

Flux de gènes par pollen et par graines chez quelques espèces forestières : exemples des chênes, de l'alisier, du cèdre et du frêne



ONF-CGAF

Fleurs d'alisier torminal et pollinisateurs

Pourquoi s'intéresser au déplacement du pollen et des graines ?

Les plantes, comme tous les organismes vivants, possèdent des gènes* qui constituent une information transmise et réarrangée de génération en génération grâce à la reproduction sexuée principalement. Les gènes sont sujets à des flux* : ils se déplacent entre générations. Chez les plantes, et chez les arbres forestiers en particulier, le premier flux concerne le génome* paternel. Un grain de pollen, émis par les fleurs mâles, est un gamète* porteur de la moitié des gènes de l'arbre père. Il est transporté par différents vecteurs selon les espèces (vent, animaux...) jusqu'à une fleur femelle qu'il va féconder.

Ces mêmes gènes se déplaceront une seconde fois par la graine. La graine porte en effet la moitié de chacun des génomes paternels et maternels associés dans l'embryon, futur individu. Cette graine va transporter ces gènes en quittant l'arbre-mère par différents moyens selon les espèces (le vent, les animaux, la gravité...). Les phénomènes de dispersion des graines et du pollen sont ainsi à l'origine de la dynamique d'évolution de la diversité génétique* des populations* d'arbres et de la colonisation de nouveaux territoires.

Une dispersion de pollen et de graine est dite « efficace » lorsque le déplacement d'un grain de pollen a donné lieu à une fécondation réussie, et que la graine issue de cette fécondation est parvenue à s'installer pour donner un

nouvel individu. Comparés à la production de fleurs et de gamètes par les arbres, qui peut être massive, ces événements peuvent en effet être considérés comme assez rares : il y a beaucoup de pertes dues à divers phénomènes (figure 1) !

Nous avons souhaité ici étudier les dispersions de pollen et de graines et savoir à quelles distances pollen et graines se dispersent. Cette connaissance devrait en effet nous permettre de prédire l'évolution des populations d'arbres et de mesurer en particulier l'action que peut avoir l'homme par sa gestion sylvicole.

Pour étudier les dispersions de pollen et de graines – il s'agit là de la dimension spatiale du phénomène – et leur déplacement d'une génération à

r é s u m é

Cinq espèces d'arbres forestiers, de caractéristiques biologiques contrastées, ont été étudiées pour la dispersion de leur pollen et de leurs

graines, grâce à des techniques modernes de génétique. Celles-ci permettent, du fait de la grande variabilité des individus, de retrouver le père et la mère de jeunes plants. Les dispersions observées sont assez

différentes selon les espèces ; elles reflètent les processus biologiques à l'œuvre dans la reproduction et le fonctionnement des populations.

