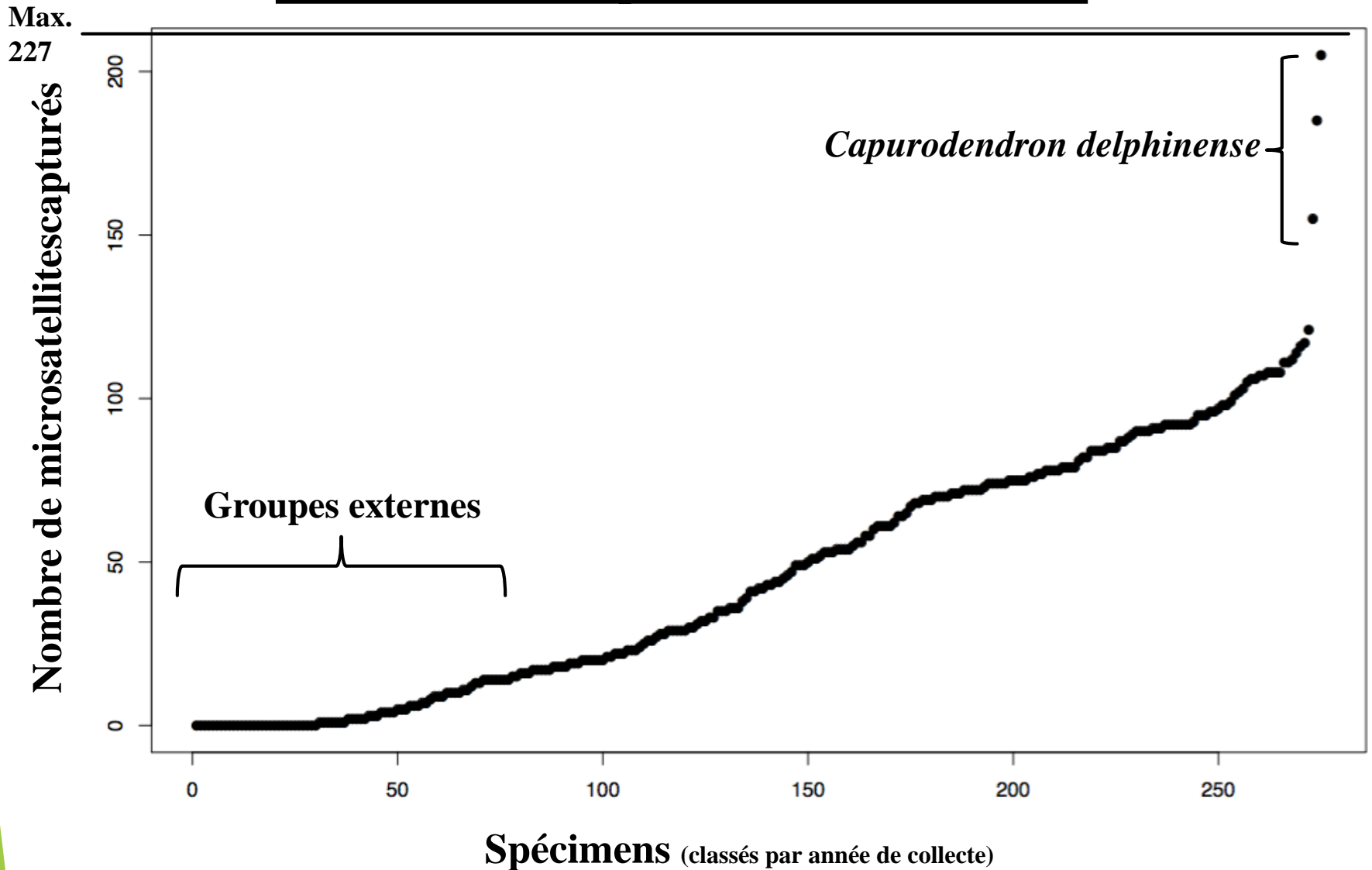
Efficacité de la capture des microsattellites



Moins efficace que la capture des gènes **➔** Séquences hautement variables

Résultats préliminaires

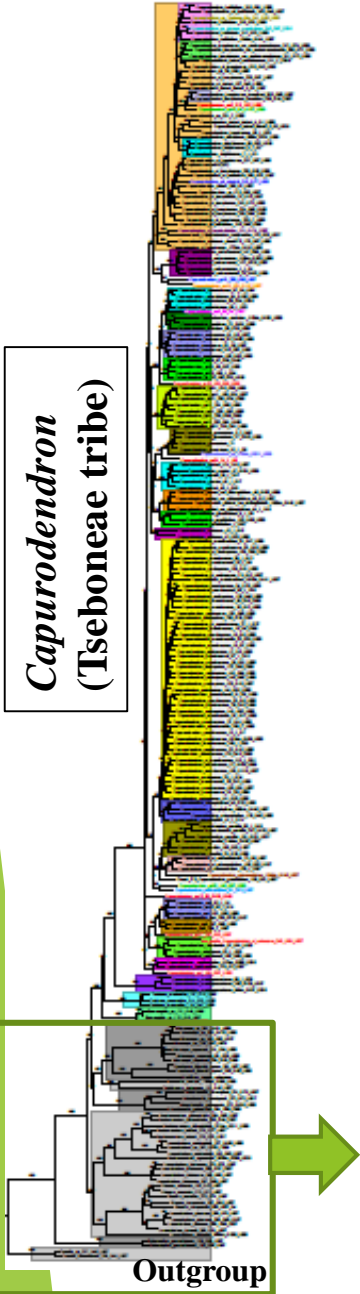
Efficacité de la capture des microsattellites



