

Campus du Solbosch CP 165/05  
Avenue F.D. Roosevelt 50  
1050 Bruxelles  
T : +32 (0)2 650 29 03  
M : eib@admin.ulb.ac.be

œ ÉTUDE DE LA DISPERSION DES GRAINES ET DU POLLEN  
CHEZ *ENTANDROPHRAGMA ANGOLENSE* (TIAMA BLANC)  
ET IMPLICATIONS POUR UNE EXPLOITATION DURABLE DES  
FORÊTS NATURELLES DU BASSIN DU CONGO œ

Directeur :  
Olivier Hardy

Service :  
Évolution Biologique et Écologie

Mémoire de fin d'études présenté en vue de  
l'obtention du diplôme de Master en  
bioingénieur sciences et technologies de  
l'environnement par  
Alice Vingerhoets (Août 2018)  
Année académique 2017-2018

# REMERCIEMENTS

---

Je tiens à remercier Oliver Hardy mon promoteur qui m'a permis de réaliser ce mémoire, qui a relu mon mémoire et m'a soutenu avec un petit mot d'encouragement. Je voudrais également remercier Franck Monthé, doctorant au service EBE qui a supervisé mon mémoire du début à la fin, l'a relu plusieurs fois et m'a aidé dans certaines manipulations de laboratoire. Je souhaite aussi remercier Ezra, Laurent, Jérémy et Dieu-Merci pour leur aide lors des manipulations en laboratoire. Je remercie également les membres du service EBE pour leurs encouragements chaque fois qu'ils passaient devant le local des mémorants. Je tiens aussi à remercier mes collègues mémorants biologistes du service EBE pour leurs encouragements, leur soutien et leur accueil convivial de la seule mémorante bioingénieur du service. Je remercie aussi ma famille, mes proches, mes amis et mon entourage pour leur soutien.

## RÉSUMÉ

---

Dans un contexte d'exploitation forestière importante au sein du Bassin du Congo les espèces exploitées sont potentiellement vulnérables aux conséquences liées à cette activité. Il est dès lors important de connaître la biologie de reproduction des dites espèces, les capacités de dispersion du pollen et des graines, l'impact des paramètres biologiques ou écologiques, le diamètre à hauteur de poitrine ou le statut de dominance pour définir au mieux les seuils d'exploitations (diamètre minimum d'exploitabilité, densité d'individus à conserver) afin de maintenir leur régénération et leur diversité génétique et donc leur gestion durable.

*Entandrophragma angolense*, classé vulnérable par IUCN, est une espèce commerciale exploitée dans la forêt Africaine pour la qualité de son bois. L'objectif de ce travail est donc d'apporter des informations sur les flux de gènes et de caractériser la biologie reproductive de cette espèce, dans une population du nord de la République du Congo. En effet ces informations permettront de promouvoir une gestion durable de l'espèce. Ces estimations ont été réalisées à partir de marqueurs microsatellites et des données spatiales pour tous les individus de la population. Les résultats montrent que les distances de dispersion respectives des graines (ds) et du pollen (dp) sont en moyenne de 268m (SE : 0.837) et 622m (SE : 0.267). La structure génétique spatiale est significative jusque 500m. L'espèce présente un faible taux d'autofécondation (0.013 ; SE : 0.007). Il n'y a pas de signal de dépression de consanguinité (0.007; SE : 0.041) ni de consanguinité bi-parentale (0.156; SE : 0.109). Le diamètre a un effet sur le succès reproducteur mâle (1.080; SE : 0.088) et femelle (0.931; SE : 0.137). Le statut dominant a un effet sur le succès reproducteur femelle (-0.684 ; SE : 0.242) mais pas sur celui des mâles (-0.249 ; SE : 0.173). Par ailleurs, le type de sol n'a pas d'effet sur les succès reproducteur mâle (-0.103 ; SE : 0.056) ou femelle (-0.065 ; SE : 0.083). L'analyse du succès reproducteur montre en revanche que la classe de DBH 90cm-100cm est celle qui produit le plus de graines et de pollen.

Ces résultats suggèrent que la diversité génétique de l'espèce sur l'échantillonnage effectué n'est pas atteinte (pas de consanguinité et pas d'autofécondation). De plus il faudrait augmenter le diamètre minimum d'exploitabilité à 100cm afin d'épargner les arbres semenciers. En outre, il serait judicieux de conserver une densité supérieure à 1 pieds reproducteurs tous les 600m vu la distance moyenne de dispersion du pollen (622m).

## ABSTRACT

---

In a context of significant logging in the Congo Basin, exploited species are potentially vulnerable to the consequences of this activity. It is therefore important to know the reproductive biology of these species, the dispersal capacities of pollen and seeds, the impact of biological or ecological parameters, diameter at breast height or dominance status to best define thresholds of exploitation (minimum exploitability diameter, density of individuals to conserve) in order to maintain their regeneration and their genetic diversity and thus their sustainable management.

*Entandrophragma angolense*, classified vulnerable by IUCN, is a commercial species exploited in the African forest for the quality of its wood. The objective of this work is therefore to provide information on gene flows and to characterize the reproductive biology of this species in a population in the north of the Republic of Congo. Indeed, this information will promote sustainable management of the species. These estimates were made from microsatellite markers and spatial data for all individuals in the population. The results show that the respective dispersal distances of seeds (ds) and pollen (dp) are on average 268m (SE: 0.837) and 622m (SE: 0.267). The spatial genetic structure is significant up to 500m. The species has a low self-pollination rate (0.013, SE: 0.007). There is no signal of consanguinity depression (0.007, SE: 0.041) or bi-parental consanguinity (0.156, SE: 0.109). Diameter influences male (1.080, SE: 0.088) and female (0.931, SE: 0.137) reproductive success. Dominant status influences female reproductive success (-0.684, SE: 0.242) but not on males (-0.249, SE: 0.173). In addition, the soil type has no effect on male (-0.103, SE: 0.056) or female (-0.065, SE: 0.083) reproductive success. On the other hand, the analysis of reproductive success shows that the DBH 90cm-100cm class produces the most seeds and pollen.

These results suggest that the genetic diversity of the species on the sampling carried out is not damaged (no consanguinity and no inbreeding). In addition, the minimum exploitability diameter should be increased to 100cm to save seed trees. Furthermore, it would be wise to maintain a density greater than 1 tree every 600m given the average dispersal distance of pollen (622m).

# TABLE DES MATIÈRES

---

---

Remerciements.....	
Résumé.....	
Abstract.....	
Table des matières.....	
Page d'abréviations.....	
1 Introduction.....	1
1.1 Le Bassin du Congo en bref.....	1
1.2 Le type d'exploitation.....	1
1.2.1 Les conséquences de l'exploitation forestière.....	2
1.3 Intérêts de l'étude de la dispersion des graines et du pollen.....	2
1.4 Les flux de gènes.....	3
1.5 Présentation de <i>E. angolense</i> .....	4
2 Objectif du mémoire.....	7
3 Matériels et méthodes.....	8
3.1 Échantillonnage sur le terrain.....	8
3.1.1 Les échantillons de feuilles, cambium et graines.....	8
3.1.2 Les échantillons de sol, mesure du DBH et évaluation du statut.....	9
3.2 Travail en laboratoire.....	10
3.2.1 Extraction de l'ADN.....	10
3.2.2 Amplification et analyse de l'ADN.....	10
3.2.3 Lecture des génotypes avec Geneious.....	11
3.3 Analyse des résultats.....	12
3.3.1 Distance de dispersion des graines et du pollen.....	12
3.3.2 Analyse du système reproducteur.....	15

3.3.3	Analyse du succès reproducteur .....	15
3.3.4	Structure génétique spatiale .....	15
4	Résultats .....	16
4.1	Distance de dispersion des graines et du pollen.....	16
4.2	Analyse du système reproducteur.....	19
4.3	Analyse du succès reproducteur .....	21
4.4	Structure génétique spatiale.....	25
5	Discussions des résultats et conclusions générales.....	27
5.1	Flux de gènes.....	27
5.2	Système reproducteur et structure génétique spatiale .....	28
5.3	Succès reproducteur .....	29
5.4	Conséquences pour une gestion durable de l'espèce.....	31
6	Références .....	

## PAGE D'ABRÉVIATIONS

---

DBH : diamètre à hauteur de poitrine

DME : diamètre minimum d'exploitabilité

DMF : diamètre minimum de fructification

DFR : diamètre de fructification régulière

# 1 INTRODUCTION

---

## 1.1 LE BASSIN DU CONGO EN BREF

Le Bassin du Congo s'étend sur 530 millions ha et avec ses 300 millions ha de forêts il représente à lui seul 70% des forêts d'Afrique (Tchatchou et al., 2015). C'est également la deuxième plus grande forêt tropicale au monde, après l'Amazonie (Tsayem & Fotsing, 2004 ; cités par Tchatchou et al., 2015). Les pays du Bassin du Congo sont le Gabon, la République du Congo, la République Démocratique du Congo, la République Centrafricaine, le Cameroun, la Guinée équatoriale (Atyi et al., 2009 ; cités par Tchatchou et al., 2015). Ces forêts jouent un rôle important pour les populations notamment sur le plan médicinale ou encore comme source de nourriture pour les locaux (Bonan, 2011; Saatchi et al., 2011 ; cités par Ernst et al., 2013 ; Donkpegan et al., 2014). En effet, certaines essences tels que le genre *Afzélia* jouent « une rôle culturel et mystique non négligeable » (Donkpegan et al., 2014). De plus, les fleurs, les graines et les feuilles d'*Afzélia bella* sont utilisées dans la cuisine locale (Donkpegan et al., 2014).

Sur le plan économique, l'exploitation forestière en Afrique centrale représente entre 0.22 et 6% du PIB en fonction des pays (données de 2003 à 2009). Par exemple, en 2004, au Congo, elle représentait 5.6 % du PIB (Bayol et al., 2010). Effectivement, sur les 34 200 000 ha (Tchatchou et al., 2015) que représente la superficie du Congo, plus de 12 000 000 ha des 17 000 000 ha de forêt sont exploités (Bayol et al., 2010). Cette activité génère un grand nombre d'emplois, près de 7500 emplois directs en 2007 dans ce pays (Bayol et al., 2010).

La forêt joue également un rôle de stockage du CO<sub>2</sub> (Bonan, 2011; Saatchi et al., 2011, cités par Ernst et al., 2013). Mais aussi elle est représentée une grande biodiversité animale et végétale (Kamdem-Toham et al., 2006 ; cités par Ernst et al., 2013)

## 1.2 LE TYPE D'EXPLOITATION

En Afrique centrale, ce sont essentiellement les concessions forestières qui gèrent les forêts mais c'est l'État qui définit les normes de gestion, qui approuve les choix de gestions et vérifie leur application (Bayol et al., 2010). Le mode d'exploitation est sélectif (Mbambu, 2009) et les délimitations des possibilité de coupe annuelles (AAC Annual Allowable Cut) son rotatives au sein des Unités Forestières d'Aménagement (De Madron et al., 2011). Par exemple, Durrieu de Madron et al. (1997); cité par Donkpegan et al.(2014) dans sa synthèse bibliographique sur le genre *Afzélia*,



explique que la législation forestière détermine 3 éléments pour permettre un renouvellement de l'espèce. En effet, le choix (i) du diamètre minimum d'exploitation (DME) doit permettre (ii) une régénérescence de l'espèce de 40 à 50% sur (iii) la durée établie entre deux rotations (Donkpegan et al., 2014). Une rotation est « la durée entre deux coupes sur une même parcelle » (Donkpegan et al., 2014).

