

CIRAD-Forêt Département Forestier du CIRAD

RAPPORT DE MISSION DE MADAGASCAR du 27 avril au 8 mai 2001

RESULTATS DE RECHERCHES SUR LES VERGERS A GRAINES D'EUCALYPTUS ET NOUVEAUX SUJETS D'ETUDES DU PROGRAMME ARBRES ET PLANTATIONS.

Verhaegen Daniel

Juin 2001

CIRAD-Dist UNITÉ BIBLIOTHÈQUE Baillarguet



Remerciements

Il est nécessaire de rappeler l'accueil cordial qui a été fait à cette mission et remercier pour leur disponibilité et leur soutien Monsieur François Rasolo, Directeur Général, Madame Yvonne Rabenantoandro Directeur Scientifique et Monsieur Andrianirina Gervais Directeur des Services d'Appui à la Recherche du FOFIFA.

Monsieur Honoré Randrianjafy, Chef du Département des Recherches Forestières et Piscicoles, doit être remercié pour sa participation active aux discussions et aux différentes rencontres. Nos remerciements vont aussi aux différents chefs de programme et chercheurs du DRFP. Nous n'oublierons pas de remercier aussi le Chef du Département DRA ainsi que les chercheurs qui y travaillent.

Nous tenons particulièrement à remercier Gilles Chaix pour son dévouement et son efficacité tout au long du déroulement de cette mission.

Sommaire

| 1 Contexte et objectifs de la mission | 1 |
|--|----------------|
| 2 Restitution de l'ATP | 1 |
| 21 Dispositif d'étude de l'Eucalyptus à Madagascar | 1 |
| 22 Principaux résultats | 2 |
| 23 Soutenance de Madame Razafimaharo Vololoniriana | 4 |
| 3 Discussions sur les études en cours et à développer | 5 |
| 31 Etude de la variabilité génétique de Dalbergia monticola | 5 |
| 32 Projet de thèse : Etude de la variabilité génétique du Khaya madagascariensi | s 5 |
| 33 Projet de thèse : Recherche des facteurs déterminant la variation caractères énergétiques et technologiques chez les <i>Eucalyptus robusta</i> Madagascar | des de 6 |
| Personnes rencontrées | 7 |
| Calendrier de la mission | 8 |
| Anneva: Lieux de nécelte de metériel vécétal de Nalhereia menticale | |

1 Contexte et objectifs de la mission

L'objectif de la mission était de restituer à notre partenaire malgache l'ensemble des résultats obtenus au cours de l'ATP 98/20 « Utilisation de marqueurs génétiques pour l'étude de systèmes à pollinisation naturelle ou artificielle chez trois espèces tropicales pérennes ». Cette présentation a permis de discuter de l'importance des résultats obtenus sur la gestion des vergers à graines à Madagascar et des suites à donner à cette étude avec les différents partenaires (FOFIFA, SNGF).

Monsieur Serge Hamon (IRD) Directeur de thèse de Monsieur Gilles Chaix a participé à la mission pour préparer la rédaction de la thèse et des différents articles sur l'étude des flux de gènes dans un verger à graines d'Eucalyptus grandis à Madagascar.

Au cours de la mission il a été possible de participer au jury de DEA de Madame Razafimaharo Vololoniriana Poussie dont la soutenance a été organisée à l'ESSA Forêt.

L'inscription en thèse de Mademoiselle Tahiana Ramananantoandro a été évoquée avec nos différents partenaires.

La mission a également permis d'appréhender la problématique de l'évaluation, la conservation et la valorisation des ressources génétiques forestières à Madagascar. Le premier stagiaire accueilli est Monsieur Andrianoelina Andrianaivo Olivarimbola. Son stage de DEA de l'ESSA est cofinancé par le CIRAD et le SNGF. Le sujet porte sur l'étude de la diversité génétique du Dalbergia monticola (Palissandre) en forêt de la Côte Est. La discussion a également été poursuivie avec Monsieur Rakotondraoelina Hery dont le sujet de thèse sur le Khaya madagascariensis est en cours de montage.

