



**HAL**  
open science

## La pollinisation chez l'anémone sylvie, *Anemone nemorosa* L.

Coralie Dalaigre

► **To cite this version:**

Coralie Dalaigre. La pollinisation chez l'anémone sylvie, *Anemone nemorosa* L.. Sciences de l'environnement. 2011. hal-02595982

**HAL Id: hal-02595982**

**<https://hal.inrae.fr/hal-02595982v1>**

Submitted on 15 May 2020

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Rapport de stage de 2<sup>ème</sup> année de Master Ecosystèmes terrestres

# La pollinisation chez l'anémone sylvie, *Anemone nemorosa* L.

Coralie DALAIGRE  
Sous la direction d'Anders MÅRELL

Cemagref de Nogent sur Vernisson, UR EFNO<sup>(1)</sup>

Du 24 janvier au 24 juin 2011



<sup>1</sup>Cemagref, Unité de Recherche Ecosystèmes Forestiers, Domaine des Barres, 45290 Nogent-sur-Vernisson, France

## Résumé

L'anémone sylvie (Renonculaceae) est une des géophytes printanières pérennes les plus répandues dans les forêts caducifoliées d'Europe. Cette espèce auto-incompatible possède des fleurs sans nectar pollinisées par le vent, les abeilles, les bourdons et les coléoptères. Elle fleurit précocement au printemps, quand les pollinisateurs ne sont pas encore abondants. Elle regroupe donc toutes les caractéristiques pouvant la rendre sensible à la limitation en pollen, donc vulnérable aux changements globaux. Ici, nous explorons d'abord l'effet de différents types de pollinisations sur la production de graines *in-situ*, afin de tester l'hypothèse de limitation en pollen pour cette espèce. Un comptage des graines montre que l'autofécondation est possible mais rare. Le vent assure 60 % de la pollinisation, les insectes assurant les 40 % restants. L'apport manuel de pollen en excès permet d'augmenter la production de graines. Une seconde étude montre que la disponibilité des ressources (grand rhizome, eau, fertilisant) n'influe pas sur le nombre de graines produites. Au contraire, ces facteurs sembleraient favoriser le développement végétatif. Pour finir, l'anémone attire vraisemblablement peu de pollinisateurs, les visites étant rares et souvent accidentelles. J'ai pu mettre en évidence que l'anémone sylvie est limitée par l'apport de pollen pour la production de graines, mais que cet effet est faible.

**Mots clés :** graines, limitation en pollen, pollinisateurs, pollinisation manuelle, ressources

## **Abstract**

Wood anemone (Renonculaceae) is one of the spring geophytes the most widespread in European temperate deciduous forests. This self-incompatible species produces flowers without nectar pollinated by bees, bumblebees and beetles. It precociously blooms in the spring, when pollinators are not very abundant. It combines all characteristics that make it sensitive to pollen limitation, therefore vulnerable to global changes. Here, we explore the effect of different types of pollination on seed production in situ, to test the hypothesis of pollen limitation for this species. A counting of seeds shows that self-fertilization is possible but uncommon. Wind provides 60 % of pollination, insects providing the remaining 40 %. The manual contribution of excess pollen increases seed production. A second study shows that resources availability (size of rhizome, water, fertilizer) does not influence the number of seeds produced. These factors seem to favor opposite vegetative development. Finally, wood anemone does not attract many pollinators, visits being rare and accidental.

**Keywords:** hand-pollination, pollen limitation, pollinator, resources, seeds

## **Introduction**

La pollinisation est le transfert du pollen produit par les anthères vers le stigmate réceptif. C'est une étape essentielle pour la reproduction sexuée des plantes à fleurs. Quand le pollen provient d'un autre individu, renfermant un génotype différent, on parle d'allogamie (fécondation croisée). C'est un phénomène important pour le brassage génétique que la multiplication végétative (reproduction asexuée) n'assure pas. L'allogamie permet en effet le maintien d'une diversité génétique élevée au sein des populations de plantes. La pollinisation croisée peut être assurée soit par des vecteurs abiotiques tels que le vent (anémogamie) et l'eau (hydrogamie), soit par des vecteurs biotiques comme les insectes (entomogamie) et d'autres animaux, par exemple les oiseaux (ornithophilie), les chauves-souris (cheiroptérophilie), ou encore des mammifères tels que certains marsupiaux, primates et rongeurs (Raven et al. 2007). La pollinisation permet la fécondation qui va induire la maturation des ovules, qui deviendront des graines.

Sous certaines conditions environnementales, la production de graines peut être limitée par une qualité et/ou une quantité inadéquate de pollen. Ce phénomène, appelé la « limitation en pollen » (Ashman et al. 2004; Knight et al. 2005), est lié à l'efficacité du transport du pollen entre les individus par les voies biotiques ou abiotiques, et non pas à la production de pollen elle-même. Cette limitation en pollen peut avoir des conséquences sur le taux de croissance et la viabilité des populations de plantes (Knight et al. 2005), qui aurait des répercussions à l'échelle de la communauté ou à l'échelle de l'écosystème quand elle surviendrait sur une espèce clé de voûte (Ashman et al. 2004). La limitation en pollen a été observée et décrite chez un certain nombre d'espèces, comme *Ipomopsis aggregata* (Campbell and Halama 1993), *Lathyrus vernus* (Ehrlen and Eriksson 1995), ou encore *Trillium grandiflorum* (Knight 2004). Ces études ont montré que le dépôt manuel d'une grande quantité de pollen sur une fleur entraîne la production d'un plus grand nombre de graines que dans des conditions naturelles de pollinisation.

En théorie, une plante à fleurs équilibrée dans un environnement constant devrait attribuer parfaitement les ressources entre l'aspect attractif de la fleur et la production de graines. Elle assure ainsi un apport suffisant de pollen pour fertiliser les ovules qui évolueront en graines (Knight et al. 2005). Des études ont montré que l'apport de pollen en grande quantité augmente la production de graines des fleurs (Campbell and Halama 1993; Burd 1994; Larson and Barrett 2000; Knight et al. 2005). Cependant, selon Haig et Westoby (Haig and Westoby 1988), une augmentation de l'apport de pollen à la main ne produirait pas de réponse car la production de graines est limitée par les ressources disponibles après utilisation d'énergie pour l'attraction des pollinisateurs. Il n'y aurait pas de ressources disponibles pour la maturation d'ovules fertilisés supplémentaires. Le succès reproductif femelle serait par conséquent limité par la disponibilité des ressources plutôt que par la réception du pollen.

Depuis quelques temps pourtant, les variations environnementales, dans le temps et l'espace, sont accentuées par les changements globaux. Les habitats sont fragmentés suite à la gestion forestière et aux déforestations, le climat change, et la distribution des espèces se modifie. Dans ce contexte, les plantes, vulnérables de part leur immobilité, peinent parfois à trouver leur équilibre (Rusterholz et al. 2009). Les plantes vivant dans des habitats perturbés peuvent subir le phénomène de limitation en pollen, car elles n'ont pas le temps d'évoluer vers un nouvel optimum. Celles qui reçoivent un apport supplémentaire de pollen forment alors plus de graines que celles qui ne reçoivent aucune pollinisation supplémentaire (Navarro 1998; Knight et al. 2005). Les espèces les plus sensibles à la limitation en pollen suite aux

perturbations écologiques devraient être des plantes pollinisées par des spécialistes, non gratifiantes, ou encore auto-incompatibles ou dioïques. Les populations de pollinisateurs déclinent à cause des activités humaines. Par conséquent, le taux de plantes correctement pollinisées décroît. Ceci pourrait conduire à une production de graines plus faible (Cunningham 2000). Or, on sait que le phénotype floral peut affecter la réception du pollen (Knight et al. 2005; Fishman and Willis 2008). De ce fait, la sélection pour les traits floraux pourrait être particulièrement importante au sein des populations sujettes à la limitation en pollen. On pense aujourd'hui que les plantes évolueront de façon à réduire cette dernière. Ainsi, les traits qui jouent sur l'attraction des pollinisateurs pourraient changer. On devrait voir une diminution de la liaison aux pollinisateurs, ainsi qu'une diminution de la reproduction sexuée au profit de la multiplication végétative (Ashman et al. 2004).

Ce stage avait pour objectif d'étudier la pollinisation et la production de graines chez l'anémone sylvie afin de voir si cette dernière, en quantité et en qualité, est limitée par l'apport de pollen. Notre première hypothèse était que l'anémone reçoit une quantité de pollen inférieure à celle nécessaire pour une production maximale de graines ( $H_1$ ). J'ai donc supplémenté manuellement des fleurs en pollen, en récupérant ce pollen sur des plantes donneuses. Des cages ont été posées sur certaines fleurs pour éviter la prédation, et l'hypothèse selon laquelle elles pourraient perturber la pollinisation a été émise. La seconde hypothèse était que la disponibilité des ressources pouvait être un facteur limitant pour la production de graines chez l'anémone, et que par conséquent, une fertilisation et un arrosage appropriés pourraient l'augmenter ( $H_2$ ). J'ai donc vérifié ce point en observant l'impact de la disponibilité des ressources par l'apport de fertilisants (NPK), d'eau, et en utilisant deux tailles de rhizomes. La troisième hypothèse émise concernait la densité de fleurs. Je m'attendais à ce qu'une forte densité de fleurs favorise la pollinisation, donc augmente la production de graines ( $H_3$ ). Enfin, je pensais que les fleurs présentes dans des zones de forte densité de population et alliant des anémones à des fleurs nectarifères recevraient davantage de visites de pollinisateurs, donc récupérerait plus de pollen. Cette hypothèse a été testée par une étude observationnelle qui visait à déterminer le nombre de visites sur les anémones pour une surface donnée ( $H_4$ ).

