

Académie d'Agriculture de France

Mercredi 20 Septembre 2023

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

Clément LARUE

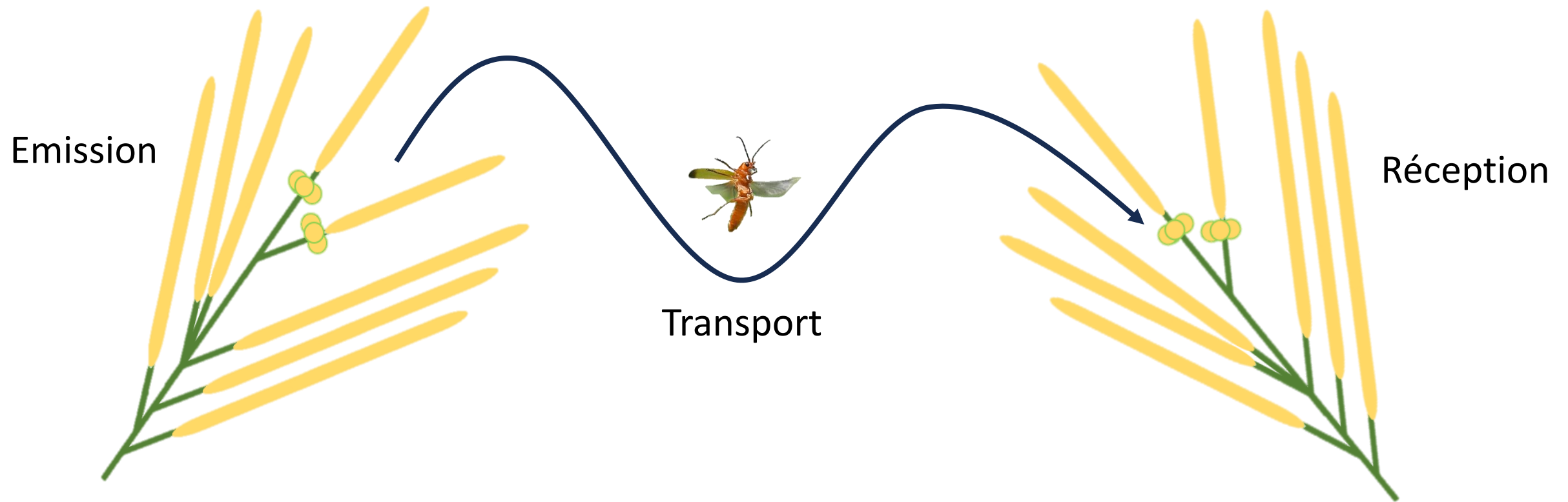
Soutenue le Mercredi 8 Décembre 2021

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



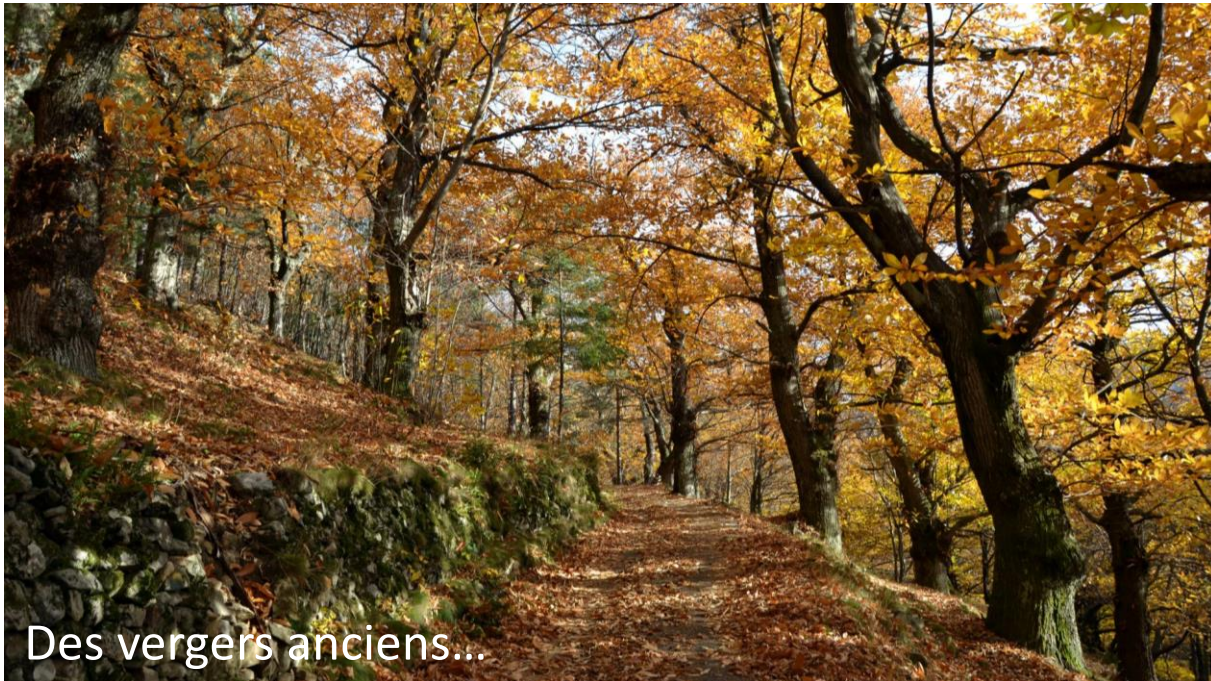
Pérennité du service de pollinisation ?



Des forêts...



Des gros arbres...



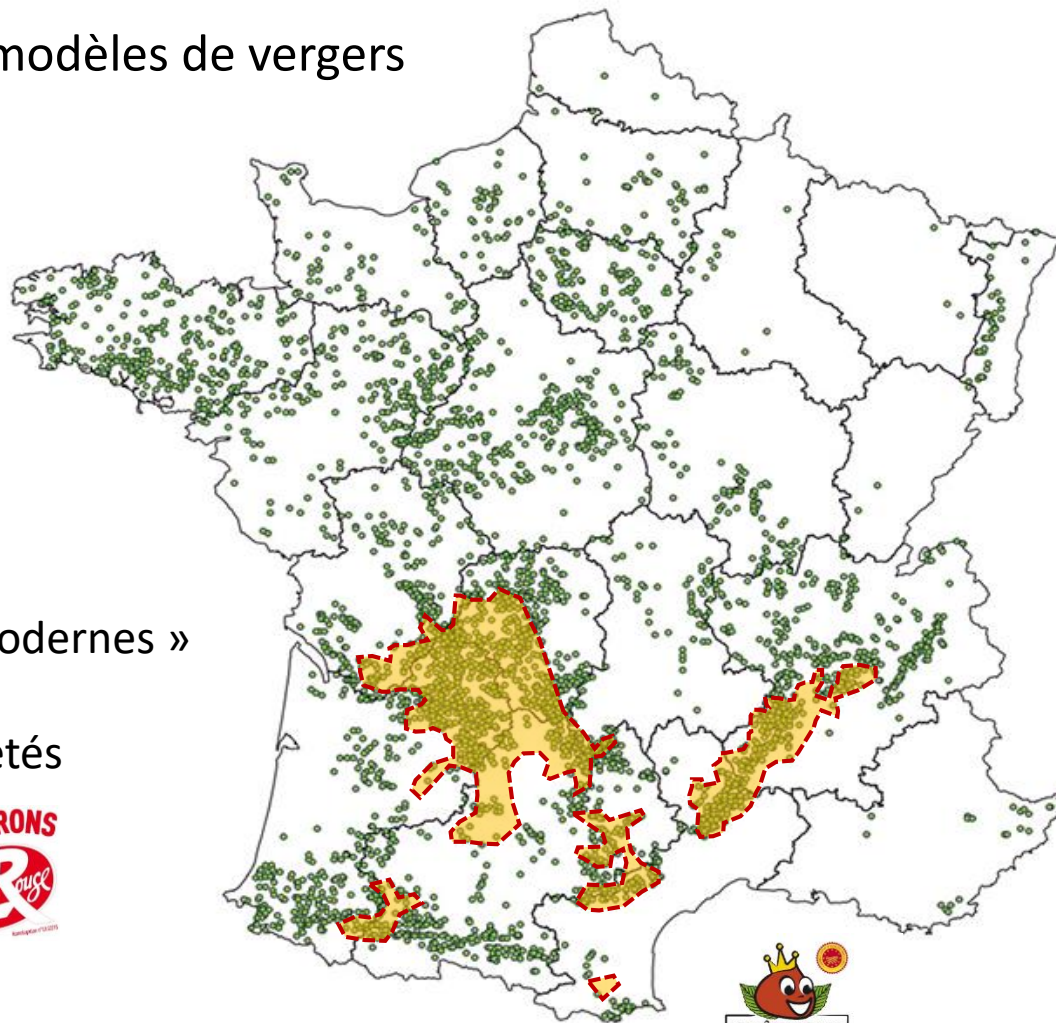
Des vergers anciens...



Des vergers récents...

Introduction

2 modèles de vergers



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

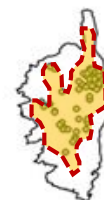


Châtaignier dépérissant
(maladie de l'encre, chancre de l'écorce)

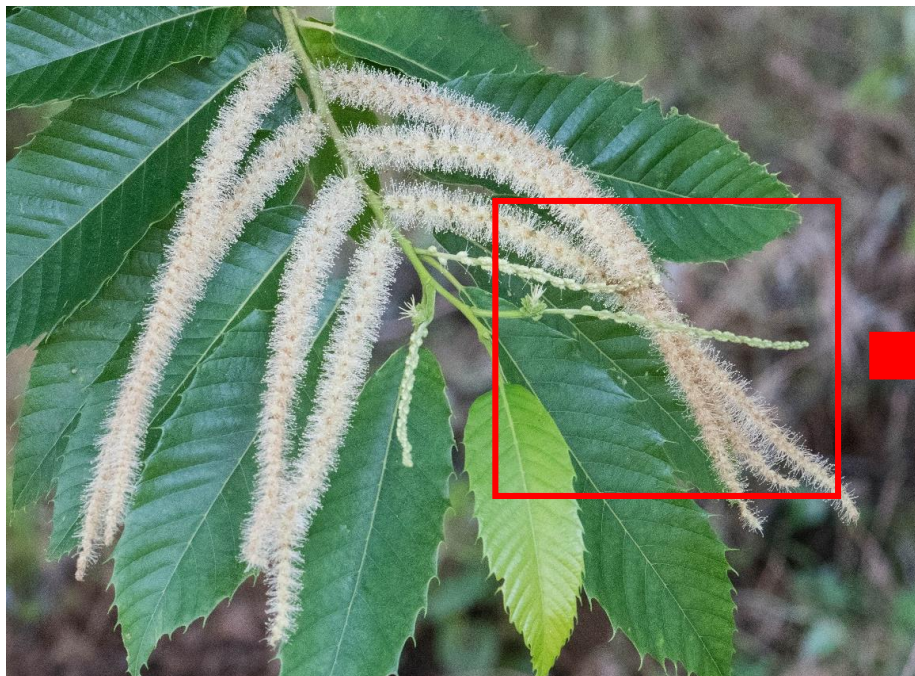
Abandon progressive des vergers...
Révolution = 1 000 000 ha, Aujourd'hui = 10 000ha

Vergers peu productifs. Pourquoi ?

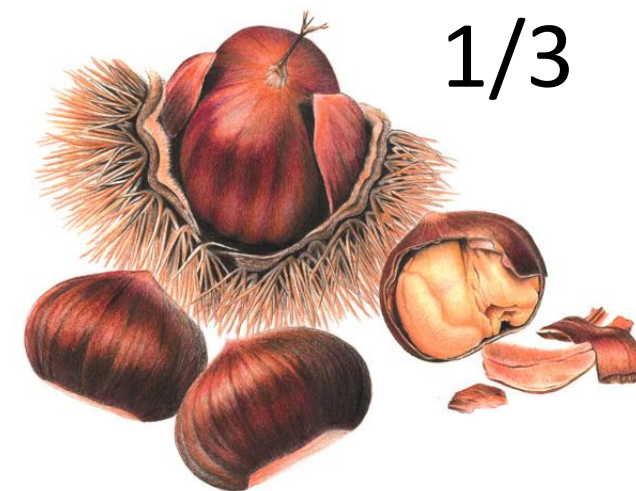
Sud-est, Corse :
Vergers « traditionnels »
Châtaignier européen
Nombreuses variétés