Plusieurs types d'exploitation existent allant de l'aménagement conventionnel à l'exploitation durable (De Madron et al., 2011). En effet De Madron et al. (2011) simplifie les types d'exploitation à trois modes : (i) exploitation sans aménagement (ii) avec aménagement ou (iii) avec aménagement à faible impacte (diminution des dégâts collatéraux causés lors de l'abattage). Les exploitations aménagées peuvent être de différents types : « de conservation, de protection, rurale/agroforestière/communautaire/agricole et de production » (De Madron et al., 2011). L'exploitation de la forêt sans aménagement a un impact négatif sur le potentiel de stockage de carbone dans la biomasse forestière (prélèvement d'arbres, dégâts collatéraux), il y a donc des pertes de carbone puisqu'il manque des arbres pour le stocker (De Madron et al., 2011)

### **1.2.1 Les conséquences de l'exploitation forestière**

L'exploitation forestière a un impacte sur la densité des espèces exploitée ( Monthé et al., 2017) et donc sur la diversité génétique (Hawthorne, 1998) et sur la régénération des espèces exploitées (Donkpegan et al., 2014). En effet une diminution de densité peut avoir un effet sur le succès reproducteur (Aguilar et al., 2008; Eckert et al., 2010 ; cités par Duminil et al., 2016), sur la régénération de l'espèce en terme d'arbre produisant des graines (De Madron & Daumerie, 2004) et sur le mode de reproduction en augmentant les autofécondations (Duminil et al., 2016). De plus, l'autofécondation peut entrainer un taux de mortalité plus élevé des semis à cause de phénomène de dépression de consanguinité (Charlesworth and Charlesworth, 1987; Duminil et al., 2009; cité par Duminil et al., 2016)

Ainsi, il est primordial d'obtenir des informations permettant une meilleure gestion de l'exploitation forestière et dans ce cas précis sur celle d'*Entandrophragma*.

## **1.3 INTÉRÊTS DE L'ÉTUDE DE LA DISPERSION DES GRAINES ET DU POLLEN**

De nombreuses études décrivent le manque de connaissance sur l'écologies reproductives des espèces exploitées et donc le manque de données permettant d'établir un DME propice à une exploitation durable de ces espèces (Biwolé, et al., 2012; Duminil et al., 2016; Kasongo Yakusu et al., 2018; Medjibe & Hall, 2002)

Pour pouvoir choisir le DME optimal pour la régénération et le maintien de la diversité génétique de l'espèce il faut connaître tous les paramètres intervenant dans sa reproduction et sa régénération (Donkpegan et al., 2014). De plus, « chaque espèce possède des caractéristiques particulières » (Duminil et al., 2016) donc il est important de connaître au mieux chacune des espèces exploitées.

Les paramètres suivants sont importants à connaître afin d'atteindre ces objectifs (Monthé et al., 2017):

- distance de dispersion des graines et du pollen
- le lien entre le diamètre de l'arbre et le succès reproducteur
- le système de reproduction et mécanismes produisant des juvéniles consanguins

## 1.4 LES FLUX DE GÈNES

Afin d'étudier les flux de gènes d'une espèce, il faut pouvoir identifier les liens de parentés entre les juvéniles et les adultes reproducteurs. Ainsi, les marqueurs génétiques choisis sont les microsatellites (SSR, Single Sequence Repeats, Jacob et al., 1991 ; cité par Ashley, 2010) ils se sont révélés être efficaces pour retrouver ces liens de parenté (Ashley, 2010). En effet, ces zones de l'ADN subissent beaucoup de mutations et sont donc très variables, permettant ainsi d'assigner des parents à des juvéniles (Ashley, 2010).

Afin de trouver les liens de parenté à partir des séquences microsatellites génotypées chez les arbres adultes et les juvéniles, un logiciel (NM $\pi$  (Chybicki, 2018)) utilisant le modèle neighbourhood (modèle de Adams & Birkes, 1991; cité par Chybicki, 2018) a été utilisé. En effet, le neighbourhood model estime une probabilité de généalogie entre des juvéniles et des parents potentiels, à partir de leur génotype et de leurs coordonnées spatiales (et d'informations phénotypiques sur les parents le cas échéant) (Adams & Birkes, 1991; Burczyk, Adams, Birkes, & Chybicki, 2006; Burczyk, Adams, & Shimizu, 1996; Oddou-Muratorio, Klein, & Austerlitz, 2005 ; cité par Chybicki, 2018). Le modèle neighbourhood considère que le pollen est soit issu de l'arbre mère (autofécondation de probabilité  $s$ ), soit d'un arbre situé dans le voisinage de l'arbre mère (probabilité  $w$ ) soit d'un arbre situé en dehors de ce voisinage (probabilité  $1-s-w$ ) (Adams, 1992)

De plus, l'étude de la structure génétique spatiale (logiciel SPAGeDI (Hardy & Vekemans, 2002)) par comparaison de paires d'individus par classe de distance, permet de mettre en évidence leur apparentement et leur distance spatiale (Hardy & Vekemans, 2002). Ainsi il est possible de détecter une isolation par la distance (Hardy & Vekemans, 2002).

L'étude des flux de gènes permet d'identifier la distance de dispersion des graines et du pollen, des paramètres liés à leurs dispersions, le système reproducteur, le succès reproducteur et la structure génétique spatiale l'étude des arbres. Donc, l'études des flux de gènes permet de déduire l'état de la population (consanguinité), sa capacité de régénération (sans prendre en compte les facteurs sol, parasites), d'estimer un diamètre minimum d'exploitabilité et la densité d'arbre reproducteur à conserver pour la régénération et le maintien de la diversité génétique.

## 1.5 PRÉSENTATION DE *E. ANGOLENSE*

*E. angolense* est un arbre de la famille des Meliaceae. Il peut atteindre 50 à 60 m de haut et atteindre jusque 2m de diamètre. Ses graines sont ailées et se dispersent par le vent. Le mode de pollinisation n'est pas connu (Tchinda, 2008). *E. angolense* est distribué dans le Bassin du Congo mais aussi dans les pays suivant : Guinée, Sierra Leone, Liberia, Côte d'Ivoire, Ghana, Nigeria, Angola, Ouganda, Sud Soudan, l'ouest du Kenya, (Hassler, 2018) (Cfr. **Figure 1**).

*E. angolense* est intéressant d'un point de vue économique pour l'exploitation de son bois précieux (Kasongo Yakusu et al., 2018). Cependant, l'exploitation de *E. angolense* menace sa pérennité. En effet, il est classé « vulnérable » par Hawthorne (1998), car, entre autres, son exploitation appauvrit son patrimoine génétique (Hawthorne, 1998; Kasongo Yakusu et al., 2018). Selon Tchinda (2008) le taux d'exploitation de *E. angolense* varie entre 1 arbre de plus de 60 cm par 15 ha (Cameroun) à 1 par 34 ha ( Liberia) avec des volumes exploités de 0.05m<sup>3</sup>/ha ( Gabon) à 0.55m<sup>3</sup>/ha.

De plus, la régénération d'*E. angolense* subi un fort taux de mortalité et aucune technique de sylviculture n'a ce jour été concluante (Kasongo Yakusu et al., 2018). En effet, Kasongo Yakusu et al. (2018) explique que « *La faiblesse du pouvoir germinatif des graines des Entandrophragma (de la Mensbruge, 1966), leur prédation (Louis & Fouarge, 1947 ; de la Mensbruge, 1966), une fructification quelque peu imprévisible au cours d'une année (Hall, 2011), une floraison qui semble rythmique supra-annuelle avec des années de meilleure fructification (Gillet et al., 2008) sont autant de raisons pouvant expliquer qu'il est rare de rencontrer une abondante régénération naturelle des Entandrophragma. Cette rareté de la régénération naturelle varie d'une espèce d'Entandrophragma à l'autre, mais elle est presque générale à toutes les espèces du genre (Lemmens, 2008).* »

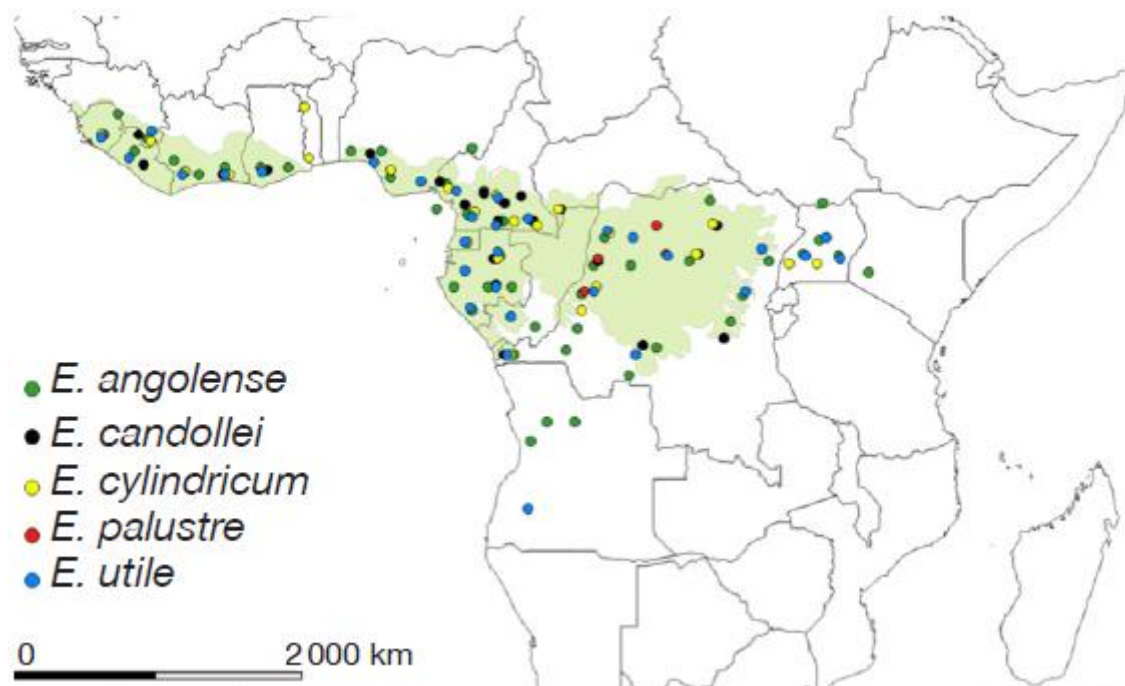


Figure 1. Répartition géographique d'*E. angolense*, *E. candollei*, *E. cylindricum*, *E. palustre* et *E. utile*. Carte issue de Kasongo Yakusu et al. (2018) (carte adaptée d'après la base de données des Conservatoires et Jardin Botaniques de la Ville de Genève).

Des études sur *E. candollei* (Vanderhoeven, 2017) et *E. cylindricum* (Monthe et al., 2017) ont déjà été réalisées récemment ainsi les résultats obtenu pour *E. angolense* seront donc comparés avec ceux ces deux autres espèces, car elles appartiennent aux même genre.

Les *Entandrophragma* sont tous anémochores (Louis & Fouarge, 1947 ; Medjibe & Hall, 2002 ; Poorter et al., 2004 ; Doucet et al., 2016 ; cités par Kasongo Yakusu et al., 2018). Leurs graines sont des samares qui sont dispersées par le vent. Cependant, les distances de dispersion maximales ne sont pas encore bien connues (Kasongo Yakusu et al., 2018). De plus, le mode de pollinisation n'est pas connu non plus. Des trois espèces comparées, c'est *E. angolense* qui est la plus petite (max 50m avec 1.5m de diamètre) suivi par *E. candollei* (60m, 3m) et *E. cylindricum* (60m, 2m) (Kasongo Yakusu et al., 2018). C'est trois espèces sont caducifoliées et la production de fleurs et de graines n'est pas régulière (Kasongo Yakusu et al., 2018).

Les espèces qui sont exploitées dans le genre *Entandrophragma* sont : *Entandrophragma utile* (Sprague, Sipo), *Entandrophragma candollei*, (Kossipo), *Entandrophragma angolense* (Tiama blanc), *Entandrophragma congolense* (Tiama noir) et *Entandrophragma cylindricum* (Sprague) (Tabi et al., 2017).

Le diamètre minimum de fructification DMF de *E. angolense* a été déterminé de 50 à 55cm selon les études (en République Centrafricaine), le DFR à 85cm (en Ouganda) et le DME varie entre 60cm (en Côte d'Ivoire) et 110cm (au Ghana) (Kasongo Yakusu et al., 2018) (Tchinda, 2008). Les DMF,

DFR et DME de *E. candollei* et *E. cylindricum*, sont respectivement de 40cm (en RCA), 85cm (en Ouganda), 60cm (en Côte d'Ivoire) à 110cm (au Ghana) et 35 à 55 cm selon les études (en République Centrafricaine), 75cm (au Gabon) à 85cm (en Ouganda) et de 60cm (en Côte d'Ivoire) à 110cm (au Ghana) (Kasongo Yakusu et al., 2018). Selon (Ouédraogo et al., 2018) *E. angolense*, se situe plutôt sous la canopée (10 arbres sur 14 étudiés), *E. candollei* est soit sous la canopée (13 arbres sur 31 étudiés) soit émergent (12 arbres sur 31 étudiés) idem pour *E. cylindricum*, 70 arbres étudiés sur 168 sont sous la canopée et 51 arbres sont au-dessus de la canopée).