## Matériels et méthodes

### *L'espèce*

L'anémone sylvie (*Anemone nemorosa* L.), appartenant à la famille des Renonculacées, est une géophyte printanière commune en France et en Europe. Des populations locales de cette plante pourraient souffrir de la limitation en pollen. En effet, cette espèce est presque exclusivement auto-incompatible (Müller et al. 2000) et dépend principalement des bourdons, des abeilles et des coléoptères pour sa pollinisation (Shirreffs 1985). De plus, elle fleurit à une période où les pollinisateurs ne sont pas encore très abondants (en mars et avril) et elle est non gratifiante pour les insectes pollinisateurs puisqu'elle ne produit pas de nectar.

La reproduction chez l'anémone sylvie est principalement asexuée et se fait par multiplication végétative grâce à la croissance des organes souterrains (rhizomes). La reproduction sexuée, estimée à 4,4% (Holderegger et al. 1998), est largement minoritaire, mais elle permet de maintenir une variation et une diversité génétique qui est importante pour augmenter les capacités de l'espèce à s'adapter aux changements environnementaux, y compris les changements globaux. Cependant, le taux de germination de graines d'anémone dans les conditions naturelles suggère que l'utilisation de la reproduction sexuée pourrait être sous-estimée au sein de l'espèce (Holderegger et al. 1998). Sa faible vitesse d'expansion, soit 2 à 5 cm par an (Shirreffs and Bell 1984), en fait une espèce indicatrice des forêts anciennes (Dupouey et al. 2002), qui la rend vulnérable aux perturbations issues des activités anthropiques et aux processus écologiques (Baeten et al. 2010).

### *La population*

Une population d'*Anemone nemorosa* française a été étudiée, en forêt domaniale de Montargis, au Nord de la ville de Paucourt, dans le Loiret en région Centre. Cette forêt possède un sol de nature calcaire. Les précipitations annuelles sont de 720 mm en moyenne, dont la moitié tombe durant la période de végétation, entre avril et septembre. La température moyenne avoisine les 10,8°C. Cette zone a été choisie pour l'étude car on y trouve une population importante d'anémones dans une dépression géologique de direction Nord-Ouest/Sud-Est.

### *Expérience 1 - étude de différents types de pollinisations in-situ*

L'expérience a été mise en place avant que les stigmates soient réceptifs au pollen, au stade bouton floral. Onze placettes ont été sélectionnées, réparties au hasard sur 400 mètres environ, dans la zone où les fleurs étaient les plus abondantes. Sur ces placettes ont été déposées des cages de forme pyramidale, en acier galvanisé gris, et possédant des mailles carrées de 5cm de côté. Ces cages permettaient de s'affranchir des problèmes éventuels de destruction des dispositifs par la faune sauvage.

Quatre types de pollinisation différents ont été testés :

- 1 : autofécondation
- 2 : pollinisation anémogame
- 3 : pollinisation naturelle
- 4 : supplémentation en pollen

Il y avait deux répétitions à l'intérieur de chaque cage, et une à l'extérieur de chaque cage pour voir si ces cages pouvaient avoir un effet sur la pollinisation.

Le premier traitement (1) a été mis en place pour vérifier si l'anémone était bien auto-incompatible (Müller et al. 2000). Les fleurs ont été enfermées au stade bouton dans des sachets en toile de coton tissée avec des mailles de 25 µm (Müller et al. 2000) empêchant les pollinisateurs de les visiter et le passage éventuel de pollen lié au vent. Une autofécondation a été réalisée à l'aide d'un pinceau. Les sachets étaient montés sur des armatures métalliques afin de laisser les fleurs s'épanouir sans être comprimées.

Le second traitement (2) avait pour but de voir si la pollinisation anémogame était possible au sein de l'espèce. Les fleurs ont donc été émasculées au stade bouton, puis emballées dans des sachets de protection en nylon à larges mailles carrées (1 mm) empêchant les visites des insectes mais permettant au pollen de passer si ce dernier pouvait être transporté par le vent. Les sachets étaient là encore montés sur une armature métallique.

Dans le troisième traitement (3), la pollinisation se faisait naturellement. Ceci devait permettre de quantifier la pollinisation entomogame par rapport aux résultats obtenus avec le second traitement.

Le quatrième et dernier traitement consistait à apporter un excès de pollen provenant de dix fleurs donneuses minimum, espacées de 20 mètres minimum de la fleur à polliniser, afin de s'affranchir du risque d'utiliser des donneurs provenant du même rhizome, donc génétiquement identiques (Shirreffs and Bell 1984). Des pinceaux ont été employés pour

recupérer le pollen et l'appliquer sur les fleurs à polliniser. Les fleurs n'étaient pas protégées et l'apport de pollen s'est fait en supplément de la pollinisation naturelle.

La hauteur des tiges (du sol à la base de la fleur) a été mesurée en cm, ainsi que la largeur des feuilles en mm (Thiercelin 2009).

### **Expérience 2 - disponibilité des ressources ex-situ**

Cette expérience s'est déroulée *ex-situ*, dans des pots placés en sous-bois. Les rhizomes replantés présentaient un bouton floral et provenaient de la zone d'étude des différents types de pollinisation en forêt de Montargis. La terre placée dans les pots a été prélevée à proximité de la zone de récolte des anémones.

120 pots de 3 litres et 19 cm de diamètre ont été utilisés. Dans chacun d'eux étaient replantés deux rhizomes (n=240) de taille identique (120 de 4cm et 120 de 9 cm). L'effet de la disponibilité des ressources a été testé :

- En utilisant deux tailles de rhizomes (4cm et 9cm)
- En apportant un fertilisant ou non (16-9-26 NPK - N: 160 kg/ha ; P205: 90 kg/ha ; K20: 260 kg/ha ; MgO: 20 kg/ha ; SO3: 40 kg/ha ; oligo-éléments B, Cu, Fe, Mn, Mo, Zn)
- En apportant de l'eau ou non

L'expérience a été mise en place selon un protocole en blocs aléatoires complets où tous les facteurs ont été croisés. Il y avait 15 blocs au total (annexe 2), chacun contenant 8 pots :

<ul style="list-style-type: none"> <li>• Témoin petits rhizomes :</li> <li>• Témoin grands rhizomes :</li> </ul>	}	<i>20 ml d'eau 3 fois par semaine pendant la période de floraison uniquement (3 semaines)</i>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Arrosé petits rhizomes :</li> <li>• Arrosé grands rhizomes :</li> </ul>	}	<i>200 ml d'eau trois fois par semaine jusqu'à la récolte des graines</i>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Fertilisé petits rhizomes :</li> <li>• Fertilisé grands rhizomes :</li> </ul>	}	<i>20 ml d'eau + fertilisant trois fois par semaine pendant la période de floraison uniquement</i>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Arrosé et fertilisé petits rhizomes :</li> <li>• Arrosé et fertilisé grands rhizomes :</li> </ul>	}	<i>200 ml d'eau + fertilisant 3 fois par semaine pendant la période de floraison puis maintien de l'arrosage jusqu'à la récolte</i>



La dose de fertilisant à apporter a été calculée suivant le programme  $1\text{g}/\text{m}^2/\text{jour}$  pendant 15 jours. Ainsi, l'ensemble des pots a reçu 11,928 g de fertilisant au cours du traitement, répartis de manière égale. L'arrosage et la fertilisation ont débuté en même temps, à l'ouverture des premières fleurs. Le premier s'est prolongé jusqu'à la récolte des graines, tandis que la fertilisation s'est faite uniquement durant la période de floraison, sur trois semaines. Les pots témoins et fertilisés qui ne devaient être traités que durant trois semaines ont du être arrosés à deux reprises (20 ml) avant la récolte des graines pour ne pas avoir de mortalité, à cause du temps très sec au printemps.

44 individus ont été prélevés dans une autre parcelle afin de constituer les fleurs donneuses de pollen. En effet, une pollinisation manuelle en excès a été réalisée sur les fleurs afin d'être sur que toutes avaient pu bénéficier de la même qualité de pollinisation.

Une fois les fleurs fanées, toutes ont été emballées dans un sachet afin de récolter l'ensemble des akènes fin avril 2011, période où les graines avaient atteint leur maturité. La hauteur des tiges (du sol à la base de la fleur) a été mesurée en cm, ainsi que la largeur des feuilles en mm.

### *Expérience 3 - effet de la densité de fleurs*

Cinq placettes ont été choisies au hasard en forêt de Montargis en périphérie de la zone de forte densité, à environ 200 mètres en remontant en altitude, où les fleurs étaient beaucoup plus clairsemées. Cette étude était faite en association avec l'expérience 1. La densité de fleurs d'anémones a été évaluée autour de chaque cage de protection, que ce soit en zone de forte ou de faible densité d'anémones. Le nombre de fleurs a été compté dans deux zones d'un mètre carré, à un mètre de distance de la cage, au nord et au sud de cette dernière. Une moyenne des deux relevés a permis d'obtenir un nombre de fleurs moyen par mètre carré autour de chaque cage. L'objectif était de voir l'impact de la densité de fleurs sur la qualité de la pollinisation, donc sur le nombre de graines produites.

