



HAL
open science

Pollution pollinique dans les vergers à graines de pin maritime

Laurent Bouffier, Sandrine Debille, Pierre Alazard, Patrick Pastuszka, Annie Raffin, Luc Harvengt, Marie-Anne Lelu-Walter, Brigitte Musch, Jean-François Trontin

► **To cite this version:**

Laurent Bouffier, Sandrine Debille, Pierre Alazard, Patrick Pastuszka, Annie Raffin, et al.. Pollution pollinique dans les vergers à graines de pin maritime. Comité Technique de Coordination des Vergers à graines de l'Etat, Dec 2018, Bordeaux, France. <hal-04712341>

HAL Id: hal-04712341

<https://hal.inrae.fr/hal-04712341v1>

Submitted on 27 Sep 2024

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.



Distributed under a Creative Commons CC BY 4.0 - Attribution - International License

Pollution pollinique dans les vergers à graines de pin maritime

BOUFFIER Laurent, DEBILLE Sandrine, ALAZARD Pierre,
PASTUSZKA Patrick, RAFFIN Annie,
HARVENGT Luc, LELU-WALTER Marie-Anne,
MUSCH Brigitte, TRONTIN Jean-François



Pourquoi étudier la pollution pollinique et les contributions parentales?

- **Conséquence en terme de gain génétique**

- Hypothèses pour le calcul du gain estimé: contribution égale des parents et absence de pollution

- Gain «réel» = Gain estimé $(1 - \text{pollution}/2)$

Si 60% de pollution (issue de parents avec un gain nul): un gain estimé à 30% donnera un gain «réel» de 21%.

- **Conséquence en terme de diversité génétique**

- Une contribution hétérogène des parents (variation du nombre de graines et / ou de la contribution pollinique par génotype) diminue la diversité génétique estimée

- La pollution pollinique peut augmenter la diversité génétique

Deux études sur les VG pin maritime

1

Pollen contamination in a maritime pine polycross seed orchard and certification of improved seeds using chloroplast microsatellites

Can. J. For. Res. 31: 1816–1825 (2001)

C. Plomion, G. LeProvost, D. Pot, G. Vendramin, S. Gerber, S. Decroocq, J. Brach, A. Raffin, and P. Pastuszka

- **VG polycross VF2 Mimizan** (34 G0 x PMX) à 9 ans
- Bulk (93 graines) + 4 zones selon un axe ouest – est (216 graines)
- **6 marqueurs microsatellites chloroplastiques** (héritage paternel) → possibilité de définir des lignées paternelles donc très facile de savoir si le pollen vient de l'extérieur ou non
- Résultats: **taux de contamination = 37%** avec une très forte variabilité entre zones (de 19% à 76%) non expliquée
- Limite principale: c'est en fait un **taux de contamination minimal**

En effet: marqueurs très peu variables → les profils ne sont pas uniques (17 profils pour 28 arbres G0). Il est probable que des arbres extérieurs au verger aient des profils moléculaires identiques aux constituants du verger.

Deux études sur les VG pin maritime

2

Développement de marqueurs microsatellites nucléaires chez le pin maritime et utilisation dans le cadre de la traçabilité des lots de graines issus des vergers à graines

Projet DGFAR (Direction Générale de la Forêt et des Affaires Rurales)

coordonné par Christophe Plomion et Luc Harvengt en 2005

- **3 VG polycross VF2** (34 G0 x PMX): Mimizan (analyse INRA), Berdillan (=Hourtin) et Saint Augustin (analyse FCBA), entre 11 et 17ans?
- **Marqueurs microsatellites nucléaires**
 - Méthodologie différente entre INRA et FCBA
 - Mimizan: 200 G1 + 75 G2 avec 8 microsat → **32% de pollution**
 - Berdillan et St Augustin: 40 G1 + 290 G2 avec 6 microsat → **81% de pollution à Berdillan et 60% à St Augustin**
 - Limites principales:
 - le **génotype des parents n'est pas connu** → estimation indirecte du taux de pollution qui repose sur un certain nombre d'hypothèses (en particulier pour l'origine des peuplements extérieurs au verger)
 - Estimation d'un **taux de contamination minimal** car les marqueurs utilisés sont faiblement discriminants (on montre, par simulations, que dans 20% des cas on ne retrouve pas les bons parents)

