

Dispersion des graines et du pollen chez une espèce d'arbre d'Afrique Centrale : *Triplochiton scleroxylon* K. SCHUM

Promoteur : Professeur Olivier Hardy

Service : Évolution Biologique et
Écologie

Année académique : 2019-2020

Mémoire de fin d'études présenté en vue de
L'OBTENTION du diplôme de Master en
biologie des organismes par :

Mathilde LE GARREC



UNIVERSITÉ
LIBRE
DE BRUXELLES

Laboratoire d'Evolution biologique et
d'écologie (EBE) Campus du Solbosch
Avenue F.D. Roosevelt, 50 1050 Ixelles-
Bruxelles



Société d'exploitation ALPICAM
INDUSTRIES SARL – ALPICAM B.P. :
2 130 – Douala – Cameroun



Nature+ asbl s/c Laboratoire de Foresterie
des Régions Tropicales et Subtropicales
Passage des Déportés, 2 5030 Gembloux –
Belgique

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à adresser mes plus sincères remerciements à mon promoteur Olivier Hardy sans qui ce mémoire n'aurait pas pu être mené à bien. Merci pour le temps précieux qu'il a passé à m'aider à analyser, à comprendre, à rédiger... de manière générale, merci pour tous ces nombreux conseils et sa constante gentillesse.

Ensuite, je tiens à remercier Kasso Daïnou de m'avoir permis de réaliser ce mémoire dans le cadre de la convention de collaboration entre GRUMCAM et Nature+ ; de m'avoir accompagné et d'avoir guidé mes premiers pas lors de mon arrivée au Cameroun.

Je remercie toute l'équipe de gestion d'ALPICAM de m'avoir accueillie, logée, nourrie (et abreuvée), transportée, fait découvrir les plaisirs de la pêche et ce, toujours dans la joie et la bonne humeur à l'italienne. Merci donc à Mirco, pour les nombreuses discussions partagées, à Gianluca pour son enthousiasme à me faire découvrir les beautés de la nature Camerounaise ainsi qu'à Francesco et Angelo pour leur gentillesse.

Merci à Jean Ardenne de m'avoir éclairée concernant le fonctionnement de la société d'exploitation et d'avoir planifié toute la logistique sur le terrain, dans des conditions de sécurité maximales.

Je remercie tous les membres de l'équipe de terrain, Martin, Gomez, Donal, Amadou, Eric(o), Constant, Hypolyte, Apadoua avec lesquels j'ai partagé des moments inoubliables, remplis de fous rires et d'intéressantes discussions le soir après une dure journée de labeur. Merci à eux de m'avoir appris énormément sur leur culture et leurs traditions (je pense notamment à la préparation de la potion), de m'avoir enseigné la reconnaissance des essences et d'avoir toujours pris soin de moi. La collecte n'aurait pas été possible sans eux. Un merci tout particulier à Ango Bienvenu, botaniste et chef de la parcelle, pour son professionnalisme et la minutie de son travail, et le plaisir d'une complicité partagée pendant ce mois passé ensemble. Merci à John, mon comparse qui m'a appris les joies de la vie en forêt et aussi à Steve(o), cuisinier du camp de forêt qui a été adorable et toujours équitable envers tous.

Merci à Adamou d'avoir réussi à préparer en plein milieu de l'Afrique Centrale, de savoureux plats italiens et d'avoir toujours été d'une grande gentillesse.

Je remercie tout particulièrement Esra qui m'a patiemment formée de A à Z pour toutes les manipulations de laboratoire et aidée à effectuer nombreuses de mes manipulations. Je remercie également Frank qui m'a guidée dans la bonne humeur lors de ma première extraction d'ADN. De manière générale, je remercie toute l'équipe de l'EBE qui est tout simplement incroyable et avec qui j'ai passé des moments inoubliables (que ce soit autour d'une chouffe ou d'une saison de GoT).

Je tiens aussi à remercier Oriana, pour m'avoir fait participer à son étude et permis d'obtenir de précieuses informations sur la pollinisation de l'Ayous.

Je remercie du fond du cœur mes parents, Christophe et Fabienne qui même au bout du monde, ont trouvé le temps de corriger mon mémoire ainsi que mes deux sœurs Charlotte et

Lucie pour leur soutien inébranlable. Charlotte, tu as toujours l'art de trouver le petit quelque chose qui va me remettre d'aplomb, merci de me connaître si bien.

Un grand merci à tous mes amis qui m'ont conseillée, aidée et parfois juste permis de me détendre quand le stress était trop important. Sans eux, la vie serait certainement moins chouette.

Et finalement, un merci très spécial à Stephen pour tout ! Merci d'arriver à me faire rire dans les moments les plus sensibles et de toujours trouver le moyen de prendre soin de moi (en jouant de dérisions ou en me réconfortant avec de bons petits plats) merci aussi (attention tu risques d'aimer la suite) pour son raisonnement scientifique et ses excellents conseils, cela m'a en règle générale énormément aidée.

RÉSUMÉ - ABSTRACT

Dans un contexte d'exploitation forestière, l'estimation de la diversité génétique et de la structure des populations sont des éléments indispensables pour la mise en place de plans d'aménagements permettant la régénération et le maintien durable des peuplements forestiers. L'objectif de cette étude est de i. de caractériser la dispersion du pollen et des graines d'un arbre intensément exploité pour son bois d'œuvre en Afrique Centrale, *Trioplochiton scleroxylon*, via l'étude des flux de gènes en utilisant 17 marqueurs microsatellites, ii. d'évaluer l'effet des caractères phénotypiques sur le succès reproducteur de la population, iii. d'évaluer les impacts de l'exploitation sur les populations et ii. de décrire la pollinisation de l'Ayous. *T. scleroxylon* est une espèce héliophile pionnière présentant de manière générale un bon taux de reconstitution dans les habitats dégradés par l'activité humaine. La caractérisation des flux de gènes passe par des mesures directes faites à partir d'échantillons collectés sur une parcelle exploitée au Cameroun avec lesquels une analyse de la structure génétique spatiale et une analyse de parenté ont été faites. Les résultats indiquent que l'Ayous présente une distance moyenne de dispersion des graines à 100 mètres et une distance moyenne de dispersion du pollen à 575 mètres. La distribution de la dispersion du pollen est leptokurtique et la production de graines et de pollen est positivement corrélée avec le diamètre et l'indice de dominance dans la canopée des semenciers. La structure génétique spatiale de la population est marquée en deçà de 100 mètres et puis diminue progressivement avec la distance séparant les individus. La population ne montre pas de signes de consanguinité et présente une grande diversité génétique au niveau des séquences microsatellites. La distribution des diamètres est relativement homogène et les petits et moyens diamètres sont bien représentés, ce qui indique un bon taux de reconstitution de la population après exploitation. En ce qui concerne les pollinisateurs de l'Ayous, il s'agit principalement des hyménoptères et des lépidoptères. Pour finir, l'impact que peut avoir l'exploitation forestière sur la forêt et les recommandations pouvant être données sont discutées exposées à la fin du document.

In the context of a forest exploitation, the assessment of genetic diversity and population structure are crucial elements when establishing management plans enabling regeneration and sustainability of forests. The goal of this study is to i. characterize the seed and pollen dispersal of an intensely exploited tree of central Africa, *Triplochiton scleroxylon*, through the study of 17 microsatellites, ii evaluate the effect of phenotypic characteristics on fitness, iii. evaluate the impact of exploitation on the populations andiiii. get an insight into the pollination of the Ayous. *T. scleroxylon* is a light-demanding and fast-growing species with a good population reconstitution rate in anthropogenically degraded habitats. Characterization of gene flow is achieved by direct measures of samples collect on exploited land parcels in Cameroon, from which an analysis of spatial genetic structuring and kinship analysis were carried out. Results show an average dispersal distance for seeds and pollen of respectively 100 meters and 575 meters. Pollen dispersal follows a leptokurtic distribution and pollen and seed production is positively correlated to diameter and dominance index in the disperser canopy. Spatial genetic structuring of the population is pronounced within 100 meters and progressively diminishes as interindividual distances increase. The population does not show any signs of inbreeding and has high genetic diversity with regards to microsatellite sequences. Small and average diameters are well represented, indicating un good reconstitution rate within the exploited population. The pollination of the Ayous is mainly carried out by Hymenoptera and Lepidoptera. Finally, the impact that the exploitation on the forest could have, and possible recommendations are discussed in the finishing section of the document.

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	0
1. CONTEXTE D'EXPLOITATION FORESTIERE	0
1.1 Aménagement forestier.....	0
1.2 Situation au Cameroun	1
1.3 Impacts de l'exploitation et intérêts de l'étude	3
1.3.1 Dépression de consanguinité.....	4
1.3.2 Structure génétique spatiale	4
1.4 Étude de la flore tropicale – Problématiques.....	5
2. REPRODUCTION – REGENERATION	5
2.1 Flux de gènes	5
2.2 Morphologie sexuelle.....	6
2.2.1 Biologie des fruits et des graines.....	6
2.2.2 Biologie du pollen.....	7
2.3 Renforcement contre l'autofécondation (protandrie, protogynie):.....	8
2.4 Évaluation du taux de régénération d'une espèce en étudiant la structure diamétrique d'une population.....	9
3. OUTILS GENETIQUES POUR L'ETUDE DE LA DISPERSION DES GRAINES ET DU POLLEN	9
3.1 Rappel théorique : Marqueurs microsatellites.....	10
3.2 Méthode d'analyse des flux de gènes.....	10
3.2.1 Méthode directe ou analyse de parenté	10
3.2.2 Méthode indirecte	11
BUT DU TRAVAIL.....	13
MATÉRIEL ET MÉTHODE	15
1. MODELE BIOLOGIQUE	15
1.1 Description - Écologie	15
1.2 Répartition	17
2. SITE D'ETUDE – CONCESSION FORESTIERE ALPICAM.....	17
2.1 Concession forestière : ALPICAM	18
2.2 Climat.....	19
2.3 Végétation	20
2.4 Géologie.....	20
2.5 Historique d'exploitation :	21
3. MISSION DE TERRAIN	21
3.1 Protocole d'échantillonnage.....	21
3.1.1 Équipe de terrain	21
3.1.2 Collecte des échantillons.....	22
3.2 Placette génétique.....	25
4. MANIPULATION EN LABORATOIRE	25
4.1 Développement de marqueurs microsatellites :	25
4.2 Extraction d'ADN	26
4.3 Amplification.....	27
4.4 Géotypage	27
4.4.1 Lecture et encodage des géotypes :	28
5. LECTURE ET ANALYSES DES DONNEES.....	28
5.1 Estimation des fréquences alléliques, des allèles nuls et de la consanguinité	28
5.2 Estimation des paramètres de dispersion des graines et du pollen.....	30
5.3 Structure génétique spatiale (SGS)	31
6. ÉTUDE DES POLLINISATEURS DE <i>TRIPLOCHITON SCLEROXYON</i>	32
6.1 Encodage des données :.....	33

6.2	Analyse des données :.....	33
RÉSULTATS.....		35
1.	RESULTATS DE L'ÉCHANTILLONNAGE.....	35
2.	DIVERSITE ET COEFFICIENTS DE CONSANGUINITE	37
2.1	Étude à petite échelle de la parcelle de 100 hectares :.....	38
2.2	Étude de la population à large échelle :.....	40
3.	STRUCTURE GENETIQUE SPATIALE	40
4.	MODELISATION DE LA DISPERSION DU POLLEN ET DES GRAINES	42
4.1	Dispersion des graines	43
4.2	Dispersion du pollen.....	45
4.3	Analyse du succès reproducteur selon deux caractères phénotypiques	46
4.3.1	Le diamètre de l'arbre	47
4.3.2	La dominance dans la canopée.....	48
5.	POLLINISATION DE <i>TRIPLOCHITON SCLEROXYLON</i>	49
DISCUSSION		53
1.	ÉCHANTILLONNAGE :.....	53
2.	DIVERSITE ET CONSANGUINITE	53
2.1	Autofécondation et consanguinité.....	53
2.2	Diversité	54
3.	STRUCTURE GENETIQUE SPATIALE (SGS)	56
4.	MODELISATION DE LA DISPERSION DES GRAINES ET DU POLLEN	57
4.1	Dispersion des graines	57
4.2	Dispersion du pollen et pollinisation.....	58
5.	EFFETS DE L'EXPLOITATION ET DES CARACTERES PHENOTYPIQUES SUR LE SUCCES REPRODUCTEUR	59
6.	RECOMMANDATIONS POUR UNE GESTION DURABLE ET PERSPECTIVES DE RECHERCHES	60
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....		63
ANNEXES		69

INTRODUCTION

1. Contexte d'exploitation forestière

Au Cameroun, le secteur forestier représente une part importante de l'économie du pays, en effet il correspond à 25% des échanges commerciaux extérieurs (Topa *et al.*, 2010). L'équilibre économique et social du pays est en partie basé sur cette activité et il serait donc avantageux qu'elle soit gérée de la manière la plus durable possible. L'Ayous (*Triplochiton scleroxylon*) est la troisième espèce la plus exploitée d'Afrique (Bayol *et al.*, 2012) et représente avec le Sapelli, 65% de la production de bois au Cameroun (Topa *et al.*, 2010).

L'exploitation forestière exportatrice en Afrique Centrale se fait principalement sur les forêts naturelles qui sont, par conséquent soumises à une pression anthropique sélective pouvant impacter leur diversité spécifique et génétique. La coupe massive et non gérée de bois d'œuvre entraîne un changement, parfois imprévisible, de l'écologie et des cycles de régénération de la forêt. Cela cause une perte nette d'individus reproducteurs et augmente par conséquent la distance entre conspécifiques (Monthe *et al.* 2017) ce qui pourrait affecter négativement leur succès reproducteur (Aguilar *et al.*, 2008). De plus, les arbres de manière générale, sont souvent sujets à une dépression de consanguinité (Duminil *et al.*, 2009), dans le cas d'autofécondation ou d'accouplements consanguins, ce qui peut entraîner une perte de viabilité des graines et plantules et la fixation d'allèles récessifs délétères au sein du patrimoine génétique. L'obtention d'informations écologiques et génétiques sur les espèces exploitées est nécessaire pour concevoir des modes de gestion durable des populations végétales locales.

1.1 Aménagement forestier

Selon une étude de Gauthier Ligot en 2019, une exploitation forestière gérée de manière durable en forêt tropicale contribue au développement local et permet une préservation de la biodiversité et des habitats à long terme. Pour se faire, l'une des options est l'élaboration de plans d'aménagements forestiers adaptés aux espèces exploitées. Il s'agit prioritairement de définir des cycles de rotation pour éviter la surexploitation d'une zone de forêt. Ce plan doit inclure les seuils minimums et maximums d'exploitation tel que le diamètre minimum d'exploitation (DME), la durée d'un cycle, la masse de matière maximale exploitable par unité

de temps et de surface, et ceci doit être évalué spécifiquement pour chaque essence. Ces seuils sont soit imposés par le gouvernement, soit conseillés par des bureaux d'étude qui réalisent les plans d'aménagement (ex : corps de certification NATURE+). Les plans d'aménagements et le système de rotation proposent en théorie une méthode pour réduire l'impact de l'exploitation sur la biodiversité florale et animale.

Cependant, leur efficacité est remise en question lors des bilans pré/post exploitation. La forêt ne parvient pas toujours à retrouver son état pré-exploitation et ce à plusieurs niveaux (ex : densité d'origine, richesse spécifique, etc.). L'étude des impacts à court et long termes des populations face aux pressions imposées par l'exploitation font parties intégrantes de la mise en place d'une gestion durable. Par ailleurs, les quotas de production sont souvent établis pour l'espèce, quand, au sein même d'une population, les individus peuvent montrer des variations intra spécifiques (ex : taux de croissance plus élevé chez les arbres ayant un meilleur accès à la lumière ou poussant sur un sol plus riche). Dans ce cas, des biais sur les prédictions (ex : temps de régénération) peuvent se faire. Le taux de croissance peut notamment être influencé par la topographie, le changement climatique ou les perturbations naturelles/anthropiques du milieu.

Dès lors, si beaucoup sont optimistes quant à l'instauration des plans d'aménagements, il est important de tenir compte des nombreux facteurs pouvant influencer la capacité de régénération de la forêt. Le développement infrastructurel qui se fait autour des zones exploitées pour l'installation des chantiers et le transport des produits peut aussi être destructeur. Cela cause une augmentation du taux de pollution, l'infiltration facilitée de l'homme dans les forêts (braconnage, cueillette), la conversion de la forêt en lieux habitables, l'augmentation du pourcentage de catastrophes d'origine anthropique (incendie, installation d'espèces invasives...) parmi d'autres dégâts collatéraux (Luke Gibson, 2013).

1.2 Situation au Cameroun

Au Cameroun, le couvert forestier s'étend sur 21.2 millions d'hectares ce qui représente 45% du territoire national. En 1992, un ministère de l'environnement et des forêts a été formé pour permettre la gestion des ressources forestières au niveau juridique et politique. L'objectif de cette entité est de garantir la gestion durable des ressources forestières à travers la conservation et la production (Cerutti et al., 2008). Les lois s'y rapportant stipulent que les concessions

forestières doivent préparer avant exploitation un plan d'aménagement pour assurer une gestion écologiquement, économiquement et socialement durable de leur forêt.

Un plan d'aménagement est plus précisément un document dans lequel le potentiel de la ressource exploitée est évaluée, des compromis sont soupesés entre aspects sociaux, économiques, écologiques et des solutions équitables sont proposées. Le bilan du plan d'aménagement permet notamment de déterminer le volume maximal de bois d'œuvre pouvant être prélevé ou la surface maximale pouvant être exploitée chaque année.

Les lois camerounaises ont fixé le cycle de rotation à un minimum légal de 30 ans mais il revient à chaque concession de choisir et éventuellement d'ajuster le nombre d'années par cycle pour améliorer la durabilité de son exploitation. Cependant, jusqu'à présent, tous les plans de gestion ont été basés sur la prescription minimale légale de 30 ans. Ceci est principalement dû au fait que les UFA sont accordée pour une période de 15 ans qui n'est renouvelable qu'une fois. Par conséquent, les sociétés d'exploitation forestière ne peuvent pas fonder leurs décisions de gestion sur des périodes plus longues, ce qui risque de laisser des arbres de grande valeur sur pied pour une récolte future qui pourrait être accordée à une autre société (Cerutti et al., 2008). Les décisions prises pour le plan d'aménagement se font par conséquent sur le court terme et sont basées principalement sur les aspects économiques au détriment des aspects sociaux et écologiques.

L'exploitation sélective en Afrique Centrale prélève en moyenne 1 à 2 arbres par hectare (toutes espèces confondues) (Cerruti et al., 2008). Le diamètre minimum d'exploitation peut être fixé à une valeur plus grande que le diamètre minimum d'exploitation légal par le plan d'aménagement pour remplir les conditions de reconstitution d'au moins 50% de la parcelle entre deux rotations (Doucet et al., 2016).

Pour ce qui est de l'obtention de certification pour le bois d'œuvre, il s'agit d'une décision prise par les concessions de manière indépendante selon leur stratégie commerciale et leur éthique d'exploitation. Les corps de certifications se basent sur le respect des normes légales et du DME attribué à chaque espèce après une étude locale. Malgré l'importance des critères sur lesquels se base la certification du bois d'œuvre, elle n'est pas obligatoire et n'est pas gérée par le gouvernement. C'est donc aux entreprises d'exploitation de décider du niveau de durabilité qu'ils veulent atteindre dans leur structure.

1.3 Impacts de l'exploitation et intérêts de l'étude

La dispersion du pollen et des graines affecte la dynamique des populations végétales, leur structure génétique et leur réponse aux pressions de sélection (Garcia *et al.*, 2016).

L'étude de la dispersion peut s'avérer complexe en région tropicales (échantillonnage difficile) et plus spécifiquement, les événements de dispersion à longues distances. Cela dit, ils impactent considérablement la dynamique de colonisation des populations (Clark *et al.*, 2001) et leur capacité de régénération après exploitation sélective, il est donc important de pouvoir les caractériser.

Dans le contexte d'exploitation sélective, plusieurs procédés peuvent affecter la capacité de régénération des populations. Premièrement, la suppression de potentiels individus reproducteurs résulte en une production moyenne de graines réduite. Deuxièmement, l'augmentation de la distance entre individus après un cycle de coupe pourrait, si la dispersion du pollen est limitée, rendre la pollinisation croisée difficile et donc plus rare, favorisant l'autofécondation et par conséquent la consanguinité. Troisièmement, la réduction du nombre de semenciers peut limiter la possibilité d'établissement de graines en lieux propices au recrutement. Et finalement, en fonction de l'espèce et de ses besoins, les changements locaux engendrés dans les forêts (ex : ouverture dans la canopée) peuvent impacter l'établissement des graines et les taux de croissance des peuplements forestiers (Hardy *et al.*, 2019). S'il y a libération d'espace à la lumière, les espèces à croissance rapide (pionnières) et/ou les herbes peuvent être favorisées et se montrer plus compétitives par rapport aux espèces à croissance plus lente.

Une étude de Degen *et al.*, (2006) (sur quatre espèces tropicales de Guyane Française), qui vise à évaluer les différents impacts liés à l'exploitation a montré que celle-ci résultait souvent en une perte de génotypes et donc de diversité génotypique chez les populations. Les individus ayant été exploités ne peuvent plus transmettre leur patrimoine génétique ce qui peut engendrer une diminution de la richesse allélique et notamment une perte d'allèles rares. Les autres paramètres tels que l'hétérozygotie ou l'index de fixation (F) n'auraient pas été affectés par l'activité.

La structure démographique d'une espèce, la possibilité de recrutement et la similarité génétique au sein d'une population sont les déterminants qui prédisent l'amplitude de l'érosion génétique engendrée par l'exploitation (Jennings *et al.*, 2001). Chez les arbres pionniers à croissance rapide il faudrait s'attendre à des impacts plus importants concernant la diversité

génétique avec des déficits notables en petits diamètres et des générations se chevauchant peu (Jennings et al., 2001).

Cependant, pour beaucoup d'espèces tropicales, les flux de gènes ont tendance à parcourir de longues distances et tant que les forêts environnantes restent intactes, le risque d'érosion génétique est moindre car compensé par les flux génétiques extérieurs (Apsit et al., 2001).

Une étude de Sebbenn (2008) qui évalue les impacts à long terme de l'exploitation sur la diversité génétique des populations via des simulations virtuelles a montré que les effets étaient plus importants pour les populations soumises à une exploitation intense (cycle de rotation de 30 ans et DME + 45 centimètres). De plus, ces simulations ont pu mettre en avant le fait que chaque espèce réponde de manière différente à la pression imposée, ce qui devrait être pris en compte lors de l'élaboration de plan des gestion des exploitations.

1.3.1 *Dépression de consanguinité*

Darwin a observé que les plantes qui pratiquaient l'autofécondation étaient en moyenne de taille moins importante que celles issues de fécondation croisée. Il a ensuite calculé le fitness de la descendance dans les deux cas de fécondation et a trouvé que celui des individus issus de fécondation croisée était toujours plus élevé. La perte de ce fitness causée par des accouplements consanguins est appelée dépression de consanguinité. La dépression de consanguinité affecte généralement le succès reproducteur, la fécondité et le taux de survie des graines (Keller and Waller, 2002). Chez les espèces ayant une grande longévité, il n'est pas rare d'observer un taux élevé d'allèles récessifs délétères menant à une dépression de consanguinité (Duminil *et al.* 2016) ce qui concorderait avec le fait que l'autopollinisation chez beaucoup d'espèce à grande espérance de vie est sans succès (Leakey *et al.* 1981).

1.3.2 *Structure génétique spatiale*

La structure génétique spatiale (SGS) représente une distribution non-aléatoire d'une variation génétique pouvant exister au sein des populations.

Dans la plupart des cas les génotypes ne sont pas distribués par hasard mais limités par la distance de dispersion des graines et du pollen ce qui induit la création de structure génétique spatiale "familiale". Cette structure peut augmenter le risque de consanguinité (Degens 2006).

Les espèces qui présentent naturellement une structure génétique spatiale sont plus propices à montrer de la consanguinité. Celle-ci est induite par une reproduction entre individus parentés et peut mener à une augmentation du taux de mortalité et à un taux de croissance moins élevé si une dépression de consanguinité se déclare. Cela peut aussi affecter la compétitivité des individus notamment dans les forêts diversifiées où les compétitions intra et interspécifiques sont bien présentes (Durel et al., 1996).

Une des manières de décrire la Structure génétique spatiale est de représenter comment le degré d'apparentement entre individus décroît avec la distance spatiale qui les sépare.

1.4 Étude de la flore tropicale – Problématiques

L'étude de la dispersion du pollen et des graines peut s'avérer complexe en région tropicale où les arbres (exploités) sont généralement de grande taille et leur floraison souvent irrégulière. Selon Cascante et al. (2002) les espèces tropicales sont connues pour être plus vulnérables aux effets de la dégradation de leurs habitats dû à leurs caractéristiques démographiques et reproductives. Celles-ci incluent un faible taux d'évènements de floraison et de fructification, l'incapacité de s'autoféconder et une interaction intime avec leurs pollinisateurs ainsi que les différents acteurs de la dispersion des graines.

Les arbres sont des organismes sessiles qui ont, de manière générale un niveau de variation génétique élevé ce qui favorise la possibilité d'adaptation aux conditions auxquelles ils sont exposés (Degen, 2006). La conservation de cette diversité doit faire partie intégrante des initiatives et actions pour la gestion durable des forêts tropicales (Namkoong et al., 1996).