### *Expérience 4 - étude observationnelle des pollinisateurs*

Afin d'identifier les pollinisateurs et de quantifier le nombre de visites sur les anémones, deux types de populations ont été étudiées, l'une ne renfermant que des fleurs d'anémone, l'autre renfermant plusieurs autres espèces nectarifères plus attirantes pour les insectes (ficaire fausse

renoncule (*Ranunculus ficaria*), violette (*Viola sp.*), pulmonaire (*Pulmonaria sp.*). Ceci permettant de voir si la présence d'autres fleurs plus attirantes pouvait faciliter la pollinisation de l'anémone sylvie. Des placettes de 4 m<sup>2</sup> ne contenant que des anémones ou contenant un mélange d'anémones et de fleurs possédant du nectar ont été observées, chacune pendant trente minutes. Les observations se sont faites sur deux jours, par très beau temps, début avril, entre 11h et 16h, les fleurs se fermant par la suite et ne s'ouvrant qu'en fin de matinée. Six zones ont été observées le premier jour, huit le lendemain. Pour chaque zone de 4m<sup>2</sup>, le nombre de fleurs d'anémone a été compté, ainsi que le nombre de fleurs appartenant à d'autres espèces, le nombre total de fleurs, le nombre de visites sur les anémones, sur les autres fleurs, et le nombre total de visites.

### *Analyses statistiques*

L'analyse des données concernant les différents types de pollinisation dans l'expérience 1 a été faite grâce à un modèle linéaire généralisé mixte à l'aide de la procédure lmer (Bolker, Brooks et al. 2009) du package lme4 (Bolker 2011). Il y avait quatre modalités, correspondant aux quatre types de pollinisation. L'utilisation d'un modèle mixte se justifiait ici puisqu'il y avait à la fois des effets fixes et un effet aléatoire, qui était l'identité cage lié au regroupement des mesures autour des cages. Des tests conjoints ont été faits sur les effets du type de pollinisation et de la présence ou absence des cages sur le nombre de graines produites. Le nombre de graines correspondait à une variable de comptage surdispersées et la variance était supérieure à la moyenne. Une distribution de poisson a cependant été choisie pour modéliser la variable de comptage car une étude exploratoire a montré qu'on obtenait les mêmes résultats avec les distributions de Poisson et Quasipoisson. L'essentiel de la surdispersion était prise en compte par l'effet aléatoire (Pinheiro and Bates, 2009). Le test par la régression de poisson permet de relier le nombre de graines au type de pollinisation, à l'effet de la cage, et à l'interaction entre les deux. Il a été tenu compte du fait que les données n'étaient pas distribuées aléatoirement, mais regroupées autour des cages. Tous les modèles constituant une portion du modèle maximum ont été testés par l'AIC. Le meilleur modèle était celui ayant le plus petit AIC et le plus grand poids AIC.

L'effet de la disponibilité des ressources sur la production de graines (expérience 2) a été testé avec des modèles linéaires généralisés (glm). Le meilleur modèle a été sélectionné sur la base du critère d'Akaike (Burnham and Anderson, 2002). Une distribution gaussienne a été

adoptée. La normalité a été vérifiée au préalable avec le test de Shapiro-Wilk, le kurtosis (coefficient d'aplatissement) et le skew. Afin de voir l'impact de la disponibilité des ressources sur le développement des parties aériennes de l'anémone, la même méthode a été utilisée. Pour la largeur des feuilles, une transformation en log a été nécessaire pour retrouver des données normales.

Les phénotypes des individus de l'expérience1 (en forêt) et en pots ont été comparés grâce à un test de Mann-Whitney-Wilcoxon puisque les nombres d'observations étaient très différents.

L'effet de la densité de fleurs sur le nombre de graines produites a été testé par une régression linéaire.

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide de la version 2008 du logiciel R (R Development Core Team 2008).

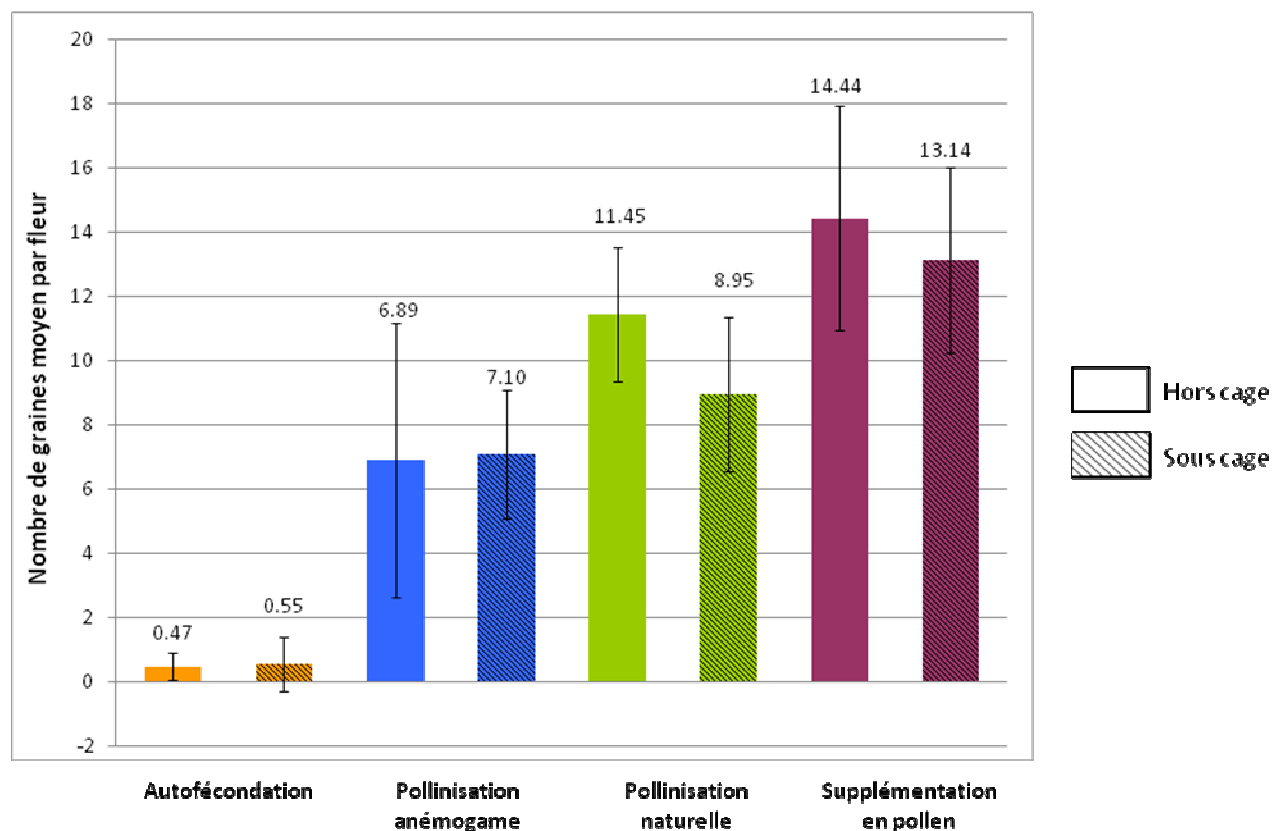
## Résultats

### *Etude de différents types de pollinisations in-situ*

Dans cette expérience, toutes les fleurs ayant subi un dommage biotique ou abiotique ont été exclues des résultats, soit onze fleurs au total sur l'ensemble des traitements ( $n_{\text{total}} = 132$  fleurs).

Les fleurs subissant le traitement d'autofécondation produisaient en moyenne 0,47 graines ( $\pm 0,41$ ) en dehors des cages, ce qui était largement en dessous des autres types de pollinisation (figure 1). Les fleurs pollinisées par le vent produisaient en moyenne 6,89 graines ( $\pm 4,27$ ), soit 40% de moins que lorsqu'elles étaient pollinisées naturellement (11,45 graines ( $\pm 2,08$ )). La supplémentation en pollen a permis d'obtenir la production la plus importante, avec 14,44 graines ( $\pm 3,49$ ). Par contre, le fait que les fleurs soient sous cage ou non n'a pas eu ou a eu peu d'effet sur la production de graines. Il n'y a pas de support statistique montrant un biais lié à un effet des cages. Quand les fleurs pollinisées naturellement étaient sous cage, moins de graines étaient produites, mais l'AIC était faible. Il y avait donc un effet, mais il était léger.

Sur la figure 1, les intervalles de confiance se recoupent, ce qui indique également qu'il n'y avait pas d'effet cage.



**Figure 1.** Nombre moyen de graines produites par fleur en fonction du type de pollinisation qu'ont subi ces dernières et de la présence ou l'absence de cage de protection. Les barres d'erreur représentent les intervalles de confiance à 95 %.

**Tableau I.** Sélection de modèle pour l'analyse de l'effet de la présence des cages (cage) et du type de pollinisation (tt). La variable réponse est le nombre de graines (nbgr). Les modèles sont classés et sélectionnés sur la base de leur AIC.

modèle	intercept	AIC	poids de l'AIC	delta	déviante expliquée (%)
nbgr ~ tt + cage	-0,52	332.8	0.54	0,00	57,67
nbgr ~ tt	-0,60	333.8	0.36	0,81	57,27
nbgr ~ tt + cage+ tt : cage	-1,11	335.1	0.11	3,26	58,15
modèle nul	2,07	761.9	0.00	428,40	-
nbgr ~ cage	2,13	762.4	0.00	429,10	0,19

### *Disponibilité des ressources ex-situ*

Un gros problème de prédation est survenu juste avant la récolte des graines, à savoir que 81,25% des sachets renfermant les graines ont été perforés par des rongeurs qui ont consommé les graines. Seuls 45 sachets sur les 240 au départ n'ont pas été attaqués, et ont pu être pris en compte dans les résultats.