Enfin, la synthèse bibliographique de Kasongo Yakusu et al. (2018) rappelle qu'afin d'assurer une exploitation durable et la viabilité du genre *Entandrophragma*, il est nécessaire d'étayer les connaissances sur divers points écologiques et génétiques, dont entre autre « l'amélioration de connaissances sur la dissémination et la fructification des espèces ».

C'est pourquoi le sujet de ce mémoire, « Étude de la dispersion des graines et du pollen chez *Entandrophragma angolense* (Tiama blanc) et implications pour une exploitation durable des forêts naturelles du Bassin du Congo », peut contribuer à la recherche pour la préservation de l'espèce *E. angolense*.

## 2 OBJECTIF DU MÉMOIRE

---

Les objectifs de ce mémoire sont :

- ☞ Estimer la distance de dispersion des graines et du pollen et les paramètres qui caractérisent la dispersion
  - \* En effectuant une analyse de parenté
- ☞ Analyser le système reproducteur
  - \* Recherche du taux d'autofécondation, du coefficient de consanguinité, du coefficient de consanguinité bi-parentale
- ☞ Analyser le succès reproducteur lié à différents paramètres phénotypiques (diamètre, type de sol, statut dans la canopée)
  - \* Recherche de ces paramètres sur le succès reproducteur
- ☞ Déterminer la structure génétique spatiale
  - \* Recherche de l'apparentement entre individus selon la distance
- ☞ Donner des conseils de gestions
  - \* En se basant sur les résultats obtenus

### 3 MATÉRIELS ET MÉTHODES

#### 3.1 ÉCHANTILLONNAGE SUR LE TERRAIN

##### 3.1.1 Les échantillons de feuilles, cambium et graines

Dans le cadre du projet de recherche AFRITIMB « reproduction et flux de gènes des arbres commerciaux d'Afrique - vers une gestion forestière durable » en collaboration avec le projet DynAffFor, des échantillons de graines, feuilles et cambium de *Entandrophragma angolense* ont été récoltés dans une parcelle de 600ha (2km sur 3km) à Loundoungou dans le Nord de la République du Congo (Cfr. **Figure 2**). Au sein de cette parcelle, les échantillons (feuilles et ou cambium) ont été collectés de façon systématique sur tous les individus par Franck Monthé entre avril et mai 2016. Les graines ont été collectées en novembre 2017 par Jean-Francois Gillet et Isaac Dzombo dans la partie centrale de cette même parcelle. Pour chaque individu ayant fructifié, en moyenne huit graines ont été collectées sous chaque individu. La **Figure 3** représente l'échantillonnage réalisé.

Au total, 580 graines au pied de 27 arbres, 44 semis ([0.5-3] cm de diamètre), 176 jeunes arbres ([3-10] cm de diamètre), 282 arbres intermédiaires ([10-20] cm de diamètre), 155 jeunes adultes, ([20-40] cm de diamètre) et 121 vieux adultes ([40- [cm de diamètre) ont été récoltés.

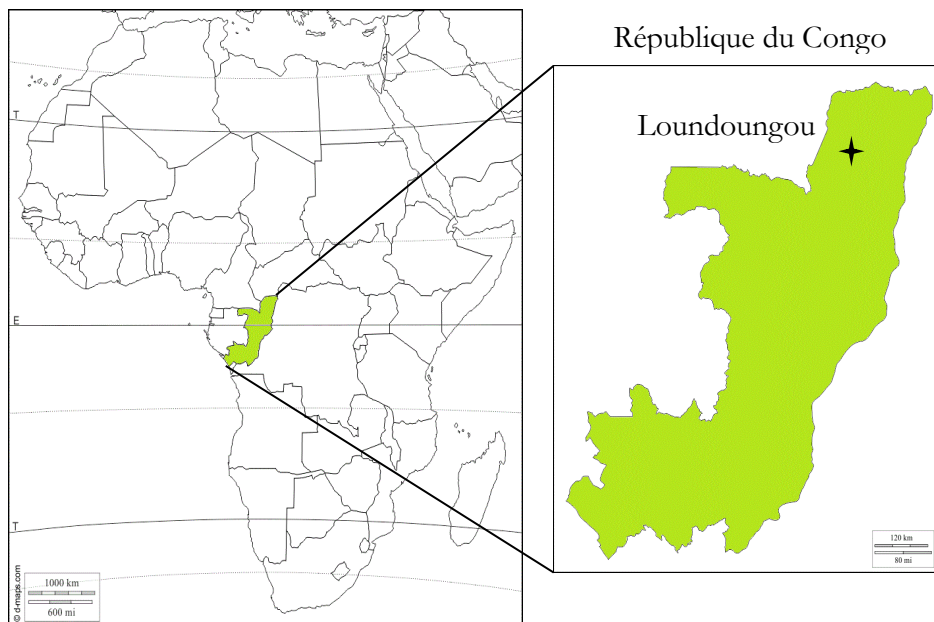
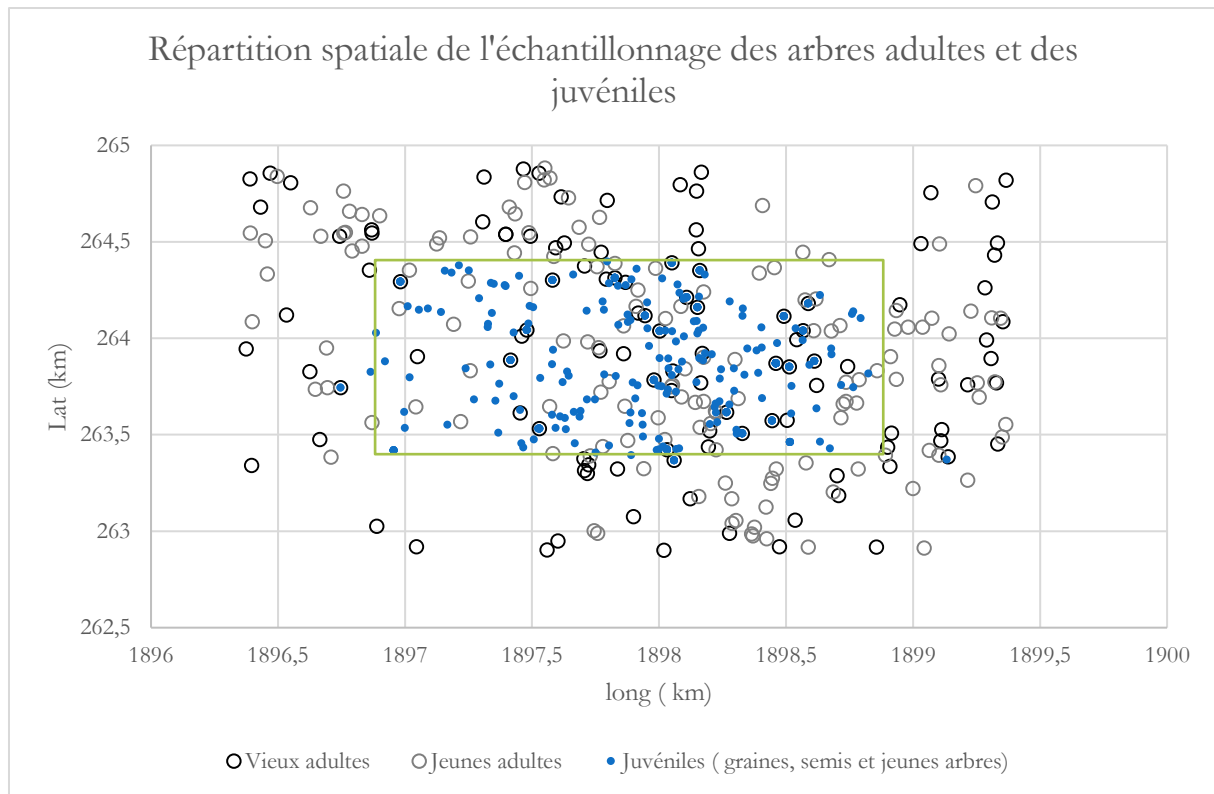


Figure 2. Localisation de la République du Congo du site de Loundoungou (les cartes sont issues de ©d-maps.com, <https://d-maps.com/>)



**Figure 3. Répartition spatiale des juvéniles, des jeunes adultes et des vieux adultes. Le rectangle de la zone centrale de 1km sur 2km est représenté en vert.**

Dans le cadre de ce mémoire, les échantillons d'*E. angolense* génotypés sont les jeunes adultes et les vieux adultes provenant de toute la parcelle de 600ha ainsi que de deux à 8 graines par arbre mère, ainsi que les semis et les jeunes arbres de la parcelle centrale de 200ha.

### 3.1.2 Les échantillons de sol, mesure du DBH et évaluation du statut

Dans cette étude, trois paramètres phénotypiques ont été relevés afin d'étudier leur effet sur le succès reproducteur mâle et femelle.

D'une part, le DBH a été mesuré sur tous les arbres échantillonnés. Pour les analyses, ce sont les DBH centrés réduits qui ont été utilisés.

D'autre part, dix échantillons de sols ont été prélevés par Jean-François Gillet au pieds d'individus *E. angolense* supposés bons reproducteurs et dix autres échantillons au pieds de *E. angolense* supposés mauvais reproducteurs dans la sous-parcelle de 200ha.



Pour ces 20 échantillons de sol, les 18 paramètres suivants ont été analysés par Thomas Drouet :

- ☞ Le pH de l'eau,
- ☞ Le pH cobaltihexamine,
- ☞ La conductivité,
- ☞ La capacité d'échange cationique (CEC),
- ☞ Le taux d'Al, Ca, Fe, K, Mg, Mn, Mo, P, Zn, d'azote total, de matière organique,
- ☞ Et les paramètres de textures du sol : sableux, limoneux, argileux.

Une Analyse en Composantes Principale (ACP) a été effectuée sur les résultats de l'analyse de sol et les contributions de chaque individu pour l'axe 1 ont été utilisées lors de l'analyse de l'effet de ce paramètre sur le succès reproducteur mâle et femelle.

Enfin, sur ces 20 mêmes individus, le statut de dominance de ces arbres dans la canopée a également été décrit sur une échelle de 1 à 3 (dominant=1, codominant =2, dominé=3). À nouveau, pour les analyses ce sont les valeurs centrées réduites qui ont été utilisées.

## 3.2 TRAVAIL EN LABORATOIRE

### 3.2.1 Extraction de l'ADN

Au total, 179 graines, 44 semis, 145 jeunes arbres, 150 jeunes adultes et 119 vieux adultes ont été extraits. Les arbres intermédiaires n'ont pas été utilisés ici, car ils étaient trop jeunes que pour avoir engendré une partie des graines et plantules, et trop vieux que pour avoir une probabilité élevée que leurs parents vivent toujours. Par individu, 15 à 25mg de feuilles ou 20 à 35 mg de cambium et de graines ont été pesés et extraits suivant le protocole Macherey-Nagel « nucleospin® 96 Plant II » (Macherey-Nagel, 2014).

### 3.2.2 Amplification et analyse de l'ADN

L'amplification de l'ADN a été faite suivant le protocole décrit par Monthe, Duminil, Tosso, Migliore, & Hardy (2017)

En outre, les microsatellites utilisés sont présentés dans le **Tableau 1**. Ces derniers ont été sélectionnés par Franck Monthé et répartis en trois mix afin de limiter les coûts et d'être plus rapide.

Ensuite les échantillons ont été placés dans l'analyseur d'ADN après l'ajout du marqueur de taille Radian Dye 500MB (F. S. Monthe et al., 2017). L'analyseur d'ADN fonctionne comme une électrophorèse sur capillaire (3730 DNA Analyzer, Applied Biosystems Hitachi).