2. Reproduction – Régénération

2.1 Flux de gènes

Chez les plantes, la migration ou le flux de gènes résultent de la dispersion des graines et du pollen. La migration de gènes d'une population à l'autre dans une région permet d'augmenter la diversité génétique de ces populations avec un apport extérieur de gènes. Elle stabilise et homogénéise les fréquences alléliques au sein des populations. Les changements pouvant s'opérer dans ces fréquences sont influencés par la sélection naturelle qui permet aux individus

soumis à une contrainte environnementale, de s'adapter via le maintien de caractères avantageux (Shivanna et Tandon 2014).

La variation génétique est souvent estimée en utilisant les mesures de l'hétérozygotie. Le taux d'hétérozygotie dépend principalement du système de reproduction. Le système de reproduction est le mode de transmission des gènes d'une génération à l'autre via la reproduction sexuée. Les études sur le système de reproduction aident à estimer la taille effective que doit avoir une population pour maintenir chez l'espèce une diversité génétique suffisante.

2.2 Morphologie sexuelle

2.2.1 *Biologie des fruits et des graines*¹

Il y a une grande variation au niveau des fruits et des lots de graines parmi les différentes espèces de plantes. Plus particulièrement chez les arbres, il n'est pas rare d'observer une faible proportion de fleurs qui se développent en fruits matures. Cela peut être expliqué par plusieurs éléments comme une pollinisation défailante, l'avortement de fruits immatures (causes génétiques), l'attaque des fruits/fleurs par des ravageurs ou bactéries etc. La limitation des ressources qui survient souvent en fin de saison peut aussi causer l'avortement précoce des fruits et une moins grande viabilité des graines.

La dispersion des graines est un des aspects les plus critique de l'écologie reproductive. La plupart des graines tombent directement en dessous de l'arbre mère mais une part arrive en général à se disperser grâce aux agents extérieurs. La dispersion permet aux plantes d'échapper aux prédateurs et pathogènes spécialistes, ainsi qu'aux compétiteurs intraspécifiques et permet aux graines de s'installer dans des milieux favorables ou de coloniser de nouveaux habitats.

Les principaux agents de dispersion des graines sont la gravité (autochorie), le vent (anémochorie), l'eau (hydrochorie) et les animaux (zoochorie). La distance parcourue par les graines dispersées par le vent dépend fortement du poids et de la forme des diaspores et de la hauteur des plantes.

¹ Shivanna, K. R., & Tandon, R. (2014). *Reproductive ecology of flowering plants: a manual* (pp. 107-123). New Delhi: Springer India.

La stabilité de toute espèce dans son habitat naturel est dépendante d'une reproduction optimale et du recrutement de nouveaux individus pour le maintien des populations dans le temps. Cependant la proportion d'ovules qui se développent en graines est faible et la proportion de graines qui se développent en adulte minime. En forêt tropicale on parle de 1 succès sur 100 000 (Harms et al., 2000). Parmi les facteurs qui nuisent à la production de graine, la prédation (larves, oiseaux, chenilles, parasites...) des bourgeons et des fleurs est prépondérante.

Contraintes à la dispersion des graines en forêt tropicale (Modèle de Janzen-Connell) (Janzen, 1970 and Connell, 1971) :

La forêt tropicale est caractérisée par une grande diversité d'espèces et de longues distances séparant les conspécifiques. La mortalité dépendante de la distance ou de la densité a été révélée comme étant un mécanisme expliquant la coexistence d'autant d'espèces différentes. En effet, bien que la densité de graines diminue lorsque la distance avec l'arbre parent augmente, on observe une réduction de la mortalité des graines lorsqu'elles dispersent loin de leurs parents (moins de compétiteurs/plus de possibilité de recrutement). Une des limitations importantes est l'accès à la lumière pour les graines qui y sont sensible.

2.2.2 *Biologie du pollen*²

La pollinisation est, chez les plantes, la base des flux de gènes et des recombinaisons génétiques. C'est le transfert d'un grain de pollen d'une anthère à un stigma. La pollinisation effective est un prérequis pour le développement de graines.

Les agents pollinisateurs peuvent être le vent, l'eau et les animaux. La zoogamie est la forme de pollinisation la plus courante (90% des cas) puis vient l'anémogamie et finalement l'hydrogamie qui est plus rare.

En fonction de la provenance du pollen on classe la pollinisation dans 3 catégories : L'autogamie, la geitonogamie (le pollen est transféré sur le stigma d'une fleur de la même plante) et la xénogamie (le pollen est transféré sur le stigma d'une autre plante). Les deux dernières catégories nécessitent l'utilisation d'agents pollinisateurs.

² Shivanna, K. R., & Tandon, R. (2014). *Reproductive ecology of flowering plants: a manual* (pp. 107-123). New Delhi: Springer India.

La zoogamie requière le développement de structures pour attirer les animaux pollinisateurs mais se doit d'être sélective pour éviter la fécondation hétérospécifique qui réduirait nettement le fitness de l'espèce. Parmi les presque 13500 genres d'angiospermes, 500 sont pollinisés par les oiseaux, 250 par des chauves-souris et 874 par le vent ou l'eau, le reste étant pollinisés par des insectes (Shivanna et al., 2014). L'entomogamie est donc la voie de pollinisation la plus importante et les Hyménoptères, les Lépidoptère, les Coléoptères et les Diptères sont les ordres les plus souvent retrouvés en son sein (Shivanna et al., 2014).

Dans la plupart des cas, la pollinisation prend place pendant la journée mais pour certaines espèces elle est nocturne, dans ce cas les fleurs restent ouvertes durant la nuit. La pollinisation peut aussi s'étendre sur 24h lorsque les pollinisateurs se font rares ou imprévisibles.

Le pollen et les graines sont les agents du flux de gènes, qui est le mouvement physique d'allèles d'un endroit à un autre. La mesure de ce flux se fait en estimant la distance à laquelle se disperse l'un ou l'autre agent.

2.3 Renforcement contre l'autofécondation (protandrie, protogynie):

L'autofécondation (la fécondation d'un ovule par le pollen d'une même plante) peut être avantageuse dans certains cas, elle assure la reproduction des individus dans les petites populations ou quand les pollinisateurs se font rares. La transmission du patrimoine génétique du parent est alors plus importante et les adaptations locales, si présentes, sont conservées.

Néanmoins elle présente aussi beaucoup de désavantages comme une baisse de la diversité génétique, des recombinaisons moins efficaces, une baisse du potentiel adaptatif et une proportion de pollen alloué à la fécondation croisée plus faible entraînant une divergence des populations plus importante.

L'autofécondation peut être évitée de plusieurs manière en fonction de l'espèce. L'herkogamie est l'existence d'une séparation spatiale entre les anthères et le stigmate. Il s'agit donc d'une barrière physique entre les organes sexuels.

La phénologie de la plante peut aussi représenter une barrière temporelle entre la production des gamètes mâles (pollen) et femelle (ovule(s)) d'une même plante. Il y a alors une impossibilité pour le pollen d'une plante (fleur) de rencontrer le pistil de cette même plante (fleur) puisqu'il n'est pas accessible au même moment et vice-versa (Webb, C. J., & Lloyd, D.

G.,1986). Lorsque les étamines fanent quand les pistils mûrissent on parle de protandrie, le cas contraire est appelé protogynie.

2.4 Évaluation du taux de régénération d'une espèce en étudiant la structure diamétrique d'une population³

Beaucoup de recherches concernant la régénération des forêts tempérées ont démontré que les perturbations à large échelle sont des déterminants critiques de la composition, la structure et la dynamique d'une forêt (Oliver, 1980). Cela résulte par exemple en une distribution irrégulière du diamètre des arbres dominants.

La distribution des diamètres chez une espèce héliophiles en forêt tropicale peut prendre plusieurs formes. Si on observe une distribution importante des classes de petits diamètres suivie d'une diminution graduelle vers les classes de plus grands diamètres, cela représente en théorie un bon recrutement et une bonne reproduction de l'espèce. Dans cette situation, la distribution des diamètres devrait prendre la forme de J inversé, qui représente également un taux de mortalité annuel stable. Dans le cas d'une perturbation sévère suivie d'une période sans perturbation, on observe un taux de régénération important mais éphémère, c'est un cas d'échec de régénération récent. Selon Feyera et al (2002), cela indique un taux de recrutement et de reproduction faible et un taux de mortalité élevé qui peuvent être associés à une compétition importante avec les arbres environnants. La distribution des diamètres prend alors la forme d'une cloche avec les diamètres moyens bien représentés au centre et les petits et grands diamètres peu représentés (Kuma, M., & Shibru, S. 2015).

3. Outils génétiques pour l'étude de la dispersion des graines et du pollen

Les marqueurs génétiques (ou moléculaires) donnent des informations sur les variations existantes au sein des génomes que ce soit au niveau de l'espèce, de la population ou de l'individu. Ils représentent de précieuses sources d'informations pour beaucoup de domaines en biologie.

Dans le cas de cette étude, on évalue quels sont les liens de parenté entre les individus d'une population et quelle est la structure génétique générale de la population. Il est donc nécessaire

³ Vlam, 2017

d'utiliser des outils moléculaires capables de discriminer ou d'identifier à l'échelle de l'individu. Pour cela, les marqueurs microsatellites sont de bons candidats car hautement polymorphes.

3.1 Rappel théorique : Marqueurs microsatellites

Les microsatellites également appelé SSR « simple sequence repeats » sont des séquences non codante du génome ou régions transcriptionnelles silencieuses. Ce sont des fragments d'ADN constitués de courtes séquences de 1 à 10 nucléotides répétées en tandem. Ils sont dispersés dans tout le génome et sont hautement variables d'un individu à l'autre. Ils sont donc régulièrement utilisés pour étudier les relations génétiques à un niveau intraspécifique. La variabilité de ces marqueurs réside dans le nombre de répétitions du motif répété, c'est donc leur taille qui varie d'un individu à l'autre par perte ou gain de répétitions. Ce polymorphisme est causé par des erreurs de l'ADN polymérase et des crossing-over inégaux, engendrant un haut taux de mutation (10^{-6} à 10^{-3} par génération cellulaire) (Viera et al, 2016).

3.2 Méthode d'analyse des flux de gènes

Afin d'étudier les patterns de dispersion génétique, deux méthodes peuvent s'appliquer :

3.2.1 Méthode directe ou analyse de parenté

La méthode directe mesure les flux de gènes par l'analyse de parenté/paternité à travers l'observation des mouvements de graines et de pollen. Il faut pour cela obtenir le génotype et la position géographique de tous les individus adultes et des descendants présents sur la parcelle afin de connaître les distances de dispersion des gènes.

La distance de dispersion des graines représente la distance qui existe entre un juvénile/une graine et l'arbre mère. La distance de dispersion du pollen représente la distance qui existe entre les deux parents d'un juvénile.

Une telle étude demande un haut taux de polymorphisme au sein des marqueurs moléculaires et un effort d'échantillonnage important, nécessitant un inventaire exhaustif des adultes sur une surface déterminée (Monthe *et al.* 2017). Si un juvénile (ou une graine) n'est pas assigné à ses parents, on considère qu'il est issue d'arbres provenant de l'extérieur de la passerelle et donc

qu'il y a présence de migration (flux de gènes). Cependant, il faut tenir compte du fait que la taille de la parcelle génétique est limitée et que les parents peuvent se trouver à proximité tout en étant hors de la zone étudiée (effet de bord).

Chez les espèces zoogames, c'est le comportement des pollinisateurs qui détermine la distance de dispersion du pollen. Ce comportement peut être influencé par plusieurs facteurs :

- Le nombre de fleurs par plante va influencer le temps passer sur une même plante
- La densité de la population peut limiter la quantité de pollen disponible et la production de graines

Dans le cas où les pollinisateurs parcourent de faibles distances, des croisements consanguins peuvent se produire.

3.2.2 Méthode indirecte

La méthode indirecte se repose sur la structure génétique spatiale (SGS) de la population adulte (évaluation du taux de migration entrant dans la population) ou sur les patterns de différenciation génétique entre les lots de graines. La SGS est principalement causée par une dérive génique locale. L'estimation de la SGS est faite en extrapolant les mesures de flux de gènes à partir des fréquences alléliques observées au sein de la population. Le modèle d'isolement par distance (IBD) des populations et la présence de dérive génique locale (Duminil *et al.* 2016) si, non compensé par un taux d'immigration suffisant (Vekemans et Hardy, 2004), caractérise la SGS. Le modèle d'isolement par distance permet de décrire la structure génétique spatiale en représentant les liens de parenté entre individus en fonction de la distance géographique les séparant. S'il y a SGS, cela signifie que plus un individu se trouve éloigné spatialement d'un autre individu, moins ils sont apparentés.

BUT DU TRAVAIL

Globalement, le but de cette étude est de pouvoir apporter aux concessions d'exploitation des informations idéalement sous forme de recommandations concernant les impacts qu'ont leur activité sur le patrimoine génétique des populations ou la durabilité de l'exploitation pour leur permettre de gérer leur structure de manière optimale.

Cette étude permet via l'utilisation de marqueurs microsatellites i. d'évaluer la distance de dispersion des graines et du pollen de l'espèce *Triplochiton scleroxylon* (Ayous) sur une échelle locale, ii. d'estimer la densité seuil d'arbres par unité de surface qu'il faille maintenir après exploitation afin d'assurer une reproduction efficace, iii. de caractériser les bons reproducteurs en identifiant les caractères phénotypiques liés à leur succès reproducteur ii. d'évaluer l'impact de l'exploitation sur la population locale et iii. d'effectuer une première étude des pollinisateurs de l'Ayous.

D'autres paramètres caractérisant les flux de gènes et la régénération de l'espèce sont estimés tels que le taux d'autogamie, le taux de consanguinité et son influence sur la diversité génétique de la population. Une étude à large échelle est réalisée grâce à la disponibilité d'échantillons provenant de différentes régions du Cameroun.

Comme il n'existait pas encore de marqueurs microsatellites développés chez l'espèce cible, un premier objectif a été d'en développer pour l'espèce *Triplochiton scleroxylon*.

MATÉRIEL ET MÉTHODE

1. Modèle biologique

1.1 Description - Écologie

Triplochiton scleroxylon K. SCHUM, dont le nom commercial est AYOUS, OBECHÉ, SAMBA ou encore WAWA est une espèce d'arbre caducifolié appartenant à la famille des Malvaceae (angiosperme), répartie largement en Afrique centrale et caractéristique de la forêt semi-décidue (chute partielle des feuilles en saison sèche, forêts riches en bois d'œuvre). Cet arbre se retrouve principalement dans les zones climatiques présentant une alternance de saisons humides et sèches et à basse/moyenne altitude (Hall et Bada, 1979). L'espèce est héliophile et s'installe préférentiellement dans les clairières et au niveau des trouées dans la canopée (Jones *et al.* 1974).

L'arbre est massif, il peut atteindre une hauteur de 50 mètres, un diamètre de 2 mètres et il développe de larges contreforts à la base de son tronc (Hall et Bada, 1979). Les fleurs sont hermaphrodites (Leakey *et al.* 1981) et la floraison ne commence généralement pas avant l'âge de 15 à 30 ans (Leakey *et al.* 1981). L'initiation florale se fait au commencement de la saison sèche (Jones *et al.* 1974) et plus particulièrement, elle est associée à une courte période de sécheresse intense (Howland et Bowen, 1977).

Le fruit de l'Ayous est le samare à aile longue qui est un fruit sec et indéhiscent avec une excroissance du péricarpe en forme d'aile plate. La fructification se fait au commencement de la saison humide (Leakey *et al.* 1981). La pollinisation est menée par les insectes (zoogamie) tandis que la dispersion des fruits se fait via le vent (anémochorie) (Leakey *et al.* 1981). Cette espèce semblerait présenter des difficultés à fleurir, cela pourrait être expliqué par l'action de ravageurs (chenilles), un besoin important en lumière (Jones *et al.* 1977) et des exigences pédologiques.

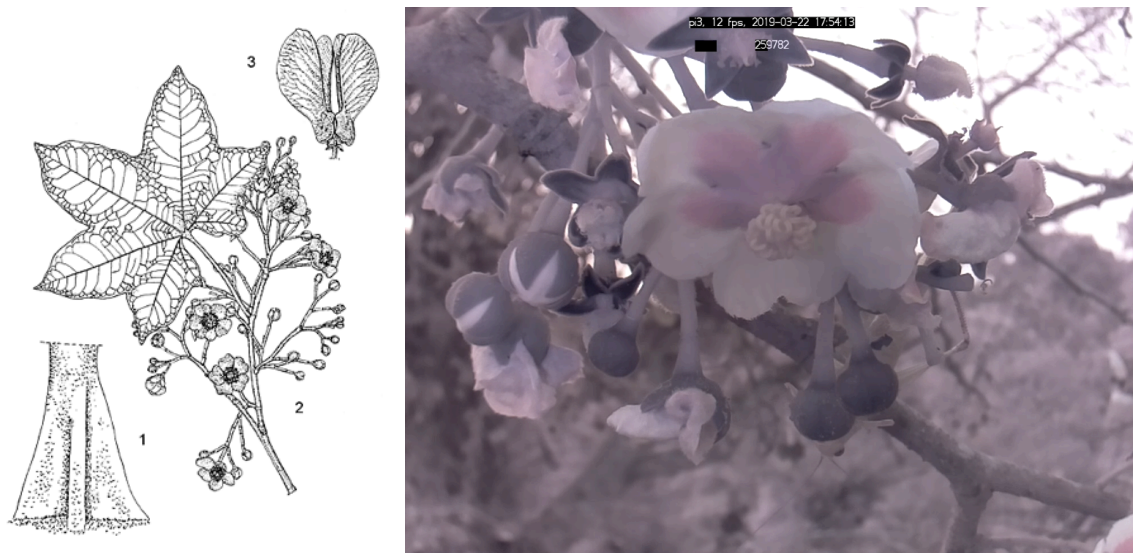


Figure 1 : À gauche : 1. base du fût ; 2. rameau en fleurs ; 3. fruit de l'espèce *Triplochiton scleroxylon*, redessiné et adapté par Iskak Syamsudin (source internet : [https://uses.plantnet-project.org/fr/Triplochiton_scleroxylon_\(PROTA\)](https://uses.plantnet-project.org/fr/Triplochiton_scleroxylon_(PROTA))) et à droite photo d'une inflorescence de l'espèce *Triplochiton scleroxylon* capturée à partir des enregistrements vidéo fait par Oriana Bassin pour l'étude des pollinisateurs (caméra pi3, le 22/03/2019 à 17:54:13).

Il est difficile de connaître la densité naturelle de *T. scleroxylon* mais il s'agit d'une espèce grégaire, il n'est donc pas rare de retrouver un grand nombre d'individus présents sur de petites surfaces. Son taux de croissance est relativement important, l'incrément pouvant aller jusqu'à 1.82 centimètre de diamètre par an. Cependant ce taux de croissance semble varier en fonction de l'historique d'exploitation/perturbation de la forêt étudiée.

Selon une étude menée par Ligot *et al.* (2019), l'incrément peut différer de plus d'un centimètre de plus par an pour les parts de forêts exploitées par rapport aux forêts naturelles. Selon cette même étude, les arbres atteignent le DME de 80 centimètres entre l'âge de 57 et 139 ans. Après un évènement d'exploitation ou d'éclaircissage, le taux de croissance des arbres serait nettement supérieur pendant environ 15 ans avant de décroître pour égaliser celui des arbres non-exploités.

Le taux de croissance de l'Ayous varie considérablement (en fonction de l'habitat ou des individus) et la relation entre la taille de l'arbre et sa croissance annuelle est faible contrairement à d'autres espèces. Il est important d'en tenir compte lors des calculs des taux de reconstitution des stocks de bois étant donné que ce sont les individus présentant de hauts taux de croissance qui y contribuent le plus. Le bois de *T. scleroxylon* est peu dense et lui permet de modifier rapidement sa forme afin de capturer un maximum de lumière et donc de maximiser sa vitesse de croissance (Jones *et al.* 1977 ; Leakey *et al.*, 1981 ; Hall et Bada, 1979).

T. scleroxylon pousse sur des sols bien drainés, ferrugineux (sols ferralitiques ou sols rouges sur roches éruptives et cristallines, sur les schistes et les micaschistes) et fertiles. On le retrouve à une altitude en moyenne inférieure à 500 mètres et jamais supérieure à 1000 mètres (Hall and Bada, 1979). L'abondance de *T. scleroxylon* atteint son maximum dans les régions où la quantité d'eau ne dépasse pas 2000 mm et où le sol est bien fertile (Hall and Bada, 1979).

1.2 Répartition

Triplochiton scleroxylon est réparti dans la zone forestière d'Afrique occidentale et centrale depuis la Guinée jusqu'à la République centrafricaine, et vers le sud jusqu'au Gabon et la République Démocratique du Congo.

2. Site d'étude – concession forestière ALPICAM

La collecte d'échantillons est effectuée dans l'Est du Cameroun. La recherche a été entreprise au sein de la société d'exploitation forestière et de transformation de bois à capitaux privés : ALPICAM. De nombreuses essences telles que l'Ayous, l'Iroko, l'Okan, le Kosipo, le Bilinga parmi d'autres y sont abattues et transformées pour ensuite être exportées en dehors de l'Afrique.

La placette génétique est mise en place sur une parcelle de 400 hectares installée dans l'AAC (Assiette annuelle de coupe) 6.3 de l'UFA (l'Unité Forestière d'Aménagement) 10.051 (3°45' et 4°10' de latitude Nord et 15°00' et 14°40' de longitude Est) dans le cadre de la convention de collaboration entre GRUMCAM et Nature+.

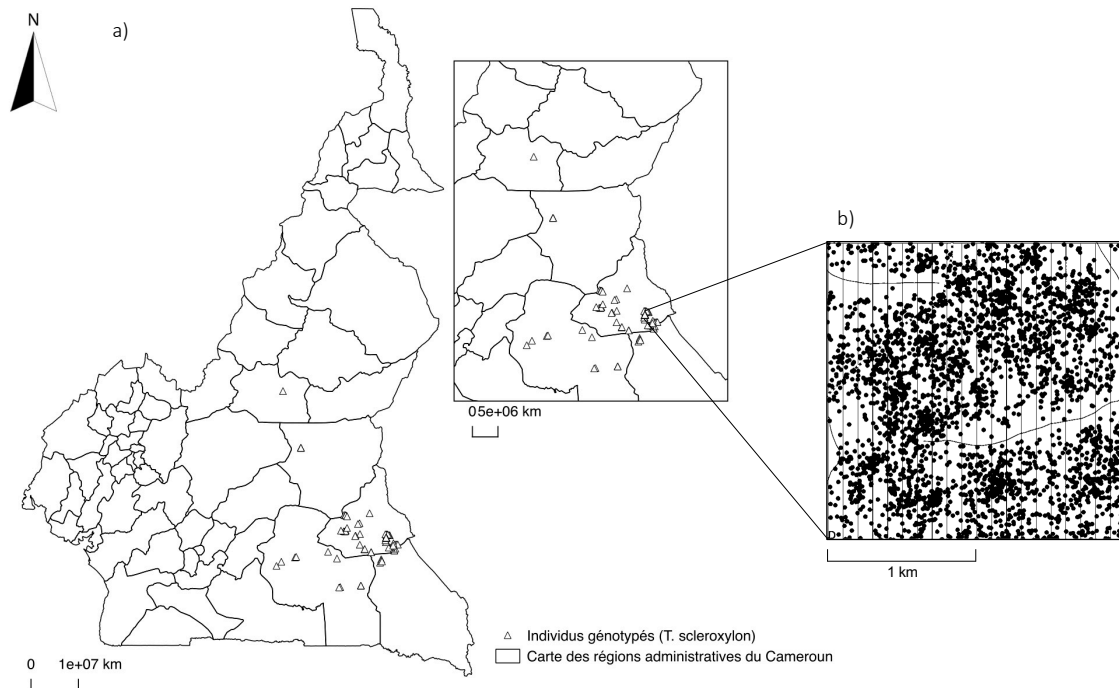


Figure 2 : a) Carte de la répartition des individus de l'espèce *Triplochiton scleroxylon* échantillonnés dans différentes régions du Cameroun qui ont servi à l'analyse à large échelle. La collecte de ces échantillons n'a pas été faite dans le cadre de cette étude. b) Parcelle de 400 hectares inventoriées de manière exhaustive pour les individus (*T. scleroxylon*) de diamètre > 10 cm et de manière non exhaustive pour les individus de diamètre < 10 cm. Chaque point représente un individu différent, les lignes noires représentent les zones de marécages.

2.1 Concession forestière : ALPICAM

La société d'exploitation forestière ALPICAM, pour laquelle la recherche a été menée a adopté un système de rotation sur 30 ans. Leurs terres sont divisées en unités forestières d'aménagement (UFA) et chaque UFA est sous-divisée en 30 assiettes annuelles de coupe (AAC). L'exploitation d'une AAC s'étend sur une année. L'exploitation est dite sélective, c'est-à-dire que l'on ne prélève à la forêt que les essences d'intérêt ayant atteint leur DME en laissant intactes les autres espèces et certains semenciers considérés comme ayant une haute valeur génétique. Ces semenciers pourront, en théorie, réapprovisionner la forêt de nouvelles recrues et une fois le diamètre minimum d'exploitation (DME) atteint, être exploités à leur tour (Hardy et al., 2019). L'UFA étudiée est placée sous le contrôle de la délégation départementale du MINEF de la Boumba et Ngoko à Yokadouma.

Aménagement de l'UFA 10-051 pour l'Ayous ⁴

⁴ Plan d'aménagement de l'UFA 100051, MIN.E.F Direction des forêts, ONF international, 16 Octobre 2014.