2 Restitution de l'ATP

21 Dispositif d'étude de l'Eucalyptus à Madagascar

L'Eucalyptus grandis est une espèce originaire d'Australie qui appartient au sous-genre Symphyomyrtus. L'aire naturelle est discontinue, la majeure partie se trouve entre 33 et 26° de latitude Sud dans les états du New South Wales et du Queensland. L'espèce est pratiquement absente jusqu'à 18° Sud où elle réapparaît avec une distribution très morcelée. Les conditions climatiques de ces régions sont très contrastées puisque la température moyenne varie de 14° à 22°C et les précipitations annuelles de 700 à 2500 mm/an. C'est une espèce à croissance rapide pouvant atteindre 75 mètres. A la base du tronc, sur les deux ou trois premiers mètres, l'écorce est brune et rugueuse, mais sur le reste du tronc et des branches l'écorce est lisse de couleur blanche ou gris bleue. C'est une espèce dont le bois clair est relativement moins dense que les autres espèces d'Eucalyptus et qui peut être utilisée pour la pâte à papier, le charbon de bois et le sciage.

Eucalyptus grandis est l'une des espèces majeures utilisées en reboisement. Elle couvre probablement plus de trois millions d'hectares dans la zone subtropicale et est utilisée à la fois pour la production de bois de trituration (papier, viscose) et de bois de chauffe. Sa production est exceptionnellement forte, autour de 20-30 m³/ha/an couramment, mais atteignant souvent 40 à 50 m³/ha/an. Les programmes principaux d'amélioration

génétique de part le monde (Brésil, Congo, Afrique du Sud) utilisent cette espèce pour sa valeur en croisement dans la production d'hybrides inter-spécifiques. L'importance de cette espèce est indéniable pour Madagascar. Celle-ci convient au reboisement pour la moitié du pays allant des Hautes Terres, la zone la plus peuplée avec une couverture forestière très faible, à toute la façade est de l'Ile fortement arrosée et représentant la zone potentielle de production ligneuse. Pour illustrer, les ventes de semences à Madagascar atteignent 35 kg par an pour cette espèce et avoisinent les 300 kg annuel pour l'ensemble du genre.

Le verger à graines d'Andranokobaka est constitué de 243 individus issus de 12 descendances libres provenants de 4 provenances récoltées dans l'aire naturelle de l'espèce (Atherton, Tinaroo, Ravenshoe et Paluma) et 1 provenance malgache. Il a été planté en 1987 et couvre une surface de 0,6 ha. Le dispositif retenu est en bloc monoarbre avec 40 répétitions. L'essai a été inventorié (circonférence et hauteur totale) à plusieurs reprises : 14, 27, 61, 10, 110, et 126 mois. Après élimination du traitement 5, il reste actuellement 11 descendances libres dans le verger.

Le dispositif planté à Andranokobaka doit permettre de se rapprocher des conditions du mode de reproduction idéal qui résulte du hasard des rencontres des individus et de leurs gamètes (panmixie). La disposition des individus sur le terrain a été faite après randomisation des provenances et des familles.

Les marqueurs microsatellites ont été choisis en raison de leur disponibilité et de leur variabilité génétique élevé. Les études portent sur la caractérisation de tous les arbres du verger, puis sur la caractérisation de 60 descendants d'une dizaine d'arbres mères choisis pour leurs origines génétiques. Les empreintes génétiques des arbres mères, de tous les pères potentiels et des descendants ont été utilisées pour retrouver et quantifier le succès reproducteur des géniteurs mâles. Ces résultats ont permis de mesurer les écarts à la panmixie observés dans le verger. Ils seront utilisés par la suite pour comparer la qualité des variétés produites naturellement et artificiellement par pollinisation contrôlée.

22 Principaux résultats

Le polymorphisme élevé des microsatellites, avec 13,8 allèles par locus, permet de différencier 222 individus avec seulement 5 locus marqueurs; seulement 6 paires d'individus ne peuvent pas être distingués. L'efficacité de ce type de marqueurs est ainsi démontrée pour ce type d'étude. Ce résultat n'aurait pas pu être obtenu avec les isozymes dont le polymorphisme est généralement beaucoup plus faible. Les marqueurs utilisés ont également permis de détecter des descendants illégitimes sur les quatre familles étudiées. Les mélanges ont pu se produire lors des différentes étapes de récolte des graines, de semis, de repiquage des plants, mais aussi lors de la récolte des feuilles, de l'extraction de l'ADN, de l'amplification, du dépôt sur les gels et de la saisie des données.

