

Académie d'Agriculture de France

Mercredi 20 Septembre 2023

De la pollinisation à la formation des graines : le cas du châtaignier

Clément LARUE

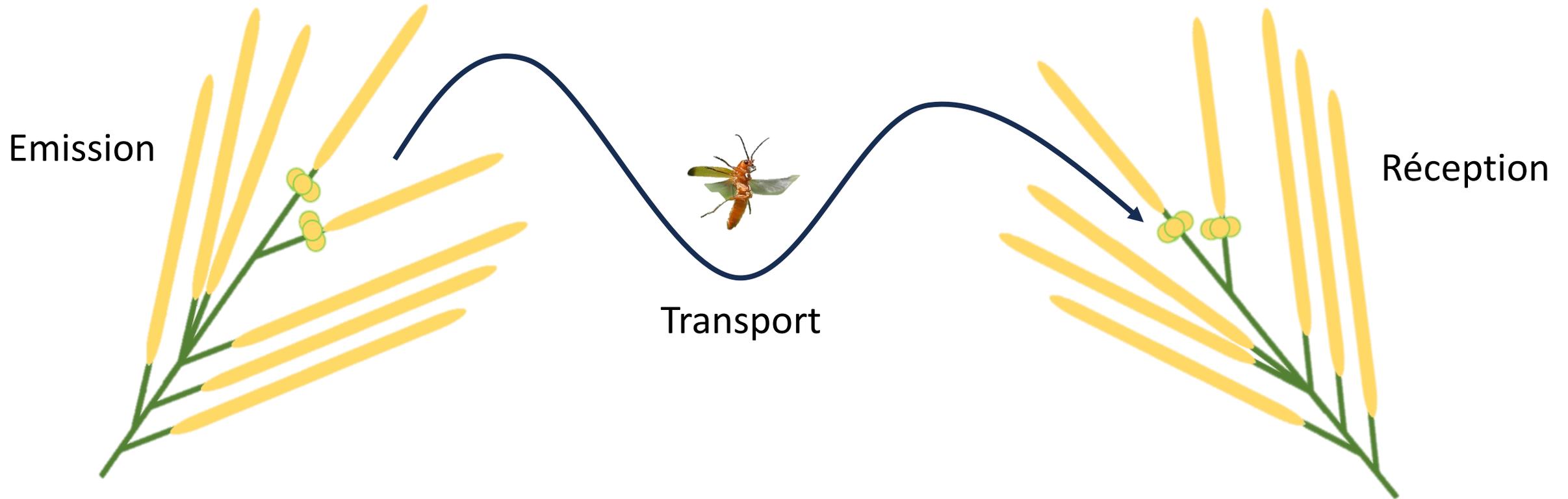
Soutenu le Mercredi 8 Décembre 2021

Directeur : Rémy PETIT

Référent : Sébastien CAVIGNAC



Introduction



La pollinisation correspond au transport du pollen des anthères jusqu'aux stigmates

La majorité des plantes à fleurs sont pollinisées par les animaux... Et les insectes sont les principaux pollinisateurs

Introduction

Déclin des pollinisateurs = impact **néгатif** sur les plantes entomophiles sauvages et cultivées



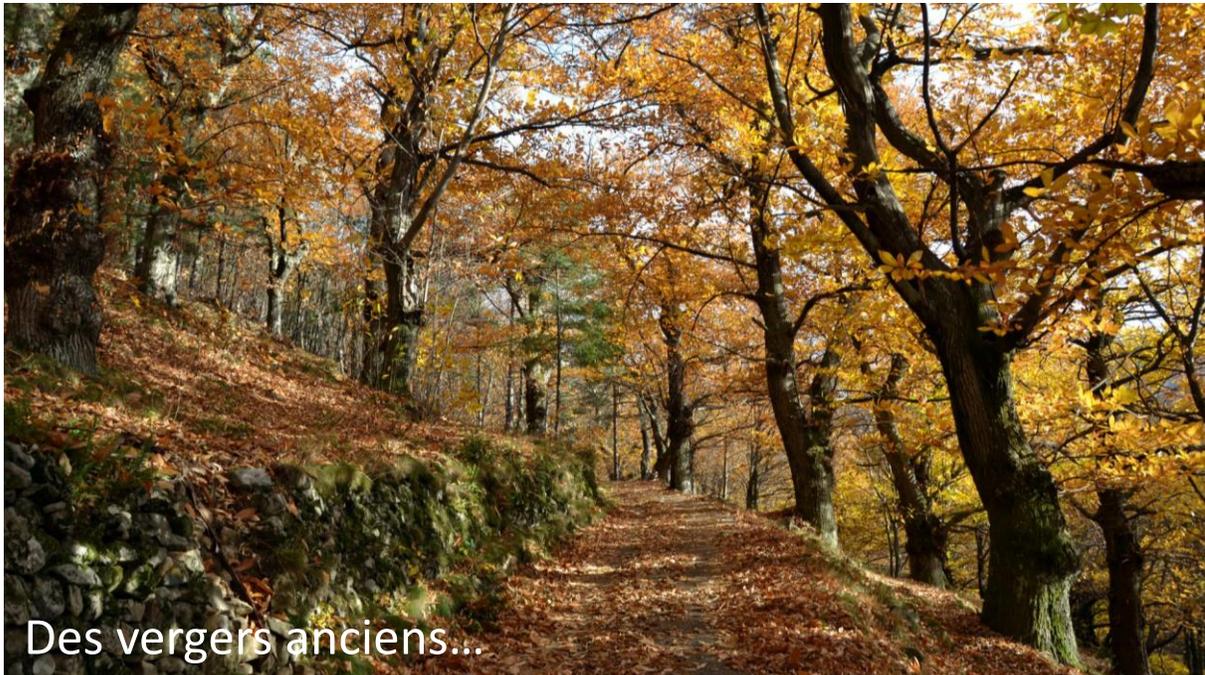
Pérennité du service de pollinisation ?



Des forêts...



Des gros arbres...



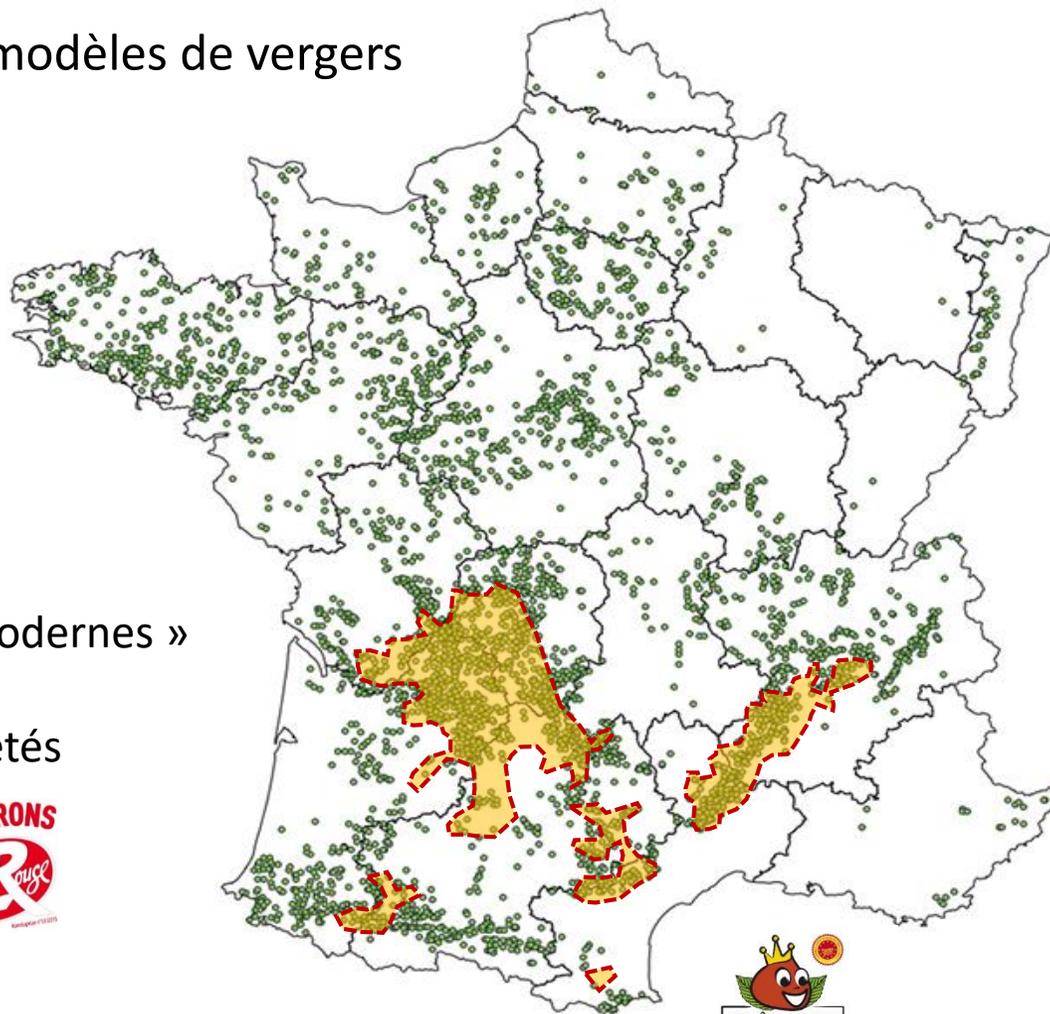
Des vergers anciens...



Des vergers récents...

Introduction

2 modèles de vergers



Sud-ouest :
Vergers « modernes »
Hybrides
Peu de variétés



Châtaignier dépérissant
(maladie de l'encre, chancre de l'écorce)

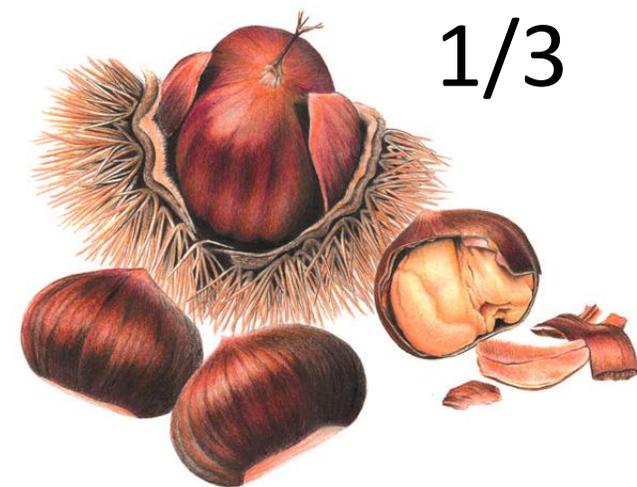
Abandon progressive des vergers...
Révolution = 1 000 000 ha, Aujourd'hui = 10 000ha

Vergers peu productifs. Pourquoi ?

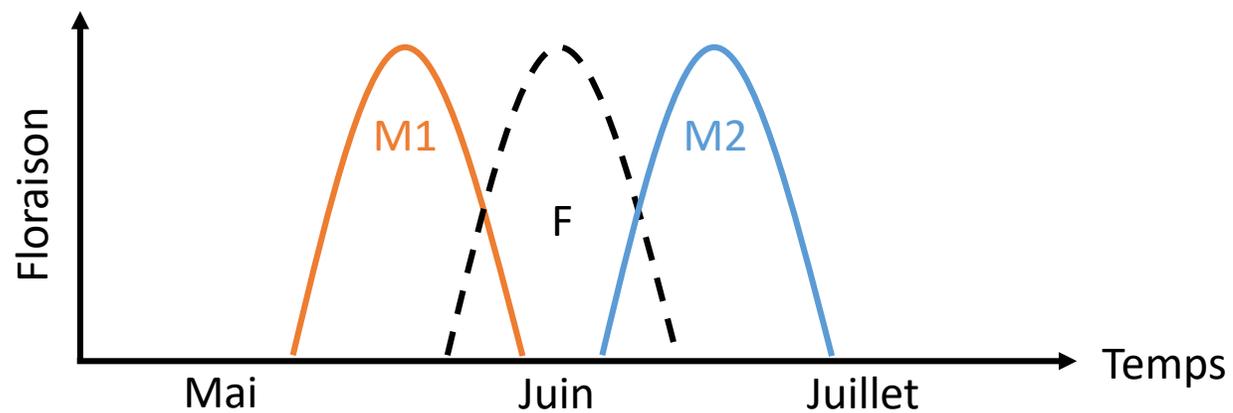
Sud-est, Corse :
Vergers « traditionnels »
Châtaignier européen
Nombreuses variétés



