



## Rapport d'activité 2023

Convention DGPE/INRAE/FCBA/ONF/France-DOUGLAS

N° E12/2020 - Décembre 2020

INRAE (coord.):  
FCBA :  
ONF :  
France Douglas:

Leopoldo Sanchez  
Mathilde Montibus et Marin Chaumet  
Yves Rousselle  
Sabrina Pedrono



# PARTICIPANTS

## **INRAE**

Leopoldo Sanchez, Jean-Charles Bastien, Corinne Buret, Vanina Benoit, Rémy Gobin, Dominique Veisse, Vincent Rousselet, Thierry Paul, Frédéric Bernier, Bernard Issenhuth, Denis Vauthier, Franck Rei.

## **FCBA**

Mathilde Montibus, Marin Chaumet, Nicolas Esner.

## **ONF**

Yves Rousselle, Didier François, Jean Ladier, Odilon Monnier, Alain Parnaudeau, Sébastien Guérinet, Clément Morlon et toute la pépinière du PNRGF de Peyrat-le-Château.

## **France Douglas**

Sabrina Pedrono

## Rappel sur le contexte et les objectifs du projet

Aujourd'hui, la France comptabilise 426 000 ha de douglas, soit 2.7% de la surface forestière totale (IGN, 2021). Selon l'Inventaire Forestier, les volumes de douglas sur pied sont estimés à 135 millions de m<sup>3</sup>, soit 4.9% du volume total sur pied de la forêt française et 13.6 % du volume total sur pied des essences résineuses. Ces volumes sur pied, en progression constante, se rapprochent progressivement de ceux du pin maritime. La production biologique des peuplements de douglas est actuellement de 4.8 millions de m<sup>3</sup> par an et devrait continuer à augmenter jusqu'en 2035 pour atteindre environ 6 millions de m<sup>3</sup> par an, puis se stabiliser autour de 5 millions de m<sup>3</sup> par an vers 2050. A terme, la production de bois de douglas en France sera à peine inférieure à celle du pin maritime sur une surface occupée trois fois plus faible.

Depuis 2010, 99% des **besoins français en semences** de douglas pour créer les plants utilisés en reboisement sont couverts par les récoltes dans les huit vergers à graines de l'état. Stabilisés autour de 500 kg, ces besoins annuels sont repartis à la hausse depuis 2015 et atteignent aujourd'hui (2020) 700 kg pour une production d'environ 12 millions de plants (13 millions si l'on considère les exportations).

En 2015, compte tenu de l'âge avancé de certains vergers à graines, et des incertitudes liées à l'évolution du climat, le Ministère de l'Agriculture a lancé un programme de R&D en vue de renouveler ses vergers de douglas. Ce programme, intitulé Douglas-Avenir et d'une durée de 6 ans (2015-2020), a été confié à trois organismes de recherche, INRAE, FCBA et ONF. Il a permis de sélectionner, sécuriser et commencer à tester une population d'amélioration pour la conduite d'un programme d'amélioration du douglas sur le long terme. Il a jeté les bases d'une stratégie évolutive d'installation des vergers à graines pour satisfaire les besoins futurs en semences de la filière. Enfin, le programme Douglas Avenir a permis de créer le matériel de base de trois vergers à graines de 2<sup>e</sup> génération, dont un a été installé sur le terrain pendant la durée du projet.

En décembre 2020, une nouvelle convention a été signée pour une période de cinq ans (2021 – 2025) entre le Ministère de l'Agriculture et un consortium associant INRAE, FCBA , ONF et France Douglas en vue de poursuivre le programme de travail du projet Douglas-Avenir.

Ce programme **Douglas-Avenir 2 (DA2)** se décompose en quatre tâches :

1. Évaluer la population d'amélioration sélectionnée dans le projet DA
2. Proposer le matériel de base pour les vergers à graines de 2<sup>e</sup> génération de douglas : fin de la tranche 2 et tranche 3
3. Lever des verrous méthodologiques et scientifiques
4. Communiquer sur le projet DA2 et sur les variétés de douglas améliorées

Le présent rapport présente les actions conduites par INRAE, FCBA, ONF et France Douglas au cours des 12 mois de la période janvier à décembre 2023 dans le cadre du projet DA2.