Avec 5 locus marqueurs, les probabilités d'exclusion permettent une recherche de paternité efficace chez l'Eucalyptus grandis. Cependant le logiciel utilisé présente certaines limites, il serait intéressant de comparer différents logiciels de recherche de paternité. Avec le logiciel utilisé environ 1/3 des pères est identifié avec un seuil non satisfaisant. Ce résultat peut être relié au déficit d'hétérozygotie observé dans le verger à graines. L'apport d'un ou deux locus microsatellites supplémentaires aurait probablement permis de lever ces ambiguïtés.

Les différents résultats obtenus montrent l'importance de la composition initiale des vergers à graines. La randomisation des différentes provenances semble un facteur important pour optimiser le brassage génétique.

Cependant un déséquilibre du nombre de représentants d'une provenance ou d'une descendance se traduit par une participation plus importante à la pollinisation. Ce résultat peut entraîner une augmentation de la consanguinité et donc une perte de vigueur des variétés produites, notamment si les arbres du verger sont apparentés.

Un décalage de floraison d'une provenance ou d'une descendance se traduit par une diminution ou une absence de participation à la fécondation de ces individus. Même bien représentés, les individus très précoces ou tardifs ont moins de chance de participer à la pollinisation totale. De ce fait, il existe également une augmentation de croisements préférentiels entre individus avec la même phénologie. Malheureusement ce caractère n'est souvent connu qu'après la plantation du verger.

Les plus proches voisins de l'arbre mère ont la même probabilité de participer à la pollinisation que les arbres éloignés. Les pères identifiés se répartissent régulièrement sur l'ensemble de la parcelle expérimentale. Cependant lorsqu'un voisin participe à la pollinisation, il semble produire un nombre plus important de descendants. Ce résultat est peut être à mettre en relation avec le déplacement des insectes pollinisateurs, mais reste à vérifier.

L'analyse de la direction de pollinisation sur les arbres mères étudiés ne met pas en évidence un sens de pollinisation préférentiel. On trouve sensiblement le même nombre de descendants dans les quatre secteurs de l'arbre mère « moyen ».

La détermination exacte de la provenance du pollen extérieur au verger reste un problème à résoudre. Du fait de l'absence des données de marquage sur les arbres de bordure ainsi que sur les arbres à proximité du verger deux types d'analyses ont été initiées et doivent être approfondies.

Une analyse sur la fréquence allélique du pollen extérieur au verger et en particulier l'analyse des fréquences des allèles rares laisse supposer qu'une hybridation interspécifique est probable. En effet certains descendants cumulent des allèles rares très différents de la plage de variation observée sur le verger. Il est peu probable que ces allèles proviennent de la bordure dont l'origine est commune aux différentes provenances présentes dans le verger. Une méthode d'analyse de distribution et cumul d'allèles rares par rapport à la distribution des allèles du verger devrait être approfondie pour valider cette hypothèse. Une méthode d'échantillonnage hors de la parcelle permettrait également de vérifier si le pollen

vient de l'extérieur ou de la bordure. Une méthode de simulation peut également être envisagée pour estimer le succès reproducteur des pères extra-parcelle.

Par opposition à cette première hypothèse, une analyse en données haploïdes, montre que le nuage pollinique paternel efficace semble très peu différent du nuage pollinique total produit par le verger. En effet le calcul du Gst (équivalent au Fst en données diploïdes) est proche de 1 % (Gst = 0,0098 données haploïdes non présentées). Il n'apparaît donc pas de structuration entre les deux types de nuage pollinique. Les allèles rares peuvent donc être présents dans le verger et notamment dans les arbres de bordure.

Les distances moyennes de pollinisation trouvées lors de cette étude sont environ de 30 à 40 m. Ce résultat confirme celui trouvé par isozymes avec *E regnans*. Par contre les taux d'autogamie trouvés à Andranokobaka sur cinq arbres mères sont très faibles et différents des résultats trouvés dans la littérature. Un échantillonnage plus important doit être réalisé pour améliorer l'estimation de ce taux car il existe souvent pour ce caractère un effet maternel très fort.