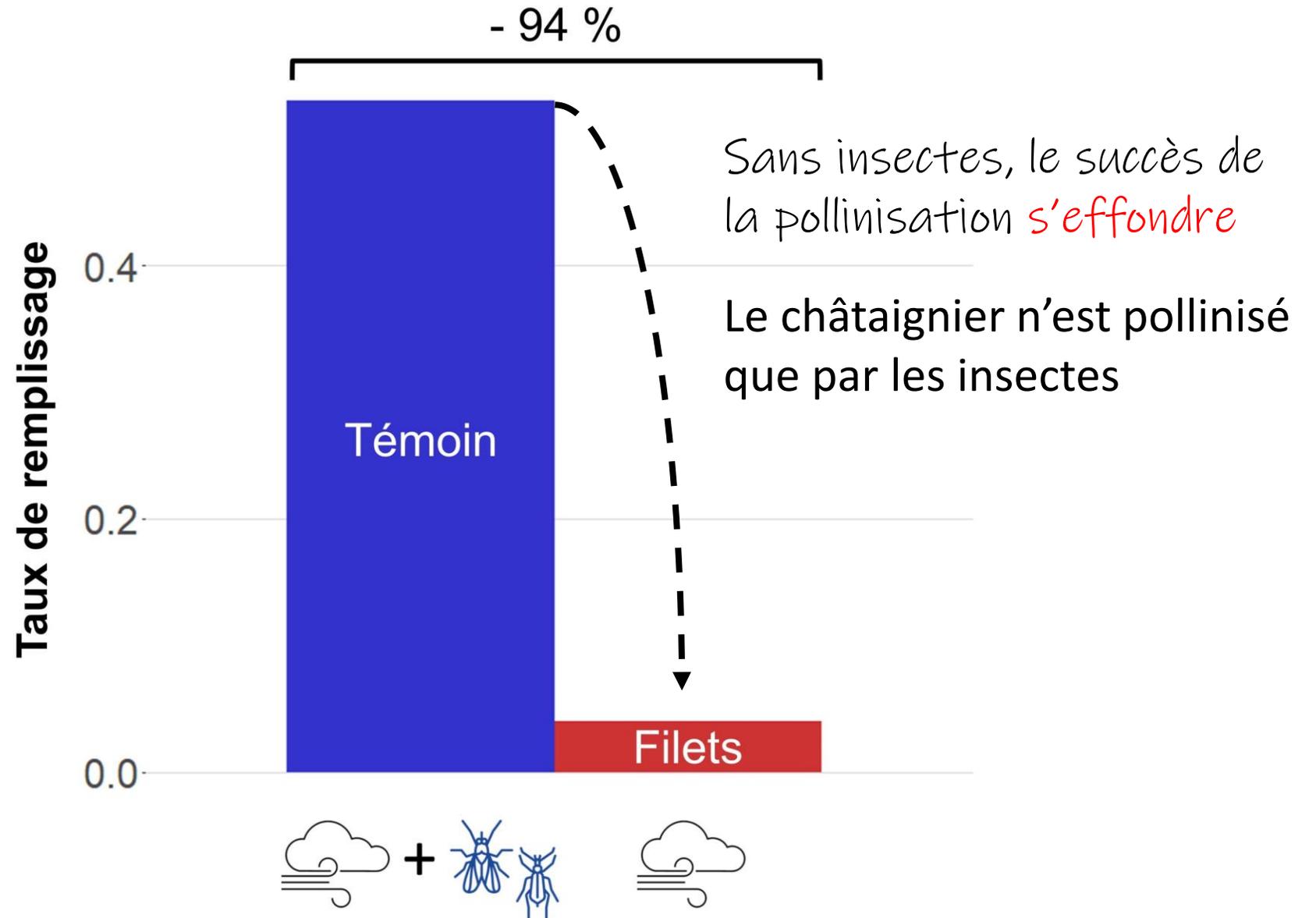
Introduction



2 phases d'émission de pollen



1) Qui pollinise le châtaignier

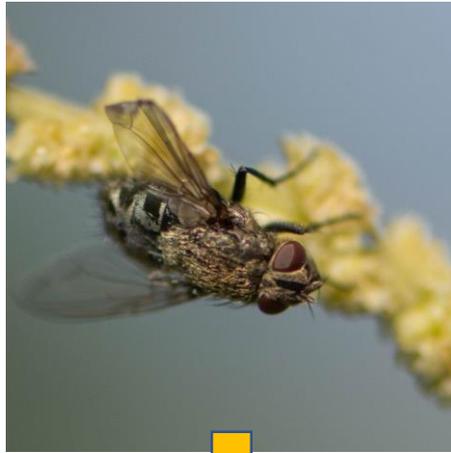


1) Qui pollinise le châtaignier

Coléoptères



Mouches à calyptre



Fleurs mâles

Abeilles



Syrphes



Fleurs Femelles



Téléphore fauve



Mouche *Pollenia*



Insectes visiteurs

Le châtaignier est pollinisé par des **insectes sauvages**

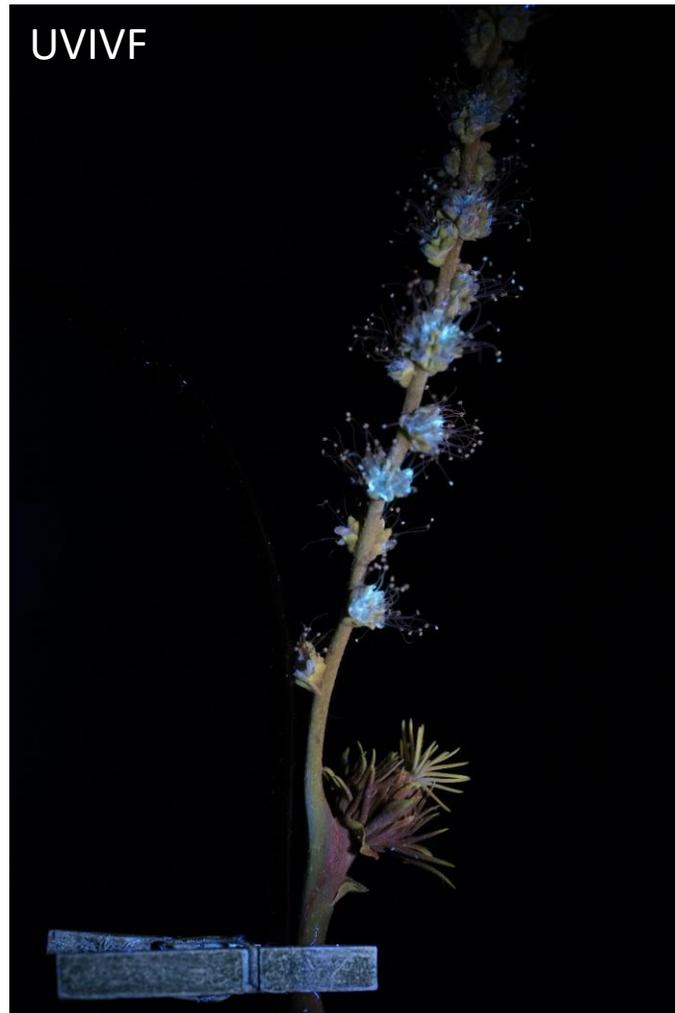
1) Qui pollinise le châtaignier



Les insectes **grimpent** sur les fleurs femelles quand le chaton mâle associé est fleurit
→ Facilitation

Plus l'inflorescence femelle est proche de la verticale, plus elle est visitée !

1) Qui pollinise le châtaignier



Les fleurs ♂ sécrétant le nectar **fluorescent** sous **lumière ultraviolette** ! PAS les fleurs ♀.

Si on **supprime** les inflorescences mâles de chatons bisexués, les insectes **visitent moins** les fleurs femelles !

2) Pourquoi les fruits avortent ?

Les châtaigniers produisent \pm de pollen



Astaminées



Brachystaminées



Mesostaminées

Longistaminées

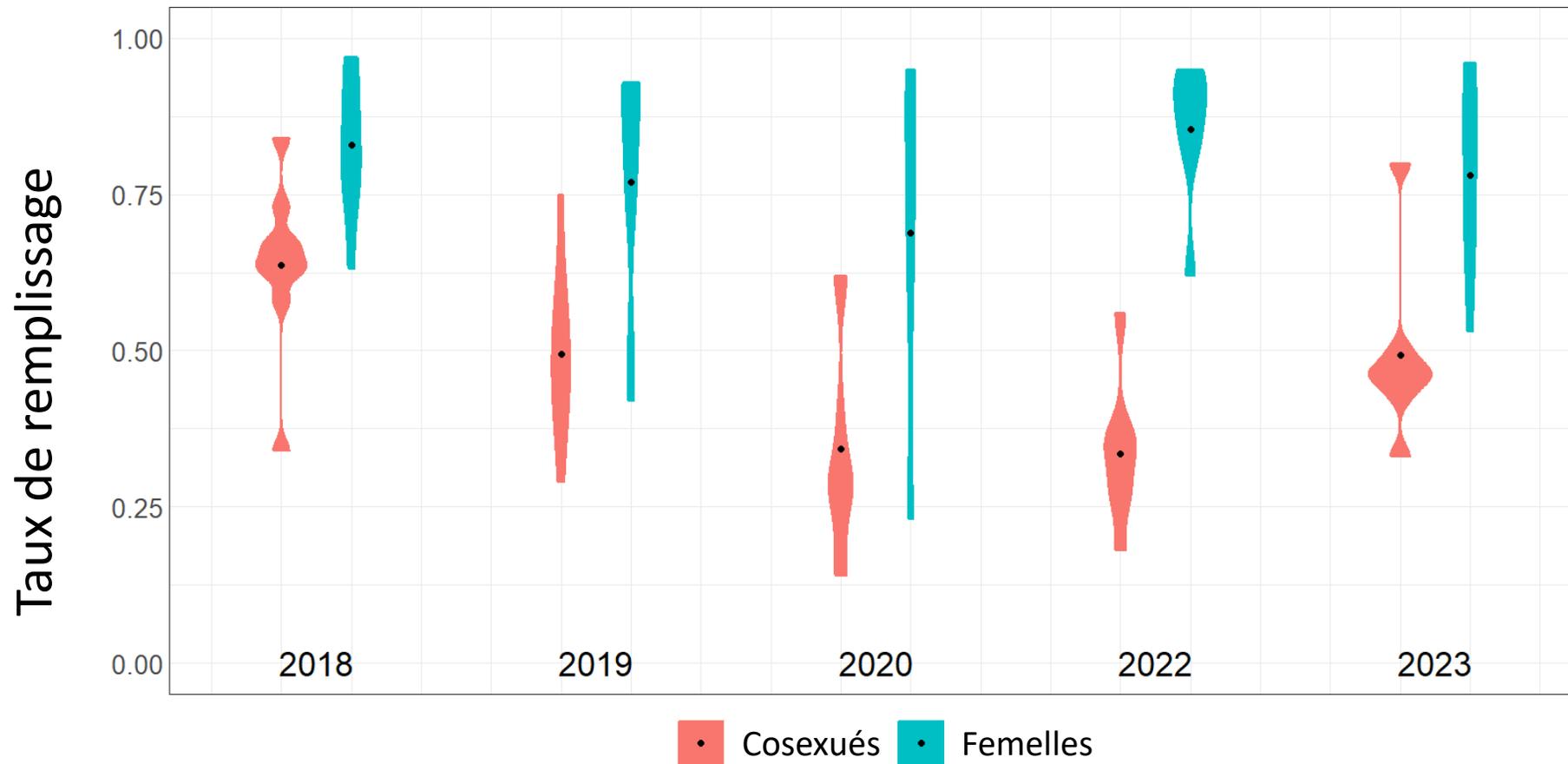
Mâle-**stérile**

Mâle-**fertile**

→ Femelle

→ Cosexué

2) Pourquoi les fruits avortent ?



✓ Les cultivars femelles ont un meilleur succès de la pollinisation

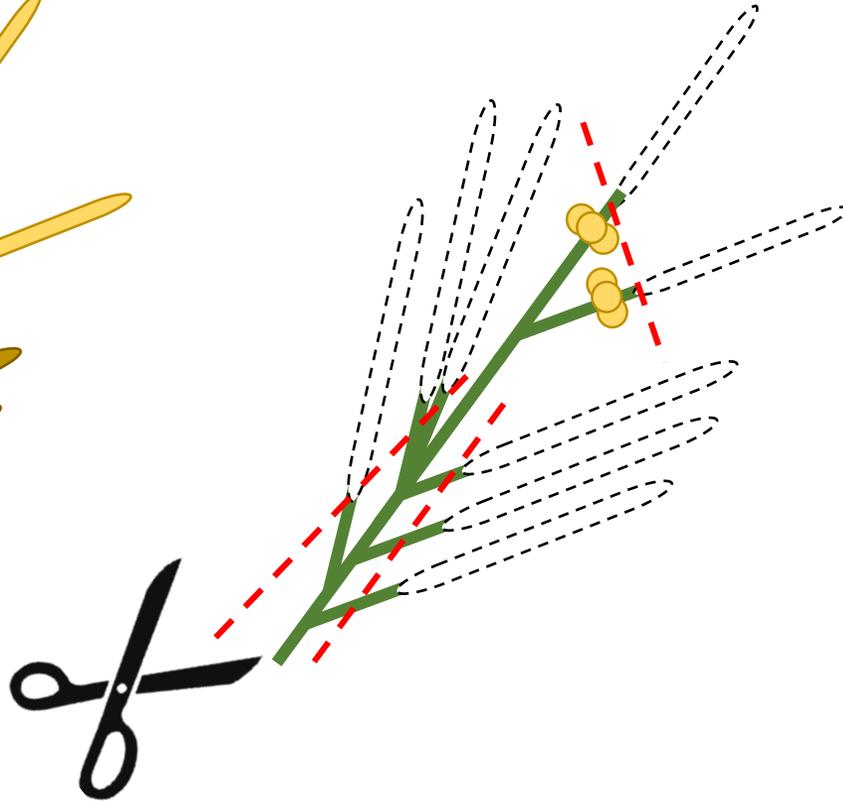
→ Pourquoi ?

2) Pourquoi les fruits avortent ?

Témoins



Émasculés



→ Elimination des chatons

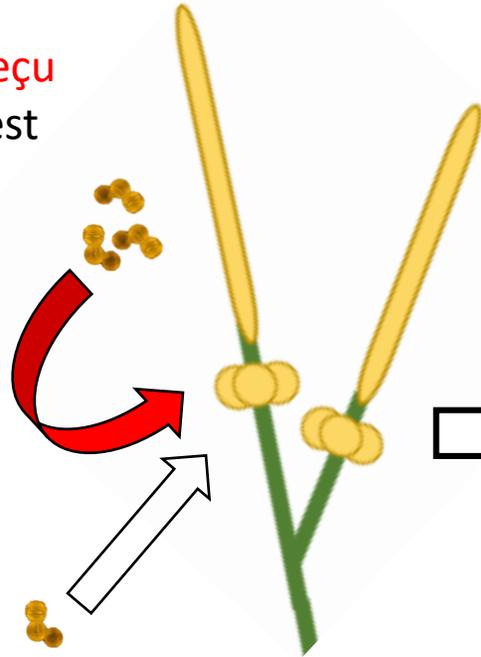
Si on émascule un arbre **cosexué**,
le taux de remplissage **augmente**

Si on émascule un arbre **femelle**, le
taux de remplissage **diminue**

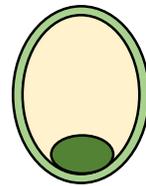
2) Pourquoi les fruits avortent ?

