

Flux de gènes dans un verger à graines d'hévéas sauvages (*Hevea brasiliensis* Müll. Arg.)

Justin Lidah Yehili¹
Simon-Pierre N'Guetta Assanvo¹
Michel Gnagne²
Géraldine Blanc³
Maguy Rodier-Goud³
André Clément-Demange³
Marc Seguin³
Mondeil Fanjavola¹

¹ Laboratoire de génétique,
Unité de formation et de recherche (UFR)
Biosciences,
22 BP 582,
Abidjan 22,
Université de Cocody,
Abidjan,
Côte d'Ivoire
<justinlidah@yahoo.fr>
<nguettaewatty@yahoo.fr>
<mmondeil@yahoo.fr>

² Centre national de recherche agronomique
(CNRA),
Programme Hévéa,
01 BP 1536,
Abidjan 01,
Côte d'Ivoire
<mygnagne@yahoo.fr>

³ Centre de coopération internationale
en recherche agronomique
pour le développement (Cirad),
Département Bios,
Unité mixte de recherche (UMR)
« Développement et amélioration
des plantes » (DAP),
Avenue Agropolis,
34398 Montpellier cedex 5
France
<geraldine.blanc@cirad.fr>
<marguerite.rodier-goud@cirad.fr>
<andre.clement-demange@cirad.fr>
<marc.seguin@yahoo.fr>

Résumé

Un verger à graines d'hévéas a été mis en place en Côte d'Ivoire afin d'utiliser la pollinisation naturelle pour la recombinaison de deux groupes de ressources génétiques sauvages dans une perspective de sélection récurrente et d'amélioration de populations. L'étude des flux de gènes associés aux mouvements du pollen a été basée sur une analyse de paternité grâce à l'emploi de huit marqueurs microsatellites. Elle a montré que l'allogaméiose est très importante et stable quelle que soit l'année. Les distances séparant les arbres ne semblent pas constituer un facteur limitant de la recombinaison. La pollinisation à partir des arbres pollinisateurs s'est faite dans toutes les directions sans privilégier le sens des vents dominants. Ces observations confirment le caractère entomophile de la pollinisation chez l'hévéa. L'un des deux groupes génétiques a prédominé dans la pollinisation du verger. Ce résultat est apparu comme le facteur essentiel à prendre en compte pour l'organisation de la recombinaison et l'évaluation des descendance.

Mots clés : Côte d'Ivoire ; flux de gènes ; *Hevea brasiliensis* ; pollinisation libre ; verger à semences.

Thèmes : productions végétales; ressources naturelles et environnement.

Abstract

Gene flow in a wild rubber tree (*Hevea brasiliensis* Müll. Arg.) seed orchard

A rubber tree seed orchard was planted at the Divo agronomic research station in Côte d'Ivoire with a view to use open pollination for recombining two groups of wild genetic resources, in order to implement a recurrent selection and population breeding strategy. The study of the gene flows carried out based on a paternity analysis using 8 microsatellite markers showed that the outcrossing rate was important and steady throughout the study period. The distance between the trees did not seem to be a limiting factor for recombination among the trees. Pollen was disseminated from the pollinating trees in all directions, without any relation with dominant winds. These results confirm the entomophilous character of pollination in the rubber tree. One of the two genetic groups was predominant in its contribution to the pollination in the seed orchard. This result seemed to be the major factor to be taken into account for managing the recombination among the rubber tree genetic resources and for evaluating the progenies.

Key words: Côte d'Ivoire; gene flow; *Hevea brasiliensis*; open pollination; seed orchards.

Subjects: vegetal productions; natural resources and environment.

L'hévéa est une essence arborée tropicale, originaire de la forêt amazonienne. Ce genre résulterait d'une allotétraploïdie ancienne et comporte $2n = 4x = 36$ chromosomes (Ong, 1975). Il est monoïque et allogame

(Compagnon, 1986) et la pollinisation serait entomophile et anémophile (Ferrand, 1944 ; Warmke, 1952). Le fruit de l'hévéa contient généralement trois graines issues de la fécondation d'un ovaire à trois ovules. L'espèce *Hevea*

brasiliensis Müll. Arg. est principalement cultivée en Asie et en Afrique, sous forme de clones de greffe, pour la production du caoutchouc naturel qui est utilisé à 70 % pour la fabrication de pneumatiques.

Depuis 1981, le germoplasme de l'hévéa disponible en Côte d'Ivoire s'est enrichi d'environ 3 000 accessions issues principalement de la prospection internationale organisée par l'*International Rubber Research and Development Board* (IRRDB) et réalisée en 1981 au Brésil, dans le centre de diversité de cette plante. Ces nouvelles ressources sauvages n'ont pas pu être directement utilisées dans le programme d'amélioration variétale de Côte d'Ivoire, du fait de leur faible production qui se situe en moyenne à 13 % de celle des génotypes cultivés (Clément-Demange, 1995). Une analyse de la diversité de ces ressources a montré l'existence de quatre groupes génétiques amazoniens (Seguin *et al.*, 1999) ou plus simplement de deux groupes principaux. L'utilisation de ces nouvelles ressources est justifiée par la nécessité d'élargir la variabilité de la population actuelle d'amélioration dite « Wickham ». Un effet de vigueur hybride a été observé dans les croisements entre ces origines sauvages amazoniennes et la population Wickham (Legnaté et Clément-Demange, 1991a ; Legnaté et Clément-Demange, 1991b). Une phase préalable d'amélioration des populations sauvages a donc été envisagée, avec une méthode simplifiée de recombinaison en verger à graines, pour la mise en œuvre de schémas de sélection récurrente intragroupe ou de sélection récurrente réciproque entre groupes, dans une perspective finale de croisement des meilleurs géniteurs sur ceux de la population Wickham (Baudoin *et al.*, 1997).