Etude QUASEGRAINE (2015-2018)

Vergers clonaux de pin maritime de 3^{ème} génération :

- Evaluer le taux de pollution génétique en fonction de trois critères:
 - Localisation du verger (et zone intra-verger)
 - Année de pollinisation
 - Génotype de l'arbre mère
- Evaluer les contributions parentales

Trois vergers de clones (VF3)



- Saint-Laurent2-VF3 (Vilmorin, 2006, 15 ha) massif landais
- Beychac-VF3 (Forelite, 2002-2003, 15ha) périphérie du massif
- Saint-Sardos-VF3 (Forelite, 2003, 6ha) hors massif

Composition génétique des vergers

~50 génotypes peu apparentés
nombre de ramets / génotype variable

| Génotype | PICARD | VAQUEY | SAINT-SARDOS | | Génotype | PICARD | VAQUEY | SAINT-SARDOS |
|----------------|--------|--------|--------------|--|----------------|--------|--------|--------------|
| F1.2853 | 4,1% | 2,7% | 1,6% | | 3831-3 | 2,2% | 2,2% | 0,5% |
| F1.0783 | 3,5% | 2,3% | 3,3% | | 0248-1 | 2,2% | 2,4% | 2,0% |
| F1.2499 | 3,5% | 1,9% | 3,5% | | 0024-2 | 2,2% | 1,4% | 1,7% |
| F1.2836 | 3,5% | 1,9% | 2,5% | | 0045-1 | 2,2% | 2,4% | 2,3% |
| F1.2631 | 3,4% | 1,5% | 4,1% | | 0161-1 | 2,0% | 2,0% | 0,4% |
| F1.0721 | 3,2% | 3,0% | 2,6% | | 4305-1 | 2,0% | 1,7% | 1,5% |
| F1.0724 | 3,2% | 2,4% | 2,9% | | 4308-2 | 1,8% | 2,8% | 2,4% |
| F1.2643 | 3,1% | 3,0% | 1,8% | | F1.0731 | 1,7% | 2,7% | 3,3% |
| F1.0770 | 3,0% | 3,2% | 1,9% | | 0251-6 | 1,7% | 0,9% | 2,9% |
| F1.2368 | 3,0% | 3,0% | 2,8% | | 0123-1 | 1,6% | 2,7% | 1,6% |
| F1.0974 | 2,9% | 2,5% | 3,2% | | 13T15-1 | 1,4% | 0,0% | 0,0% |
| F1.2580 | 2,9% | 2,8% | 3,5% | | F1.2535 | 1,3% | 1,2% | 1,9% |
| F1.0790 | 2,9% | 3,0% | 2,6% | | 06T02-2 | 1,2% | 1,3% | 1,7% |
| 3107-4 | 2,9% | 1,5% | 3,5% | | 0217-3 | 1,2% | 2,0% | 0,1% |
| 3830-1 | 2,8% | 3,1% | 1,6% | | 06T02-1 | 1,1% | 1,6% | 1,9% |
| F1.2859 | 2,7% | 2,2% | 3,7% | | 3820-4 | 1,0% | 2,5% | 0,8% |
| 4303-2 | 2,6% | 2,4% | 1,9% | | 0022-3 | 0,9% | 1,5% | 0,8% |
| F1.0766 | 2,5% | 3,2% | 2,8% | | 3820-3 | 0,8% | 0,0% | 0,2% |
| F1.0765 | 2,5% | 2,2% | 3,3% | | 0217-2 | 0,8% | 1,9% | 0,7% |
| 4318-2 | 2,4% | 2,8% | 2,2% | | 0022-2 | 0,8% | 0,8% | 0,5% |
| F1.0140 | 2,3% | 2,3% | 2,7% | | F1.0810 | 0,0% | 1,5% | 0,8% |
| 3602-3 | 2,3% | 2,6% | 2,0% | | F1.2849 | 0,0% | 2,4% | 3,3% |
| 00T41-1 | 2,3% | 2,6% | 1,2% | | 3115-1 | 0,0% | 1,0% | 1,7% |
| F1.2826 | 2,2% | 1,7% | 3,2% | | 38T18-4 | 0,0% | 1,3% | 2,6% |