### 1- Évaluer la population d'amélioration sélectionnée dans le projet DA

La population d'amélioration du douglas sélectionnée dans le projet Douglas Avenir (2014-2020) se compose de 393 clones regroupés en trois sous-populations :

- **Cœur d'Aire** : **195** arbres sélectionnés sur index multi-caractères dans 600 descendances maternelles originaires des populations du Washington.
- **Sud de l'Aire** : **135** arbres sélectionnés sur index multi-caractères dans 400 descendances maternelles originaires des populations d'Oregon et Californie.
- **Elites ORWA** : **63** clones, sélectionnés sur valeur de leur descendance, parmi 470 clones entrant dans la composition de 4 vergers à graines de 1<sup>ère</sup> génération et originaire d'Oregon et Washington.

L'objectif est de représenter chaque clone par trois ramets<sup>1</sup> dans deux archives clonales : Peyrat (PNRGF) et Orléans (INRAE). Au cours du projet Douglas Avenir (2014-2020), tous ces clones ont été mobilisés par greffage à la pépinière PNRGF de Peyrat le Château. Il convient de noter que ces nomenclatures (« Cœur d'Aire », « Sud de l'Aire », et « Elites ORWA ») ne sont pas de noms officiels et qu'il s'agit uniquement de dénominations de travail utilisées au sein du consortium DA2.

Dans le projet DA2, trois objectifs sont assignés à cette tâche :

- Achever l'installation de l'ensemble de la collection dans les deux archives clonales.
- Vérifier les identités et étudier, à l'aide de marqueurs moléculaires hypervariables, la diversité génétique des clones qui composent cette collection.
- Poursuivre l'installation des tests clonaux destinés à préciser les performances intrinsèques de ces clones dans différents environnements.

## Archives clonales

Fin 2022, l'archive clonale de Peyrat le Château a été complétée ; elle contient désormais 3 copies des 393 clones de la population Douglas-Avenir. En 2023, des compléments de greffages réalisés à Peyrat le Château ont permis également de compléter en partie l'archive clonale d'Orléans avec 174 ramets de 59 clones de la population "Élites ORWA". D'autres compléments de greffage sont à prévoir pour l'archive clonale d'Orléans dans les années qui viennent.



*Archive clonale de Peyrat ; à droite les clones de la population Elite ORWA plantés en 2023*

<sup>1</sup> Ramet : copie obtenue par multiplication végétative (ici greffage) d'un individu de référence appelé ortet.

Ces archives font aussi l'objet de mesures phénotypiques régulières. Au printemps 2023, FCBA a réalisé des mesures sur les ramets des clones de la population d'amélioration DA2 dans l'archive clonale de Peyrat :

- Février 2023 :
  - o Hauteurs totales 2021 et 2022
  - o Nombre d'années d'aiguilles sur la pousse primaire et la pousse d'août 2022
- 16 et 30 mai 2023 : Notation de débourrement avec un score allant de 1 à 6.

L'objectif de ces mesures est d'obtenir un premier classement pour la vigueur et la phénologie des clones de la population d'amélioration. Ces mesures seront répétées sur les premières années de croissance de l'archive clonale.

## Génotypage des clones

Le génotypage de 384 individus sur les 393 de la population DA2 avec la puce ThermoFisher de 50 000 SNP spécifiques à l'espèce Douglas a déjà été réalisé dans les laboratoires de la marque en Californie. Les données brutes ont déjà été reçues dans leur intégralité et leur traitement n'a pas encore été finalisé par notre ingénieur en bio-informatique à Orléans. Ce traitement permet de convertir les données brutes en dosages alléliques pour chaque marqueur, facilement utilisables pour les analyses ultérieures. Nous pensons pouvoir effectuer ce traitement au début de l'année 2024.

## Tests clonaux

### Tests clonaux Série 1

Rappel : le projet Douglas-Avenir (2014-2020) a permis d'engager l'évaluation en forêt des clones des populations Cœur et Sud d'aire. L'objectif de ces tests est d'estimer la **valeur génotypique** de ces clones pour des caractères difficiles à évaluer en tests de descendance ou de provenances, et pour des caractères peu ou moyennement héréditaires, comme la plasticité phénotypique, les propriétés du bois et l'architecture de la branchaison. Ces informations permettront notamment d'orienter la composition des futurs vergers à graines et de sélectionner des géniteurs à recombinaison pour créer la génération suivante de la population d'amélioration.