Moins efficace que la capture des gènes **➔** Séquences hautement variables

Résultats préliminaires

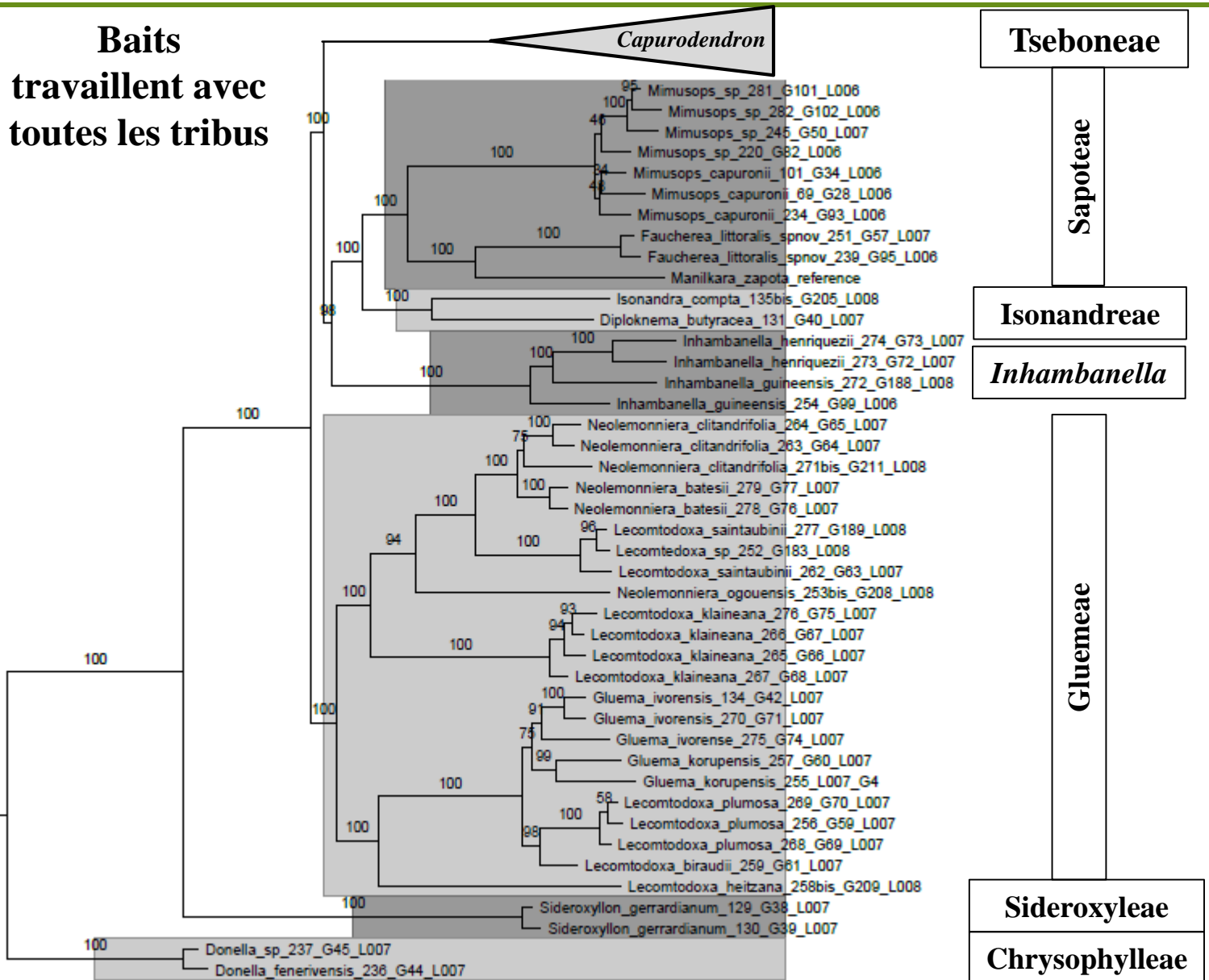
Arbre ML (3 gènes, 12700 bp)