*Voir glossaire

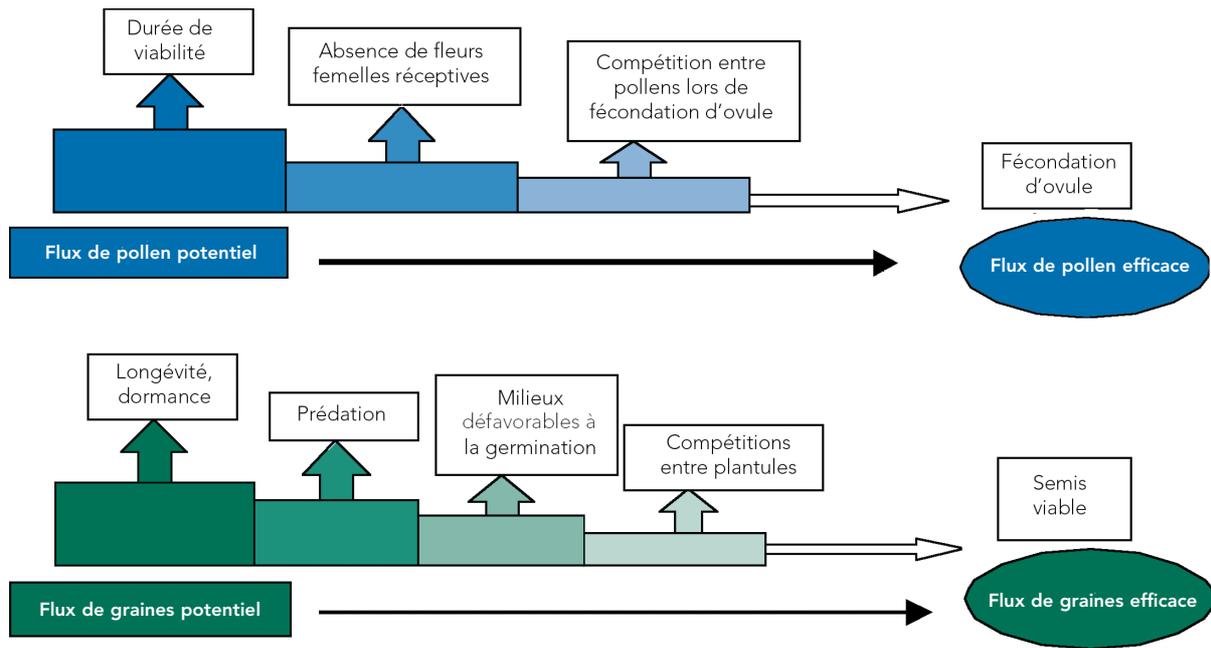
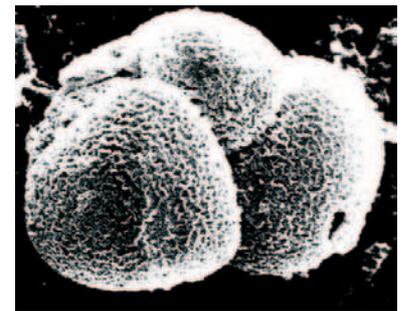
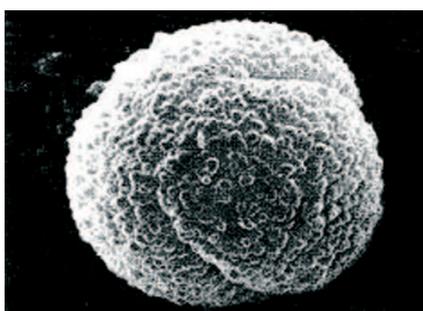


Fig. 1 : flux de gènes potentiels et efficaces. Pour le pollen comme pour les graines, de nombreux phénomènes peuvent modifier les effectifs initialement produits et donc réduire sensiblement ces derniers

l'autre – c'est ici la dimension temporelle qui est prise en compte – l'information fournie par les marqueurs moléculaires* est précieuse. En effet, il est actuellement possible d'attribuer à chaque individu d'une population une carte d'identité unique grâce à des marqueurs de l'ADN*, en caractérisant des régions du génome si variables que les individus diffèrent quasiment tous les uns des autres. La mesure de

l'apparement entre les individus se fait également avec cet outil, en évaluant la ressemblance des cartes d'identités des individus et en déduisant leur relation, parent-enfant par exemple (figure 2). Grâce à cette approche, il est alors possible de retrouver le père de graines récoltées sur des arbres-mères connus (recherche de paternité pour l'étude des flux de pollen) ou de retrouver

simultanément le père et la mère de semis établis (recherche de parenté pour l'étude des flux de graines et de pollen). Rappelons que les résultats obtenus avec ces marqueurs intègrent à la fois les caractéristiques biologiques des espèces (sociale/disséminée, auto-game*/allogame*, monoïque*/dioïque*, forme des pollens/graines), les facteurs de dispersion (vent, insectes, gravité...), les facteurs climatiques (hétérogénéité



De gauche à droite, photographies de grains de pollen de chêne, de hêtre et de pin sylvestre prises au microscope électronique à balayage (adapté de <http://www.ac-nantes.fr/peda/disc/svt/pollen>)

abstract

Pollen and seed dispersal have been studied with modern molecular tools for five forest species, different for

biological characteristics. Due to the high degree of variability at individual level, these techniques give the possibility to identify the father and the mother of young seedlings.

