

PRÉSENTATION GÉNÉRALE	2
I. MATÉRIELS ET MÉTHODES	3
A. Matériels	3
1. <i>Vouacapoua americana</i> (Caesalpinaceae)	3
2. Le dispositif sylvicole expérimental de Paracou	5
B. Méthodes	5
1. Récolte des échantillons	5
2. Traitement des échantillons	6
3. Méthodes d'analyses	8
a) Données génétiques brutes	8
b) Analyse de parenté	8
c) Distance de dissémination des graines	9
d) Etude de la structure spatiale génétique	9
e) Coefficient d'apparentement et autocorrélation spatiale	10
II. RÉSULTATS ET DISCUSSION	10
A. Traitement des échantillons	10
B. Données génétiques	10
1. Le jeu de données	10
2. Test de la valeur des paramètres de polymorphisme	11
3. Nombre moyen d'allèles	12
C. Analyse de parenté	15
1. Calcul de la probabilité d'exclusion	15
2. Analyse de parenté	15
D. Distance de dissémination des graines	16
E. Structuration spatiale	18
F. Autocorrélation spatiale	20
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	23
BIBLIOGRAPHIE	24

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Figure 1 : Planche descriptive de <i>Vouacapoua americana</i> .	3
Figure 2 : Agouti (<i>Dasyprocta leporina</i>) (source: M. Dugas).	4
Figure 3 : Carte de la Guyane et du dispositif sylvicole expérimental de Paracou.	5
Figure 4 : Cartographie de la population de <i>Vouacapoua americana</i> sur les 30 ha de la parcelle 16 (étendue) du dispositif de Paracou.	6
Figure 5 : Histogramme du nombre moyen d'allèles en fonction des classes de diamètre.	13
Figure 6: Carte de répartition des individus Wacapou sur la parcelle 16 (étendue), en fonction de 5 classes de diamètre.	14
Figure 7 : Carte du nord de la parcelle 16 (étendue) représentant les individus Wacapou en fonction de leur diamètre et de leurs liens de parenté.	17
Figure 8 : Représentation de tous les individus adultes de la parcelle 16 (étendue), génétiquement compatibles avec l'arbre A.	18
Figure 9 : Carte de répartition des individus en fonction du nombre de copies de l'allèle 264 du locus Wac 1.	19
Figure 10 : Conséquences de différents modes de recolonisation sur l'organisation de la diversité cytoplasmique.	20
Figure 11 : Exemple de la variation du coefficient d'apparentement entre paires d'individus en fonction du logarithme de la distance sur la parcelle 16 : juvéniles (A), individus supérieurs à 20 cm de diamètre (B).	21
Tableau 1 : Caractéristiques des locus microsatellites utilisés.	7
Tableau 2 : Allèles obtenus sur 7 locus, fréquence allélique, l'effectif (N) dans chaque locus.	11

Présentation générale

Les connaissances sur la diversité génétique des espèces ligneuses tropicales sont encore très limitées (Murawski, 1995) malgré leur fort intérêt économique. Les forêts tropicales se caractérisent par une richesse spécifique élevée (jusque 300 espèces d'arbres/ha en Amazonie péruvienne (Gentry, 1992)) à l'inverse des forêts tempérées. Les espèces tropicales se répartissent souvent de manière agrégative (Doligez, 1996 ; Collinet, 1997) comme c'est le cas pour le *Vouacapoua americana* (Aublet) (Wacapou).

La forêt recouvre plus de 90% du territoire de la Guyane française. Les besoins de l'ONF pour l'étude de l'impact de l'exploitation sur la forêt ont nécessité la mise en place par le CIRAD en 1984 d'un dispositif sylvicole expérimental sur le site de Paracou. Cela a permis le développement de nombreuses thématiques et de nouvelles approches (génétique, écophysiologique, écologique...). L'un des axes de recherche du « Laboratoire de Génétique et Ecologie Moléculaire » du Cirad-Forêt/INRA en Guyane porte sur l'étude des mécanismes de la diversité génétique en forêt non perturbée. Quinze espèces modèles, recouvrant une large gamme d'attributs biologiques et écologiques, ont été choisies pour étudier le régime de reproduction, les flux de gènes et la structuration de la diversité génétique dans l'espace et dans le temps. *Vouacapoua americana* est une de ces espèces. La distribution spatiale des individus de *V. americana* est en plaques (Schulz, 1960 ; Collinet, 1997 ; Forget *et al.*, 1999), et la dissémination des graines s'opère à faible distance (Forget, 1990; Forget, 1994).

L'objectif du stage de DEA est d'étudier les relations de parenté entre les individus constituant une plaque, dans une parcelle du dispositif de Paracou (parcelle 16), d'estimer la distance maximale de dissémination des graines sur cette parcelle ainsi que d'analyser la structuration de la diversité génétique au sein d'une plaque. Pour cela, nous avons constitué un jeu de données génétiques multialléliques et multilocus spatialisé à partir des individus de la plaque de la parcelle 16. Nous avons utilisé comme marqueurs moléculaires les microsatellites qui sont nucléaires, neutres, spécifiques de locus, codominants et polymorphes (de Vienne, 1988). Ils sont les mieux adaptés pour ce type d'étude (Dow *et al.*, 1996; Smouse *et al.*, 1999; Streiff *et al.*, 1998; Ziegenhagen *et al.*, 1998). Après avoir présenté les caractéristiques de l'espèce étudiée, du site d'étude et des méthodes utilisées, nous présenterons les différents résultats obtenus afin de les discuter.

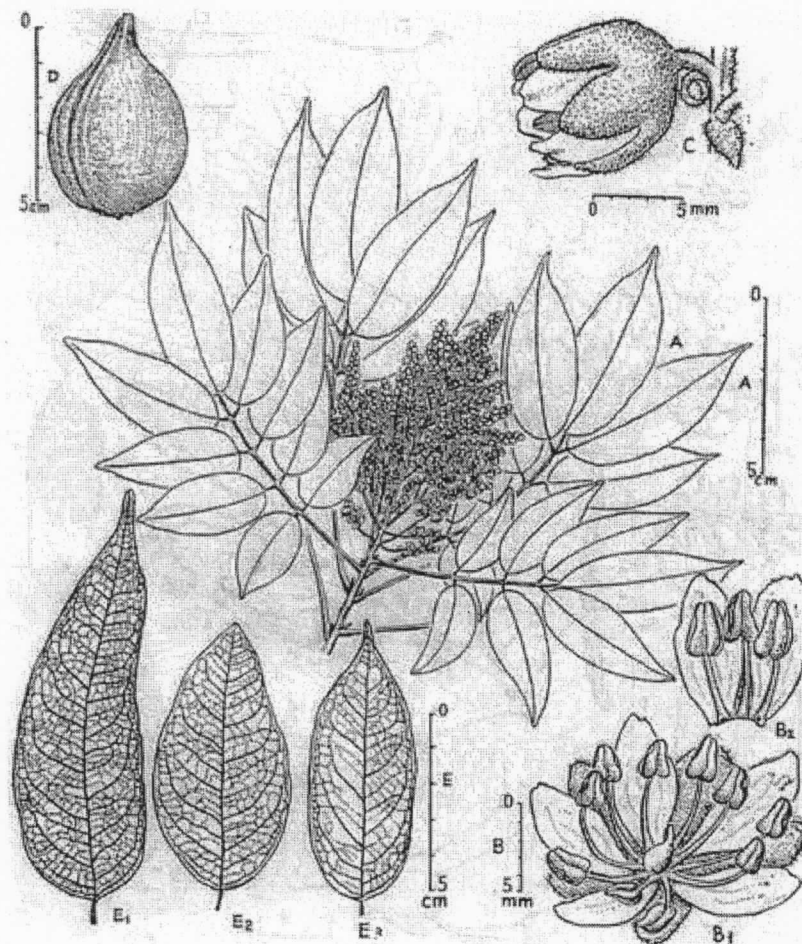
I. MATERIELS ET METHODES

A. Matériels

1. *Vouacapoua americana* (Caesalpinaceae)

C'est une espèce commerciale, dont le bois a de bonnes qualités physiques et mécaniques. Elle admet une aire de répartition allant du sud des états de l'Amapa et du Para au Brésil au nord du plateau des Guyanes. On la trouve en larges plaques sur des plateaux à sols latéritiques et en haut de versants.

Collinet (1997) et Forget *et al.* (1999) ont détecté une échelle d'agrégation de l'ordre de quelques dizaines de mètres. La faible distance de dissémination des graines pourrait être à l'origine de cette création de plaques d'individus apparentés. *V. americana* est une angiosperme de la famille des Caesalpinaceae, hermaphrodite, diploïde, qui produit des fruits de type gousse contenant une graine.



Vouacapoua americana — Bruinhart

Figure 1 : Planche descriptive de *Vouacapoua americana*.

A maturité, les fruits tombent au pied de l'arbre maternel libérant la graine. Avant germination, une partie de ces graines est dispersée par des rongeurs, en particulier l'agouti (*Dasyprocta leporina*) et l'acouchi (*Myoprocta exilis*).