Résultats préliminaires

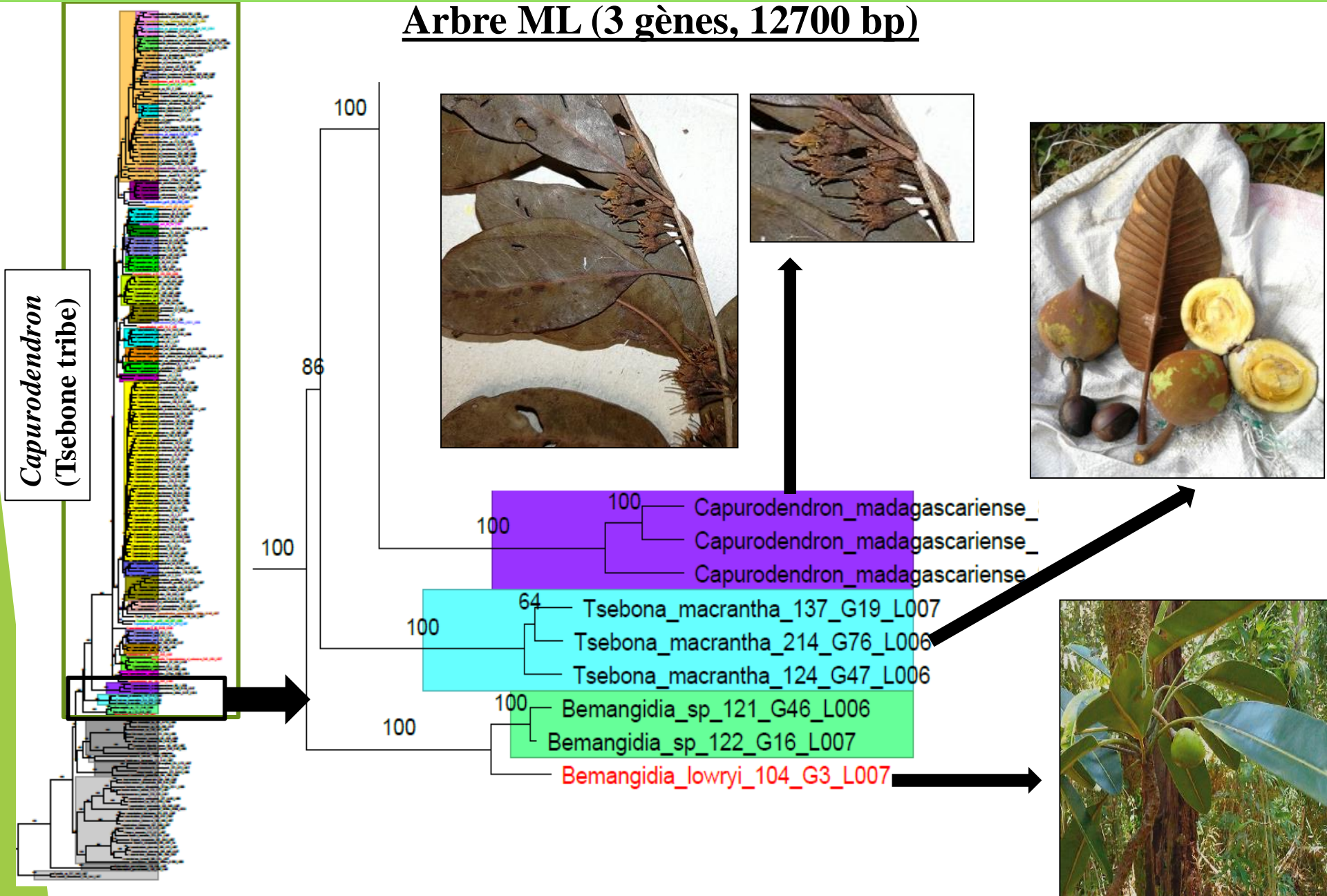
Arbre ML (3 gènes, 12700 bp)