Selon l'inventaire d'aménagement ONADEF 1999, l'effectif exploitable est de 2,19 tiges par hectare pour l'Ayous et représente 20 % de la totalité des espèces exploitables. Les inventaires permettent le calcul de paramètres importants à connaître avant l'exploitation pour définir notamment le taux de régénération d'une espèce. Voici les résultats des mesures faites chez ALPICAM :

- Calcul de l'accroissement annuel moyen de l'Ayous : 1,1 mm/an
- Estimation des dégâts d'exploitation : Si 1 à 2 arbres/hectare sont exploités, le couvert forestier est réduit de 7% du peuplement résiduel (MINEF), + 3% avec les pistes de débardage et + 1% avec le réseau routier (permanent).

Les conditions à respecter pour l'UFA :

- Une révision du plan d'aménagement tous les 5 ans.
- La réglementation de certaines activités : chasse et cueillettes tout en intégrant les besoins vitaux des populations et les objectifs de préservation et conservation de la biodiversité.
- Une rotation de 30 ans, une mortalité annuelle de 1% ou moins et les dégâts d'exploitation ne dépassant pas 7% (en tenant compte de l'accroissement annuel de chaque espèce).
- Le calcul de la possibilité : La possibilité forestière définit le volume moyen de bois susceptible d'être récolté pendant la durée de l'aménagement forestier sur une série ou un groupe d'unité de gestion (J. Dubourdieu, ONF, 1997). La possibilité annuelle de coupe correspond à la superficie maximale exploitable annuellement dans une UFA sans diminuer la capacité productive du milieu.

Pour l'Ayous, concernant la 1^{ère} rotation, le volume exploitable est de 2 394 000 m³ sur une période de 30 ans. Le DME (diamètre minimal d'exploitation) est fixé à 80 centimètres et son taux de reconstitution à 59,12%.

En complément, un suivi de la forêt est prévu via l'observation annuelle des paramètres suivants (sur une unité de comptage de 25 ha) : la phénologie, l'accroissement annuel moyen des diamètres des arbres, la mortalité et les impacts des interventions sylvicoles sur les tiges, la vigueur de la régénération et la perturbation causée par l'exploitation forestière sur la faune.

2.2 Climat

La région bénéficie d'un climat équatorial de type guinéen avec deux saisons sèches. La petite saison sèche s'étend de fin juin à mi-août et la grande de mi-novembre à mi-mars. Elles sont

séparées par une petite (mi-mars à fin juin) et une grande (mi-août à mi-novembre) saison des pluies. La température moyenne annuelle est de 25.0 °C et les précipitations moyennes annuelles s'élèvent à 1500 mm/an $\pm$ 100 mm.

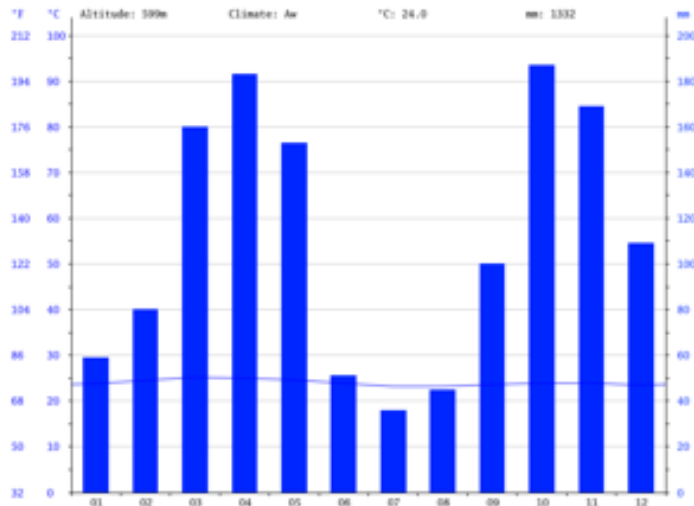


Figure 3 : Diagramme ombrothermique de la région de l'est du Cameroun (ref: climate-data.org).

2.3 Végétation

L'UFA est couverte par une forêt dense, humide semi-caducifoliée du domaine Guinéo-Congolais (Letouzey, 1985) dans une zone de transition se rattachant au type forêt mixte semi-caducifoliée (à sterculiacées et ulmacées). La quasi-totalité de l'UFA est considérée comme une strate forestière productive par le CENADEFOR (1987) mais elle présente un profil de dégradation ou de transition parfois prononcé.

2.4 Géologie⁵

L'UFA repose sur un socle formé de roches métamorphiques (granite et gneiss). Les sols sont des dérivés de roches ferrallitiques rouges et jaunes, sauf les zones marécageuses (bandes hydromorphes développées sur des sédiments alluviaux et colluviaux).

L'altitude varie entre 600 et 850 mètres et la topographie est qualifiée de pénéplaine.

Le réseau hydrographique est relativement dense avec de nombreuses rivières environnantes et deux micro-bassins versants.

⁵ Tiré du plan d'aménagement de l'UFA 100051, MIN.E.F Direction des forêts, ONF international, 16 Octobre 2014.

2.5 Historique d'exploitation⁶ :

L'exploitation forestière serait ancienne dans la zone. De nombreuses licences y ont été attribuées et exploitées jusqu'en 1996, date du passage définitif au régime UFA. Les perturbations bien visibles de l'UFA par d'anciennes exploitations sont les ouvertures des routes et pistes d'exploitation ainsi que les chablis d'abattage. L'UFA n'a, à ce jour, pas fait l'objet de reboisement.

3. Mission de terrain

3.1 Protocole d'échantillonnage

Un inventaire exhaustif a été réalisé sur une parcelle de 400 hectares (carré de 2km² de côté) où tous les individus de plus de 10 centimètres de diamètre de l'espèce *Triplochiton scleroxylon* ont été échantillonnés. Un échantillonnage non-exhaustif de tiges plus petites et de lots de graines a également été fait.

3.1.1 Équipe de terrain

La mise en place de la parcelle a demandé la participation d'une équipe de techniciens de la société ALPICAM. Parmi eux, le boussolier, avait pour rôle de délimiter les bordures extérieures de la placette à l'aide d'un GPS et d'ouvrir des layons parallèles les uns aux autres à chaque intervalle de 100 mètres, avec comme outil une machette. Il était accompagné d'un chaineur chargé de placer un jalon tous les 50 mètres. Trois layonneurs avaient pour rôle de dégager les layons à la machette, eux-mêmes précédemment ouverts par le boussolier. Cinq prospecteurs capables de reconnaître les différentes essences et moi-même avons fait la collecte des essences sous la supervision d'un botaniste (et chef de parcelle). Pour finir, un cuisinier était présent sur le campement établi en forêt pour nourrir l'équipe.

⁶ Tiré du plan d'aménagement de l'UFA 100051, MIN.E.F Direction des forêts, ONF international, 16 Octobre 2014.

3.1.2 Collecte des échantillons

La collecte a duré un mois et demi, elle s'est faite par périodes de 12 jours de travail, entrecoupées par 4 jours de repos.

L'équipe et moi-même évoluions de la façon suivante ; un prospecteur avançait sur le layon principal en servant de repère aux quatre autres prospecteurs qui progressaient en même temps en ligne horizontale sur une tranche de 50 mètres. Chaque prospecteur était chargé d'inventorier tous les arbres dans un rayon de 10 mètres. Le botaniste et chef d'équipe encodait les données sur une fiche de relevés et était la référence en cas d'incertitude concernant l'identification des espèces. Lorsqu'un arbre d'intérêt était identifié, un code génétique lui était attribué, indiquant l'espèce (AY001, AY002...). Ce code était inscrit à la peinture rouge sur son tronc.

L'inventaire a débuté aux alentours du 12 mars 2019 et s'est clôturé un mois et demi plus tard. La collecte de matériel végétal consiste en un échantillonnage exhaustif des essences pré-identifiées dont le diamètre est supérieur à 10 centimètres (ayous/*Triplochiton scleroxylon*, bilinga/*Nauclea diderrichii*, iroko/*Milicia excelsa*, okan/*Cylicodiscus gabunensis*, kosipo/*Entandrophragma candollei*).

Pour chaque individu parmi ces essences, trois types de matériel végétal sont recherchés :

- les adultes ayant un diamètre à hauteur de poitrine (DBH) ≥ 10 cm
- les juvéniles ayant un diamètre < 10 cm
- les plantules et les graines rencontrées (récoltées de manière non exhaustive)

Note : la saison des graines a commencé peu avant mon départ du Cameroun, elles ont donc été récoltées dans un deuxième temps par le chef de la parcelle, Bienvenu Ango.

Pour les adultes, il s'agit d'identifier les individus un par un, d'enregistrer les coordonnées GPS de leur position, de mesurer leur diamètre, de leur attribuer un statut selon les indices de Dawkins (statut de l'arbre dans la canopée, voir annexe 2) et de prélever un échantillon de feuille fraîche ou de cambium (à l'aide d'une machette). Les échantillons sont stockés et séchés dans des enveloppes en papier, elles-mêmes placées dans des enveloppes en plastique contenant du gel de silice.

Pour les juvéniles (comprenant les plantules et arbres de diamètre inférieur à 10cm), le même procédé est appliqué, bien que le diamètre, si l'individu fait moins de 1,50 m de haut, est mesuré au collet et non pas à hauteur de poitrine (1,30 mètre).

Les lots de graines, quand présentes, sont également collectés et mis dans des enveloppes contenant du gel de silice, mais cela nécessite une étape supplémentaire de séchage à l'air libre.

Les graines sont mises à germer en pot afin de récupérer les premières feuilles, qui sont ensuite utilisées comme matériel génétique.

Cette partie de la recherche est possible lorsque la mission se déroule au moment de la libération des graines et/ou l'émergence des plantules.

Les relevés de données écologiques, spatiales et morphologiques sont également faits sur place. Il s'agit d'enregistrer les coordonnées GPS de chaque individu échantillonné et de prendre note de l'espèce, la date de la récolte, l'état de la feuillaison – fructification (noter si l'on aperçoit des fruits immatures aux pieds des arbres ou dans les arbres et si l'arbre a perdu ou pas ses feuilles), le diamètre au-delà des contreforts, ou si possible, le diamètre à hauteur de poitrine et le statut de l'arbre dans la canopée (Indice de Dawkins). L'indice de Dawkins est estimé à l'aide d'un document (voir annexe 2) permettant de juger de la place que prend l'arbre dans la canopée et de la quantité de lumière à laquelle il a accès. Cet indice prend une valeur de 1 à 5, 5 indiquant un plein accès à la lumière tout au long de la journée.

Les coordonnées spatiales ont été prélevées avec un GPS Garmin 64 dont la marge d'erreur maximale est de 10 mètres. Les données sont enregistrées en unité **UTM**, qui est l'abréviation de « Universal Transverse Mercator ». C'est un système de projection cartographique qui divise le globe terrestre en 60 fuseaux de 6° de longitude chacun.

Le diamètre est mesuré de trois façons en fonction de l'individu visé. Les diamètres de plus de 10 centimètres sont mesurés avec un ruban diamétrique à hauteur de poitrine (DHP) c'est-à-dire 1,30 mètre du sol. Les diamètres inférieurs à 10 centimètres étaient mesurés à l'aide de deux pieds à coulisse qui circulaient au sein de l'équipe afin d'optimiser la précision de la mesure. Pour les arbres adultes portant de grands contreforts (cas de l'Ayous), le diamètre est estimé par les prospecteurs.

Toutes les informations sont inscrites sur les enveloppes contenant les échantillons et sur les fiches de relevés.



Figure 6 : Photo prise lors de la collecte du matériel végétal d'un arbre (Kossipo) au moyen d'une machette par un prospecteur et moi-même, stockage de celui-ci dans une enveloppe en papier.



Figure 7 : Photo montrant la mesure du DBH d'un arbre à l'aide d'un ruban diamétrique par un prospecteur.



Figure 5 : Photo d'un échantillon de *Triplochiton scleroxylon*, limbe foliacé.



Figure 4 : Photo prise lors du marquage à la peinture du code génétique d'un individu par un prospecteur.

3.2 Placette génétique

La placette génétique est située sur une part de forêt ayant été exploitée environ 25 ans auparavant. La placette s'étend sur 400 hectares. Les zones de faible densité des espèces inventoriées représentent les zones de marécages et rivières dans la forêt.

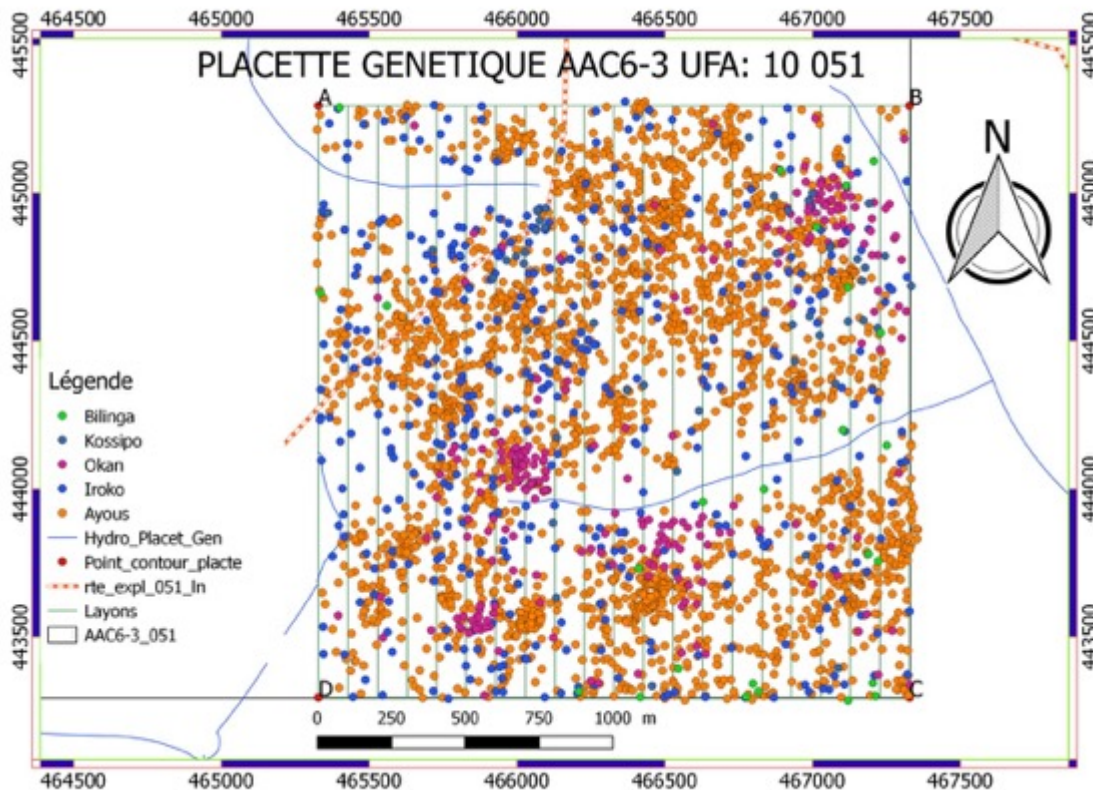


Figure 8 : Parcelle génétique de 400 hectares et résultats de l'inventaire pour les essences d'intérêt.. Chaque couleur représente une espèce et chaque point un individu différent (en vert le Bilinga, en bleu foncé le Kossipo, en rose l'Okan, en bleu clair l'Iroko et en orange l'Ayous). Les lignes bleues montrent les zones de marécages ou rivières et les lignes rouges discontinues montrent les routes. Les lignes horizontales illustrent les layons qui ont été ouverts pour l'étude.

On a échantillonné un total de 2738 Ayous, 441 Iroko, 25 Bilinga, 48 Kossipo et 251 Okan.

4. Manipulation en laboratoire

4.1 Développement de marqueurs microsatellites :

Le développement de marqueurs génétiques n'avait pas encore été fait pour l'espèce *Triplochiton scleroxylon*. La première étape consiste à construire une bibliothèque d'ADN pour y repérer des microsatellites. Il s'agit de fragmenter de manière aléatoire l'ADN d'un individu de l'espèce visée à l'aide d'un sonicateur à ultra-sons (Bioruptor) puis de séquencer plus ou

moins un million de fragments d'environ 200-300 paires de bases sur une plateforme Illumina (NextSeq, PE150). A l'aide du programme QDD version 3.1 (Meglécz et al., 2014), les séquences microsatellites ont été identifiées parmi les séquences obtenues ainsi que des combinaisons d'amorces permettant leur amplification. Les microsatellites doivent, pour être de bons marqueurs dans des analyses de parenté, être les plus polymorphes possible avec des amorces (séquences de début et de fin) bien démarquées les unes des autres afin qu'il n'y ait pas d'interactions entre elles lors de l'amplification. Les amorces de 24 marqueurs choisis par le Dr. Olivier Hardy ont été commandées. J'ai ensuite testé l'amplification de ces marqueurs par PCR et recherché comment les combiner en plusieurs 'mix' après amplification et génotypage à l'aide du logiciel Geneious Prime 2019.0.4. Ceux qui montrent une grande diversité allélique (séquences polymorphiques) et dont les amorces sont assez diversifiées que pour éviter toutes interactions et permettre une lecture aisée de l'électrophérogramme ont été sélectionnés.

Après cette phase de mise au point, 18 marqueurs ont été retenus et placés dans deux 'mix' de 8 et 10 marqueurs. Chaque individu est alors génotypé pour 18 locus. Les amorces sont marquées par 4 fluorochromes lors de l'amplification : 6-FAM (couleur bleue), VIC (couleur verte), NED (couleur jaune), PET (couleur rouge).

Ces fluorochromes permettent la lecture des résultats du génotypage et la différenciation entre les allèles sur l'électrophérogramme.

4.2 Extraction d'ADN

L'extraction de l'ADN contenu dans le cambium ou les feuilles débute par une pesée (25 à 30 mg de cambium ou 15 à 20 mg de limbe foliaire par individu). Ce matériel est ensuite placé dans les puits d'une plaque d'extraction du kit NucleoSpin® 96 Plant II (Macherey-Nagel, Deuren, Germany, 05/2014, Rev.03) permettant de traiter 96 échantillons à la fois.

Les échantillons sont ensuite refroidis à l'azote liquide, broyés en utilisant un broyeur à billes et l'ADN est extrait en suivant le protocole «centrifuge processing» décrit dans le manuel du fabricant du kit et avec le matériel fourni dans ce même kit. Sur chaque plaque d'extraction, le dernier puit est laissé vide et joue le rôle de témoin négatif permettant de détecter d'éventuelles contaminations.

4.3 Amplification

L'ADN est amplifié par « Polymerase Chain Reaction » ou « Réaction de Polymérisation en Chaîne » (PCR, Mullis 1983). C'est une réaction enzymatique (polymérase) qui permet la sélection et l'amplification de certains fragments d'ADN via l'utilisation d'amorces se liant aux séquences flanquantes délimitant les microsatellites. La PCR est une réaction qui tourne en boucle et se déroule en 3 cycles, chaque cycle comportant trois paliers de température (tableau 1) pour i. la dénaturation, ii. l'hybridation et iii. l'élongation de l'ADN (détail dans l'annexe 4).

Les deux 'mix' d'amorces développés détaillés en annexe 5.

L'ADN est amplifié en utilisant le thermocycleur Mastercycler X50S avec le kit QIAGEN Multiplex PCR en suivant le protocole du kit (voir annexe 3 et 4).

Les 'mix' d'amplification sont constitués de Type-It, d'eau pure, de 18 amorces FORWARD et 18 amorces REVERSE correspondant à la délimitation des 18 locus, des amorces portant les quatre fluorochromes de couleurs différentes (Queue 1/bleu, Queue 2/jaune, Queue 3/vert, Queue 4/rouge) et d'ADN. Le protocole est détaillé dans l'annexe 3.

4.4 Génotypage

Le génotypage, qui permet de déterminer l'identité d'une variation génétique est automatisé et effectué par un séquenceur à capillaires (3730 DNA Analyzer Serie Data Collection à 48 capillaires) dans lesquels les microsatellites amplifiés, précédemment, migrent. Le temps de migration est plus ou moins long en fonction de la taille du fragment. Pour se faire, le formamide (HiDi) est utilisé pour la dénaturation de l'ADN (simple brin) et le MapMarker® 400 (labelled with DY-632) comme marqueur de taille (couleur orange).

Les résultats du génotypage se lisent avec le logiciel Geneious Trial 7.1.3 et permettent de distinguer les allèles des individus selon les tailles des fragments amplifiés.

4.4.1 Lecture et encodage des génotypes :

Le résultat du génotypage se présente sous forme d'électrophérogramme, les allèles sont représentés par des pics de couleurs différentes en fonction du fluorochrome associé au locus. Lorsque pour un locus on observe deux pics, cela signifie que l'individu est hétérozygote pour ce locus. Lorsque l'on observe un pic, il est homozygote pour ce locus. Le nom que prend un pic représente la taille du microsatellite et est fonction de son temps de migration dans le capillaire du séquenceur.

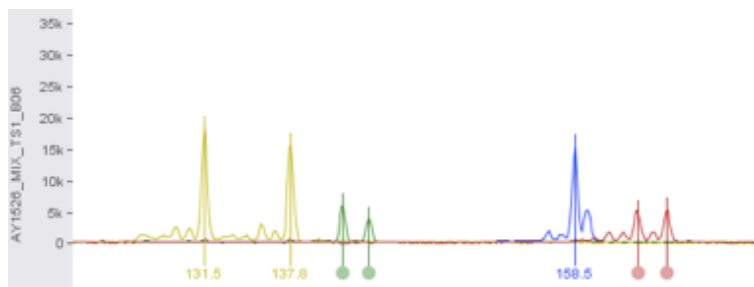


Figure 9 : Exemple d'un électrophérogramme obtenus lors de la lecture du 'mix' 1 de *Triplochiton scleroxylon*, lus à l'aide du logiciel Geneious Trial 7.1.3. L'axe vertical correspond à l'intensité du signal (unité d'intensité de fluorescence) et l'axe horizontal correspond à la distance de migration (la taille) des fragments d'ADN (unité en paire de base) dans les capillaires du séquenceur. Les pics représentent les différents allèles et les couleurs correspondent aux quatre fluorochromes utilisés pour différencier les marqueurs microsatellites.

5. Lecture et Analyses des données

5.1 Estimation des fréquences alléliques, des allèles nuls et de la consanguinité

Le logiciel INEst 2.2 permet d'estimer pour chaque locus, les fréquences alléliques, la richesse allélique (paramètre important car elle décroît plus vite que l'hétérozygotie lors de perte de diversité génétique), l'hétérozygotie attendue et observée (H_e et H_o) et le coefficient de consanguinité ou index de fixation F qui exprime un déficit en hétérozygotes.

$$F = 1 - \frac{H_o}{H_e}$$

H_o = Hétérozygotie observée

H_e = Hétérozygotie attendue à l'équilibre d'Hardy-Weinberg

Si l'on se trouve à l'équilibre de Hardy-Weinberg⁷, on s'attend à ce que $F = 0$. He ne dépend que des fréquences alléliques de la population. Le logiciel INEst permet aussi d'estimer le taux d'allèles nuls (ou allèles qui n'amplifient pas) et de corriger l'estimation de F en tenant compte des allèles nuls. L'absence d'amplification des allèles nuls est causée par des événements aléatoires de mutation se produisant au niveau des régions flanquantes d'allèles, empêchant la fixation des amorces lors de la PCR. Bien que les microsatellites soient de puissants outils moléculaires, la présence de ces allèles nuls peut biaiser certains paramètres. Prenons un individu hétérozygote (AB) dont l'allèle A n'amplifie pas. Il sera perçu comme un homozygote (BB) à la lecture du génotypage. Si c'est le cas pour plusieurs allèles, il en résulte une sous-estimation du nombre d'hétérozygotes et une surestimation du taux de consanguinité. De plus, lorsque l'on s'intéresse à la descendance/généalogie de la population, l'individu perçu BB mais ayant en réalité reçu ou transmet l'allèle A, est exclu à tort de l'analyse de parenté. Pour tenir compte de ce biais, l'utilisation du modèle PIM (Population Inbreeding Model) implémenté dans INEst estime les fréquences d'allèles nuls en chaque locus et un coefficient de consanguinité (F) non biaisé (Chybicki *et al.* 2009).

L'autofécondation est la forme la plus poussée de consanguinité, elle entraîne une diminution des hétérozygotes et son taux peut également être estimé à partir de la valeur du coefficient de consanguinité à l'équilibre :

$$s = \frac{2F}{(1 + F)}$$

Les trois paramètres (fréquences alléliques, taux d'allèles nuls et taux de consanguinité) peuvent être distribués en groupes (adultes, juvéniles, graines) afin de tester s'ils varient entre les différents stades de croissance de la population. Une dépression de consanguinité est généralement caractérisée par la présence d'allèles délétères chez les juvéniles qui sont rapidement éliminés par la sélection naturelle et par conséquent absent chez les adultes. On

⁷ "Dans une population de dimension infinie, où les unions se font au hasard (PANMIXIE), où il n'existe ni migration, ni sélection contre un phénotype particulier et où le taux de mutations est constant, les proportions des différents génotypes restent constantes d'une génération à l'autre"(Hardy & Weinberg, 1908). Prenons l'exemple d'un locus qui peut être occupé par deux allèles 'A' et 'a', tels que la proportion de gènes 'A' est 'p' et la proportion de gènes 'a' est 'q' : alors 'p+q=1' et les fréquences génotypiques de 'AA', 'aa' et 'Aa' se calculent comme 'p²', 'q²' et '2pq' respectivement.

s'attend donc à ce que les valeurs de F décroissent avec l'âge lorsqu'on compare différentes cohortes.