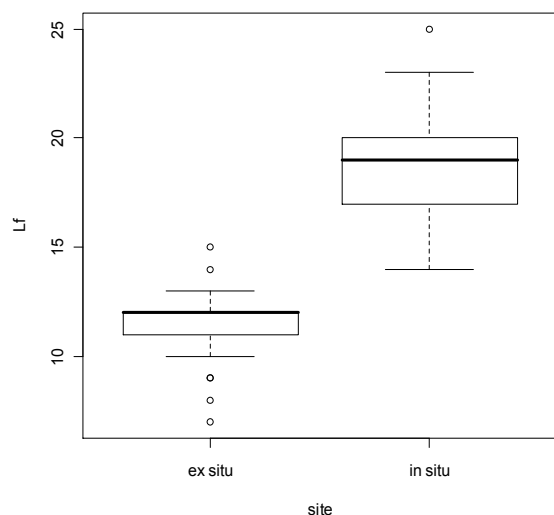
Les rhizomes témoins de 9 cm ont présenté des tiges plus courtes ( $W = 806$ ,  $n = 57$ ,  $p = 1.061e-10$ ), avec de plus petites feuilles ( $W = 686$ ,  $n = 53$ ,  $p = 7.975e-10$ ) comparé aux individus utilisés dans l'expérience 1 en forêt de Montargis (Figure 3 a et 3 b). Seuls ces grands rhizomes témoins ont été comparés puisqu'ils avaient les mêmes conditions de vie que ceux du milieu naturel.

Les fleurs produisaient en moyenne 11,45 graines ( $\pm 2,08$ ) en forêt, contre 17 graines ( $\pm 9,40$ ) dans les pots. Cependant, le test de Wilcoxon ne fait pas ressortir de différence significative entre les deux sites ( $W = 49,5$ ,  $n = 35$ ,  $p\text{-value} = 0,53$ ). A noter que seulement 4 individus étaient pris en compte ex situ, contre 31 in situ.

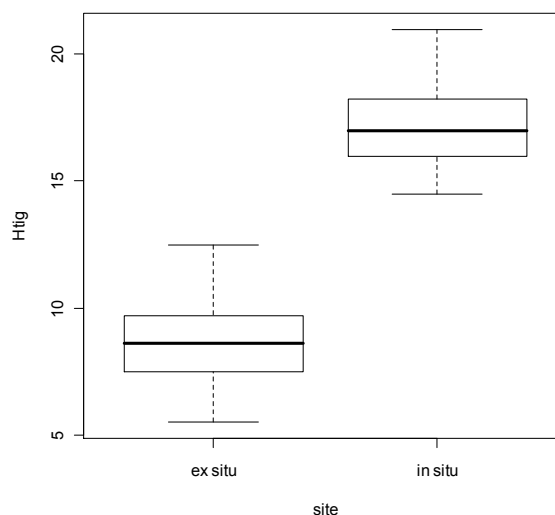
La taille des rhizomes, l'arrosage et la fertilisation n'ont pas eu d'effet sur la production de graines. Il n'y avait pas d'interactions significatives entre ces différents facteurs ( $p = 0,221$ ). Les fleurs arrosées produisaient en moyenne trois graines de moins que les non arrosées, ceci n'étant significatif qu'à 7,75 %. Le meilleur modèle prenait seulement en compte l'arrosage. Les facteurs taille des rhizomes et fertilisation n'avaient pas d'effet sur la production de graines.

La taille des rhizomes, l'arrosage et la fertilisation ont eu un effet sur la croissance végétative. Le meilleur modèle obtenu pour la hauteur des tiges montrait un effet positif de la taille des rhizomes, de l'arrosage et de la fertilisation, mais pas d'interactions entre les traitements (Tableau II). Les témoins avaient des tiges plus courtes que ceux fertilisés qui étaient plus grands de 0,5 cm. Ils avaient eux-mêmes des tiges plus courtes que les individus arrosés qui avaient des tiges d'1,12 cm de plus que les témoins. Ce sont les rhizomes à la fois arrosés et fertilisés qui ont produit les tiges les plus grandes. Dans tous les cas, les grands rhizomes donnaient des tiges plus hautes de 0,9 cm par rapport aux petits rhizomes. Le meilleur modèle obtenu pour la largeur des feuilles (Tableau II) montrait un effet positif de l'arrosage, de la

fertilisation, de la taille des rhizomes, mais mettait aussi en évidence une interaction entre l'arrosage et la fertilisation. Les individus arrosés avaient des tiges plus hautes que les témoins, mais c'est la fertilisation qui permettait d'obtenir la plus grande largeur de feuille.



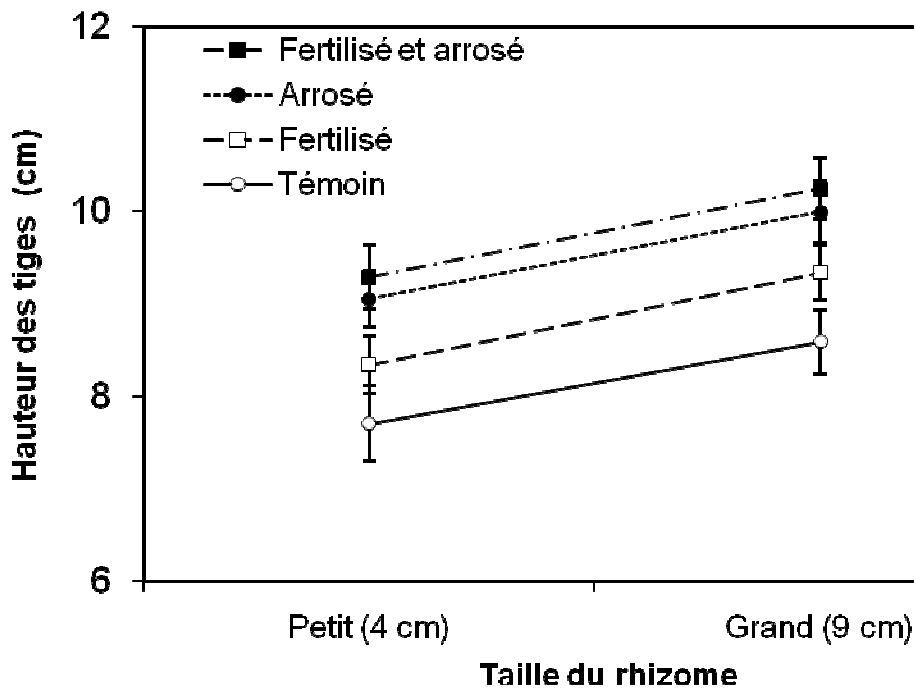
**Figure 3 a.** boîte à moustaches mettant en évidence la différence de hauteur de tige entre les anémones en forêt et replantées dans les pots ex situ.



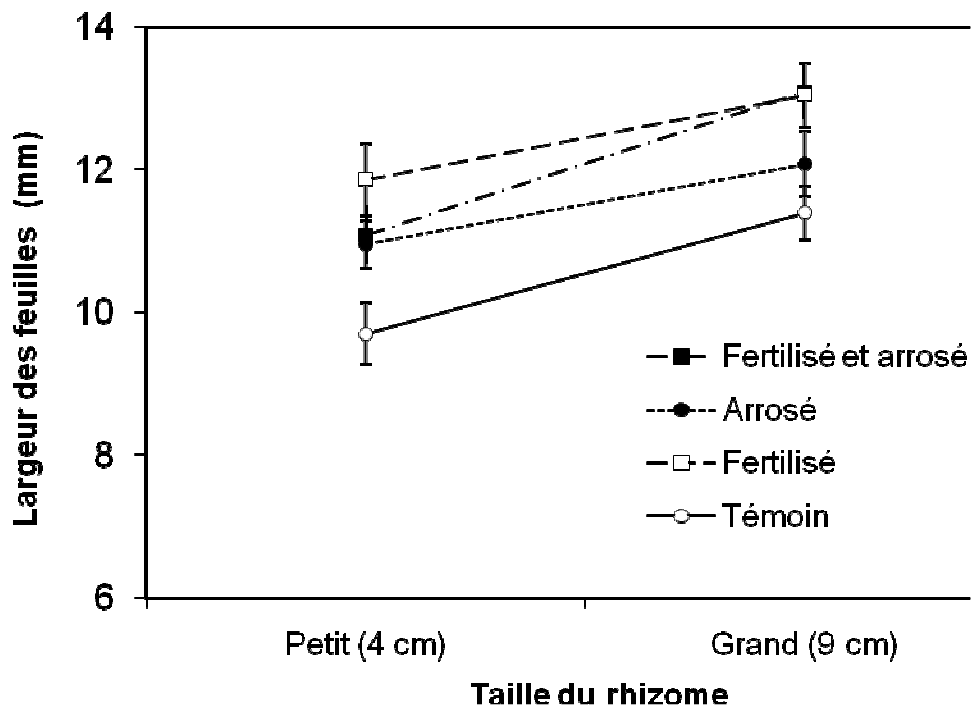
**Figure 3 b.** boîte à moustaches mettant en évidence la différence de largeur de feuille entre les anémones en forêt et replantées dans les pots ex situ.