Introduction

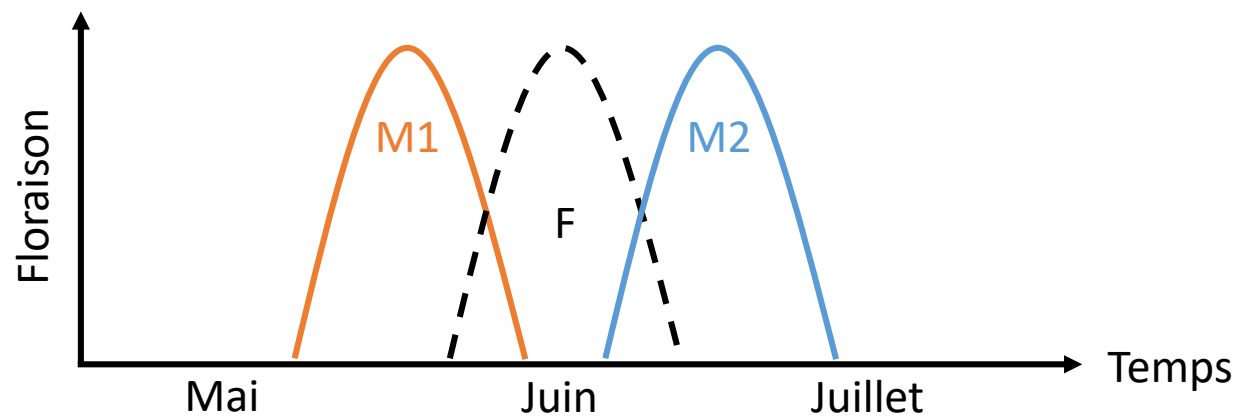


3/3

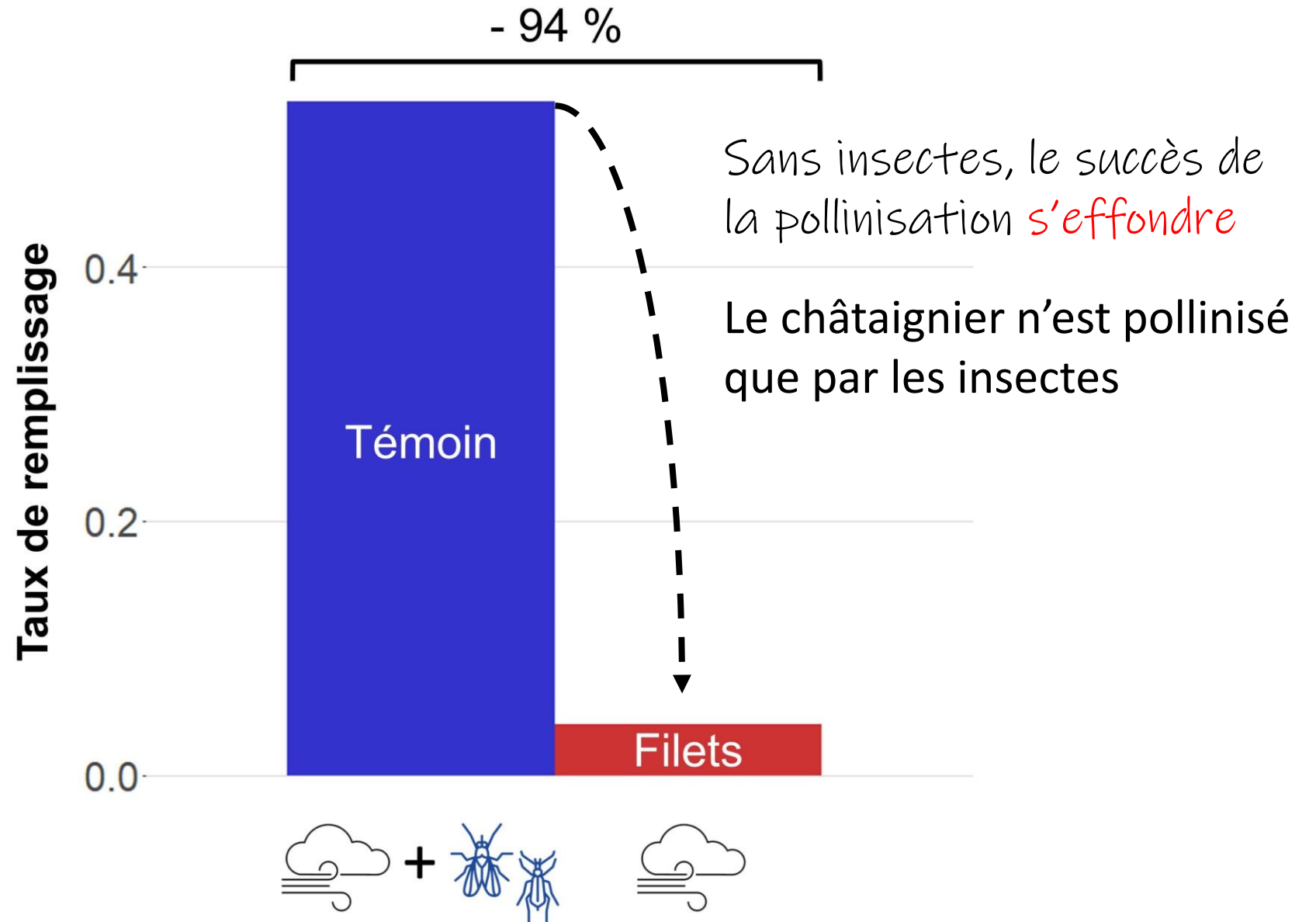


1/3

2 phases d'émission de pollen

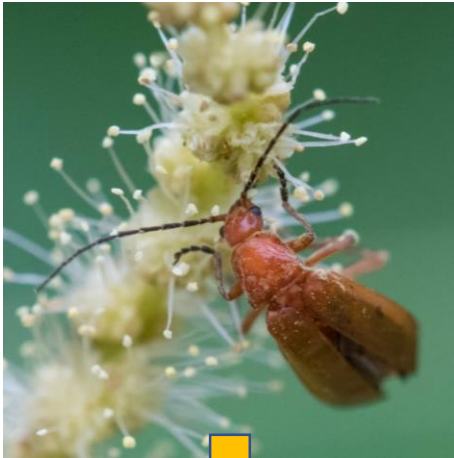


1) Qui pollinise le châtaignier



1) Qui pollinise le châtaignier

Coléoptères



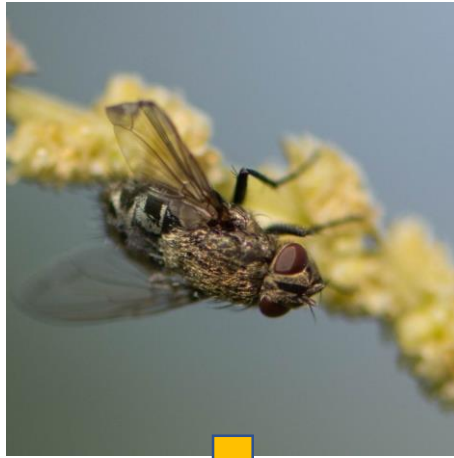
Fleurs mâles



Fleurs Femelles

Téléphore fauve

Mouches à calyptre



Mouche *Pollenia*

Abeilles



Syrphes



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 ?

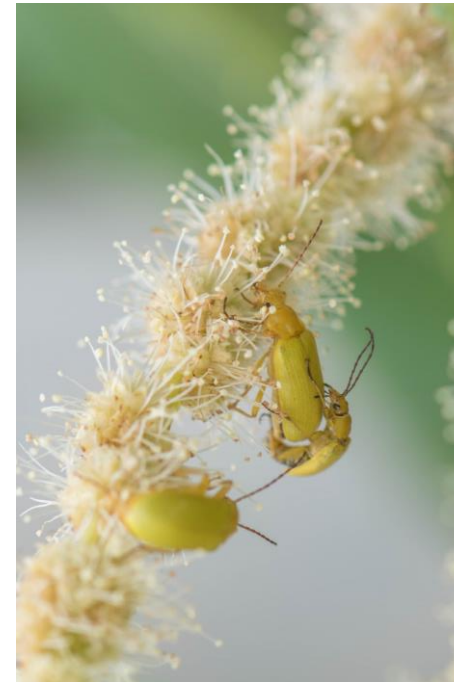
Les châtaigniers produisent \pm de pollen



Astaminées



Brachystaminées



Longistaminées

Mesostaminées

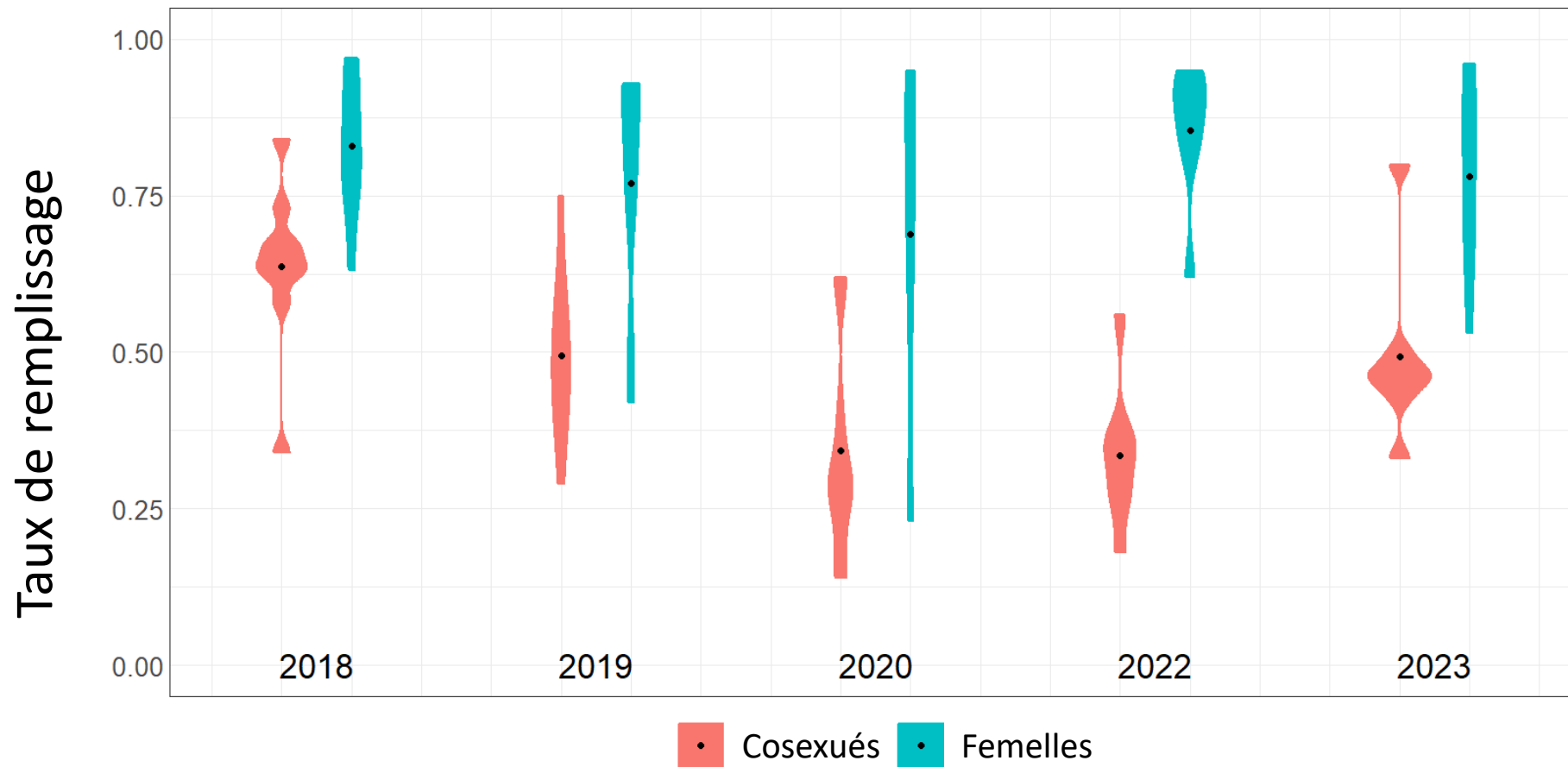
Mâle-**stérile**

Mâle-**fertile**

→ Femelle

→ Cosexué

2) Pourquoi les fruits avortent ?

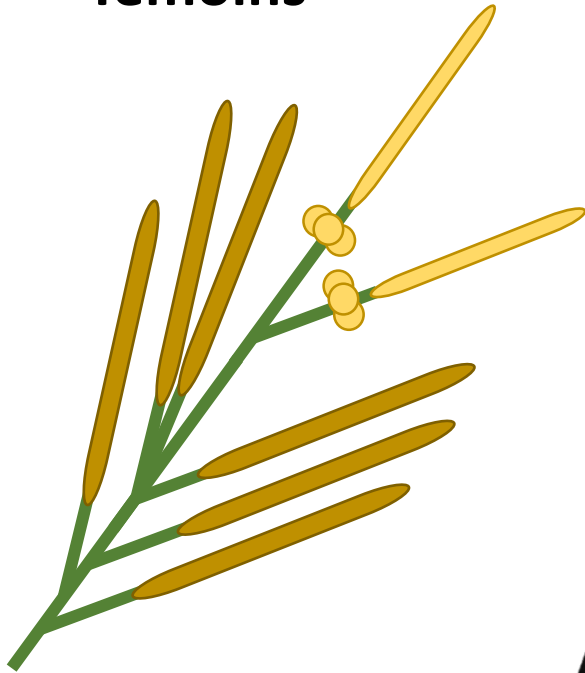


✓ Les cultivars femelles ont un meilleur succès de la pollinisation

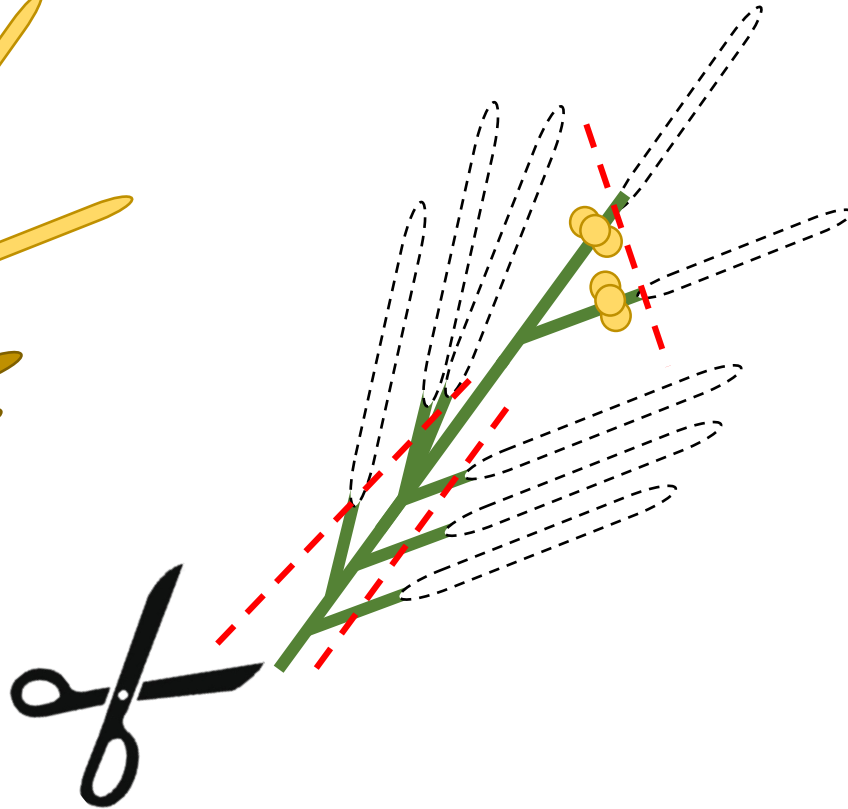
→ Pourquoi ?