Dispersal pattern vary according to species characteristics and reflect the biological processes acting for reproduction and functioning of populations.

du dispositif, d'arbres de la même espèce. Pour chaque espèce et dans les limites géographiques de chaque dispositif, la cohorte adulte (c'est-à-dire reproductrice) a été exhaustivement repérée, cartographiée et génotypée* (c'est-à-dire que la carte d'identité génétique de chaque individu a été établie). Le plus souvent, la détermination du statut de reproducteur s'est appuyée sur un suivi de la floraison. Une analyse de parenté a ensuite été faite pour toutes les espèces. Les caractéristiques des espèces sont données dans le tableau 1.

Chênes

La parcelle expérimentale est gérée en futaie régulière depuis le siècle dernier, convertie à partir d'un taillis sous futaie. Elle est incluse dans un massif de 700 ha composé majoritairement de chênes. Deux espèces de chênes sont présentes simultanément, le chêne pédonculé (*Quercus robur* L.) et le chêne sessile (*Q. petraea* (mattus) Liebl.). Toutes deux sont hermaphrodites (un arbre assure à la fois les fonctions mâle et femelle), généralement allogames anémophiles (pollinisation par le vent) et la dispersion des graines est essentiellement barychore* (sous l'effet du poids). Ces espèces se distinguent par des caractères morphologiques (feuilles et glands essentiellement), même si quelques rares arbres posent des problèmes d'identification. Des croisements contrôlés montrent que l'hybridation* est possible, avec un sens préférentiel, un pollen sessile fécondant plus efficacement une fleur pédonculée (Streiff et al., 1999). Globalement pour ces deux espèces, 296 chênes adultes ont été repérés et 161 jeunes semis ont été échantillonnés selon une trame régulière sur la parcelle.

Alisier

L'alisier torminal (*Sorbus torminalis* L. Crantz) est une espèce disséminée (généralement moins de 10 individus à l'hectare), hermaphrodite, allogame, entomophile* (pollinisation par les insectes) et zoochore* (dispersion des graines par les oiseaux et petits mammifères). Ce taxon est décrit comme

présentant de fortes aptitudes au draageonnage. Le site d'étude couvre 22 parcelles forestières constituées majoritairement de peuplements feuillus (chêne dominant, charme et hêtre), récemment convertis en futaie régulière. Elles sont entourées de peuplements forestiers et de zones agricoles fragmentées. Un repérage exhaustif a permis de cartographier 185 arbres adultes (individus florifères). Par ailleurs 17 taches de juvéniles ont été localisées sur les parcelles centrales. À l'intérieur de chaque tache, les juvéniles ont été exhaustivement repérés et échantillonnés (454 juvéniles au total, 24 par tache en moyenne).

Cèdre

Cedrus atlantica (Endl.) Carr. est une espèce monoïque, avec une grande variabilité* individuelle de fertilité mâle et femelle. La pollinisation anémophile a lieu à l'automne, mais la fécondation n'intervient qu'au printemps suivant. Les cônes arrivent à maturité après 2 ans et les graines se disséminent sous l'effet du vent et de leur propre poids. Au sein de la cédraie du Petit Luberon, massif d'environ 300 ha, cette étude a porté sur une cédraie de 90 ha, dans un carré de 1200 m de côté, où aucune intervention sylvicole d'envergure n'a été réalisée depuis le reboisement initial jusqu'aux premières coupes en cours.

Après un recensement exhaustif sur l'ensemble du site, 384 arbres fondateurs (parents) ont été repérés et récoltés. Une photographie aérienne de 1939 suggère que la population survivant à cette date était plutôt d'environ 600 arbres. La première cohorte de régénérations (descendants) est constituée d'arbres âgés aujourd'hui d'environ 80 ans. Cent de ces arbres ont été échantillonnés dans une sous-parcelle de 250 m de côté située au centre du site.

Frêne

Le frêne commun, *Fraxinus excelsior* L., a été choisi pour les particularités suivantes : espèce colonisatrice, répartition spatiale souvent dispersée dans les peuplements forestiers matures, système de reproduction complexe avec l'existence d'un



Euroforgeren

Alisier torminal

continuum depuis les individus mâles purs jusqu'aux individus femelles purs avec différents types d'individus hermaphrodites entre les deux. De plus, cette espèce présente une pollinisation anémophile et une dispersion anémochore* des fruits (les samares).