**Tableau II.** Résumé des deux meilleurs modèles glm obtenus pour l'impact des ressources sur le développement des feuilles (transformation en log) et des tiges d'anémones. Par défaut, la modalité retenue était « petit rhizome non arrosé, non fertilisé ».

modèle facteurs	hauteur de la tige		largeur de la feuille	
	Estimate (SE)	p-value (t-value)	Estimate (SE)	p-value (t-value)
intercept	7,79 (0,25)	< 2e-16*** (31,75)	2,27 (0,03)	<2e-16*** (77,68)
taille du rhizome	0,94 (0,24)	8,75e-05*** (4,00)	0,13 (0,03)	7,05e-07*** (5,15)
arrosage	1,16 (0,24)	1,60e-06*** (4,90)	0,09 (0,04)	0,013 (2,52)
fertilisation	0,47 (0,24)	0,05* (1,98)	0,17 (0,04)	8.00e-06*** (4,60)
arrosage*fertilisation			-0,12 (0,05)	0,021* (-2,34)

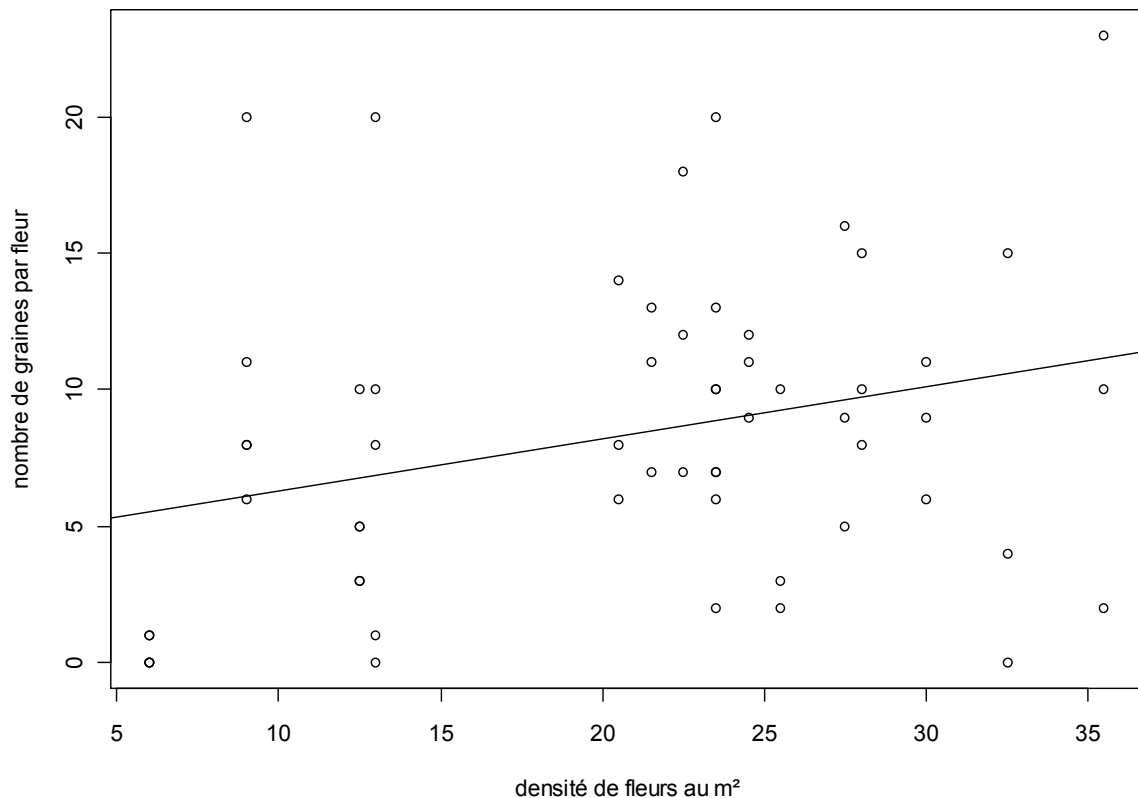


**Figure 4.** Effets de la taille des rhizomes, de l'arrosage et de la fertilisation sur la hauteur des tiges des anémones en pot.



**Figure 5.** Effets de la taille des rhizomes, de l'arrosage et de la fertilisation sur la surface foliaire des anémones en pot.

### Effet de la densité de fleurs



**Figure 6.** Régression linéaire présentant la relation entre le nombre de graines produites par fleur et la densité de fleurs au m<sup>2</sup>.

La production de graines est positivement corrélée à la densité de fleurs (régression linéaire :  $n = 58$ ,  $R^2 = 0,085$ ,  $p = 0,026$ ). Les zones de forte densité de fleurs (30 par m<sup>2</sup>) produisaient environ onze graines par fleur, tandis que les zones de faible densité (10 fleurs au m<sup>2</sup>) produisaient seulement six graines (figure 4).

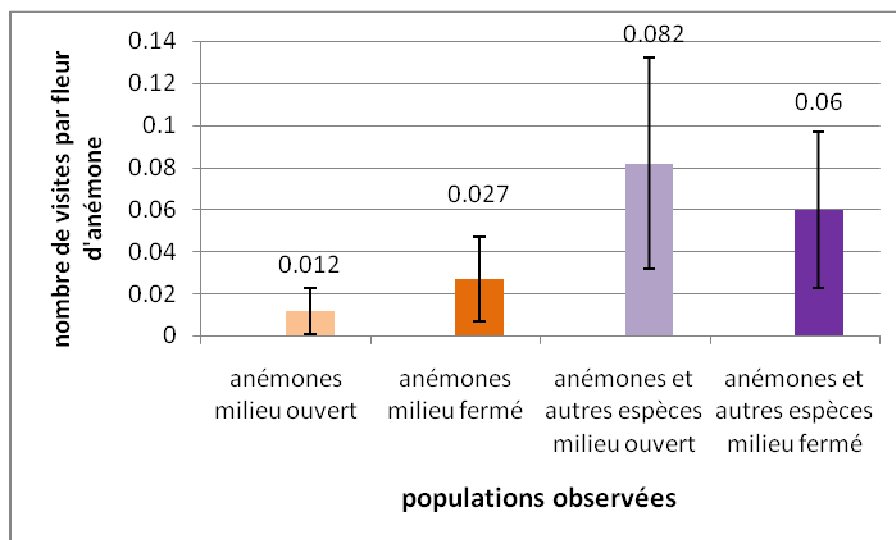
### Etude observationnelle des pollinisateurs

En forêt de Montargis, il est apparu qu'il y avait très peu de pollinisateurs qui semblaient s'intéresser aux anémones (annexe 1). Quelques bourdons *Bombus terrestris* ont été vus en activité sur les anémones. Le Grand bombyle, *Bombylius major*, est un diptère qui a été souvent observé dans les zones de présence de l'anémone, mais il montrait très clairement un



évitement des fleurs de cette dernière, qu'il visitait par erreur. Il allait préférentiellement sur les fleurs de sous bois riches en nectar (violette, ficaires fausses renoncules, pulmonaires...), parfois très peu représentées par rapport aux anémones. Un diptère appartenant à la famille des Bibionidae a été retrouvé posé sur les pétales de manière assez récurrente. Quelques araignées présentes au sein des fleurs ont été repérées. Des coléoptères de la famille des charançons (genre *Polydrusus* ou apparentés) ont aussi été remarqués sur les anémones. Enfin, de minuscules coléoptères appartenant à la famille des Nitidulidae étaient bien présents dans les fleurs au début et au milieu de la période de floraison, ils n'ont pas été franchement retrouvés en fin de floraison. Des thrips étaient aussi très présents dans les fleurs.

La présence d'espèces nectarifères augmentait franchement le nombre de visites sur les anémones (figure 7).



**Figure 7.** Nombre moyen de visites de pollinisateurs par fleur d'anémone sur 4m<sup>2</sup> pendant 30 minutes. Les barres représentent les erreurs type.