2) Pourquoi les fruits avortent ?

Témoins



Émasculés



→ Élimination des chatons

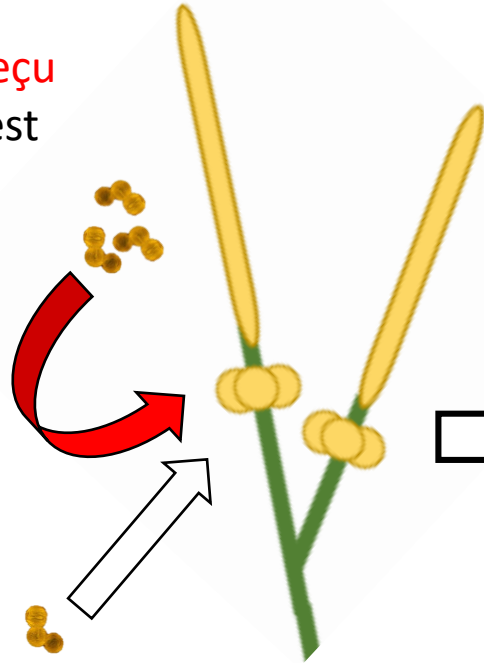
Si on émascule un arbre **cosexué**,
le taux de remplissage **augmente**

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

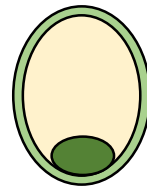
2) Pourquoi les fruits avortent ?

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

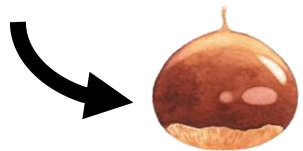
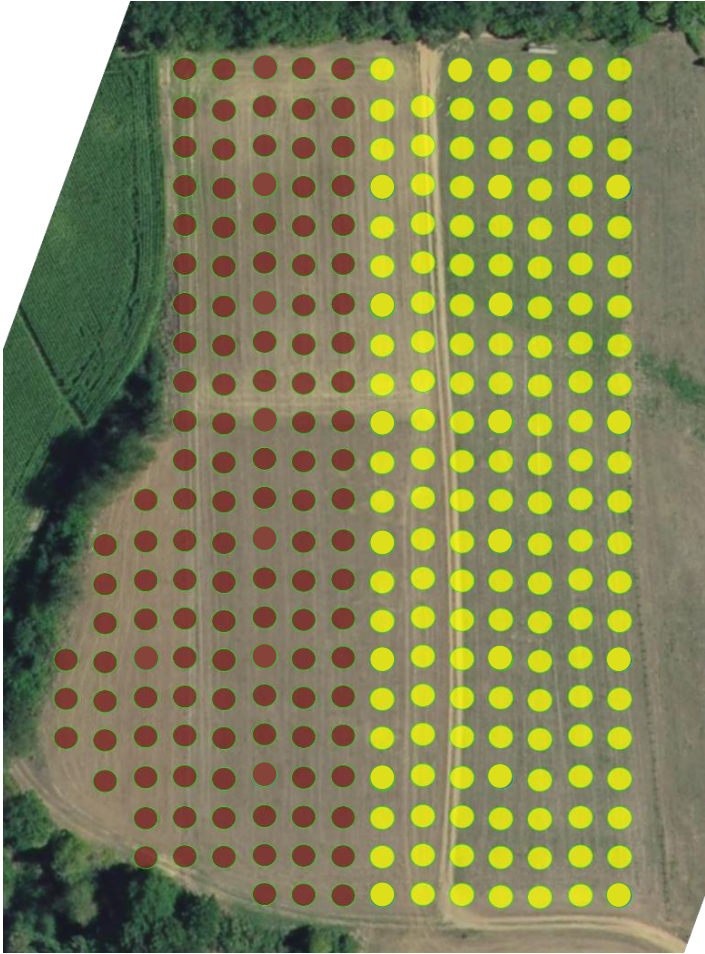
46% des ovules
sont gaspillés



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

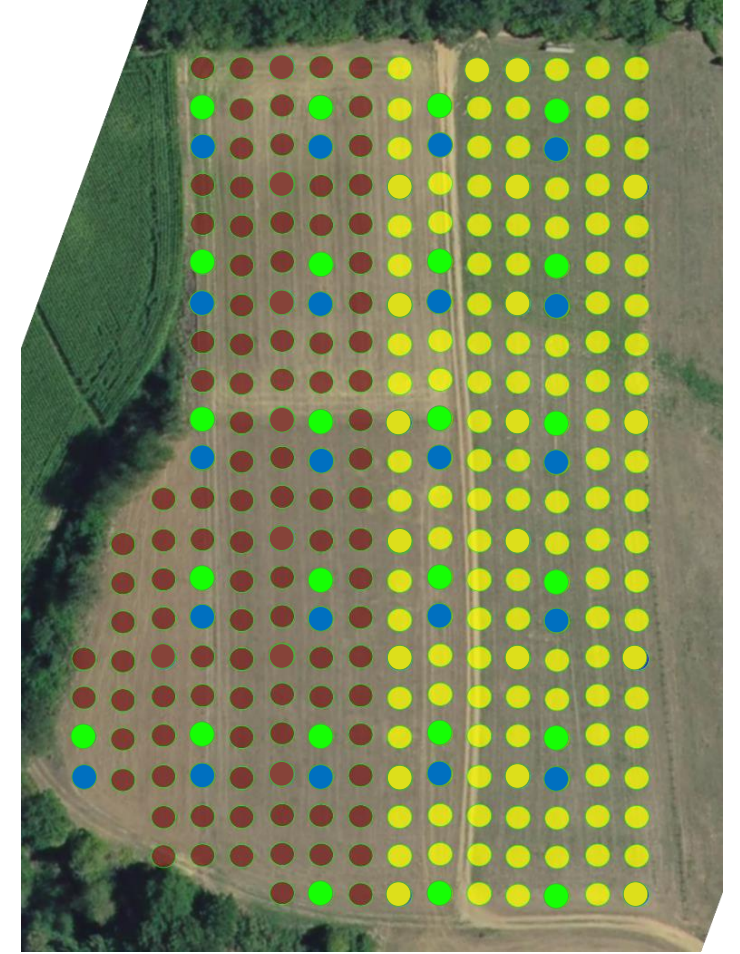
→ Les arbres **femelles** évitent ce problème

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



Remerciements



RÉGION
Nouvelle-
Aquitaine



BFP

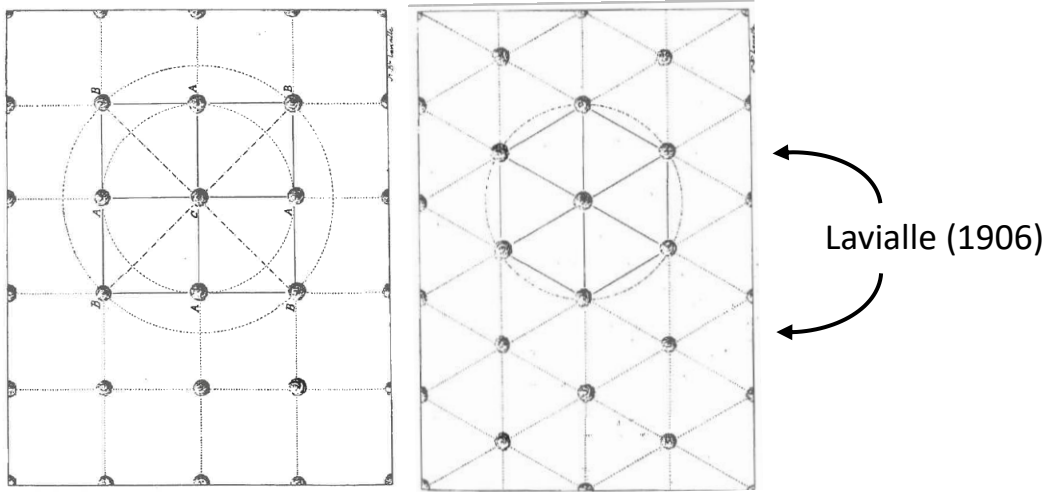


Vous voulez en savoir plus ?
Visitez mon site



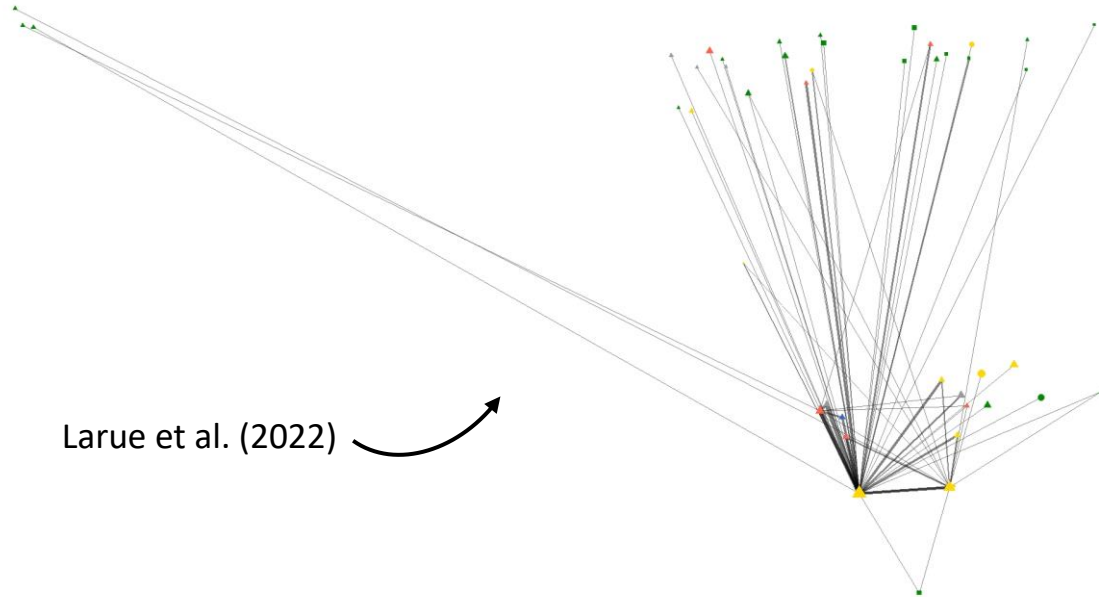
Diapos supplémentaires...

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

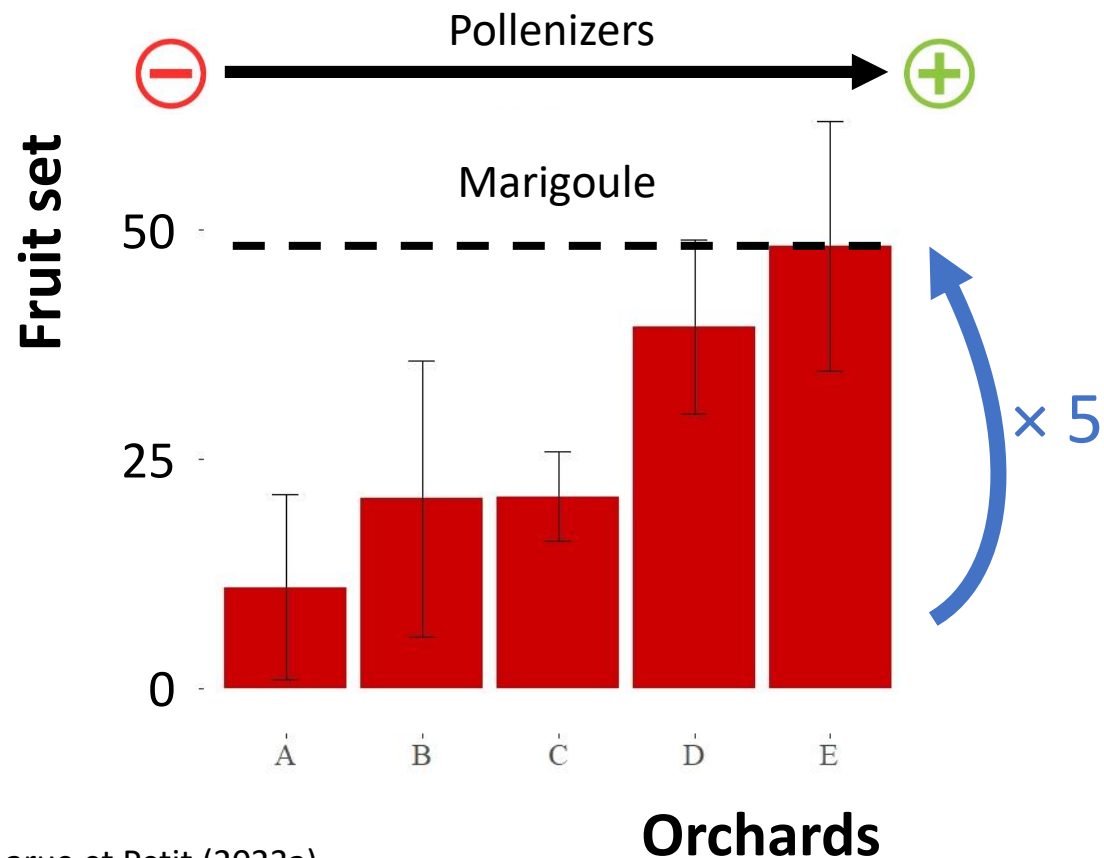
1) Estimate the quality of pollination service