La population étudiée est un peuplement mélangé, d'origine autochtone*, issu d'un taillis-sous-futaie et actuellement géré par bouquets en peuplement irrégulier. La surface de la population est d'environ 12 ha et 597 individus adultes ont été échantillonnés. Les individus retenus montrent une répartition en différentes classes de diamètre, ce qui laisse supposer l'existence de différentes classes d'âge. Pour la recherche de parenté, 100 jeunes semis naturels, répartis dans 4 zones distinctes (25 semis par zone), ont été échantillonnés au hasard, espacés d'un mètre au moins.

Marqueurs moléculaires

Pour déterminer la carte d'identité génétique des individus de nos dispositifs, nous avons utilisé pour toutes les espèces, sauf le cèdre, des zones du génome appelée microsattellites*, spécifiques de chaque espèce. Ces zones intéressent le généticien car elles pré-



S. Gerber, Inra

Fructifications de frêne

sentent de grandes variations d'un individu à l'autre. L'ADN des être vivants et des arbres en particulier, est constitué de séquences de quatre nucléotides* appelés A, C, G et T, dont l'ordre détermine le sens du message génétique. À certains endroits du brin d'ADN, on trouve un grand nombre de répétitions d'un motif, comme (AG)_n. À ces emplacements, deux individus se distingueront par exemple parce que l'un présente 7 répétitions du motif AG alors que l'autre n'en présente que 5. Il

suffit de lire l'identité des individus sur plusieurs de ces sites pour obtenir un profil quasiment exclusif de l'individu. Dans le cas du cèdre, des marqueurs moléculaires d'un autre type ont été utilisés car les microsatellites n'étaient pas disponibles.

Que nous apprennent les analyses de flux ?

Pour chacune des espèces étudiées, une recherche des pères et des mères

de chaque jeune plant a été conduite. Lorsque les parents étaient identifiés, les distances de dispersion du pollen et des graines pouvaient être calculées, puisque la position relative des arbres était connue (figure 3).

Différents cas de figure étaient alors observés. Pour une certaine proportion de descendants, deux parents uniques ont pu être retrouvés, pour une autre part seul un des parents a pu être retrouvé. Un dernier pourcentage d'entre eux se sont retrouvés sans aucun parent identifié. Lorsque deux parents sont retrouvés simultanément, nous avons fait l'hypothèse que le parent le plus proche pouvait être la mère. Les graines dispersent en effet généralement moins loin que le pollen et un rapport moyen entre dispersion du pollen et des graines peut être calculé par ce biais. Les résultats obtenus pour les différentes espèces sont récapitulés dans le tableau 2.

■ **Chez les chênes**, parmi les 9 couples parentaux retrouvés, 7 associent des chênes sessiles, 2 des pédonculés dont une autofécondation* (soit 0,6 % d'autofécondation). Pour les jeunes dont un seul parent a été identifié, la distance moyenne observée entre les descendants et leur unique parent est de 69,4 m pour les parents sessiles et de 72,5 m pour les parents pédonculés.

■ **Chez l'alisier torminal** un nombre important de couple de parents a pu être retrouvé, comparé aux autres espèces (figure 4). Une explication, outre la puissance de l'outil de marquage, est la taille du dispositif beaucoup plus importante que les autres. Les dispersions efficaces à des distances importantes, aussi bien par voie de pollen et de graines, sont observées. Toutefois les graines migrent moins loin (144 m) que le pollen comme le montre le rapport de dispersion (5,1 %). Un autre résultat non attendu de cette étude est donc la faible importance de la reproduction par voie végétative dans le système de reproduction de l'alisier torminal (<3 %).