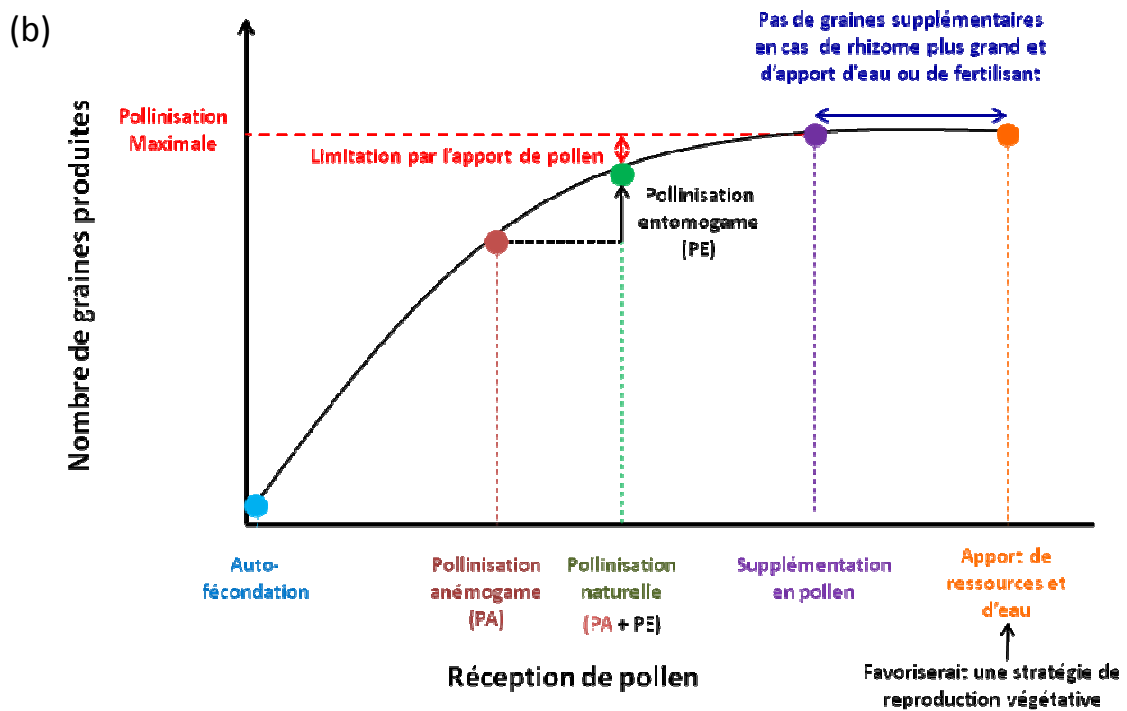
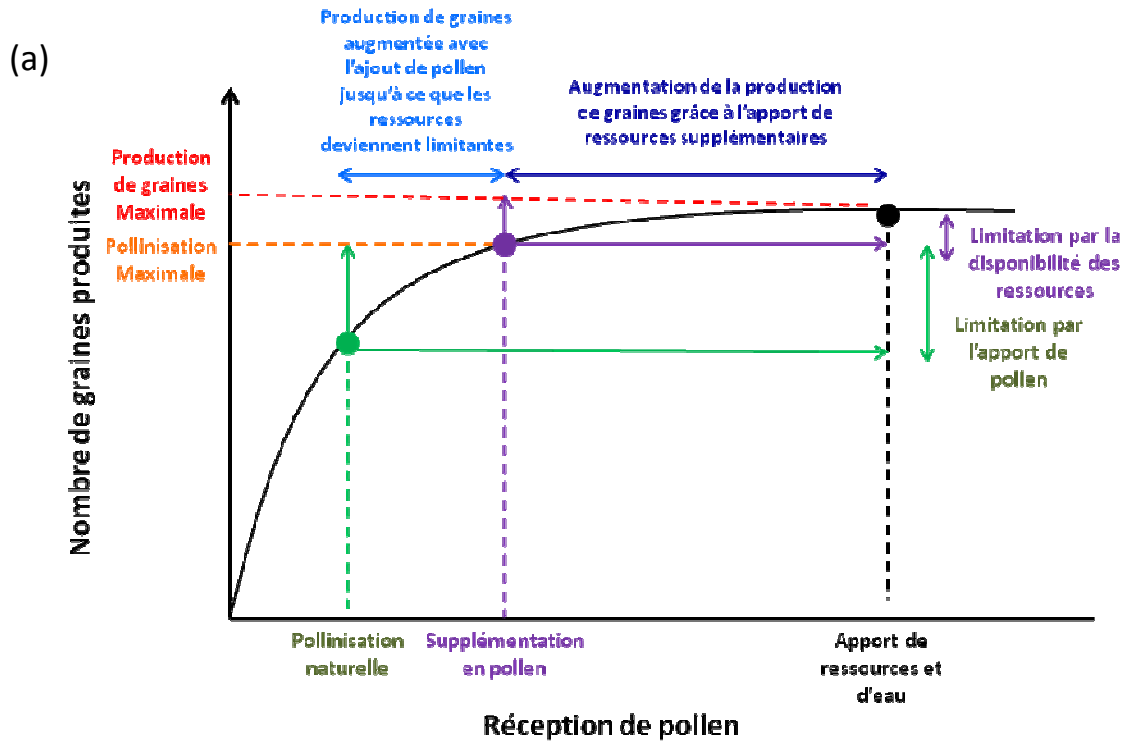
## Discussion

Il était attendu dans nos expériences que, selon la théorie d'Ashman et de Haig et Westoby (Figure 8 a), l'anémone soit limitée en pollen pour produire un maximum de graines ( $H_1$ ), ce qui a bien été mis en évidence dans l'expérience 1 (Figure 1). Il était aussi supposé qu'un apport d'eau, de fertilisant et l'utilisation de rhizomes plus grands pourraient augmenter la

production de graines même si les fleurs avaient été supplémentées en pollen (H<sub>2</sub>). L'effet inverse a été obtenu, avec une tendance à la baisse de la production de graines en faveur d'une allocation de l'énergie vers la croissance des parties aériennes (figure 8 b). La densité de fleurs a par contre joué le rôle attendu (H<sub>3</sub>), puisque plus de graines étaient obtenues en zone de forte densité. La quatrième hypothèse (H<sub>4</sub>) a été vérifiée, les anémones associées à d'autres espèces nectarifères étant plus visitées donc mieux pollinisées que celles des populations pures.

### *Etude de différents types de pollinisations in-situ*

Les résultats ont montré qu'au sein de l'espèce, l'autofécondation est possible mais rare. Certains auteurs, dans des travaux anciens, rapportaient que l'espèce était hautement incompatible (Hegi, 1913), mais Shirreffs (1985), Grime et al. (1988), et Proctor et al. (1996) mentionnaient que l'espèce était presque complètement auto-incompatible. La pollinisation par le vent représente environ 60 % de la pollinisation totale de l'anémone sylvie. Ce mode de pollinisation n'a jamais été évoqué dans les publications lues au cours de ce stage. Seuls les insectes étaient mentionnés comme vecteurs de pollen (Shirreffs, 1985). Cela dit, il n'est pas exclu dans mon expérience que de petits insectes aient pu se faufiler entre les mailles des toiles de protection. Les fleurs pollinisées naturellement ont donné moins de graines que celles supplémentées en pollen. L'espèce est donc bien limitée par l'apport de pollen pour produire un maximum de graines. Malgré le fait que les observations de pollinisateurs n'indiquaient que très peu de visites sur les anémones, ils semblent néanmoins assurer environ 40 % de la pollinisation. L'amplitude de la limitation en pollen trouvée dans les expériences de supplémentation en pollen est grande (Knight et al. 2005). Chez l'anémone sylvie, l'expérience 1 indique une augmentation de la production de graines de 20,7 % lorsqu'il y a supplémentation en pollen, ce qui est assez faible en comparaison d'autres espèces. Chez *Ipomopsis aggregata* (Campbell and Halama, 1993) et *Trillium grandiflorum* (Knight 2005), cette augmentation est plus importante, et est respectivement de 44 % et 30 %.



**Figure 8.** (a) : représentation théorique de la limitation en pollen vue par Haig et Westoby et modifiée par Ashman (Ashman et al. 2004). (b) : Schéma synthétique des expériences 1 et 2 présentant l'impact des différents types de pollinisation et de l'apport de ressources sur la production de graines chez l'anémone sylvie. Réalisé sur la base du schéma théorique d'Ashman (figure 5a).

### *Disponibilité des ressources ex-situ*

En ce qui concerne l'expérience en pots, il faut être prudent avec les analyses puisque les conditions n'étaient pas identiques à celles du milieu naturel. Les rhizomes n'étaient pas en compétition comme ils peuvent l'être en forêt. Les individus en pots avaient des parties aériennes plus petites que les individus en forêt. Le stress lié au rempotage pourrait en être une des causes. Certaines anémones peuvent avoir mieux poussé car disposant d'un génotype plus résistant, par exemple à la sécheresse.

Selon les résultats, il n'y aurait pas d'effet de la fertilisation, ni de la taille des rhizomes, ni d'interactions entre les facteurs concernant la production de graines. L'arrosage est le seul traitement qui a eu un impact négatif sur le nombre de graines produites. Des études ont montré une augmentation de la production de graines en réponse à la fertilisation, comme celle de Campbell et Halama (Campbell and Halama 1993) qui rapportait une hausse de 30 % chez *Ipomopsis aggregata*. Par contre, l'arrosage, la fertilisation et la taille des rhizomes ont eu un fort effet sur le développement des parties aériennes des anémones. Concernant la hauteur des tiges, la fertilisation a eu un effet positif (tendance), tandis que la taille des rhizomes et l'arrosage ont eu un effet positif plus marquant. Pour la surface foliaire, l'arrosage, la fertilisation et la taille des rhizomes ont eu un effet positif important. Les grands rhizomes produisaient des individus plus hauts avec des feuilles plus grandes, et l'effet était augmenté avec l'apport d'eau et de fertilisant. L'arrosage agissait plus sur la croissance des tiges, la fertilisation sur celle des feuilles.

Une hypothèse peut alors être émise. Les individus non arrosés produisaient plus de graines que les autres. Ils subissaient en effet un stress important, qui pourrait conduire à leur mort s'ils adoptaient une stratégie de reproduction végétative. Ils préféreraient donc opter pour une grosse production de graines, gage de survie en période difficile, les graines permettant d'attendre le retour à des conditions de vie favorables. Les individus arrosés et fertilisés, quant à eux, disposant de toute l'eau et des ressources nécessaires à leur bon développement, favoriseraient une reproduction végétative grâce au rhizome, en engrangeant des réserves grâce à une photosynthèse plus importante assurée par une surface foliaire plus élevée. Il y aurait une allocation des ressources pour la croissance en conditions de vie favorables.

Pour que ces résultats soient mieux exploitables et plus fiables, il faudrait un bien plus grand nombre de répétitions, ce qui était prévu au départ, avec une organisation en blocs aléatoires. Ayant rencontré de gros soucis de consommation par les rongeurs, peu de données

ont pu être récoltées. L'analyse de l'expérience n'a par conséquent pas pu être menée comme il était prévu au départ.