Dans cette optique, un verger à graines rassemblant des génotypes des deux groupes amazoniens principaux a été planté en Côte d'Ivoire et une analyse méthodologique de la qualité de la recombinaison en pollinisation libre a été réalisée.

La présente étude s'attache essentiellement à examiner le mouvement du pollen entre les différentes origines possibles et sa répartition topographique sur la surface du verger avec un point particulier concernant le nombre de génotypes paternels intervenant dans la fécondation des graines d'un même fruit.

Matériel et méthode

Matériel végétal

Le verger à graines a été planté en mai 1992 sur la station expérimentale du Centre national de recherche agronomique (CNRA) à Divo, en Côte d'Ivoire. Le choix de ce site, au sein de cultures de café et de cacao, visait à protéger le verger de toute pollinisation externe par des hévéas de génotypes inconnus. La population parentale comprenait 25 génotypes sauvages du groupe AM1, 25 génotypes sauvages du groupe AM2, et le génotype cultivé mâle stérile GT1 (Leconte, 1985) de la population Wickham. Cette composition du verger permettait ainsi d'obtenir des descendances intra-AM1, intra-AM2, entre AM1 et AM2 (croisements Amazonien x Amazonien), GT1 x AM1 et GT1 x AM2 (Wickham x Amazonien). Le *tableau 1* précise les noms des 50 génotypes sauvages, ainsi que leur appartenance à chacun des deux groupes tels qu'ils étaient définis avant la mise en place du verger par une analyse de diversité génétique réalisée à l'aide d'isozymes (Chevallier, 1988). Le dispositif du verger a été conçu sur la base des connaissances disponibles, avec l'objectif de maximiser la recombinaison entre les génotypes présents. Il a été planté en quinconce « nid-d'abeilles », avec une distance constante de 6 mètres entre deux arbres voisins, sur une parcelle rectangulaire de 8 892 m² (114 m de longueur et 78 m de largeur). La plus grande distance observable de la pollinisation, selon la diagonale du verger, est donc de 138 mètres. Les génotypes parentaux ont été multipliés par greffage de façon à disposer de plusieurs arbres par génotype. Une randomisation des arbres individuels a été réalisée dans 6 blocs disposés en damier, avec une répartition des arbres greffés de chaque génotype dans les 6 blocs, en veillant à ce que deux copies d'un même génotype ne soient jamais voisines dans l'ensemble du verger. En 1998, au début de l'étude, on pouvait compter 287 arbres vivants et matures, donc potentiellement aptes à la reproduction. À l'issue des remplacements d'arbres manquants après le plantage, le nombre effectif d'arbres greffés par génotype variait entre 2 et 8 pour les génotypes sauvages, et était de 11 pour le génotype cultivé GT1. Chaque arbre était repéré par ses numéros de ligne et de rang indiquant sa position dans le verger.

La récolte des descendances a été réalisée pendant deux années consécutives, en 1998 et en 1999. Les graines ont été récoltées directement sur les arbres pour garantir leur origine maternelle. Elles ont été mises à germer et plantées sur la station CNRA de Bimbresso mieux adaptée à la culture de l'hévéa. Les descendances obtenues après germination compaient 467 et 404 plantules respectivement en 1998 et en 1999. Le *tableau 2* indique le nombre d'arbres sur lesquels des graines ont été récoltées et le nombre de descendants analysés.

Technique de marquage génétique

Tous les descendants échantillonnés, ainsi qu'un arbre par génotype parental, ont été génotypés au Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement (Cirad) à Montpellier (France) à l'aide de 8 marqueurs microsatellites nommés mHbCIRT65, gHbCIR124, mHbCIRA31, MnSod, mHbCIRA66, gHbCIR425, gHbCIR574 et mHbCIRT67. Les caractéristiques de ces marqueurs sont présentées au *tableau 3*. L'extraction de l'ADN des feuilles a été faite à partir de folioles matures selon un protocole Cirad (Risturrucci *et al.*, 2000). La technique de la PCR (*polymerase chain reaction*) a permis d'amplifier les *loci* microsatellites à l'aide d'amorces préalablement marquées au phosphore radioactif (γ -P³²). La séparation des fragments d'ADN amplifiés a été réalisée par électrophorèse sur gel polyacrylamide concentré à 5 %, à une tension constante de 60 volts. Après migration, la révélation des bandes a été réalisée par autoradiographie : exposition de films aux gels radioactifs pendant 3 jours en l'absence de lumière, puis développement des films.