An overview of pollination service

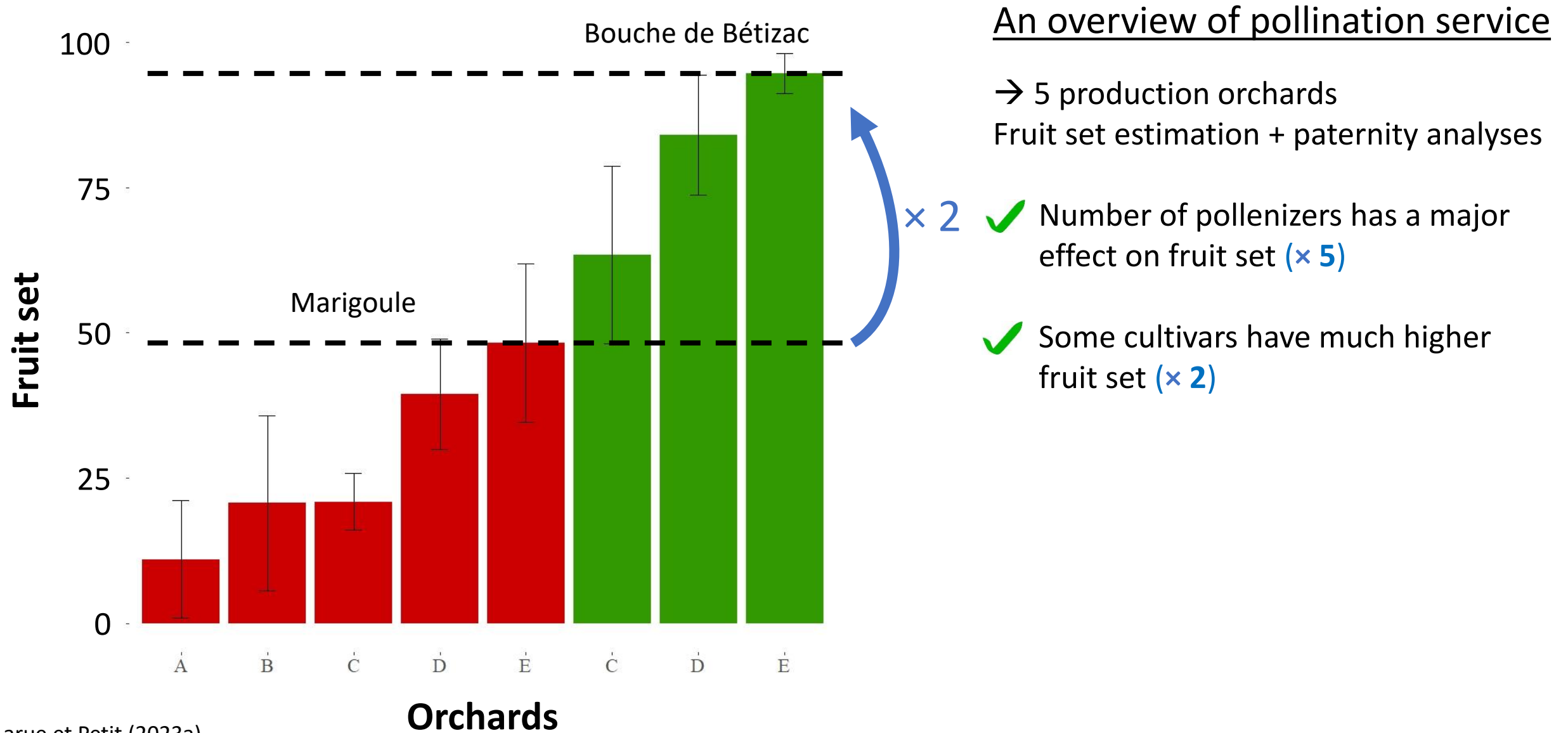
→ 5 production orchards

Fruit set estimation + paternity analyses

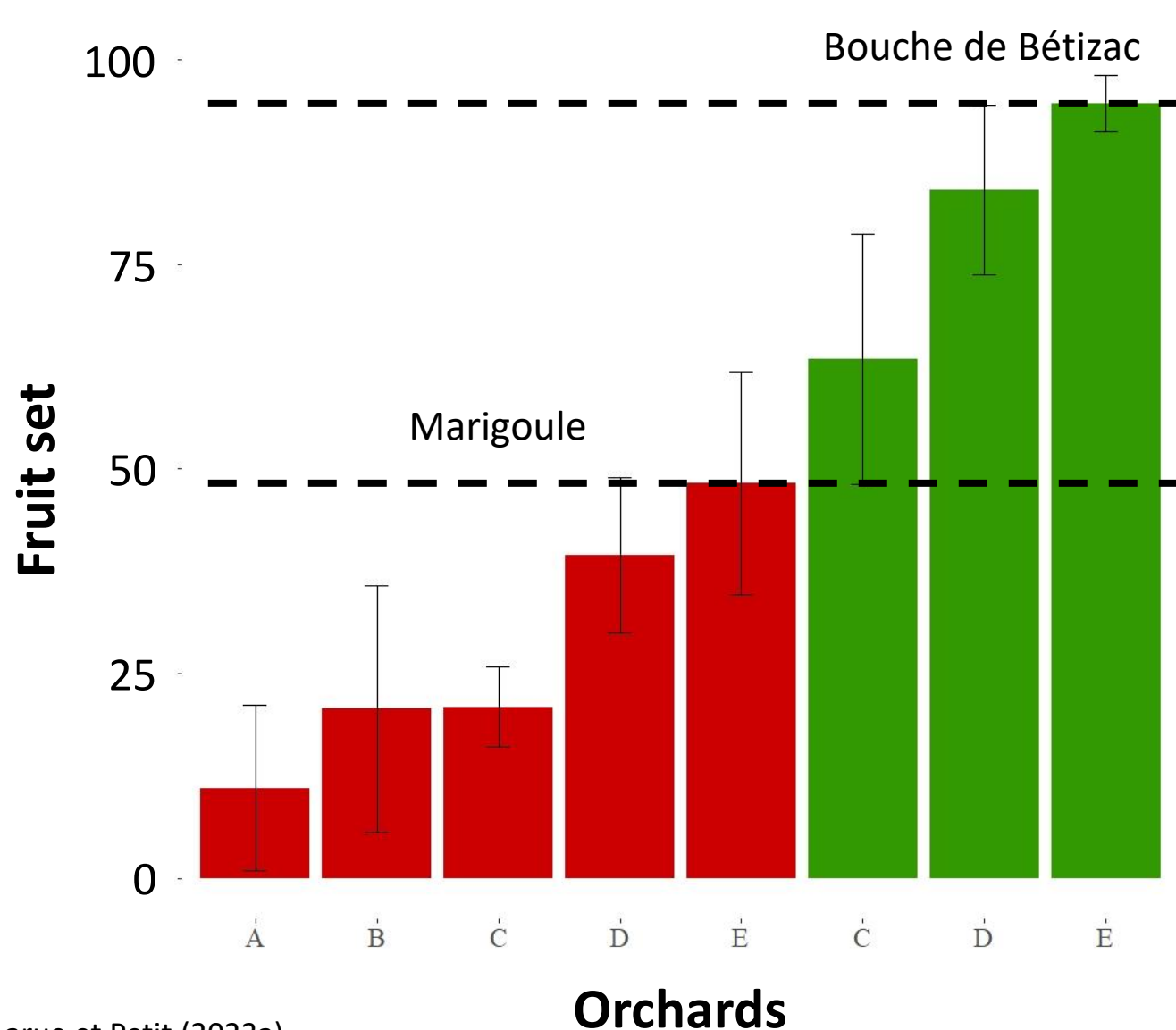
✓ Number of pollenizers has a major effect on fruit set ($\times 5$)



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 ($\times 5$)

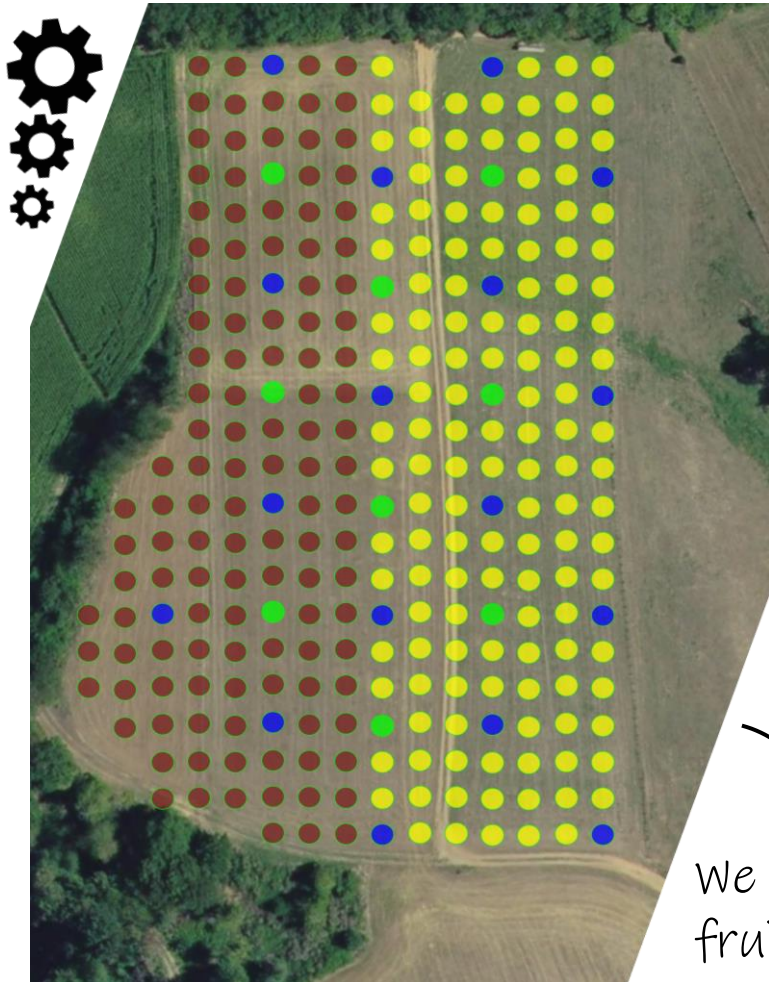
✓ Some cultivars have much higher fruit set ($\times 2$)

✗ 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?"

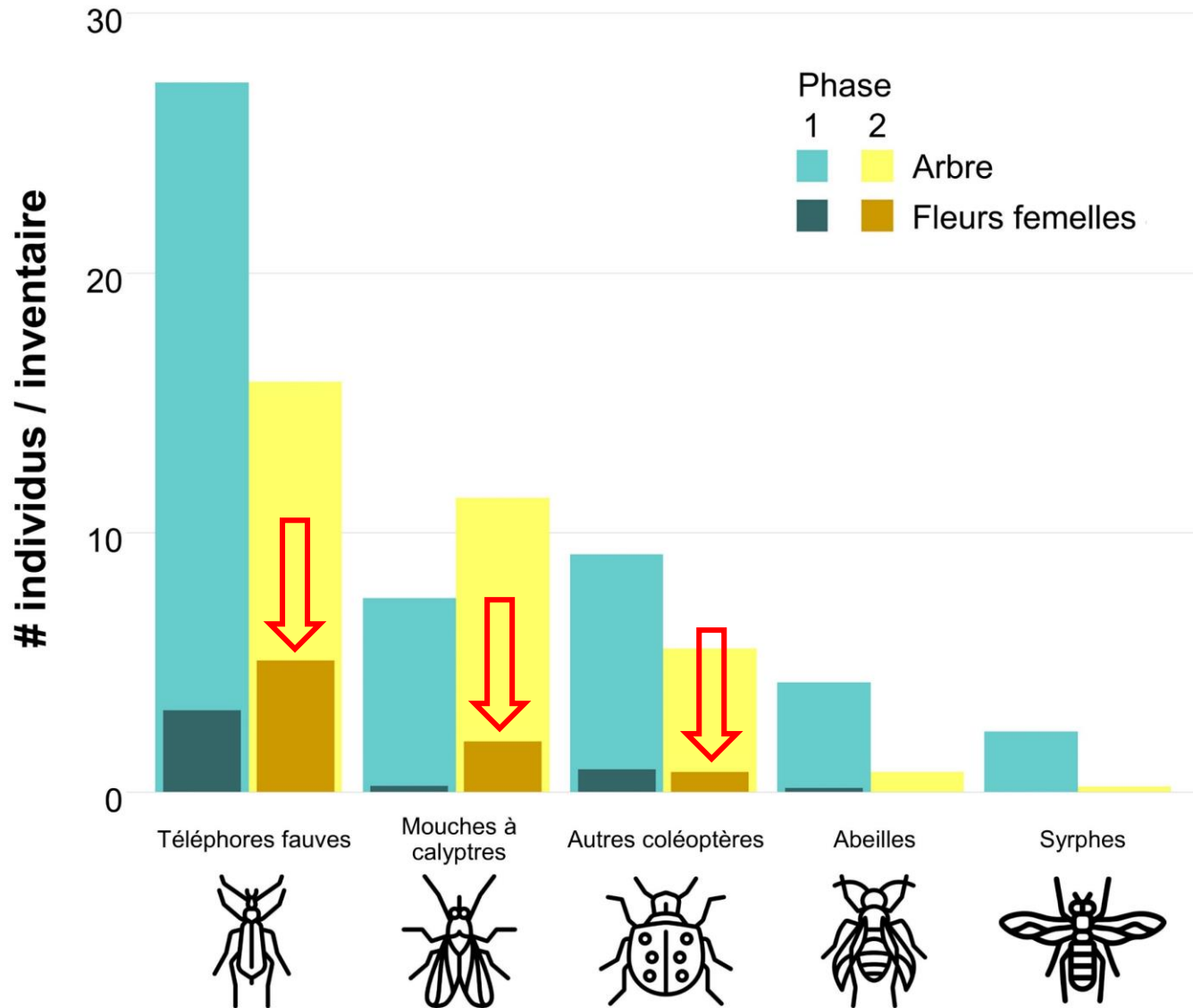


We can simulate fruit set!