### *Effet de la densité de fleurs*

L'étude de l'impact de la densité de fleurs sur la production de graines est discutable. En effet, rien n'exclut une auto-corrélation spatiale entre les fleurs sous et autour d'une même cage, avec un sol, des espèces, et une ouverture du milieu qui varient. Cependant, il semblerait tout de même que puisque la pollinisation est assurée par le vent et les insectes, un regroupement important de fleurs serait favorable. Le regroupement de fleurs serait plus attirant pour les insectes, et il y aurait plus de pollen en circulation pour la pollinisation anémogame.

### *Etude observationnelle des pollinisateurs*

Les recherches menées précédemment indiquaient que l'anémone sylvie était pollinisée par les abeilles, bourdons et coléoptères (Shirreffs 1985). Dans les publications lues au cours de ce stage, il n'a jamais été fait allusion au vent comme vecteur de pollen chez cette espèce. L'expérience 1 montre cependant que 60 % de la pollinisation était assurée par le vent. Quant aux pollinisateurs, très peu ont été observés. Les Bibionidae retrouvés très souvent sur les anémones sont indifférents au support, leur rôle dans la pollinisation est donc théoriquement accidentel. Les araignées étaient sur les fleurs pour chasser. Elles ont donc probablement un déplacement limité entre les fleurs. Les charançons observés sont strictement polyphages, se nourrissant essentiellement de feuilles de chênes. Là encore, un rôle très négligeable dans la pollinisation, qui pourrait se faire mais toujours de manière accidentelle. Les thrips retrouvés en grand nombre n'ont pas d'activité pollinisatrice reconnue.

Grâce aux résultats obtenus dans l'expérience 4, le nombre de jours nécessaires pour que l'ensemble des fleurs soient pollinisées peut être calculé. Seules les données récoltées dans les zones en milieu fermé ne renfermant que des anémones ont été prises en compte, puisque c'était l'environnement de notre expérience sur les différents types de pollinisation. Les observations ont conduit à voir qu'il y avait 0,0135 visite par m<sup>2</sup> par heure. Si on considère 10 jours de beau temps favorables à l'activité des pollinisateurs, et 6h d'activité optimale par jour, seulement 4% des fleurs seraient visitées par un pollinisateur. Comme on

trouve en moyenne 20 fleurs d'anémone par m<sup>2</sup>, pour que toutes les fleurs soient pollinisées par des insectes, il faudrait selon ce schéma presque 247 jours.

Si on voulait formuler un scénario optimal, les valeurs maximales pour tous les paramètres pourraient être utilisées. Il faudrait que le temps soit idéal durant toute la période de réceptivité des stigmates, soit deux semaines (Müller et al. 2000), et ceci pendant toute la période de floraison. On aurait alors 26,24 % des fleurs pollinisées. Si on considère le nombre moyen de fleurs d'anémone par m<sup>2</sup>, il faudrait presque 81 jours de temps idéal pour que toutes les fleurs soient visitées par un pollinisateur.

Cependant, selon les résultats obtenus, les insectes génèreraient tout de même 40 % de la pollinisation totale. Il est alors possible que les insectes qualifiés de « pollinisateurs accidentels » ne jouent pas un rôle si anodin que ce qui est couramment admis. La présence d'espèces nectarifères, l'ouverture du milieu, jouent également un rôle sur le taux de visite des anémones. Le nombre de répétitions dans les observations était faible, ce qui peut avoir induit des erreurs. Cependant, il apparaissait tout de même que les visites de pollinisateurs volants étaient rares et souvent accidentelles. La présence de l'observateur pourrait cependant les avoir gênés.

L'anémone sylvie est donc bel et bien une plante limitée par l'apport de pollen pour produire des graines. Cette limitation est plutôt faible comparée à d'autres espèces, et de l'ordre de 20 %. Elle est pollinisée majoritairement par le vent (60 %). Les insectes assurent les 40 % restants. L'autopollinisation est rare mais peut se produire. La fertilisation ne permet pas d'obtenir plus de graines chez cette espèce. Elle favorise au contraire un développement végétatif important. Plus la densité de fleurs augmente, plus la probabilité de produire un nombre de graines élevé augmente, la pollinisation étant meilleure. La présence d'espèces nectarifères aux côtés de l'anémone sylvie non gratifiante augmente ses chances d'être visitée par un pollinisateur, donc bien pollinisée. Comme l'anémone n'utilise pas majoritairement les insectes dans sa pollinisation, elle ne devrait pas compter parmi les premières espèces à souffrir du déclin des pollinisateurs.

**Remerciements :** Je tiens à remercier tout particulièrement Anders Marell, mon maître de stage, qui m'a accordé sa confiance en m'intégrant dans l'équipe cervidés du Cemagref de Nogent sur Vernisson. Il m'a apporté de précieux conseils, nécessaires au bon déroulement de mon stage, mais également son aide bien utile sur le terrain. Je remercie également Dominique Ballon, secrétaire de l'équipe, pour son aide et sa compréhension en période

difficile, ainsi que Guillaume Chevrier pour les données complémentaires qu'il m'a fournies notamment. Mes remerciements également à Frédéric Gosselin et Guénoél Grignon pour leur aide et conseils en statistiques.

## Références bibliographiques

- Ashman, T.-L., T.M. Knight, J.A. Steets, P. Amarasekare, M. Burd, D.R. Campbell, M.R. Dudash, M.O. Johnston, S.J. Mazer, R.J. Mitchell, M.T. Morgan and W.G. Wilson 2004. Pollen limitation of plant reproduction: ecological and evolutionary causes and consequences. *Ecology*. 85:2408-2421.
- Baeten, L., P. De Frenne, K. Verheyen, B.J. Graae and M. Hermy 2010. Forest herbs in the face of global change: a single-species-multiple-threats approach for *Anemone nemorosa*. *Plant Ecology and Evolution*. 143:19-30.
- Bates, D., M. Maechler and B. Bolker 2011. lme4: Linear mixed-effects models using S4 classes. R package version 0.99875-6.
- Bolker, B.M., M.E. Brooks, C.J. Clark, S.W. Geange, J.R. Poulsen, M.H.H. Stevens and J.S.S. White 2009. Generalized linear mixed models: a practical guide for ecology and evolution. *Trends in Ecology & Evolution*. 24:127-135.
- Burd, M. 1994. Bateman Principle and Plant Reproduction - the Role of Pollen Limitation in Fruit and Seed Set. *Botanical Review*. 60:83-139.
- Burnham, K. P., and D. R. Anderson. 2002. Model selection and multimodel inference: a practical information-theoretic approach. 2nd Edn. Springer-Verlag, New-York, USA. 488 pp.
- Campbell, D.R. and K.J. Halama 1993. Resource and Pollen Limitations to Lifetime Seed Production in a Natural Plant-Population. *Ecology*. 74:1043-1051.
- Cunningham, S.A. 2000. Depressed pollination in habitat fragments causes low fruit set. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*. 267:1149-1152.
- Dupouey, J.-L., D. Sciama, W. Koerner, E. Dambrine and J.-C. Rameau 2002. La végétation des forêts anciennes. *Revue Forestière Française*. 54:521-530.
- Ehrlen, J. and O. Eriksson 1995. Pollen Limitation and Population-Growth in a Herbaceous Perennial Legume. *Ecology*. 76:652-656.
- Fishman, L. and J.H. Willis 2008. Pollen limitation and natural selection on floral characters in the yellow monkeyflower, *Mimulus guttatus*. *New Phytologist*. 177:802-810.

- Grime J. H., J. G. Hodgson and R. Hunt 1988. Comparative plant ecology. Unwin Hyman, London.
- Haig, D. and M. Westoby 1988. On Limits to Seed Production. *American Naturalist*. 131:757-759.
- Haig, D. and M. Westoby 1991. Seed Size, Pollination Costs and Angiosperm Success. *Evolutionary Ecology*. 5:231-247.
- Hegi G. 1912. *Illustrierte Flora von Mitteleuropa*, III. Lehmann's Verlag, Münschen.
- Holderegger, R., I. Stehlik and J.J. Schneller 1998. Estimation of the relative importance of sexual and vegetative reproduction in the clonal woodland herb *Anemone nemorosa*. *Oecologia*. 117:105-107.
- Knight, T.M. 2004. The effect of herbivory and pollen limitation on a declining population of *Trillium grandiflorum*. *Ecological Applications*. 14:915-928.
- Knight, T.M., J.A. Steets, J.C. Vamosi, S.J. Mazer, M. Burd, D.R. Campbell, M.R. Dudash, M.O. Johnston, R.J. Mitchell and T.L. Ashman 2005. Pollen limitation of plant reproduction: Pattern and process. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics*. 36:467-497.
- Kunitake, Y., S. Terada, Y. Baba and T. Miyashita. Pollination system of *Aucuba japonica*: a pollination experiment and an observation of floral visitors. *Journal of the Japanese Forest Society*. 92:217-220.
- Larson, B.M.H. and S.C.H. Barrett 2000. A comparative analysis of pollen limitation in flowering plants. *Biological Journal of the Linnean Society*. 69:503-520.
- Lavergne, S., M. Debussche and J.D. Thompson 2005. Limitations on reproductive success in endemic *Aquilegia viscosa* (Ranunculaceae) relative to its widespread congener *Aquilegia vulgaris*: the interplay of herbivory and pollination. *Oecologia*. 142:212-220.
- Marell, A., F. Archaux and N. Korboulewsky 2009. Floral herbivory of the wood anemone (*Anemone nemorosa* L.) by roe deer (*Capreolus capreolus* L.). *Plant Species Biology*. 24:209-214.
- Müller, N., J.J. Schneller and R. Holderegger 2000. Variation in breeding system among populations of the common woodland herb *Anemone nemorosa* (Ranunculaceae). *Plant Systematics and Evolution*. 221:69-76.
- Naeem, M., M.M.A. Khan, Moinuddin, M. Idrees and T. Aftab. Phosphorus ameliorates crop productivity, photosynthetic efficiency, nitrogen-fixation, activities of the enzymes