Tribus des Sapotaceae



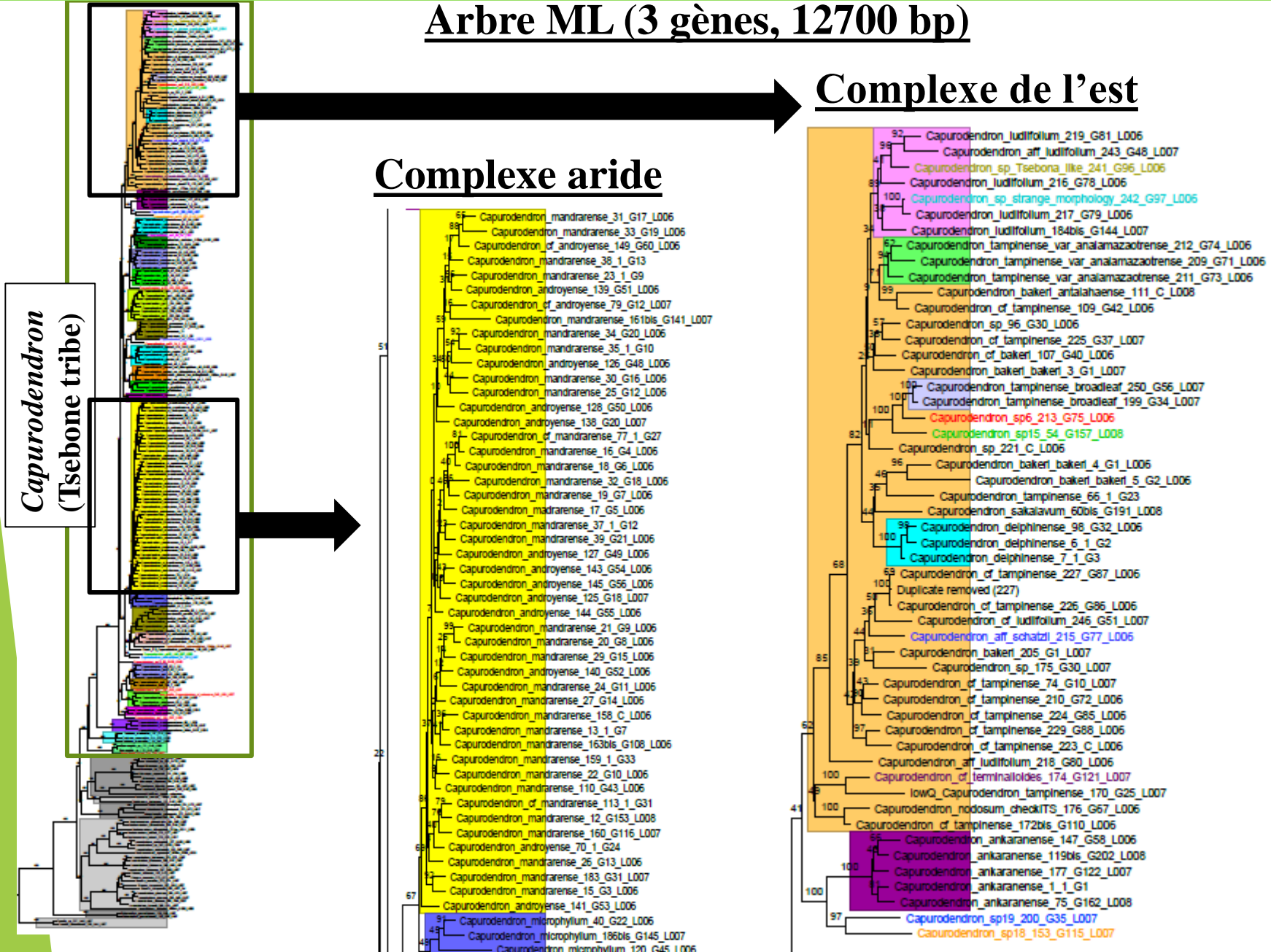
Résultats préliminaires

Arbre ML (3 gènes, 12700 bp)



Résultats préliminaires

Arbre ML (3 gènes, 12700 bp)



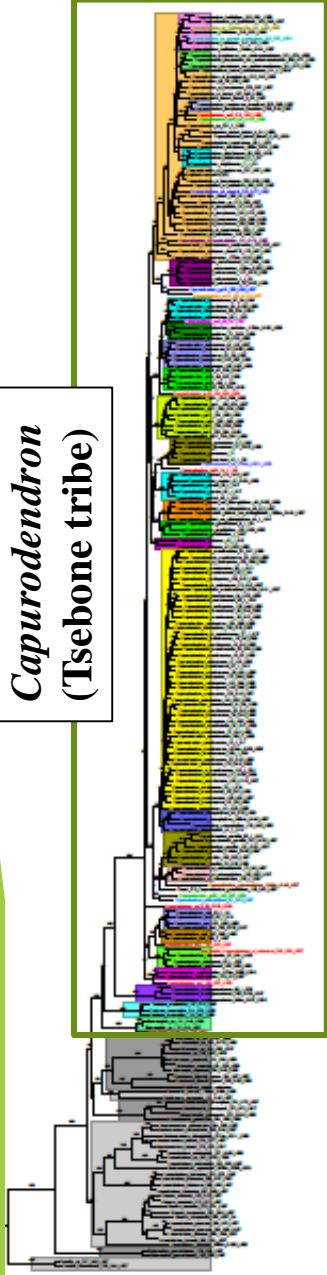
Résultats préliminaires

Arbre ML (3 gènes, 12700 bp)

~ 49 clades/morphologies candidats pour des taxons de niveau spécifique

Seulement 26 espèces décrites

Capurodendron
(Tsebone tribe)



Résultats préliminaires

Arbre ML (3 gènes, 12700 bp)

~ 49 clades/morphologies candidats pour des taxons de niveau spécifique

Seulement 26 espèces décrites

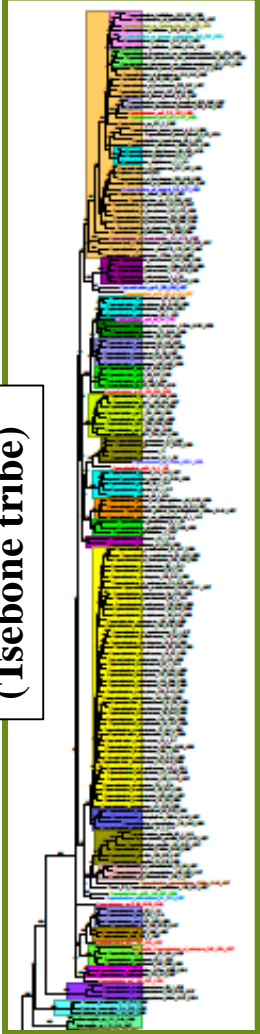
23 nouvelles espèces?