Figure 2 : Agouti (*Dasyprocta leporina*) (source: M. Dugas).

Ces animaux les enterrent en prévision d'une consommation ultérieure. Cependant, il arrive qu'elles soient abandonnées pour différentes raisons (mort du disséminateur, ...). La distance de dissémination est comprise entre 10 et 50 mètres (Forget, 1990). Il existe toutefois des disséminations à plus longue distance pouvant atteindre les 100 mètres décrites par S. Traissac (*com. pers.*) lors de l'observation d'individus juvéniles isolés à plus de 100 mètres d'un individu adulte.

Le taux d'allofécondation de cette espèce est estimé à 60% par Caron *et al.* (2000). Cependant, il a été sous estimé à cause du faible nombre de locus et d'allèles utilisés (Caron, 2000).

La croissance lente de *V. americana* est caractéristique de beaucoup d'autres espèces de la forêt guyanaise (Favrichon, 1994). Cette vitesse de croissance varie selon la classe de diamètre considérée, les années, les conditions environnementales et les traitements sylvicoles appliqués (Gourlet-Fleury, 2000). Il est alors difficile d'établir une relation simple entre diamètre et âge de l'arbre. Toutefois, des arbres dont le diamètre, à 1,30 mètre du sol, est supérieur à 25 cm sont considérés comme reproducteurs. D'après les travaux de Caron *et al.* (in prep.), les diamètres minima de floraison et de fructification sont respectivement de 19 et 24 cm.

2. Le dispositif sylvicole expérimental de Paracou

La parcelle 16 mise en place en 1992 en tant que parcelle témoin, est inventoriée sur l'ensemble de ses 25 ha. Par la suite, S. Traissac (1998) étudiant de l'université Claude Bernard à Lyon, en thèse au Cirad-forêt, a cartographié tous les individus Wacapou dont le diamètre au collet s'étend de 1 à 10 cm. De plus, la cartographie a été récemment étendue de 5 ha vers le sud, pour les individus Wacapou dont le diamètre est supérieur à 1 cm au collet. Nous nous sommes basés sur cet inventaire (30 ha) pour la campagne de prélèvement des échantillons. Au total, 815 individus sont cartographiés (figure 3).

Ils se répartissent de la manière suivante : 483 juvéniles (entre 1 et 10 cm de diamètre au collet), 116 préadultes (entre 10 et 25 cm) et 216 adultes (supérieur ou égale à 25cm)

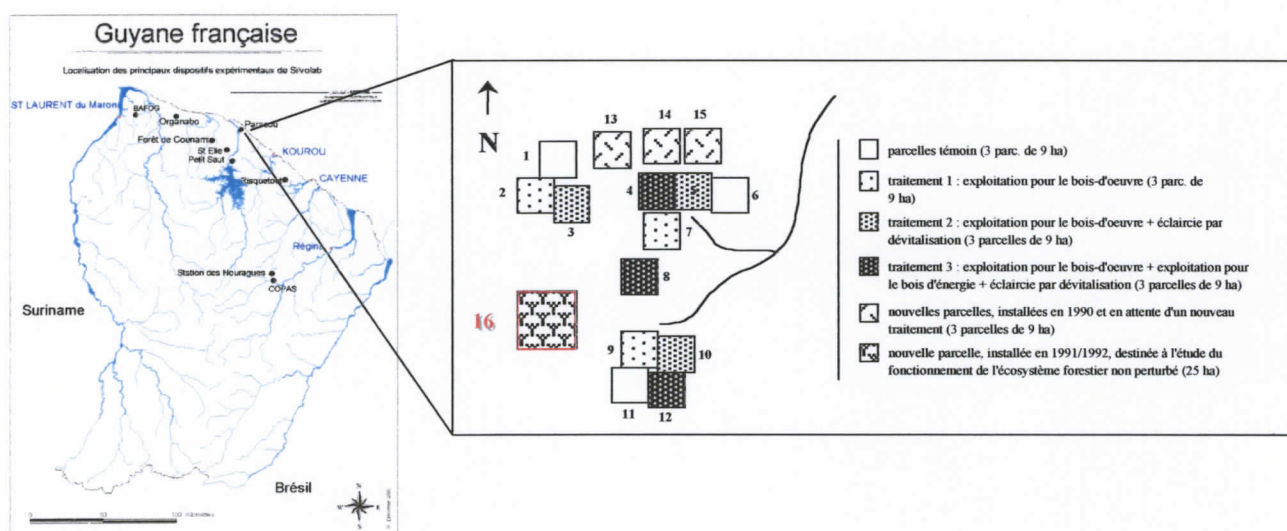


Figure 3 : Carte de la Guyane et du dispositif sylvicole expérimental de Paracou.

B. Méthodes

1. Récolte des échantillons

Lors de mon séjour (05/03/01 au 16/06/01) en Guyane française, tous les individus Wacapou ont été récoltés sur les 30 ha de la parcelle 16 (cf. figure 4) avec l'appui des ouvriers du Cirad-Forêt. Les feuilles ont été récoltées à la main quand elles étaient accessibles. Pour les plus grands individus, les feuilles ont été récupérées à l'aide d'un fusil calibre 12 et de cartouches de plombs 2/0. Une branche touffue était visée par le premier observateur et le deuxième était chargé de suivre des yeux un rameau jusqu'au sol. L'échantillon clairement identifié était emballé dans une feuille d'aluminium et dûment numéroté.

Distances (mètres)

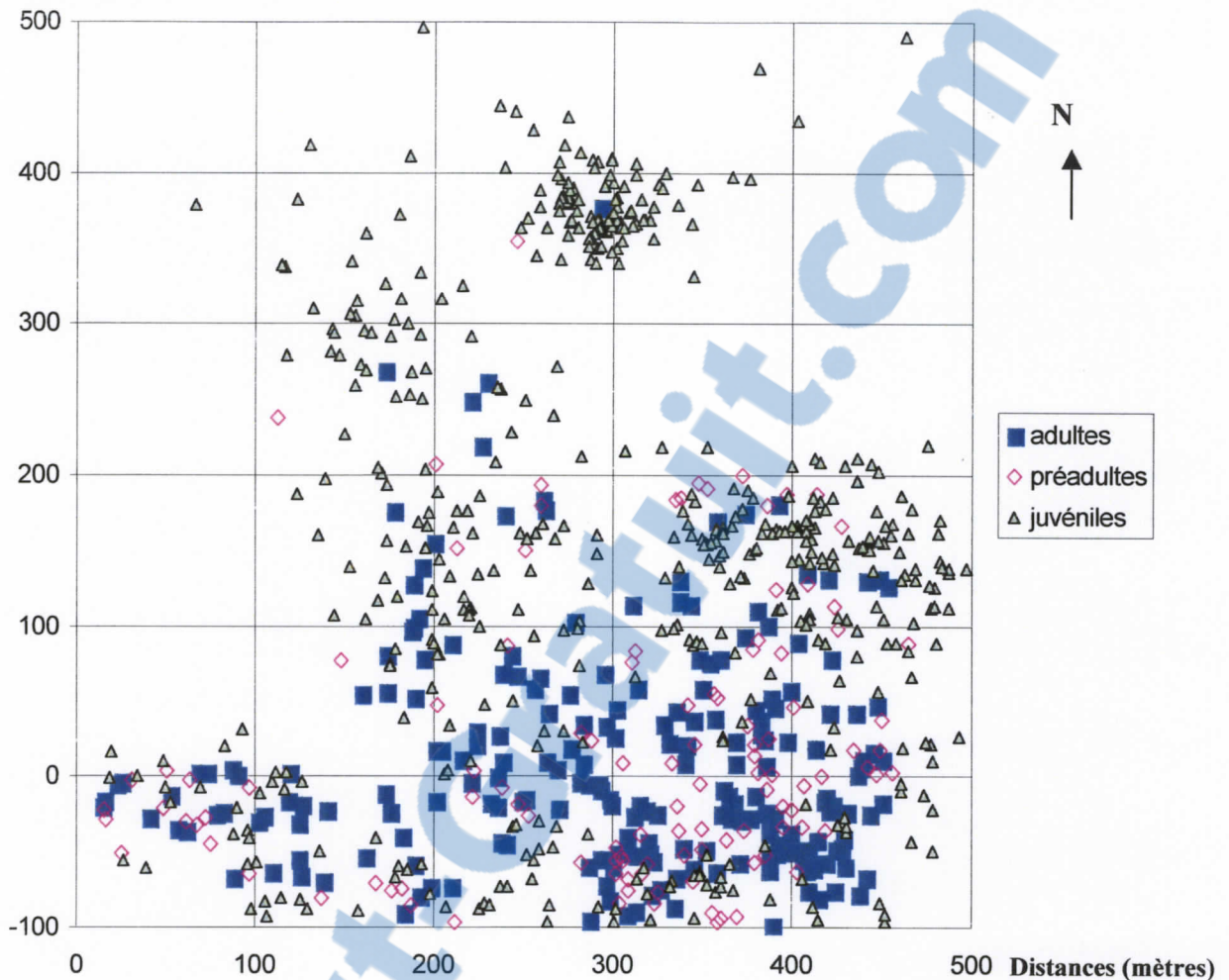


Figure 4 : Cartographie de la population de *Vouacapoua americana* sur les 30 ha de la parcelle 16 (étendue) du dispositif de Paracou.