- and content of nutraceuticals of *Lablab purpureus* L. *Scientia Horticulturae*. 126:205-214.
- Navarro, L. 1998. Effect of pollen limitation, additional nutrients, flower position and flowering phenology on fruit and seed production in *Salvia verbenaca* (Lamiaceae). *Nordic Journal of Botany*. 18:441-446.
- Philipp, M. and P.M. Petersen 2007. Long-term study of dry matter allocation and rhizome growth in *Anemone nemorosa*. *Plant Species Biology*. 22:23-31.
- Pinheiro, J. C., D. M. Bates. 2009. *Mixed-Effects Models in S and S-PLUS*. Ed. Springer-Verlag New York Inc. 548p.
- Proctor M., P. Yeo, A. Lack 1996. *The natural history of pollination*. Harper Collins, London.
- R Development Core Team. 2008. *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.
- Raven, P. H., R. F. Evert and S. E. Eichorn. 2007. *Biologie végétale*. 2nd Edn. De Boeck. 733 p.
- Rusterholz, H.-P., M. Kissling and B. Baur 2009. Disturbances by human trampling alter the performance, sexual reproduction and genetic diversity in a clonal woodland herb. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*. 11:17-29.
- Sanzol, J. and M. Herrero 2001. The "effective pollination period" in fruit trees. *Scientia Horticulturae*. 90:1-17.
- Schmitt, G.R.a.M. 1997 Potassium for crop production
- Shirreffs, D.A. 1985. Biological flora of the British Isles: *Anemone nemorosa* L. *Journal of Ecology*. 73:1005-1020.
- Shirreffs, D.A. and A.D. Bell 1984. Rhizome growth and clone development in *Anemone nemorosa* L. *Annals of Botany*. 54:315-324.
- Thiercelin, J. 2009. L'abrouissement des fleurs d'anémone sylvie par le chevreuil : quelles conséquences démographiques ? Mémoire de master 2, 25 p.

## Annexe 1 : les pollinisateurs et autres insectes observés sur les anémones



*Bombyliidae* : *Bombylius majorce*, appartenant à l'ordre des diptères, a été observé douze fois sur les anémones au cours de nos 7 heures d'observations. Ses visites étaient visiblement accidentelles. Il semblait plus adopter une stratégie d'évitement.



*Bibionidae* : ces diptères ont été souvent observés posés sur les anémones, mais ils ne sont pas considérés comme pollinisateurs, et sont indifférents au support. Sept ont été vus dans nos zones d'observation, dont des mâles, dépourvus de pièces buccales.



*Curculionidae* : ces coléoptères ont été repérés à plusieurs reprises sur les anémones en dehors de nos zones d'observation, mais ils ne sont pas considérés comme pollinisateurs. Ce sont des phylophages, s'intéressant particulièrement aux feuilles de chênes.



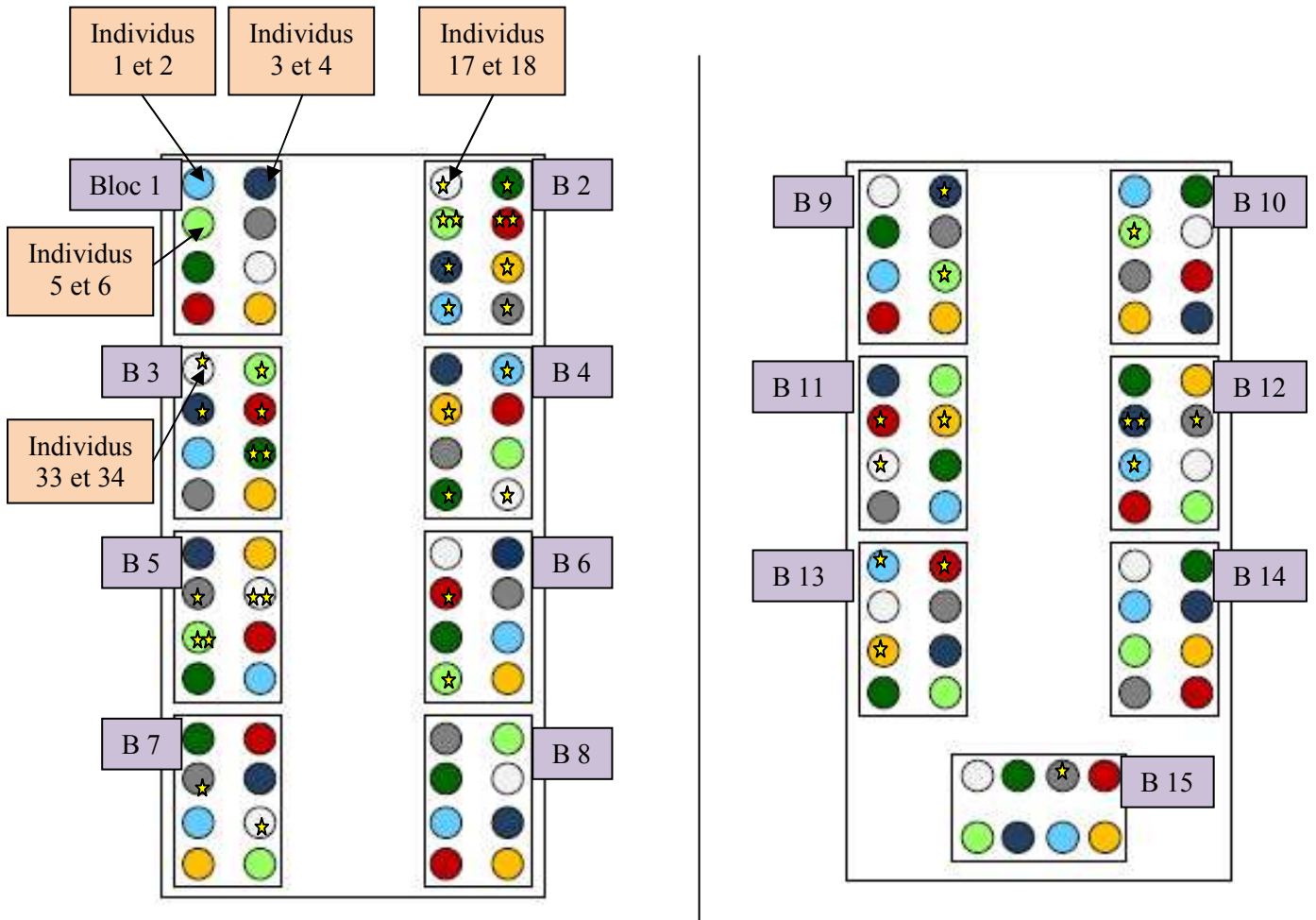
*Apidae* : des bourdons comme *Bombus terrestris* (hyménoptères) ont été observés sur les anémones, en dehors de nos zones d'observations. Ils ne semblaient pas s'y intéresser particulièrement, leur poids important les faisant tomber lorsqu'ils se posent sur les anémones. Deux abeilles ont été vues sur les anémones, semblant les visiter rapidement, par erreur.



*Nitidulidae* : ces petits coléoptères ont été retrouvés de nombreuses fois sur les anémones, notamment en début de saison. Ils n'ont pas été vus dans nos zones d'observations.

D'autres insectes ont pu être observés, comme les thrips, et des arachnides comme les araignées. Ils ne sont cependant pas connus pour avoir une activité pollinisatrice.

## Annexe 2 : schéma de l'expérience "fertilisation"



☆ Individus n'ayant pas subi de dommages liés aux rongeurs

### 6 modalités :

- - Arrosage minimal petits rhizomes
- - Arrosage minimal grands rhizomes
- - Arrosage minimal et fertilisation petits rhizomes
- - Arrosage minimal et fertilisation grands rhizomes
- - 400 ml d'eau tous les deux jours petits rhizomes
- - 400 ml d'eau tous les deux jours grands rhizomes
- - 400 ml d'eau tous les deux jours + fertilisation une fois par semaine au 16-9-26 NPK petits rhizomes
- - 400 ml d'eau tous les deux jours + fertilisation une fois par semaine au 16-9-26 NPK grands rhizomes

### Annexe 3 : photos des dispositifs

- Expérience sur la disponibilité des ressources *ex-situ*

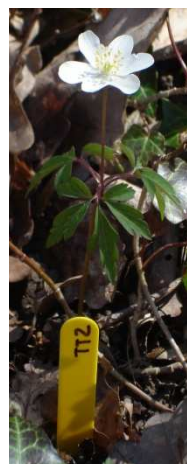


Mars 2011 : mise en place des pots en blocs aléatoires selon le schéma présenté en annexe 2.



Avril 2011 : mise en place des sachets sur les fleurs fanées afin de récupérer les graines avant leur chute.

- Expérience sur les différents types de pollinisation *in-situ*



Mars 2011 : mise en place des cages de protection en forêt de Montargis. Réalisation des différents types de pollinisation, incluant la pose de sachets autour des fleurs pour la pollinisation anémogame et l'autofécondation.