+

Morphologies non analysées dans ce phylogénie

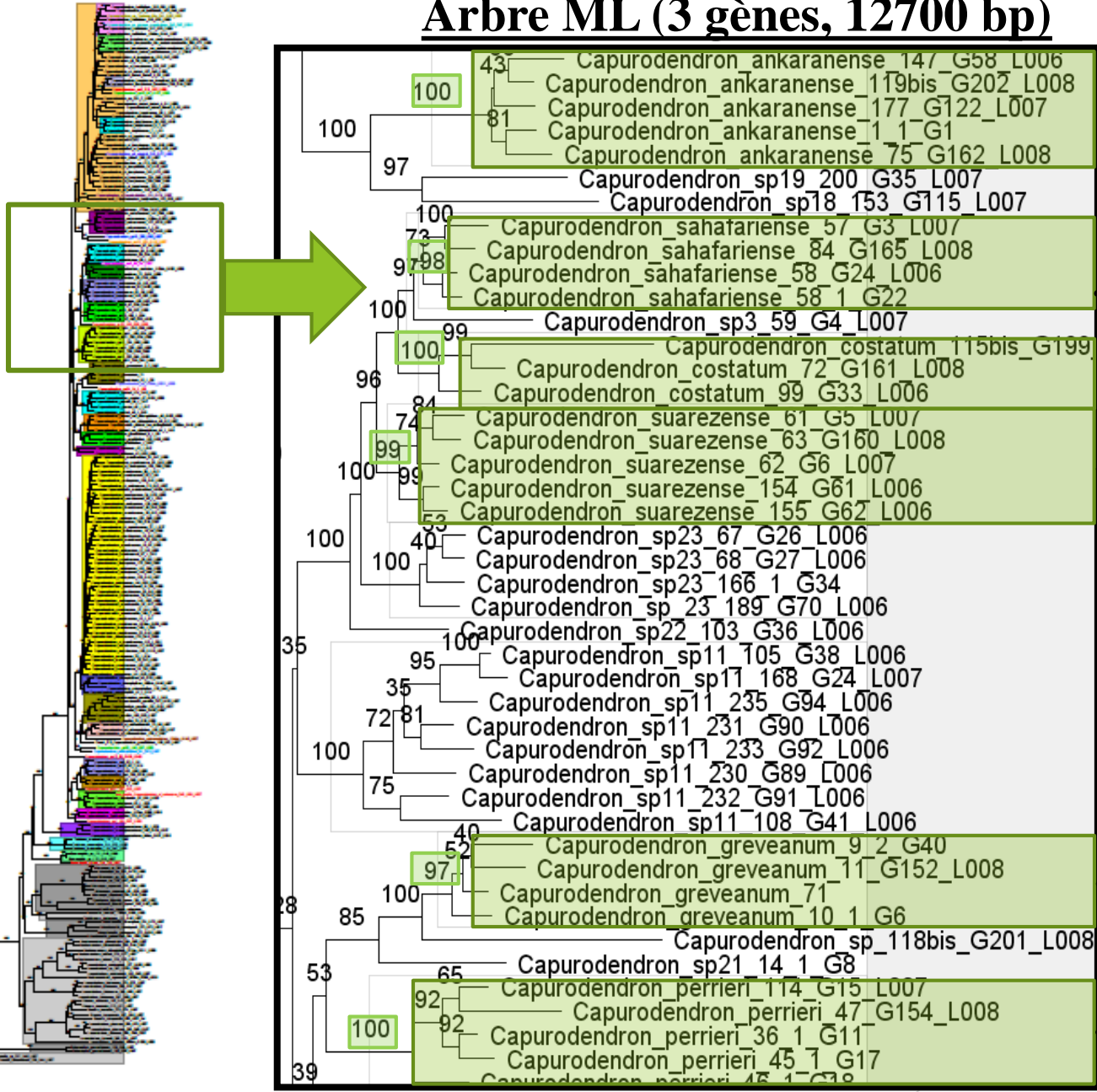


Capurodendron
(Tsebone tribe)