Identification de paternité

L'analyse de paternité selon les principes de Marshall *et al.* (1998) a permis l'exploitation statistique des données microsatellites obtenues, grâce au logiciel Cervus (Marshall *et al.*, 1998) ancêtre de l'actuel logiciel FaMoz (Gerber *et al.*, 2003). Pour un descendant donné, la méthode utilisée a permis d'identifier le parent mâle le plus probable avec la valeur de LOD-score (*logarithm of odds*,

Tableau 1. Identification des géotypes parentaux plantés dans le verger à graines, et nombre d'arbres greffés par géotype.

Table 1. Identification of the parental genotypes planted in the seed orchard, and number of budded trees per genotype.

Groupe génétique AM1			Groupe génétique AM2		
Codes	Géotypes	Nombre d'arbres	Codes	Géotypes	Nombre d'arbres
101	AC/S/11/54	4	201	MT/C/4/18	3
103	AC/S/8/118	6	203	MT/IT/13/22	4
106	AC/B/19/97	6	204	MT/IT/16/55	6
107	RO/OP/4/19	6	205	MT/IT/18/4	6
108	AC/S/8/33	5	206	MT/C/2/25	6
110	AC/S/8/59	6	207	MT/C/4/37	6
111	AC/B/19/72	6	208	MT/IT/16/58	6
112	RO/CM/10/130	4	209	RO/PB/2/74	5
114	RO/CM/11/41	2	210	MT/C/1/13	6
115	RO/CM/11/91	8	211	MT/C/2/39	5
117	AC/S/12/57	5	212	MT/C/2/50	5
118	AC/X/20/35	6	213	MT/IT/17/26	5
119	AC/S/10/50	5	214	MT/C/4/5	6
120	AC/S/10/53	5	215	MT/C/5/11	6
122	RO/CM/11/29	5	216	MT/IT/14/32	6
123	RO/CM/11/54	4	217	RO/PB/2/29	5
126	AC/B/18/1	3	218	MT/C/1/1	6
130	AC/S/9/16	6	219	MT/C/4/22	6
132	RO/CM/10/109	4	220	MT/C/5/26	6
133	RO/CM/12/10	5	221	MT/C/6/15	5
135	RO/CM/12/21	4	222	MT/C/9/2	5
137	AC/B/16/3	5	224	MT/IT/17/10	4
139	AC/S/9/12	6	225	MT/IT/17/15	6
140	AC/FA/6/29	6	226	RO/PB/2/38	6
142	RO/CM/11/72	5	228	MT/C/2/28	6

Le géotype cultivé GT1 porte le code « 300 ». Il est représenté dans le verger par 11 arbres greffés.

logarithme des probabilités¹) la plus élevée. Cette méthode est basée sur l'approche du maximum de vraisemblance élaborée par Thompson (1976) et Meagher (1986). Selon le polymorphisme existant dans la population étudiée, le pouvoir résolutif de chaque marqueur, ou de la combinaison des 8 marqueurs, est indiqué par une probabilité d'exclusion des géniteurs mâles autres que les pères véritables des descendants étudiés. L'analyse de la paternité a permis de déterminer le taux d'allofécondation (\hat{t}) en réalisant pour chaque géotype, le rapport du nombre de descendants maternels formés par l'allopollen sur le nombre total de ses descendants maternels. Le taux d'autofé-

condation ($1-\hat{t}$) se déduit de l'estimation du taux d'allofécondation et *vice versa*. La contribution d'un géniteur mâle ou d'un groupe de géniteurs mâles à la pollinisation d'un arbre ou d'un groupe d'arbres du verger est exprimée en pourcentage du nombre de descendants paternels observés pour l'arbre ou le groupe d'arbres étudiés.

Directions et distances de pollinisation

La connaissance des paternités a permis l'étude du déplacement du pollen ou flux de gènes entre les arbres du verger. Chaque géotype parental étant représenté par plus d'un arbre dans le verger, les pollinisateurs présumés d'un arbre donné sont identifiés sur la base de la concordance de floraison avec cet arbre. Les distances entre les arbres pollinisés et les

arbres pollinisateurs sont calculées par le théorème de Pythagore. Lorsque deux arbres ou plus d'un même géotype paternel fleurissent au même moment que l'arbre maternel considéré, une distance moyenne d'éloignement du pollinisateur est calculée. La relation entre la distance de pollinisation et l'importance de la contribution à la pollinisation est estimée par régression linéaire.

Résultats

Efficacité de l'analyse

La probabilité d'exclusion associée à la combinaison des 8 marqueurs (tableau 4) est très peu inférieure à 1, ce qui indique une capacité de cette combinaison à identifier les géotypes paternels de tous les descendants avec une probabilité élevée. Les probabilités d'exclusion des différents marqueurs sont voisines et assez stables d'une année sur l'autre ; elles varient entre 0,61 et 0,77 en 1998, et entre 0,53 et 0,78 en 1999.