Echantillon-A

- **3 vergers x 2 années x 4 génotypes x 1-2 ramets x 30 graines → 1524 graines**
 - Vergers: Picard, Vaquey, Saint-Sardos
2 zones à Picard (centre et nord)
 - Années: 2012 et 2014 (pollinisation 2011 et 2013)
 - Génotypes: « tardifs » (F1.0770; 3602-3); « moyen » (F1.0783); « précoce » (F1.0731)
 - Ramet: 3-4 cônes récoltés par ramet

La récolte des cônes se fait sur les mêmes arbres en 2012 et en 2014.

Echantillon-B

- Vaquey en 2014 (pollinisation 2013):
20 génotypes x 1 ramet x 30 graines
→ 590 graines

Echantillon-C

- Lot commercial 2015 (pollinisation 2014)
reconstitué (= mélange de 40 arbres choisis au
hasard avec 1 cône/arbre)
- **3 vergers x 150 graines → 450 graines**

| Seed Orchard | | Maternal genotype | Pollination year | Seed nber |
|------------------------------------------------------------------------------------|--------|--------------------|------------------|---------------|
| CSO-1 [St Laurent2-VF3] surrounded by maritime pine plantations | center | ♀A+♀B+♀C+♀D | 2011 | 240 (60/♀) |
| | border | | | 240 (60/♀) |
| | center | | 2013 | 116 (27-30/♀) |
| | border | | | 120 (30/♀) |
| | - | commercial seedlot | 2014 | 147 |
| CSO-2 [Beychac-VF3] some maritime pine plantations several km away | | ♀A+♀B+♀C+♀D | 2011 | 240 (60/♀) |
| | | | 2013 | 238 (58-60/♀) |
| | | 20 ♀ | 2013 | 590 (27-30/♀) |
| | | commercial seedlot | 2014 | 142 |
| CSO-3 [St Sardos-VF3] no maritime pine plantations within 20km | | ♀A+♀B+♀C+♀D | 2011 | 240 (60/♀) |
| | | | 2013 | 90 (17-29/♀) |
| | | commercial seedlot | 2014 | 149 |

2,552 seeds collected from 3 seed orchards over 3 years ¹⁰

Génotypage SNPs

- **54 génotypes parentaux** (2 ramets choisis dans des vergers différents) → récolte d'aiguilles
- Echantillons A-B-C → **2 552 plantules**
- Utilisation de 80 SNPs (Vidal et al., 2015)
- Génotypage Sequenom sur la Plateforme Génome Transcriptome de Bordeaux:
 - 54 parents x 2 ramets x 2 échantillons
 - 2 552 plantules

Jeu de SNP pour la reconstitution de pedigree

5 652 SNP polymorphes (Chancerel *et al.* 2013)

169 SNP avec fréquence allélique $\sim 0,5$

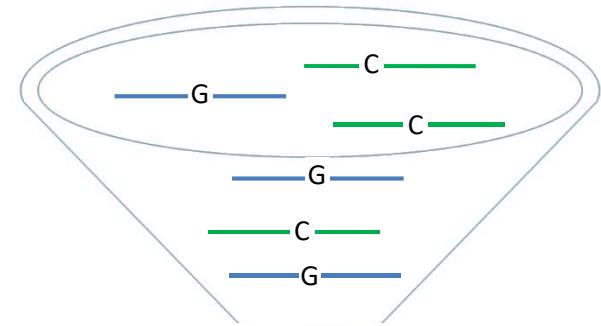
121 SNP avec $DL < 0.3$

80 SNP

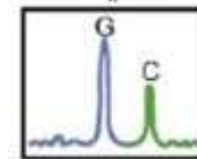
Génotypage par réaction iplex
(Sequenom)