Le châtaignier possède des mécanismes d'auto-incompatibilités tardifs

74% du pollen reçu
par les fleurs ♀ est
de l'autopollen



48% des ovules
sont fertilisés par
de l'autopollen



95% des ovules
autofécondés
avortent

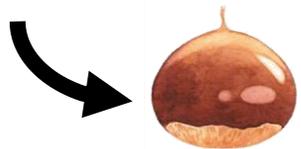
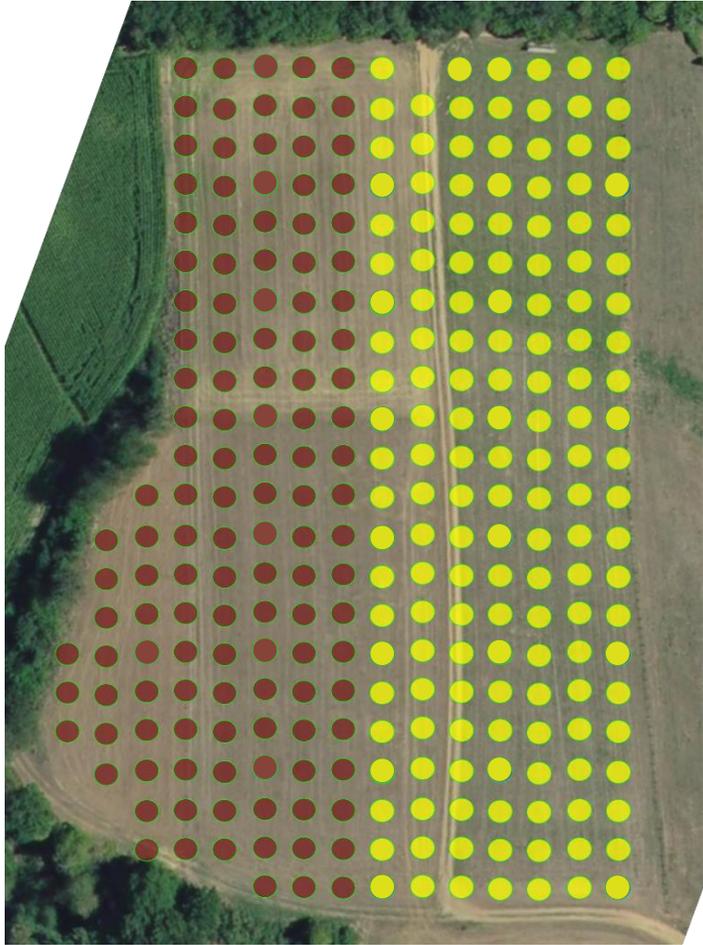
46% des ovules
sont gaspillés



✓ Effet négatif majeur de l'autopollen sur le succès de la pollinisation des arbres cosexués

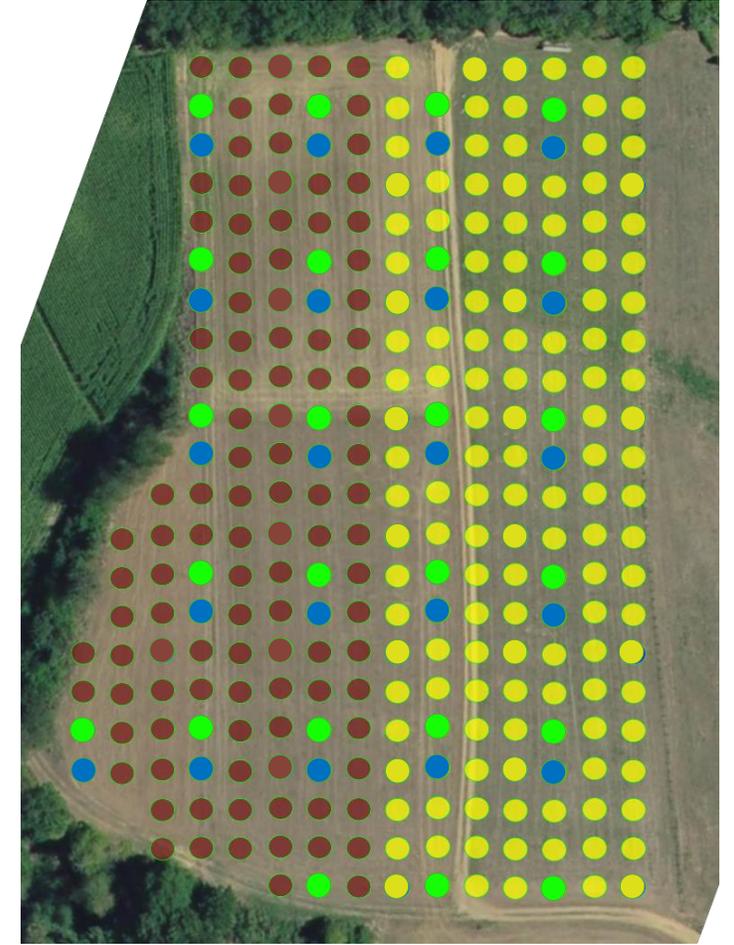
→ Les arbres **femelles** évitent ce problème

3) Mieux concevoir les vergers ?



- ✓ Les **arbres producteurs de pollen** doivent être **nombreux** et **diversifiés**
- ✓ les **cultivars femelles** produisent **plus** de fruits à condition d'être bien pollinisés

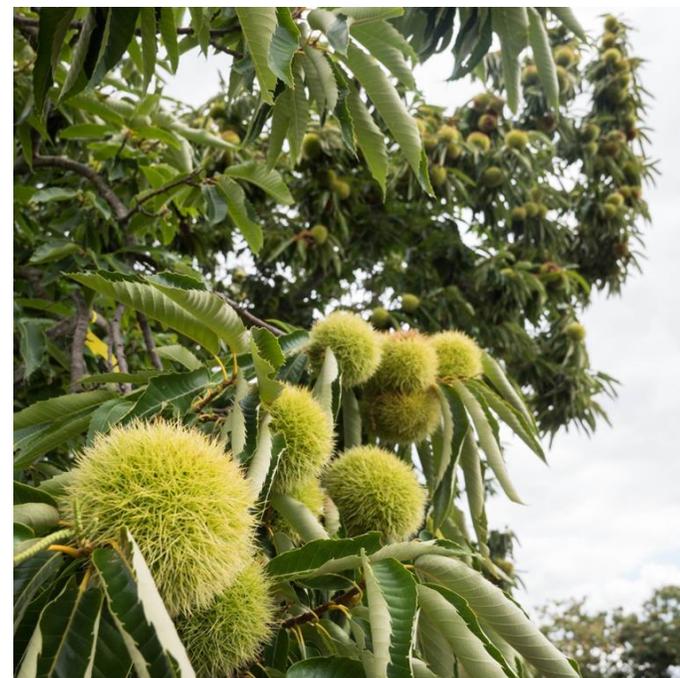
Les *modélisation* permet de concevoir des vergers plus productifs



Conclusions

- ✓ Châtaignier pollinisé par les insectes = 1^{er} arbre entomophile 
- ✓ Production dépend des insectes pollinisateurs sauvages
- ✓ Nécessité d'évaluer l'efficacité pour la pollinisation de chaque insecte
- ✓ Châtaignier : espèce gynodioïque
- ✓ Avantage femelle lié à l'absence d'interférence avec son propre pollen
- ✓ La composition des vergers a un impact majeur sur la production

Ces résultats sont présentés dans nos publications en anglais et en français



Conclusions

En anglais...

Development of highly validated SNP markers for genetic analyses of chestnut species

Clément Larue^{1,2}, Erwan Guichoux¹, Benoît Laurent¹, Teresa Barreche³, Cécile Robin¹, Marie Massot¹, Aïline Delcamp¹, Rémy J. Petit¹

Received: 10 March 2021 | Accepted: 14 June 2021

An intensive study plot to investigate chestnut tree reproduction

Clément Larue^{1,2}, Teresa Barreche³, Rémy J. Petit¹

Received: 16 April 2021 | Accepted: 2 September 2021

Sexual interference revealed by joint study of male and female pollenation success in chestnut

Clément Larue^{1,2}, Etienne K. Klein³, Rémy J. Petit¹

Microhaplotype genotyping-by-sequencing of 98 highly polymorphic markers in three chestnut tree species

Benoît Laurent¹, Clément Larue^{1,2}, Emilie Chancel¹, Erwan Guichoux¹, Rémy J. Petit¹, Teresa Barreche³, Cécile Robin¹, Olivier Lapeau¹

Received: 27 January 2020 | Accepted: 4 June 2020

Confirmation that chestnuts are insect-pollinated

Rémy J. Petit¹ and Clément Larue^{1,2}

¹Univ. Bordeaux, INRAE, BIOGECO, Cestas, France; ²INVENIO, Douville, France

Efficient monitoring of phenology in chestnuts

Clément Larue^{1,2}, Teresa Barreche³, Rémy J. Petit¹

Strong pollen limitation in genetically uniform hybrid chestnut orchards despite proximity to chestnut forests

Clément LARUE^{1,2}, Rémy J. PETIT¹

¹Univ. Bordeaux, INRAE, BIOGECO, 33610 Cestas, France
²INVENIO, Maison Jeannette, 24140 Douville, France

Sixty Years from the First Disease Description, a Novel Badnavirus Associated with Chestnut Mosaic Disease

Armelie Marais^{1,2}, Sergio Marolo², Chantal Faure², Yoann Brans³, Clément Larue^{1,2}, François Muckel¹, Sébastien Massot¹, Michaël Chantreau¹, Angelantonio Minafra¹, Gianfranco Romanazzi¹, Marie Lefebvre¹, Teresa Barreche³, Cécile Robin¹, Rémy J. Petit¹, and Thierry Candresse¹

Revisiting pollination mode in chestnut (*Castanea spp.*): an integrated approach

Clément Larue^{1,2}, Eva Austruy¹, Gaëlle Basset¹ and Rémy J. Petit¹

¹Univ. Bordeaux, INRAE, BIOGECO, Cestas, France; ²INVENIO, Douville, France

Prix Jussieu 2021 de la Société Botanique de France

Adaptive function of duodichogamy: Why do chestnut trees have two pollen emission phases?

Grégoire Pauly¹, Clément Larue^{1,2}, Rémy J. Petit¹

« Highlights - Août 2023 » par la revue American Journal of Botany

INSECT POLLINATION IN CHESTNUT

Clément Larue^{1,2}

¹Univ. Bordeaux, INRAE, BIOGECO, 33610 Cestas, France; ²INVENIO, Maison Jeannette, 24140 Douville, France

Are chestnuts pollinated by wind, insects, or both? For almost 150 years, this question has been in the air. To establish chestnut pollination mode on solid foundations, two types of experiences must be combined: pollinator exclusion, to test the dependence of chestnut pollination on insects, and insect monitoring during flowering, to identify the true pollinators of chestnut.

POLLINATOR EXCLUSION EXPERIMENTS

PHOTOGRAPHIC MONITORING OF INSECTS

Control: 0.44
Nets: 0.0

When access of female flowers to insects is denied, pollination success collapses!

Mainly during the 2nd pollen emission phase

Only non-bee insects visit female flowers

Female flowers

1 2 3
Tree Visit to

✓ Chestnut is strictly insect-pollinated

✓ The main pollinators are calyptrate flies and beetles

Chestnut is neither entirely nor partly wind-pollinated. Instead, it is entirely insect-pollinated. The insects involved are beetles and especially calyptrate flies, not bees. We are starting to clarify the main mechanisms of chestnut pollination. Walking insects are attracted to rewardless female flowers by male catkins of bisexual inflorescences during the second pollen emission phase. They climb on the erect styles of female flowers and deposit pollen on the tiny stigmas. The preservation of non-bee pollinators is thus critical to the sustainable management of chestnut orchards.

biogeco INRAE université BORDEAUX Nouvelle-Aquitaine ani Invenio

Prix du meilleur poster, VII International Chestnut Symposium (Lugo, 2023)

monographie

La châtaigne

CTIFL SCIENCES & INNOVATION

Centre Technique Interprofessionnel des Fruits et Légumes

Connaissance du châtaignier #1

La floraison du châtaignier

Clément Larue et Rémy Petit

biogeco INRAE Nouvelle-Aquitaine anr Invenio

Connaissance du châtaignier #2

Mon verger est-il bien pollinisé ?

Clément Larue et Rémy Petit

biogeco INRAE Nouvelle-Aquitaine anr Invenio

THE CONVERSATION

Le langage universitaire, l'écriture journalistique

Ce que la vie amoureuse du châtaignier nous enseigne de l'agroécologie

Publié: 13 novembre 2020, 16:55 CET

Les insectes et notamment les coléoptères (ici le téléphore fauve, à gauche, et une bêche commune), sont de bons pollinisateurs du châtaignier. Rémy Petit

En français...

Remerciements



RÉGION
Nouvelle-
Aquitaine

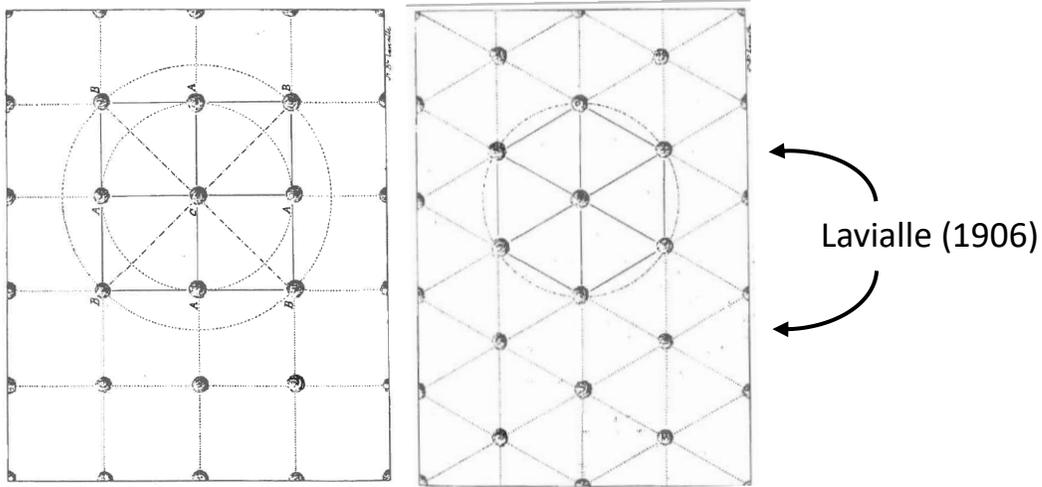


Vous voulez en savoir plus ?
Visitez mon site



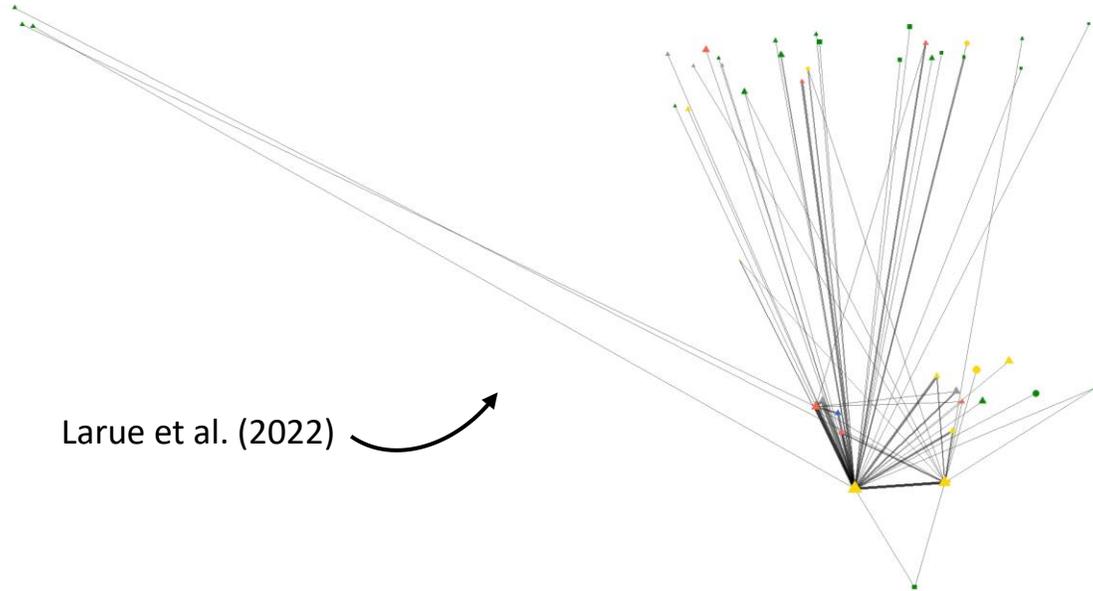
Diapos supplémentaires...

Introduction



Designing an orchard...