2. Traitement des échantillons

L'ADN des 815 échantillons ainsi prélevés et conservés au laboratoire à -80°C a été extrait suivant la méthode d'extraction d'ADN total préconisée par Bousqué *et al.* (1991). Un dosage semi-quantitatif sur gel d'agarose à 2% et une dilution à $2\text{ng}/\mu\text{l}$ ont été opérés avant l'amplification par PCR (Polymerase Chain Reaction) des différents locus microsatellites. Parmi les 9 locus microsatellites mis au point par C. Dutech *et al.* (2000a), 7 ont été maintenus pour l'étude (bandes parasites provenant des deux autres locus) (Tableau 1).

Ces 7 locus ont été amplifiés sur l'ensemble des individus dont le diamètre est supérieur à 10 cm. Pour les autres, les contraintes de temps nous ont limités et un échantillonnage a été réalisé. Ainsi, sur les 30 ha de la parcelle 16 quadrillée en 30 carrés de 100 mètres de côté, nous avons appliqué une grille de 480 carrés de 25 mètres de côté. Dans chacun des carrés, nous avons tiré un juvénile au hasard. Lorsque le carré était vide, pas de

tirage, si le carré contenait un seul individu, il était tiré et lorsque plusieurs juvéniles se trouvaient dans le carré, un nombre aléatoire à 6 décimales généré sous le tableur Microsoft® EXCEL 97 était attribué à chacun d'entre eux. L'individu possédant le plus grand nombre était désigné. Cette stratégie permet de sélectionner les juvéniles suivant le critère de densité. Ce choix de stratégie a été orienté suivant nos connaissances sur la biologie de la reproduction de l'espèce. Les données génétiques récupérées sur cette classe de diamètre ne concernent que 4 des 7 locus. En effet, pour des raisons purement techniques liées à des problèmes de matériel (analyseur génétique), le jeu de données n'a pas pu être constitué entièrement. Les données manquantes restent accessibles puisque tous les individus sont prêts pour l'amplification.

Tableau 1 : Caractéristiques des locus microsatellites utilisés.

Locus	Taille (bp)	Motif	Numéro d'accèsion GenBank
Wac 1	267	(GA) ₂₇	AF 224764
Wac 3	251	(AG) ₁₅	AF 224765
Wac 5	201	(AG) ₁₅	AF 224766
Wac 7	306	(GA) ₁₃	AF 224767
Wac 12	220	(GA) ₁₀ G (GA) ₂	AF 224769
Wac 13	148	(AG) ₁₃	AF 224770
Wac 14	277	(GA) ₄ GG(GA) ₄ GG(GA) ₅	AF 224771

Les profils alléliques de chaque individu ont été obtenus à l'aide d'un analyseur génétique mono-capillaire ABI Prism 310 Collection de la société Applied Biosystems. Les données ont été automatiquement traitées par le programme Genscan 2.0 de la société Applied Biosystems afin de lire les profils électrophorétiques et d'attribuer le poids moléculaire aux différents pics. La lecture des génotypes, réalisée automatiquement après calibration par le programme ABI PRISM™ Genotyper 2.0 de la société Applied Biosystems, a été confirmée visuellement. Lors de la lecture, les profils non caractéristiques ont été localisés et le génotype a été attribué manuellement. Les données sont ensuite exportables sous forme de tableau dans un tableur de Type Microsoft® Excel.

3. Méthodes d'analyses

a) Données génétiques brutes

A partir du tableau de données brutes, le programme GENETIX¹ a servi pour la détermination de la fréquence allélique dans la population et pour le test de la valeur des paramètres de polymorphisme [Hexp = hétérozygotie attendue sous l'hypothèse d'équilibre de Hardy-Weinberg, Hobs = hétérozygotie observée]. Afin de tester l'hypothèse de l'existence d'une structuration du pool allélique, nous avons calculé le nombre moyen d'allèles par locus. La population est divisée en 13 classes en fonction du diamètre (de 1 à 100 cm) des individus. Le calcul est réalisé sur les 4 locus (Wac 1, Wac 3, Wac 7, Wac 13) communs à tous les diamètres. Le choix pour la taille des différentes classes a été réalisé de manière arbitraire tout en respectant un effectif d'au moins 15 individus par classe. Afin de tester s'il existe une différence significative entre deux classes, nous avons réalisé un test non paramétrique de comparaison de moyennes en tenant compte des ex-aequos, le test de Wilcoxon (Mann-Whitney), à l'aide du programme R version 1.1.1². Deux échantillons composés des valeurs du nombre moyen d'allèles par locus pour des classes de diamètres inférieurs à 50 cm pour l'un et supérieurs à 50 cm pour l'autre, ont été définis.

b) Analyse de parenté

Afin d'estimer la capacité des marqueurs microsatellites dans l'analyse de parenté, nous avons utilisé la méthode décrite par S. Gerber (2000). Nous avons réalisé le calcul à partir des fréquences alléliques. Nous avons utilisé la formule de l'exclusion de parents employée lors de la comparaison de parents et de descendants sans aucune autre information.

Les analyses de parenté ont été élaborées à partir du programme R version 1.1.1. Compte tenu des particularités du jeu de données, nous avons privilégié le nombre de locus par rapport au nombre d'individus. Ainsi, sur les 342 individus de diamètre supérieur à 10 cm, génotypés sur les 7 locus, deux classes d'âge arbitraires ont été définies : les individus (**A**) dont le diamètre est supérieur à 38, 5 cm et les individus (**B**) dont le diamètre est supérieur à 10 cm et inférieur à 25 cm. Le choix de ces classes d'âge est basé sur les hypothèses

¹ logiciel sous Windows™ pour la génétique des populations, Laboratoire Génome et Populations, CNRS UPR 9060, Université de Montpellier II, Montpellier (France), Université Montpellier 2, Place E. Bataillon, 34095 Montpellier cedex 05, France. e-mail : Genetix@crit.univ-montp2.fr, tél. : (33) 67 14 38 87, fax : (33) 67 14 45 54., écrit par K. Belkhir. Freeware à <http://www.univ-montp2.fr/~genetix/genetix.htm>

² logiciel de calcul statistique disponible dans les archives du réseau CRAN (Comprehensive R Archive Network) situé : <http://www.ci.tuwien.ac.at/R/>

suivantes : (i) Les arbres de gros diamètre sont susceptibles d'avoir une part importante dans la reproduction. (ii) N'étant pas considérés comme reproducteurs, les individus **A** sont supposés être de diamètres suffisamment petit pour être considérés comme issus de la régénération des plus gros.

Le tableau des génotypes est dans un format utilitaire qui ne se prête à aucune analyse directe. Il est donc nécessaire de le transformer en un tableau individu-locus ou individu-allèle. Ensuite, nous recherchons les parents potentiels. Le but est de construire une matrice possédant en lignes les juvéniles (i) et les adultes en colonnes (j). Aux coordonnées $i-j$ la valeur 1 signifie que i peut descendre de j . Ainsi, la valeur 1 correspond au cas où i possède à chacun des 7 locus, au moins 1 allèle en commun avec j . Après l'analyse sur les 7 locus, le nombre moyen de parents potentiels par juvénile peut être déterminé. La démarche prévoit ensuite de lister par individus (**A**), les parents potentiels ainsi que leurs coordonnées et leurs distances par rapport à ce dernier. Il est alors possible de déduire la distance de dissémination.

c) Distance de dissémination des graines

En accord avec les autres travaux réalisés au laboratoire, les individus dont le diamètre est inférieur à 10 cm sont dits « juvéniles », ceux dont le diamètre est compris entre 10 et 25 cm sont les « préadultes », et ceux dont le diamètre est supérieur à 25 cm sont les « adultes ». Afin d'évaluer la distance maximale de dissémination des graines, nous recherchons une configuration particulière des individus sur la parcelle. Dans la classe des adultes, nous sélectionnons les plus isolés possible les uns des autres et possédant à proximité des individus juvéniles. Ces derniers devront être les plus éloignés possible. Ensuite, nous faisons une confrontation des génotypes entre les individus les plus éloignés des deux classes afin d'attribuer la ou les maternités possibles. Le calcul de la distance de dissémination est réalisé entre les individus apparentés.

d) Etude de la structure spatiale génétique

Après avoir sélectionné deux allèles de fréquence élevée dans la population, nous avons représenté graphiquement les individus en fonction de leur nombre de copie de cet allèle. Les cartes ont été réalisées à l'aide du programme R. La carte pour un allèle a été construite de la manière suivante : les individus homozygotes pour cet allèle sont représentés par un carré noir, les hétérozygotes portant une seule copie de cet allèle sont cartographiés par un point et les individus non porteurs sont repérés par un carré blanc.

e) Coefficient d'apparement et autocorrélation spatiale

Nous avons basé notre étude de la structure spatiale nucléaire sur l'analyse de 4 locus microsattellites (Wac 1, Wac 3, Wac 7, Wac 13) sur l'ensemble de la population. La structure spatiale de cette population a été analysée par la méthode des autocorrélations spatiales, en utilisant le coefficient d'apparement entre individus estimé par la méthode de Loiselle *et al.* (1995b) à l'aide du programme AutocorG V.2.1.³ écrit par Olivier Hardy et Xavier Vekemans.