Taux d'allofécondation et d'autofécondation

Le taux d'allofécondation est très important dans le verger, ce qui montre que les flux de pollen se font majoritairement entre arbres de géotypes différents. Sur l'ensemble des échantillons de plantules analysées, le taux d'allofécondation a été estimé à 96,57 % en 1998 et à 95,79 % en 1999 (tableau 5). Ces résultats montrent que l'allofécondation est très stable dans le verger à graines, quelle que soit l'année. L'autofécondation estimée à 3,43 % et à 4,21 % respectivement en 1998 et en 1999 provient essentiellement des géotypes du groupe AM2. Quant aux géotypes du groupe AM1 analysés, ils se caractérisent par une allogamie stricte. Dans le groupe AM2, le taux d'autofécondation atteint 12,5 % sur le géotype 206 en 1998 et 15,9 % sur le géotype 221 en 1999.

Échanges de pollen entre groupes génétiques

Dans aucun cas le géotype cultivé GT1 n'a été détecté comme parent paternel possible (tableau 6), ce qui semble confirmer sa mâle-stérilité. Plus de 90 % des descendants maternels du groupe

¹ Le LOD-score représente le logarithme du rapport de vraisemblance de paternité d'un parent i et de celle d'un individu j pris au hasard dans la population de géniteurs potentiels.

Tableau 2. Origine maternelle et nombre de descendants analysés sur les deux années d'étude.

Table 2. Maternal origin and number of progenies analyzed over the two years of the study.

Descendants analysés en 1998				Descendants analysés en 1999						
Génotypes maternels	Groupe	Nombre d'arbres mères	Nombre de descendants	Génotypes	Groupe	Nombre d'arbres mères	Nombre de descendants			
101	AM1	1	12	140	AM1	2	60			
115		3	38							
118		2	37							
130		1	20							
140		5	58							
Total AM1		12	165	Total AM1		2	60			
204	AM2	1	12	204	AM2	0	0			
206		1	16	206		5	157			
210		1	11	209		0	0			
				210		1	66			
				215		0	0			
216		0	0	216		0	0			
218		4	60	218		0	0			
219		2	21	220		0	0			
221		2	58					221	1	63
222		1	28							
224		1	17	225		0	0			
Total AM2		13	223		Total AM2				7	286
300 (GT1)		3	79	300 (GT1)		2	58			
Total 1998		28	467	Total 1999		11	404			

génétique AM1 ont pour géniteur paternel un génotype du groupe AM2. Réciproquement, seulement 18 % des descendants maternels du groupe AM2 ont pour origine paternelle un génotype du groupe AM1. De plus, 97 % des descendants maternels du génotype cultivé GT1

ont pour origine paternelle un génotype du groupe AM2. Chacun des groupes génétiques AM1 et AM2 comporte, sur les 8 marqueurs, des allèles spécifiques à ce groupe. On trouve, pour l'ensemble des 35 allèles spécifiques au groupe AM1, une fré-

quence cumulée de 0,05 dans l'ensemble de la descendance des parents femelles AM2. Réciproquement, on trouve pour l'ensemble des 21 allèles spécifiques au groupe AM2, une fréquence cumulée de 0,16 dans l'ensemble de la descendance des parents femelles AM1, et cela bien

Tableau 3. Caractéristiques des marqueurs microsatellites étudiés.

Table 3. Characteristics of the microsatellite markers studied.

Locis microsatellites	Numéros d'accès EMBL/Genbank	Séquences nucléotidiques	Amorces	Taille (paire de bases)	Température d'hybridation (min/max)
mHbCIRT65	AF383942	(GT) ₁₈	175 176	196	50/70
gHbCIR124	AF221696	(GA) ₈ AA(GA) ₆	25-2 26-2	166	50/70
mHbCIRA31	AF383940	(GA) ₂₂	193 194	154	50/70
MnSOD	G73377	(GA) ₁₆	5 6	200	55/72
mHbCIRA66	AF383941	(GA) ₁₈	195 196	275	55/72
gHbCIR425	AF383936	(CA) ₆	55 56	187	50/70
gHbCIR574	AF221706	(TA) ₁₀ (GA) ₂₄	69-2 70-2	238	50/70
mHbCIRT67	AF383943	(GT) ₂₁	185 186	120	50/70

Tableau 4. Probabilités d'exclusion des géniteurs ne pouvant être les pères des plantules analysées, par marqueur individuel et pour la combinaison des 8 marqueurs.

Table 4. Exclusion probabilities of the genitors that could not be the male parents of the progenies analyzed, for each individual marker and for the 8-marker combination.

Locus	Probabilités d'exclusion	
	1998	1999
mHbCIRA31	0,750	0,53
mHbCIRA66	0,773	0,593
MnSOD	0,690	0,702
mHbCIRT67	0,612	0,612
gHbCIR425	0,664	0,774
mHbCIRT65	0,634	0,649
gHbCIR124	0,634	0,648
gHbCIR574	0,77	0,781
Combinaison des 8 marqueurs	0,9999	0,9998

que les allèles spécifiques à AM2 soient moins nombreux que les allèles spécifiques à AM1.