$\sim 12\ 000\text{€}$ pour 1 700 échantillons

Reconstitution de pedigree avec le
logiciel CERVUS



Détection des allèles par
spectrométrie de masse

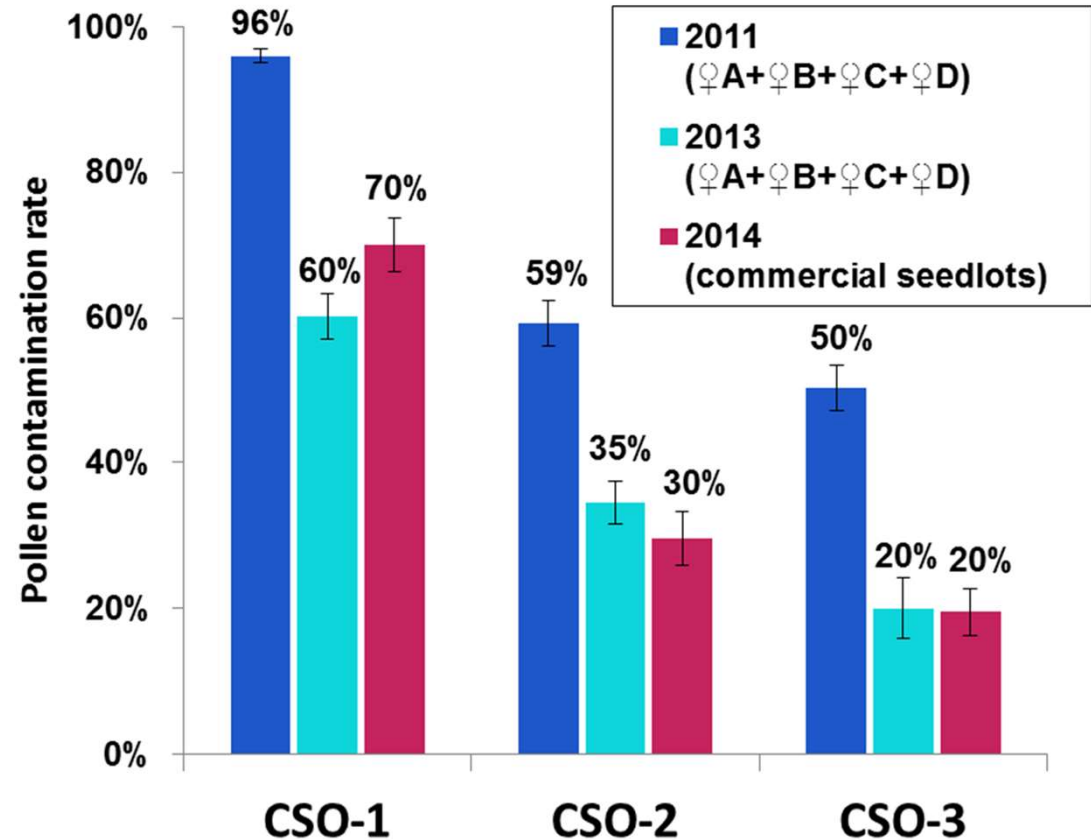


Reconstitution paternité / parenté

- **63 SNPs validés** (séparation nette des 3 classes génotypiques, taux de génotypage > 90%)
- Population parentale: 99,4% loci génotypés
- Logiciel Cervus 3.0.7
- **Echantillons A et B: analyse de paternité**
 - 2 114 individus avec 59 SNPs en moyenne (min=37; max=63)
 - Confirmation de la mère si: 1 mismatch max et LOD>0
 - Père retrouvé si: 1 mismatch max et trio level confidence>99%
- **Echantillon C: analyse de parenté**
 - 438 individus avec 56 SNPs en moyenne (min=46; max=57)
 - Toujours un parent avec 0 mismatch et LOD>0
 - Parents retrouvés si: 1 mismatch max et trio level confidence>99%