Trois sites en forêt, choisis pour leur situation le long d'un gradient climatique Nord – Sud et pour être représentatifs de zones où le Douglas est couramment utilisé en reboisement, ont été retenus pour mettre en place ces expérimentations en 2019 :

- INRAE : Normandie - Orne - Forêt Domaniale d'Ecouvres – altitude : 400 m.
- FCBA : Limousin - Haute Vienne – Laurerie-Vicq sur Breuilh – altitude : 450 m.
- ONF : Sud Massif Central - Aude – Forêt communale de Lespinassière – altitude : 1100 m.

Pour mémoire, ces tests ont été plantés avec, selon les populations d'origine, des ramets greffés de 1 an (population Cœur d'aire) et de 2 ans (population Sud de l'aire)<sup>2</sup>. Les clones de la population

---

<sup>2</sup> Sauf le site de Lespinassière dans l'Aude, où les clones de la population Cœur d'aire ont été plantés au printemps 2021 sous forme de greffes de 4 ans.

Élites ORWA, qui n'étaient pas encore sélectionnés, ne sont pas testés dans les trois sites ci-dessus.

En 2023, les mesures suivantes ont été prises sur ces tests clonaux :

- Ecouves : Hauteurs totales 2021 et 2022, débourrement (2 passages) et survie
- Laurerie : Hauteurs totales 2021 et 2022, nombre d'années d'aiguilles, pousse d'août, survie (février 2023).

### Tests clonaux Série 2

Pour rendre plus **homogène** la comparaison de l'ensemble des clones de la population d'amélioration du douglas, le consortium du projet DA2 a décidé de mettre en place sur trois sites un nouveau test clonal, ou **test clonal récapitulatif**, rassemblant **l'ensemble des clones** de la population d'amélioration (Cœur d'Aire, Sud de l'Aire et Elites ORWA) avec des greffes de **même âge**.

Dans cet objectif, les 393 clones de la population d'amélioration DA ont été greffés au printemps 2022 sur des porte-greffes compatibles à Peyrat le Château (Cf. rapport d'activités 2022).



*Elevage des ramets des clones de la population d'amélioration DA2 à Peyrat  
A gauche vue générale de la serre ; à droite ramets en fin de 2<sup>e</sup> année d'élevage*

Pour rappel, une partie du matériel greffé ci-dessus est aussi destiné à regarnir les vergers à graines (Cf. paragraphe 2).

L'élevage s'est poursuivi en 2023. L'été 2023, particulièrement chaud, a nécessité de réaliser des arrosages fréquents des greffes au cours de leur croissance de 2<sup>e</sup> année à Peyrat le Château. Ces arrosages, liés à la très belle vigueur des ramets, ont entraîné un développement de maladies cryptogamiques qui s'est traduit par une légère mortalité.

En septembre 2023, le bilan de ces greffages s'établissait comme suit :

Population	Nb. Clones	Nb. Greffes	Nb greffes vivantes 2022	Nb greffes vivantes 2023	% réussite	
					2022	2023
Cœur d'aire	195	5156	5026	4398	93,8%	<b>82,1%</b>
Sud d'aire	135	2900	3260	2979	97,6%	<b>89,2%</b>
Elites ORWA	63	2264	2143	1954	94,7%	<b>86,3%</b>



L'installation sur le terrain de ces tests récapitulatifs a été achevée en novembre 2023. Ces dispositifs sont installés sous forme de blocs incomplets à composition aléatoire comportant chacun entre 60 et 64 plants par bloc. Les trois sites retenus sont les suivants :

Nom du site	Gestion	Département	Altitude (m)	Surface (ha)	Nb ramets plantés
<b>Ecouves</b>	INRAE	Orne	350	3	2870
<b>S<sup>t</sup> Merd les Oussines</b>	FCBA	Corrèze	800	3	2789
<b>La Luzette</b>	ONF / INRAE	Lot	750	5	2143



Test clonal récapitulatif en forêt d'Ecouves (23/11/2023)



Test clonal récapitulatif à Saint-Merd-Les-Oussines (24/10/2023)

La surface plus importante occupée par le test mis en place à la Luzette s'explique par le fait que ce dernier est destiné à être converti en verger à graines lorsque les ramets seront en âge de fructifier (Cf. §2 ci-dessous). En conséquence, l'écartement entre plants (4,5m x 4,5m) est plus important que celui adopté pour les deux autres tests (3m x 3,5m à Ecouves et 3mx2,5m à Saint-Merd-Les-Oussines).