Les descendants d'origine maternelle AM1 sont issus de 18 génotypes paternels AM2 et de seulement 6 génotypes paternels AM1 (tableau 7). Les descendants d'origine maternelle AM2 sont issus de 19 génotypes paternels AM2 et de seule-

ment 11 géniteurs paternels AM1. Les descendants de GT1 sont issus de 16 génotypes paternels AM2 et de seulement 2 génotypes paternels AM1.

Ces résultats montrent la prépondérance de la contribution des génotypes du groupe AM2 dans la pollinisation du verger.

Propagation du pollen dans le verger à graines

L'examen graphique des relations entre les arbres pollinisateurs probables et les arbres pollinisés indique que la dispersion du pollen se fait dans toutes les directions (figure 1). Aucune direction, notamment la direction est-ouest des vents dominants, ne semble privilégiée pour la pollinisation.

Les résultats de la propagation du pollen indiquent que les géniteurs mâles pollinisent des arbres situés à une distance comprise entre 6 m, soit la distance entre deux arbres voisins, et 130 m (tableau 8), distance très proche de la dimension maximale du verger sur sa diagonale (138 m). Si l'on ajoute le fait que les arbres greffés de chaque génotype sont répartis dans les 6 blocs du verger, les dimensions du verger ne constituent pas un facteur limitant aux échanges de gènes entre les arbres. Cet élément est conforté par l'absence de corrélation négative significative entre la distance de pollinisation et le pourcentage de contribution d'un génotype paternel à la descendance totale d'un arbre maternel donné (figure 2).

Tableau 5. Taux d'allofécondation et d'autofécondation dans les descendance.

Table 5. Outcrossing rate and self-crossing rate estimated in the progenies.

Années	Clones	Groupes génétiques	Plantules analysées	Plantules issues d'autofécondation	Taux d'autofécondation (%)	Taux d'allofécondation (%)
1998	101	AM1	12	0	0	100
	115	AM1	38	0	0	100
	130	AM1	20	0	0	100
	140	AM1	58	0	0	100
	118	AM1	37	0	0	100
	204	AM2	12	0	0	100
	206	AM2	16	2	12,5	87,5
	210	AM2	11	0	0	100
	218	AM2	60	6	10	90
	219	AM2	21	0	0	100
	221	AM2	58	6	10,34	89,66
	224	AM2	17	2	11,76	88,24
	300	Cultivé	79	0	0	0
	Total		467	16	3,43	96,57
1999	140	AM1	60	0	0	100
	206	AM2	157	7	4,46	95,54
	210	AM2	66	0	0	100
	221	AM2	63	10	15,87	84,13
	300	Cultivé	58	0	0	100
		Total		404	17	4,21

Tableau 6. Pourcentages des contributions paternelles à la formation des descendance obtenues en 1999, selon l'origine maternelle des descendance.

Table 6. Percentage of male contributions to the production of the progenies collected in 1999, depending on the maternal origin of the progenies.

Pollinisateurs	Origines maternelles des descendance		
	AM1	AM2	GT1
AM1	9,64 %	18,39 %	2,53 %
AM2	90,36 %	81,61 %	97,47 %
GT1 (mâle-stérile)	0 %	0 %	0 %
Total	100 %	100 %	100 %

Tableau 7. Nombre et pourcentage de génotypes mâles différents impliqués dans la formation des descendance obtenues en 1999, selon l'origine maternelle des descendance.

Table 7. Number of different male genotypes involved in the production of the progenies collected in 1999, depending on the maternal origin of the progenies.

Géniteurs mâles	Origines maternelles des descendance		
	AM1	AM2	GT1
AM1	6 (25 %)	11 (37 %)	2 (11 %)
AM2	18 (75 %)	19 (63 %)	16 (89 %)
Total	24 (100 %)	30 (100 %)	18 (100 %)

Tableau 8. Distances minimales et maximales de dispersion des allopollens, d'après l'analyse de paternité des descendance de 7 arbres mères.

Table 8. Minimal and maximal distances of allo-pollen dispersion estimated from the paternity analysis of the progenies from 7 mother trees.

Années	Descendance	Distance minimale de dispersion du pollen (m)	Distance maximale de dispersion du pollen (m)
1998	3-4-6	6	93,55
	3-11-14	6	79,40
	3-11-12	6	70,76
1999	3-15-1	8	130
	3-5-4	12	78
	3-8-19	6	99,87
	3-4-6	10,39	93,55

Tableau 9. Nombre et pourcentage d'ovules fécondés par un seul génotype paternel.

Table 9. Number and percentage of fruits fertilized by only one male genotype.

Nombre de plantules viables analysées par fruit	Nombre de fruits analysés	Nombre et pourcentage d'ovules fécondés par un seul génotype paternel	Identité des géniteurs paternels identifiés
3	14	8 (57 %)	204, 211, 208, 218
2	12	10 (83 %)	204, 211, 208, 140, 205, 213

Pollinisation des ovules d'un même ovaire

Sur 14 fruits étudiés ayant donné chacun 3 plantules, on trouve 8 fruits pour lesquels les 3 plantules ont le même génotype paternel (tableau 9). Concernant les 6 fruits restants, 2 et 3 génotypes paternels différents ont été identifiés pour 4 et 2 fruits, respectivement. Sur 12 fruits étudiés ayant donné chacun 2 plantules, on trouve 10 fruits pour lesquels les 2 plantules ont le même génotype paternel. Ces résultats indiquent que, dans la plupart des cas, un ovaire est pollinisé par le même géniteur mais que les graines d'un même fruit peuvent être issues de génotypes paternels différents.