- ✗ 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

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



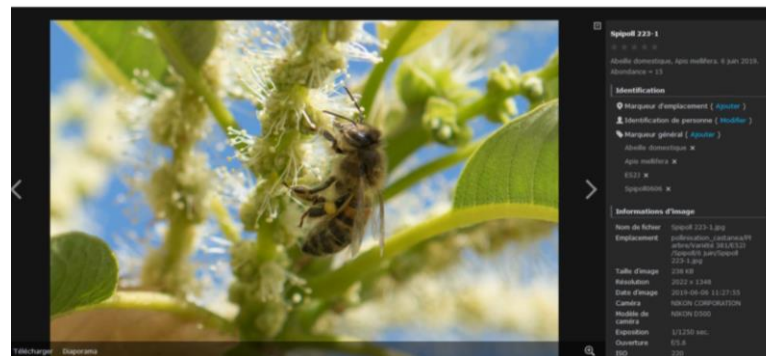
Etape 1

Suivi photo : 20min par arbre



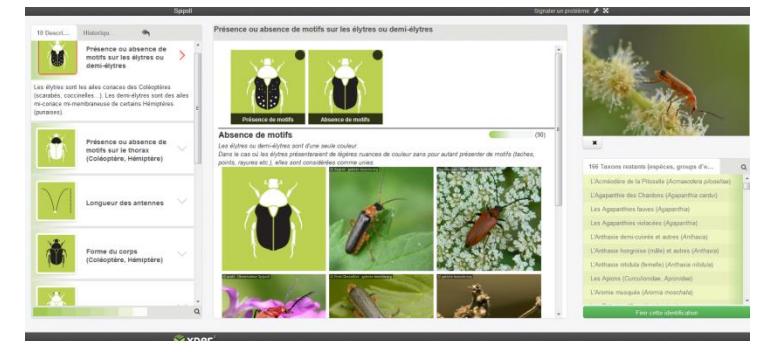
Etape 2

Traitement des photos et
stockage sur une base de données

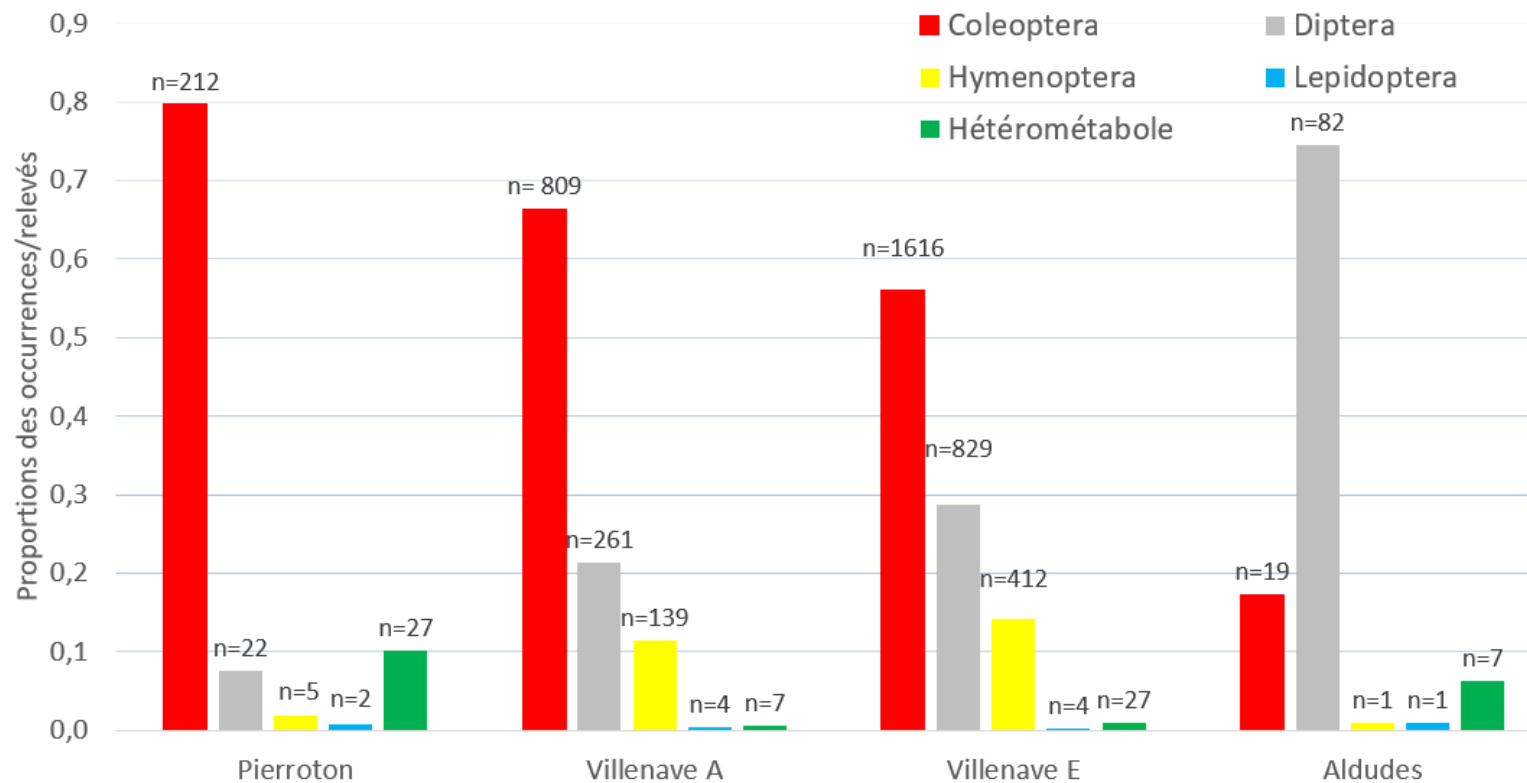


Etape 3

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

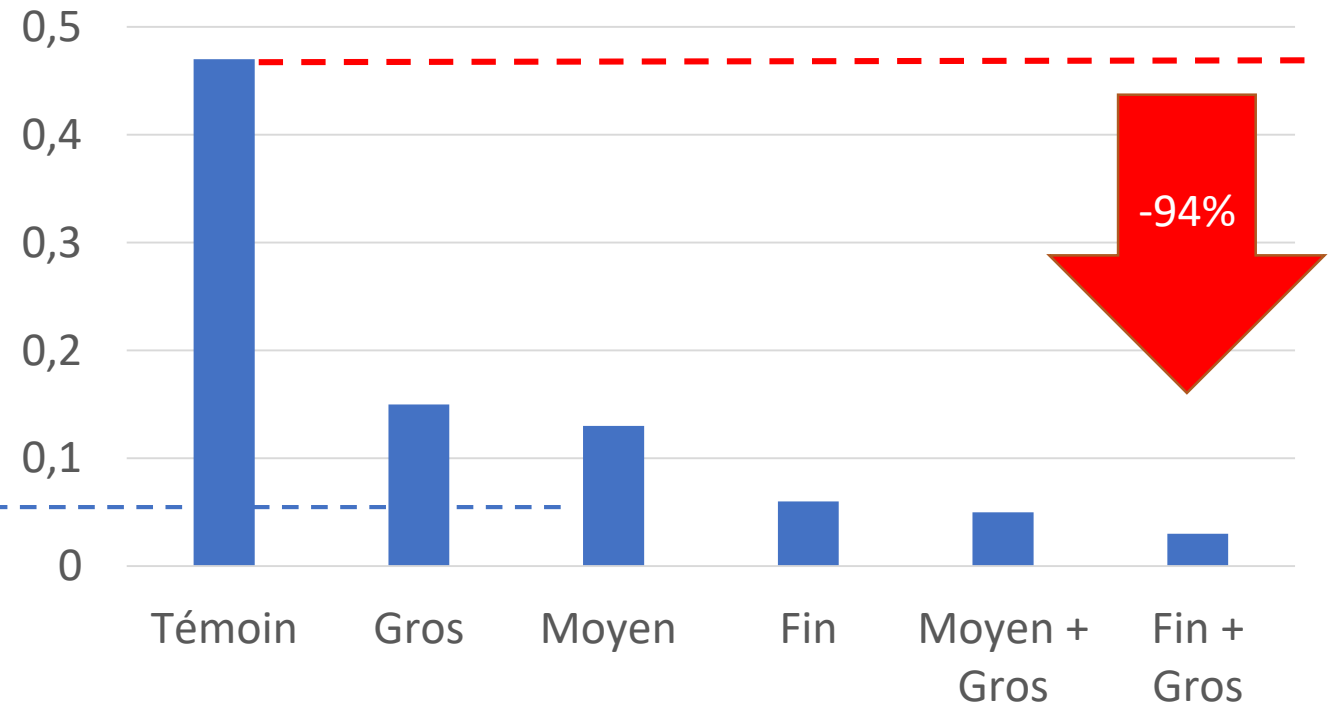
Une espèce purement entomophile

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


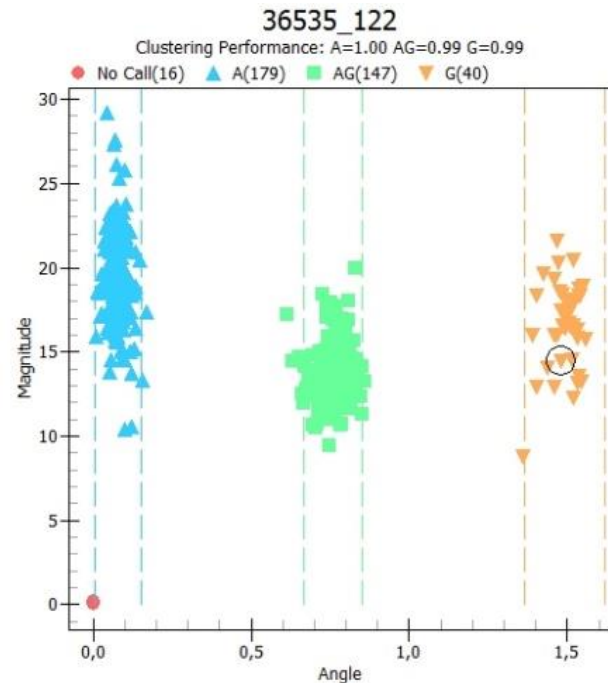

Clément Larue^{1,2}  · Erwan Guichoux¹ · Benoît Laurent¹ · Teresa Barreneche³ · Cécile Robin¹ · Marie Massot¹ · Adline Delcamp¹ · Rémy J. Petit¹ 

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.