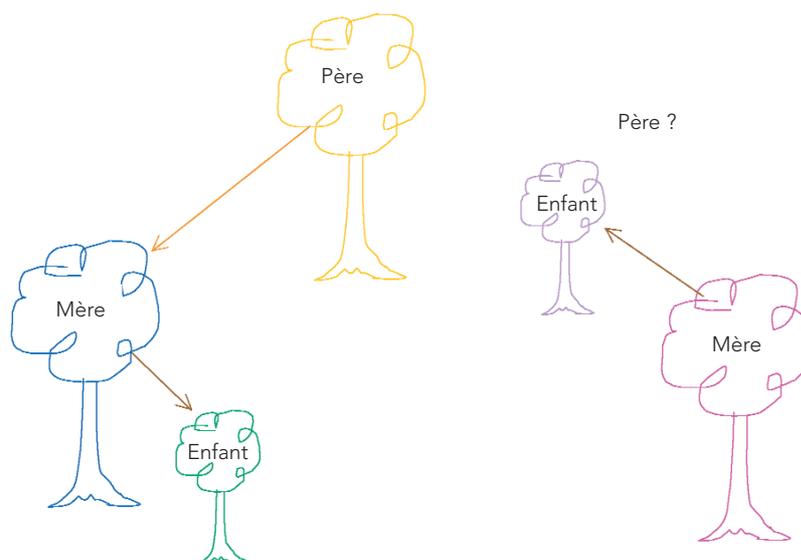


Fig. 3 : mesures de distances de dispersion entre géniteurs (distance de dispersion du pollen) et entre mère et descendants (distance de dispersion des graines)

Espèce	Chênes	Alisier	Cèdre	Frêne
Nombre total de descendants étudiés	161	454	100	100
Nombre (pourcentage) de descendants avec deux parents retrouvés	9 (5,6 %)	97 (21,4 %)	4 (4 %)	5 (5 %)
Nombre (pourcentage) de descendants avec un parent retrouvé	118 (73,3 %)	279 (61,5 %)	38 (38 %)	74 (74 %)
Nombre (pourcentage) de descendants avec aucun parent retrouvé	34 (21,1 %)	78 (17,2 %)	58 (58 %)	21 (21 %)
Pourcentage de gamètes* (pollen) en provenance de l'extérieur du dispositif	57,8 %	47,9 %	77 %	58 %
Distance moyenne parent-descendant (m)	69,4	374	246	182
Distance moyenne mère-descendant (m)	12,4	144	194	?
Rapport de dispersion pollen / graine	25,2	5,1	≈1	14

Tab. 2 : résultat des recherches de parentés et des calculs de distances de dispersion chez les cinq espèces

■ **Chez le cèdre de l'Atlas**, des dispersions efficaces à plus de 200 m. par voie de graines ont été fréquemment observées dans le dispositif ; on peut se demander si les longues distances observées (plus de 500 m.) sont des événements rares (transport par des animaux ou par l'homme).

■ **Chez le frêne**, aucun des 5 semis dont on retrouve un couple de parents n'est issu d'autofécondation. De façon

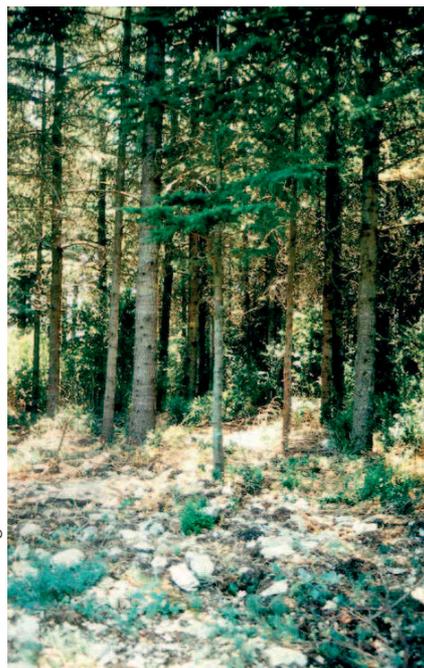
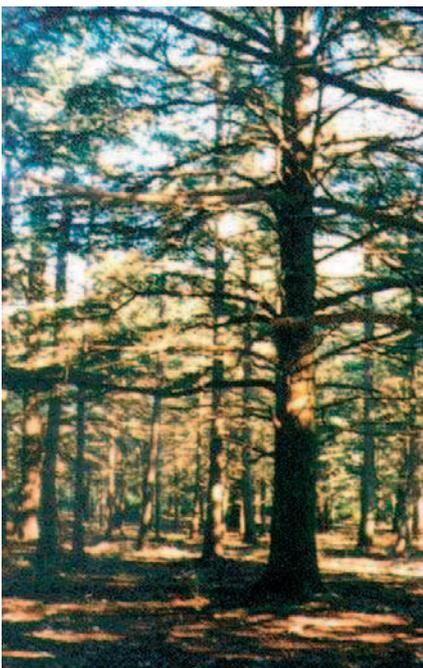
globale, les directions de dispersion des graines suivent préférentiellement les deux fonds de vallon. À partir des résultats de la recherche de parenté, on peut calculer le succès reproducteur des individus adultes, c'est-à-dire le nombre de descendants engendrés pour un adulte donné. Ainsi, 80,9 % des parents assignés n'ont engendré qu'un descendant parmi les 100 semis étudiés. Un seul parent assigné (1,5 %) a engendré 4 semis à lui seul. Ceci semble traduire une variabilité dans