<b>Noms des microsatellites pour chaque locus</b>		
<b>Mix1</b>	<b>Mix2</b>	<b>Mix3</b>
EnA-ssr2_Q1F	EnA-ssr5_Q1F	EnA-ssr3_Q1F
EnA-ssr7_Q1F	EnA-ssr21_Q2F	EnA-ssr15_Q2F
EnA-ssr14_Q2F	EnA-ssr34_Q3F	EnA-ssr29_Q3F
EnA-ssr23_Q2F	EnA-ssr36_Q4F	EnA-ssr44_Q4F
EnA-ssr35_Q3F	EnA-ssr42_Q4F	
EnA-ssr48_Q4F		
<b>6</b>	<b>5</b>	<b>4</b>

**Tableau 1. Noms des microsatellites utilisés pour chaque mix et locus. EnA réfère à *Entandrophragma angolense*, le nom du microsatellite correspond à ssr suivi d'un nombre, le suffixe correspond à la couleur du fluorochrome utilisé (Q1F, bleu ; Q2F, jaune ; Q3F, vert ; Q4F, rouge).**

### **3.2.3 Lecture des génotypes avec Geneious**

Le logiciel Geneious (Kearse et al., 2012) a permis de lire les pics de fluorescence des loci de chaque mix et de calibrer les loci avec le ladder.

Finalement, le génotype de 178 graines, 44 semis, 141 jeunes arbres, 143 jeunes adultes, 113 vieux adultes ont été gardés. En effet, 18 individus sur les 637 n'ont pas bien amplifiés malgré un re-génotypage.

### 3.3 ANALYSE DES RÉSULTATS

Afin de caractériser le flux de gènes d'*E. angolense*, les analyses des résultats se sont portées sur :

- ☞ La dispersion des graines et du pollen,
- ☞ L'analyse du système reproducteur,
- ☞ L'analyse du succès reproducteur,
- ☞ La structure génétique spatiale.

Les logiciels utilisés pour ces analyses sont :

- ☞ NM $\pi$
- ☞ SPAGeDI
- ☞ INEST
- ☞ MLTR

Le fonctionnement de ces logiciels sont expliqués dans les sections qui leurs sont respectivement dédiées.

#### 3.3.1 Distance de dispersion des graines et du pollen

Une des méthodes utilisées pour calculer la distance de dispersion des graines et du pollen prend en compte les résultats d'attributions de parenté estimés par un logiciel, ici NM $\pi$ . En effet, la distance de dispersion des graines peut être estimées comme étant la distance progéniture-mère et celle du pollen comme la distance mère-père. Pour estimer la distance de dispersion, il suffit d'utiliser les coordonnées géographiques de la mère et du père attribués aux juvéniles dispersés et les coordonnées de ces derniers.

**Remarque :** Les distances de dispersion sont uniquement calculées pour les juvéniles dispersés. Effectivement, les graines ont systématiquement été échantillonnées au pieds de leur mère présumée, les graines n'interviennent donc pas dans le calcul de la distance de dispersion.

##### a) *Approche implémentée dans le programme NM $\pi$*

NM $\pi$  est un logiciel développé par (Chybicki, 2018) et sert à déterminer le système de reproduction des plantes. Pour ce faire, NM $\pi$  utilise un modèle de parenté, le « neighbourhood model » (modèle de Adams & Birkes, 1991 cité par Chybicki, 2018).

Ce modèle contrairement au modèle estimant un seul lien de parenté, permet de préciser la probabilité de parenté, et de déceler les parents autofécondés (Chybicki, 2018). Il permet également d'évaluer le succès reproducteur lié à des caractères phénotypiques (Chybicki, 2018). L'analyse de

parenté effectuée permet au programme de déduire les paramètres d'immigration du pollen et des graines, d'autofécondation, de distance de dispersion des graines et du pollen (Chybicki, 2018). Le modèle neighbourhood considère que le pollen est soit issu de l'arbre mère (autofécondation de probabilité  $s$ ), soit d'un arbre situé dans le voisinage de l'arbre mère (probabilité  $w$ ) soit d'un arbre situé en dehors de ce voisinage (probabilité  $1-s-w$ ) (Adams, 1992).

Pour commencer, le modèle utilise comme données d'entrée, le génotype des adultes et des juvéniles échantillonnés dans une population, leurs coordonnées, leurs caractères phénotypiques et les attributions de parenté déjà connus le cas échéant (par exemple les mères connues pour les juvéniles) (Chybicki, 2018).

Le but de ce modèle est de chercher à minimiser la valeur absolue de la vraisemblance. En effet, l'estimation des paramètres se fait de manière séquentielle. Les paramètres sont estimés un à un en rajoutant à chaque essai un nouveau paramètre à estimer et ce, tout en veillant à obtenir une valeur absolue du logarithme de la vraisemblance toujours plus petite. La dernière étape consiste à tester tous les paramètres ensemble.

D'une part, il va estimer une série de paramètres qui permettent de caractériser le système de reproduction. En effet,  $NM\pi$  fournit les estimations de plusieurs paramètres en lien avec la dispersion des graines, du pollen et le taux d'autofécondation.  $NM\pi$  peut également déterminer l'effet de sélection du gradient de certains paramètres phénotypiques, sur le succès reproducteur mâle et femelle (Chybicki, 2018). Le **Tableau 2** reprend la liste des paramètres estimés et utilisés dans le cadre de ce mémoire .

D'autre part,  $NM\pi$  va aussi générer, une probabilité d'attributions de parenté entre les juvéniles et les parents potentiels. En effet,  $NM\pi$  va estimer les deux paires de parents les plus probables pour un juvénile. Une probabilité  $Pr1$  d'attribution des juvéniles à une mère  $Mo1$ , à un père  $Fa1$  et une probabilité  $Pr2$  à une deuxième mère ( $Mo2$ ) et un deuxième père ( $Fa2$ ) possible. Ces attributions de parenté sont basées sur le génotype des juvéniles et des parents potentiels et sur leurs coordonnées géographiques.

**Remarque :** Dans le cadre de ce mémoire, les attributions de parentés qui ont été retenues sont celles pour lesquelles les probabilités de maternité et de paternité sont égales ou supérieures à 80%.

Dans le cadre de ce mémoire, ce logiciel a permis d'obtenir une estimation des paramètres caractérisant la dispersion des graines et du pollen (Cfr. **Tableau 2**), les attributions de maternité et de paternité les plus probables, ainsi que le taux d'autofécondation des juvéniles.

<b>s</b>		Fréquence d'autofécondation
<b>g</b>		Effet du caractère phénotypique sur le succès reproducteur femelle
<b>b</b>		Effet du caractère phénotypique sur le succès reproducteur mâle
<b>Graines</b>	<b>Pollen</b>	
<b>ms</b>	<b>mp</b>	Fréquence d'immigration des graines/du pollen
<b>ds</b>	<b>dp</b>	Distance moyenne de dispersion des graines/du pollen
<b>bs</b>	<b>bs</b>	Paramètre de l'allure de la dispersion des graines/du pollen
<b>ks</b>	<b>kp</b>	Anisotropie de la dispersion des graines/du pollen
<b>as</b>	<b>ap</b>	Azimute de la dispersion des graines/du pollen

**Tableau 2. Paramètres estimés par NM $\pi$  dans le modèle neighbourhood et utilisés pour l'interprétation des résultats.**

Dans cette étude, la deuxième méthode utilise d'une part, l'estimations de différents paramètres caractérisant la dispersion des graines et du pollen, afin de mieux comprendre la dispersion des diaspores (logiciel NM $\pi$ ). D'autre part elle utilise aussi une estimation de la distance de dispersion des gènes  $\sigma$  (logiciel SPAGeDI).

**b) Approche implémentée dans le programme SPAGeDI**

SPAGeDI est un logiciel développé par (Hardy & Vekemans, 2002). Ce logiciel permet de caractériser la structure génétique spatiale d'une population. Pour ce faire, le logiciel a besoin de données génétiques et spatiales de la population. Le logiciel effectue une comparaison par paires entre les individus et calcule la moyenne des coefficients de parenté par classe de distance. Ensuite le logiciel fait une régression linéaire sur ces paires d'individus en fonction de la distance. Donc, la pente de la régression indique l'importance de la décroissance de la parenté entre les individus en fonction de la distance. SPAGeDI peut également estimer le coefficient de consanguinité et d'autres statistiques sur la parenté.

Dans le cadre de ce mémoire, le logiciel SPAGEDI a permis de connaître le niveau d'apparentement des couples de parent, d'analyser la structure génétique spatiale des adultes, des juvéniles et la comparaison entre ces deux cohortes ainsi que le coefficient de consanguinité pour chaque cohorte et global.

(Hardy & Vekemans, 2002)

### 3.3.2 Analyse du système reproducteur

Afin d'analyser le système reproducteur, différentes valeurs pouvant le caractériser ont été recherchées. En effet, la fréquence d'autofécondation (logiciels SPAGeDI,  $NM\pi$ ), le coefficient de consanguinité sans (logiciel SPAGeDI) et avec prise en compte des allèles nuls (logiciel INEST) ainsi que le coefficient de consanguinité bi-parentale (logiciel MLTR) ont été estimés.

#### a) *Approche implémentée dans le programme INEST*

INEST est un logiciel développé par (Chybicki, 2015). Il permet de calculer le coefficient de consanguinité multilocus en prenant en compte les allèles nuls grâce au modèle de maximum de vraisemblance. Pour ce faire, il utilise les génotypes de la population.

Les résultats d'INEST ont montré que le locus *EnA\_ssr5* possédait le plus grand taux d'allèles nuls parmi les autres locus. Ce locus a donc été retiré des analyses pour diminuer le biais causé par la présence d'allèles nuls.

#### b) *Approche implémentée dans le programme MLTR*

Multilocus Mating System Program (MLTR) est un programme écrit par (Ritland, 2002). Il estime entre autres la consanguinité bi-parentale. La consanguinité bi-parentale est estimée en soustrayant le taux d'allogamie multilocus au taux d'allogamie unilocus.

MLTR réalise ses estimations à partir d'un fichier d'entrée comprenant le génotype des mères et les progénitures qui leurs ont été attribuées avec  $NM\pi$ . MLTR peut aussi prendre en compte la dominance/codominance/donnée manquante et la présence d'allèles nuls pour chaque locus. (Ritland, 2002)

### 3.3.3 Analyse du succès reproducteur

L'analyse du succès reproducteur a été effectuée en recherchant l'effet de paramètres tels que le DBH, le statut et le type de sol sur le succès reproducteur (logiciel  $NM\pi$ ). De plus, en groupant les adultes parents et le nombre de progéniture des parents par classe de DBH de ces derniers, il est possible de mettre en évidence à quelle classe de DBH les adultes produisent le plus de progénitures.

### 3.3.4 Structure génétique spatiale

La connaissance de la structure génétique spatiale des adultes, des juvéniles, de leur comparaison et de l'estimation du coefficient moyen de parenté des couples parents ont été acquises grâce à un logiciel (SPAGeDI).