- An old question (*Lavialle 1906*)
- Paternity analyses are rarely used to study crosses between trees (*Nishio et al. 2021*)
- With Bayesian MEMM models, it is possible to accurately study tree cross-compatibility (*Larue et al. 2022*)



- 1) Estimate the quality of pollination service
- 2) Study chestnut reproductive biology
- 3) Design the best possible orchards

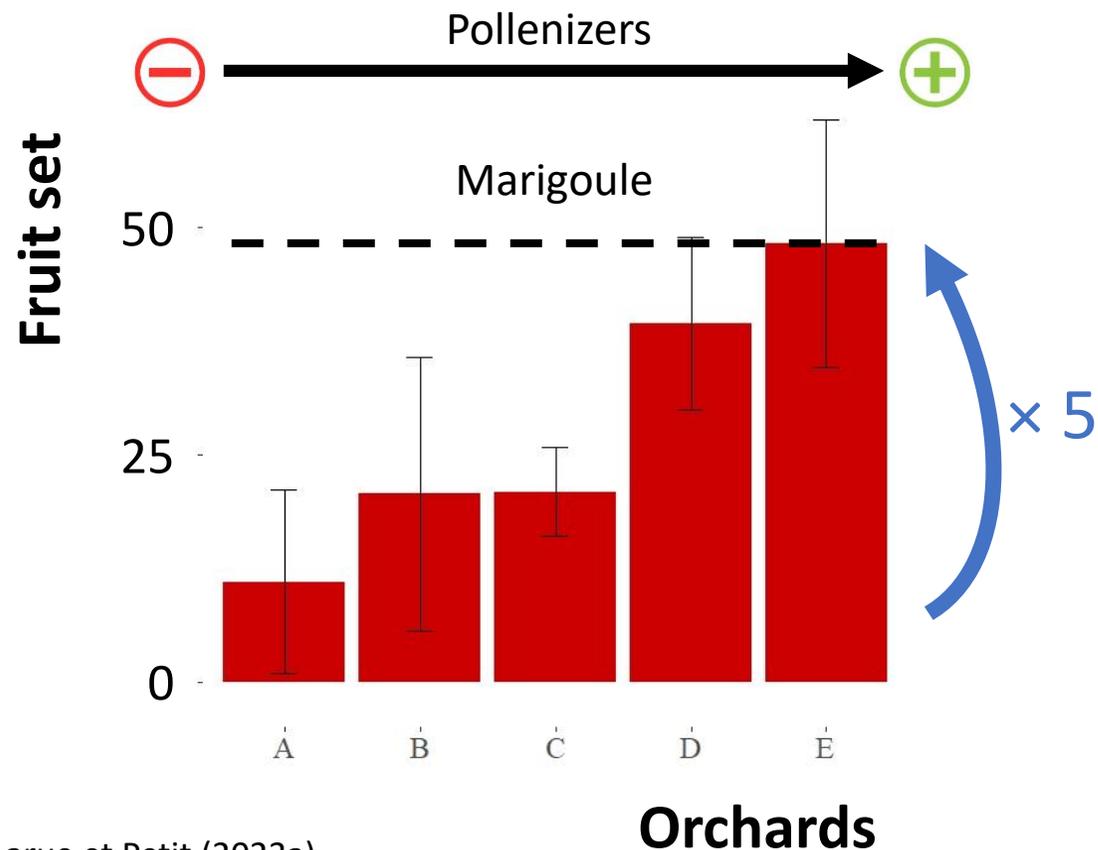
1) Estimate the quality of pollination service

An overview of pollination service

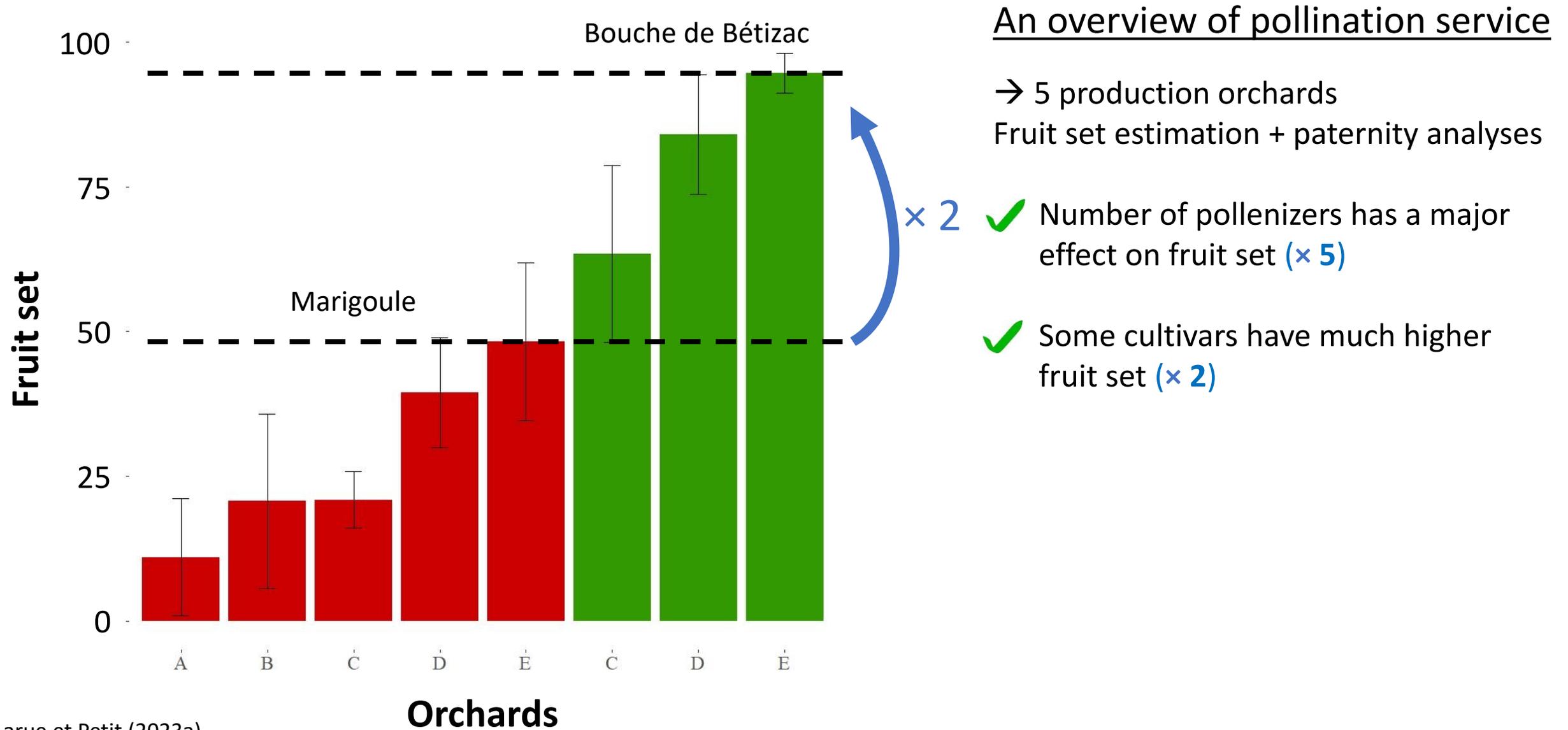
→ 5 production orchards

Fruit set estimation + paternity analyses

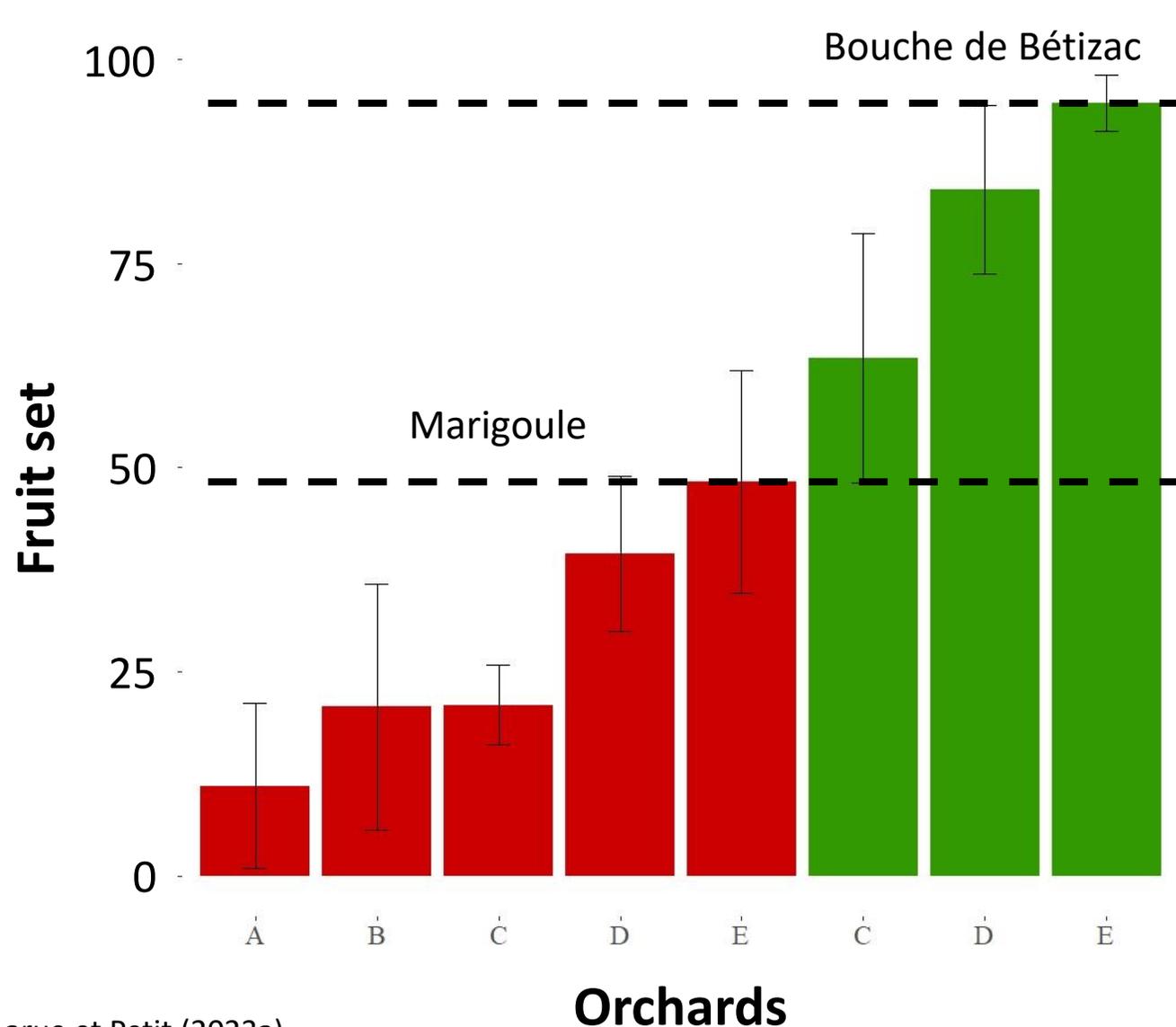
✓ Number of pollenizers has a major effect on fruit set ($\times 5$)



1) Estimate the quality of pollination service



1) Estimate the quality of pollination service



An overview of pollination service

→ 5 production orchards

Fruit set estimation + paternity analyses

✓ Number of pollenizers has a major effect on fruit set ($\times 5$)

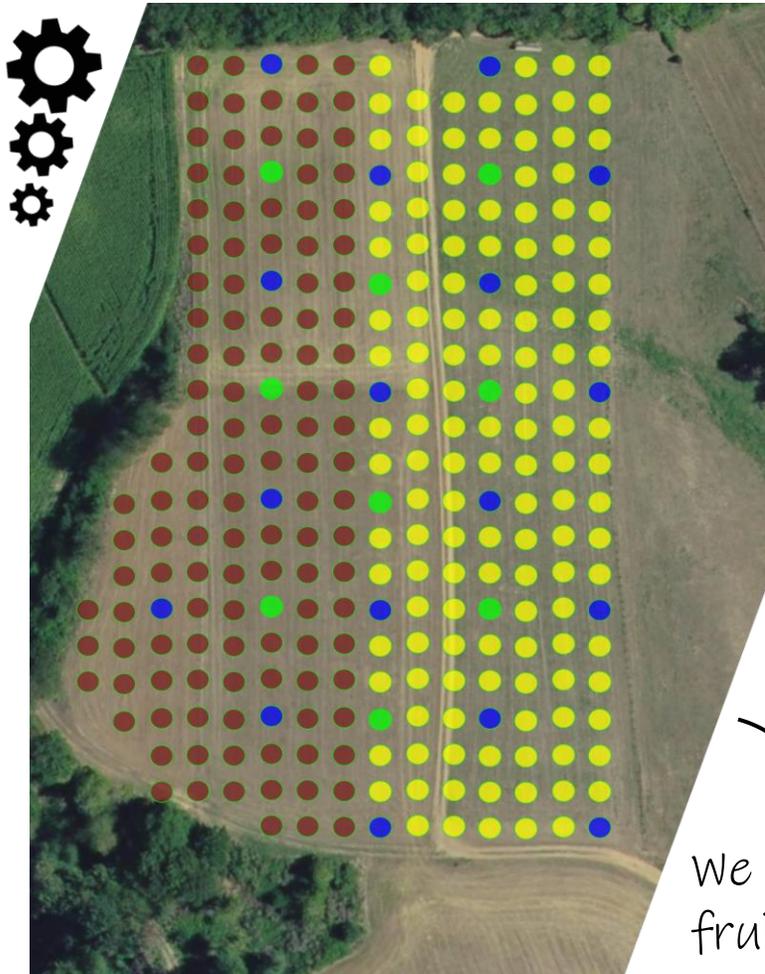
✓ Some cultivars have much higher fruit set ($\times 2$)

✗ Chestnut forests provide only limited pollination insurance

→ How to design a highly productive orchard?

3) Design the best possible orchards

Q: "Is my orchard well-designed?"