L'ensemble de ces résultats reste cependant à confirmer sur un plus grand nombre d'arbres mères, notamment pour les paramètres de génétique des populations de descendants. L'étude d'une autre année de pollinisation permettrait également de compléter les informations et de déterminer plus précisément les flux de pollen extérieur, la bordure ayant été éliminée en 1998. Ces résultats obtenus sont peut être à mettre en relation avec la faible taille du verger à graines étudié et l'isolation plus ou moins bonne de cette parcelle. Ces résultats seraient ils identiques en étudiant un verger plus étendu?

23 Soutenance de Madame Razafimaharo Vololoniriana

Principales remarques lors de la soutenance

Le rapport manuscrit présente la place des Eucalyptus dans les reboisements et l'utilisation du bois à Madagascar. Il aurait été intéressant de décrire les principales espèces introduites et leurs potentialités de croissance et ainsi montrer la grande plasticité de ces espèces dans les différentes conditions écologiques de l'île.

La description des modes de constitution des vergers à graines permet de comprendre le principe de production grainière d'Eucalyptus. La variété produite est une variété population produite par la multiplication en masse d'une population artificielle avec ou sans sélection. La comparaison avec les autres méthodes de création variétale (variétés: synthétiques, hybrides, lignées, clones) aurait permis de bien mettre en évidence l'intérêt de ces variétés. En effet les variétés populations sont bien adaptées à leur milieu et y sont stables. L'agriculteur peut s'auto-approvisionner. Elles ont une large base génétique et offrent une large souplesse d'adaptation. Le progrès génétique n'est pas maximisé, cependant avec les espèces forestières les premiers gains sont importants car le matériel de base est sauvage et la première génération réduit le fardeau génétique par rupture des cercles de consanguinité.

La compréhension du mode de fonctionnement des vergers à graines est essentielle pour garantir la qualité des variétés produites. En effet, ces variétés sont produites sous l'hypothèse de la panmixie. Le régime de reproduction permet la rencontre au hasard des gamètes mâles et femelles. Or il existe de nombreuses causes qui peuvent perturber cette hypothèse. Cette perturbation peut conduire à produire des variétés sans aucun intérêt pour le développement. Cette étude permet d'apporter des éléments de réponse chiffrés sur les écarts observés par rapport à cette hypothèse.

3 Discussions sur les études en cours et à développer

31 Etude de la variabilité génétique de Dalbergia monticola

Cette étude concerne un étudiant malgache Monsieur Andrianoelina Andrianaivo Olivarimbola qui a obtenu une bourse du CIRAD et dont une partie des activités sera également financée par le SNGF.

A Madagascar, le nom de Palissandre désigne différentes espèces appartenant toutes au genre Dalbergia. Les palissandres sont parmi les espèces de la forêt naturelle les plus recherchées pour leur qualité technologiques et l'esthétique de leur bois et sont ainsi exploitées et exportées depuis de nombreuses années.

Parmi les 43 espèces actuellement identifiées certaines sont dans un état de danger critique compte tenu de leur rareté à l'état naturel et des différentes menaces pesant sur leurs écosystèmes forestiers, citons l'agriculture sur brûlis qui est la principale cause de déforestation, mais aussi les feux de brousse et la surexploitation. La monographie nationale sur la biodiversité fait ressortir les menaces qui pèsent sur les différentes espèces de palissandres.

Dans ce cadre le stage concerne l'étude de *Dalbergia monticola*, la ressource existante, les pratiques sylvicoles et la diversité génétique estimée avec les marqueurs moléculaires. Ce stage s'inscrit dans le cadre d'un DEA de l'ESSA Forêt en co-tutelle avec le SNGF et le CIRAD Forêt. Le plan de récolte des échantillons réalisé par cet étudiant est donné en annexe de ce rapport.

32 Projet de thèse : Etude de la variabilité génétique du Khaya madagascariensis.

Ce projet de thèse concerne un chercheur du FOFIFA Monsieur Rakotondraoelina Hery qui doit finaliser son plan d'échantillonnage et rédiger un pré projet de thèse.

A Madagascar, le Khaya madagascariensis est une espèce endémique dont le maintien en milieu naturel est très menacé par la surexploitation, les feux de brousse et l'agriculture sur brûlis. C'est une espèce forestière majeure produisant des revenus économiques importants. Son bois est principalement utilisé comme bois d'œuvre et est actuellement exporté vers les îles de l'océan indien.