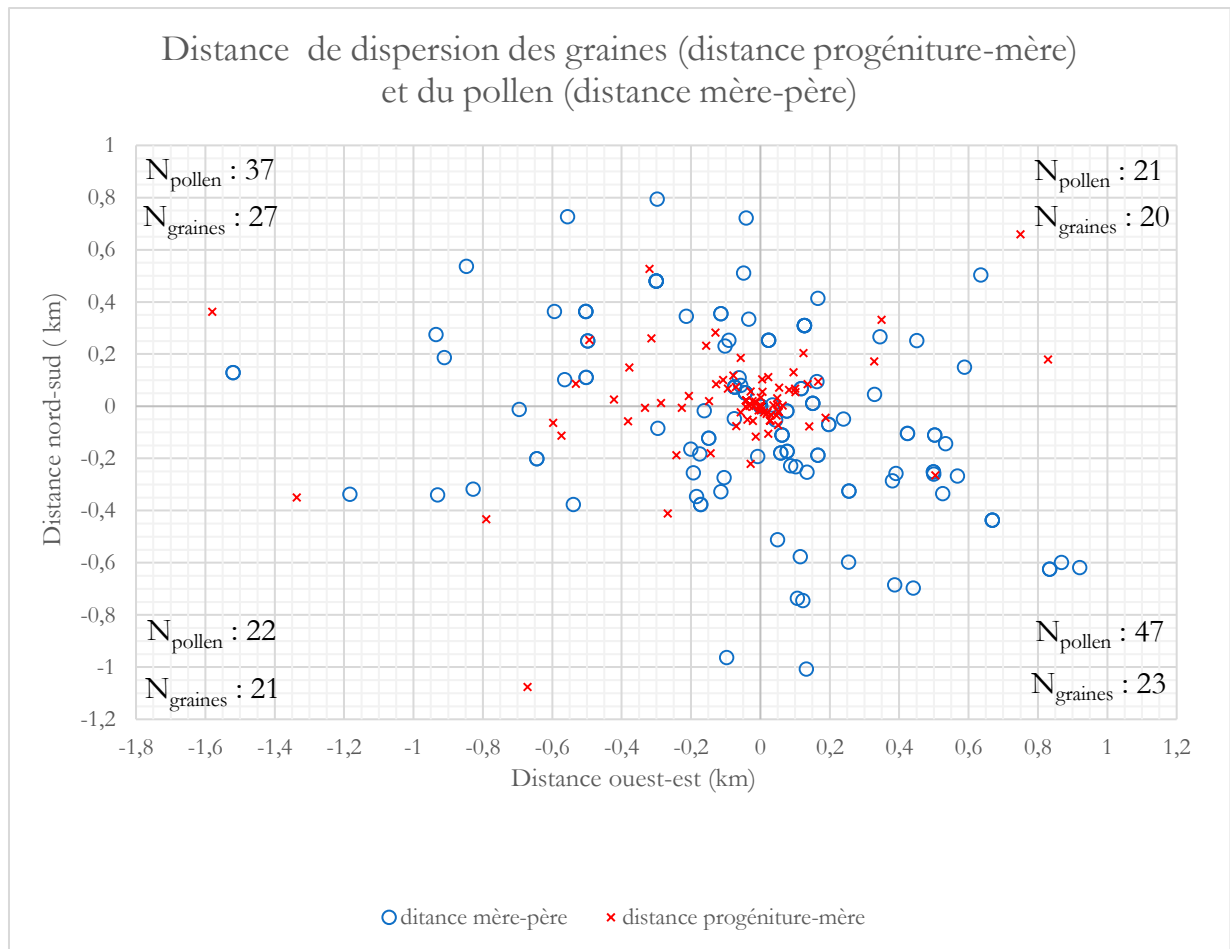
## 4 RÉSULTATS

---

### 4.1 DISTANCE DE DISPERSION DES GRAINES ET DU POLLEN

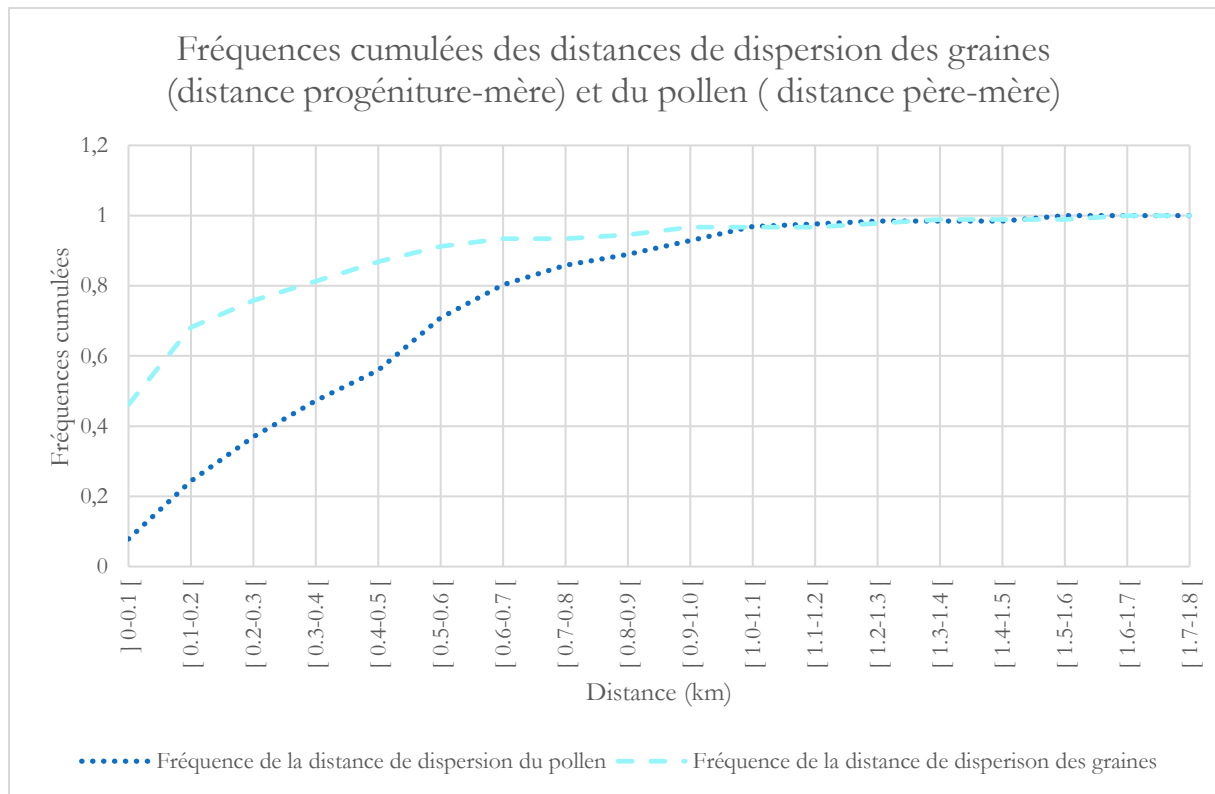
La distance de dispersion des graines et du pollen a pu être déterminée par deux méthodes.

Les distances de dispersion des graines et du pollen sont calculées à partir des coordonnées de la mère et du père attribués par NM $\pi$  et des coordonnées de la progéniture. En moyenne, ces distances de dispersion sont de 230m pour les graines et de 468m pour le pollen. Donc, la majorité des graines dispersent à courte distance (environs à moins de 200m) alors que le pollen disperse à plus longue distance, comme le montre la **Figure 4**. Mais certaines graines dispersent aussi loin que le pollen. En outre, le pollen semble avoir une direction de dispersion générale dans l'axe nord-ouest sud-est. Ces résultats sont présentés à la **Figure 4**. Qui plus est, la fréquence cumulée de dispersion des diaspores corrobore ces résultats. En effet, plus de 80% des graines dispersent à moins de 300m tandis que plus de 80% du pollen disperse à moins de 600m. (Cfr. **Figure 5**).



**Figure 4. Représentation de la distance et de l'orientation de la dispersion du pollen et des graines de façon centrée. La distance mère-père représente la distance de dispersion du pollen tandis que la distance progéniture-mère (pour les mères de la classe « vieux adultes ») représente la distance de dispersion des graines.**





**Figure 5. Fréquences cumulées des distances de dispersion des graines et du pollen par classe de distance de 100m, calculées sur base de la distance progéniture-mère et mère-père.**

Le logiciel NM $\pi$  a estimé que le pollen disperse en moyenne plus loin ( $d_p = 662$  m) que les graines ( $d_s = 268$  m), comme présenté dans le **Tableau 3**, ce qui confirme les résultats de la première méthode. Ces distances de dispersion sont significativement différentes car  $1/d_p$  a un intervalle de confiance (IC = valeur + ou -  $2*SE$ ) de 0.977 à 2.045 tandis que  $1/d_s$  a un IC de 2.053 à 5.401. En outre, le paramètre d'allure de la courbe de dispersion du pollen ( $b_p = 0.647$ , IC 0.329 à 0.965) est presque deux fois plus grand que celui des graines ( $b_s = 0.372$ , IC 0.206 à 0.538) mais ces paramètres ne sont pas significativement différents l'un de l'autre.

Les fréquences d'immigration des graines ( $m_s = 0.469$ , IC 0.385 à 0.553) et du pollen ( $m_p = 0.499$ , IC 0.435 à 0.563) ne sont pas significativement différents. Il n'y a pas d'anisotropie ni d'azimute pour la dispersion des graines ( $k_s, a_s$ ) et du pollen ( $k_p, a_p$ ). (Cfr. **Tableau 3**)

Graines						
Paramètres	ms	1/ds (km <sup>-1</sup> )	ds (m)	bs	ks	as (% de 2π)
Estimation	0.469	3.727	268	0.372	0	0.957
SE	0.042	0.837		0.083	-1	-1
Q [97.5%]		0.596		0.549		
Pollen						
Paramètres	mp	1/dp (km <sup>-1</sup> )	dp (m)	bp	kp	ap (% de 2π)
Estimation	0.499	1.511	662	0.647	0.234	0.957
SE	0.032	0.267		0.159	0.136	-1
Q [97.5%]		1.154		0.973		

**Tableau 3. Paramètres de dispersion des graines et du pollen estimés par le logiciel NMπ**

Le logiciel SPAGeDI a aussi été utilisé pour estimer la distance de dispersion des gènes (sigma). Cependant, les calculs de SPAGeDI n'ont pas convergé et ce quel que soit la densité testée (0.427 pieds/ha, 0.213 pieds/ha, 0.107 pieds/ha, 0.423 pieds/ha).

## 4.2 ANALYSE DU SYSTÈME REPRODUCTEUR

D'après les estimations du logiciel SPAGeDI il n'y a pas d'autofécondation et ce quel que soit la cohorte. Ces résultats sont présentés dans le **Tableau 4**. De plus ce résultat est confirmé par le logiciel NMπ qui estime une autofécondation non significative chez les descendants ( $s=0.013$  (SE : 0.007)).

Cohortes	S	SE
	Fréquence d'autofécondation	
Adultes	0.019	0.030
Jeunes arbres	0	0
Semis	0	0.028
Graines	0	0

**Tableau 4. Fréquence d'autofécondation par cohorte (à partir des résultats du logiciel SPAGeDI)**

Concernant le coefficient de consanguinité, les estimations de SPAGeDI indiquent qu'il n'est pas constant entre les cohortes, comme le montre le **Tableau 5**. Il est le plus élevé pour la cohorte des jeunes arbres et le moins élevé pour la cohorte des semis.

Toutefois ce coefficient calculé par SPAGeDI est influencé par la présence d'allèles nuls. Or, INEST corrige le coefficient de consanguinité individuel en prenant en compte les allèles nuls. Les résultats d'INEST montrent que quel que soit la cohorte concernée, il n'y a pas de consanguinité significative contrairement à SPAGeDI. De plus, le coefficient de consanguinité pour toutes les cohortes n'est pas significatif sous INEST. La correction par INEST signifie donc qu'il y a beaucoup d'allèles nuls présent dans toutes les cohortes. (Cfr **Tableau 5**).

Fi	Toutes les cohortes	Graines	Semis	Jeunes arbres	Adultes
SPAGeDI	0.251	0.229	0.166	0.282	0.25
Fi corrigé par INEST	0.007	0	0	0	0.004
SE (INEST)	0.041	0	0	0	0.009

**Tableau 5. Comparaison des coefficients de consanguinité individuel (Fi) multilocus moyen, corrigé ou non, entre les cohortes (à partir des résultats d'INEST et de SPAGeDI)**

Selon le logiciel MLTR, la différence  $t_m-t_s$  représente la consanguinité bi-parentale. Dans cette étude, elle est de 0.156 et est non significative. Les résultats sont présentés au **Tableau 6**.

	<b>Estimation</b>	<b>SD</b>
<b>Multilocus t estimate</b>	0.981	0.11
<b>Singlelocus t estimate</b>	0.825	0.016
<b>Difference <math>t_m-t_s</math></b>	0.156	0.109

**Tableau 6. Résultats de l'analyse de consanguinité bi-parentale effectuée par MLTR.**

### 4.3 ANALYSE DU SUCCÈS REPRODUCTEUR

Le logiciel  $NM\pi$  permet de constater que certains des caractères phénotypiques utilisés dans cette étude ont un effet sur le succès reproducteur mâle et/ou femelle.

Au préalable, une Analyse en Composante Principale (ACP) a été effectuée sur les résultats des analyses des échantillons de sol.

Effectivement, le diamètre a un effet sur le succès reproducteur mâle et femelle. Le statut, lui, (dominant, codominant ou dominé dans la canopée) n'a pas d'effet sur le succès reproducteur mâle mais a un effet faible sur le succès reproducteur femelle. Donc les individus avec un statut dominant ont un meilleur succès reproducteur femelle que les autres. Au contraire, le type de sol n'a pas d'effet significatif ni sur le succès reproducteur mâle, ni sur le succès reproducteur femelle. (Cfr. **Tableau 7**).