II. RESULTATS ET DISCUSSION

A. Traitement des échantillons

La méthode d'échantillonnage appliquée sur le juvéniles a permis de faire une sélection de 158 juvéniles répartis sur l'ensemble de la population.

B. Données génétiques

1. Le jeu de données

Les allèles obtenus sur les 7 locus et leurs fréquences sont regroupés dans le tableau 2.

Même si tous les individus étudiés ont été amplifiés, toutes les données n'ont pu être récupérées à temps. En effet, lors de la capture des données par l'analyseur génétique, certains échantillons étaient non lisibles et pour d'autres aucun signal n'apparaissait. Ces résultats constituent un jeu de données incomplet qui se traduit par des différences d'effectifs entre les locus (tableau 2). Cependant, l'ADN reste disponible au laboratoire pour des analyses ultérieures. Ces données manquantes peuvent s'expliquer par différentes raisons. D'une part, la dégradation de l'ADN de l'échantillon entre le dosage et l'amplification, l'obstruction du capillaire lors du pompage de l'ADN amplifié ou la non-fixation des amorces lors de la PCR peuvent expliquer l'absence de signal analysé par l'ABI-prism 310. D'autre part, la présence de pics d'amplifications parasites a rendu illisible les profils de certains génotypes. De plus, le retard accumulé causé par le dysfonctionnement de l'ABI-prism 310 n'a pas permis de passer les amplifications des juvéniles sur les locus 5, 12 et 14.

³ laboratoire de Génétique et d'écologie Végétales de l'Université libre de Bruxelles (1850 Chaussé Wavre, B-1160 Bruxelles Belgium) e-mail : ohardy@ulb.ac.be, xvekeman@ulb.ac.be

Tableau 2 : Allèles obtenus sur 7 locus, fréquence allélique, l'effectif (N) dans chaque locus.

Locus	Allèle (nbp)	Fréquence allélique	Locus	Allèle (nbp)	Fréquence allélique
Wac1	248	0.0034	Wac5	177	0.0020
(N=444)	252	0.0011	(N=247)	193	0.1862
	254	0.0293		195	0.0020
	256	0.0248		197	0.7996
	258	0.2027		199	0.0101
	260	0.0270	Wac7	302	0.0022
	262	0.0113	(N=454)	304	0.8855
	264	0.4752		306	0.1090
	266	0.0068		308	0.0033
	270	0.0023	Wac12	215	0.1544
	272	0.0011	(N=217)	217	0.8410
	274	0.0045		219	0.0046
	276	0.1171	Wac13	141	0.5328
	278	0.0023	(N=458)	143	0.4301
	280	0.0901		145	0.0306
	282	0.0011		147	0.0066
Wac3	248	0.0204	Wac14	258	0.0774
(N=441)	250	0.9388	(N=226)	266	0.2721
	252	0.0363		274	0.6460
	254	0.0045		278	0.0044

Dans le tableau 2, nous constatons un faible nombre d'allèles pour 6 des 7 locus (inférieur ou égal à 5 allèles). Dans le cadre de nouveaux travaux sur ce sujet, il sera nécessaire de développer de nouveaux locus microsatellites plus polymorphes (plus de 10 allèles). De plus, la présence d'allèles majoritaires est également constatée.

2. Test de la valeur des paramètres de polymorphisme

Les résultats du test réalisé sur l'ensemble de la population sur les 7 locus sont présentés dans le tableau 3.

Tableau 3 : Résultats du test de la valeur des paramètres de polymorphisme calculé sur les 7 locus. (H exp.= H calculée avec biais, H n.b.= H calculée sans biais (Nei 1978), H obs.= H observée).

	H exp.	H n.b.	H obs.
P16	0.3796	0.3802	0.3865
Ecart-type :	0.2086	0.2089	0.215

Ces résultats montrent que l'hypothèse de la conformité à une structure de Hardy-Weinberg est acceptée. En effet, les valeurs calculées ne sont pas significativement différentes les unes des autres.

Il ressort également un déséquilibre de ratio en faveur des homozygotes. Ce qui s'explique par la présence des allèles majoritaires que l'on trouve principalement dans cet état.

3. Nombre moyen d'allèles

Les résultats du calcul du nombre moyen d'allèles par locus en fonction des classes de diamètre sont exposés dans le tableau 4 et représentés graphiquement sur la figure 5.

Tableau 4 : Nombre moyen d'allèles par locus par classe de diamètre ainsi que l'effectif dans chaque classe.

Classe de diamètre (cm)	Effectif	Nb moy. All./locus
[01 , 10]	147	5
[11 , 15[41	4
[15 , 20[39	4
[20 , 25[37	4,5
[25 , 30[33	4,5
[30 , 35[21	4,5
[35 , 40[20	4
[40 , 45[32	4
[45 , 50[33	4,5
[50 , 55[19	3,25
[55 , 60[22	3,25
[60 , 65[15	2,75
[65 , 100]	15	3,25

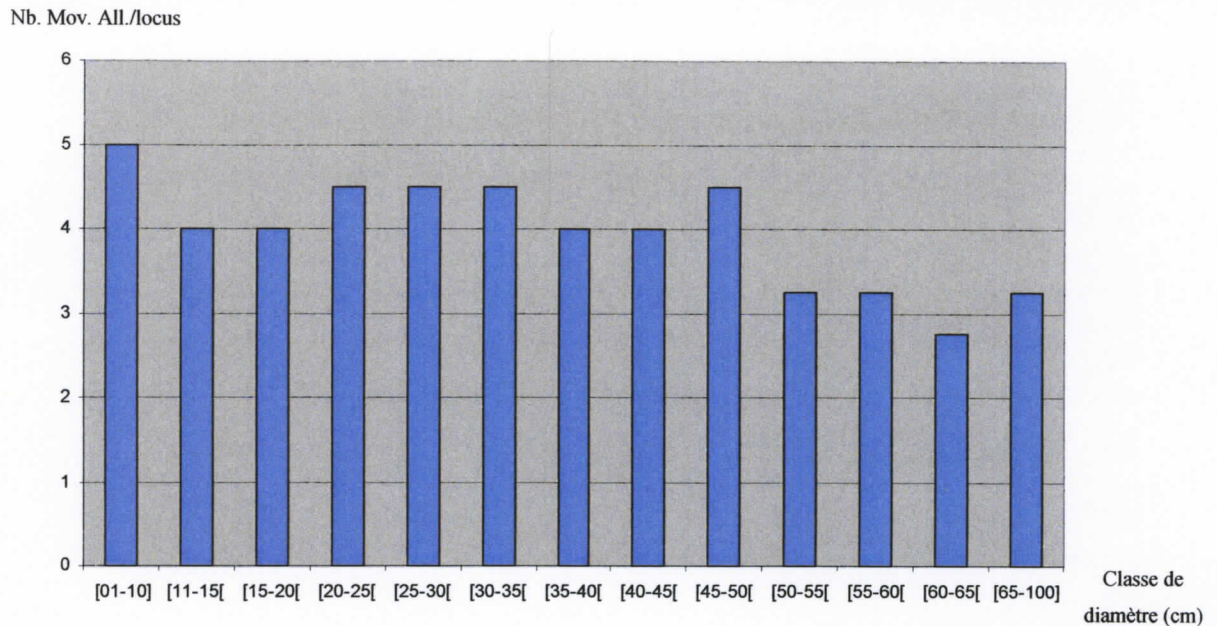


Figure 5 : Histogramme du nombre moyen d'allèles en fonction des classes de diamètre.

Pour les classes de diamètre supérieur à 50 cm, le nombre moyen d'allèles par locus est significativement inférieur à celui des autres classes.

Test de l'hypothèse H_0 : le nombre moyen d'allèles pour les classes de diamètre inférieurs à 50 cm et celui pour les classes de diamètre supérieur ou égal à 50 cm est identique. Pour réaliser le test, nous avons constitué deux séries z_1 (5,4,4,4.5,4.5,4.5,4,4,4.5) et z_2 (3.25,3.25,2.75,3.25) qui correspondent aux valeurs respectives des deux catégories définies précédemment.

La p-value est égale à 0.004055

La probabilité d'accepter H_0 alors que H_0 est fautive, est de 4 %. Il y a donc une différence significative entre le nombre moyen d'allèles entre les classes de diamètre inférieur à 50 cm et celles de diamètre supérieur ou égal à 50 cm.