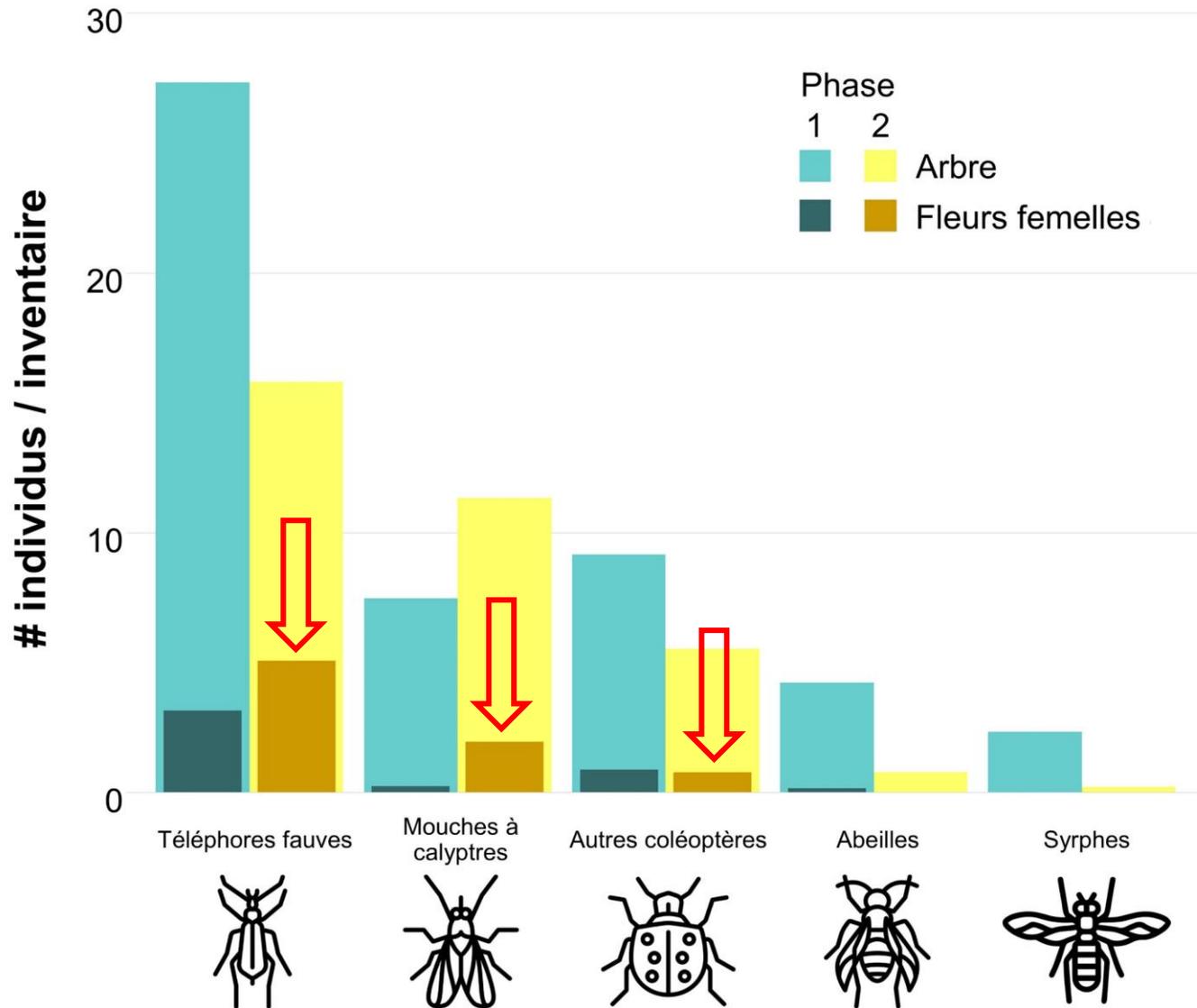


- ✗ With only female trees → No pollen produced
- ✗ With only cosexual trees → Limited fruit set
- ✗ Ultra-simple design (only two cultivars) → Irregular fruit set
- ✓ Female cultivars to be favoured and associated with **several** cosexual cultivars

We can simulate fruit set!

Promising predictive tool → No need to wait to learn if the orchard is productive

1) Qui pollinise le châtaignier



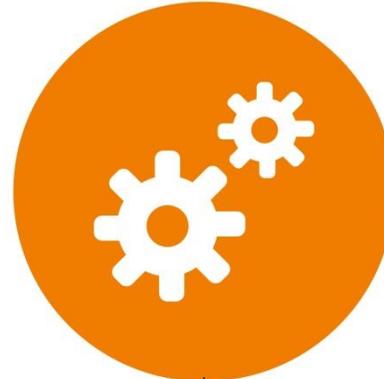
Les insectes **grimpent** sur les fleurs femelles quand le chaton mâle associé fleurit → Facilitation

Suivi Photographique des Insectes POLLinisateurs



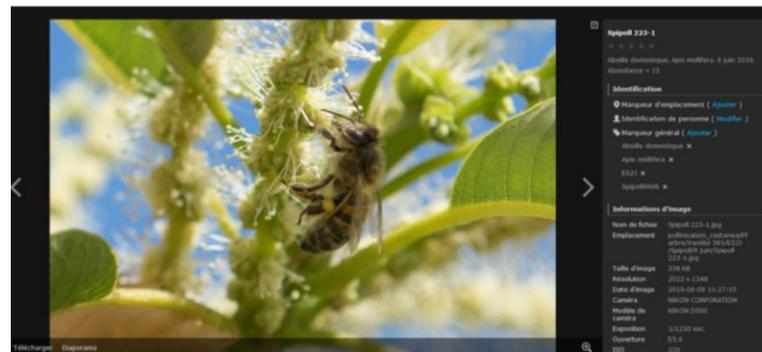
Etape 1

Suivi photo : 20min par arbre



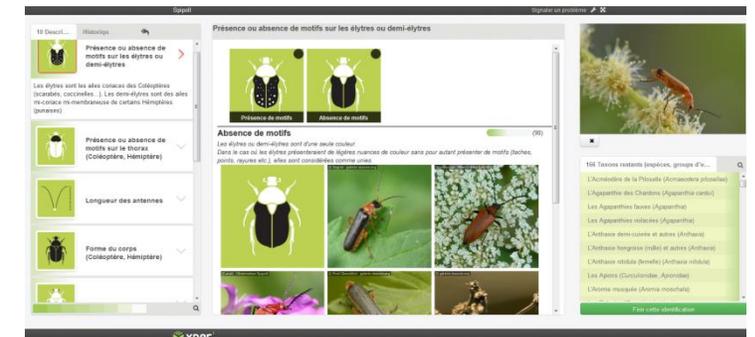
Etape 2

Traitement des photos et
stockage sur une base de données

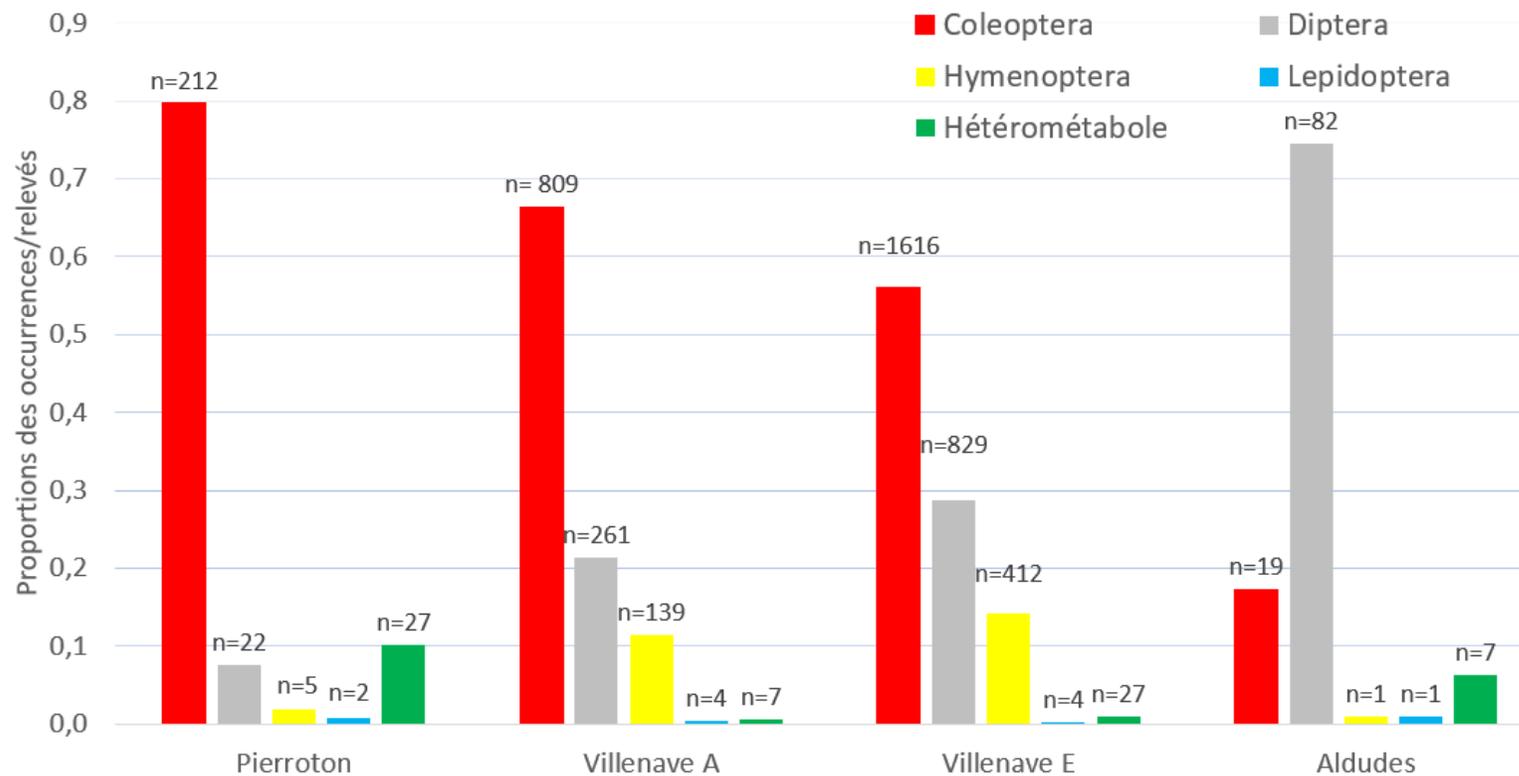


Etape 3

Identification des insectes
grâce à une clé interactive



Variation des visiteurs suivant l'environnement ?



Vieux vergers (fermés) = moins de fruits

- Moins de fleurs → zone avec lumière
- Insectes pollinisateurs différents = probabilité de fécondation différente ?

Gradient de fermeture du milieu



Avec la fermeture du milieu



Avec la fermeture du milieu

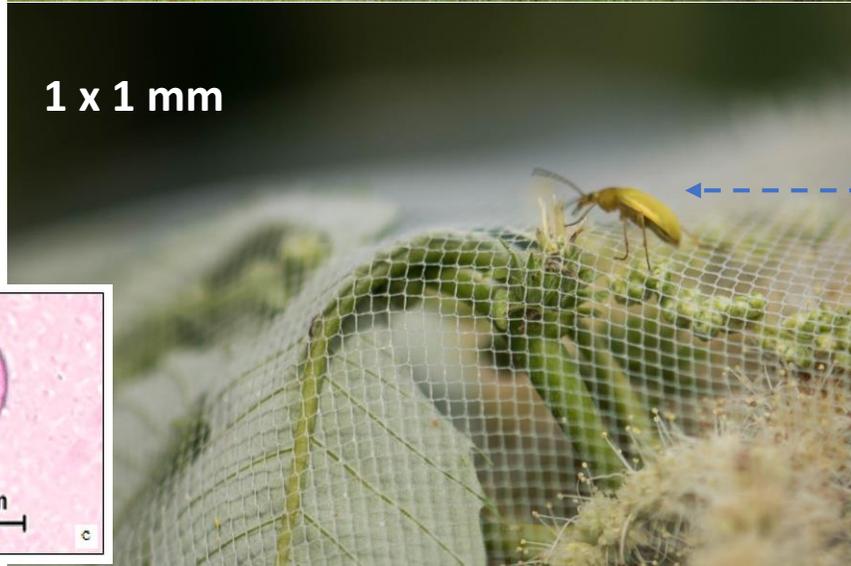


Faible importance

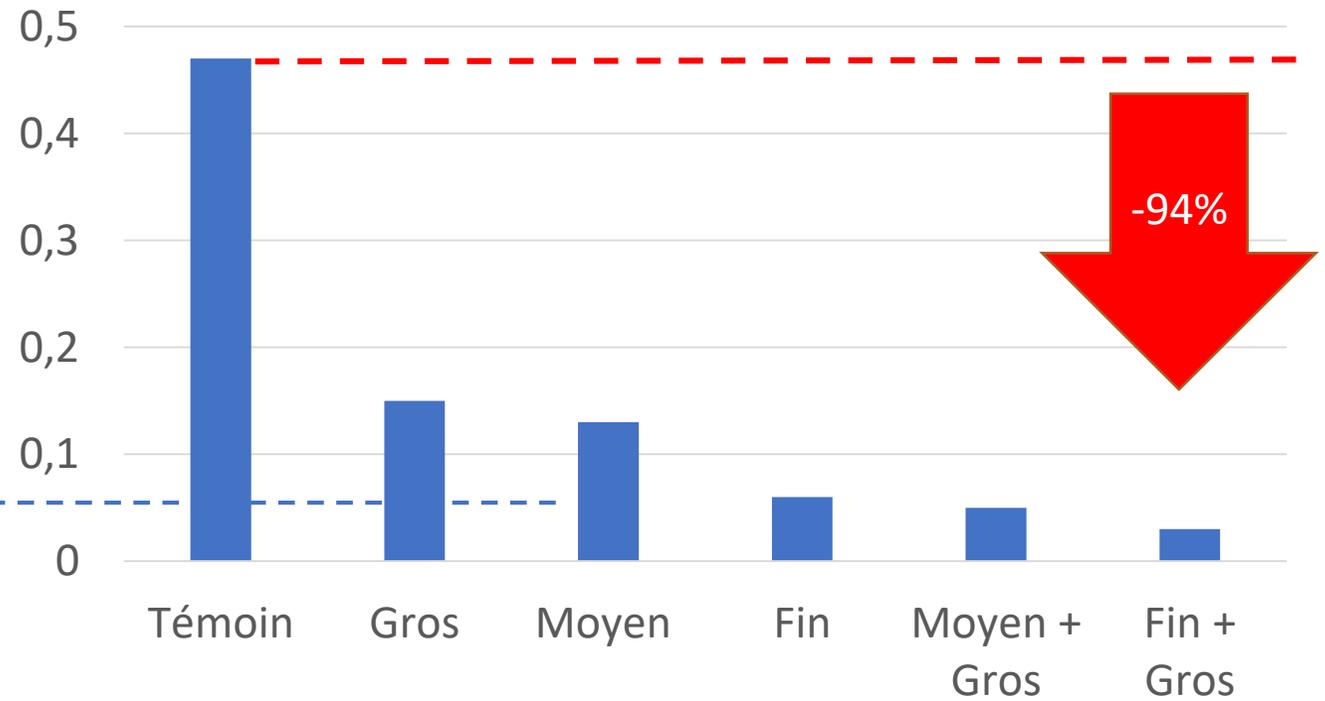
Une espèce purement entomophile

Revisiting pollination mode in chestnut (*Castanea spp.*): an integrated approach

Clément Larue^{1a,b}, Eva Austruy^a, Gaëlle Basset^a and Rémy J. Petit^{1b,a}



Effet de filets anti-insectes sur le succès de la pollinisation du châtaignier



TECHNICAL NOTE

Conservation Genetics Resources

<https://doi.org/10.1007/s12686-021-01220-9>

Development of highly validated SNP markers for genetic analyses of chestnut species

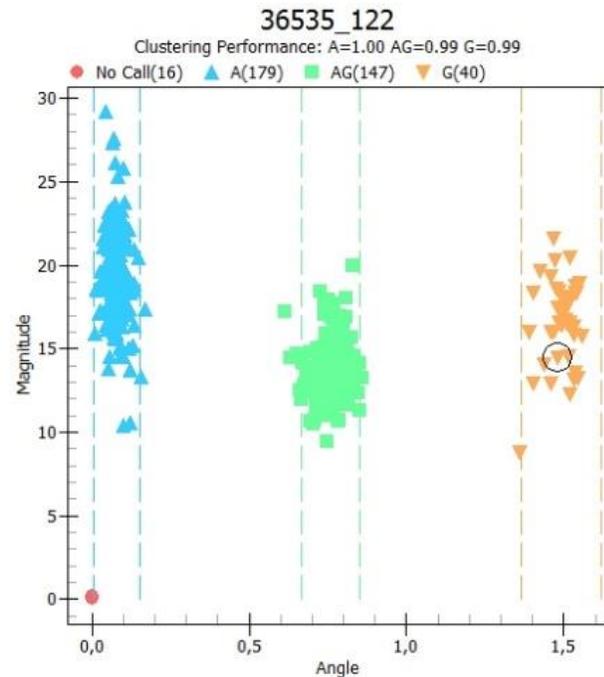
Clément Larue^{1,2}  · Erwan Guichoux¹ · Benoît Laurent¹ · Teresa Barreneche³ · Cécile Robin¹ · Marie Massot¹ · Adline Delcamp¹ · Rémy J. Petit¹ 

Figure 6 : Lecture des résultats d'un SNP avec MASSARRAY TYPER. Pour chaque marqueur, deux bases sont possibles (ici A et G). Chaque arbre est représenté par un point, et assigné à l'une des trois catégories : homozygote pour l'allèle 1 (ici A/A), hétérozygote (ici A/G) et homozygote pour l'allèle 2 (ici G/G). Un bon SNP est un SNP possédant peu de données manquantes, pour lequel les trois nuages de points sont compacts et bien séparés.