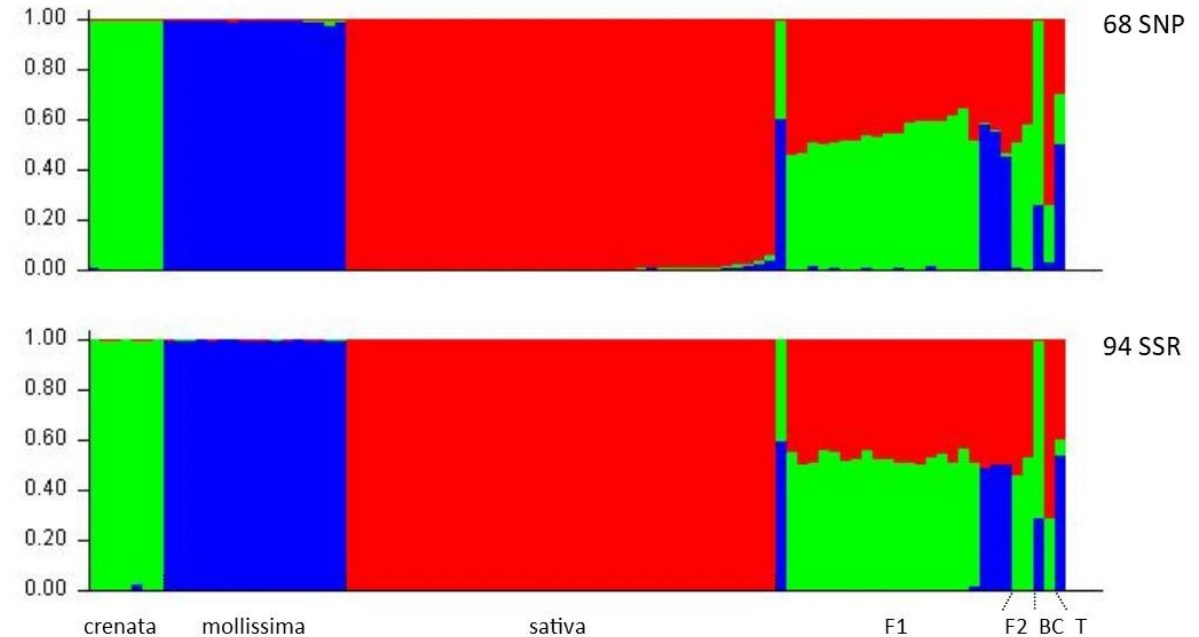

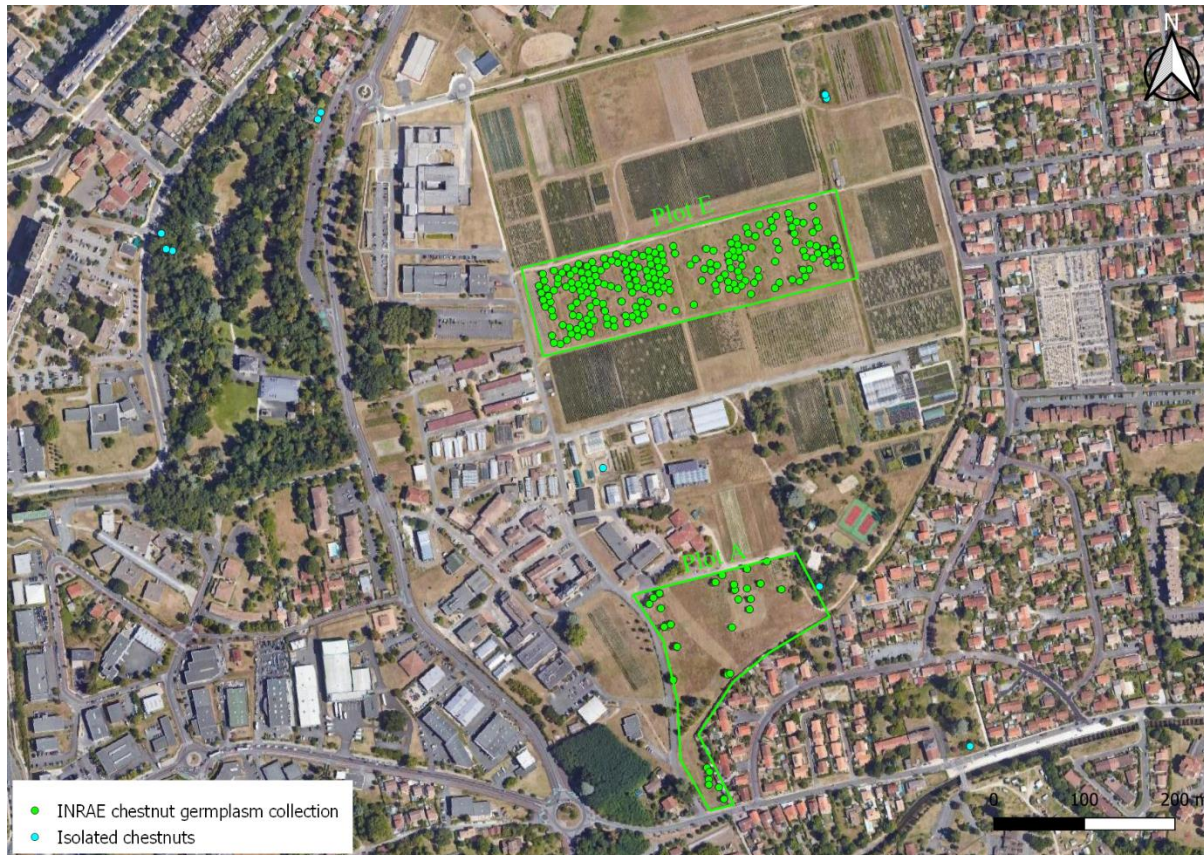


Figure 1: Comparison of species assignment for 91 chestnut trees characterized with 68 SNPs (top) and 94 SSRs (bottom). Results are very similar even though the admixture values of hybrids and other crosses are closer to the expected proportions with SSRs than with SNPs, except for the three-way hybrid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

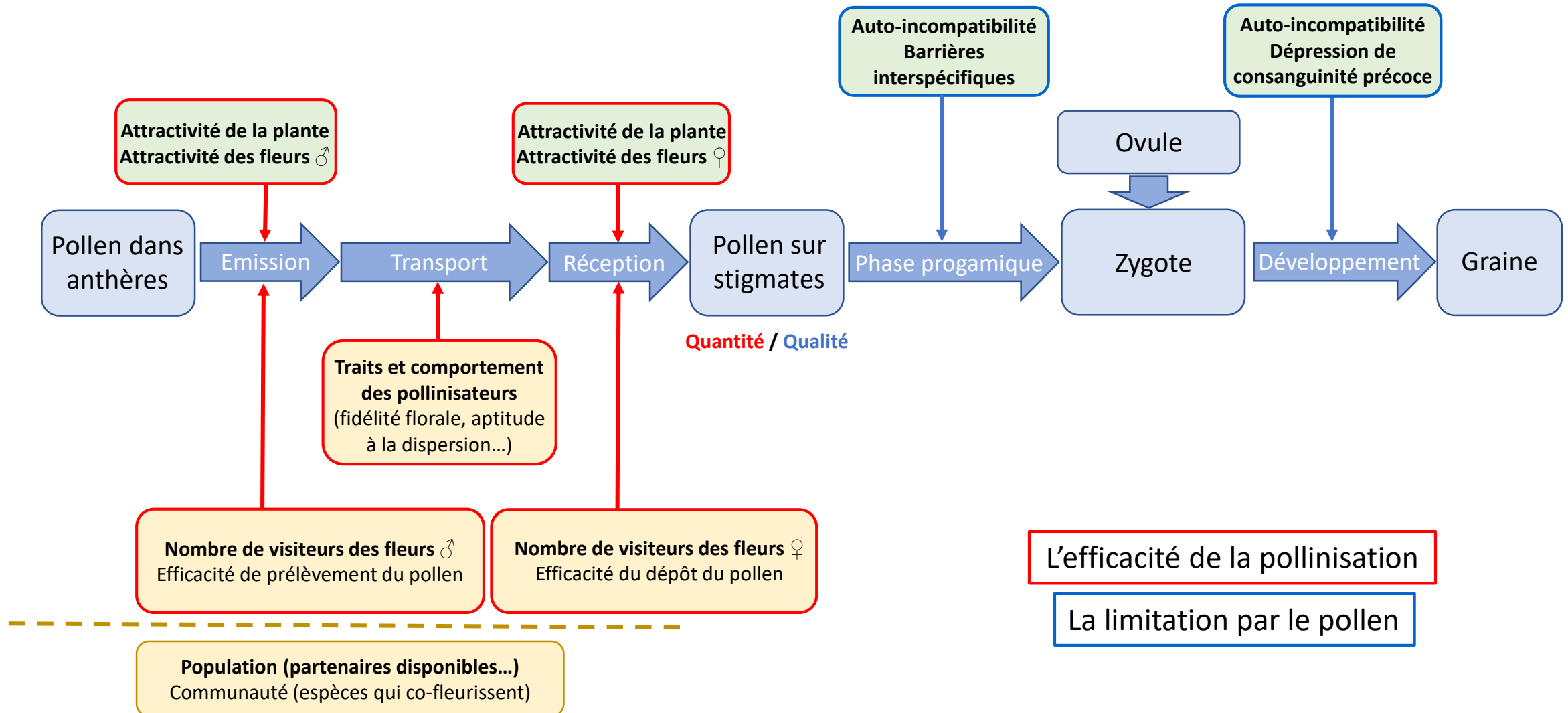
An intensive study plot to investigate chestnut tree reproduction

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



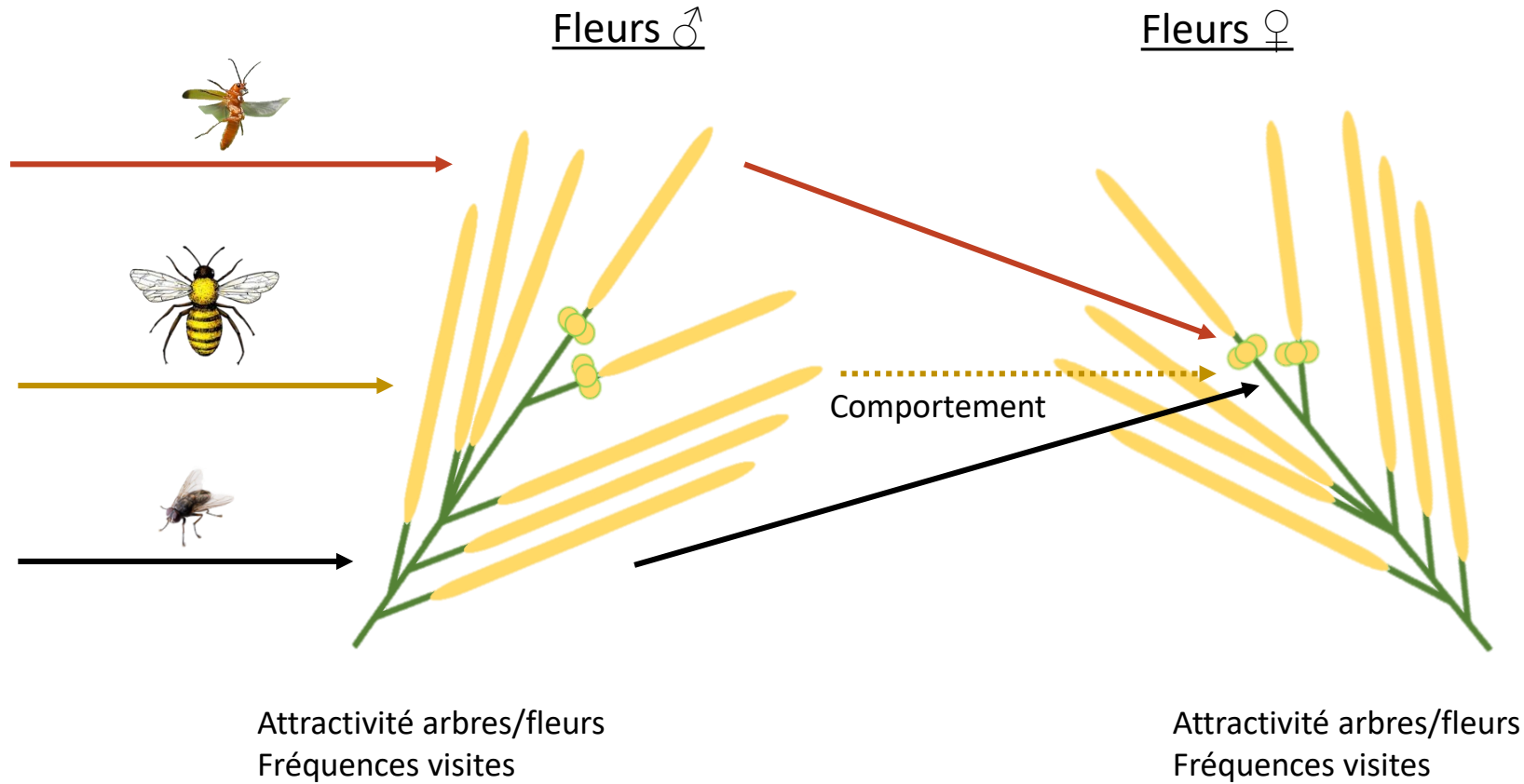
- *1_1_List_Chestnuts.xlsx*
- *1_2_List_INRAE_Chestnuts_Germplasm_Collection.xlsx*
- *2_1_Genotypes.xlsx.*
- *2_2_Genotypes_Genalex_Input.xlsx*
- *3_1_Clonal identification.xlsx*
- *4_1_Consensus_genotypes_Genets.xlsx*
- *5_1_Genotypes_Ramets.xlsx*
- *6_1_Species_Identification_Genets.xlsx*
- *7_1_Chestnuts_Phenotypes. 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