Discussion

L'étude de la propagation du pollen dans le verger a montré qu'un arbre pouvait être à peu près aussi bien pollinisé par ses 6 voisins immédiats que par les individus les plus éloignés, dans la limite de la taille du verger. Dans ce contexte, la distance ne constitue donc pas un facteur limitant de la pollinisation. De plus, la répartition dans le verger de plusieurs arbres par génotype favorise la diversité des recombinaisons et donc le brassage des gènes. Ce dispositif est donc probablement susceptible de compenser partiellement les décalages de floraison, du fait de la variabilité de la précocité de floraison entre les arbres d'un même génotype (Lidah, 2005).

Le verger à graines avait été conçu pour maximiser la recombinaison, sans cependant prendre en compte cet objectif dans le choix des génotypes parentaux ; ceux-ci étaient en effet sélectionnés pour leur bon niveau de production. Cette étude montre que la grande variabilité observée des contributions des différents génotypes paternels à la pollinisation et la meilleure contribution moyenne des génotypes AM2 constituent le principal facteur limitant de la diversité de la recombinaison. Prenant en compte ce résultat, on peut choisir, pour diversifier la constitution de la descendance, de ne pas récolter de fruits sur les génotypes qui contribuent fortement à la pollinisation, et de privilégier au contraire comme génotypes maternels les génotypes à faible contribution pollinique. Il est cependant à craindre que ces génotypes aient également une faible fertilité femelle à l'instar des génotypes « Wickham » (Legnaté et Clément-Demange, 1991a).

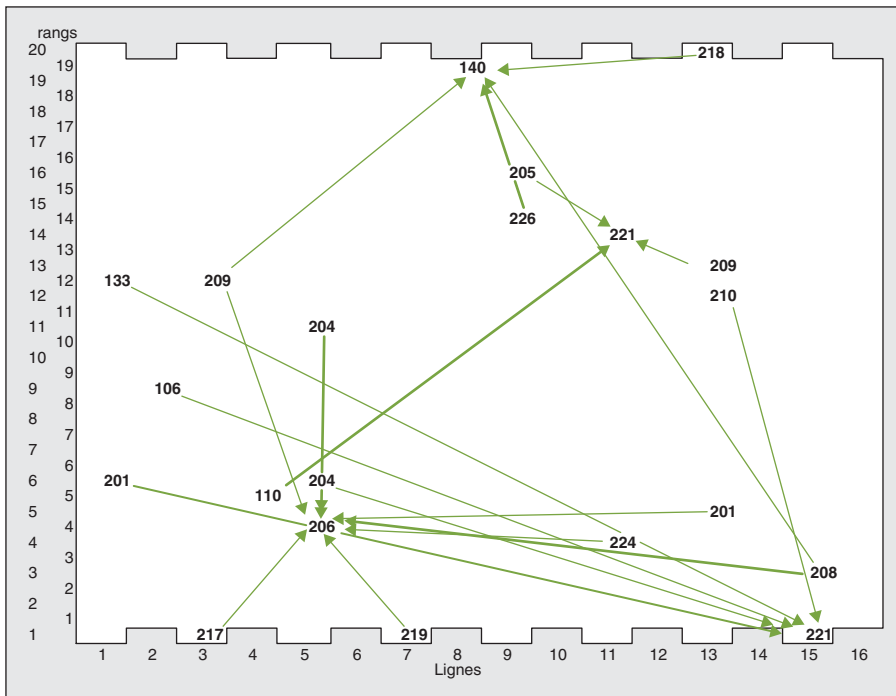


Figure 1. Différents sens de pollinisation des hêvéas du verger à graines.

Figure 1. Different pollen flow directions in the seed orchard. Les traits en gras représentent des pollinisations prépondérantes.