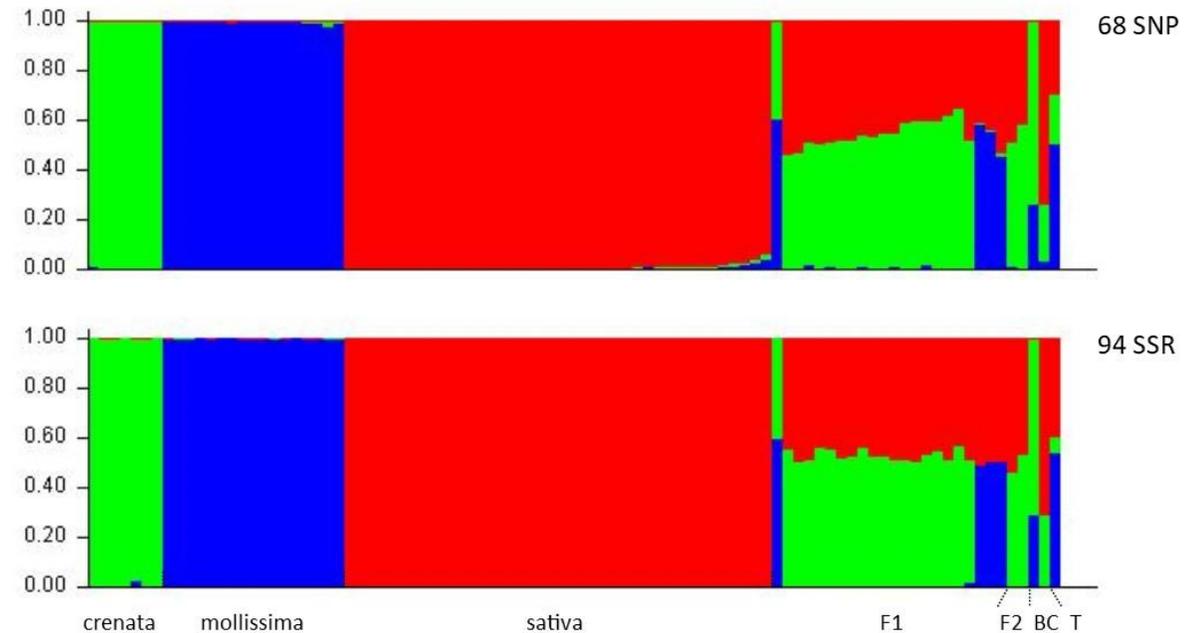
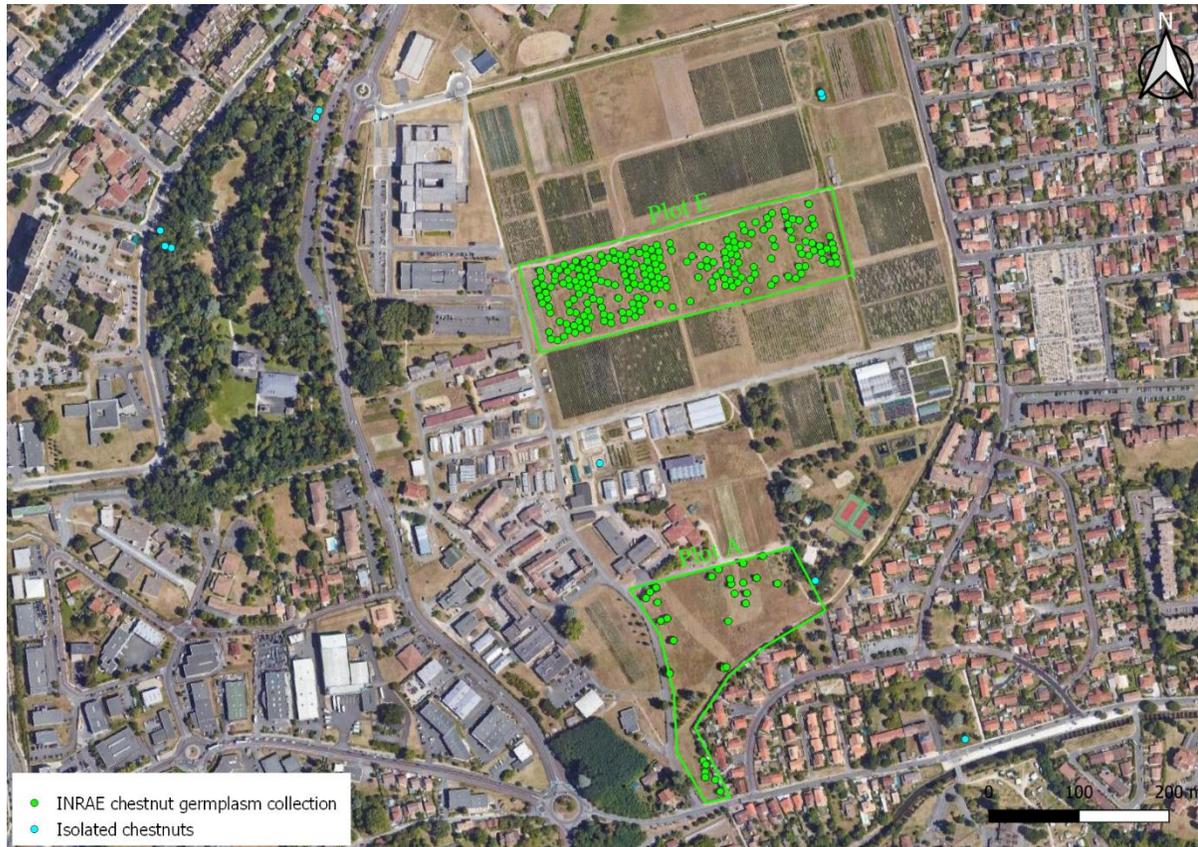


Figure 1: Comparison of species assignment for 91 chestnut trees characterized with 68 SNPs (top) and 94 SSRs (bottom). Results are very similar even though the admixture values of hybrids and other crosses are closer to the expected proportions with SSRs than with SNPs, except for the three-way hybrid (T).

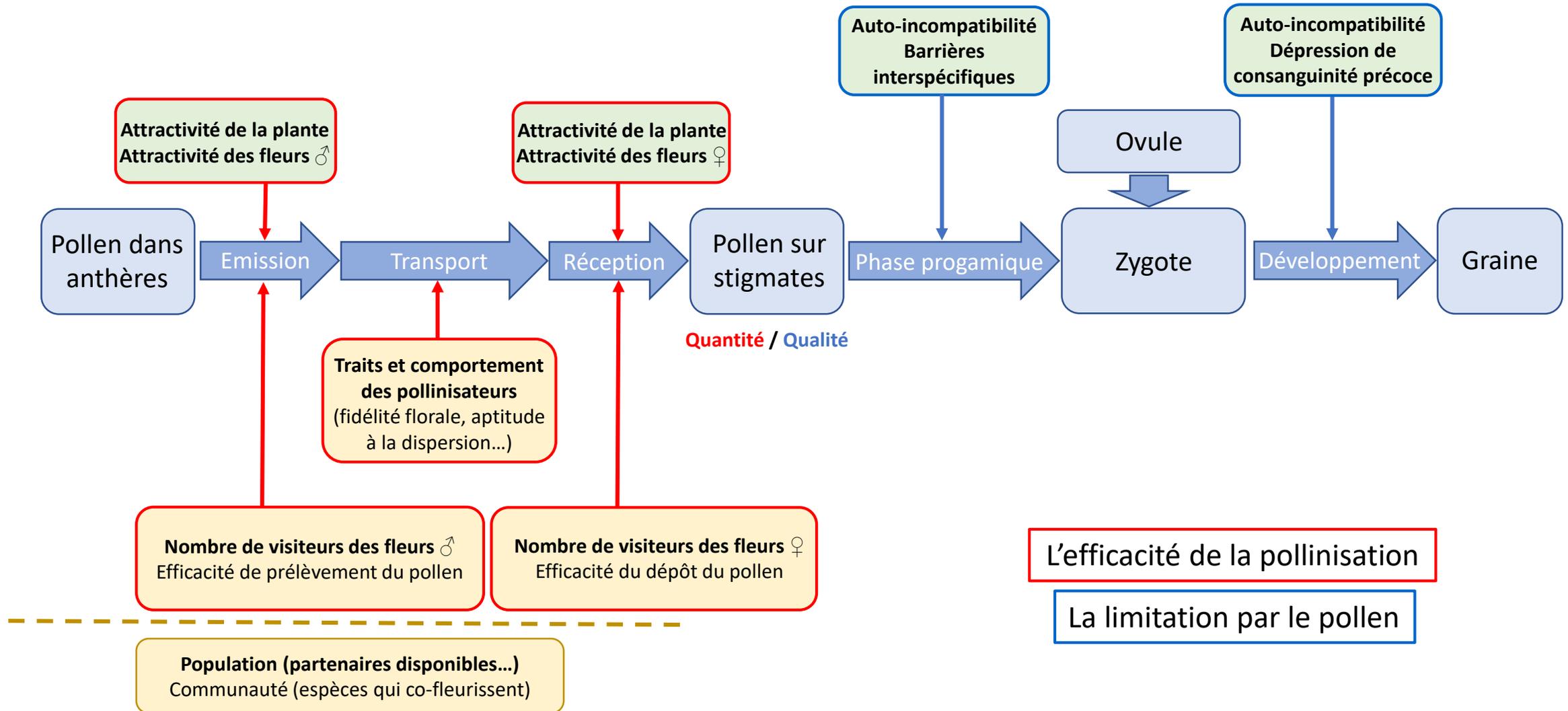
An intensive study plot to investigate chestnut tree reproduction

Clément Larue^{1,2}  · Teresa Barreneche³ · Rémy J. Petit¹



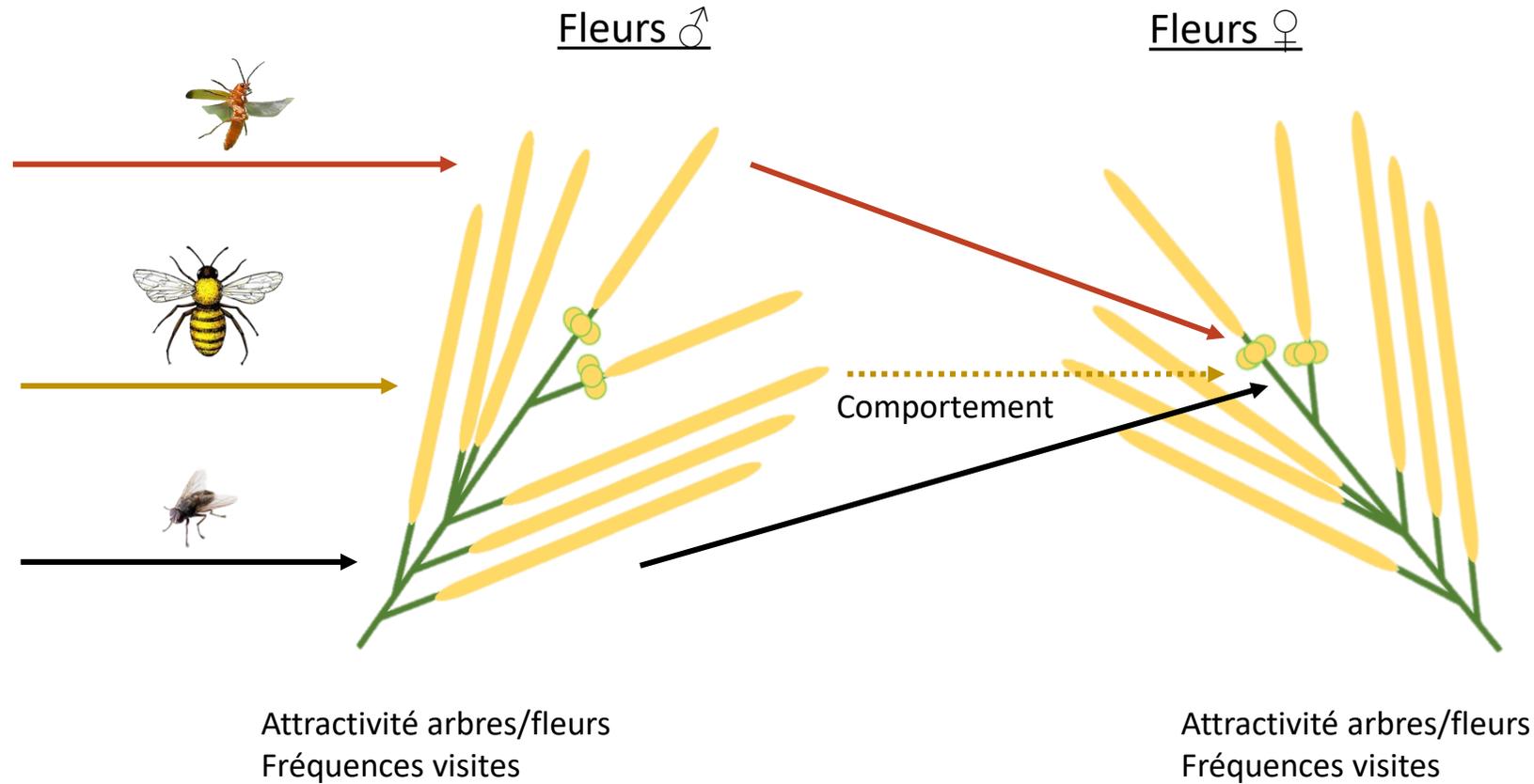
- *1_1_List_Chestnuts.xlsx*
- *1_2_List_INRAE_Chestnuts_Germplasm_Collection.xlsx*
- *2_1_Genotypes.xlsx.*
- *2_2_Genotypes_Genalex_Input.xlsx*
- *3_1_Clonal identification.xlsx*
- *4_1_Consensus_genotypes_Genets.xlsx*
- *5_1_Genotypes_Ramets.xlsx*
- *6_1_Species_Identification_Genets.xlsx*
- *7_1_Chestnuts_Phenotypes. xlsx*
- *7_2_Male_Catkins. xlsx*
- *7_3_Phenology. xlsx 7_4_Chestnuts_Production_Estimates. xlsx*
- *7_5_Seed_Set_2018.xlsx*
- *7_6_Seed_Set_2019. xlsx*
- *8_1_Summary. xlsx*