les succès reproducteurs des frênes, variabilité qui reste à mieux décrire et expliquer.

Dans tous les cas où les mesures étaient possibles, les dispersions observées sont nettement inférieures à celles que l'on obtiendrait si l'on tirait au hasard les parents des juvéniles étudiés, et le ratio entre la distance de dispersion du pollen et celle des graines est également plus élevé que ce que l'on aurait observé si les parents étaient choisis au hasard (sauf chez le cèdre).

Comment les espèces diffèrent-elles les unes des autres ?

La même méthode de reconstitution de filiation, utilisée pour les cinq espèces de cette étude, a montré une efficacité variable. De façon générale, la proportion de descendants pour lesquels on retrouve effectivement un ou deux parents, et pour lesquels on peut donc inférer une distance de dispersion précise, est faible. Les valeurs sont du même ordre de grandeur chez le chêne et chez le frêne : 1 seul parent retrouvé pour environ 74 % des descendants et seulement 5 % quand les 2 parents ont été identifiés. Ces valeurs sont plus équilibrées chez l'alisier (1 parent : 61,5 % ; les



Régénérations naturelles de cèdre de l'Atlas

URFM - Inra Avignon

URFM - Inra Avignon

2 parents : 26,4 %) et plus faibles chez le cèdre (1 parent : 38 % ; les 2 parents : 4 %). Ces faibles proportions résultent d'une part des flux de gènes extérieurs importants dans ces populations non isolées, et d'autre part de la faiblesse du système de marquage moléculaire.

Néanmoins, cette approche comparée des flux de pollen et de graines par recherche de parenté nous a permis de confirmer et de caractériser divers traits importants du régime de reproduction et de dispersion. Ainsi, l'autofécondation apparaît effectivement assez limitée : en effet, chez ces cinq espèces, lorsque les deux parents d'un descendant étaient retrouvés, ces derniers correspondaient rarement au même arbre.

Pour comparer les capacités moyennes de dispersion entre espèces, il serait tentant de confronter les pourcentages de flux de pollen ou de graines provenant de l'extérieur du dispositif. Ces flux sont respectivement de 47,9 % pour l'alisier, de 57,8 % chez les chênes, de 58 % pour le frêne, de 77 % chez le cèdre. Les flux extérieurs sont cependant impossibles à comparer entre espèces, du fait de la grande variabilité des conditions expérimentales : l'échantillonnage des semis et la surface couverte par les dispositifs notamment. En revanche, on peut remarquer qu'en règle générale, la taille des dispositifs choisis était supérieure à celle de l'unité de gestion forestière (la parcelle). On peut ainsi conclure qu'une régénération naturelle conduite à l'échelle d'une parcelle forestière est en grande partie issue de géniteurs venant de l'extérieur de cette même parcelle. Ce résultat implique donc la prise en compte, par le gestionnaire, de la qualité des peuplements et des interventions sylvicoles des parcelles riveraines de celles en régénération. Dans tous les exemples d'espèces étudiées, la dispersion efficace peut s'établir à une distance de plusieurs centaines de mètres : soit au travers de l'importance des flux de gènes