Cette différence dans le nombre d'allèles chez les individus appartenant à des classes de diamètre supérieur à 50 cm peut s'expliquer par la dynamique de la population au sein de la plaque. En effet, la propagation d'une plaque de Wacapou se réalise sur un large front (dissémination de graines à courte distance), les individus actuels de gros diamètre se situaient auparavant en bordure de plaque. Ils appartenaient alors aux classes de diamètre inférieur à 50 cm et ont participé à la mise place de l'actuel groupe d'individus inférieurs à 50 cm. Au court du développement de la plaque, la compétition pour l'espace et la mortalité naturelle au cœur de celle-ci ont fait que seule une partie de ces arbres s'est maintenue. L'effet de cette compétition se traduirait par la perte d'une partie des allèles. Ceci n'est pas dommageable

pour la population étant donné que ces allèles sont présents dans l'actuelle partie bordante de plaque ainsi que chez les juvéniles.

Ce résultat remet en cause les a priori de gestion forestière concernant le rôle des individus de gros diamètre dans la dissémination des gènes via les graines et/ou le pollen. En effet, il était admis que les individus de gros diamètre participeraient le plus à la régénération et possèderaient la totalité du pool allélique. Ce sont des données très importantes lors de la prise de décision pour l'exploitation d'une espèce. En effet, les individus de diamètre supérieur à 50 cm sont situés en grande majorité au centre de l'agrégat et délimités sur la figure par une ellipse rouge (Cf. figure 6).

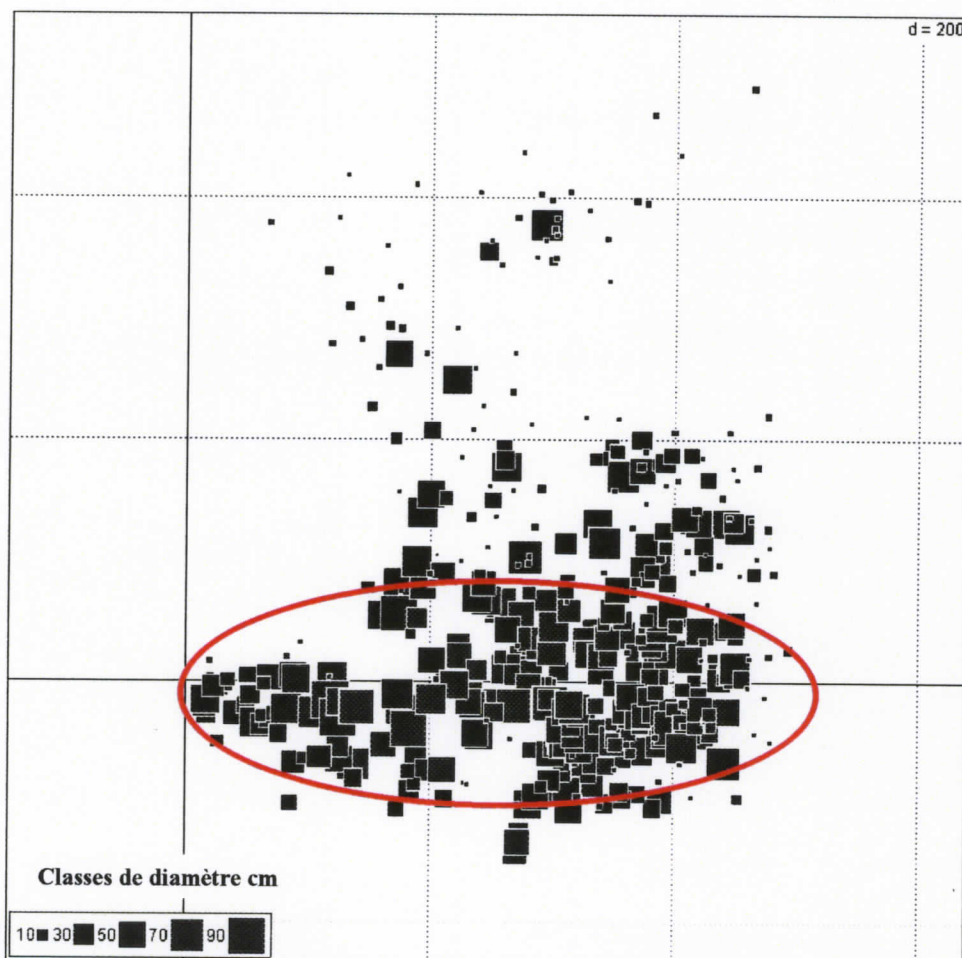


Figure 6: Carte de répartition des individus Wacapou sur la parcelle 16 (étendue), en fonction de 5 classes de diamètre.

La coupe raisonnée au cœur de la plaque pourrait être envisagée pour des individus de plus de 50 cm de diamètre et aurait un impact limité sur les ressources génétiques de la population. En effet, la distance moyenne de dissémination des graines se réalise à 40 mètres, et même si, comme nous le verrons plus loin, des événements de dissémination à plus longue distance peuvent exister, elle est inférieure à celle nécessaire pour disséminer des

régénérations en périphérie de l'agrégat dans des conditions propices à leur développement. Cependant, une analyse de parenté fine sur une plaque de wacapou nous permettrait de savoir quelle est la participation des individus adultes en fonction de leur diamètre, dans la régénération. De plus, l'impact sur la dissémination des allèles via le pollen serait également limité étant donné que ces individus ne disposent que d'une partie du pool allélique qui est partagé avec les individus de diamètre inférieur à 50 cm. Ainsi, l'exploitation n'altérerait pas la taille du pool allélique.

C. Analyse de parenté

1. Calcul de la probabilité d'exclusion

La probabilité d'exclusion est de 0,433. Ce calcul nous permet d'estimer la puissance de l'analyse de parenté avec ces marqueurs aux locus utilisés. Cet indice varie entre 0 et 1, plus il est proche de 1 plus l'analyse de parenté est puissante, c'est à dire que l'on pourra isoler deux parents potentiels pour un juvénile. Ici, le résultat nous confirme le manque de polymorphisme des locus employés et nous indique la faible résolution de l'analyse de parenté que nous souhaitons réaliser. La démarche de l'analyse de parenté a quand même été réalisée.

2. Analyse de parenté

Suivant les critères établis dans le précédent chapitre, nous disposons d'une matrice de 135 lignes (correspondant aux 80 adultes et 55 juvéniles) et 14 colonnes (1 colonne par allèle d'où 2 colonnes par locus et 7 locus). Il y a donc 55*80 couples à examiner. Après avoir fait intervenir tous les locus dans l'analyse, le nombre de parents potentiels par juvénile déterminé est de 36 sur 80. Ces résultats prévisibles par le calcul de la probabilité d'exclusion confirment le manque de pertinence des marqueurs. En effet, les études menées sur le même thème qui utilisent les microsatellites sont réalisées avec 5 locus en moyenne mais nettement plus variables (Gerber *et al.*, 2000; Smouse *et al.*, 1999). L'analyse ne peut être poursuivie, et la mise au point de nouveaux marqueurs plus polymorphes est désormais nécessaire. La connaissance précise des relations de parenté entre individus permettrait de mettre en évidence les mécanismes de dynamique d'une plaque de Wacapou et de comprendre la structuration spatiale génétique de cette espèce. Cela permettrait également d'apporter une réponse aux objectifs suivants. Déterminer le diamètre minimum des reproducteurs, calculer la distance moyenne et maximale de dissémination de la graine sur la parcelle, déterminer l'influence de la position de l'individu adulte dans l'agrégat sur sa participation à la

régénération ou déterminer l'origine de la régénération localisée en milieu, en bordure et à l'extérieur de l'agrégat.

D. Distance de dissémination des graines

La configuration particulière entre juvéniles et adultes décrite dans le précédent chapitre a été localisée sur la partie Nord de la parcelle (Cf. figure 4). Les 60 individus représentés en fonction de leur diamètre sur la figure 4 ont été analysés sur 4 locus (Wac 1, 3, 7, 13). Nous nous sommes focalisés sur les trois adultes reproducteurs (A, B, C) ainsi que sur les juvéniles les plus éloignés de ces derniers (figure 7). Nous avons déterminé la ou les mères potentielles pour les juvéniles ainsi que la distance les séparant des adultes.

- Le juvénile 1 est compatible génétiquement avec l'adulte **A** et distant de 203 mètres mais nous ne pouvons pas attribuer l'origine maternelle au seul arbre **A**. En effet, après la prospection d'une zone de 300 mètres de large au nord de la parcelle et sur toute sa largeur, S. Traissac a localisé trois individus (1 adulte et 2 préadultes) à 100 mètres au nord de l'extrémité nord-est de la parcelle. Ces individus n'étant pas encore génotypés, nous avons relié l'individu 1 à l'adulte **A** par une flèche en pointillée en attendant la confrontation avec les autres génotypes.
- Le juvénile 2 est distant de l'individu **A** de 155 mètres et n'est génétiquement compatible avec aucun autre arbre adulte à proximité.
- L'individu 3 a une parenté possible avec les adultes **A** et **C**, distants respectivement de 168,1 et 154,1 mètres.
- L'individu 4, compatible avec l'individu **C**, est distant de 122,8 mètres.
- L'individu 5 peut être issu des individus **A**, **B** et **C** distants respectivement de 226,9 mètres, de 201,4 mètres et de 151,5 mètres.
- L'individu 6, de plus gros diamètre, est compatible avec les adultes **B** et **C** bien que l'individu **A** soit le plus proche.