Pollinisation par les insectes

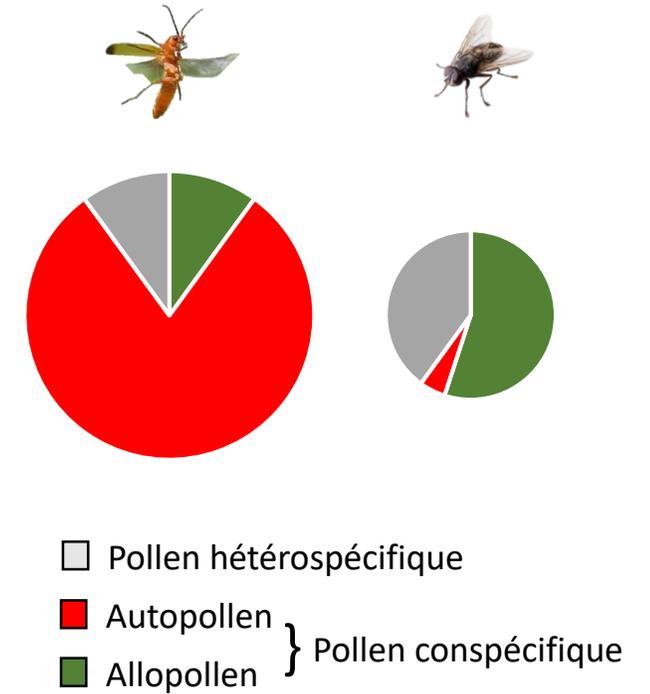


Introduction

L'efficacité des pollinisateurs

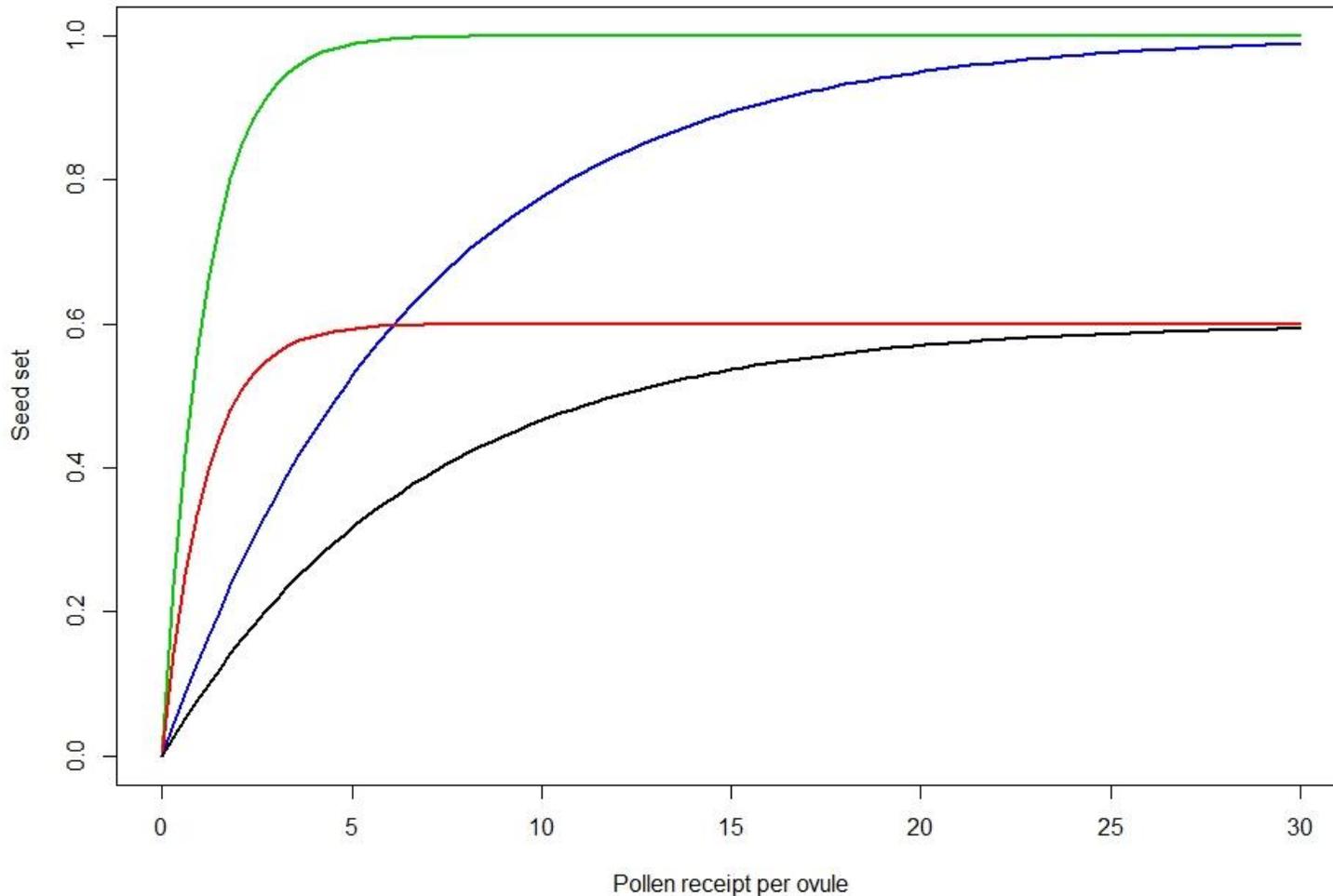


Charge en pollen



Introduction

La limitation par le pollen



Limitation par la quantité seule

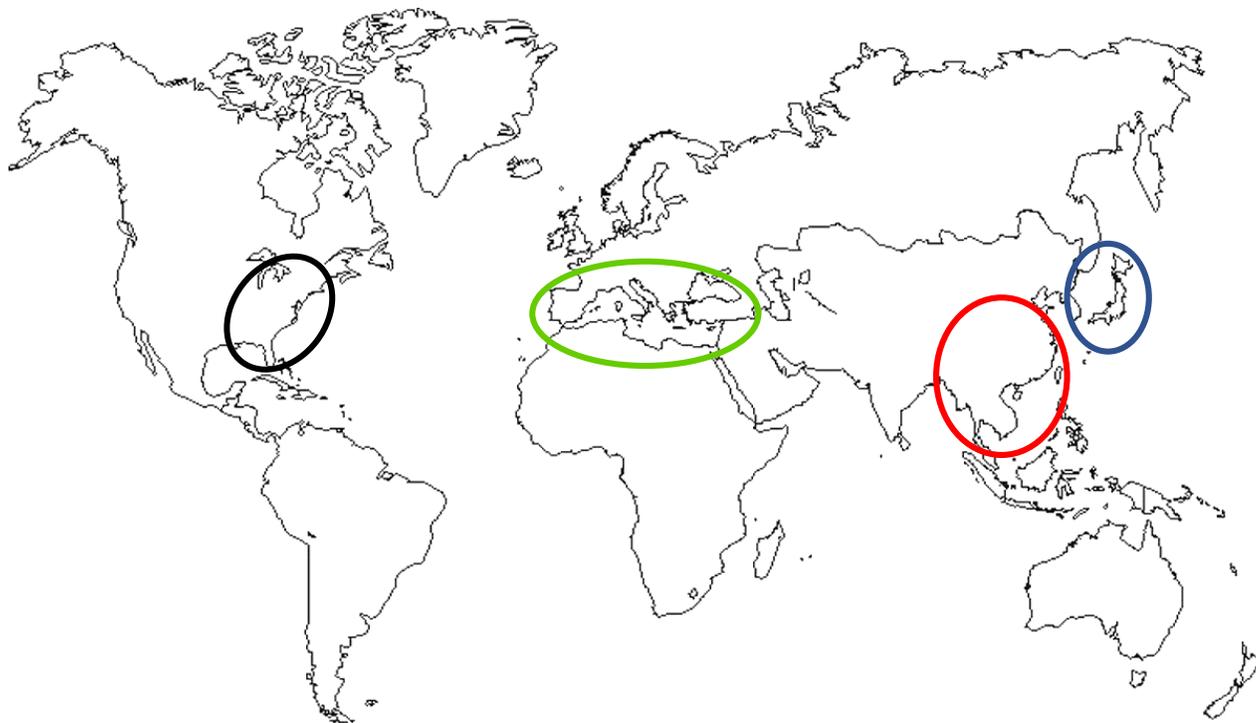
+ problème de qualité (sans interférence)

+ problème de qualité (avec interférence)

+ problèmes de qualité

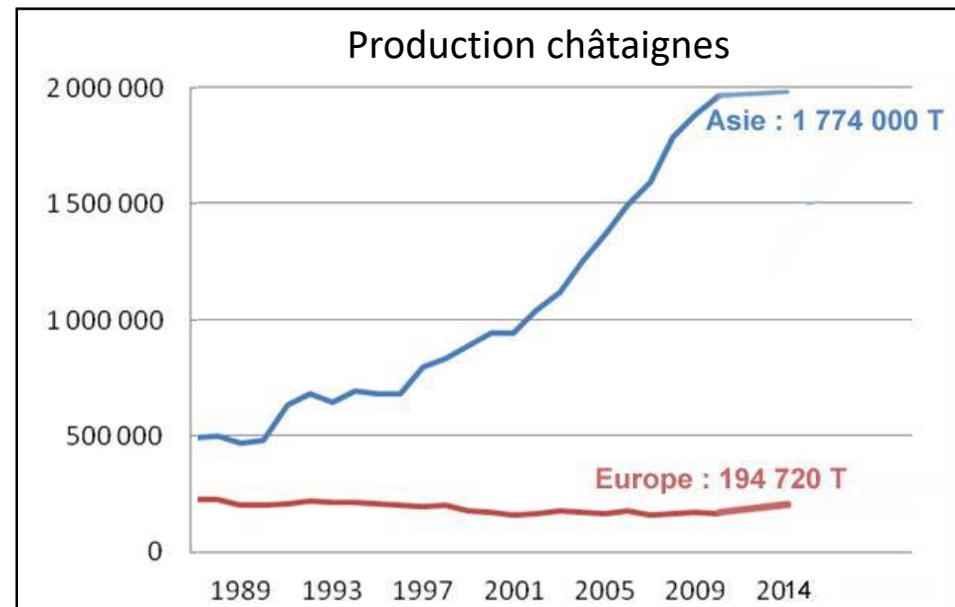
Introduction

Modèle d'étude : le châtaignier



- Châtaignier américain (*C. dentata*)
- Châtaignier japonais (*C. crenata*)
- Châtaignier européen (*C. sativa*)
- Châtaignier chinois (*C. mollissima*)

Castanea = 7 espèces, dont 4 espèces d'arbres forestiers



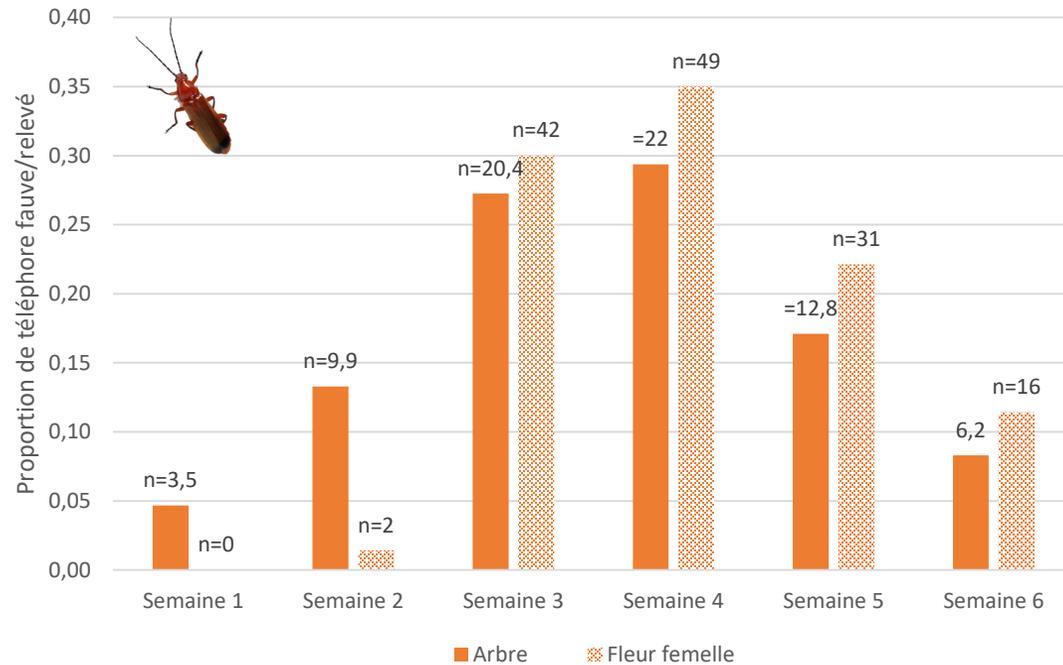
Châtaignier américain = écologiquement éteint
→ Chancre de l'écorce

Châtaignier européen = déperit
→ Chancre de l'écorce + maladie de l'encre

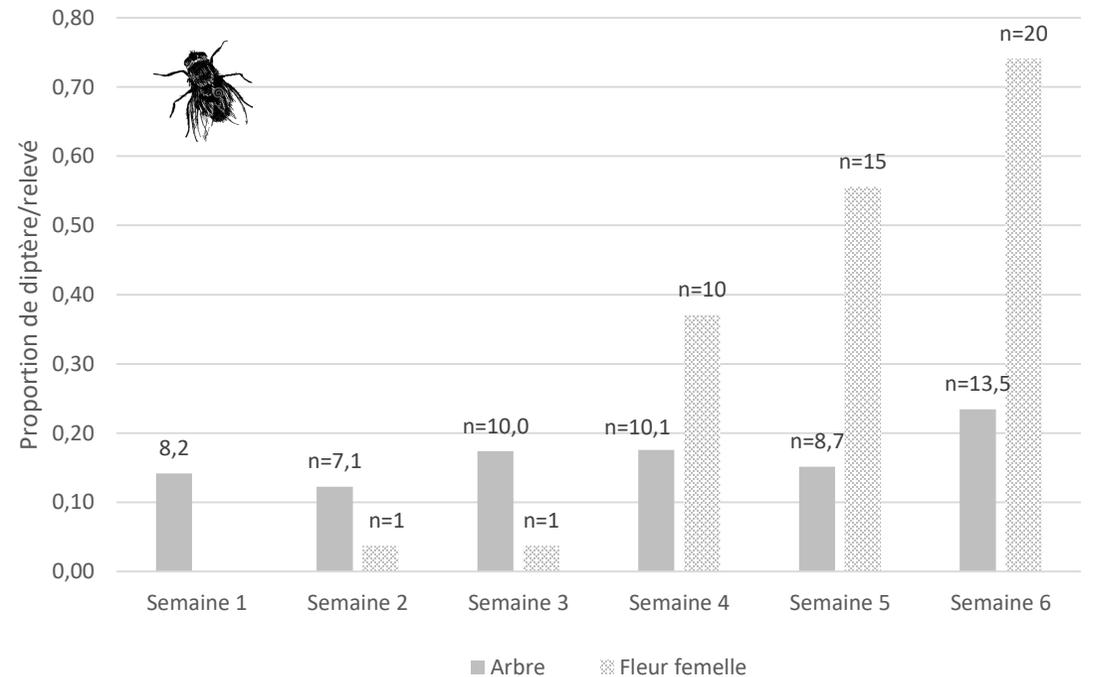
Châtaigniers chinois et japonais = résistants
→ Croisements interspécifiques avec châtaigniers européens

Mon post-doctorat...