Les trois tests sont protégés par une clôture périmétrale. On notera que la clôture périmétrale du test d'Ecouves a fait l'objet d'une subvention, à hauteur de 20 000€, et qui n'a pas pu être couverte par le budget de DA2. Cette subvention a été négociée par le partenaire France-Douglas, auprès du fonds de dotation "Plantons pour l'avenir".

## **Suivi météorologique des tests clonaux**

Pour mieux interpréter les mesures qui vont être prises sur les tests clonaux Douglas-Avenir, il est apparu indispensable de pouvoir disposer de données météorologiques relevées sur- ou à proximité des sites de tests. Dans cet objectif, des contacts ont été pris avec la société [Sencrop](#).

Sencrop est spécialisée dans la fourniture de solutions pour le suivi des conditions météo, l'anticipation des maladies et ravageurs et le pilotage de l'irrigation. Cette société gère un réseau de 32 000 stations implantées en Europe, qui transmettent des données en temps réel et les mettent à la disposition des utilisateurs à travers le réseau. Ces données concernent précipitations, températures de l'air et du sol, vitesse et direction du vent, rayonnement solaire, etc.

Les tests clonaux DA2 sont installés en forêt ou sur terre agricole dans des sites éloignés des laboratoires des partenaires du projet. Afin de disposer des données météo les plus fiables sur ces sites, deux solutions non exclusives sont envisageables :

- Contractualiser avec Sencrop pour accéder à des données des stations météo de son réseau déjà en place et situées à proximité des sites expérimentaux.
- Équiper les sites expérimentaux DA2, situés loin des stations Sencrop, de capteurs météo, vendus par la société elle-même, qui transmettent en temps réel leurs données au réseau (pluviométrie, température, hygrométrie).

Point d'avancement du projet (octobre 2023) : un entretien a eu lieu en septembre 2023 entre la cellule d'animation Douglas-Avenir et la représentante commerciale de Sencrop (Sandrine Chaillout). Cette dernière a fait parvenir un tarif actualisé des prestations : prix de la fourniture des stations météo, montant de l'adhésion au réseau Sencrop qui est fonction du nombre de points de mesures auxquels on souhaite avoir accès et du nombre de collaborateurs susceptibles d'accéder aux données. En décembre 2023, nous avons signé un contrat d'adhésion de trois ans avec Sencrop, qui comprend l'accès aux données du réseau de stations de la société et l'achat de 3 stations météorologiques. Le montant du contrat s'élève à 2 935 € HT à partager entre FCBA et l'INRAE. Ces stations seront installées, en principe, dans deux des tests clonaux et dans un des vergers à graines.

On notera que la démarche d'adhérer au réseau Sencrop entreprise par Douglas Avenir intéresse également les gestionnaires ONF des vergers à graines de l'État et ceux de la pépinière PNRGF de Peyrat le Château. Ces derniers sont en effet à la recherche d'aide à la décision pour le pilotage de leurs irrigations avec fourniture de prévisions des périodes de déficit hydrique et anticipation des moments critiques.



## 2- Proposer le matériel de base pour les vergers à graines de 2<sup>e</sup> génération de douglas : fin de la tranche 2 et préparation de la tranche 3

Pour mémoire, à ce jour les vergers installés dans le cadre du projet Douglas-Avenir sont les suivants :

### Tranche quinquennale 1 :

- VG 1.1 - Cœur d'aire (dénomination provisoire, ne pas diffuser) : 10 ha à Gorses (Lot) plantés à l'automne 2020.
- VG 1.2 – Sud d'aire (dénomination provisoire, ne pas diffuser) : 10 ha à la Luzette (Lot) plantés au printemps 2021.

### Tranche quinquennale 2 :

- VG 2.1 - Elites ORWA (dénomination provisoire, ne pas diffuser) : 10 ha à la Luzette (Lot) plantés au printemps 2022.
- VG 2.2.1 – PACIFIC NW (dénomination provisoire, ne pas diffuser) : 5 ha à la Luzette (Lot) en cours de plantation (novembre 2023) sous forme d'un test clonal récapitulatif de la population d'amélioration (Cf. §1 ci-dessus).