5.2 Estimation des paramètres de dispersion des graines et du pollen

L'utilisation du logiciel NM π (Chybicki, 2018) avec le "Neighbourhood Model" modélise les noyaux de dispersion des graines et du pollen en utilisant l'approche du maximum de vraisemblance. Les événements de reproduction sont caractérisés en tenant compte de la position spatiale des échantillons et de leur génotype mais aussi de certains caractères phénotypiques tels que le diamètre (DBH) et l'indice de Dawkins.

Pour utiliser ce programme il faut, au préalable, préparer un fichier contenant tous les génotypes des individus associés à leurs coordonnées GPS, ainsi que leurs diamètres et indices de Dawkins centrés-réduits. Les descendants (entre 0 et 30 cm de diamètre) doivent être spécifiés. Une première analyse de parenté a été lancée pour une descendance allant de 0 à 20 centimètres de diamètre. On a cependant constaté, qu'on pouvait améliorer l'analyse en ajoutant les individus de 20 à 30 centimètres (à la catégorie « descendance ») parce que malgré l'âge avancé (20 cm) de cette descendance, une grande proportion de mères était tout de même identifiée.

En ce qui concerne les graines, qui sont ramassées au pied de l'arbre mère apparent, une analyse est faite afin de confirmer ou infirmer l'identité de ladite mère. Le logiciel calcule les probabilités de généalogies et propose la mère la plus probable. Si cela correspond à la mère sous laquelle la graine a été récoltée, elle est considérée comme non dispersée, sinon elle est considérée comme dispersée. Pour l'analyse de parenté, on ne tient en compte que des probabilités de généalogie supérieures ou égales à 80%. Une fois que les graines sont assignées à leurs mères et que les juvéniles ou graines dispersées sont spécifiés, une nouvelle analyse est lancée et fournit les parents les plus probables à chaque descendant en utilisant la méthode du maximum de vraisemblance. La dispersion des graines et du pollen est ensuite caractérisée par les mesures : du taux d'immigration des graines et du pollen (ms/mp), du taux d'autofécondation (s), et de quatre paramètres de distribution de la puissance exponentielle-von Misses qui caractérisent les noyaux de dispersion du pollen (indices 'p') et des graines (indices 's') en tenant compte de l'anisotropie. Ces quatre paramètres sont i. l'inverse de la distance de dispersion moyenne du pollen et des graines (ds/dp), ii. La forme de la fonction de la distribution (bs/bp ou $b = 1$ pour une distribution exponentielle et $b = 2$ pour une distribution Gaussienne et $b < 1$ pour une distribution à queue lourde ou leptokurtique), iii. la puissance de

l'anisotropie (k_s/k_s ou $k = 0$ décrit une distribution isotropique et $k = 1$ décrit une forte anisotropie) et *iiii*. l'orientation que prennent les noyaux de dispersion quand $k > 0$ (a_s/a_p). Le taux d'immigration est estimé en évaluant la contribution des parents situés en dehors de la zone d'échantillonnage ou autrement dit la proportion de pollen et graines provenant de l'extérieur de la parcelle. On obtient des résultats sous forme de noyau de dispersion. Le modèle décrit la probabilité qu'un grain de pollen émis disperse d'une position de départ à une position finale. On obtient également une estimation du taux d'erreur de géotypage pour chaque locus. Finalement, on peut inclure à l'analyse certains traits phénotypiques afin de tester s'ils ont un effet sur le succès reproducteur mâle et femelle. Pour se faire, les valeurs centrées réduites des paramètres choisis, ici le diamètre à auteur de poitrine et l'indice de dominance de la canopée (ou indice de Dawkins, allant de 1 à 5, 5 signifiant que la couronne de l'arbre se trouve dans la strate la plus haute et 1 dans la strate la plus basse) doivent être associées à chaque géotype. On obtient ensuite, via une analyse de régression, des valeurs pour les gradients de sélection qui exprime s'il existe une corrélation entre les caractères étudiés et le succès reproducteur. Si les valeurs sont significativement différentes de zéro c'est qu'il y a un effet.

Pour les parents auxquels une descendance est attribuée avec une probabilité de $> 80\%$, la distribution de leur diamètres et indices de Dawkins ont été comparées avec celles de l'ensemble des individus de la parcelle. La position des graines ou juvéniles par rapport à leur mère est illustrée sous forme de noyau de dispersion des graines. Il en est de même pour la position des mères par rapport aux pères pour illustrer le noyau de dispersion du pollen.

La distribution des diamètres de la population peut aider à évaluer le taux de reconstitution/régénération de la population. Si l'on observe un déficit dans les faibles diamètres on peut supposer une difficulté de l'espèce à se régénérer. Si la régénération est efficace, l'allure du graphique devrait ressembler à un J inversé.

5.3 Structure génétique spatiale (SGS)

Le logiciel SPAGedi 1.5 caractérise la SGS en se basant sur les données génétiques des individus obtenues à partir de marqueurs co-dominants et leur coordonnées GPS. Le logiciel calcule les statistiques de parenté et de différenciation génétique entre individus paire par paire en fonction des distances géographiques qui les séparent. Les intervalles de distances sont prédéfinis et un coefficient de parenté est assigné à chacun d'entre eux. L'estimateur du

coefficient de parenté F_{ij} ⁸ est celui de J. Nason (Loiselle et al., 1995) qui estime les coefficients de corrélation entre les états alléliques. Les statistiques sont calculées pour chaque locus ainsi que la moyenne pondérée multilocus.

La procédure « Jackknife » sur les loci (consiste en la suppression des informations locus par locus) fourni une approximation des erreurs standards pour les estimations multilocus (Hardy & Vekemans 2003).

Si les coefficients de consanguinité ont tendance à diminuer quand la distance géographique entre individus augmente, cela révèle une structure génétique spatiale.

6. Étude des pollinisateurs de *Triplochiton scleroxylon*

Dans le cadre de ce projet, il est intéressant de connaître tous les facteurs agissants sur la reproduction. La pollinisation fait partie des processus les plus déterminants du succès reproductif. Il a été possible de l'étudier grâce à la mise en place de pièges vidéo près des inflorescences de l'espèce *T. scleroxylon* par la Doctorante Oriana Bassin⁹ lors d'une mission au Cameroun en mars 2019. Quatre caméras ont été placées en face de quatre inflorescences d'un arbre et ont tourné 48h pour l'une d'entre elles et 24h pour chacune des trois autres. J'ai visualisé les films produits par ces caméras et ai pu obtenir des informations sur les espèces pollinisatrices de l'Ayous. Chaque vidéo contient un enregistrement d'une heure, ce qui fait un total de 120 heures enregistrées en continu.

L'analyse des vidéos permet de déterminer quels sont les agents pollinisateurs principaux de l'Ayous et quel sont leurs patterns d'activité. On peut également estimer approximativement la durée de vie d'une fleur depuis l'ouverture jusqu'à la perte des pétales et de l'appareil reproducteur.

⁸ Dans le cas de deux individus i et j , le coefficient de parenté peut être calculé : $F_{ij} = (Q_{ij} - Q_m) / (1 - Q_m)$, où Q_{ij} est la probabilité que deux allèles tirés au hasard chez i et j soit identiques et Q_m est la probabilité moyenne que deux allèles tirés au hasard parmi deux individus de la population soit identiques (i.e. "population référence" = échantillon).

⁹ Université Libre de Bruxelles, Campus Solbosh, Faculté des Sciences, Doctorante dans l'unité de recherche en Évolution Biologique et Écologie (EBE).

6.1 Encodage des données :

L'encodage des données se fait sur un fichier Excel, les données comprennent le numéro du piège vidéo (ex : pi3), la date de l'enregistrement, le numéro de la vidéo (de 1 à 48 ou de 1 à 24), le focal (emplacement de la fleur sur l'image), l'heure (hh:mm:ss) d'arrivée de l'animal dans le champ de la vidéo, l'heure de départ de l'animal du champ de la vidéo, le taxon dans lequel l'animal, pour lequel on encode les données, se trouve, l'effectif d'animaux présents lors de l'encodage des données et les commentaires, observations ou comportements spécifiques si nécessaires.

6.2 Analyse des données¹⁰ :

Les vidéos enregistrent l'activité des animaux et permettent de mettre en évidence la distribution de cette activité au cours d'une journée. On obtient un graphique des fréquences d'activité en fonction de l'heure de la journée qui est produit par le modèle « Fitactivity » compris dans le package « activity » du programme r (R 3.6.2 GUI 1.70 El Capitan build (7735)). On obtient également les intervalles de confiance pour la distribution des fréquences d'activité qui repose sur un ré-échantillonnage aléatoire (bootstrap), afin d'ajouter des mesures de précision aux estimations faites sur l'échantillon.

¹⁰ Rowcliffe, M., Kays, R., Kranstauber, B., Carbone, C., Jansen, P.A. (2014)

RÉSULTATS

1. Résultats de l'échantillonnage

Tableau 1 : Résultats de l'échantillonnage exhaustif pour les dbh>10cm et non exhaustif pour les diamètres < 10 cm de l'espèce *T. scleroxylon* sur la parcelle de 400 hectares de l'UFA 10.051.

Nombre d'individus échantillonnés	2738
Nombre d'adultes ≥ 40 cm de diamètre	1807
Nombre d'individus [20 – 40 cm[de diamètre	504
Nombre de juvéniles [10 – 20 cm[de diamètre	215
Nombre de plantules de <10 cm de diamètre	190
Nombre de souches	22
Nombre de lots de graines	40 (476 graines)

Un total de 2738 individus a été échantillonné sur la parcelle de 400 hectares. Au sein des 400 ha, une parcelle de 100 ha a été choisie pour les analyses génétiques. Cette parcelle a été délimitée de façon à obtenir le plus de juvéniles et d'adultes possibles pour l'analyse de parenté. La figure 10 illustre la parcelle de 100 ha étudiée comprenant les coordonnées GPS de tous les individus inventoriés.

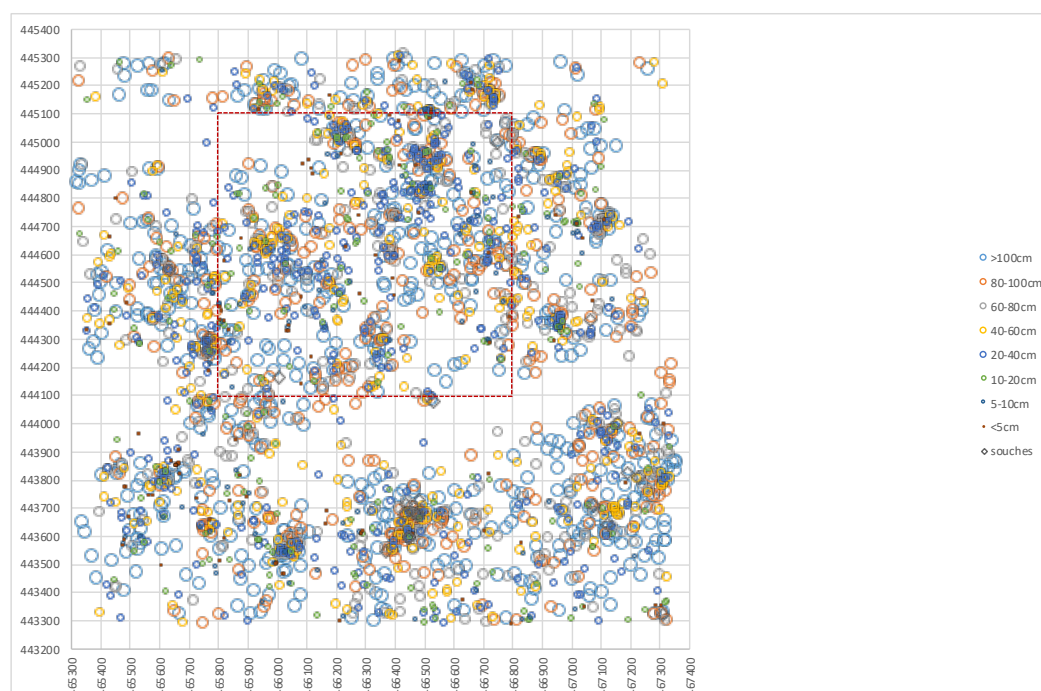


Figure 10 : Parcelle génétique de 400 ha et résultat de l'échantillonnage de *T. scleroxylon*, chaque couleur représente une classe de diamètre et chaque cercle représente un individu. Le périmètre délimité par une ligne rouge au centre indique la zone d'analyse génétique de 100 ha pour laquelle tous les individus (graines, juvéniles et adultes) ont été génotypés.

Les zones de faibles densités (fig. 10) représentent les cours d'eau (ou marécage) ou les passages de routes.

On peut calculer la densité de la population de l'espèce *T. scleroxylon* au sein de la parcelle. Il faut noter que la densité de la population de la parcelle n'est pas nécessairement représentative de celle des populations naturelles puisqu'il s'agit d'une zone ayant été exploitée auparavant.

Densité de la population :

$$\rightarrow \frac{2738 \text{ individus}}{400 \text{ ha}} = 6,845 \text{ arbres/hectare}$$

$$\rightarrow \frac{6,845 \text{ arbres}}{10\,000 \text{ mètres}} = 0,0006845 \text{ arbre/m}^2$$

Densité d'arbres exploitables (DME = 80 cm) :

$$\frac{1077}{400 \text{ ha}} = 2,3 \text{ arbres/hectare}$$

La distribution des diamètres de la parcelle est représentée dans la figure 11 ci-dessous.

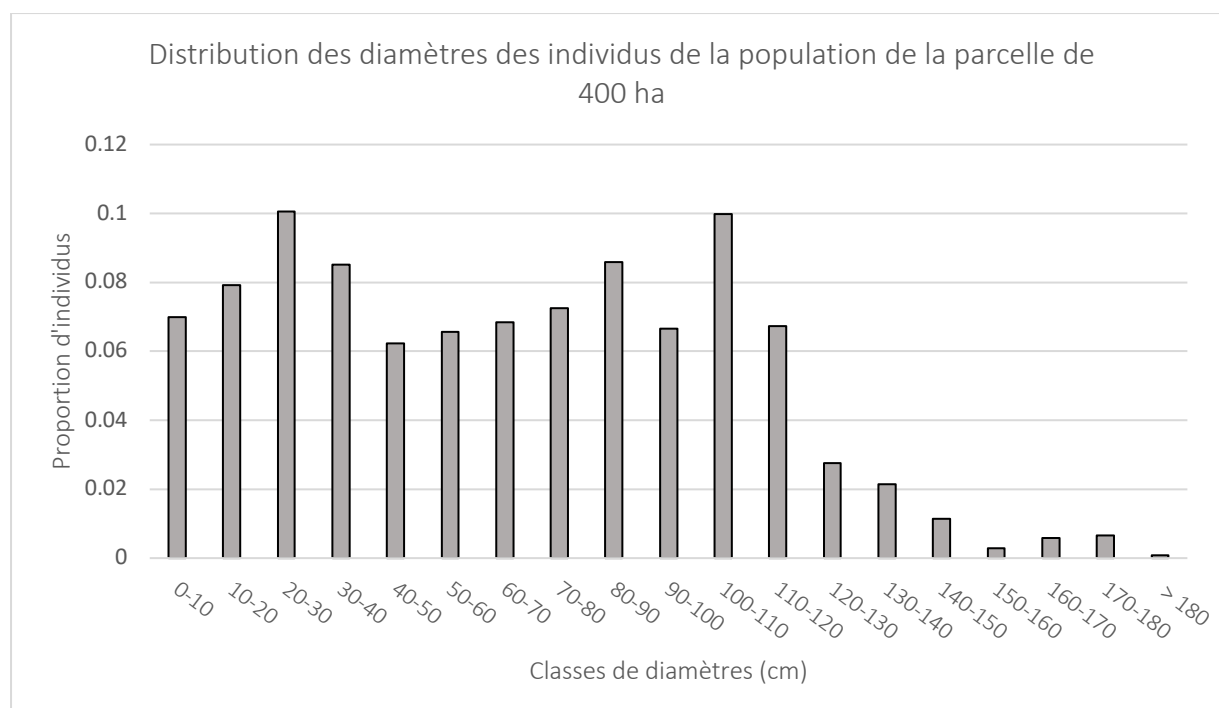


Figure 11 : Distribution des classes de diamètres des individus de la parcelle de 400 ha. Tous les individus de plus de 10 centimètres de diamètre sont échantillonnés de manière exhaustive. L'unité du diamètre est le centimètre.

Sur la parcelle de 100 hectares, 902 individus ont été échantillonnés (graines comprises) et génotypés. Parmi les 902 individus, 667 ont un diamètre compris entre 20 et 180 centimètres et sont considérés comme « Adultes », 111 ont un diamètre compris entre 0,6 et 20 centimètres et sont considérés comme jeunes adultes ($N = 62$) ou plantules ($N = 49$) et 124 sont des graines. La classe de diamètre 30 – 40 centimètres est manquante pour le génotypage, ceci est un choix et non pas un caractère de la population. On suppose que cette classe contient peu de juvéniles ou de parents. Le reste des classes est génotypé de manière exhaustive.

2. Diversité et coefficients de consanguinité

Triplochiton scleroxylon est une espèce diploïde, le génotypage a révélé un polymorphisme important parmi les allèles des 17 locus analysés avec une moyenne de 17 allèles par locus pour la population de 100 hectares et 14 allèles par locus dans la population à large échelle. Deux des locus ont été retirés des analyses parce qu'ils présentaient des triple-pics (triploïdes ?).

2.1 Étude à petite échelle de la parcelle de 100 hectares :

Voici le récapitulatif des résultats des analyses génétiques obtenu par le logiciel SPAGEDi en ce qui concerne la diversité génétique et les taux de consanguinité pour chaque locus et pour la moyenne multilocus de la parcelle de 100ha :

Tableau 2 : Diversité et consanguinité observée en chaque Locus (N=17) pour la population de la parcelle de 100 hectares (N=902). Le pourcentage de génotypes manquants ("Manquant"), le nombre d'allèles par locus ("NA"), l'hétérozygotie corrigée pour la taille de l'échantillon ("He"), l'hétérozygotie observée ("Ho"), le coefficient de consanguinité ("Fi"), les valeurs de P pour Fi ("Pval", après un test de permutation de 999 randomisations de copies de gènes) calculé par SPAGEDi et le taux d'allèles nuls ("A0") estimé par INest sont repris.

Locus	Manquant	NA	He	Ho	Fi	Pval _(Fi<0)	A0
Locus 1	1 (0.1%)	14	0.7982	0.766	0.041*	0.0230	0,01 ± 0,01
Locus 20	1 (0.1%)	10	0.6910	0.661	0.043*	0.0290	0,03 ± 0,01
Locus 8	2 (0.2%)	17	0.6609	0.638	0.035	0.0590	0,00 ± 0,01
Locus 2	9 (1.0%)	29	0.7763	0.649	0.163*	0.0000	0,08 ± 0,01
Locus 2bis	0 (0.0%)	6	0.2050	0.191	0.070*	0.0050	0,03 ± 0,01
Locus 10	0 (0.0%)	21	0.8776	0.859	0.021	0.0700	0,00 ± 0,01
Locus 5	1 (0.1%)	10	0.7589	0.770	-0.015	0.4010	0,00 ± 0,01
Locus 3	4 (0.4%)	19	0.8279	0.829	-0.001	0.9700	0,00 ± 0,01
Locus 11	139 (15.4%)	12	0.7067	0.267	0.622*	0.0000	0,41 ± 0,01
Locus 16	42 (4.7%)	18	0.7925	0.760	0.040*	0.0140	0,02 ± 0,01
Locus 12	28 (3.1%)	14	0.7913	0.768	0.030*	0.0500	0,02 ± 0,01
Locus 24	54 (6.0%)	44	0.9381	0.814	0.133*	0.0000	0,07 ± 0,01
Locus 19	29 (3.2%)	27	0.7973	0.762	0.045*	0.0030	0,02 ± 0,01
Locus 15	50 (5.5%)	16	0.6720	0.669	0.004	0.7270	0,01 ± 0,01
Locus 13	39 (4.3%)	8	0.5015	0.465	0.073*	0.0020	0,03 ± 0,01
Locus 14	295 (32.7%)	25	0.8202	0.409	0.502*	0.0000	0,33 ± 0,02
Locus 17	56 (6.2%)	12	0.7073	0.717	-0.014	0.4510	0,00 ± 0,00
Moyenne	44.1 (4.9%)	17.76	0.7249	0.647	0.108*	0.0000	/

Pour la plupart des locus, l'hétérozygotie observée est plus faible que l'hétérozygotie attendue à l'équilibre de Hardy-Weinberg, cependant, certains locus montrent un haut taux en hétérozygotes (les locus 5, 11 et 17).

La valeur du coefficient de consanguinité (Fi) pour la moyenne multilocus est positive et significativement différente de zéro pour un degré de confiance de 95%. Cependant, dans la

plupart des cas, une valeur élevée de F_i pour un locus est liée à un taux élevé de génotypes manquants et à un taux élevé d'allèles nuls (ou erreur d'amplification).

Le logiciel INest a permis d'estimer ce taux d'allèles nuls (A_0) ainsi que le taux d'erreur d'amplification pour tester si cela influençait la valeur des F_i . On obtient un coefficient de consanguinité multilocus corrigé en tenant compte des allèles nuls et des erreurs de génotypage de $0,0032 \pm 0,00$.

On constate donc qu'une part importante de la consanguinité est causée par la présence d'allèles nuls (locus pour lesquels les hétérozygotes sont sous-estimés parce qu'ils apparaissent comme des homozygotes).

Le tableau suivant donne les valeurs corrigées de F_i pour les allèles nuls par stade de croissance (INest) :

Stade de croissance	F_coef	SE
Parcelle de 100 hectares (N = 902)	0,003	0,000
Adultes (N = 667)	0,000	0,000
Jeunes adultes (N = 62)	0,000	0,000
Plantules (N = 49)	0,000	0,000
Graines (N = 124)	0,014	0,000

On observe que le coefficient de consanguinité après correction est nul quel que soit le stade de croissance excepté une valeur très faible pour les graines. L'hypothèse est qu'il y aurait élimination des individus consanguins ou autofécondés avec l'âge des individus.

Le taux d'autofécondation est estimé en supposant un modèle d'accouplement mixte par le logiciel $NM\pi$ (SE = Erreur standard estimée par jackknife sur les loci). Les événements d'autofécondation, c'est-à-dire, la fécondation d'une graine d'un individu par le pollen du même individu, sont identifiés lorsque la distance séparant les parents est nulle.

On obtient une valeur de $0,014 \pm 0,006$ pour l'ensemble des individus de la parcelle de 100 hectares. Ce faible taux est causé par les rares cas de graines autofécondées (N = 4) détectés par $NM\pi$.

2.2 Étude de la population à large échelle :

L'étude à large échelle a été faite sur les mêmes 17 microsatellites en utilisant des échantillons (N = 88) provenant de l'Est et du Centre du Cameroun.

Tableau 3 : Diversité et consanguinité multilocus pour l'analyse de la population à large échelle. Le nombre d'individus présents dans la population étudiée ("Taille de l'échantillon"), le pourcentage de génotypes manquants ("Manquant"), le nombre d'allèles par locus ("NA"), l'hétérozygotie corrigée pour la taille de l'échantillon ("He"), l'hétérozygotie observée dans la population ("Ho"), le coefficient de consanguinité ("Fi") et la valeur de Fi corrigée pour les allèles nuls et les erreurs de génotypage (estimée par INest) sont repris.

Taille de l'échantillon	88
Manquant	3.2 (3.6%)
NA	14.18
He (gene diversity corrected for sample size, Nei 1978)	0.741
Ho (observed heterozygosity)	0.646
Fi (individual inbreeding coefficient)	0.129
Fi corrigée (Allèles nuls et erreurs de génotypage (INest))	0,00 ± 0,00

On observe que le nombre moyen d'allèles par locus est inférieur que celui pour la population de 100 hectares probablement parce que la taille de l'échantillon est plus petite. Par contre, l'hétérozygotie est légèrement plus élevée pour la population à large échelle. Il en est de même en ce qui concerne le coefficient de consanguinité. Cependant, la valeur de Fi corrigée en tenant compte du taux d'allèles nuls et du taux d'erreur de génotypage donne une valeur de $0,00 \pm 0,00$. Le coefficient de consanguinité pour la population à large échelle semble n'être dû qu'à la présence d'allèles nuls et d'erreurs d'amplification.

On obtient un taux d'autofécondation de $0,060 \pm 0,025$ pour cette population.

3. Structure génétique spatiale

Le logiciel SPAGEDi caractérise la structure génétique spatiale de la population (100 ha) en calculant ces coefficients de parenté entre individus pour des classes de distance données. La figure 12 illustre l'apparentement existant entre les individus adultes en fonction de la distance qui les sépare. On observe une chute progressive du coefficient de parenté jusqu'à environ 200 mètres et une forte structure génétique spatiale de la population en deçà de 100 mètres.