UNITÉ BIBLIOTHÈQUE Baillarguet A l'avenir, dans le contexte de la nouvelle politique de l'environnement et notamment de la gestion décentralisée des ressources renouvelables et de la politique forestière récemment mise en place, les plantations de *Khaya madagascariensis* pourront jouer un rôle important dans la pérennisation des revenus des communautés locales gestionnaires de ces ressources phytogénétiques forestières.

Il apparaît donc important aujourd'hui de poursuivre les recherches démarrées par le DRFP/FOFIFA sur la conservation *in situ* et *ex situ* et sur la domestication de cette espèce.

Des études avec les marqueurs moléculaires seront réalisées afin de déterminer la structuration génétique de l'espèce, de vérifier les flux de gènes et essayer d'estimer l'impact de l'activité humaine sur la réduction de la diversité génétique de l'espèce. Pour la structuration de la diversité génétique, l'utilisation de marqueurs RAPD ou chloroplastiques pourra convenir. Pour l'étude des flux de gènes et une approche plus complète et plus fiable de la diversité génétique la mise au point de marqueurs microsatellites pourra être envisagée.

33 Projet de thèse : Recherche des facteurs déterminant la variation des caractères énergétiques et technologiques chez les *Eucalyptus robusta* de Madagascar

Ce projet concerne une étudiante actuellement en stage au laboratoire de technologie des bois Mademoiselle Tahiana Ramanantoandro

Le bois constitue la principale source d'énergie à Madagascar. Les besoins ne cessent de croître de telles sortes que les ressources se font de plus en plus rares. D'un autre côté, les bois d'œuvre produites sont de mauvaise qualité. En plus des évaluations habituellement réalisées sur les caractères de croissance, de survie et de forme des arbres, on est donc conduit à étayer les observations sur la qualité du bois afin d'améliorer la variété produite au regard des qualités requises.

L'objectif de la thèse est d'identifier les facteurs influençant le pouvoir énergétique et les caractères technologiques d'intérêt chez les *Eucalyptus robusta*.

Parmi les centaines d'espèces introduites, la recherche sera axée sur les *Eucalyptus robusta* du fait de l'étendue des plantations réalisées (environ le tiers des formations artificielles actuelles), de la plasticité et de la bonne adaptation de cette espèce. Par ailleurs, elle est utilisée comme combustible à grande échelle grâce à ses bonnes propriétés calorifiques.

Ce projet présente un caractère innovant dans le domaine conjoint de la génétique forestière et des sciences du bois. Peu d'études ont été faites sur l'identification des gênes au niveau des arbres forestiers, plus particulièrement en ce qui concerne les

caractères du bois. Les seules études réalisées étaient axées uniquement sur la propriété du bois qu'est la densité (propriété très "intégratrice")

Dans un cadre plus large, ce sujet présente un grand avantage dans l'optimisation des programmes d'amélioration génétique à Madagascar, dans une vue de produire des variétés combinant les qualités requises. L'identification des facteurs déterminant les propriétés du bois permettra d'accroître l'efficacité des sélections dans les vergers d'amélioration, de faciliter et de réduire les coûts des mesures.

L'approche méthodologique sera d'abord conduite sur des individus issus de croisement interspécifique d'Eucalyptus grandis x Eucalyptus urophylla provenant du Congo. L'état des connaissances sur ce peuplement est plus avancé, les cartes génétiques des parents sont déjà établies et les études ont été amorcées dans le cadre du mémoire de DEA. Cette approche permettra de transférer rapidement des connaissances importantes et d'accélérer les transferts de technologie. Il s'agira de mesurer les caractères énergétiques et technologiques (contrainte de croissance, retraits, module d'élasticité, fissilité) sur chaque descendant, d'étudier leur variation, puis d'identifier les gênes qui y sont associés.

Les résultats ainsi obtenus seront ensuite une aide majeure pour faciliter et accélérer l'étude des facteurs déterminants la variation des ces caractères au niveau d'une famille de demi-frère d'Eucalyptus robusta à Madagascar. On pourra ainsi par la suite développer des lignées qualitativement améliorées pour les plantations à grande échelle ou pour les reboisements locaux.