En octobre 2022, la mortalité dans les vergers installés avant 2023 s'établissait comme suit :

- VG 1.1 (Cœur d'aire) : **36%**.
- VG 1.2 (Sud d'aire) : **4%**.
- VG 2.1 (Elites ORWA) : **13%**

Ces trois vergers sont en cours regarnis (novembre 2023) avec les surplus de greffes réalisées en 2022 pour les tests clonaux récapitulatifs. Les effectifs disponibles sont malheureusement insuffisants pour remplacer tous les plants manquants comme le montre le bilan ci-dessous :

Verger	Effectif initial planté	Effectif manquant	Effectif regarnis disponible	Déficit regarnis
1.1 (Cœur d'aire)	2694	873	164	709
1.2 (Sud d'aire)	2864	106	17	89
2.1 (Elites ORWA)	2725	353	273	80

### Création des graines de douglas compatibles au greffage pour les futurs porte-greffes des vergers à graines

Au printemps 2023, des croisements contrôlés ont été réalisés entre clones compatibles dans l'archive clonale de Peyrat. Environ 40 sacs destinés à isoler environ 20 fleurs femelles chacun ont été posés. Les pollinisations ont été réalisées en avril 2023. Ces croisements ont été de type "biparentaux" en vue de créer des familles dont la compatibilité (élevée) au greffage est connue.

Le nombre de graines pleines attendues de ces croisements n'est pas encore connu, mais sera vraisemblablement inférieur à celui qui était attendu (10000).



*\*Croisements contrôlés sur clones de Douglas compatibles au greffage à Peyrat*

Une grosse récolte de pollen (environ 2 kg) a également été réalisée à Peyrat sur un groupe de clones induisant la meilleure compatibilité au greffage. Le pollen a été envoyé à INRAE Orléans pour séchage et conditionnement. Ce pollen est conservé à l'INRAE et est prêt à être utilisé à tout moment.



*A gauche séchage des strobiles mâles, à droite tamisage et pesée du pollen en vue de son conditionnement*

**Préparation du matériel végétal pour les regarnis des vergers actuels pour les tranches futures des vergers à graines**

Faute de graines compatibles, il n'a pas été possible, au printemps 2023, d'élever les porte greffes destinés à :

- mobiliser le matériel végétal pour regarnir les trois vergers Douglas-Avenir
- multiplier les clones Élités du verger de première génération Californie qui seront le matériel de base du futur verger 2.2.2 (Élites CALI) de 5 ha.

Une commande d'importation de semences de mères compatibles et issus de pollinisation ouverte a été passée des États-Unis et gérée par le partenaire ONF. L'expédition de ce matériel est

imminente, dans l'attente des certificats d'importation définitifs. Si des graines issues de croisement entre clones compatibles (ou importées des USA) sont disponibles, les semis des futurs porte-greffes de ces matériels de base seront réalisés à Peyrat au printemps 2024. Les plants greffés seront plantables à l'automne 2025.

### 3- Lever des verrous méthodologiques et scientifiques

Au cours du projet DA (2014-2020), il a été possible de mettre en évidence un certain nombre de freins, voire d'obstacles, dans le processus d'évaluation, de sélection et de diffusion du matériel amélioré chez le douglas. Trois domaines d'investigation ont été identifiés dans le cadre du projet DA2 :

- Optimisation de la propagation végétative pour l'amélioration génétique et la dissémination
- Recherche d'indicateurs rapides et pertinents d'appréciation de caractères complexes.
- Développement de connaissances sur le déterminisme génétique de caractères clés, non traités au cours du projet DA.

Comme en 2022, les efforts ont été portés cette année sur des essais méthodologiques concernant la propagation végétative et l'appréciation indirecte de la tolérance au stress hydrique.

#### Propagation végétative

##### Essai top-grafting

Pour mémoire, l'objectif visé par la technique de top-grafting est de hâter la mise à fleur des clones de la population d'amélioration en vue de produire des graines par croisements contrôlés de façon plus rapide.

Un nouvel essai de **top-grafting** a été installé à Peyrat au printemps 2023. Cet essai a consisté à greffer sur de jeunes douglas élevés sous serre (portes greffes) plusieurs rameaux de clones différents. En outre, quatre modalités de greffage ont été testées : placage, anglaise, fente et couronne.



Greffes multiples sur Douglas en pot



Grefte en fente



Greffe anglaise



Greffe anglaise cicatrisée au bout de 8 mois

Le tableau ci-dessous récapitule l'ensemble des effectifs de greffes réalisées, croisant les clones (greffons) et les modalités de greffage.