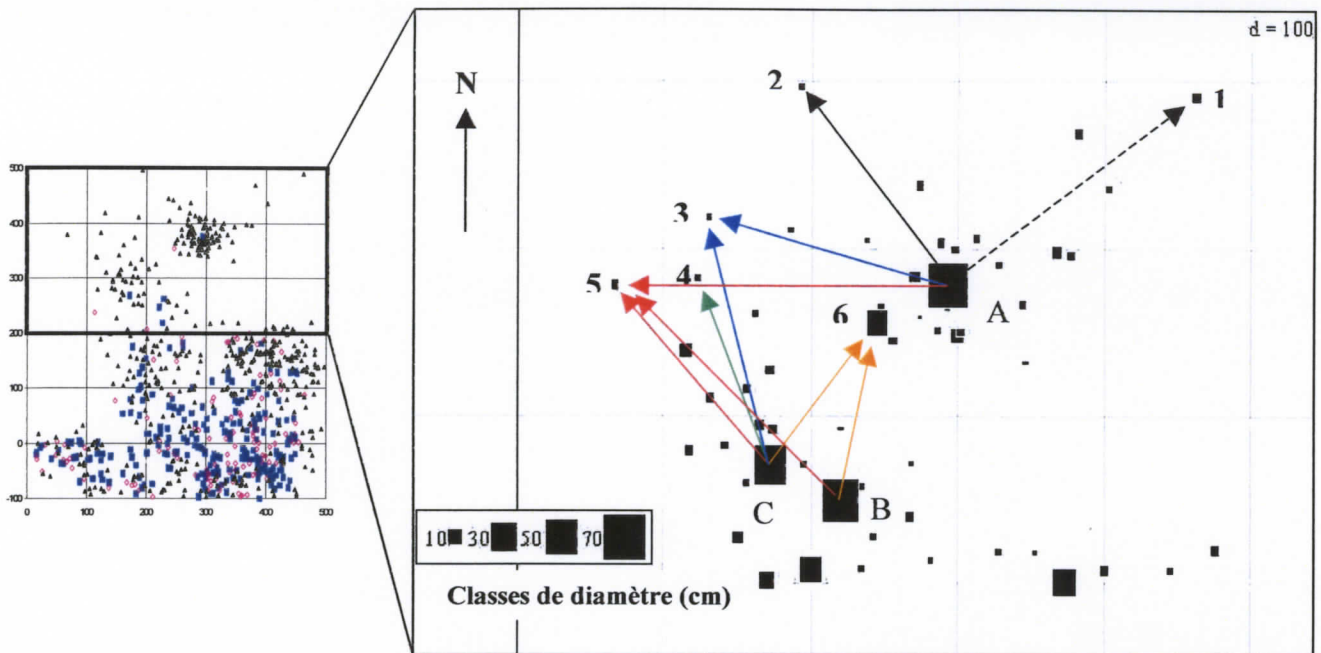


Figure 7 : Carte du nord de la parcelle 16 (étendue) représentant les individus Wacapou en fonction de leur diamètre et de leurs liens de parenté.

Les flèches représentent les possibilités de liens

Ainsi, la distance maximale de dissémination observée entre un adulte et un juvénile sur la parcelle 16 est de 155,7 mètres. C'est une donnée très importante pour l'étude de la dynamique de l'espèce. En effet, les distances jusqu'alors décrites dans la bibliographie étaient en moyenne d'une dizaine de mètres, dépassant parfois 20 mètres (Forget, 1990) et plus exceptionnellement 30 à 50 mètres (P.-M. Forget et P. Jansen, *comm. pers.*). La présence de plantules isolées laissait pressentir une dispersion à plus grande distance, jusqu'ici une centaine de mètres. C'est ce qui a été mis en évidence dans cette étude.

Toujours dans le même objectif, nous nous sommes intéressés aux différents liens de parenté possible de l'individu A vis à vis des autres individus adultes de la parcelle (Cf. figure 8).

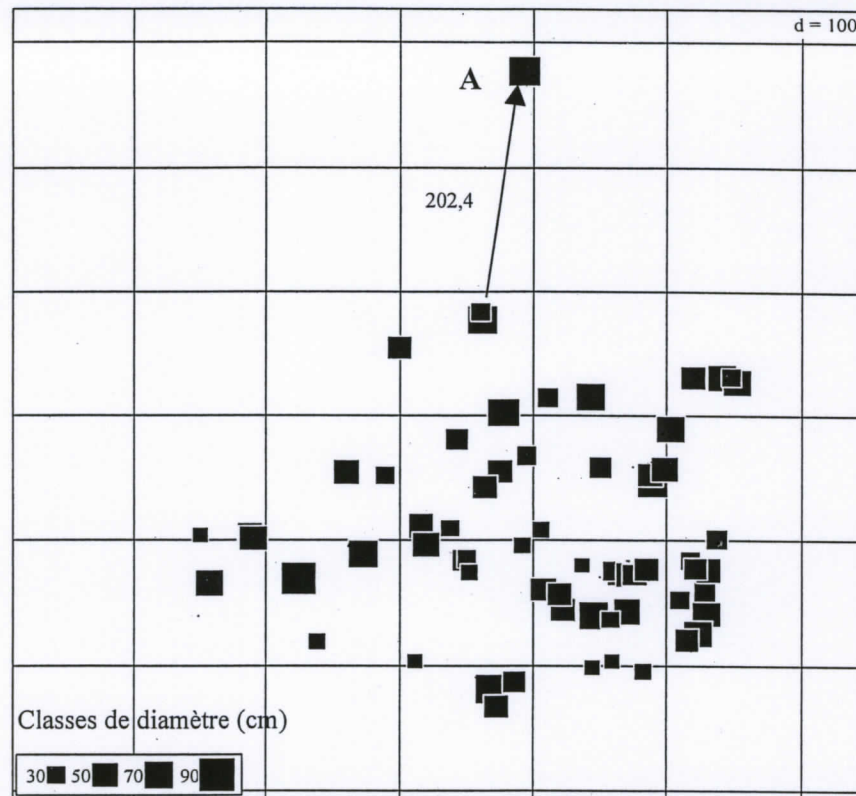


Figure 8 : Représentation de tous les individus adultes de la parcelle 16 (étendue), génétiquement compatibles avec l'arbre A.

En effet, il possède les caractéristiques d'un arbre isolé. Ainsi sont représentés, en fonction de leur classe de diamètre, tous les individus génétiquement compatibles avec cet individu. La confrontation des génotypes a été réalisée à partir des données obtenues sur les 7 locus. La distance minimale observée entre l'arbre A et l'arbre compatible le plus proche est de 202,4 mètres. L'attribution de l'origine maternelle de cet arbre est ambigu car d'une part, les adultes potentiels seraient censés avoir un diamètre égal voire supérieur à celui-ci. D'autre part, l'adulte peut avoir disparu. Les individus les plus proches que nous observons peuvent faire partie d'une même fratrie. Auquel cas l'arbre maternel se trouverait à une distance supérieure à celle qui sépare l'arbre A du plus proche. Les données recueillies jusqu'à présent ne nous permettent pas d'analyser plus en profondeur les relations de parenté de ces individus.

E. Structuration spatiale

Lorsque l'on effectue la cartographie d'un allèle particulier en fonction du nombre de copies présentes chez les individus, on obtient la figure suivante (figure 9).