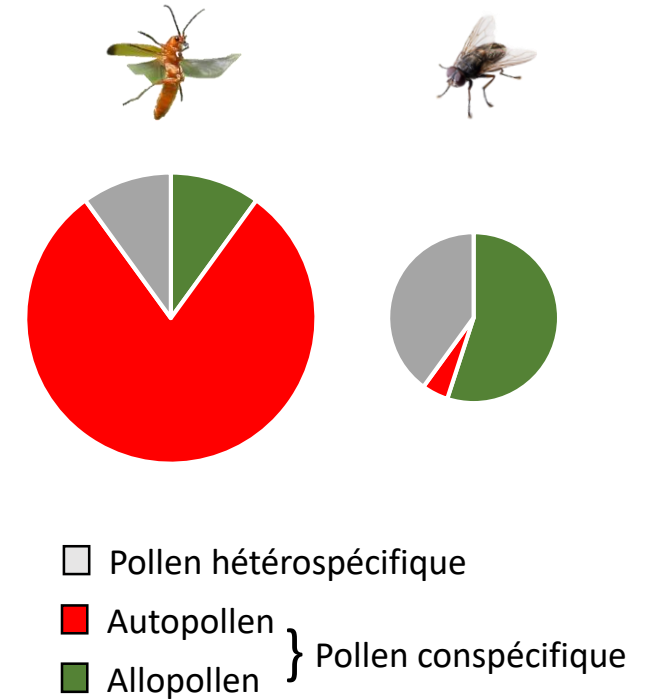


Introduction

L'efficacité des pollinisateurs

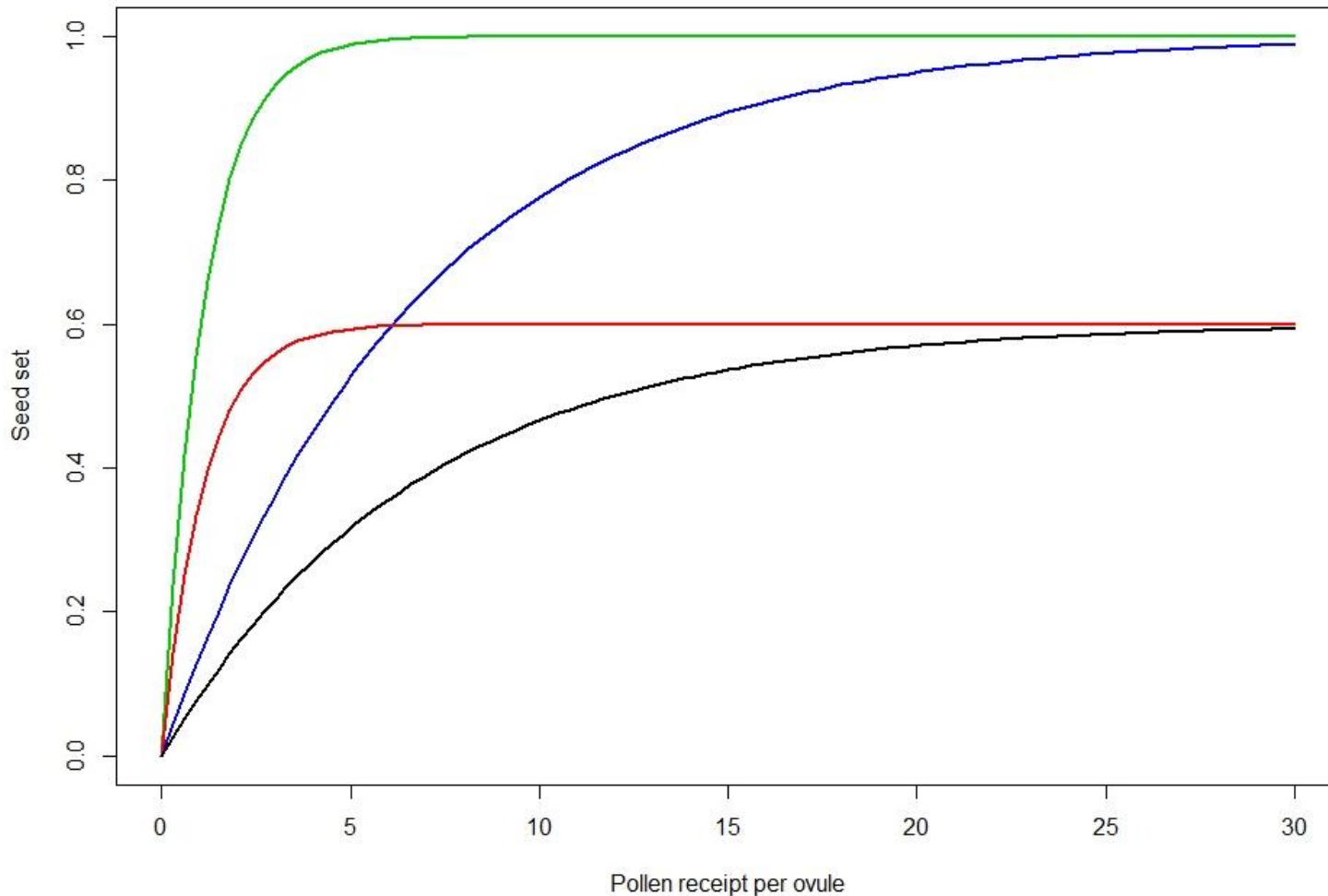


Charge en pollen



Introduction

La limitation par le pollen



Limitation par la quantité seule

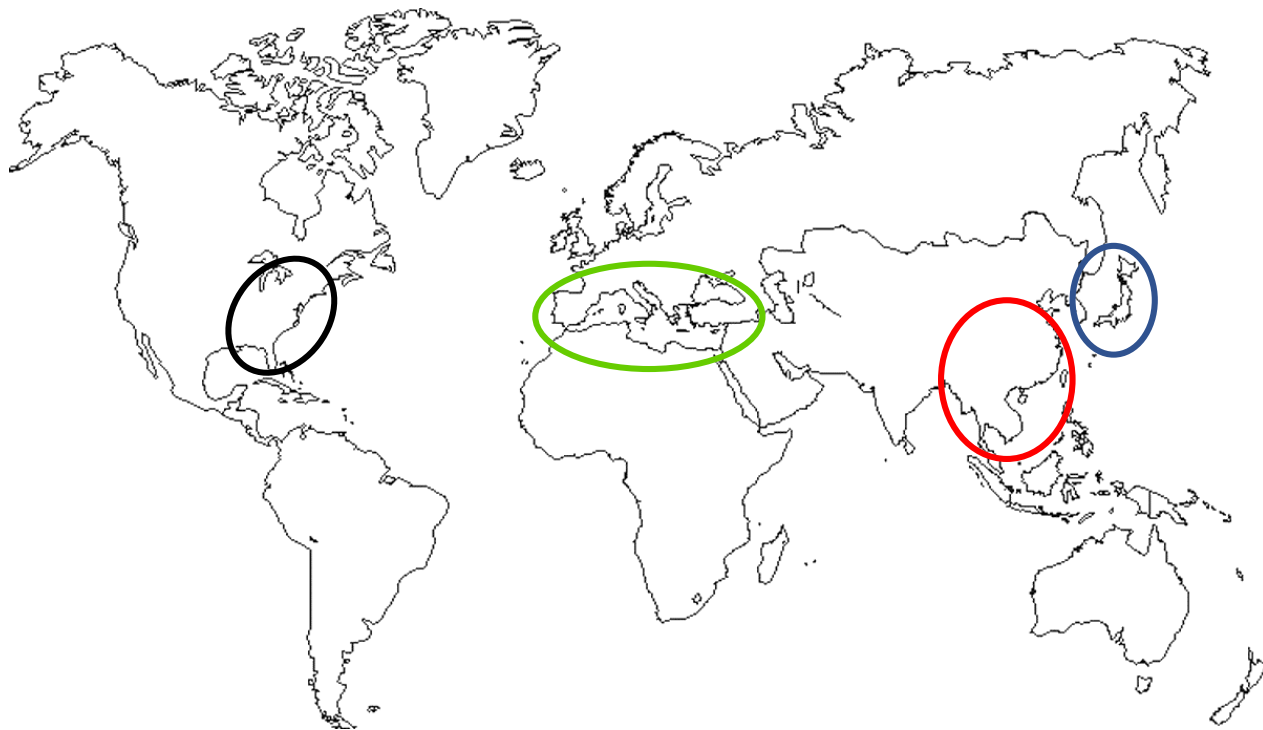
+ problème de qualité (sans interférence)

+ problème de qualité (avec interférence)

+ problèmes de qualité

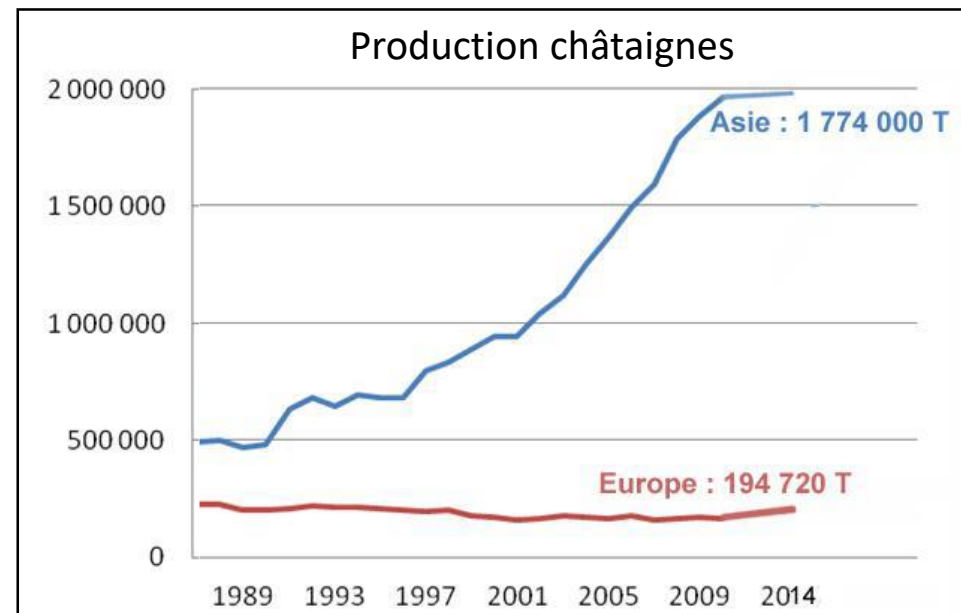
Introduction

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



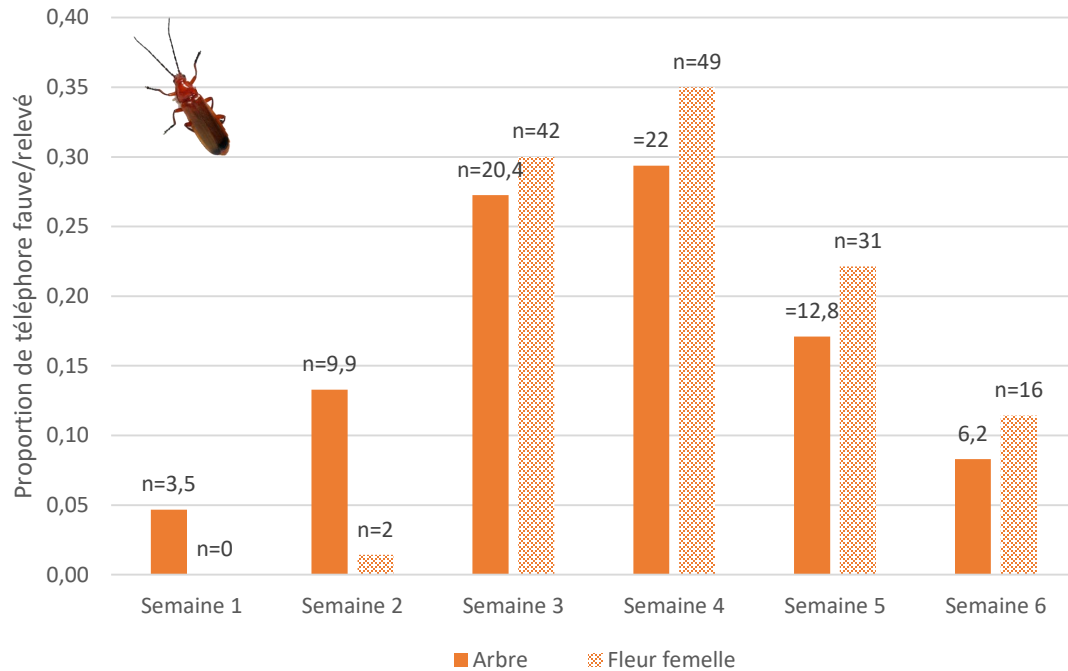
Châtaignier américain = écologiquement éteint
→ Chancre de l'écorce

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

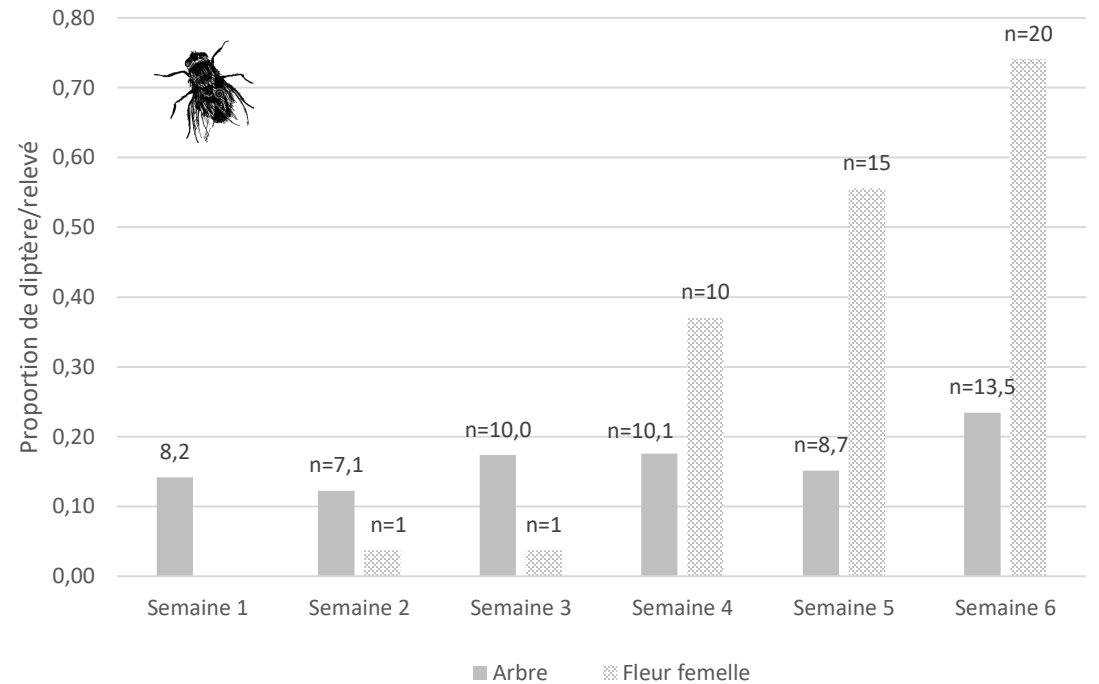
Châtaigniers chinois et japonais = résistants
→ Croisements interspécifiques avec châtaigniers européens

Mon post-doctorat...

2. Prendre en compte la qualité du pollen



Sur fleurs ♀ : 11% vols, courts passages

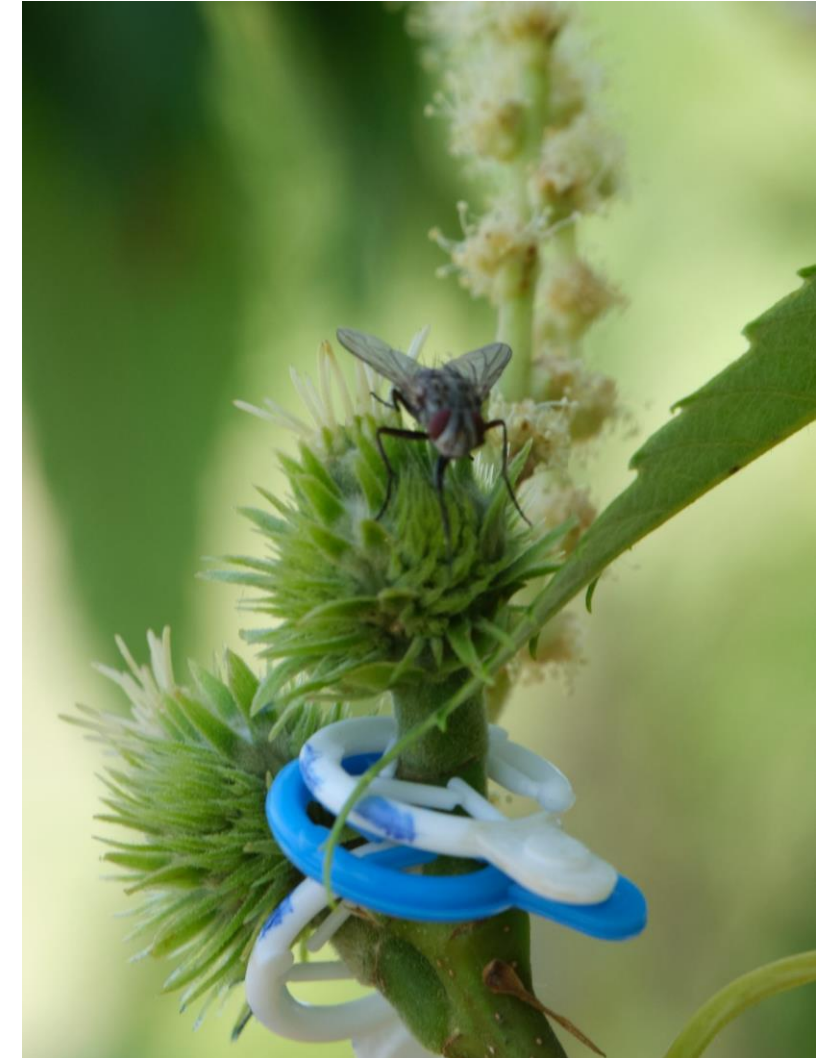


Sur fleurs ♀ : 64% vols, moyens/longs séjours

Comportements différents = efficacités différentes ?