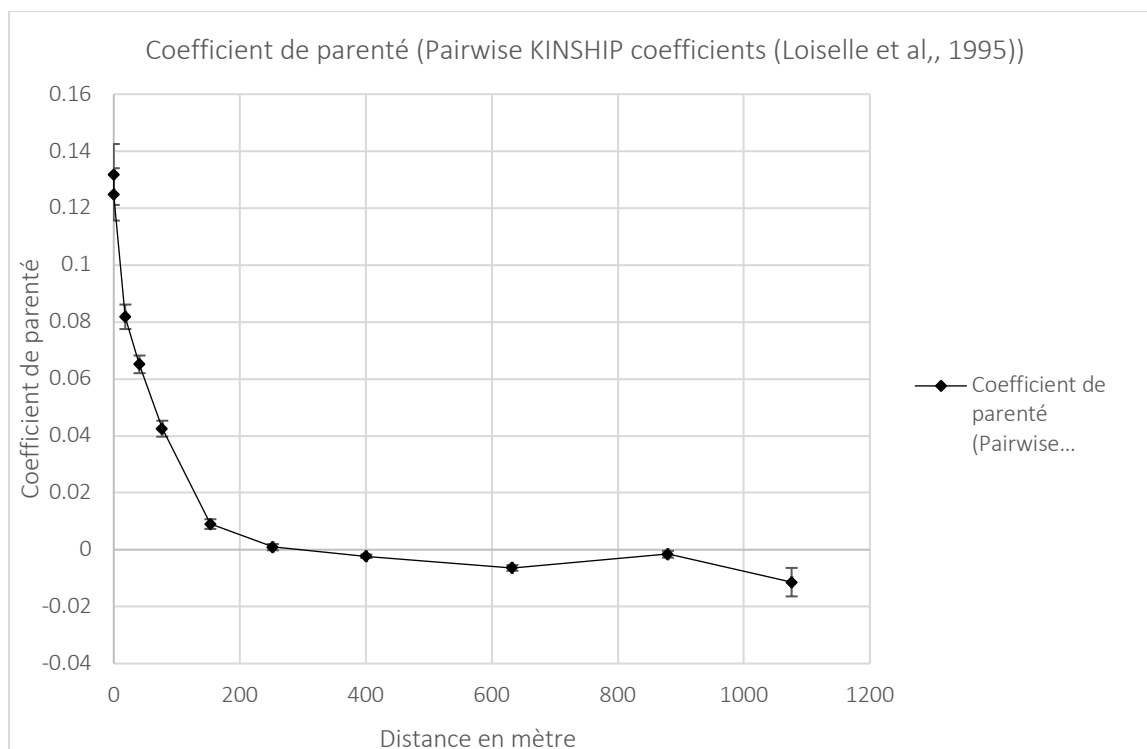


Figure 12 : Structure génétique spatiale de la population de la parcelle (100 ha) basée sur les moyennes des coefficients de parenté entre individus en fonction de la distance spatiale les séparant (classes de distance prédéfinies). Les erreurs types sont obtenues par jackknife sur les loci.

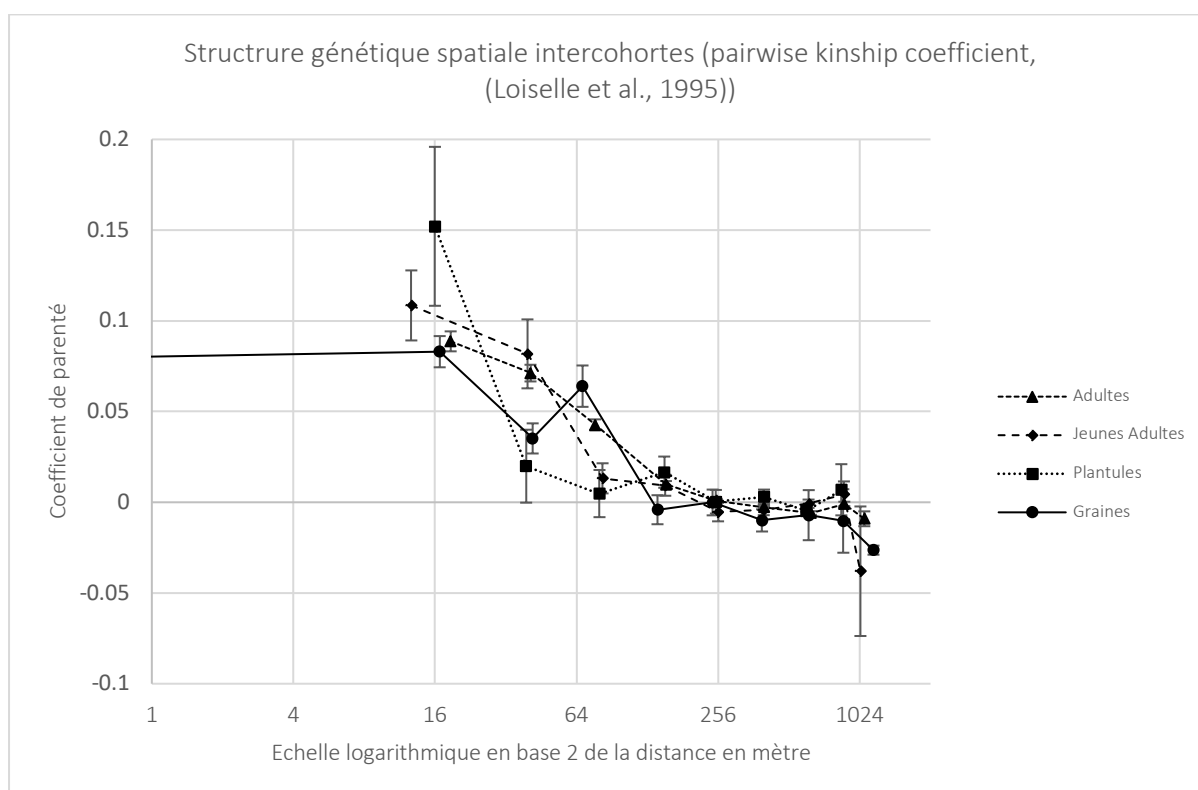


Figure 13 : Structure génétique spatiale au sein de chaque cohorte de la population de la parcelle (100 ha). Les SGS sont calculées pour les individus au sein des catégories adultes ($DBH \geq 20$ cm), jeunes adultes ($10 \leq DBH \leq 20$ cm), plantules ($DBH < 10$ cm) et graines. Les calculs de la SGS se basent sur les moyennes des coefficients de parenté entre individus en fonction de la distance spatiale les séparant (classes de distance prédéfinies). Les erreurs types sont obtenues par jackknife sur les loci.

Les structures génétiques spatiales au sein de chaque cohorte sont basées sur les calculs des coefficients de parenté entre individus de même classe d'âges ou cohortes en fonction de la distance qui les séparent. Cela permet de mettre en évidence les stades de croissance participant plus à la structure de la population.

La classe des diamètres de moins de 10 centimètres (plantules) semblent avoir l'effet le plus prononcé sur la SGS de la population bien qu'on observe qu'elle soit forte jusqu'à 100 mètres chez toutes les cohortes.

En ce qui concerne la population à large échelle, on obtient un coefficient intra-individuel de parenté (pairwise kinship coefficients, Loiselle *et al.*, 1995) avec l'estimateur Jackknife sur les loci de $0,13 \pm 0,04$.

4. Modélisation de la dispersion du pollen et des graines

Le logiciel NM π analyse l'ensemble des génotypes des adultes (DBH > 40 cm) présents sur la parcelle de 100 hectares (N = 519) ainsi que l'ensemble des génotypes des juvéniles ou graines (N = 383). Les juvéniles ici sont les individus dont le diamètre à hauteur de poitrine est égal ou inférieur à 30 cm (N = 259).

Le tableau 4 illustre les résultats de l'analyse pour les taux d'immigration des graines et du pollen, le taux d'autofécondation ainsi que la forme et la direction que prennent les distributions de la dispersion des graines et du pollen.

Tableau 4 : Résultats des calculs du taux d'immigration des graines et du pollen (ms/mp), du taux d'autofécondation (s) et de la forme (bs/bp), l'anisotropie (ks/kp) et la direction (as/ap) de la dispersion du pollen et des graines. Les distances de dispersion sont estimées en mètres (ds/dp) et les gradients de sélection permettant de tester l'effet des caractères phénotypiques sur le succès reproducteur sont représentés par γ et β (g/b).

Paramètre	Estimation	SE		
ms	0,165	0,025		
s	0,014	0,007		
mp	0,581	0,029		
ks	0,923	0,128		
kp	-0,191	0,163		
as	0,637	0,020		
ap	0,464	0,130		
g1	0,892	0,092		
b1	0,363	0,117		
g2	0,079	0,141		
b2	0,606	0,191		
			Q [2,5%]	Q [97,5%]
ds	109,32		93,60	131,38
bs	0,75		0,58	0,93
dp	573,14		281,78	Infini
bp	0,37		0,12	0,62

4.1 Dispersion des graines

Chaque graine a été collectée sous l'arbre supposé mère mais cela ne signifie pas automatiquement qu'elle en est issue, elle peut avoir dispersé. Une analyse de maternité a été effectuée pour confirmer ou infirmer la provenance des graines via le logiciel NM π . Il utilise le « Neighborhood model » qui assigne à chaque descendant, la mère la plus probable en tenant compte de la dispersion non aléatoire des graines (et du pollen) ainsi que des gradients de sélection. Chaque graine est ainsi assignée avec une certaine probabilité à une mère. Si l'analyse de maternité confirme que la graine provient bien de l'arbre sous lequel elle a été trouvée et que la probabilité liée à la généalogie est $\geq 0,8$ alors la graine est considérée comme non dispersée. Si l'analyse infirme la provenance de la graine, elle est considérée comme dispersée. Sur 124 graines génotypées, 84 sont non dispersées et 40 sont dispersées.

Les plantules ou graines dont les mères ont été identifiées avec une probabilité de 80% ou plus sont reprises dans le graphique sous forme de noyaux de dispersion ($N = 231$). Un total de 90 mères a été trouvé pour la même probabilité.

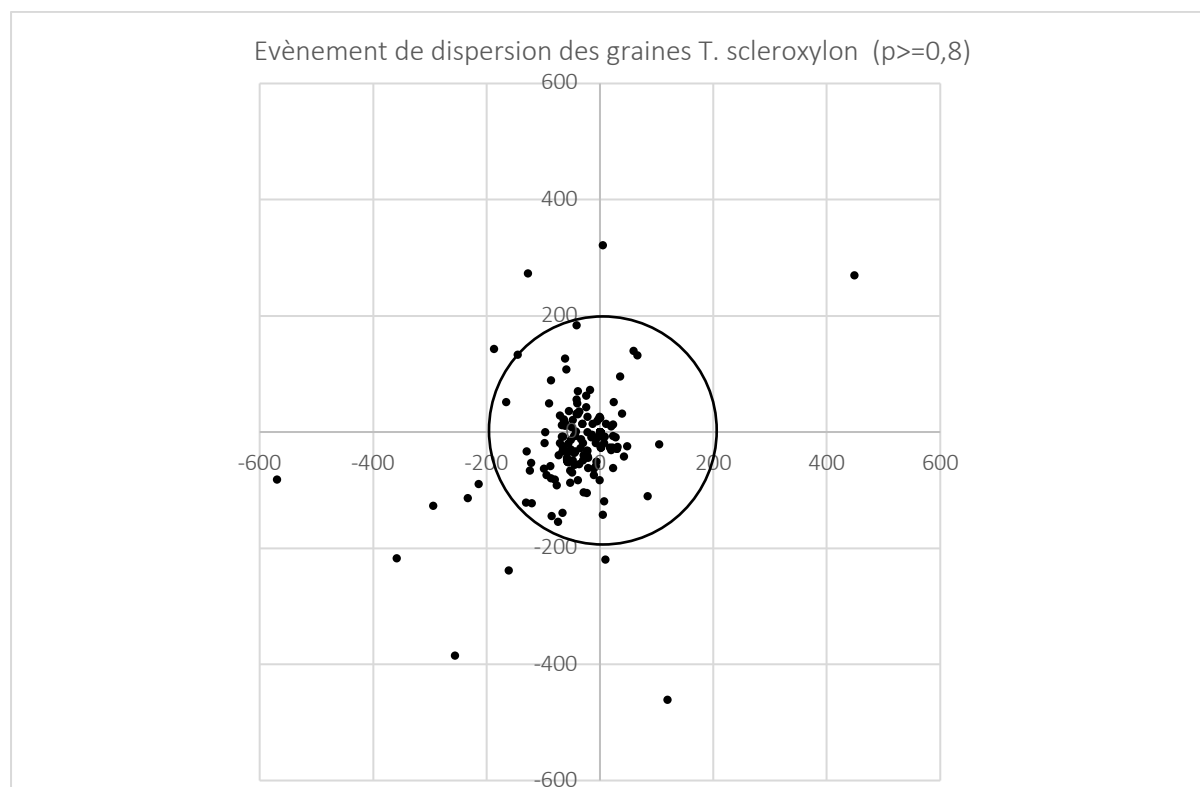


Figure 14 : Graphique 2D représentant le noyau de dispersion des graines de *T. scleroxylon* sur la parcelle de 100 hectares en centrant les coordonnées géographiques (longitude et latitude) de chaque mère à (0,0). Ne sont reprises que les distances entre la graine et la mère) si la probabilité de généalogie est $\geq 80\%$. L'unité est le mètre.

On observe sur la figure 14 qu'une grande proportion de graines et de juvéniles dispersent à moins de 150 mètres de leur mère. La distance moyenne de dispersion du noyau est de 109,32 mètres [intervalle de confiance à 95% : 94–131 m].

La fonction décrivant le pattern de dispersion des graines se rapproche d'une exponentielle ($bs = 0,75$) mais est inférieure à 1 ce qui indique une distribution leptokurtique (à queue lourde). Le nuage de graines tend fortement à se disperser vers le Sud-Ouest ($ks = 0,923$, $as = 0,64$).

Lorsqu'on calcule la distance moyenne des événements de dispersion des graines sur base des distances réelles existantes entre les mères et les graines on obtient une valeur moins élevée de 96,6 mètres. La différence entre ces deux moyennes peut s'expliquer par la prise en compte des effets de bords et des événements de dispersion se déroulant au-delà de la parcelle dans le calcul pour le noyau fait par $NM\pi$. La moyenne des distances des événements de dispersion

sous-estime l'actuel noyau de dispersion dû à la taille limitée de l'aire d'échantillonnage comparée aux distances de dispersion réelles. La distance maximale enregistrée entre une graine et sa mère est de 576 mètres. On observe (voir annexe 1) que 33 juvéniles (dont 3 graines) sont considérés comme immigrants avec une probabilité de 80%. L'annexe 1 montre qu'une bonne partie de ces immigrants se trouvent proche des bords de la parcelle.

Le pourcentage d'immigration des graines (se basant sur le nombre de juvéniles pour lesquels aucun parent n'a été retrouvés au sein de la parcelle) est de $16,54\% \pm 2,5\%$. Il est représentatif des événements de dispersion des graines à longue distance et de l'effet de bord (généalogie non trouvée pour les individus se trouvant à proximité des bords de la parcelle).

4.2 Dispersion du pollen

L'analyse de paternité se fait suivant le même procédé. Le logiciel NM π analyse les génotypes de chaque paire adulte – juvénile dont la maternité est présumée et propose le père le plus probable. Ici (fig. 15) ne sont repris que les juvéniles dont les généalogies maternelles et paternelles sont assignées avec une probabilité de 80% ou plus. La figure 15 illustre les distances géographiques séparant les deux parents avec les coordonnées spatiales (longitude et latitude) de chaque père centré à (0;0).

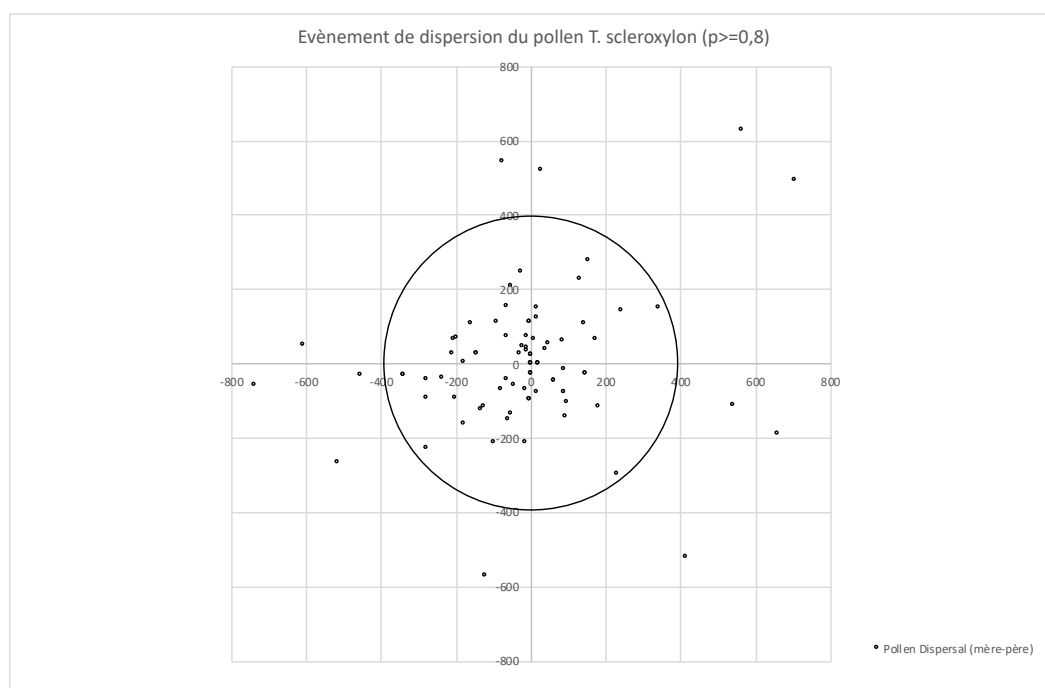


Figure 15 : Graphique 2D représentant le noyau de dispersion du pollen de *T. scleroxylon* sur la parcelle de 100 hectares. Les points illustrent les distances géographiques séparant les deux parents avec les coordonnées spatiales (longitude et latitude) de chaque père centrées à (0;0). Ne sont représentés que les généalogies de probabilité $\geq 80\%$. L'unité est le mètre.

Au total, 89 plantules ou graines ont été associées à leurs deux parents et la généalogie paternelle a été attribuée à 62 individus différents. On observe une distribution isotropique ($k_p = -0,19$ non significativement différent de 0) du noyau de dispersion du pollen. La moyenne des distances des événements de dispersion basée sur les distances entre les pères et mères au sein de la parcelle est de 217,4 mètres. La distance de dispersion maximale observée dans la parcelle est de 861 mètres.

La distance de dispersion moyenne du noyau estimée par le logiciel NM π est plus élevée et de 573 mètres [intervalle de confiance à 95% : 282 m–infini].

Le taux d’immigration du pollen dans la parcelle est de $58,0 \% \pm 2,9 \%$ ce qui n’est pas surprenant si l’on prend en compte les effets de bords et les événements de dispersion à longues distances. De plus, de rares événements de dispersion à très longues distances (Q 97,5% : infini) ne sont pas à exclure. La valeur calculée par NM π pour caractériser la forme de la fonction de la dispersion du pollen, b_p , varie entre 0,12 et 0,62 avec une moyenne de 0,37. Celle-ci décrit une distribution leptokurtique (ou à queue lourde) catégorique.

Parmi la population, 24 individus ont été identifiés comme étant à la fois père et mère pour des descendance différentes (espèce hermaphrodite).

4.3 Analyse du succès reproducteur selon deux caractères phénotypiques

Le logiciel NM π teste également si un ou plusieurs caractères phénotypiques peuvent avoir un effet sur le succès reproducteur mâle et femelle des individus.

Le tableau ci-dessous montre les gradients de sélection :

	Diamètre (DBH)	Statut de dominance
Production de pollen	$0,363 \pm 0,117$ (b1)	$0,606 \pm 0,191$ (b2)
Production de graine	$0,892 \pm 0,092$ (g1)	$0,079 \pm 0,140$ (g2)

Une valeur positive représente une corrélation positive à la production de graines ou de pollen. Parmi les résultats, on observe que, pour la production de pollen, les gradients de sélection sont positifs ce qui signifie que la place d’un arbre dans la canopée et son diamètre sont des caractères phénotypiques déterminants pour la paternité et qu’ils influencent significativement le succès reproducteur d’un père.

En ce qui concerne les graines, le diamètre des individus mères est également positivement corrélé à leur production. Par contre, la valeur du gradient calculé pour la position de l'arbre dans la canopée n'est pas significativement différente de zéro si l'on tient compte de l'écart-type. Ici, les gradients de sélection sont calculés conjointement, c'est-à-dire que si l'un des gradients indique un effet sur le succès reproducteur relativement important par rapport à l'autre, ce dernier sera moins marqué. C'est probablement le cas ici, d'autant plus que le diamètre d'un arbre est généralement corrélé à son statut de dominance dans la canopée.

4.3.1 Le diamètre de l'arbre

La figure 16, illustre la distribution des diamètres des individus adultes ($DBH > 40\text{cm}$) de la population de la parcelle ainsi que celles des mères et pères ($p > 0,8$). Le DME pour *Triplochiton scleroxylon* est fixé à 80 cm de diamètre, il est indiqué par une ligne discontinue sur cette même figure.

La distribution des diamètres chez les adultes est relativement homogène et majoritairement comprise entre 40 et 150 centimètres, cela semble être bon signe pour le recrutement et la reconstitution de la population puisque les petits et moyens diamètres sont bien représentés.

Pour ce qui est des individus parents et plus particulièrement des mères, une part importante présentent un diamètre supérieur à 120 centimètres. Ce qui signifie qu'une faible proportion de gros diamètres, participent de manière significative à la reproduction. Les arbres ayant pu atteindre de gros diamètres n'ont pas été prélevé lors du cycle d'exploitation précédent (25 ans plus tôt).

On remarque également que la maternité commence relativement tôt dans la vie d'un arbre (40 cm de diamètre) alors que la paternité ne commence pas avant 60 à 70 centimètres de diamètre. Le diamètre minimal retrouvé chez les arbres identifiés comme mère est de 41,7 centimètres et le diamètre minimal chez les arbres identifiés comme père est de 60 centimètres.

La distribution des diamètres paternels se répartie principalement entre 70 et 150 centimètres de diamètre avec une médiane de 100 alors que celle des mères se répartit de manière plus homogène entre 60 et 170 centimètres de diamètre avec une médiane de 120.

La médiane de la population adulte ($DBH > 40\text{ cm}$) est quant à elle de 62,65 centimètres. Cela suppose un effet du diamètre sur le succès reproducteur des individus.

Si l'on observe l'écart entre la proportion d'adultes et la proportion de parents dans la même classe de DBH, on constate que l'écart est relativement constant pour les pères de plus de 90

centimètres de diamètre. Cela implique que le succès reproducteur mâle est peu dépendant du DBH au-delà de ce seuil.

En ce qui concerne les mères, l'écart avec la proportion d'adultes tend à augmenter continuellement avec le DBH ce qui implique que le succès reproducteur femelle est bien dépendant du diamètre.

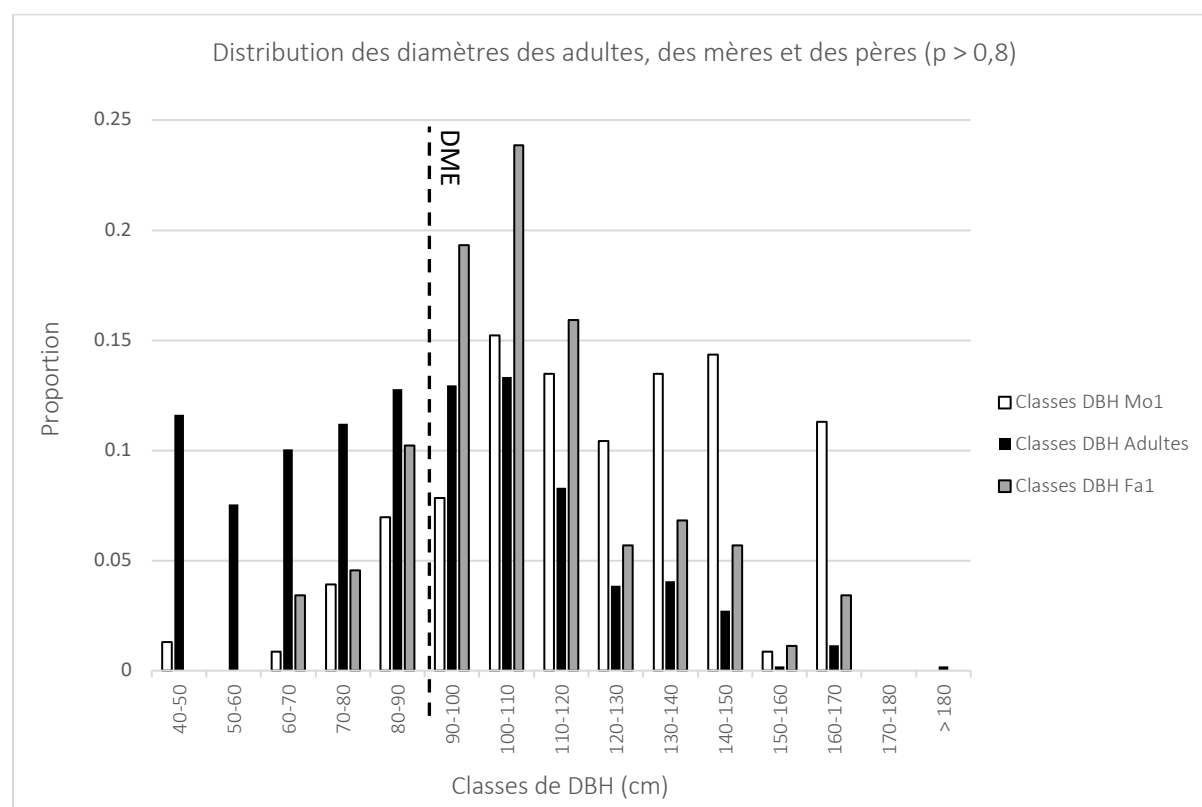


Figure 16 : Distribution des classes de diamètres chez les adultes (Classes DBH Adultes) de la parcelle de 100 hectares et distribution des diamètres des pères (Classes DBH Fa1) et des mères (Classes DBH Mo1) proportionnellement au nombre de descendants identifiés avec une probabilité de $\geq 80\%$. Le diamètre minimal d'exploitation (DME) est indiqué par la droite discontinue.