<b>Paramètres</b>	<b>Diamètre</b>	<b>SE</b>	<b>Statut</b>	<b>SE</b>	<b>Type de sol</b>	<b>SE</b>
<b>Effet sur le succès reproducteur femelle</b>	0.931	0.137	-0.684	0.242	-0.065	0.083
<b>Effet sur le succès reproducteur mâle</b>	1.080	0.088	-0.249	0.173	-0.103	0.056

**Tableau 7. Influence du diamètre, du statut et du type de sol sur le succès reproducteur mâle et femelle (à partir des résultats de  $NM\pi$ )**

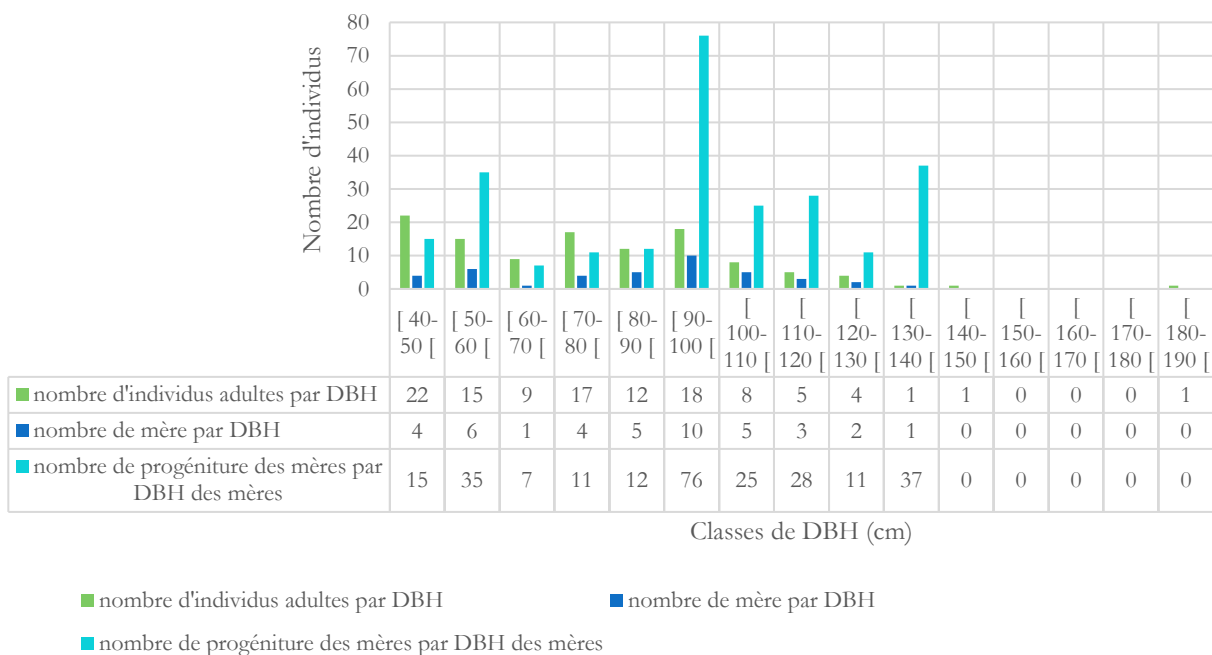
La classe de DBH des mères où il y a le plus de graines produites est celle de [90-100[cm de DBH. (Cfr. **Figure 6A**).

Qui plus est, c'est également la classe de DBH [90-100[cm qui produit le plus de pollen.

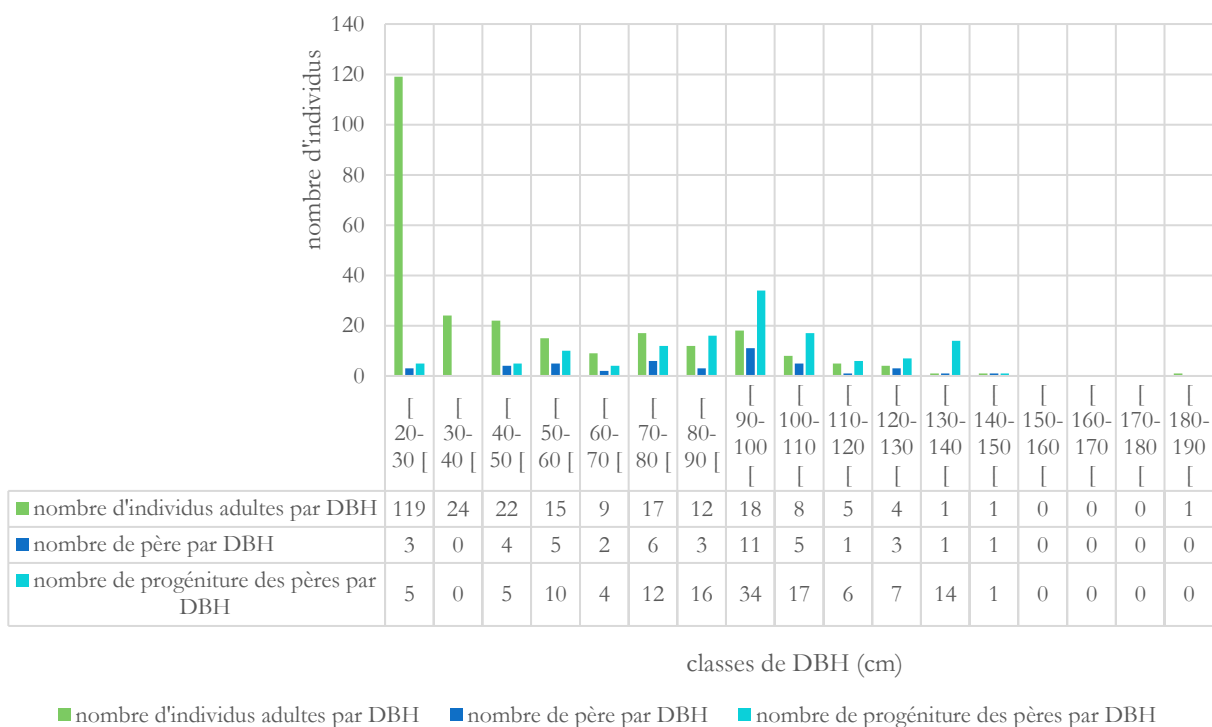
(Cfr. **Figure 6B**).

**Remarque :** Il est supposé que d'un point de vue biologique les jeunes adultes ne peuvent pas être mère car ces individus ne sont pas assez matures pour porter des graines. C'est pourquoi, cette classe de diamètre n'est pas représentée à la **Figure 6A**.

### Nombre de mères par DBH et nombre de progéniture des mères par DBH des mères



### Nombre de père par DBH et nombre de progéniture des pères par DBH des pères



**Figures 6A et 6B. Nombre d'adultes, de mères ou de pères et de progénitures des mères ou des pères par classe de DBH (à partir des résultats de Nmπ)**

Les résultats de NM $\pi$  permettent d'estimer le pourcentage d'adultes qui ont été attribués comme mère et/ou comme père et donc le pourcentage de graines, semis et jeunes arbres a qui un parent a été attribué. C'est résultats permettent d'avoir une idée de l'efficacité de la collecte de échantillons. En effet, si la collecte a été suffisamment exhaustive et représentative, presque chaque juvénile devrait s'être vu attribuer au moins un parent.

C'est ainsi que les attributions de parenté de NM $\pi$  permettent de constater que la plupart des individus qui sont parents font parties de la cohorte des vieux adultes. En outre, il y a autant d'attribution de maternité que de paternité dans cette cohorte. Il est intéressant de relever que ce sont les graines qui ont le pourcentage d'attribution le plus élevé à une mère (mais c'est attendu puisque les graines sont récoltées au pieds de leur mère supposée), à un père et à un couple de parents.

D'autre part, les pourcentages d'attribution à une mère sont plus élevés que ceux d'attribution à un père, quel que soit la cohorte de juvénile. Cependant, les pourcentages d'attribution à une mère et ou un père sont plus élevés chez les graines et décroissent chez les semis et déminuent encore chez les jeunes arbres. Ces résultats permettent d'avoir une idée de l'efficacité de l'échantillonnage effectué sur le terrain et de la superficie nécessaire pour pouvoir retrouver les deux parents. (Cfr. **Tableau 8**).

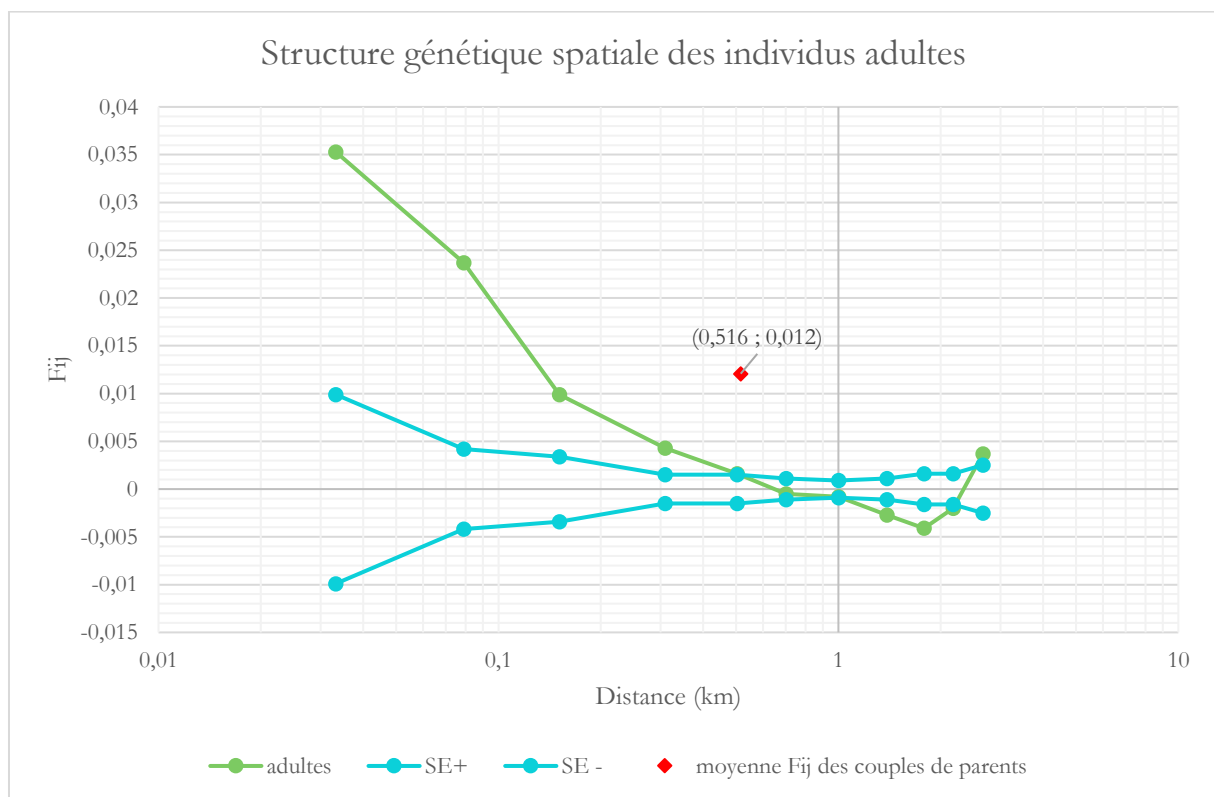
Cohortes		Total	Est mère	Est père	A une mère	A un père	A une mère et un père
Adultes	Vieux adultes	113	41 (36.28%)	42 (37.17%)			
	Jeunes adultes	143		3 (2.1%)			
Juvéniles	Jeunes arbres	141			53 (37.59%)	22 (15.6%)	18 (12.77%)
	Semis	44			34 (77.27%)	9 (20.45%)	8 (18.18%)
	Graines	178			170 (95.51%)	100 (56.18%)	100 (56.18%)

**Tableau 8.** Nombre d'individus parents ou ayant un parent par cohorte (à partir des résultats de NM $\pi$ ).

## 4.4 STRUCTURE GÉNÉTIQUE SPATIALE

Le logiciel SPAGeDI a été utilisé pour déterminer la structure génétique spatiale.