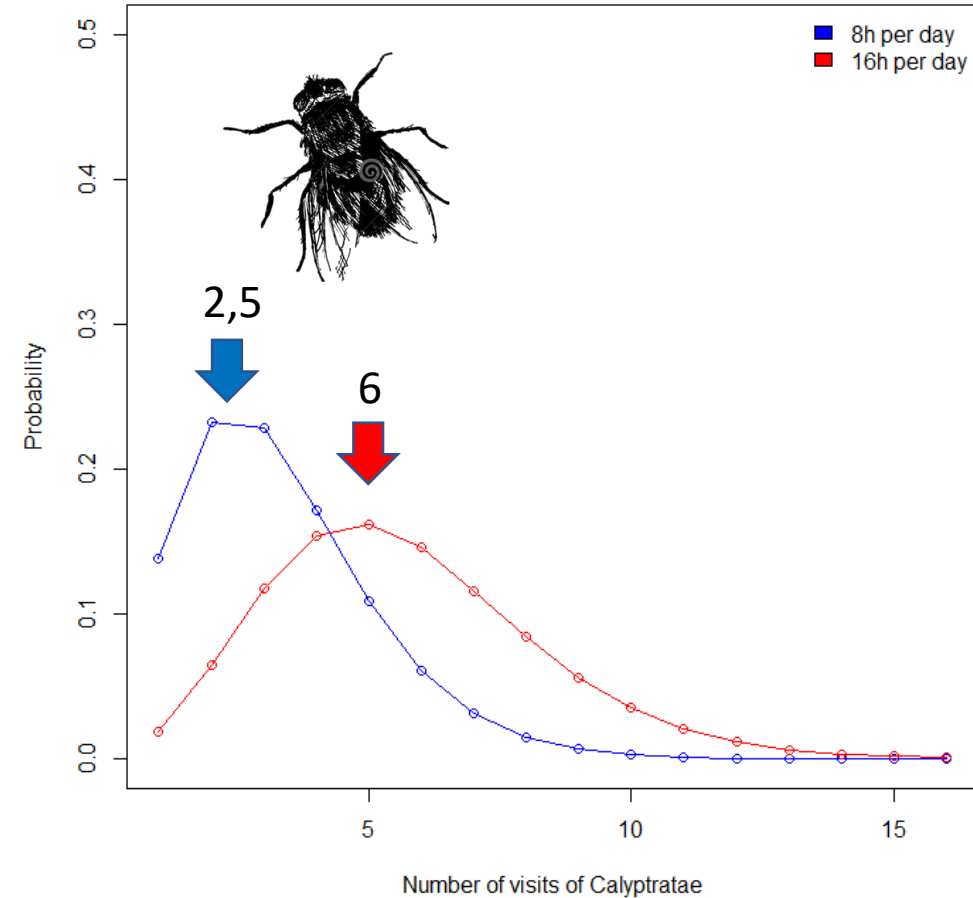
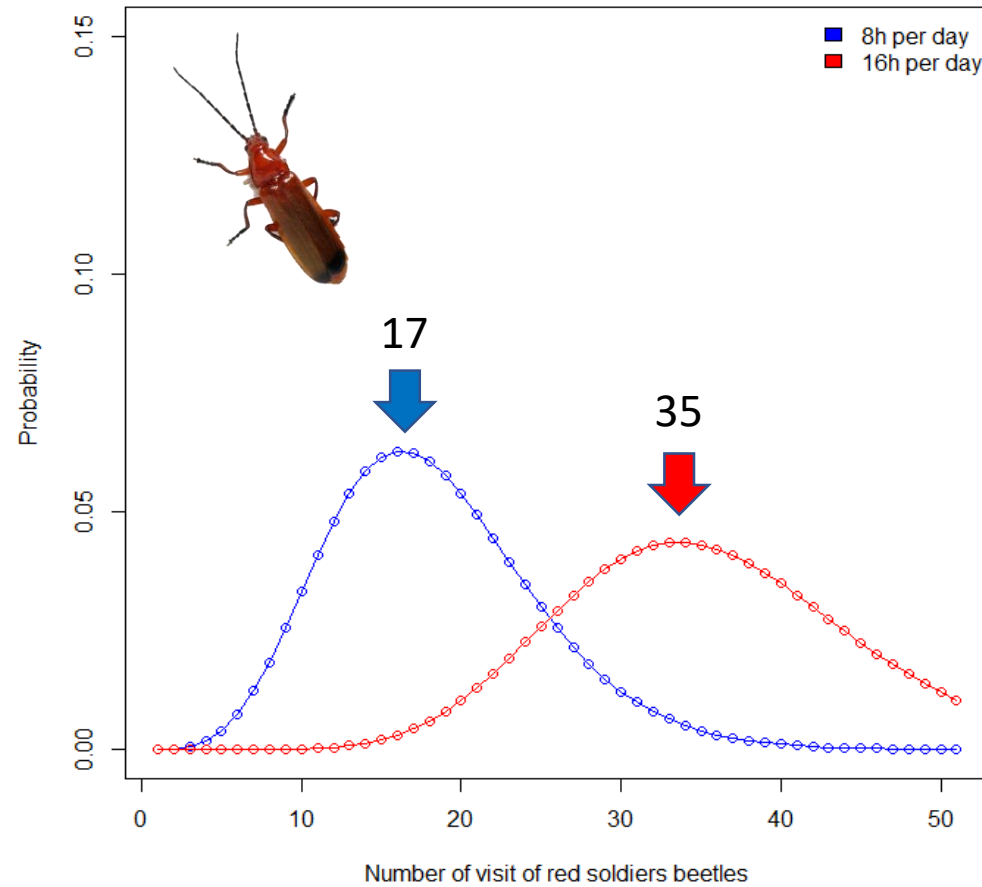
2. Fonctionnement de la pollinisation

a) Identification des insectes impliqués dans la pollinisation



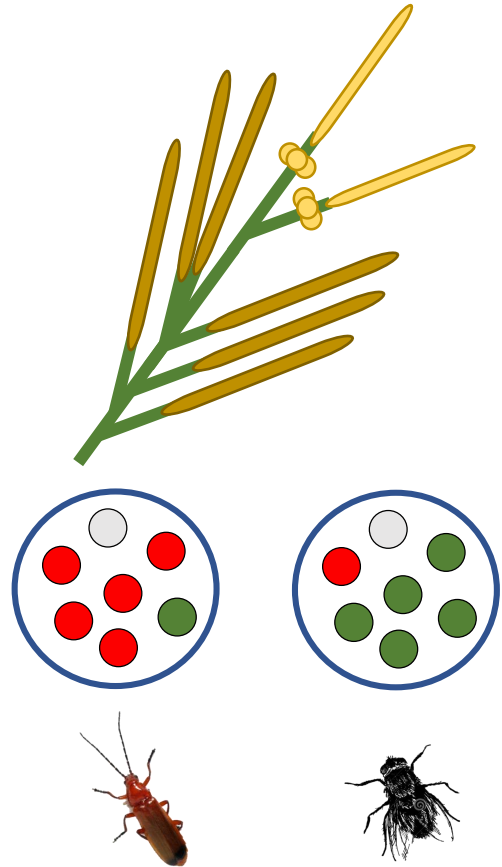
2. Fonctionnement de la pollinisation

a) Identification des insectes impliqués dans la pollinisation



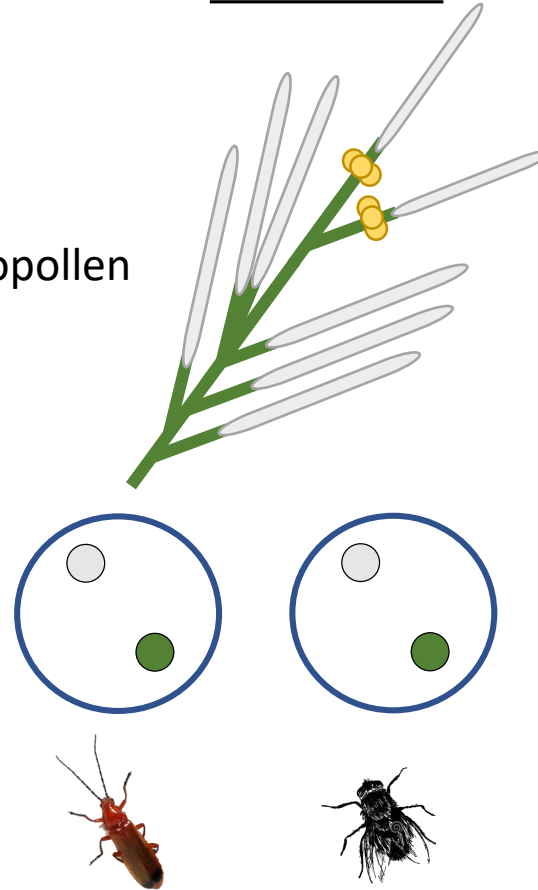
Expériences en cours...

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

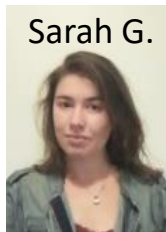
Zygote

Développement

Graine



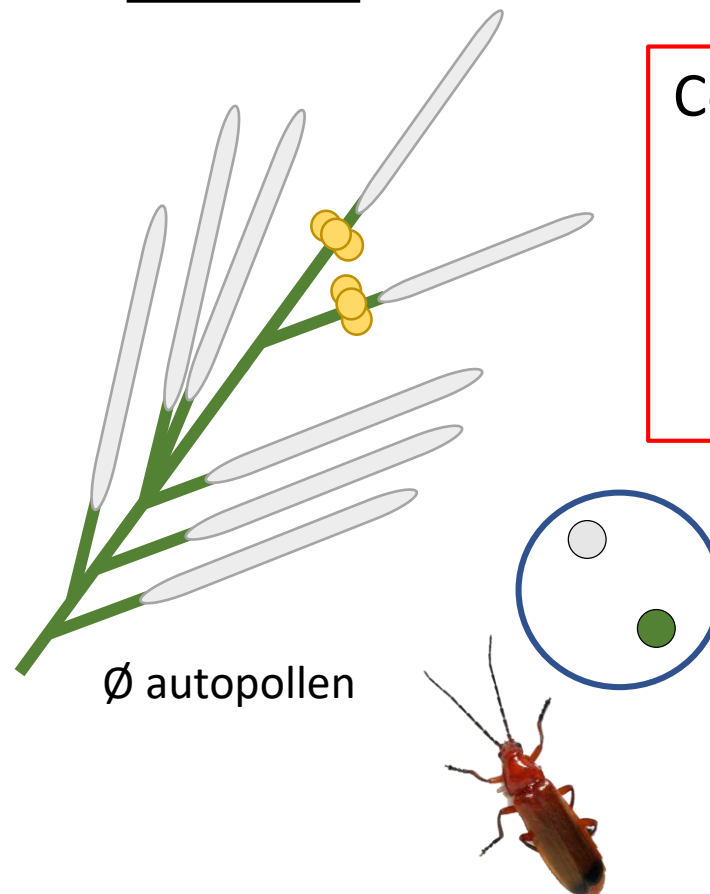
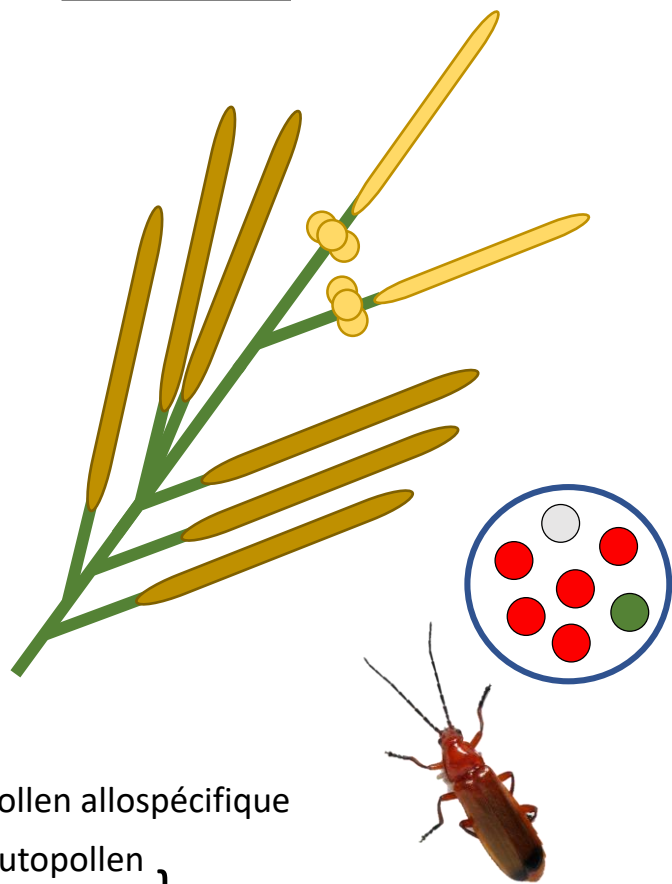
4. La charge en pollen des insectes



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