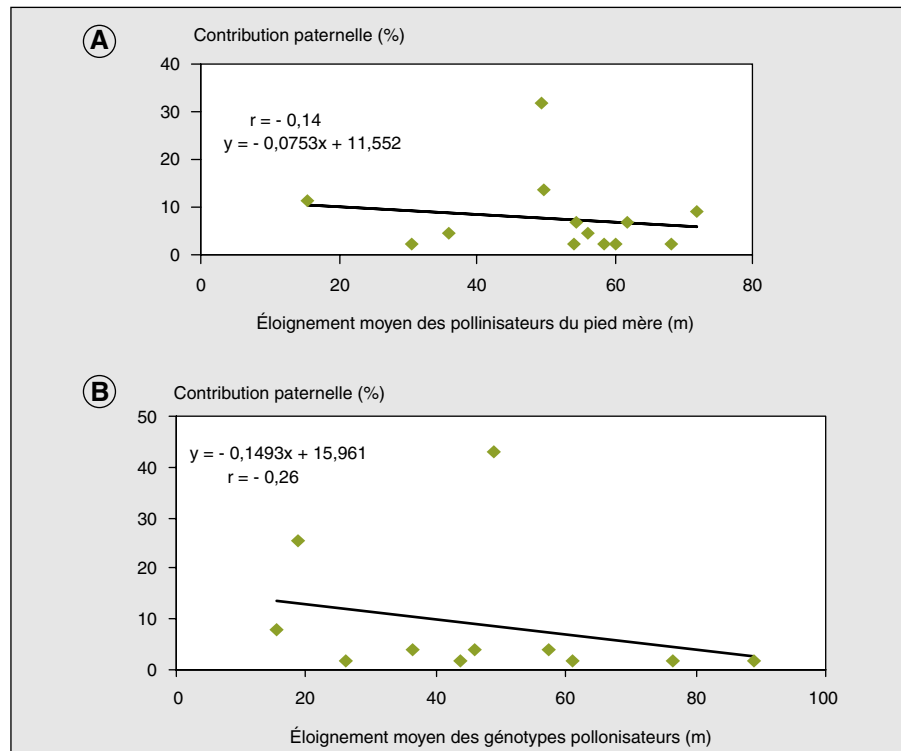


Figure 2. Relation entre l'importance des pollinisations et la distance séparant les arbres pollinisateurs d'un arbre pollinisé.

Figure 2. Relation between pollen flow and the distance separating the pollinators from a given tree (case of a GT1 tree in 1998 (A) and in 1999 (B))
A) cas d'un arbre GT1 en 1998 ; B) cas d'un arbre GT1 en 1999.

Compte tenu de l'inégalité des contributions polliniques des différents génotypes à la formation des descendance, l'évaluation directe de l'aptitude générale à la combinaison des génotypes d'après leur descendance maternelle ne semble pas possible. En revanche, l'efficacité de l'analyse de paternité rend possible la reconstitution *a posteriori* des origines parentales de chaque descendant et donc le classement des descendants par familles de pleins frères. Quoique la méthode présente une certaine lourdeur technique du fait du génotypage nécessaire de chaque géniteur et de chaque descendant, on peut ainsi envisager d'estimer les aptitudes à la combinaison des géniteurs du verger en évaluant les descendance dans un dispositif de type hiérarchique ou factoriel (Baradat, 1982). De façon plus sommaire, l'évaluation des descendance peut aussi être considérée comme une évaluation de l'aptitude à la combinaison des génotypes AM1 ou AM2 sur un ensemble de testeurs du groupe AM2. La sélection de descendance de ce verger pour la constitution d'un verger de second cycle conduirait à un renforcement rapide du fond génétique du groupe AM2 au détriment de celui du groupe AM1. La constitution de vergers distincts pour les groupes génétiques AM1 et AM2 ouvrirait la possibilité d'une amélioration séparée des deux populations et d'une sélection réciproque pour des sorties clonales de type AM2 x AM1, Wickham x AM1 ou Wickham x AM2.

Griffin (1980) et Adams (1992) ont indiqué que la direction du vent influence la distribution du pollen des plantes anémophiles. Chez les plantes à pollinisation anémophile, la plupart des fécondations se feraient entre arbres voisins car le mouvement et la densité de pollen diminuent rapidement par rapport à la source (Whitehead, 1983). Le pollen des plantes anémophiles est généralement sec, léger et d'une petite taille d'environ 20 à 30 μm de diamètre (Adib, 1991). Bien que de taille réduite, le pollen d'hévéa est lourd, collant et dense (Warmke, 1952) donc probablement mieux disséminé par une pollinisation entomophile. Dans ce verger, l'absence de direction dominante de la pollinisation et l'absence d'influence de la distance semblent confirmer le caractère entomophile prédominant de la pollinisation de l'hévéa.

Pour les différentes graines d'un même fruit, il a été possible d'observer des origines paternelles distinctes. La présence

d'un génotype paternel commun est cependant majoritaire. Afin de maximiser la diversité des origines paternelles dans les descendances récoltées, il serait souhaitable de ne conserver qu'une graine par fruit, sous réserve que la quantité de fruits disponibles ne soit pas limitante.

Conclusion

L'établissement d'un verger à graines d'hévéas sauvages vise un objectif d'amélioration de type récurrent des nouvelles ressources génétiques. Les groupes génétiques utilisés dans le même verger à graines doivent s'interpolliniser pour être évalués l'un par rapport à l'autre. Les principaux résultats de l'étude des flux de gènes indiquent une bonne dispersion du pollen dans le verger à graines, ce qui pourrait faciliter les croisements entre les arbres à floraison synchrone. La pollinisation observée conforte l'idée d'une pollinisation majoritairement de type entomophile chez l'hévéa. Cependant, il a été noté un grand déséquilibre dans la pollinisation des deux groupes d'hévéas sauvages utilisés dans le verger à graines, ce qui ne permet pas d'envisager une évaluation directe de l'aptitude générale à la combinaison (AGC) des parents femelles d'après les valeurs agronomiques moyennes de leurs descendances. L'évaluation de la pollinisation dans des vergers à graines constitués uniquement de génotypes de chacun des deux groupes ouvrirait la possibilité d'une amélioration séparée des deux populations et d'une sélection récurrente réciproque pour des sorties clonales de type AM2 x AM1, Wickham x AM1 ou Wickham x AM2. ■