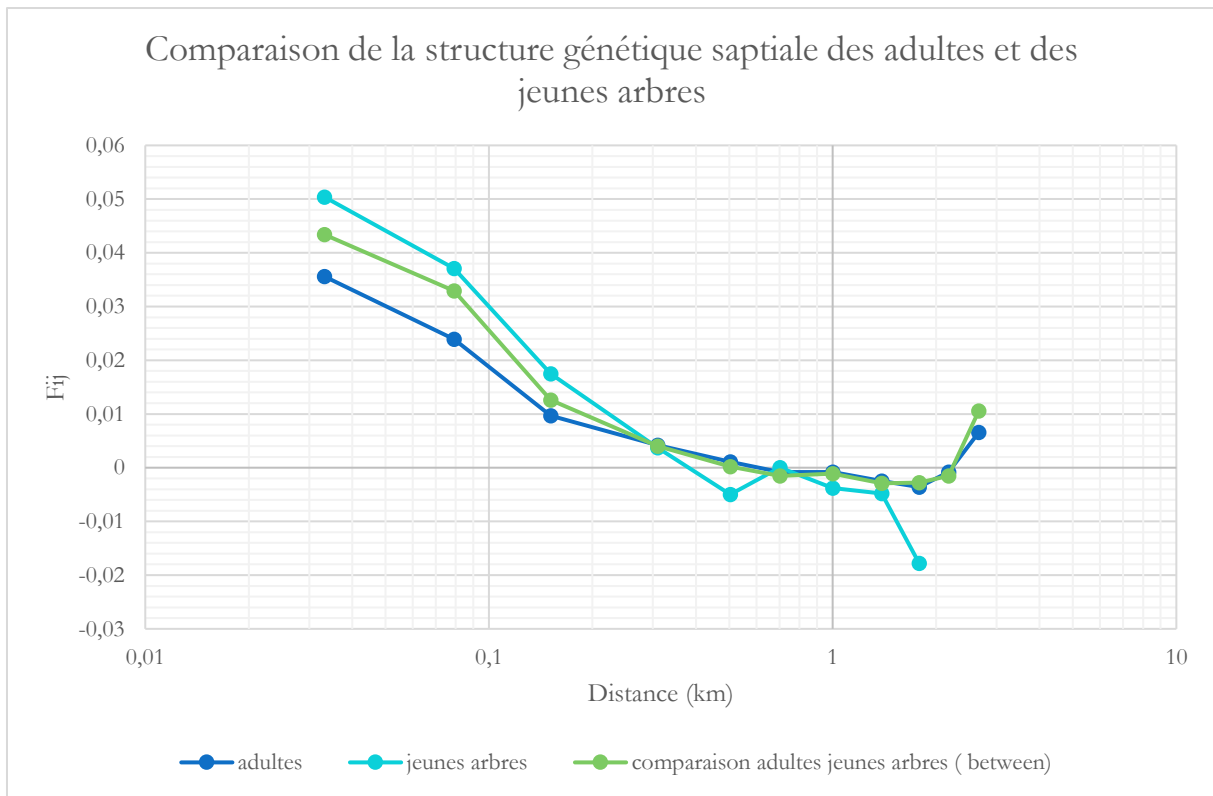
Il y a une structure génétique spatiale significative jusqu'à 500m pour les adultes. De plus, les couples de parents ont un coefficient moyen de parenté de 0.012 à une distance moyenne de 516m. Donc, en moyenne, pour une distance d'environ 500m, les couples de parents sont plus apparentés entre eux que les autres adultes. (Cfr. **Figure 7**). Ce dernier résultat n'est pas confirmé par le coefficient de consanguinité bi-parentale de MLTR.



**Figure 7. Structure génétique spatiale des adultes et moyenne du coefficient de parenté (Fij) des couples de parents (à partir des résultats de SPAGeDI)**

Il existe une structure génétique spatiale car l'apparentement diminue avec la distance et ce pour les trois courbes (adultes, jeunes arbres, comparaison adultes-jeunes arbres). L'allure de la structure génétique spatiale de la comparaison « adultes-jeunes arbres » est similaire à celle de la structure génétique spatiale des adultes. En outre, les jeunes arbres sont plus apparentés à courte distance que les adultes. En revanche, l'apparentement des jeunes arbres et des adultes devient semblable à partir de 500m. (Cfr. **Figure 8**).





**Figure 8. Comparaison de la structure génétique spatiale entre les adultes et les jeunes arbres (à partir des résultats issus de SPAGeDI)**

## 5 DISCUSSIONS DES RÉSULTATS ET CONCLUSIONS GÉNÉRALES

---

### 5.1 FLUX DE GÈNES

Les dispersions calculées par  $NM\pi$  sont plus fiables que celles calculées manuellement à partir des liens de parenté, car  $NM\pi$  utilise le modèle neighbourhood qui prend en compte différents paramètres.

Ainsi, d'une part, la distance de dispersion des graines d'*E. angolense* est estimée à moins de 300m pour 80% des graines et est en moyenne de 268m (1/SE : 1.195) ( $NM\pi$ ). Alors que pour *E. candollei*, 80% des graines dispersent à moins de 500m, et la distance de dispersion est en moyenne de 338,05 m (SE :73.91) (Vanderhoeven, 2017). De plus, chez *E. cylindricum* le ds est de 446m (SE : 84) (Monthe et al., 2017). Donc *E. candollei* et *E. cylindricum* dispersent leurs graines à plus longue distance que *E. angolense*.

D'autre part, la distance de dispersion du pollen d'*E. angolense* est estimée à moins de 600m pour 80% du pollen et est en moyenne de 662m (1/SE : 3.745) ( $NM\pi$ ). la distance de dispersion de 80% du pollen de *E. candollei* (moins de 1250m) est plus longue et sa moyenne de distance de dispersion du pollen (793.04m (SE : 199.70)) est non significativement différente de celle de *E. angolense* (Vanderhoeven, 2017). En revanche, *E. cylindricum* possède un dp de 506m+/-35 (Monthe et al., 2017). Donc, *E. candollei* disperse dans la même gamme de distance que *E. angolense* et tous deux dispersent plus loin que *E. cylindricum*. La distance de dispersion du pollen de *E. angolense* peut être considérée comme longue car *E. cylindricum* disperse déjà a relativement longue distance selon Monthe et al. (2017).

En effet, les distances de dispersion des graines et du pollen peuvent être influencées par une multitude de paramètres, tels que le vent, la forme des graines, du pollen, la hauteur et le diamètre de la couronne de l'arbre parent etc.(Augspurger, Franson, Cushman, & Muller-Landau, 2016).

Effectivement, selon Thomson et al. (2011), c'est la hauteur de l'arbre qui influence la distance de dispersion des graines. Or, selon Kasongo Yakusu et al. (2018) *E. angolense* atteint une hauteur maximale un peu moindre (50m) que *E. candollei* (60m) et que *E. cylindricum* (60m). Ainsi, ces

hauteurs expliqueraient la plus grande distance de dispersion des graines pour *E. candollei* et *E. cylindricum* que pour *E. angolense*.

Quant à la différence de distance de dispersion entre le pollen et les graines, Ennos (1994) et Nason et al. (1998) cités par García et al. (2007) estime que généralement les espèces anémophiles possèdent une dispersion du pollen plus grande que celle des graines.

Par ailleurs, *E. angolense* et *E. candollei* ont des fréquences d'immigration de leurs graines qui ne sont pas significativement différentes, contrairement à *E. cylindricum* qui disperse significativement plus loin que les deux autres (*E. angolense*: 0.468 (SE : 0.041) ; *E. candollei*: 0.50 (SE : 0.02) (Vanderhoeven, 2017), *E. cylindricum* : 0.67 (SE : 0.058)(Monthe et al., 2017)). Cependant, la fréquence d'immigration du pollen est significativement plus grande chez *E. candollei* (0.67 (SE : 0.03) (Vanderhoeven, 2017)) ; que chez *E. angolense* (0.499 (SE : 0.032)) et cette dernière est significativement plus grande que chez *E. cylindricum* (0.32 (SE : 0.025)(Monthe et al., 2017).

L'hypothèse de Thomson et al. (2011) est que si le paramètre de dispersion est grand, celui d'immigration sera également plus élevé, mais ceci n'est pas observé ici. Cependant, García et al. (2007) fait remarquer que de longues distances de dispersion et d'immigration des graines et du pollen permettent de diminuer l'isolement par la distance.

En revanche, le calcul de la dispersion des gènes  $\sigma$  (SPAGeDI) n'a pas convergé, car la zone d'échantillonnage était trop petite. C'est pourquoi, concernant de futures études sur cette espèce, il serait intéressant de prolonger l'échantillonnage sur des transects cardinaux. En effet, agrandir l'aire d'échantillonnage serait techniquement compliqué à réaliser tandis que la méthode du transect semble être un bon compromis.

## 5.2 SYSTÈME REPRODUCTEUR ET STRUCTURE GÉNÉTIQUE SPATIALE

Concernant le type de système reproducteur, celui-ci influence la dispersion des gènes et donc la structure génétique (Duminil et al., 2009). En effet, un système reproducteur plus ou moins autogame permettra une dispersion des gènes à plus courte ou plus longue distance et donc une structure génétique spatiale différente (Jérôme Duminil et al., 2009).

Or, premièrement d'après les résultats obtenus, *E. angolense* possède un système reproducteur essentiellement allogame. En effet, *E. angolense* est plus allogame que *E. candollei* et *E. cylindricum* puisque le taux d'autofécondation de *E. angolense* est non significatif quel que soit les cohortes alors que celui de *E. candollei* varie entre 0.033 (SE : 0.01) et 0.173 (pas de SE) (Vanderhoeven, 2017) et de *E. cylindricum* est de 0.02 (pas de SE) (Lourmas et al. 2017 cités par Tabi et al., 2017) ou entre

0.14 (NM+) et 0.15 (CERVUS)(Monthe et al., 2017). Donc, si les résultats montraient la présence de consanguinité, elle serait due à d'autres phénomènes que l'autofécondation, comme par exemple la reproduction entre individus apparentés (Bizoux et al., 2009).

Or, deuxièmement, *E. angolense* ne présente pas de consanguinité quel que soit la cohorte, ni de consanguinité bi-parentale.

Enfin, la structure génétique spatiale présente un apparentement jusque 500m ce qui est cohérent avec la relativement grande distance de dispersion du pollen qui est du même ordre de grandeur (622m ; 1/SE : 3.745). Cependant, la structure génétique spatiale peut également être influencée par d'autres paramètres que la dispersion des graines et du pollen, comme la densité et la répartition spatiale (Bizoux et al., 2009).

### 5.3 SUCCÈS REPRODUCTEUR

En revanche, le succès reproducteur de *E. angolense* dépend peu du statut dans la canopée, seul le succès reproducteur femelle est légèrement influencé. Effectivement, malgré que l'étude de Ouédraogo et al. (2018) permet de constater que d'une part, la majorité des *E. angolense* ( d'un site en République du Congo) se situent plutôt sous la canopée. Et, que d'autre part, les quelques arbres émergents sont ceux possédant le plus grand pourcentage d'arbres reproducteurs (produisant des fleurs). Ouédraogo et al. (2018) montrent que le test statistique effectuée sur la probabilité de floraison en fonction du statut a été non significatif, ce qui rejoint les résultats cités précédemment sur le faible effet du statut.

Pour finir, contrairement aux estimations obtenues dans le cadre de ce mémoire pour *E. angolense*, Parra-Tabla & Bullock (1998) montrent chez *Ipomoea wolcottiana*, qu'un apport de phosphore a une influence positive sur la production de fleurs et beaucoup plus marquée sur la production de fruits matures. En effet, chez *E. angolense*, le type de sol n'a pas montré d'effet sur le succès reproducteur femelle, malgré une influence sur le succès reproducteur mâle. Une recherche plus poussée sur la relation entre la fertilité du sol et la production de graines et du pollen chez *E. angolense* serait intéressante. En effet, elle pourrait peut-être expliquer pourquoi un seul arbre de [130-140[cm de diamètre a produit 37 progénitures alors que la classe [90-100[cm a produit 76 progénitures avec 10 parents Cfr. **Figures 6A et 6B**.