4.3.2 La dominance dans la canopée

Un indice de Dawkins a été attribué à chaque individu échantillonné (excepté les graines) en se basant sur sa place dans la canopée. L'indice peut prendre des valeurs allant de 1 à 5 (voir annexe 2), 1 signifiant une position dominée avec un accès négligeable à la lumière et 5 signifiant une position dominante avec un plein accès à la lumière tout au long de la journée. Cette place dans la canopée, comme on l'a vu plus haut peut avoir un effet sur le succès reproducteur des individus. La figure 17 montre la distribution des dominances pour la totalité

des individus de la parcelle ainsi que pour les mères et pères dont la probabilité de généalogie est supérieure ou égale à 80%.

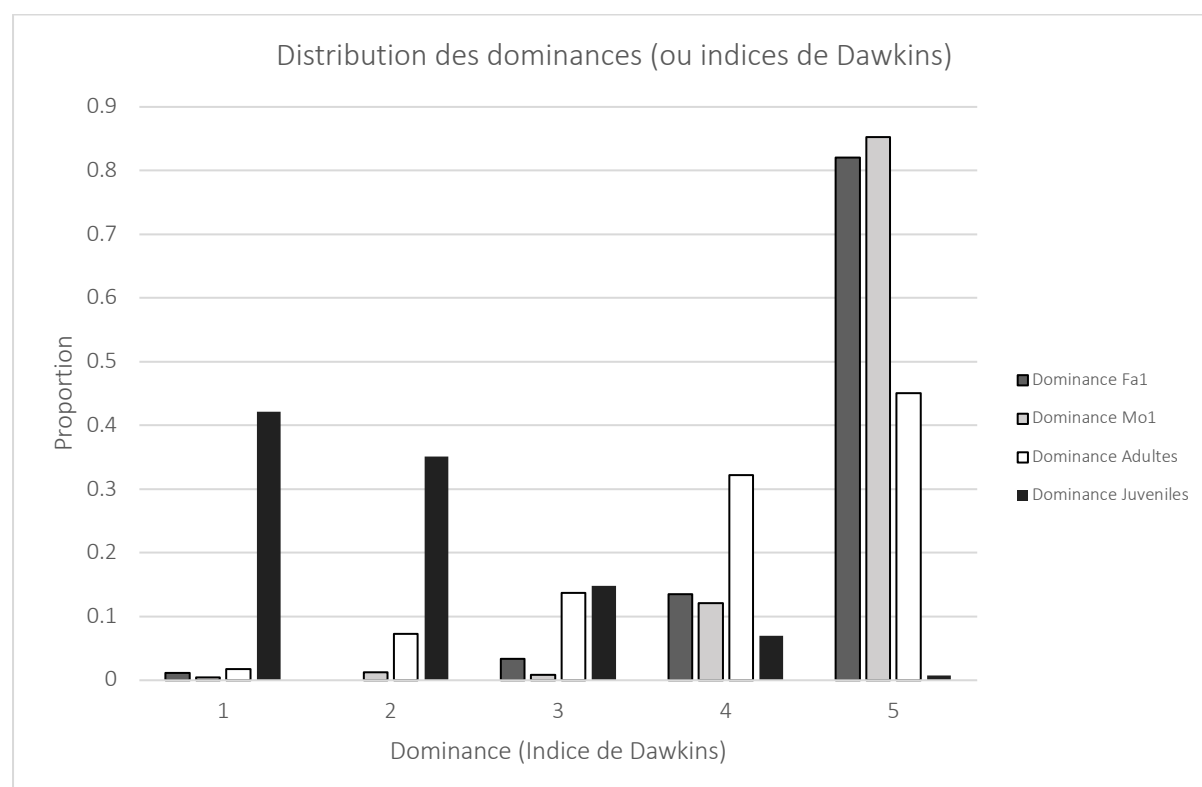


Figure 17 : Distribution des indices de Dawkins (ou indice de dominance dans la canopée) des individus adultes (« Dominance Adultes » en blanc) et juvéniles (« Dominance Juvéniles » en noir) de la parcelle de 100 hectares ainsi que celle des pères (« Dominance Fa1 » en gris foncé) et des mères (« Dominance Mo1 » en gris clair) proportionnellement au nombre de descendants identifiés avec une probabilité de $\geq 80\%$. L'attribution des indices se base sur le document "Dawkins crown illumination index" (voir annexe 2).

On observe sur la figure 17 que la place de la couronne dans la canopée est incontestablement déterminante pour le succès reproducteur paternel comme maternel puisque la quasi-totalité des parents ont un plein accès à la lumière (Indice 5).

5. Pollinisation de *Triplochiton scleroxylon*

Les pièges caméra ont permis de déterminer quels étaient les visiteurs floraux. On retrouve principalement les ordres suivants : les diptères, les hémiptères, les lépidoptères, les hyménoptères, les blattes et les arachnides.



Figure 18 : À gauche : arrêt sur image montrant la visite d'un hyménoptère sur le focal 2 (emplacement de la fleur) capturé par le piège vidéo numéro 3 (pi3), le 22 Mars 2019 à 13:57:46. À droite : arrêt sur image montrant la visite d'un lépidoptère sur le focal 3 (emplacement de la fleur) capturé par le piège vidéo numéro 1 (pi1), le 22 Mars 2019 à 05:02:17.

Cependant, seulement les hyménoptères et les lépidoptères entrent en contact avec les étamines et/ou stigmates. Les hyménoptères représentent à eux seuls 60,5 % des visiteurs floraux (92/152 observations) et les lépidoptères représentent 13,2 % (20/152 observations) des visiteurs floraux. Les patterns d'activité sont illustrés pour ces deux ordres sur la figure 19.

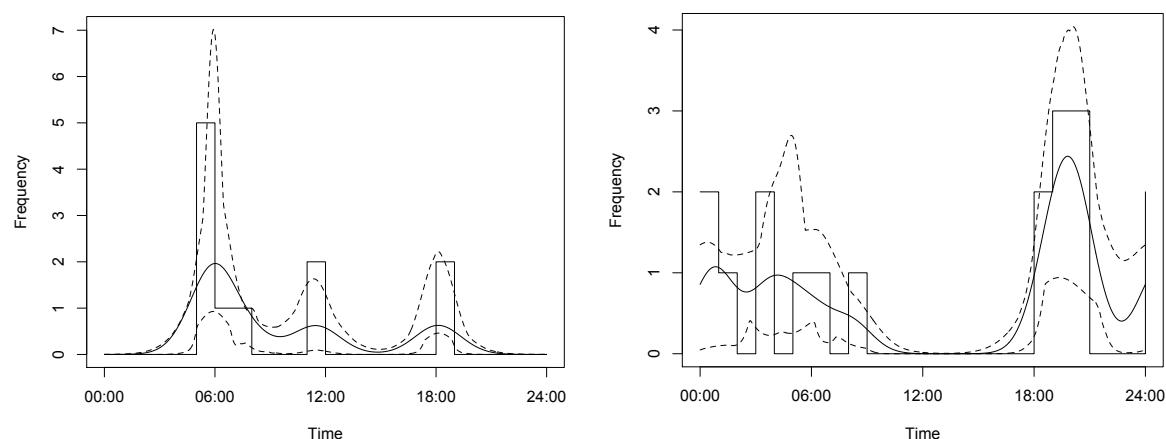


Figure 19 : Pattern d'activité des hyménoptères (à gauche) et des lépidoptères (à droite), tels que capturé par les distributions des enregistrements. Les lignes sous forme de marches sont les fréquences observées, les courbes continues sont les distributions du noyau circulaire et les courbes discontinues représentent les intervalles de confiance aux distributions du noyau circulaire.

On observe que l'activité des hyménoptères est importante à l'aurore et à moindre mesure à l'aube avec un petit pic d'activité aux alentours de midi. Le pattern semble montrer une certaine structure, avec une activité se faisant sous forme de trois cycles synchronisés au cours de la journée. La pollinisation par les hyménoptères est diurne.

En ce qui concerne les lépidoptères, on observe un pattern beaucoup moins constant que chez les hyménoptères avec des pics d'activité tout au long de la nuit. La distribution de l'activité semble être plus aléatoire et moins structurée que chez les hyménoptères et les visites sont principalement nocturnes.

Les fleurs sont considérées comme éphémères puisque les bourgeons s'ouvrent généralement en fin d'après-midi (17-18 h) et les fleurs fanent aux alentours de midi le jour d'après. Elles ont donc une durée de vie (ou un temps d'ouverture) d'approximativement 20 heures. A partir des vidéos on a également eu l'occasion d'observer de la prédation des bourgeons par les insectes (chenilles) et la perte d'un des bourgeons par le vent.

DISCUSSION

1. Échantillonnage :

L'échantillonnage exhaustif de la parcelle a révélé une grande densité d'Ayous (6,845 arbres/hectare). Cela s'explique par au moins deux facteurs, premièrement, il s'agit d'une espèce grégaire, il n'est donc pas rare de les retrouver naturellement en groupe dense et deuxièmement, l'espèce est pionnière et héliophile. Dans un contexte d'exploitation, la détérioration occasionnée ainsi que la fragmentation de l'habitat provoque, notamment, des trouées dans la canopée et une libération d'espace de même qu'une place à la lumière pour le recrutement. Pour les espèces héliophiles à croissance rapide, cette situation représente une opportunité d'accroître leur densité de population. Akinagbe, A. (2008) a calculé les densités de populations de *T. sceroxylon* dans différents types d'habitats et a obtenu une densité de 2 arbres par hectare dans les forêts primaires contre 10 arbres par hectare dans les forêts exploitées. L'Ayous bénéficierait donc des systèmes d'exploitation pour accroître sa densité de population.

2. Diversité et consanguinité

2.1 Autofécondation et consanguinité

De récentes études utilisant des microsatellites au pouvoir discriminatoire puissant chez des espèces ligneuses tropicales, ont rapportées de hauts niveaux de consanguinité, des flux de gènes restreints et une isolation par distance causée par une fragmentation de leur habitat (Lemes et al., 2003). Tenant compte de cette information, il est essentiel de considérer les paramètres de diversité génétique afin d'évaluer le statut de conservation et de gestion des arbres tropicaux soumis à une pression anthropique intense (Lemes et al., 2003). La variabilité observée sur différents loci avec des marqueurs co-dominants fournit une estimation de la consanguinité, de l'hétérozygotie, des flux de gènes et du taux de fécondation croisée permettant l'évaluation de ces paramètres.

Les 17 locus utilisés montrent de hauts niveaux de variation génétique. Cela confirme que l'utilisation de marqueurs microsatellites apporte bien les informations génétiques hautement

variables attendues pour l'étude de la structure de la population et des flux de gènes chez l'espèce *T. scleroxylon*.

L'autofécondation peut être une stratégie intéressante dans les cas de faible densité d'arbre ou dans un contexte d'exploitation où la suppression d'individus induit un isolement reproductif. Dans le cas de l'Ayous, le taux d'autofécondation est très faible pour la population locale ($1,4\% \pm 0,6\%$). De plus, alors que l'un des effets de la fragmentation des écosystèmes forestiers pourrait être l'augmentation du niveau de consanguinité local, notre étude ne détecte pas de consanguinité chez les différentes cohortes après correction pour les allèles nuls excepté chez les graines qui expriment un léger taux de consanguinité ($F_i = 0,014$). Cela peut correspondre aux rares événements d'autofécondation identifiés chez quatre graines de la population qui subissent ensuite une dépression de consanguinité et sont éliminés des cohortes suivantes. Akinagbe, A. (2008) a décrit l'Ayous comme étant une espèce allogame obligatoire, ce qui tend à appuyer l'hypothèse d'une sélection (dépression de consanguinité) contre le peu d'individus autofécondés.

Cependant, une démonstration stricte de dépression de consanguinité requerrait des comparaisons directes sur les composantes du fitness entre individus autofécondés ou hautement consanguins et individus issus de fécondations croisées (Hardy, 2019).

Pour notre espèce, l'analyse de la consanguinité sur les marqueurs microsatellites ne permet pas de prouver l'existence d'accouplement non-aléatoire au sein de la population locale (100 hectares).

Il en est de même pour la population à large échelle qui ne présente pas de consanguinité après correction du coefficient F_i pour les allèles nuls.

2.2 Diversité

La variation génétique est la mesure des différences génétiques existant au sein d'une population. Chaque différence dans un gène ou dans l'ADN est représentée par un allèle et la diversité d'allèles d'une population est essentielle puisque la sélection naturelle peut augmenter ou diminuer les fréquences alléliques mais uniquement de ceux existants déjà dans la population.

La présence d'une large gamme d'hétérozygoties attendues et observées (H_o allant de 0,19 à 0,86) parmi les différents locus résulte d'une grande variation du nombre d'allèles par locus (de 6 à 44).

Il faut noter que la nature hautement variable des microsatellites et leurs taux de mutation élevé exprime un taux d'hétérozygotie apparent important au sein des populations (Hedrick, 1999). Hors, cela pourrait masquer des pertes en hétérozygotie. La fragmentation ou la détérioration de l'habitat prendrait trop de temps à affecter significativement l'hétérozygotie et la consanguinité à un niveau détectable (Rosane et al., 2001) au sein des microsatellites.

Triplochiton scleroxylon a révélé une diversité génétique considérable, on a trouvé parmi les 17 locus un total de 302 allèles ce qui fait un nombre moyen d'allèles par locus (17 microsatellites) de 17,76. Pour élément de comparaison, une étude de Ouinsavi, Sokpon et Khasa (2009) a étudié la diversité génétique d'une espèce (*Milicia excelsa*) en Afrique en utilisant des marqueurs microsatellites et a trouvé un nombre moyen de 6,8 allèles par locus.

Il en est de même pour l'hétérozygotie observée dans la population à large échelle ($H_o = 0,646$) et à échelle locale ($H_o = 0,647$) qui sont toutes deux supérieures chez l'Ayous par rapport à *Milicia excelsa* ($H_o = 0,54$ et $H_e = 0,81$) ainsi que *Vitellaria paradoxa* ($NA = 4$, $H_e = 0,42$) (Van de Ven et al., 1996), *Swietenia humilis* ($H_e = 0,548$) (White et al., 1999) et *S. macrophylla* ($NA=13$, $H_e= 0,66$) (Novick et al., 2003). Une étude de Hardy et al., (2019) faites sur deux espèces héliophiles et longévives d'Afrique centrale (*E. suaveolens* et *D. benthamianus*) a également montré des taux d'hétérozygotie et un nombre moyen d'allèles inférieurs à ceux de l'Ayous. Cependant, des mesures de diversité plus grandes ont été trouvées chez *Symphonia globulifera* ($H_e = 0,797$; 0,732 et 0,620 pour les adultes, juvéniles et plantules respectivement) (Aldrich et al., 1996), *Caryacar brasiliense* ($NA = 20$ à 27, $H_e = 0,765$) (Collevatti et al., 2001), *Swietenia macrophylla* ($H_e = 0,781$, $NA = 18,4$) (Lemes et al., 2003). Pour la population à large échelle, l'hétérozygotie attendue est légèrement supérieure à celle de la population locale mais le nombre d'allèles moyen par locus est inférieur à la population locale. Cela peut être expliqué par la taille réduite de l'échantillon. Quoi qu'il en soit, il semble que *T. scleroxylon* parvienne à maintenir une grande diversité génétique locale qu'il se trouve, ou pas, soumis à une pression anthropique.

La variation génétique permet principalement de s'adapter aux environnements changeants. La sélection naturelle agit directement sur les phénotypes et plus la variation génétique est importante, plus les adaptations passant par des variations phénotypiques sont possibles. On

constate chez *T. scleroxylon* que cette variation allélique parmi les microsatellites est maintenue quelques soit la population (local et exploitée ou à large échelle) ou la cohorte.

3. Structure Génétique Spatiale (SGS)

La structure génétique spatiale ou la distribution non aléatoire des génotypes peut être la conséquence d'une pression de sélection ou d'évènements historiques (Hardy & Vekemans, 2004). Cependant, à petite échelle, la présence d'une SGS est souvent causée par une limitation de la dispersion des gènes. Il en résulte une similarité génétique supérieure entre individus spatialement proches qu'entre individus éloignés. La théorie d'isolement par distance prédit le pattern attendu de la SGS à l'équilibre dérive-dispersion.

Les arbres sont des organismes sessiles, ils ne peuvent se « déplacer » que via la dispersion de leurs gènes et sont donc restreints spatialement dans cette dispersion qui dépend principalement de vecteurs externes (ex : vent, animaux...)

De nombreuses études portant sur la SGS ont fait état d'un manque ou d'une faible hétérogénéité géographique chez diverses espèces d'arbres tropicaux ou tempérés. Cela s'expliquerait par plusieurs hypothèses, i. une dispersion limitée des graines mais compensée par un flux génétique étendu par le pollen ou encore ii. une large dispersion des graines mais une limitation des flux de pollen, une auto-incompatibilité et l'action d'agents de dispersion (Loiselle et al., 1995 ; Chung et al., 1999 ; Doligez et al., 1997 ; Chung et al., 2000). Ces auteurs ont proposé que la pollinisation par les insectes et la dispersion des graines à longue distance chez les espèces ligneuses devraient être caractéristique d'une faible SGS.

Chez l'Ayous, on observe une structure génétique spatiale (fig. 12) bien présente jusqu'à environ 100 mètres pour l'ensemble de la population locale et au sein de chaque cohorte (fig. 13). On sait que contrairement aux coefficients de consanguinité, les coefficients de parenté sont peu influencés par la présence d'allèles nuls puisqu'ils sont basés sur la probabilité qu'un allèle prit au hasard chez un individus soit identique à celui prit au hasard chez un autre individu dans la même classe de distance (pour la SGS).

Cela signifie que les individus se trouvant à moins de 100 mètres les uns des autres sont en moyenne fortement apparentés puisqu'un coefficient de 1/8 caractérise le lien de parenté existant entre demi-frère.

C'est parmi les plantules qu'on trouve le coefficient de parenté le plus élevé (0,15 à 16 mètres).

La présence d'une forte SGS pour la population locale en dessous de 100 mètres correspond sans doute à la dispersion limitée des graines qui se fait en moyenne à 109 mètres de distance. En revanche, au-delà de 100 mètres elle décline progressivement ce qui correspond bien à la dispersion plus lointaine du pollen. Ce pattern diminue fortement la probabilité d'accouplement entre individus apparentés puisqu'au-delà de 200 mètres de distance, le coefficient de parenté entre individus est nul et que le pollen disperse en moyenne à 573 mètres.

Dans notre étude, c'est donc la première hypothèse stipulant l'effet de la limitation des flux de graines sur la SGS qui expliquerait la non-homogénéité spatiale de la distribution des gènes.

4. Modélisation de la dispersion des graines et du pollen

4.1 Dispersion des graines

Premièrement, la maternité a été attribuée à 90 individus et 231 juvéniles ou graines ont été assignés à une mère avec une probabilité de 80%. Cela implique qu'environ 60,3% des juvéniles (DBH<30cm) ou graines, se trouvent dans un rayon de moins de 500 mètres de leur mère. Le taux d'immigration des graines est par conséquent peu élevé ($m_s = 16,54\%$) étant donné la proximité des mères avec leurs descendance.

La distance de dispersion des graines est estimée en moyenne à 109,32 mètres pour le noyau et 96,6 mètres pour les événements de dispersion dans la parcelle. Les événements de dispersion à longue distance sont rares bien que probablement présents puisque la fonction de dispersion décrit une distribution légèrement leptokurtique mais se rapprochant d'une distribution exponentielle. La distance maximale enregistrée pour les événements de dispersion se fait à 576 mètres.

La dispersion des graines est fortement anisotropique ($k_s = 0,92$) et orientée dans la direction Sud-Ouest ($a_s = 0,64$). Cette distribution palliée avec la structure ailée (samares à ailes longues) des graines, appuie l'hypothèse de Leakey (1981) d'une dispersion anémochore. Une étude de Medjibe en 2002 a montré que l'anisotropie chez une espèce d'arbre (*Entandrophragma spp.*) en république centrale d'Afrique ne prenait pas la direction des vents dominants. Les dynamiques du vent peuvent être complexes dans les forêts décidues ou fermées en fonction de plusieurs facteurs comme par exemple la présence ou pas de feuilles sur les arbres. De plus la force et le pattern du vent peuvent fortement changer lors de son passage sous la canopée (Augspurger, 1983). La direction de l'anisotropie pourrait également être influencée par

l'orientation des branches des semenciers (Medjibe, 2002) mais cela n'a pas été testé dans notre étude. La fréquence des tempêtes ou de vents violent ponctuels pourrait, de plus, avoir un rôle non négligeable dans la dispersion des graines à plus longue distance (Augsburger and Franson, 1987) en les détachant et les emmenant loin de l'arbre mère (Stewart et al., 1998).

Le taux d'immigration qui semble élevé par rapport à la distance de dispersion des graines peut s'expliquer par l'existence d'un effet de bord qui semble être confirmé par la proximité sur les bords de la parcelle d'un bon nombre d'individus immigrants (voir annexe 1) et de rares événements de dispersion à longue distance. Le taux d'immigration pourrait en théorie également être expliquée par une dispersion à plus longue distance par les mammifères ou oiseaux mais pour être testé cela nécessiterait une étude approfondie sur la contenance et l'appétibilité des graines ainsi que leur résistance au passage dans le système digestif de ces animaux.

4.2 Dispersion du pollen et pollinisation

La distance moyenne de dispersion du pollen est estimée par le logiciel NM π à 573,14 mètres (IC: 281,78 – infini) d'après la modélisation de la dispersion. Les marqueurs microsatellites ont permis d'assigner la paternité à 62 individus. La distance de dispersion maximale du pollen observée chez la population locale est de 861 mètres. Cependant le taux d'immigration du pollen estimé à 58,1 % $\pm$ 2,9% indique qu'une grande partie des pères se trouvent au-delà du périmètre d'1 km² analysé. Cela implique probablement des distances de dispersion à longues distances (>1km). De nombreuses études de paternité faites sur des espèces ligneuses tropicales ont permis de constater que le pollen effectuait une dispersion sur de longues distances et maintenait un flux génétique au sein des populations contrairement aux graines qui présentent une dispersion limitée (Hamilton, 1999). A titre d'exemple, on observe des dispersions se faisant parfois sur des centaines voire des milliers de mètres (Dick *et al.*, 2008) (ex : *D. benthamianus* : 409 - 2412 mètres) (Hardy *et al.*, 2019) mais aussi des dispersions beaucoup plus limitées (*E. suaveolens* : 239 – 383 mètres) (Hardy *et al.*, 2019).

Les agents de dispersion du pollen sont les principaux déterminants de la distance à laquelle il va pouvoir se disperser. L'analyse des enregistrements fait sur les inflorescences de l'Ayous a permis d'identifier les principaux agents de la dispersion du pollen. Il s'agit uniquement d'insectes ce qui explique bien la distribution isotropique ($k_s = -0,191 \pm 0,163$) du noyau de

dispersion du pollen. L'ordre des hyménoptères est le plus souvent représenté parmi les visiteurs floraux entrants en contact avec les étamines et à moindre mesure on retrouve l'ordre des lépidoptères. Les fleurs hermaphrodites de l'Ayous sont actinomorphes et d'après les enregistrements vidéo, elles mesurent approximativement 4 à 5 centimètres. Lorsque la fleur est ouverte on voit que les étamines rassemblées en son centre sont nombreuses et faciles d'accès pour tous pollinisateurs potentiels. Un accès facilité au pollen et une prédominance d'hyménoptères parmi les visiteurs floraux peuvent indiquer une pollinisation généraliste. Une étude a montré une corrélation entre la taille des pollinisateurs et leur distance de vol (Kettle *et al.*, 2011) et étant donné que certains papillons observés dans les enregistrements vidéo ont des tailles relativement grandes, cela pourrait expliquer les événements de dispersion à longue distance.

Cependant, les petits pollinisateurs ne sont pas nécessairement synonymes de vols de courtes distances comme par exemple les guêpes du figuier qui sont d'efficaces pollinisateurs spécialistes de l'ordre des hyménoptères voyageant sur de longues distances (Ahmed *et al.*, 2009).

Le taux d'immigration et la distance moyenne du noyau de dispersion supposant une dispersion à longue distance du pollen pourraient donc être expliqués par les distances parcourues par ses pollinisateurs.

D'après les analyses des vidéos, les fleurs seraient comme l'avait mentionné Leakey (1981) éphémères puisque la durée de vie de celles-ci est approximativement de 20 heures. Leakey avait aussi évoqué une potentielle prédation des bourgeons par les insectes, ce qui a été observé dans un cas unique, avec une chenille.

5. Effets de l'exploitation et des caractères phénotypiques sur le succès reproducteur

Les activités humaines induisent de nombreux effets néfastes sur l'écologie, cependant, les activités comme l'exploitation ou l'agriculture peuvent présenter des bénéfices écologiques en accroissant les possibilités de régénération et les potentiels de croissance des espèces ligneuses pionnières (Fujisaka and Escobar 1997). Puisque la conservation de la diversité génétique chez les espèces d'arbres passe par une régénération efficace, ces perturbations anthropiques peuvent présenter des bénéfices écologiques (Wickneswari *et al.* 1997). *T. scleroxylon* est d'ailleurs, une espèce retrouvée plus communément dans les forêts exploitées de manière sélective que dans les forêts tropicales naturelles. Cela est dû au fait que *T. scleroxylon* est un colonisateur actif des sites présentant une canopée ouverte (Hall and Bada 1979).