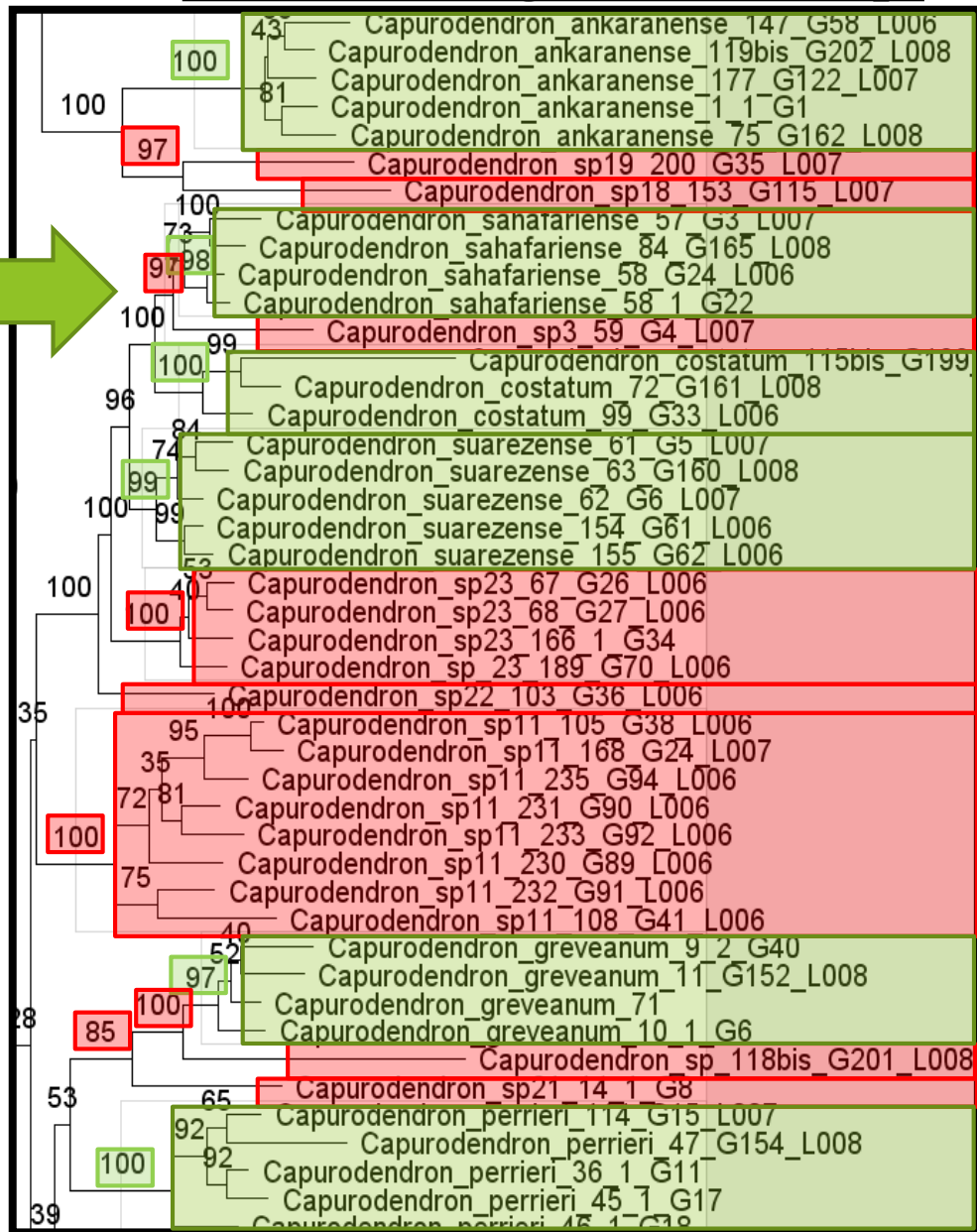
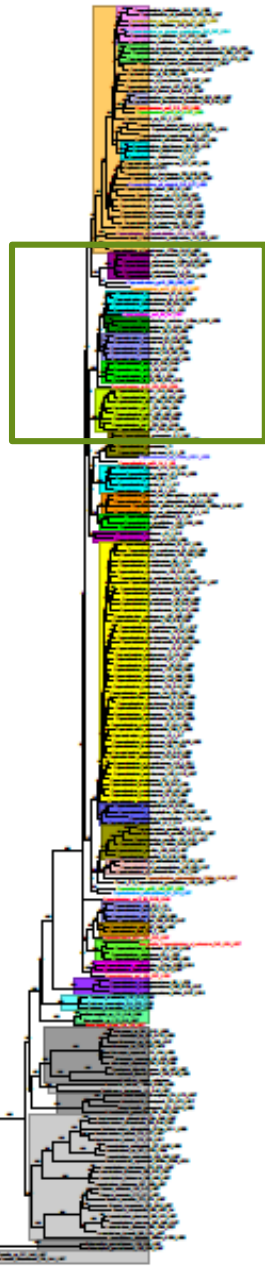
Résultats préliminaires

Arbre ML (3 gènes, 12700 bp)