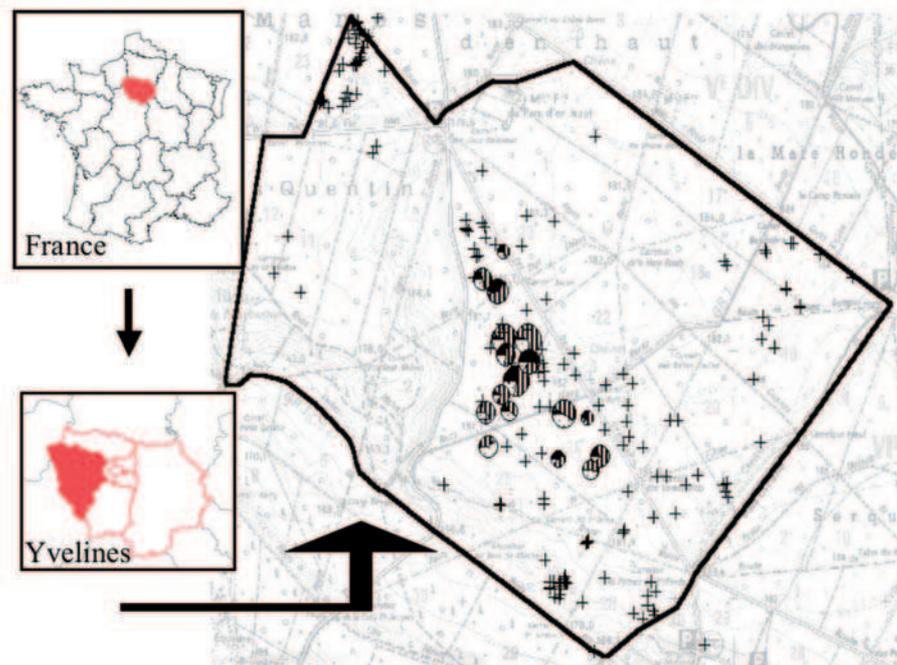


Fig. 4 : dispositif expérimental alisier torminal en FD de Rambouillet et résultat des recherches de parenté. Chaque croix représente un alisier adulte, et chaque cercle un groupe de juvéniles (tache de 50 m² environ, 24 juvéniles/tache). Pour chaque groupe, sont données les proportions de juvéniles ne trouvant aucun parent à l'intérieur du dispositif (■), trouvant un seul parent (|), et trouvant un couple de parent (·). (adapté de S. Oddou)

extérieurs à la zone d'étude, soit au travers de la détection d'événements particuliers de transport à grande distance.

Dans tous les cas cependant, la dispersion des gènes par pollen ou par graine à l'intérieur des dispositifs se fait préférentiellement à courte distance, par comparaison à un modèle de dispersion au hasard dans lequel chaque arbre reproducteur a par exemple une chance identique de polliniser n'importe quel autre arbre quel que soit son éloignement. Pour le chêne, qui dispose d'un système de marquage performant, c'est le recensement exhaustif des parents qui limite l'échelle d'étude et l'on reste alors avec un taux important de flux de gènes extérieurs, dont la distance exacte reste inconnue mais est d'au moins 250 m. En revanche, pour l'alisier, espèce disséminée avec également un système de marquage performant, la faible densité des

reproducteurs a permis d'étudier une large aire et donc de mesurer des flux de gènes éloignés de plus de 2000 m, tout en montrant que des distances encore supérieures jouaient un rôle significatif. Pour des espèces en phase de colonisation, la situation est intermédiaire : chez le frêne, 58 % de flux de gènes venaient encore de l'extérieur de la parcelle, bien que la zone d'étude s'étende sur près de 1000 m de longueur ; chez le cèdre nous avons pu détecter des dispersions efficaces à plus de 500 m, mais le système de marquage ne permettait pas d'en retrouver beaucoup.

Par ailleurs, la comparaison des distances de dispersion des graines met en évidence des différences importantes entre espèces. Les chênes montrent la distance moyenne de dispersion la plus faible (12,3 m), comme attendu avec des grosses

graines qui se dispersent essentiellement sous l'effet de leur poids. Des distances moyennes de dispersion de 144 m pour l'alisier et de 182 m pour le frêne ont été calculées : résultats cohérents avec la dissémination des fruits d'alisier par les oiseaux et par les petits mammifères ou par le vent et la gravité pour le frêne. Finalement, les distances moyennes mesurées chez le cèdre (194 m) montrent l'efficacité de la dispersion par le vent dans un milieu relativement ouvert au moment de la fondation du peuplement. Le gradient observé selon l'agent disperser (la gravité, puis les animaux, puis le vent) correspond bien à notre connaissance de l'écologie des espèces.