On peut identifier un déficit de régénération chez une population lorsque la distribution de ses diamètres prend la forme d'une cloche et un bon taux de régénération lorsque la distribution prend une forme de J-inversé. Sur la figure 11, on constate que les petits et moyens diamètres sont bien représentés, traduisant une possibilité de recrutement et par conséquent un taux certain de reconstitution de la population d'Ayous après exploitation.

Cela dit, on sait que lors de la prochaine période d'exploitation de cette parcelle, une bonne partie des diamètres de plus de 80 centimètres seront coupés, ce qui va entraîner une suppression de nombreux individus reproducteurs. En effet, les résultats montrent que le diamètre à hauteur de poitrine est corrélé au succès reproducteur maternel et à moindre mesure paternel avec des gradients de sélection de $0,892 \pm 0,092$ et $0,363 \pm 0,117$ respectivement. Pour appuyer cela, on observe sur la figure 16 que l'écart entre la proportion d'adultes et la proportion des mères tend à augmenter continuellement avec le DBH ce qui indique que le succès reproducteur femelle est dépendant du diamètre, l'effet est moins marqué pour les pères. Si l'on calcule les médianes (M) de la distribution des diamètres des parents (M pères = 100 et M mères = 120) on constate qu'elles sont toutes deux supérieures à celle de la totalité de la population adulte (M adultes = 62,65) ce qui confirme également l'importance du diamètre pour la parentalité. Une place dominante dans la canopée est souvent associée aux grands diamètres chez l'Ayous et est donc également déterminante pour le succès reproducteur ce qui n'est pas surprenant puisqu'il s'agit d'une espèce exigeante en lumière.

Cependant, même si de nombreux reproducteur sont éliminés par l'exploitation, les cycles de coupe sont séparés de 30 ans et l'incrément annuel de l'Ayous est d'environ 1,1 centimètres (inventaire ALPICAM), on s'attend alors à ce que la plupart des individus adultes aient atteint la maturité sexuelle entre deux cycles.

6. Recommandations pour une gestion durable et perspectives de recherches

Afin de maintenir un certain potentiel régénération post-exploitation, il est important de conserver une certaine quantité d'individus reproducteurs. Cette quantité peut être estimée à partir des résultats détaillés dans cette étude.

Si l'on calcule la somme des fréquences des individus pères dont le DBH est inférieur à 80 centimètres de diamètre (= DME) on obtient un total de 7,95% ce qui représenterait la

proportion de pères restants si tous les diamètres de plus de 80 centimètres étaient exploités. Cela représenterait une diminution du potentiel reproducteur d'environ 15 fois.

Pour les mères, l'effet sur le potentiel reproducteur serait encore plus marqué puisqu'il ne resterait plus que 6 % de mères si les diamètres de 80 centimètres étaient tous exploités.

Si la dispersion des graines se fait en moyenne à 100 mètres, cela implique une répartition de la pluie de graines sur 3,14 hectares ($0,0314 \text{ km}^2$) autour de la mère. Pour assurer une bonne répartition des graines sur toute la surface exploitée, il faudrait alors prévoir de conserver une trentaine d'individus reproducteurs par kilomètres carré (une mère assure une pluie de graines sur 3,14 hectares et $1 \text{ km}^2 = 100 \text{ hectares}$ donc $100/3,14 = 31,8 \text{ mères/km}^2$). Idéalement, les individus conservés après exploitation devraient avoir un diamètre supérieur à 110 centimètres (égal à la médiane des diamètres parentaux) ce qui assurerait le maintien d'un potentiel reproducteur d'au moins 50 % chez ces individus.

En règle générale, les résultats montrent que la régénération naturelle de *T. scleroxylon* ne devrait pas être limitée par les capacités de dispersion des graines et du pollen. Malgré la présence d'une SGS, aucun effet de l'exploitation sur l'hétérozygotie ou la consanguinité n'a été détecté. En revanche, la quantité d'arbres en dessous du DME contribue très faiblement à la reproduction ce qui souligne le fait qu'il faille caractériser la relation entre le DBH et le succès reproducteur pour développer une gestion durable des forêts exploitées.

La plupart des auteurs concernés par la conservation de la biodiversité, favorisent l'exploitation hautement sélective des forêts (Malcom and Ray, 2000), alors que l'Ayous a un besoin exigeant en lumière pour croître. Ce besoin n'est pas favorisé par un système hautement sélectif et ne représenterait donc pas le meilleur moyen de régénérer les populations héliophiles à croissance rapide comme l'Ayous.

En conclusion, les stratégies de gestion locale adoptées influencent de façon considérable le potentiel de régénération des espèces exploitées pour leur bois. Il est donc indispensable de développer des modèles de gestion qui étudie l'impact de plusieurs cycles de coupe sur les populations. Il est, d'après notre étude, fortement probable que l'ouverture de la canopée engendrée par l'exploitation tende à favoriser la régénération naturelle des espèces exigeantes en lumière comme l'Ayous. Cependant, il serait judicieux d'évaluer l'impact post exploitation qu'a l'explosion des espèces héliophiles à croissance rapide sur l'écosystème forestier car elle pourrait se faire au détriment d'autres espèces à croissance plus lente.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Aguilar R., Quesada M., Ashworth L., Herrerias-Diego Lobo J. 2008. Genetic consequences of habitat fragmentation in plant populations : susceptible signals in plant traits and methodological approaches. *Mol. Ecol.* 17, 5177–5188.
- Ahmed, S., Compton, S. G., Butlin, R. K., & Gilmartin, P. M. (2009). Wind- borne insects mediate directional pollen transfer between desert fig trees 160 kilometers apart. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(48), 20342–20347. <https://doi.org/10.1073/pnas.0902213106>
- Akinagbe, A. (2008). Genetic variation in *Mansonia altissima* A. Chev. and *Triplochiton scleroxylon* K. Schum under different regimes of human impact in Akure Forest Reserve, Nigeria. Cuvillier Verlag.
- Aldrich P, Hamrick JL, Chavarriaga P, Kochert G (1998) Micro- satellite analysis of demographic genetic structure in fragmented populations of the tropical tree *Symphonia globulifera*. *Molecular Ecology*, 7, 933 – 944.
- Apsit V.J., Hamrick J.L., Nason J.D. 2001. Breeding population size of a fragmented population of a Costa Rican dry forest tree species. *Journal of Heredity* 92, 415–420.
- Augspurger, C.K., 1983. Seed dispersal of the tropical tree, *Platypodium elegans*, and the escape of its seedlings from fungal pathogens. *J. Ecol.* 71, 759±772.
- Augspurger, C.K., Franson, S.E., 1987. Wind dispersal of artificial fruits varying in mass, area, and morphology. *Ecology* 68, 27± 42.
- Bayol N., Demarquez B., De Wasseige C., Eba’a Atyi R., Fisher J.-F., Nasi R., Pasquier A., Rossi X., Steil M., Vivien C. (Eds.) 2012. Forest management and the timber sector in Central Africa. Publications Office of the European Union, Luxembourg.
- Bowen M. R., Howland P., Last F. T., & Leakey R. B. 1977. *Triplochiton scleroxylon*: its conservation and future improvement.
- Cascante, A., Quesada, M., Lobo, J.J., Fuchs, E.A., 2002. Effects of dry tropical forest fragmentation on the reproductive success and genetic structure of the tree *Samanea saman*. *Conservation Biology* 16, 137–147.
- Cerutti, P.O., Nasi, R., Tacconi, L., 2008. Sustainable forest management in Cameroon needs more than approved forest management plans. *Ecology & Society* 13, 36.
- Chung, M. G., & Epperson, B. K. (2000). Clonal and spatial genetic structure in *Eurya emarginata* (Theaceae). *Heredity*, 84(2), 170.
- Chung, M. G., Chung, J. M., & Epperson, B. K. (1999). Spatial genetic structure of allozyme polymorphisms within populations of *Rhus trichocarpa* (Anacardiaceae). *Silvae genetica*, 48(5), 223–226.

- Chybicki, I. J., & Burczyk, J. (2008). Simultaneous estimation of null alleles and inbreeding coefficients. *Journal of Heredity*, 100(1), 106-113.
- Clark, D. A., & Clark, D. B. (1984). Spacing dynamics of a tropical rain forest tree: evaluation of the Janzen-Connell model. *The American Naturalist*, 124(6), 769-788.
- Clark, J. S., Lewis, M., & Horvath, L. (2001). Invasion by ex- tremes: Population spread with variation in dispersal and re- production. *American Naturalist*, 157(5), 537–554.
- Collevatti RG, Grattapaglia D, Hay JD (2001) High resolution microsatellite based analysis of mating system allows the detection of significant biparental inbreeding in populations of *Caryocar brasiliense*, an endangered tropical tree species. *Heredity*, **86**, in press
- Collevatti, R. G., Grattapaglia, D., & Hay, J. D. (2001). Population genetic structure of the endangered tropical tree species *Caryocar brasiliense*, based on variability at microsatellite loci. *Molecular ecology*, 10(2), 349-356.
- Degen, B., Blanc, L., Caron, H., Maggia, L., Kremer, A., & Gourlet-Fleury, S. (2006). Impact of selective logging on genetic composition and demographic structure of four tropical tree species. *Biological Conservation*, 131(3), 386-401.
- Dick, C. W., Hardy, O. J., Jones, F. A., & Petit, R. J. (2008). Spatial scales of pollen and seed-mediated gene flow in tropical rain forest trees. *Tropical Plant Biology*, 1(1), 20–33. <https://doi.org/10.1007/s12042-007-9006-6>
- Doligez, A., & Joly, H. I. (1997). Genetic diversity and spatial structure within a natural stand of a tropical forest tree species, *Carapa procera* (Meliaceae), in French Guiana. *Heredity*, 79(1), 72.
- Duminil, J., Abessolo, D. M., Bourobou, D. N., Doucet, J. L., Loo, J., & Hardy, O. J. (2016). High selfing rate, limited pollen dispersal and inbreeding depression in the emblematic African rain forest tree *Baillonella toxisperma*—Management implications. *Forest ecology and management*, 379, 20-29.
- Duminil, J., Daïnou, K., Kaviriri, D. K., Gillet, P., Loo, J., Doucet, J. L., & Hardy, O. J. (2016). Relationships between population density, fine-scale genetic structure, mating system and pollen dispersal in a timber tree from African rainforests. *Heredity*, 116(3), 295.
- Duminil, J., Hardy, O.J., Petit, R.J., 2009. Plant traits correlated with generation time directly affect inbreeding depression and mating system and indirectly genetic structure. *BMC Evol. Biol.* 9, 177.
- Duminil, J., Mona, S., Mardulyn, P., Doumenge, C., Walmacq, F., Doucet, J. L., & Hardy, O. J. (2015). Late Pleistocene molecular dating of past population fragmentation and demographic changes in African rain forest tree species supports the forest refuge hypothesis. *Journal of biogeography*, 42(8), 1443-1454.
- Durel, C.E., Bertin, P., Kremer, A., 1996. Relationship between inbreeding depression and inbreeding coefficient in maritime pine (*Pinus pinaster*). *Theoretical and Applied Genetics* 92, 347–356.
- Efron, B., & Stein, C. (1981). The jackknife estimate of variance. *The Annals of Statistics*, 586-596.
- Ellstrand, N.C., Elam, D.R., 1993a. Population genetic conse- quences of small population size – implications for plant conservation. *Annual Review of Ecology and Systematics* 24, 217–242.
- Fenner, M. K., Fenner, M., & Thompson, K. (2005). *The ecology of seeds*. Cambridge University Press.

- Fenster, C. B., Vekemans, X., & Hardy, O. J. (2003). Quantifying gene flow from spatial genetic structure data in a metapopulation of *Chamaecrista fasciculata* (Leguminosae). *Evolution*, 57(5), 995-1007.
- Feyera, S., Beck, E., & Lüttge, U. (2002). Exotic trees as nurse-trees for the regeneration of natural tropical forests. *Trees*, 16(4-5), 245-249.
- Frankham R (1995) Effective population size/adult population size ratios in wildlife: a review. *Genetical Research Cambridge*, 6, 95–107.
- Fujisaka, S. A. M., Escobar, G., & Veneklaas, E. (1997). Plant community diversity relative to human land uses in an Amazon forest colony. *Biodiversity & Conservation*, 7(1), 41-57.
- García, C., Klein, E., Jordano, P., & Rees, M. (2016). Dispersal processes driving plant movement: Challenges for understanding and predicting range shifts in a changing world. *Journal of Ecology*, 105(1), 1–5.
- Gibson, L., Lynam, A. J., Bradshaw, C. J., He, F., Bickford, D. P., Woodruff, D. S., ... & Laurance, W. F. (2013). Near-complete extinction of native small mammal fauna 25 years after forest fragmentation. *Science*, 341(6153), 1508-1510.
- Gregorius, H.-R., 1991. Gene conservation and the preservation of adaptability. In: Seitz, A., Loeschcke, V. (Eds.), *Species Conservation: A Population – Biological Approach*. Birkhauser- Verlag, Basel/Boston/Berlin, pp. 31–47.
- Hainaut H, 2013. ETENDUE DE LA DISPERSION DES GRAINES ET DU POLLEN CHEZ UN ARBRE DE LA FORET PLUVIALE DU SUD-EST CAMEROUN : *Erythrophleum suaveolens*, Mémoire de fin d'étude de master en Biologie des organismes et écologie, Université Libre de Bruxelles, 65pp.
- Hall, J. B., & Bada, S. O. (1979). The distribution and ecology of Obeche (*Triplochiton scleroxylon*). *The Journal of Ecology*, 543-564.
- Hamilton, A. J., & Baulcombe, D. C. (1999). A species of small antisense RNA in posttranscriptional gene silencing in plants. *Science*, 286(5441), 950-952.
- Hardy, O. J., & Vekemans, X. (2002). SPAGeDi: a versatile computer program to analyse spatial genetic structure at the individual or population levels. *Molecular ecology notes*, 2(4), 618-620.
- Hardy, O. J., Delaide, B., Hainaut, H., Gillet, J. F., Gillet, P., Kaymak, E., ... & Doucet, J. L. (2019). Seed and pollen dispersal distances in two African legume timber trees and their reproductive potential under selective logging. *Molecular ecology*.
- Harms KE, Wright SJ, Calderon O, Hernandez A, Herre EA (2000) Pervasive density-dependent recruitment enhances seedling diversity in a tropical forest. *Nature* 404:493–495
- Hawley, G.J., Schaberg, P.G., DeHayes, D.H., Brissette, J.C., 2005. Silviculture alters the genetic structure of an eastern hemlock forest in Maine, USA. *Can. J. For. Res.* 35, 143–150.
- Hedrick, P. W. (1999). Perspective: highly variable loci and their interpretation in evolution and conservation. *Evolution*, 53(2), 313-318.
- Hueneke LF (1991). Ecological implication of genetic variation in plant population. In: Falk DA, Holsinger KE (eds) *Genetics and Conservation of rare plants*. Oxford University press: Oxford. pp 31–44.

- Jean-Louis Doucet, Kasso Daïnou, Gauthier Ligot, Dakis-Yaoba Ouédraogo, Nils Bourland, Sheila E. Ward, Patrice Tekam, Paul Lagoute & Adeline Fayolle (2016) Enrichment of Central African logged forests with high-value tree species: testing a new approach to regenerating degraded forests, *International Journal of Biodiversity Science, Ecosystem Services & Management*, 12:1-2, 83-95
- Jennings, S.B., Brown, N.D., Boshier, D.H., Whitmore, T.C., Lopes, J.d.C.A., 2001. Ecology provides a pragmatic solution to the maintenance of genetic diversity in sustainably managed tropical rain forests. *Forest Ecology and Management* 154, 1–10.
- JONES, N. (1974). Records and comments regarding the flowering of *Triplochiton scleroxylon*
- Jones, N. (1977). The distribution of *Triplochiton scleroxylon* K. Schum. with special reference to Nigeria. Variation and Breeding Systems of *Triplochiton scleroxylon* K. Schum., pp. 8-18. Federal Department of Forest Research, Ibadan.
- K. Schum. The Commonwealth Forestry Review, 52-56.
- Keller, L.F., Waller, D.M., 2002. Inbreeding effects in wild populations. *Trends in Ecol. Evol.* 17 (5), 230–241.
- Kettle, C. J., Maycock, C. R., Ghazoul, J., Hollingsworth, P. M., Khoo, E., Sukri, R. S. H., & Burslem, D. F. R. P. (2011). Ecological implications of a flower size/number trade-off in tropical forest trees. *PLoS ONE*, 6(2), e16111. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0016111>
- Kuma, M., & Shibru, S. (2015). Floristic composition, vegetation structure, and regeneration status of woody plant species of Oda Forest of Humbo Carbon Project, Wolaita, Ethiopia. *Journal of Botany*, 2015.
- Leakey, R. R. B., Ferguson, N. R., & Longman, K. A. (1981). Precocious flowering and reproductive biology of *Triplochiton scleroxylon* K. Schum. The Commonwealth Forestry Review, 117-126.
- Lemes, M. R., Gribel, R., Proctor, J., & Grattapaglia, D. (2003). Population genetic structure of mahogany (*Swietenia macrophylla* King, Meliaceae) across the Brazilian Amazon, based on variation at microsatellite loci: implications for conservation. *Molecular Ecology*, 12(11), 2875-2883.
- Letouzey, R. (1985). Notice de la carte phytogéographique du Cameroun au 1: 500,000 (1985).
- Ligot, G., Fayolle, A., Gourlet-Fleury, S., Daïnou, K., Gillet, J. F., De Ridder, M., ... & Doucet, J. L. (2019). Growth determinants of timber species *Triplochiton scleroxylon* and implications for forest management in central Africa. *Forest ecology and management*, 437, 211-221.
- Lowe, R. G. (1968). Periodicity of a tropical rain forest tree *Triplochiton scleroxylon* K. Schum. The Commonwealth Forestry Review, 150-163
- Medjibe, V., & Hall, J. S. (2002). Seed dispersal and its implications for silviculture of African mahogany (*Entandrophragma* spp.) in undisturbed forest in the Central African Republic. *Forest Ecology and Management*, 170(1-3), 249-257.
- Monthe, F. K., Hardy, O. J., Doucet, J. L., Loo, J., & Duminil, J. (2017). Extensive seed and pollen dispersal and assortative mating in the rain forest tree *Entandrophragma cylindricum* (Meliaceae) inferred from indirect and direct analyses. *Molecular ecology*, 26(19), 5279-5291.
- Namkoong, G., Boyle, T., Gregorius, H.-R., Joly, H., Savolainen, O., Ratnam, W., Young, A., 1996. Testing criteria and indicators for assessing the sustainability of forest management: genetic criteria and indicators. CIFOR Working Paper 1–16.

- Nei, M. (1978). Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 89(3), 583-590.
- Nielsen, R., Tarpay, D. R., & Reeve, H. K. (2003). Estimating effective paternity number in social insects and the effective number of alleles in a population. *Molecular ecology*, 12(11), 3157-3164.
- Oliver, C. D. (1980). Forest development in North America following major disturbances. *For. Ecol. Manag.* 3, 153–168. doi: 10.1016/0378-1127(80)90013-4
- Ouinsavi, C., Sokpon, N., & Khasa, D. P. (2009). Genetic diversity and population structure of a threatened African tree species, *Milicia excelsa*, using nuclear microsatellites DNA markers. *International Journal of Forestry Research*, 2009.
- Rowcliffe, M., Kays, R., Kranstauber, B., Carbone, C., Jansen, P.A. (2014) Quantifying animal activity level using camera trap data. *Methods in Ecology and Evolution*.
- Perera, L., Russell, J. R., Provan, J., & Powell, W. (2000). Use of microsatellite DNA markers to investigate the level of genetic diversity and population genetic structure of coconut (*Cocos nucifera* L.). *Genome*, 43(1), 15–21. doi:10.1139/g99-07
- Rocha OJ, Aguilar G (2001). Reproductive biology of the dry forest tree *Enterolobium cyclocarpum* (Guanacaste) in Costa Rica: a comparison between trees left in pasture and trees in continuous forest. *Am J Bot* 88: 1607–1614
- Sebbenn, A. M., Degen, B., Azevedo, V. C., Silva, M. B., de Lacerda, A. E., Ciampi, A. Y., ... & Loveless, M. D. (2008). Modelling the long-term impacts of selective logging on genetic diversity and demographic structure of four tropical tree species in the Amazon forest. *Forest ecology and management*, 254(2), 335-349.
- Shivanna, K. R., & Tandon, R. (2014). Reproductive ecology of flowering plants: a manual (pp. 107-123). New Delhi: Springer India.
- Stewart, J.D., Hogg, E.H., Hurdle, P.A., Stadt, K.J., Tollestrup, P., Lieffers, V.J., 1998. Dispersal of white spruce in mature aspen stands. *Can. J. Bot.* 76, 181±188.
- Topa, G., Karsenty, A., Megevand, C. & Debroux, L., 2010. Forêts tropicales humides du Cameroun: une décennie de réformes. Washington, DC: Banque Mondiale.
- Van de Ven, W. T. G., & McNicol, R. J. (1996). Microsatellites as DNA markers in Sitka spruce. *Theoretical and Applied Genetics*, 93(4), 613-617.
- Vankerckhove N, 2018. Dispersion des graines et du pollen chez des arbres exploités en Afrique centrale et implications pour la gestion forestière. Mémoire de fin d'étude de master en Biologie des organismes et écologie, Université Libre de Bruxelles, 94p.
- Vekemans, X., & Hardy, O. J. (2003). Quantifying gene flow from spatial genetic structure data in a metapopulation of *Chamaecrista fasciculata* (Leguminosae). *Evolution*, 57(5), 995-1007.
- Vekemans, X., & Hardy, O. J. (2004). New insights from fine-scale spatial genetic structure analyses in plant populations. *Molecular ecology*, 13(4), 921-935.
- Viera, W., Ponce Morales, L. A., Morillo, E., & Vásquez, C. (2016). Genetic variability of avocado germplasm for plant breeding.

- Vlam, M., van der Sleen, P., Groenendijk, P., & Zuidema, P. A. (2017). Tree age distributions reveal large-scale disturbance-recovery cycles in three tropical forests. *Frontiers in plant science*, 7, 1984.
- Webb, C. J., & Lloyd, D. G. (1986). The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in angiosperms II. Herkogamy. *New Zealand journal of botany*, 24(1), 163-178.
- Weir, B. S. (1990). Genetic data analysis. Methods for discrete population genetic data. Sinauer Associates, Inc. Publishers.
- White, G. M., Boshier, D. H., & Powell, W. (1999). Genetic variation within a fragmented population of *Swietenia humilis* Zucc. *Molecular Ecology*, 8(11), 1899-1909.
- Wickneswari, R., Lee, C. T., Norwati, M., & Boyle, T. J. B. (1997, August). Immediate effects of logging on the genetic diversity of five tropical rainforest species in a ridge forest in peninsular Malaysia. In *CIFOR wrap-up workshop on Impact of Disturbance, Bangalore, India*.
- Wyatt R (1983) Pollinator-plant interactions and the evolution of breeding system. In: Real L (ed) *Pollination biology*. Academic, Orlando
- Young, A., Boyle, T., Brown, T., 1996. The population genetic consequences of habitat fragmentation for plants. *Trends Ecol. Evol.* 11, 413–418.

ANNEXES

Annexe 1 :

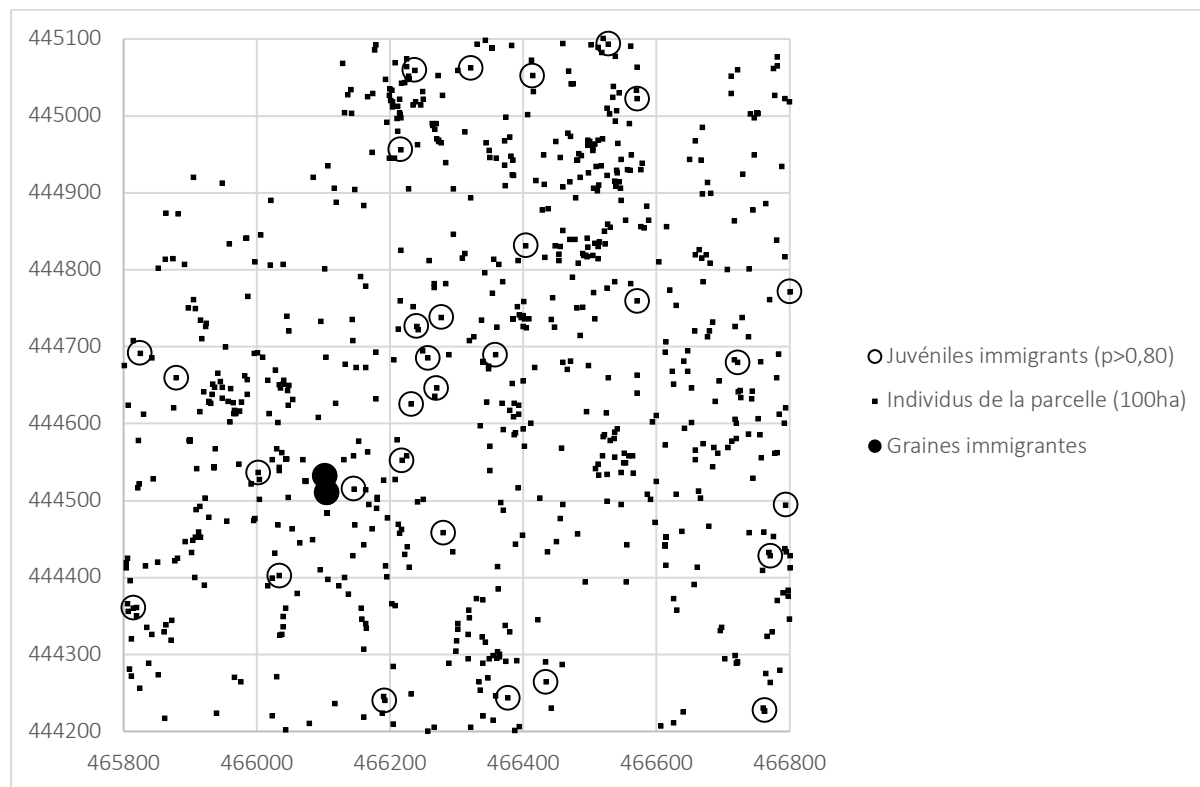


Figure 20 : Parcelle génétique de 100 hectares sur laquelle sont représentés les individus échantillonnés (petits points noirs), les juvéniles immigrants (cercle noir) et les graines immigrantes (gros points noirs). Le statut d'"immigrant" est assignés par le logiciel NM π avec une probabilité de 80%. La figure illustre bien l'effet de bord, on voit qu'une partie non négligeable des individus considérés comme immigrants se trouve proche des bords de la parcelle.