2. Prendre en compte la qualité du pollen



Sur fleurs ♀ : 11% vols, courts passages



Sur fleurs ♀ : 64% vols, moyens/longs séjours

Comportements différents = efficacités différentes ?

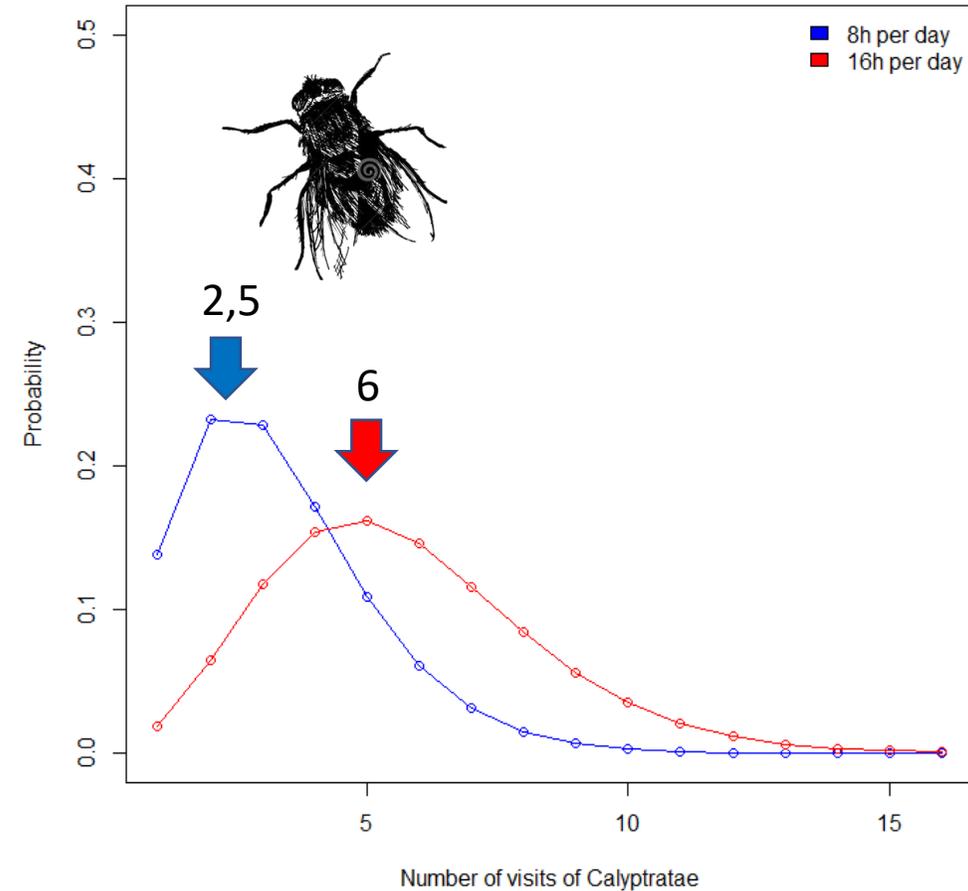
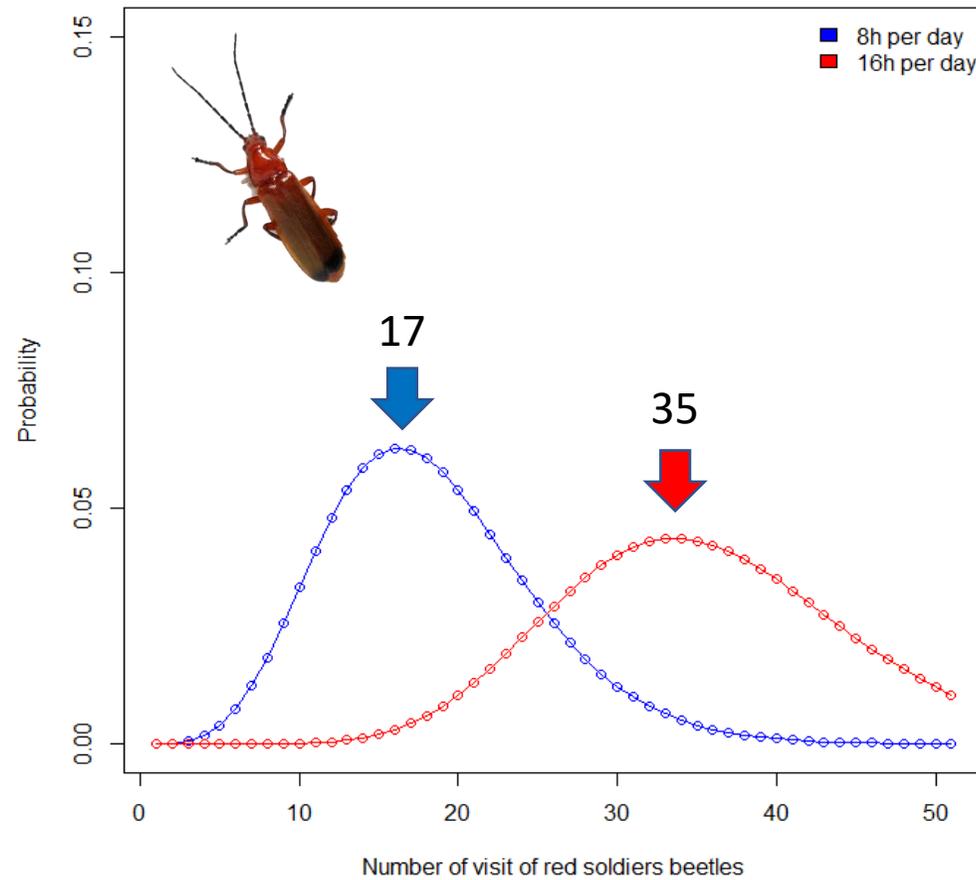
2. Fonctionnement de la pollinisation

a) Identification des insectes impliqués dans la pollinisation



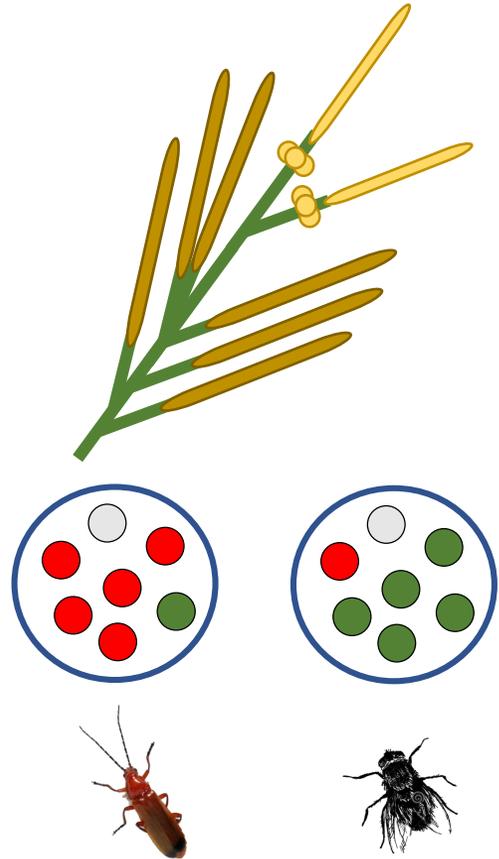
2. Fonctionnement de la pollinisation

a) Identification des insectes impliqués dans la pollinisation



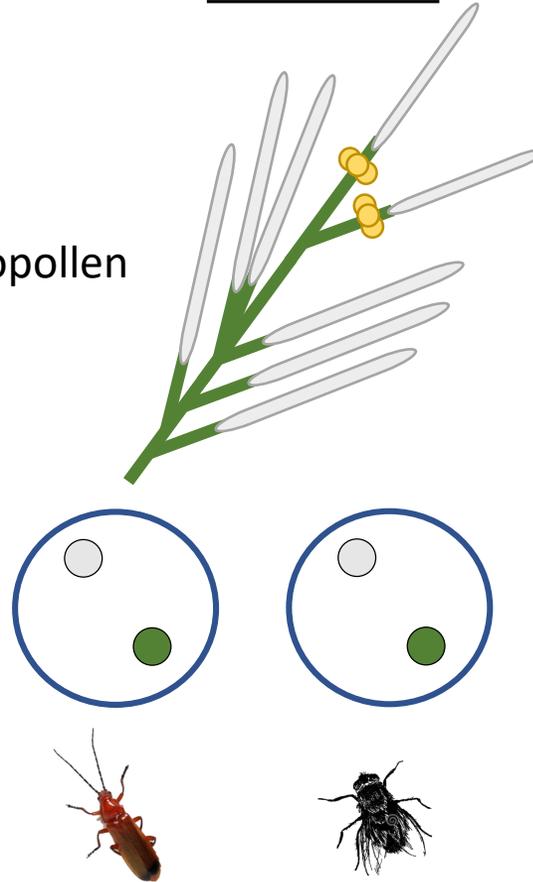
Expériences en cours...

Mâle-fertile



Mâle-stérile

∅ autopollen



- Pollen allospécifique
 - Autopollen
 - Allopollen
- } Pollen conspécifique

3 arbres : Asta / Méso / Longistaminé

Capture : 30 mouches + 50 téléphores /arbre

- **Estimation de la charge en pollen [Fini]**
→ Comptage des grains de pollen (Jennifer)
- **Caractérisation génétique de la charge en pollen [en cours]**
→ Tests de méthodes innovantes (PGTB)

Pollen dans étamines

Emission

Transport

Réception

Pollen sur stigmates

Phase progamique

Zygote

Développement

Graine



4. La charge en pollen des insectes

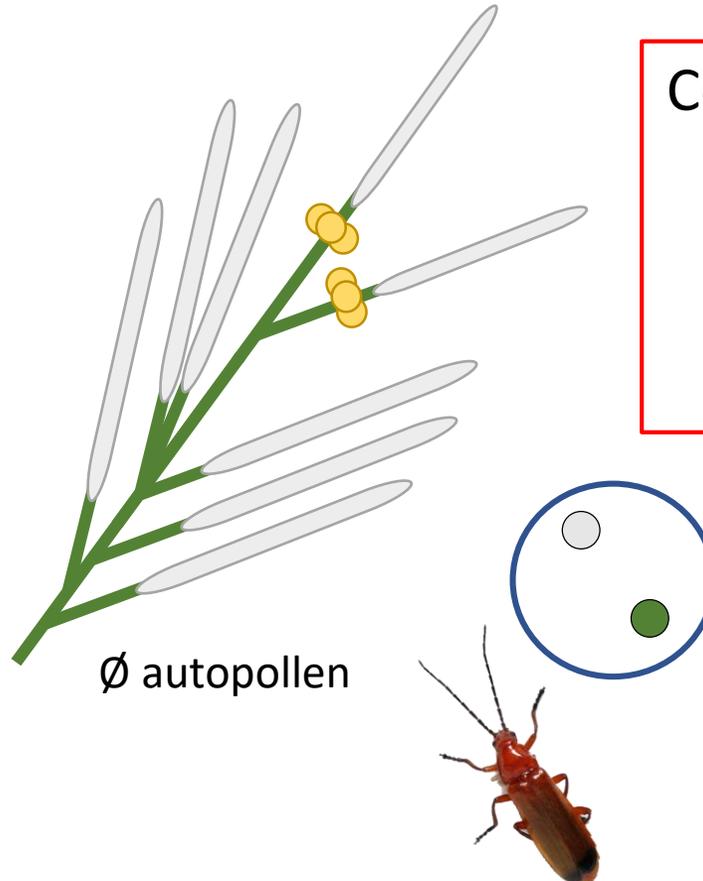
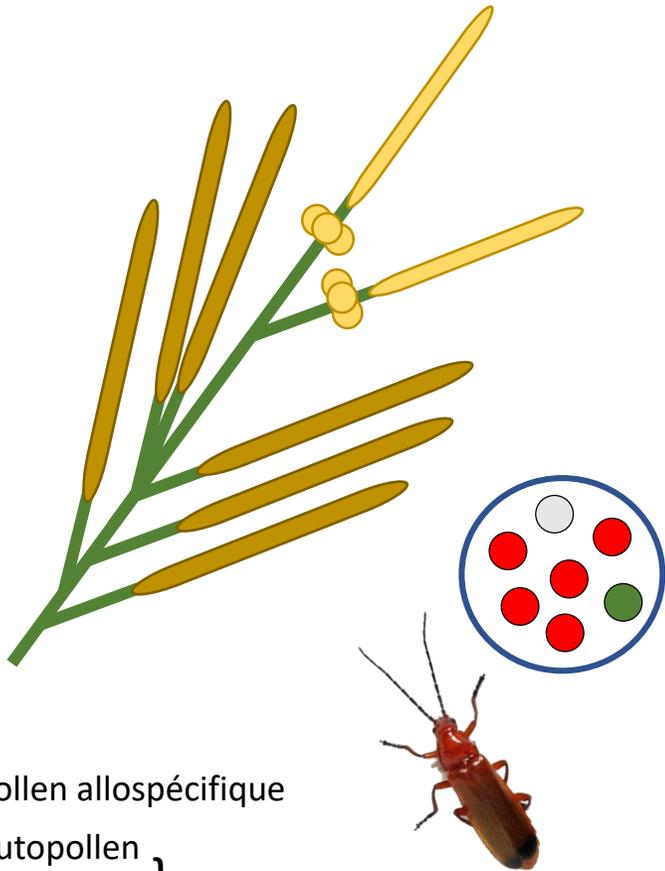
Sarah G.



Comparer charge en pollen des téléphores fauves

Mâle-fertile

Mâle-stérile



Comparaison téléphores capturés sur ♂-fertiles / ♂-stériles
 → charge autopollen ?

93,5 %

- Pollen allospécifique
 - Autopollen
 - Allopollen
- } Pollen conspécifique