Les rapports observés entre les dispersions des graines et du pollen prennent aussi des valeurs contrastées selon les espèces. Le pollen migre à une distance 25 fois plus importante que les graines chez les chênes, 14 fois plus chez le frêne et 5 fois plus chez l'alisier.

Conclusion

Les différences de biologie et d'histoire des espèces d'arbres étudiées ici se traduisent, tout d'abord au niveau de la variabilité observée et ensuite au niveau des flux de gènes extérieurs, de la capacité à reconstituer des filiations et des contrastes entre dispersions mâles et femelles selon les espèces.

La meilleure connaissance du moteur d'évolution que constituent la dispersion du pollen et des graines, première étape pour l'étude des flux pour ces espèces, nous a permis de mettre en place des modèles démo-génétiques réalistes autour d'une plate-forme informatique (voir Dreyfus et Oddou page 97). Nous espérons ainsi être capables d'évaluer l'impact de la gestion sur les ressources génétiques et leur évolution et donc proposer aux forestiers des mesures concrètes pour améliorer cette gestion.

Remerciements

Nous remercions le bureau des ressources génétiques (BRG), le ministère de l'Agriculture et de la pêche (direction générale de la forêt et des affaires rurales), l'Union européenne (projets OAKFLOW, n°QLK5-CT-2000-00960, RAP, n°QLK5-2001-00631) ainsi que l'Office national des forêts (ONF) pour les soutiens financiers accordés à ces recherches. Nous remercions Laurent Lévêque, Thierry Lamant, Denis Vauthier et Bruno Jouaud pour leur aide.

Sophie GERBER

Inra, UMR Biodiversité gènes et écosystèmes
Pierroton
gerber@pierroton.inra.fr

Céline LATOUCHE- HALLÉ

Inra, UMR Biodiversité gènes et écosystèmes
Pierroton

Mathieu LOURMAS

Inra, unité de recherches forestières méditerranéennes
Avignon

Marie-Élise MORAND-PRIEUR

Université de Paris XI Orsay, UMR - CNRS 8079 Laboratoire ESE

Sylvie ODDOU-MURATORIO

Inra, unité de recherches forestières méditerranéennes
Avignon
oddou@avignon.inra.fr

Lorène SCHIBLER

Inra, UMR Biodiversité gènes et écosystèmes
Pierroton

Éric Bandou

Inra, station de recherches forestières
Kourou
bandou_e@kourou.cirad.fr

Henri CARON

Inra, UMR Biodiversité gènes et écosystèmes
Pierroton
caron@pierroton.inra.fr

Bernd DEGEN

Institute for forest genetics and forest tree breeding
Grosshansdorf
Germany
degen@holz.univ-hamburg.de

Nathalie FRASCARIA-LACOSTE

Université de Paris XI Orsay, UMR - CNRS 8079 Laboratoire ESE
nathalie.frascaria@ese.u-psud.fr

Antoine KREMER

Inra, UMR Biodiversité gènes et écosystèmes
Pierroton
antoine.kremer@pierroton.inra.fr

François LEFÈVRE

Inra, unité de recherches forestières méditerranéennes
Avignon
lefevre@avignon.inra.fr

Brigitte MUSCH

ONF, conservatoire génétique des arbres forestiers
Orléans
brigitte.musch@onf.fr

Bibliographie

- GERBER S., LATOUCHE-HALLÉ C., LOURMAS M., MORAND-PRIEUR M.E., ODDOU-MURATORIO S., SCHIBLER L., BANDOUE E., CARON H., DEGEN B., FRASCARIA-LACOSTE N., KREMER A., LEFÈVRE F., MUSCH B. 2004. Mesure directe des flux de gènes en forêt. Actes du 4^{ème} Colloque National « Le patrimoine génétique : la diversité et la ressource », La Châtre, 14-16 octobre 2002, pp. 349-368
- STREIFF R., DUCOUSSO A., LEXER C., STEINKELLNER H., GLOESSL J., KREMER A. 1999. Pollen dispersal inferred from paternity analysis in a mixed stand of *Quercus robur* L. and *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. *Molecular Ecology*, vol. 8, n° 5, pp.831-841