Annexe 2

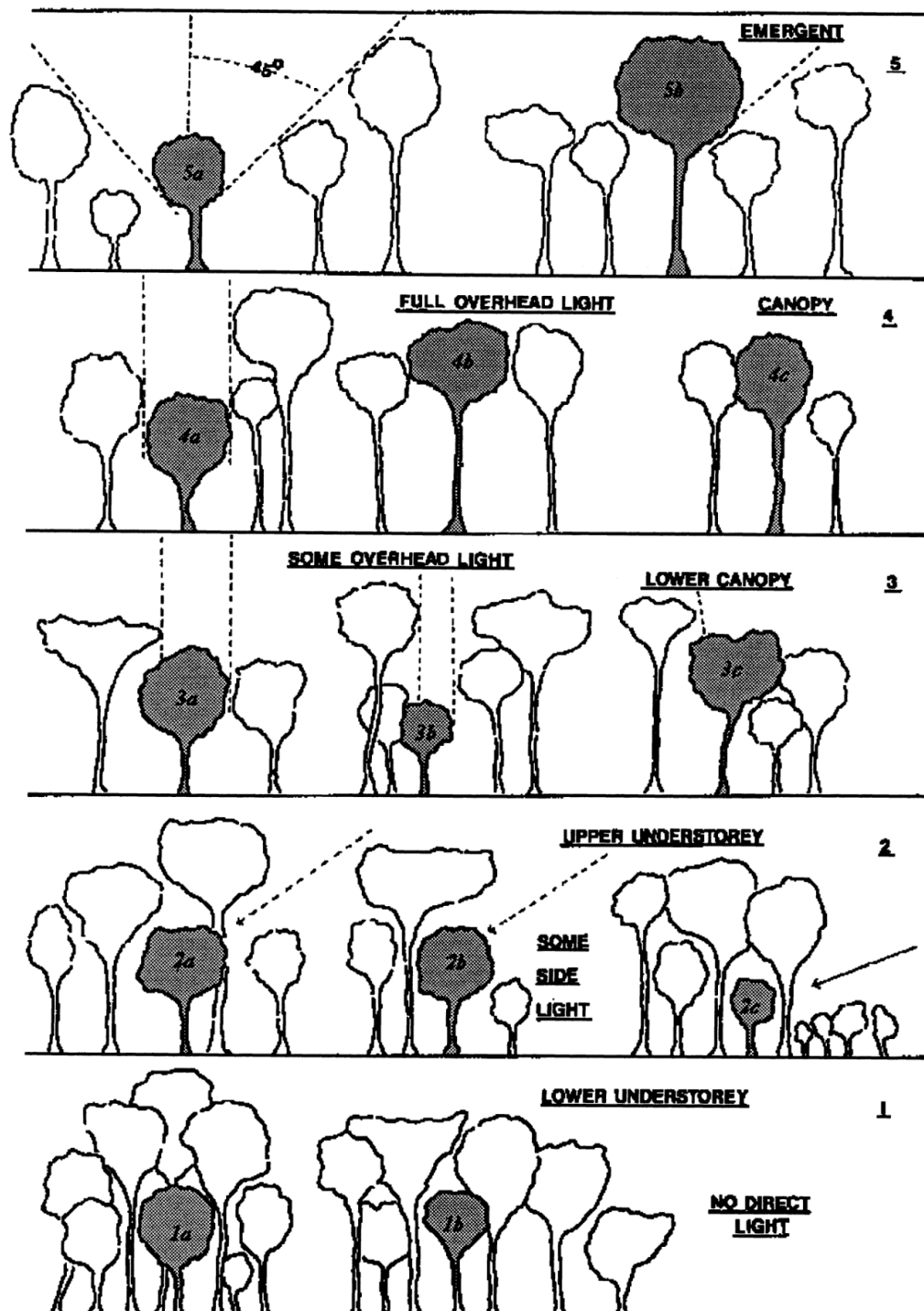


Figure 21 : Document à partir duquel ont été attribué les indices de Dawkins. Ces indices permettent d'assigner à un arbre un statut décrivant sa place dans la canopée (allant de 1 à 5).

Annexe 3

Protocole d'amplification du 'mix' 1 :

PCR Qiagen Multiplex Mix

	Per sample	TYPE IT-Mix	Nr loci
		102	8
H ₂ O	5	331,5	
Type It	7,5	765	
Q solution	0	0	
Primer F (10µM)	0,1	10,2	81,6
Primer R (10µM)	0,15	15,3	122,4
Primer Q1 (10µM)	0,3	30,6	
Primer Q2 (10µM)	0,15	15,3	
Primer Q3 (10µM)	0,15	15,3	
Primer Q4 (10µM)	0,15	15,3	
DNA	1,50		
Volume Total	15	1377	
Master mix per well	13,5	13,5	

Protocole d'amplification du "mix" 2:

PCR Qiagen Multiplex Mix

	Per sample	TYPE IT-Mix	Nr loci
		102	10
H ₂ O	4,85	265,2	
Type It	7,5	765	
Q solution	0	0	
Primer F (10µM)	0,1	10,2	102
Primer R (10µM)	0,15	15,3	153
Primer Q1 (10µM)	0,15	15,3	
Primer Q2 (10µM)	0,15	15,3	
Primer Q3 (10µM)	0,3	30,6	
Primer Q4 (10µM)	0,3	30,6	
DNA	1,50		
Volume Total	15	1377	
Master mix per well	13,5	13,5	

Annexe 4

Détails du programme PCR utilisé pour l'amplification des séquences microsatellites de *T. scleroxylon* :

PCR Programme

	°C	Temps	
Premelt	95	5 min	
Denature	95	30 sec	25x
Annealing	57	90 sec	
Extension	72	30 sec	
Denature	94	30 sec	10x
Annealing	53	45 sec	
Extension	72	45 sec	
Final Extension	60	30 min	

Annexe 5

Caractérisation de 18 marqueurs microsatellites isolés de *T. scleroxylon*. Le tableau illustre, les noms des locus, les séquences des amorces forward et reverse, le nom des queues associées aux amorces pour fixer les fluorochrome, la température d'hybridation (°C), la taille des allèles (bp) et le nombre d'allèles (NA) pour chaque locus :

Nom du Locus	Séquence de l'amorce Forward (5'–3')	Séquence de l'amorce Reverse	Queues	Motif SSR	T _h (°C)	Taille (bp)	NA
Tsc01	GCTTGCATTGTCCTGTTTCA	TGAGACACCATAACGGACCA	Q1F	AG	57	94 - 123	14
Tsc02	CCCTTTATTAGCCATTAATCTCTGTC	ATAGAGGACCAGTAGCCACC	Q3F	AT	57	137 - 190	29
Tsc02bis						212 - 224	6
Tsc03	CGTCAAGTATCTGCAGCCAA	CATTGTTTCCGTACCCATTG	Q4F	AG	57	149 - 202	19
Tsc05	TGCATCAGTCCTTTGAGCAC	AGTCCTTGCTTCATCATTCCA	Q2F	AAG	57	187 - 220	10
Tsc06	GCCTCCAACGGATATTGATG	GCAGCTTTAAGGGTGAAGGA	Q3F	AAG	57	203 - 209	/
Tsc08	TTCTGCACCTAGGAAACAAGC	AGGCTCCAAAGGTACATTCAA	Q1F	AC	57	210 - 252	17
Tsc10	TCGACAAAGATCTAAGTTAGTATGTCC	GGGTCGACATAAGGCAGTGT	Q2F	AG	57	128 - 172	21
Tsc20	GCTTTGAATGTCGTGCAGC	AGATGCCTTTGTTTCTTCAGAT	Q3F	AG	57	156 - 166	10
Tsc11	CCCATTGGAGGGAGAAGAGT	TCATCAGGTGATTTGAACTTGT	Q1F	AG	57	147 - 170	12
Tsc12	GCAGATGAGGAACTAAATTATGCT	AAACCAATGCTGCATAAGGA	Q3F	AC	57	134 - 161	14
Tsc13	GTGTTTCAGTAGGCATGCGG	CCAACCCACACTTATAATGCAC	Q4F	AG	57	153 - 173	8
Tsc14	TGGTATTGCTTAGGAACAAACAA	CACCAGGTATTCACGTGTTCA	Q4F	AT	57	180 - 236	25
Tsc15	CATTCTGTTGCCTCTGCCT	GCCTCTCATTGTCAAGATGC	Q2F	AG	57	201 - 232	16
Tsc16	CCCTAGTGACCGAAAGGG	CAGTTACATGCTTTAAGTTATGGCT	Q1F	AG	57	242 - 281	18
Tsc17	TCTGATAATAAAGCAAGGACCTCA	TTAGACCCAATAGGCCCAAAT	Q4F	AG	57	242 - 280	12
Tsc18	GAGGGACTATGGAGGATAACG	AAAGCAATAAAGCGATTAGAGAAA	Q3F	AAC	57	240 - 306	/
Tsc19	CGATAAAGTTCCCTCAGGCT	CCTAATAACAGTAGTAATTCACCCCA	Q2F	AG	57	91 - 132	27
Tsc24	TGGACGGGTGAGGATGTT	CAATGTTTCTTGAAAGTGCCC	Q3F	AG	57	163 - 227	44

Détail des séquences des queues fixant les 4 fluorochromes sur les amorces utilisée lors de l'amplification des marqueurs microsatellites de *T. scleroxylon* :

FAM	Q1	TGTAAAACGACGGCCAGT	18
NED	Q2	TAGGAGTGCAGCAAGCAT	18
VIC	Q3	CACTGCTTAGAGCGATGC	18
PET	Q4	CTAGTTATTGCTCAGCGGT	19

Table des figures

FIGURE 1 : À GAUCHE : 1. BASE DU FUT ; 2. RAMEAU EN FLEURS ; 3. FRUIT DE L'ESPECE TRIPLOCHITON SCLEROXYLON, REDESSINE ET ADAPTE PAR ISKAK SYAMSUDIN (SOURCE INTERNET : HTTPS://USES.PLANTNET-PROJECT.ORG/FR/TRIPLOCHITON_SCLEROXYLON_(PROTA)) ET A DROITE PHOTO D'UNE INFLORESCENCE DE L'ESPECE TRIPLOCHITON SCLEROXYLON CAPTUREE A PARTIR DES ENREGISTREMENTS VIDEO FAIT PAR ORIANA BASSIN POUR L'ETUDE DES POLLINISATEURS (CAMERA PI3, LE 22/03/2019 A 17:54:13).	16
FIGURE 2 : A) CARTE DE LA REPARTITION DES INDIVIDUS DE L'ESPECE TRIPLOCHITON SCLEROXYLON ECHANTILLONNES DANS DIFFERENTES REGIONS DU CAMEROUN QUI ONT SERVI A L'ANALYSE A LARGE ECHELLE. LA COLLECTE DE CES ECHANTILLONS N'A PAS ETE FAITE DANS LE CADRE DE CETTE ETUDE. B) PARCELLE DE 400 HECTARES INVENTORIEES DE MANIERE EXHAUSTIVES POUR LES INDIVIDUS (T. SCLEROXYLON) DE DIAMETRE > 10 CM ET DE MANIERE NON EXHAUSTIVE POUR LES INDIVIDUS DE DIAMETRE < 10 CM. CHAQUE POINT REPRESENT UN INDIVIDU DIFFERENT, LES LIGNES NOIRES REPRESENTENT LES ZONES DE MARECAGES.	18
FIGURE 3 : DIAGRAMME OMBROTHERMIQUE DE LA REGION DE L'EST DU CAMEROUN.....	20
FIGURE 4 : PHOTO PRISE LORS DU MARQUAGE A LA PEINTURE DU CODE GENETIQUE D'UN INDIVIDU PAR UN PROSPECTEUR.....	24
FIGURE 5 : PHOTO D'UN ECHANTILLON DE TRIPLOCHITON SCLEROXYLON, LIMBE FOLIACE.	24
FIGURE 6 : PHOTO PRISE LORS DE LA COLLECTE DU MATERIEL VEGETAL D'UN ARBRE (KOSSIPO) AU MOYEN D'UNE MACHETTE PAR UN PROSPECTEUR ET MOI-MEME, STOCKAGE DE CELUI-CI DANS UNE ENVELOPPE EN PAPIER.	24
FIGURE 7 : PHOTO MONTRANT LA MESURE DU DBH D'UN ARBRE A L'AIDE D'UN RUBAN DIAMETRIQUE PAR UN PROSPECTEUR.	24
FIGURE 8 : PARCELLE GENETIQUE DE 400 HECTARES ET RESULTATS DE L'INVENTAIRE POUR LES ESSENCES D'INTERET.. CHAQUE COULEUR REPRESENT UNE ESPECE ET CHAQUE POINT UN INDIVIDU DIFFERENT (EN VERT LE BILINGA, EN BLEU FONCE LE KOSSIPO, EN ROSE L'OKAN, EN BLEU CLAIR L'IROKO ET EN ORANGE L'AYOUS). LES LIGNES BLEUES MONTRENT LES ZONES DE MARECAGES OU RIVIERES ET LES LIGNES ROUGES DISCONTINUES MONTRENT LES ROUTES. LES LIGNES HORIZONTALES ILLUSTRENT LES LAYONS QUI ONT ETE OUVERTS POUR L'ETUDE.	25
FIGURE 9 : EXEMPLE D'UN ELECTROPHEROGGRAMME OBTENUS LORS DE LA LECTURE DU 'MIX' 1 DE TRIPLOCHITON SCLEROXYLON, LUS A L'AIDE DU LOGICIEL GENEIOUS TRIAL 7.1.3. L'AXE VERTICAL CORRESPOND A L'INTENSITE DU SIGNAL (UNITE D'INTENSITE DE FLUORESCENCE) ET L'AXE HORIZONTAL CORRESPOND A LA DISTANCE DE MIGRATION (LA TAILLE) DES FRAGMENTS D'ADN (UNITE EN PAIRE DE BASE) DANS LES CAPILLAIRES DU SEQUENCEUR. LES PICS REPRESENTENT LES DIFFERENTS ALLELES ET LES COULEURS CORRESPONDENT AUX QUATRE FLUOROCHROMES UTILISES POUR DIFFERENCIER LES MARQUEURS MICROSATELLITES.	28
FIGURE 10 : PARCELLE GENETIQUE DE 400 HA ET RESULTAT DE L'ECHANTILLONNAGE DE T. SCLEROXYLON, CHAQUE COULEUR REPRESENT UNE CLASSE DE DIAMETRE ET CHAQUE CERCLE REPRESENT UN INDIVIDU. LE PERIMETRE DELIMITE PAR UNE LIGNE ROUGE AU CENTRE INDIQUE LA ZONE D'ANALYSE GENETIQUE DE 100 HA POUR LAQUELLE TOUS LES INDIVIDUS (GRAINES, JUVENILES ET ADULTES) ONT ETE GENOTYPES.	36
FIGURE 11 : DISTRIBUTION DES CLASSES DE DIAMETRES DES INDIVIDUS DE LA PARCELLE DE 400 HA. TOUS LES INDIVIDUS DE PLUS DE 10 CENTIMETRES DE DIAMETRE SONT ECHANTILLONNES DE MANIERE EXHAUSTIVE. L'UNITE DU DIAMETRE EST LE CENTIMETRE.....	37
FIGURE 12 : STRUCTURE GENETIQUE SPATIALE DE LA POPULATION DE LA PARCELLE (100 HA) BASEE SUR LES MOYENNES DES COEFFICIENTS DE PARENTE ENTRE INDIVIDUS EN FONCTION DE LA DISTANCE SPATIALE LES SEPARANT (CLASSES DE DISTANCE PREDEFINIES). LES ERREURS TYPES SONT OBTENUES PAR JACKKNIFE SUR LES LOCI.	41
FIGURE 13 : STRUCTURE GENETIQUE SPATIALE AU SEIN DE CHAQUE COHORTE DE LA POPULATION DE LA PARCELLE (100 HA). LES SGS SONT CALCULEES POUR LES INDIVIDUS AU SEIN DES CATEGORIES ADULTES (DBH $\geq$ 20 CM), JEUNES ADULTES (10 $\leq$ DBH $\leq$ 20 CM), PLANTULES (DBH < 10 CM) ET GRAINES. LES CALCULS DE LA SGS SE BASENT SUR LES MOYENNES DES COEFFICIENTS DE PARENTE ENTRE INDIVIDUS EN FONCTION DE LA DISTANCE SPATIALE LES SEPARANT (CLASSES DE DISTANCE PREDEFINIES). LES ERREURS TYPES SONT OBTENUES PAR JACKKNIFE SUR LES LOCI.....	41
FIGURE 14 : GRAPHIQUE 2D REPRESENTANT LE NOYAU DE DISPERSION DES GRAINES DE T. SCLEROXYLON SUR LA PARCELLE DE 100 HECTARES EN CENTRANT LES COORDONNEES GEOGRAPHIQUE (LONGITUDE ET LATITUDE) DE CHAQUE MERE A (0,0). NE SONT REPRISES QUE LES DISTANCES ENTRE LA GRAINE ET LA MERE) SI LA PROBABILITE DE GENEALOGIE EST $\geq$ 80%. L'UNITE EST LE METRE.	44
FIGURE 15 : GRAPHIQUE 2D REPRESENTANT LE NOYAU DE DISPERSION DU POLLEN DE T. SCLEROXYLON SUR LA PARCELLE DE 100 HECTARES. LES POINTS ILLUSTRENT LES DISTANCES GEOGRAPHIQUES SEPARANT LES DEUX PARENTS AVEC LES COORDONNEES SPATIALES (LONGITUDE ET LATITUDE) DE CHAQUE PERE CENTREES A (0;0). NE SONT REPRISES QUE LES GENEALOGIES DE PROBABILITE $\geq$ A 80%. L'UNITE EST LE METRE.	45
FIGURE 16 : DISTRIBUTION DES CLASSES DE DIAMETRES CHEZ LES ADULTES (CLASSES DBH ADULTES) DE LA PARCELLE DE 100 HECTARES ET DISTRIBUTION DES DIAMETRES DES PERES (CLASSES DBH Fa1) ET DES MERES (CLASSES DBH Mo1) PROPORTIONNELLEMENT	

AU NOMBRE DE DESCENDANTS IDENTIFIES AVEC UNE PROBABILITE DE $\geq 80\%$. LE DIAMETRE MINIMAL D'EXPLOITATION (DME) EST INDIQUE PAR LA DROITE DISCONTINUE.	48
FIGURE 17 : DISTRIBUTION DES INDICES DE DAWKINS (OU INDICE DE DOMINANCE DANS LA CANOPEE) DES INDIVIDUS ADULTES (« DOMINANCE ADULTES » EN BLANC) ET JUVENILES (« DOMINANCE JUVENILES » EN NOIR) DE LA PARCELLE DE 100 HECTARES AINSI QUE CELLE DES PERES (« DOMINANCE FA1 » EN GRIS FONCE) ET DES MERES (« DOMINANCE MO1 » EN GRIS CLAIR) PROPORTIONNELLEMENT AU NOMBRE DE DESCENDANTS IDENTIFIES AVEC UNE PROBABILITE DE $\geq 80\%$. L'ATTRIBUTION DES INDICES SE BASE SUR LE DOCUMENT "DAWKINS CROWN ILLUMINATION INDEX" (VOIR ANNEXE 2).	49
FIGURE 18 : À GAUCHE : ARRET SUR IMAGE MONTRANT LA VISITE D'UN HYMENOPTERE SUR LE FOCAL 2 (EMPLACEMENT DE LA FLEUR) CAPTURE PAR LE PIEGE VIDEO NUMERO 3 (PI3), LE 22 MARS 2019 A 13:57:46. À DROITE : ARRET SUR IMAGE MONTRANT LA VISITE D'UN LEPIDOPTERE SUR LE FOCAL 3 (EMPLACEMENT DE LA FLEUR) CAPTURE PAR LE PIEGE VIDEO NUMERO 1 (PI1), LE 22 MARS 2019 A 05:02:17.	50
FIGURE 19 : PATTERN D'ACTIVITE DES HYMENOPTERES (A GAUCHE) ET DES LEPIDOPTERES (A DROITE), TELS QUE CAPTURE PAR LES DISTRIBUTIONS DES ENREGISTREMENTS. LES LIGNES SOUS FORME DE MARCHES SONT LES FREQUENCES OBSERVEES, LES COURBES CONTINUES SONT LES DISTRIBUTIONS DU NOYAU CIRCULAIRE ET LES COURBES DISCONTINUES REPRESENTENT LES INTERVALLES DE CONFIANCE AUX DISTRIBUTIONS DU NOYAU CIRCULAIRE.	50
FIGURE 20 : PARCELLE GENETIQUE DE 100 HECTARES SUR LAQUELLE SONT REPRESENTES LES INDIVIDUS ECHANTILLONNES (PETITS POINTS NOIRS), LES JUVNILES IMMIGRANTS (CERCLE NOIR) ET LES GRAINES IMMIGRANTES (GROS POINTS NOIRS). LE STATUT D'IMMIGRANT" EST ASSIGNES PAR LE LOGICIEL NM π AVEC UNE PROBABILITE DE 80%. LA FIGURE ILLUSTRE BIEN L'EFFET DE BORD, ON VOIT QU'UNE PARTIE NON NEGLIGEABLE DES INDIVIDUS CONSIDERES COMME IMMIGRANTS SE TROUVE PROCHE DES BORDS DE LA PARCELLE.	69
FIGURE 21 : DOCUMENT A PARTIR DUQUEL ONT ETE ATTRIBUE LES INDICES DE DAWKINS. CES INDICES PERMETTENT D'ASSIGNER A UN ARBRE UN STATUT DECRIVANT SA PLACE DANS LA CANOPEE (ALLANT DE 1 A 5).	70

Table des Tableaux

TABEAU 1 : RESULTATS DE L'ECHANTILLONNAGE EXHAUSTIF POUR LES DBH>10CM ET NON EXHAUSTIF POUR LES DIAMETRES < 10 CM DE L'ESPECE T. SCLEROXYLON SUR LA PARCELLE DE 400 HECTARES DE L'UFA 10.051.	35
TABEAU 2 : DIVERSITE ET CONSANGUINITE OBSERVEE EN CHAQUE LOCUS (N=17) POUR LA POPULATION DE LA PARCELLE DE 100 HECTARES (N=902). LE POURCENTAGE DE GENOTYPES MANQUANTS ("MANQUANT"), LE NOMBRE D'ALLELES PAR LOCUS ("NA"), L'HETEROZYGOTIE CORRIGEE POUR LA TAILLE DE L'ECHANTILLON ("He"), L'HETEROZYGOTIE OBSERVEE ("Ho"), LE COEFFICIENT DE CONSANGUINITE ("Fi"), LES VALEURS DE P POUR Fi ("Pval", APRES UN TEST DE PERMUTATION DE 999 RANDOMISATIONS DE COPIES DE GENES) CALCULE PAR SPAGEDi ET LE TAUX D'ALLELES NULS ("AO") ESTIME PAR INEST SONT REPRIS.	38
TABEAU 3 : DIVERSITE ET CONSANGUINITE MULTILOCUS POUR L'ANALYSE DE LA POPULATION A LARGE ECHELLE. LE NOMBRE D'INDIVIDUS PRESENTS DANS LA POPULATION ETUDIEE ("TAILLE DE L'ECHANTILLON"), LE POURCENTAGE DE GENOTYPES MANQUANTS ("MANQUANT"), LE NOMBRE D'ALLELES PAR LOCUS ("NA"), L'HETEROZYGOTIE CORRIGEE POUR LA TAILLE DE L'ECHANTILLON ("He"), L'HETEROZYGOTIE OBSERVEE DANS LA POPULATION ("Ho"), LE COEFFICIENT DE CONSANGUINITE ("Fi") ET LA VALEUR DE Fi CORRIGEE POUR LES ALLELES NULS ET LES ERREURS DE GENOTYPAGE (ESTIMEE PAR INEST) SONT REPRIS.	40
TABEAU 4 : RESULTATS DES CALCULS DU TAUX D'IMMIGRATION DES GRAINES ET DU POLLEN (MS/MP), DU TAUX D'AUTOFECONDATION (S) ET DE LA FORME (BS/BP), L'ANISOTROPIE (KS/KP) ET LA DIRECTION (AS/AP) DE LA DISPERSION DU POLLEN ET DES GRAINES. LES DISTANCES DE DISPERSION SONT ESTIMEES EN METRES (DS/DP) ET LES GRADIENTS DE SELECTION PERMETTANT DE TESTER L'EFFET DES CARACTERES PHENOTYPIQUES SUR LE SUCCES REPRODUCTEUR SONT REPRESENTES PAR GAMMA ET BETA (G/B).	43