Résultats préliminaires

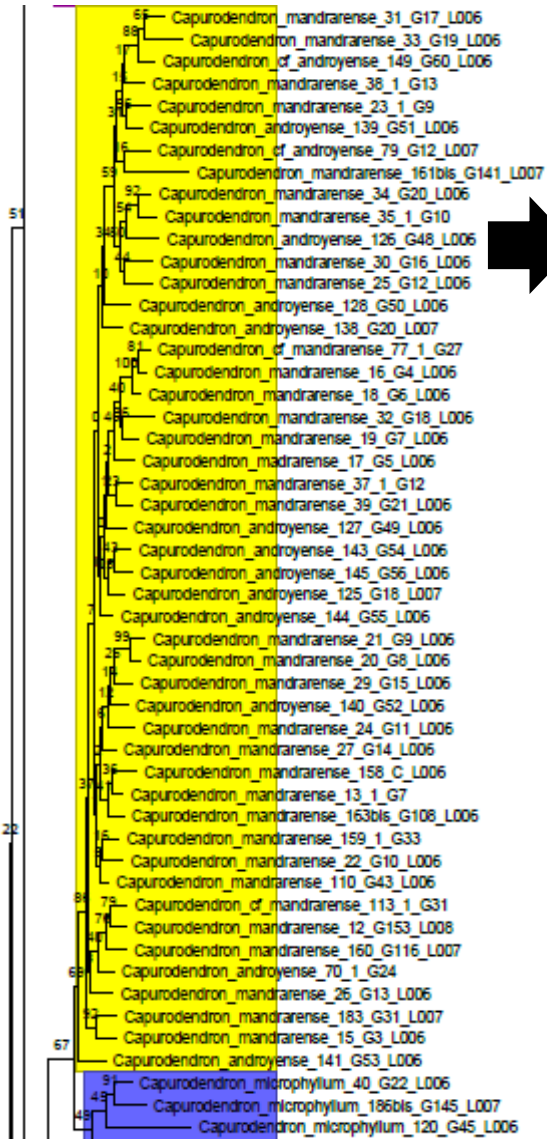
Arbre ML (3 gènes, 12700 bp)



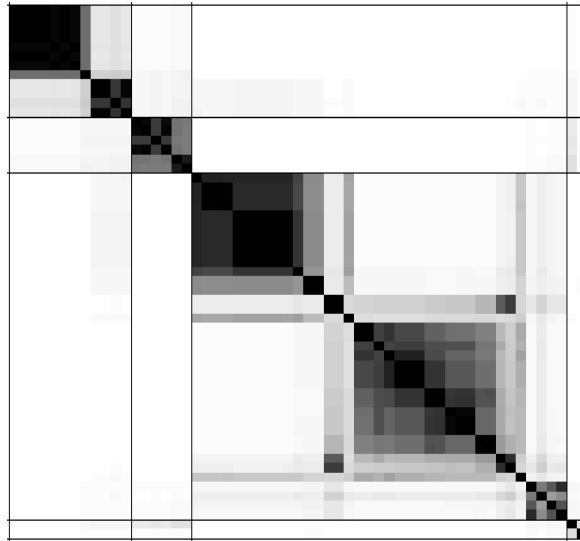
Résultats préliminaires

STACEY analyse de délimitation des espèces

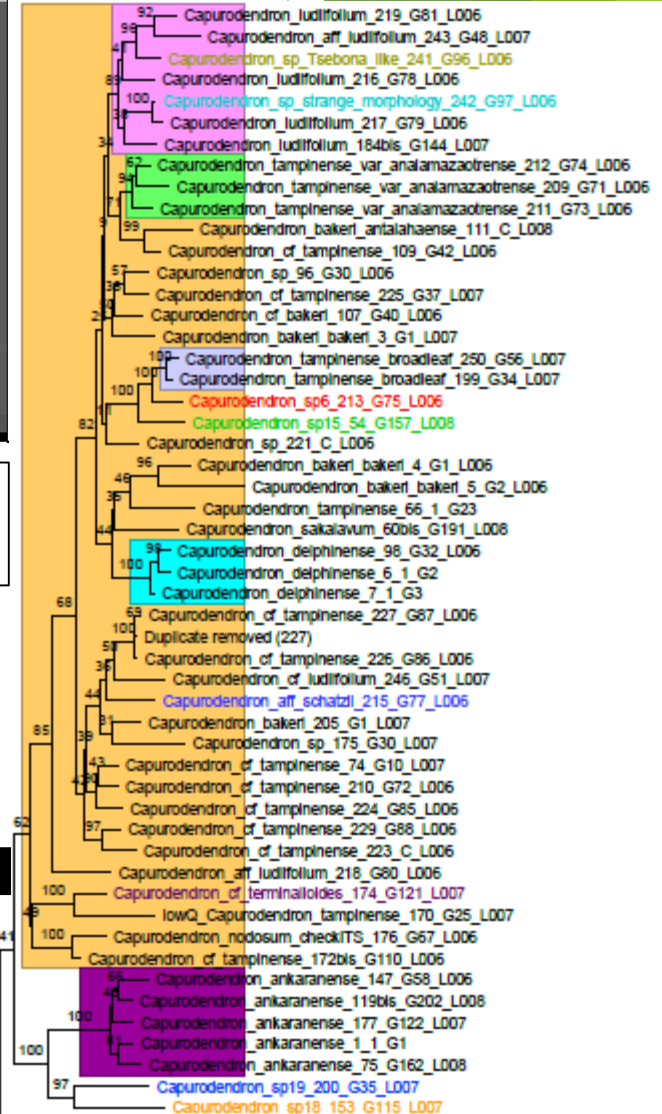
Aride complex



Les microsatellites peuvent aider à la délimitation des espèces



Est complex



Résultats préliminaires

Délimitation préliminaire d'espèces à l'aide de microsatellites

Utilisant 30 microsatellites et analyses bayésiennes:

- **Complex aride: Une "espèce".**

Conspécifique???