Personnes rencontrées

| Mr Rasolo Mme Rabenantoandro | François Yvonne | Directeur Général Directeur Scientifique | FOFIFA FOFIFA | |
|---------------------------------|---------------------------------|---|-------------------|--|
| Mr Andrianirina | Gervais | Directeur des services | FOFIFA | |
| | | d'appui à la recherche | | |
| Mr Randrianjafy | Honoré | Chef de Département | FOFIFA / DRFP | |
| Mme Randriambolanoro | Léa | Chef de Département | FOFIFA / DRA | |
| Mr Rakotovao | Georges | Responsable Division | FOFIFA / DRFP | |
| | | Technologie | | |
| Mme Rakotovao | Zoeliarisoa | Responsable Laboratoire | FOFIFA / DRFP | |
| Ramasiarivelo | | de Génétique | | |
| Mr Rakotondraoelina | Hery | Chercheur en génétique | FOFIFA / DRFP | |
| Mr Rakotomalala | Jean Jacques | Responsable Programme | FOFIFA / DRA | |
| | Coton - Ressources génétiques - | | | |
| Mr Chaix G | illes C | Chercheur Arbres et | FOFIFA/CIRAD | |
| | | Plantations | | |
| Mme Ramamonjisoa | Lolona | Responsable Amélioration | Silo National des | |

| | Ranaivoson | | Génétique | Graines Forestières | |
|----|--------------|------------|--|----------------------------------|--|
| Mr | Clément | Jean | Représentant régional | FAO | |
| Mr | Messager | Jean-Louis | Délégué du CIRAD | CIRAD | |
| Mr | Partiot | Michel | Appui à la Programmation Scientifique du FOFIFA | FAC | |
| Mr | Ramamonjisoa | Bruno | Maître de conférence | ESSA-forêt | |
| Mr | Ramamonjisoa | Daniel | Maître de Conférence | Université de | |
| | | | Biochimie et Biotechnologi | nie et Biotechnologie Tananarive | |
| Mr | Rakatonarivo | Georges | Directeur | WWF- Madagascar | |
| Mr | Montagne | Pierre | Chercheur | DRFP: Cirad-forêt | |

Calendrier de la mission

Vendredi 27 avril 2001 : Voyage Montpellier Tananarive. Arrivée à 23 heures à Tananarive

Samedi 28 avril 2001 : Départ pour Tamatave. Visite des essais d'Andranokobaka et de Mahela

Dimanche 29 avril 2001 : Visite des essais d'Ivoloina et de Mahela. Retour sur Tananarive

Lundi 30 avril 2001 : Rencontre avec le Chef de Département du DRFP. Discussions du DEA avec madame Razafimaharo Vololoniriana. Discussion sur la thèse de Gilles Chaix.

Mardi 1 mai 2001 : Discussions sur le projet UE Ligne Forêt Tropicale avec Pierre Montagne, Alain Bertrand et Gilles Chaix.

Mercredi 2 mai 2001 : Préparation de la soutenance de madame Razafimaharo Vololoniriana. Rencontre avec Jean Jacques Rakotomalala chercheur au DRA.

Jeudi 3 mai 2001 : Rencontre avec le Directeur Général et la Directrice Scientifique du FOFIFA. Préparation de la soutenance madame Razafimaharo Vololoniriana.

Vendredi 4 mai 2001 : Rencontre Professeur Rakotozandriny et Dr Ramamonjisoa Bruno et Dr Ramamonjisoa Daniel. Soutenance du DEA à l'ESSA Forêt de madame Razafimaharo Vololoniriana. Discussions avec madame Lolona Ramamonjisoa et Andrianoelina Andrianaivo Olivarimbola

Samedi 5 mai 2001 : Travail sur Ambatobe thèse de Gilles Chaix

Dimanche 6 mai 2001 : Journée libre Visite d'Ampefy.

Lundi 7 mai 2001 : Restitution au FOFIFA de l'ATP Verger à graines. Départ pour

Montpellier

Mardi 8 mai 2001 : Arrivée à Montpellier 15 heures.

CIRAD-Dist UNITÉ BIBLIOTHÈQUE Baillarguet

Figure 1 : Lieu de récolte de Dalbergia monticola