Remerciements

Cette étude a été réalisée au CNRA (Côte d'Ivoire) et au Cirad (France) dans le cadre d'une thèse de doctorat de l'université de Cocody-Abidjan, et sur un financement apporté entre 1998 et 2000 par l'Action thématique programmée n° 98/20 « Utilisation de marqueurs génétiques pour l'étude de systèmes à pollinisation naturelle ou artificielle chez trois espèces tropicales pérennes (vergers à graines) ». La mise en place du dispositif expérimental en champ a été financée par le contrat STD2 n° TS2-A-161-M passé avec l'Union européenne (« Conservation, multiplication et caractérisation du germplasm amazonien de l'Hevea ») clôturé en 1992. Nous remercions ici le CNRA, le Cirad et l'Union européenne pour les soutiens apportés à cette recherche.

Références

- Adams WT. Gene dispersal within forest tree population. *New Forest* 1992 ; 6 : 217-40.
- Adib A. *Contribution à l'étude de la pollinisation de l'olivier (Olea europaea) et du clémentinier (Citrus reticulata blanco). Utilisation des données polliniques comme indice prévisionnel des récoltes à l'échelle locale et régionale.* Thèse de doctorat, université de Montpellier II, 1991.
- Baradat P. *Génétique quantitative. Modèles statistiques et génétiques de base.* Fascicule I. Bordeaux : Institut national de la recherche agronomique (Inra), 1982.
- Baudoin L, Baril C, Clément-Demange A, Leroy T, Paulin D. Recurrent selection of tropical tree crops. *Euphytica* 1997 ; 96 : 101-14.
- Chevallier MH. Genetic variability of *Hevea brasiliensis* germplasm using isozyme markers. *J Nat Rub Res* 1988 ; 3 : 42-53.
- Clément-Demange A, Nicolas D, Legnaté H, et al. Hévéa : stratégies de sélection. *Plantations Recherche Développement* 1995 ; 2 : 5-19.
- Compagnon P. *Le caoutchouc naturel. Biologie, Culture et Production.* Paris : Maisonneuve et Larose, 1986.
- Ferrand M. *Phytohénétique de l'hévéa.* Paris : Librairie agricole de la maison rustique, 1944.
- Gerber S, Chabrier P, Kremer A. FaMoz : a software for parentage analysis using dominant, codominant and uniparentally inherited markers. *Mol Eco Notes* 2003 ; 3 : 479-81.
- Griffin AR. Isolation of a radiata pine seed orchard from external pollen. *Aust Forest Res* 1980 ; 10 : 83-94.
- Leconte A. Stérilité mâle chez l'hévéa : cas du clone GT1. *Rev Gen Caout Plastiques* 1985 (649) : 127-9.
- Legnaté H, Clément-Demange A. Pollinisation artificielle et amélioration génétique de l'hévéa en Côte d'Ivoire. *Rev Gen Caout Plastiques* 1991a ; (704) : 99-103.
- Legnaté H, Clément-Demange A. Évaluation et choix des géniteurs de *Hevea brasiliensis* en Côte d'Ivoire. *Rev Gen Caout Plastiques* 1991b ; (704) : 114-8.
- Lidah YJ. *Étude de la fécondation libre d'une population sauvage d'hévéas en verger à graines.* Thèse de doctorat, université de Cocody Abidjan, UFR Biosciences, 2005.
- Marshall TC, Slate J, Kruuk LEB, Pemberton JM. Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. *Mol Ecol* 1998 ; 7 : 639-55.
- Meagher TR. Analysis of paternity within a natural population of *Chamaelirium luteum*. Identification of most-likely male parents. *Am Nat* 1986 ; 128 : 199-215.
- Ong SH. Chromosomes morphology of the pachytene stage in *Hevea brasiliensis*, a preliminary report. In : Rubber Research Institute of Malaysia (RRIM), ed. *Proceedings of the International Rubber Conference.* Kuala Lumpur (Malaysia) : RRIM, 1975.
- Risterucci AM, Grivet L, N'Goran JAK, Pieretti I, Flament MH, Lanaud C. A high-density linkage map of *Theobroma cacao* L. *Theor Appl Genet* 2000 ; 101 : 948-55.
- Seguin M, Flori A, Legnaté H, Clément-Demange A. L'hévéa. In : Hamon P, Seguin M, Perrier X, Glaszmann JC, eds. *Diversité génétique des plantes tropicales cultivées.* Collection Repères. Montpellier (France) : Cirad éditions ; Institut de recherche pour le développement (IRD), 1999.
- Thompson E. Inference of genealogical structure. *Soc Sci Inform* 1976 ; 15 : 477-526.
- Warmke HE. Studies on natural pollination of *Hevea brasiliensis* in Brasil. *Science* 1952 ; 116 : 474-5.
- Whitehead DR. Wind pollination : Some ecological and evolutionary perspectives. In : *Pollination biology.* New-York : Academic Press, 1983.