Taux de pollution pollinique par VG x année

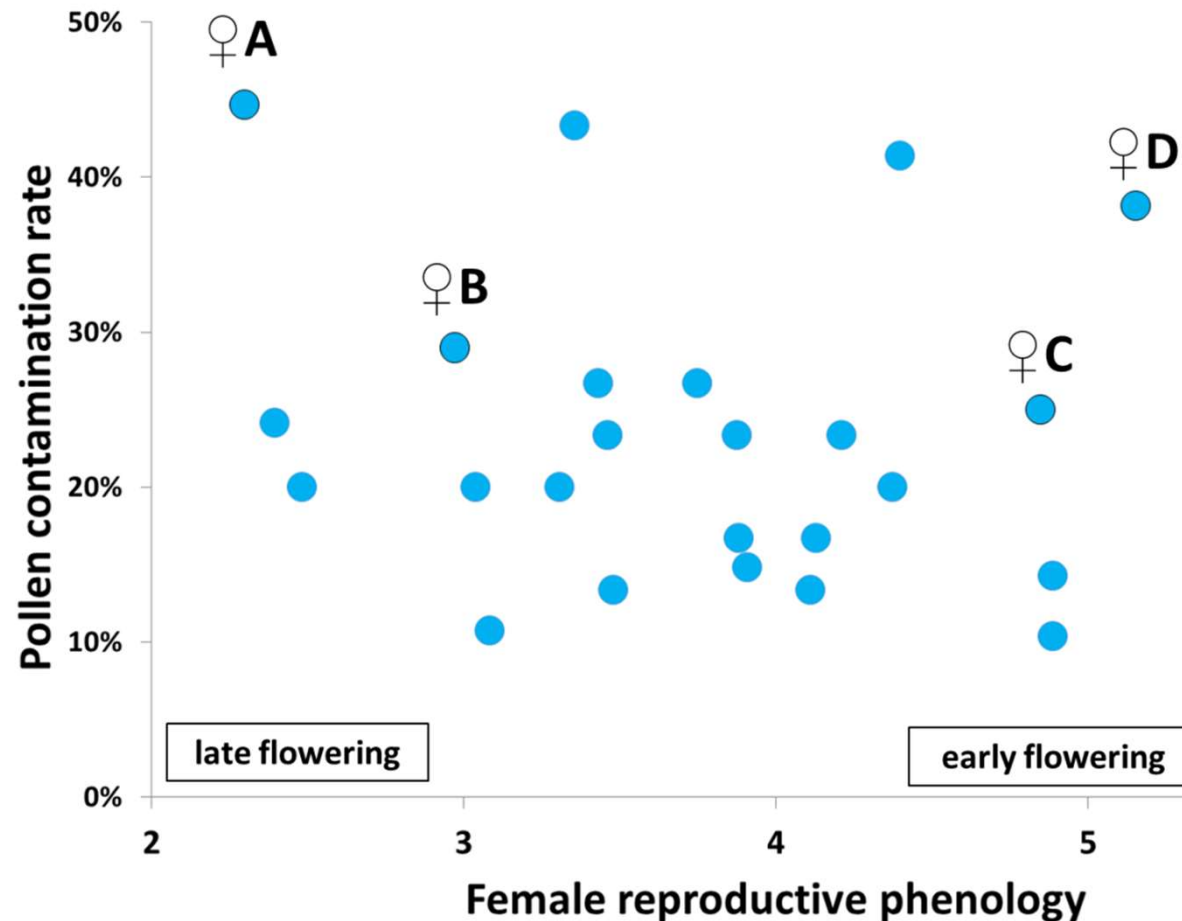
(éch. A et C: 4 mères en 2011-2013 et lot commercial 2014)



- Taux de pollution élevé (CSO-1>>CSO-2>CSO-3) mais variable selon l'année (2011>>2013~2014)
- Effets confondus: proximité du massif landais, année et âge des vergers (installation CSO-1 en 2006 vs CSO-2-3 en 2002-2003)
- Pas d'effet de la zone intra-verger (CSO-1)

Taux de pollution pollinique par mère

(éch. B: 20 mères à Vaquey, 2013)



Phénologie femelle: notation (note de 1 à 10) réalisée en 2015 et 2016 (1 passage /an/VG). La moyenne globale (ramets, année, VG) est reportée en abscisse.