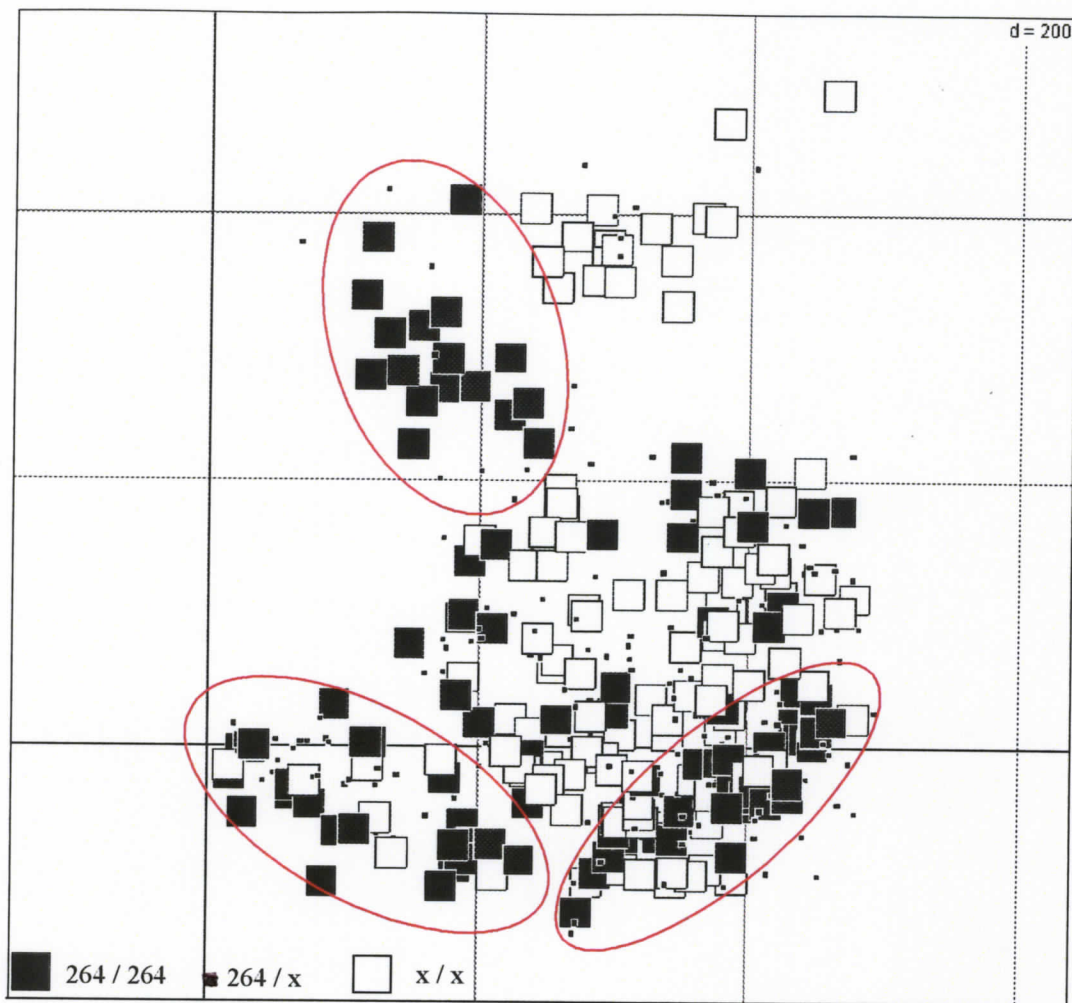


Figure 9 : Carte de répartition des individus en fonction du nombre de copies de l'allèle 264 du locus Wac 1.

Nous constatons l'agrégation de l'allèle 264 dans une zone géographique limitée au nord de la population ainsi qu'au sein de l'agrégat au sud-est. Ce sont les effets d'une dissémination à longue distance sur la structuration spatiale des allèles. Cela crée une mosaïque au niveau de la distribution des allèles au sein de la population (patch).

Nous retrouvons chez le Wacapou le même schéma dynamique que celui décrit par Le Corre (1997), pour d'autres types de marqueurs, chez le chêne blanc européen bien qu'il s'agisse d'une espèce de forêt tempérée. Le schéma de dynamique particulier est décrit dans la figure 10.

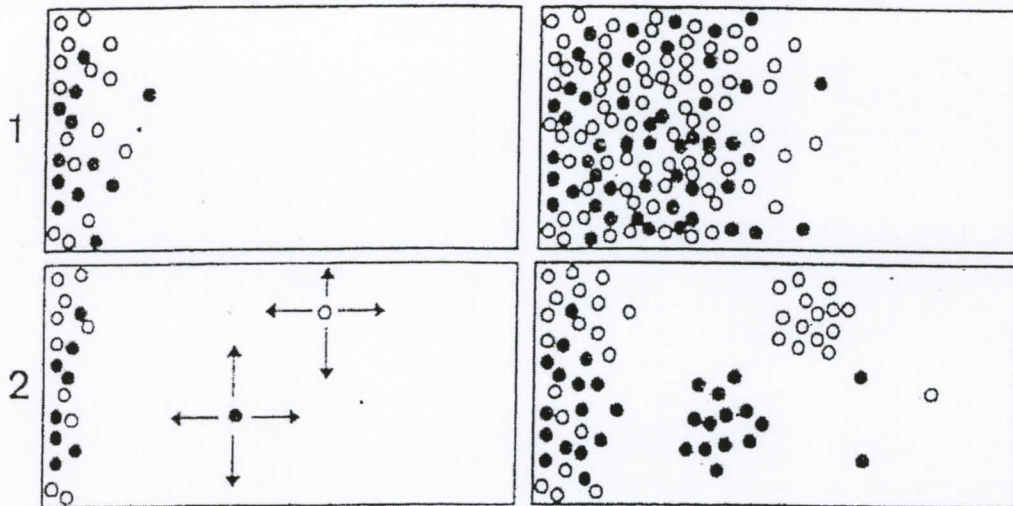


Figure 10 : Conséquences de différents modes de recolonisation sur l'organisation de la diversité cytoplasmique.

En 1, une recolonisation par dissémination à courte distance à partir d'un front de migration n'engendre pas de structuration des allèles. A l'inverse (en 2), une dissémination à courte distance incluant des événements de dissémination à longue distance est à l'origine de la formation de tâches d'individus apparentés (structuration d'allèles).

Au sein d'une plaque de Wacapou, les deux modes de régénérations s'opèrent suivant le schéma 2. En effet, la structuration des allèles en tâches a été mise en évidence pour un allèle (Figure 9). Cependant, ce résultat devrait être vérifié pour d'autres allèles.

F. Autocorrélation spatiale

A partir du jeu de données sur 4 locus (Wac 1, 3, 7, 13), nous avons réalisé les autocorrélogrammes représentant le coefficient d'apparentement entre paires d'individus estimé par la méthode de Loiselle *et al.* (1995b) en fonction du logarithme de la distance, chez les juvéniles (figure 11, schéma A) ainsi que chez les individus supérieurs à 20 cm de diamètre (figure 11, schéma B).

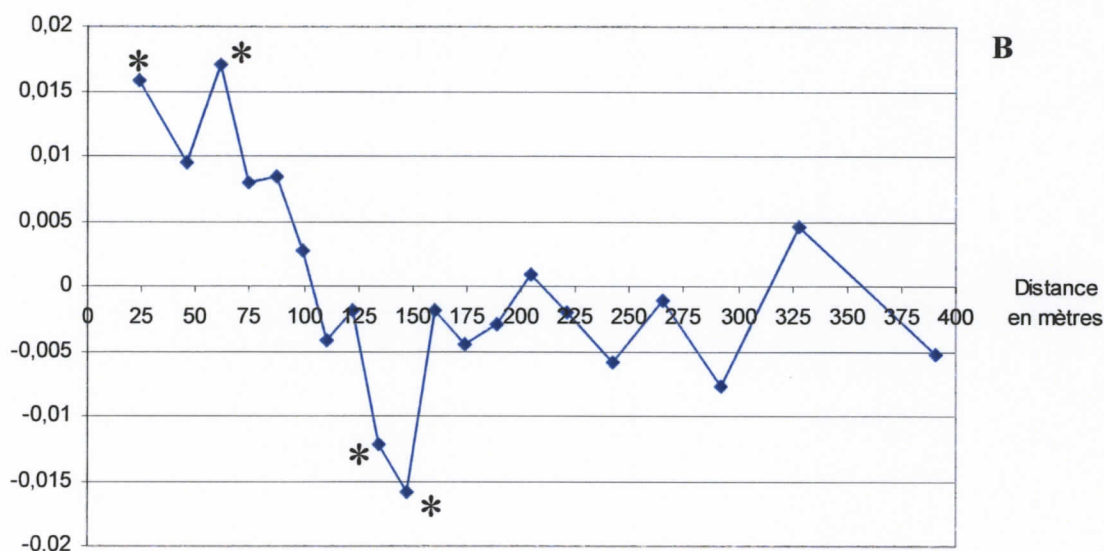
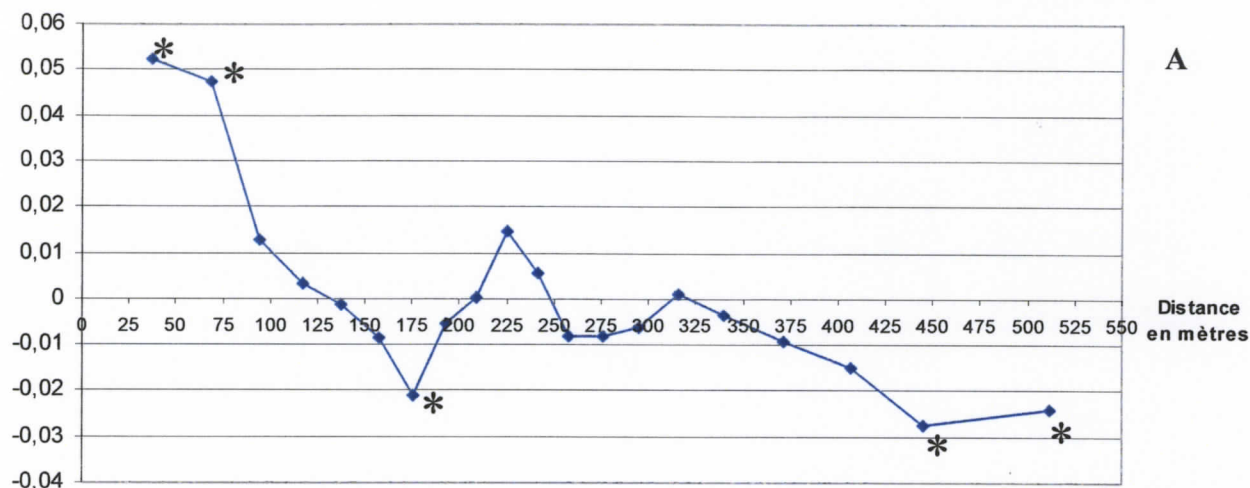


Figure 11 : Exemple de la variation du coefficient d'apparentement entre paires d'individus en fonction du logarithme de la distance sur la parcelle 16 : juvéniles (A), individus supérieurs à 20 cm de diamètre (B).