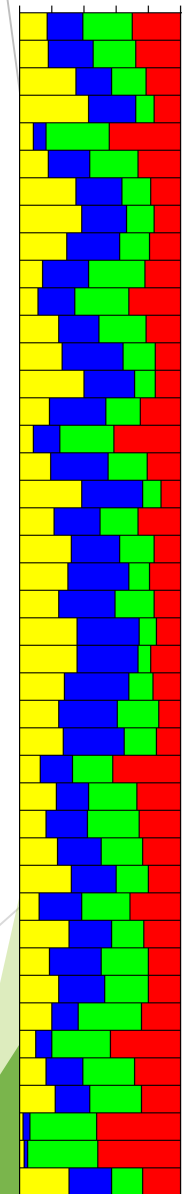
Hybridation???



Capurodendron mandrareense



Capurodendron androyense



Résultats de STRUCTURE (k4) dans le complexe aride

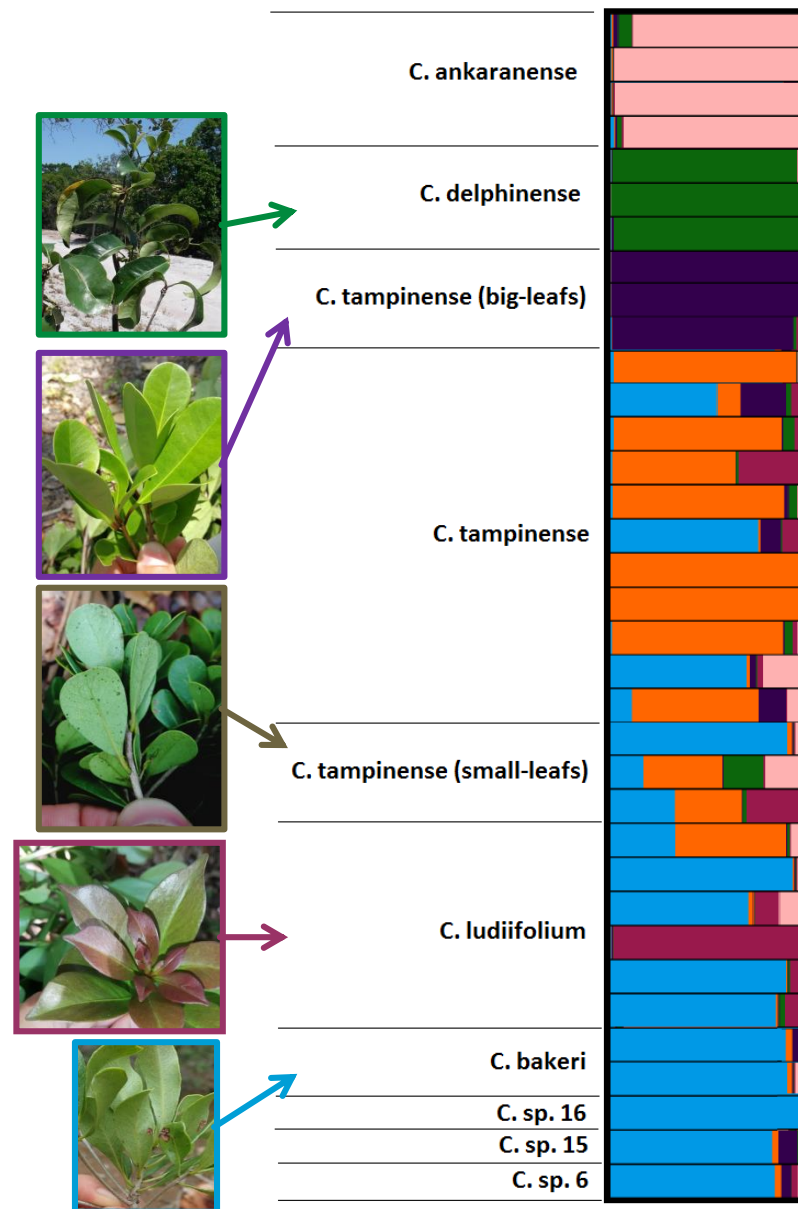
Résultats préliminaires

Délimitation préliminaire d'espèces à l'aide de microsatellites

Utilisant 30 microsatellites et analyses bayésiennes:

- **Complex Est: Groupe d'espèces avec des niveaux élevés d'adjuvant**

Tailles d'échantillonnage non équilibrées
Hybridation???



Résultats de STRUCTURE (k6) dans le complexe aride

Conclusions préliminaires

- ▶ **La capture de gènes fonctionne bien chez toutes les Sapotaceae et avec de vieux spécimens d'herbier.**
- ▶ ***Capurodendron* contient de nombreuses espèces non décrites.**
- ▶ **Deux complexes d'espèces présentant une discordance entre phénotypes et génotypes: Hybridation ou tri de lignage incomplet?**
- ▶ **Les microsatellites pourraient ne pas être aussi utiles que prévu.**



Remerciements



Yamama Naciri



Richard Randrianaivo

Aina Randriarisoa

Carlos Galan Boluda



Camille Christe



Laurent Gautier

Gracias!