- Forte variabilité du taux de pollution selon le génotype de la mère considérée
- Pas de corrélation entre phénologie femelle et le taux de contamination
- Les 4 génotypes sélectionnés pour l'échantillon-A présentent des taux de pollution élevés.

Conclusions

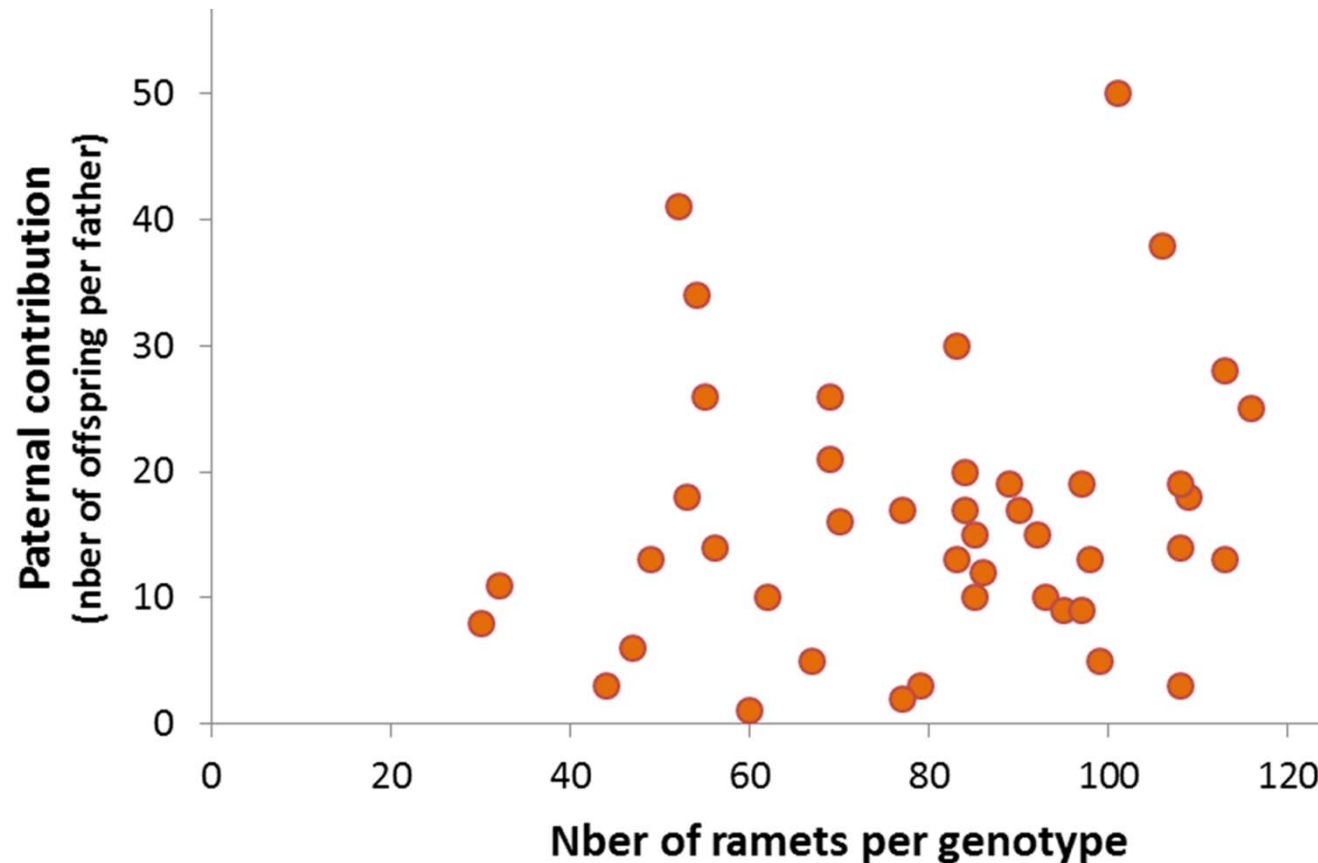
Taux de pollution pollinique:

- **Même ordre de grandeur que les deux études précédentes mais estimations plus précises**
- **Fortement dépendant du verger:** Picard >> Vaquey > Saint-Sardos
 - ➔ localisation des VG:
 - proximité des plantations de pins
 - Vaquey et St Sardos fleurissent 7-10 jours avant Picard
 - ➔ différence d'âge entre les VG
- **Indépendant de la zone intra-verger:** pas de différence entre Picard centre et nord
- **Fortement dépendant de l'année:** 2012 >> 2014
 - ➔ âge des VG (en particulier pour Picard en 2012)
 - ➔ climat?
- **Dépendant du génotype de la mère**
 - Vaquey en 2014: pollution de 10% à 45%

Perspectives

- Etude à approfondir pour analyser chaque facteur de manière indépendante (localisation, âge du verger, phénologie, météo...)
- Un suivi annuel du taux de pollution permettrait d'étudier les relations pollution – climat
- Étude des méthodes de réduction de la pollution (localisation des VG, verger sous serre, complémentarité pollinique, décalage phénologique...)

Contribution parentale (CSO-2; 2011 & 2013)



- Tous les pères contribuent à la descendance
- Auto-fécondation (5,4% en moyenne mais variable selon génotype)
- Contribution paternelle hétérogène non liée au nbre de ramets par génotype

Autofécondation

| | nbre-desc-avec-père-retrouvé | nbre-autofécondation | % autofécondation |
|---------|------------------------------|----------------------|-------------------|
| 0022-3 | 26 | 7 | 27% |
| F1.0766 | 24 | 4 | 17% |
| F1.0810 | 23 | 4 | 17% |
| 0251-6 | 22 | 3 | 14% |
| F1.0783 | 144 | 12 | 8% |
| F1.2368 | 24 | 2 | 8% |
| 00T41-1 | 17 | 1 | 6% |
| 0022-2 | 22 | 1 | 5% |
| F1.0731 | 117 | 6 | 5% |
| 0045-1 | 23 | 1 | 4% |
| 0123-1 | 26 | 1 | 4% |
| 0217-3 | 25 | 1 | 4% |
| 3602-3 | 146 | 6 | 4% |
| F1.0770 | 151 | 6 | 4% |
| F1.2631 | 25 | 1 | 4% |
| 0217-2 | 23 | | 0% |
| 3820-4 | 24 | | 0% |
| 3831-3 | 22 | | 0% |
| F1.0140 | 24 | | 0% |
| F1.0721 | 25 | | 0% |
| F1.0724 | 24 | | 0% |
| F1.0765 | 26 | | 0% |
| F1.2643 | 23 | | 0% |
| F1.2853 | 17 | | 0% |

Echantillon-A-B:

2 114 plantules, père retrouvé pour 1023 plantules dont 56 autofécondation (soit 5,5%).

Echantillon-C:

438 graines, 2 parents retrouvés pour 264 plantules dont 12 présentent une autofécondation (soit 4,5%).

Diversité génétique

| | CSO-1 | CSO-2 | CSO-3 |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|-------|-------|
| N (census nber of genotypes) | 46 | 47 | 48 |
| N_{eff} (effective nber of genotypes) | 39.1 | 43.1 | 38.6 |
| N_{eff,father} (effective nber of fathers; 2011-2013) | 14.6 | 31.2 | 13.1 |
| N_{eff,father,cont} (effective nber of fathers including pollen contamination*; 2011-2013) | 670.1 | 71.9 | 41.8 |

** each immigrant pollen is considered as a unique father*

- $N_{\text{eff}} < N$ due to a variable number of ramets per genotype (Table 2)
- $N_{\text{eff,Father}} < N_{\text{eff}}$ due to heterogeneous paternal contribution (Table 2)
- Contamination increases genetic diversity in the CSO seedlots ($N_{\text{eff,father,cont}}$), specially in CSO-1 (Table 2)