Par ailleurs, chez *E. angolense*, les analyses faites dans le cadre de ce mémoire montrent aussi que le DBH a un effet sur le succès reproducteur (Cfr. **Tableau 7**). En effet, ce résultat se reflète dans les **Figures 6A et 6B**. En outre, selon Ouédraogo et al. (2018) la floraison est lié à la taille de l'arbre et donc au DBH. De plus, Parra-Tabla & Bullock (2003) montrent chez *Ipomoea wolcottiana*, un arbre

tropical du Mexique, que la taille de l'arbre (estimée à partir du DBH) influence plus positivement la production de fleurs que celle de fruits matures.

Cependant, le diamètre minimum de coupure d'*E. angolense* en République du Congo est de 80 cm (Ouédraogo et al., 2018 ; Tchinda, 2008). Or, ce diamètre est inférieur à la classe de diamètre produisant un maximum de progéniture qui est déterminé dans ce mémoire (90-100cm) Cfr. **Figures 6A et 6 B**. Donc la régénérescence de l'espèce peut en pâtir. En effet, chez *E. angolense*, ce sont les classes [90-100[cm (76 juvéniles attribués) et [130-140[cm (37 juvéniles attribués) qui produisent le plus de progénitures. Remarquez qu'il en est de même pour *E. candollei*, où les deux classes de DBH ayant le plus de juvéniles attribués par classe de DBH des mères sont les classes [90-100[cm (32 juvéniles attribués) et [130-140[ cm (71 juvéniles attribués),) (Vanderhoeven, 2017). De plus, le diamètre de coupure de *E. candollei*, en République du Congo, est aussi de 80 cm (Nyunaï, 2008). Cependant, Tabi et al. (2017) explique dans son étude de *E. cylindricum* qu'il est assez complexe de déterminer si une espèce est menacée par son mode de sylviculture. En effet, le diamètre minimum d'exploitabilité (DME) de *E. cylindricum* est de 80cm au Congo tandis que son diamètre de fructification efficace (DFE) a été estimé à 40-50cm (Tabi et al., 2017). Pourtant, ce n'est pas à partir de cette constatation que Tabi et al. (2017) a pu considérer que l'exploitation n'impactait pas la population de *E. cylindricum*, mais à partir de la prise en compte d'un ensemble de données, tels que le taux d'exploitation, le volume exploité, la courbe d'effectif de la population par classe de DBH etc.

#### 5.4 CONSÉQUENCES POUR UNE GESTION DURABLE DE L'ESPÈCE

En conclusion, il est donc difficile d'émettre des conseils d'exploitations à partir du DBH produisant le plus de progénitures. Toutefois, il serait sans doute bénéfique d'augmenter le diamètre d'exploitabilité à plus de 90 cm de diamètre afin de favoriser la régénération de *E. angolense*. Ou encore, de maintenir une proportion suffisante d'arbres de plus de 90cm de DBH après exploitation afin d'assurer une régénération naturelle. De plus, De Madron & Daumerie (2004) conseil de prendre un diamètre d'exploitation au moins 10cm au-dessus de celui du diamètre de fructification efficace (DFE, « diamètre auquel 80% des arbres produisent des fruits ») « pour laisser le temps aux arbres de fructifier pendant au moins quelques décennies avant d'être exploités ». Par exemple, pour *E. angolense*, le DFE pourrait être de [130-140]cm car à [90-100]cm, il n'y a pas 80% des adultes qui produisent des progénitures. D'autant plus, lorsqu'un *E. angolense* peut mettre 70 ans pour atteindre 40 cm au Gabon ou 140 ans pour atteindre 100cm au Nigeria (Tchinda, 2008).

En outre, il serait judicieux de conserver une densité supérieure à 1 pieds reproducteurs tous les 600m vu la distance moyenne de dispersion du pollen (622m).

D'autre part, les résultats suggèrent que la diversité génétique de l'espèce sur l'échantillonnage effectué n'est pas atteinte (pas de consanguinité et pas d'autofécondation).

## 6 RÉFÉRENCES

---

- Adams, W. T. (1992). Gene dispersal within forest tree populations. *New Forests*, 6(1-4), 217-240. <https://doi.org/10.1007/BF00120646>
- Ashley, M. V. (2010). Plant parentage, pollination, and dispersal: how DNA microsatellites have altered the landscape. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 29(3), 148–161.
- Augspurger, C. K., Franson, S. E., Cushman, K. C., & Muller-Landau, H. C. (2016). Intraspecific variation in seed dispersal of a Neotropical tree and its relationship to fruit and tree traits. *Ecology and Evolution*, 6(4), 1128 - 1142. <https://doi.org/10.1002/ece3.1905>
- Bayol, N., Demarquez, B., De Wasseige, C., Atyi, R. E., Fisher, J.-F., Nasi, R., ... Vivien, C. (2010). La gestion des forêts et la filière bois en Afrique centrale. *De Wasseige C. et al. Les forêts du bassin du Congo. État des forêts*, 43–62.
- Biwolé, A. B., Bourland, N., Daïnou, K., & Doucet, J.-L. (2012). Définition du profil écologique de l'azobé, *Lophira alata*, une espèce ligneuse africaine de grande importance: synthèse bibliographique et perspectives pour des recherches futures. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 16(2), 217-228.
- Bizoux, J.-P., Daïnou, K., Bourland, N., Hardy, O. J., Heuertz, M., Mahy, G., & Doucet, J.-L. (2009). Spatial genetic structure in *Milicia excelsa* (Moraceae) indicates extensive gene dispersal in a low-density wind-pollinated tropical tree. *Molecular Ecology*, 18(21), 4398-4408. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2009.04365.x>
- Chybicki, I. J. (2015). INEST 2.0. Consulté à l'adresse [https://www.ukw.edu.pl/pracownicy/strona/igor\\_chybicki/software\\_ukw/](https://www.ukw.edu.pl/pracownicy/strona/igor_chybicki/software_ukw/)

- Chybicki, I. J. (2018). NM $\pi$ —improved re-implementation of NM+, a software for estimating gene dispersal and mating patterns. *Molecular ecology resources*, 18(1), 159–168.
- De Madron, L. D., Bauwens, S., Giraud, A., Hubert, D., & Billand, A. (2011). Estimation de l'impact de différents modes d'exploitation forestière sur les stocks de carbone en Afrique centrale. *Bois & Forêts des Tropiques*, 308(308), 75–86.
- De Madron, L. D., & Daumerie, A. (2004). Diamètre de fructification de quelques essences en forêt naturelle centrafricaine. *Bois & Forêts des tropiques*, 281(281), 87–95.
- Donkpegan, S., Hardy, J. O., Lejeune, P., Oumorou, M., Daïnou, K., & Doucet, J.-L. (2014). Un complexe d'espèces d'*Afzelia* des forêts africaines d'intérêt économique et écologique (synthèse bibliographique). *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 18(2). Consulté à l'adresse <https://orbi.uliege.be/handle/2268/168874>
- Duminil, J., Mendene Abessolo, D. T., Ndiade Bourobou, D., 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. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2016.08.003>
- 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 Evolutionary Biology*, 9(1), 177. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-9-177>
- Ernst, C., Mayaux, P., Verhegghen, A., Bodart, C., Christophe, M., & Defourny, P. (2013). National forest cover change in Congo Basin: deforestation, reforestation, degradation and regeneration for the years 1990, 2000 and 2005. *Global change biology*, 19(4), 1173–1187.



- García, C., Jordano, P., & Godoy, J. A. (2007). Contemporary pollen and seed dispersal in a *Prunus mahaleb* population: patterns in distance and direction. *Molecular Ecology*, 16(9), 1947–1955. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2006.03126.x>
- 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.
- Hassler, M. (2018). Catalogue of Life : *Entandrophragma angolense* (Welw.) C. DC. Consulté 16 août 2018, à l'adresse <http://www.catalogueoflife.org/col/details/species/id/09e5d84ebf760c14c53d347f11703b10>
- Hawthorne, W. (1998). *Entandrophragma angolense*: Hawthorne, W.: *The IUCN Red List of Threatened Species 1998* [Data set]. International Union for Conservation of Nature. <https://doi.org/10.2305/IUCN.UK.1998.RLTS.T33049A9753276.en>
- Kasongo Yakusu, E. S., Monthe, F. K., Bourland, N. J., Hardy, O. J., Louppe, D., Mbele Lokanda, F. B., ... Beeckman, H. (2018). Le genre *Entandrophragma* (Meliaceae) : taxonomie et écologie d'arbres africains d'intérêt économique (synthèse bibliographique). *BASE*. Consulté à l'adresse <https://popups.uliege.be:443/1780-4507/index.php?id=16353>
- Kearse, M., Moir, R., Wilson, A., Stones-Havas, S., Cheung, M., Sturrock, S., ... Drummond, A. (2012). Geneious Basic: An integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics*, 28(12), 1647–1649. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts199>
- Macherey-Nagel. (2014). NucleoSpin 8 / 96 Plant II. Consulté 17 août 2018, à l'adresse <http://www.mn-net.com/tabid/10905/default.aspx>

- Mbambu, F. K. (2009). Les Ecosystemes Forestiers au Congo-Kinshasa : Entre Exploitation et Preservation. *African Sociological Review / Revue Africaine de Sociologie*, 13(2), 126-149.
- 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.  
[https://doi.org/10.1016/S0378-1127\(01\)00769-1](https://doi.org/10.1016/S0378-1127(01)00769-1)
- Monthe, F. K., Duminil, J., Tosso, F., Migliore, J., & Hardy, O. J. (2017). Characterization of microsatellite markers in two exploited African trees, *Entandrophragma candollei* and *E. utile* (Meliaceae). *Applications in Plant Sciences*, 5(2), 1600130.  
<https://doi.org/10.3732/apps.1600130>
- 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. <https://doi.org/10.1111/mec.14241>
- Nyunäi, N. (2008). *Entandrophragma candollei* Harms. Louppe, D., Oteng-Amoako, A.A. & Brink, M. (Editors). Consulté à l'adresse <http://www.prota4u.org/search.asp>.
- Ouédraogo, D.-Y., Doucet, J.-L., Daïnou, K., Baya, F., Biwolé, A. B., Bourland, N., ... Fayolle, A. (2018). The size at reproduction of canopy tree species in central Africa. *Biotropica*, 50(3), 465-476. <https://doi.org/10.1111/btp.12531>
- Parra-Tabla, V., & Bullock, S. H. (1998). Factors limiting fecundity of the tropical tree *Ipomoea wolcottiana* (Convolvulaceae) in a Mexican tropical dry forest. *Journal of Tropical Ecology*, 14(5), 615-627.

- Parra-Tabla, V., & Bullock, S. H. (2003). Exploring the limiting causes of fruit production in the tropical tree *Ipomoea wolcottiana* Rose (Convolvulaceae). *Plant Ecology*, 166(1), 107-115. <https://doi.org/10.1023/A:1023216220227>
- Ritland, K. (2002). Extensions of models for the estimation of mating systems using  $n$  independent loci. *Heredity*, 88(4), 221-228. <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6800029>
- Tabi, P., Verheggen, F., Doucet, J.-L., Malaisse, F., Daïnou, K., Cerutti, P. O., & Vermeulen, C. (2017). *Entandrophragma cylindricum* (Sprague) Sprague (Meliaceae), une espèce ligneuse concurrentielle en Afrique centrale (synthèse bibliographique). *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 21(1), 80-97.
- Tchatchou, B., Sonwa, D. J., Ifo, S., & Tiani, A. M. (2015). *Déforestation et dégradation des forêts dans le Bassin du Congo: État des lieux, causes actuelles et perspectives*. Center for International Forestry Research (CIFOR), Bogor, Indonesia. <https://doi.org/10.17528/cifor/005457>
- Tchinda, A. T. (2008). *Entandrophragma angolense* (Welw.) C.DC. *Loupe, D., Oteng-Amoako, A.A. & Brink, M. (Editors)*. Consulté à l'adresse <http://www.prota4u.org/search.asp>
- Thomson, F. J., Moles, A. T., Auld, T. D., & Kingsford, R. T. (2011). Seed dispersal distance is more strongly correlated with plant height than with seed mass. *Journal of Ecology*, 99(6), 1299-1307. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2011.01867.x>
- Vanderhoeven, D. (2017). *Dispersion de graines et du pollen chez un arbre forestier d'Afrique centrale Entandrophragma candollei et conséquences pour une exploitation durable* (Mémoire présenté en vue de l'obtention du grade de Master en biologie des organismes et écologie). Université Libre de Bruxelles, ULB.