Les points possédant une étoile à proximité indiquent que la valeur obtenue est significativement différente au risque 5 %, de la valeur attendue dans une population ayant une structure génétique aléatoire.

A l'échelle de la parcelle 16, nous observons que les individus juvéniles séparés de moins de 75 mètres sont génétiquement plus apparentés que des juvéniles plus éloignés géographiquement. Cela peut être expliqué par le mode de dissémination (Agouti, Acouchi).

La distance maximale observée sur la parcelle 16 séparant des individus supérieurs à 20 cm de diamètre significativement plus apparentés, est de 30 mètres. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par C. Dutech (*comm. pers.*). Cependant, ces premiers résultats devraient être affinés par une étude similaire à partir de locus plus polymorphes. En effet, cela

nous permettrait de mieux décrire, à l'échelle de l'aire étudiée, le niveau de structuration fine et son organisation dans le temps (Front de l'agrégat / barycentre de l'agrégat).

Les résultats acquis sur le Wacapou révèlent une structuration plus marquée que celles observées chez d'autres espèces d'arbres forestiers tempérés ou tropicaux comme l'ont montré Doligez, (1997b), Loiselle *et al.*, (1995b), Streiff *et al.* (1998), Smouse *et al.* (1999). Cette structure chez le Wacapou résulterait de la dispersion limitée des graines d'une part, de la participation dans la régénération du Wacapou supérieure en « population ouverte » par rapport à une « population dense » (S. Traissac, *comm. pers.*) d'autre part.

Conclusion et Perspectives

La connaissance plus approfondie de la dynamique forestière du Wacapou est importante pour la mise en place de plans de gestion de cette espèce ainsi que d'autres espèces agrégatives. C'est pour cela que nous avons tenté d'apporter des réponses aux questions concernant les relations de parenté entre les individus de la parcelle, d'estimer la distance maximale observée de dissémination des graines sur cette parcelle ainsi que d'analyser la structuration de la diversité génétique au sein d'une plaque. Nous n'avons pu apporter de réponse précise aux questions portant sur l'analyse des relations de parenté du fait d'une faible variabilité des locus utilisés. La mise en évidence d'une répartition discontinue du pool de gènes en fonction du diamètre des individus est informative pour la mise en place de protocoles d'exploitation. L'observation d'une distance maximale de dissémination supérieure à 100 mètres ainsi qu'une structuration spatiale génétique forte des individus à l'échelle d'un agrégat, nous a permis de mieux définir le schéma de régénération d'une population de Wacapou à l'échelle d'une plaque. Ces premiers résultats nous ouvrent de nombreuses perspectives de recherche sur la génétique de cette espèce. Il serait nécessaire dans un premier temps de définir de nouvelles amorces pour des locus microsatellites plus polymorphes afin de réaliser une analyse de parenté plus pertinente par la mise en place d'une méthode d'analyse multivariée. Parallèlement, la mise au point de marqueurs extranucléaires (cytoplasmique à héritabilité maternelle) permettrait la détermination du sexe des parents potentiels lors de la réalisation de cette analyse. Elle s'effectuerait sur la même population ainsi que sur une population plus ancienne de Guyane. Ces études nous permettraient de comparer les résultats concernant la dynamique génétique entre une population jeune de forêt du littoral type Paracou, et d'une population plus ancienne de forêt continentale. Cela nous renseignerait clairement sur les distances de dissémination moyennes et maximales. Enfin, nous pourrions envisager la modélisation des processus à l'origine de la dynamique forestière du Wacapou à différentes échelles de temps et d'espace.

Bibliographie

- Caron H. 2000.** Organisation et dynamique de la diversité génétique de cinq espèces arborées de la forêt guyanaise *Biologie des populations*. Montpellier: Montpellier II. 87.
- Collinet F. 1997.** Essais de regroupements des principales espèces structurantes d'une forêt dense humide d'après l'analyse de leur répartition spatiale (Forêt de Paracou - Guyane). Lyon: Université Claude Bernard.
- de Vienne D. 1988.** *Les marqueurs moléculaires en génétique et biotechnologies végétales*, Paris.
- Doligez A. 1996.** Evolution de la diversité génétique intra-population et de sa structure: Etude d'un modèle de simulation spatialisé en vue de la gestion des ressources génétiques forestières tropicales. *INA-PG/CIRAD-forêt*. 264p+annexes.
- Doligez A, Joly, I. H. 1997b.** Genetic diversity and spatial structure within a natural stand of a tropical forest tree. *Heredity* **79**: 72-82.
- Dow BD, and Ashley MV. 1996.** Microsatellite analysis of seed dispersal and parentage of saplings in bur oak, *Quercus macrocarpa*. *Mol Ecol* **5**: 615-627.
- Dutech C, Amsellem L, Billotte N, and Jarne P. 2000a.** PRIMER NOTES: characterization of (GA)_n microsatellite loci using an enrichment protocol in the neotropical tree species *Vouacapoua americana* [In Process Citation]. *Mol Ecol* **9**: 1433-5.
- Favrichon V. 1994.** Classification des espèces arborées en groupes fonctionnels en vue de la réalisation d'un modèle de dynamique de peuplements en forêt guyanaise. *Revue d'écologie (Terre et Vie)* **49**: 379-403.
- Forget PM. 1990.** Seed-dispersal of *Vouacapoua americana* (Caesalpiniaceae) by caviomorph rodents in French Guiana. *Journal of Tropical Ecology* **6**: 459-468.
- Forget PM. 1994.** Recrutement pattern of *Vouacapoua americana* (Caesalpiniaceae), a rodent-dispersed tree species in French Guiana. *Biotropica* **26**: 408-419.
- Forget PM, Mercier F, and Collinet F. 1999.** Spatial patterns of two rodent-dispersed rain forest trees *Carapa procera* (Meliaceae) and *Vouacapoua americana* (Caesalpiniaceae) at Paracou, French Guiana. *Journal of Tropical Ecology* **15**: 301-313.
- Gentry AH. 1992.** Tropical Forest biodiversity: distributional patterns and their conservational significance. *Oikos* **63**: 19-28.
- Gerber S, Mariette S, Streiff R, Bodenes C, and Kremer A. 2000.** Comparison of microsatellites and amplified fragment length polymorphism markers for parentage analysis [In Process Citation]. *Mol Ecol* **9**: 1037-48.

- Gourlet-Fleury S. 2000.** Dispositif sylvicole expérimental de Paracou (Guyane française). Aperçus sur l'état et la dynamique des peuplements 13 ans après l'installation. Montpellier: Cirad-forêt.
- Le Corre V. 1997.** Organisation de la diversité génétique et histoire postglaciaire des chênes blancs européens: Approche expérimentale et par simulation *Institut National Agronomique Paris-Grignon*. Paris. 128p+annexes.
- Loiselle BA, Sork VL, and Graham C. 1995b.** Comparaison of genetic variation in bird-dispersed shrubs of tropical wet forest. *Biotropica* **27**: 487-494.
- Murawski DA. 1995.** Reproductive biology and genetics of tropical trees from a canopy perspective. In: Loman M. NN, ed. *Forest canopies*. N.Y.: Academic Press. 457-493.
- Schultz JP. 1960.** Ecological studies on rain forest in Northern Suriname. Vehr. K. Ned. Akad. Wet. Afd. Natuurk, Amsterdam, The Netherlands.
- Smouse PE, and Peakall R. 1999.** Spatial autocorrelation analysis of individual multiallele and multilocus genetic structure. *Heredity* **82**: 561-573.
- Streiff R, Labbe T, Bacilieri R, Steinkellner H, Glossl J, and Kremer A. 1998.** Within-population genetic structure in *Quercus robur* L. and *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. assessed with isozymes and microsatellites. *Molecular Ecology* **7**: 317-328.
- Ziegenhagen B, Scholz F, Madaghiele A, and Vendramin GG. 1998.** Chloroplast microsatellites as markers for paternity analysis in *Abies alba*. *Canadian Journal of Forest Research - Revue Canadienne de Recherche Forestiere* **28**: 317-321.