Porte greffe	Greffon	Nb greffe réalisées				Nb greffes réussies			
		Placage	Anglaise	Fente	Couronne	Placage	Anglaise	Fente	Couronne
OPEN F4180	BOU 6	4	4	4	2	1		2	1
OPEN F4181	ST PAR 119	4	4	4	2			3	1
OPEN F4182	MOI503	4	4	4	2			1	
OPEN F4183	BOU 4	4	4	4	2	2	1	1	
OPEN F4184	SOR 1710 108-58	4	4	4	2				
OPEN F4185	PIN HAC 49-01	4	4	4	2	2			
OPEN F4186	SOR 1712 67-90	4	4	4	2	2	1	1	
OPEN F4187	HOL-SHAB53	4	4	4	2	2		2	
OPEN F4188	4075	4	4	4	2	2		2	
OPEN F4189	4065	4	4	4	2		2		1
Nombre total de greffes réussies par type :						11	4	3	3

**Bilan :** Même si globalement le pourcentage de réussite au greffage est modeste, les résultats sont clairement en faveur des greffes en placage et en tête :

- taux de réussite respectivement : 27,5 et 30% (contre 4 et 3%) pour les 2 autres modalités)



- pourcentage de clones avec au moins une greffe réussie, respectivement : 60 et 70% (contre 30 pour les autres modalités).

Un léger avantage (non significatif) semble se dessiner pour la greffe en tête.

Cet essai sera repris en 2024 avec un nombre plus élevé de greffes par modalités.

### *Incompatibilité de greffe chez le Douglas*

Plusieurs actions ont été conduites en 2023 pour tenter de mieux comprendre l'incompatibilité de la greffe (IG) chez le Douglas et les facteurs qui lui sont liés.

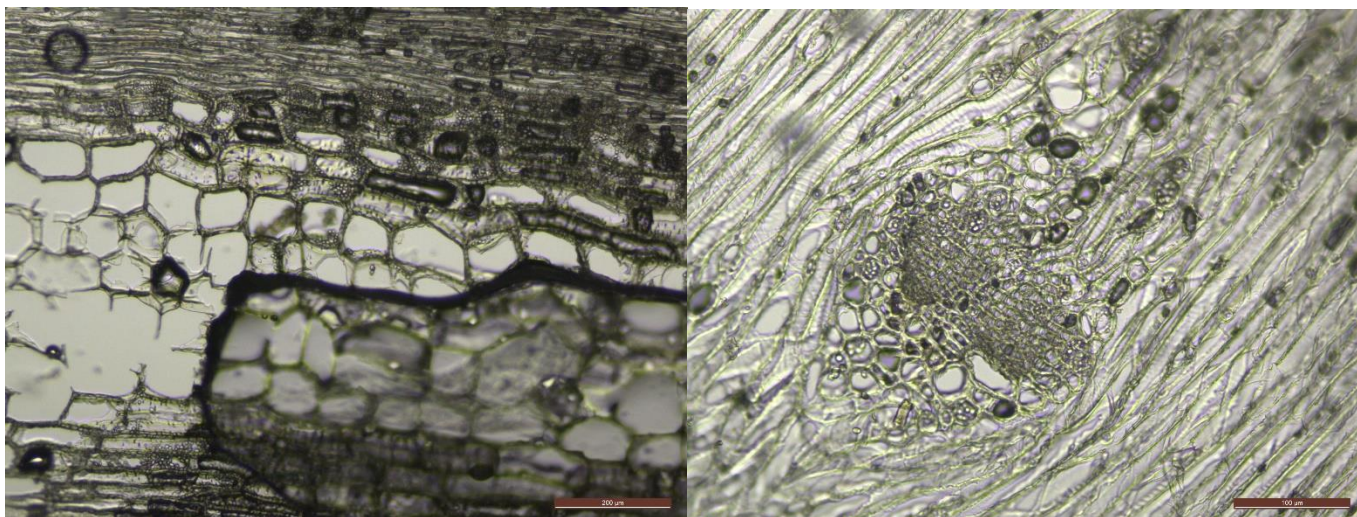
#### Revue bibliographique (Annexe 1) :

Mathilde Montibus a réalisé une revue de la documentation publiée sur les principaux facteurs responsables de l'IG chez le Douglas, mais aussi chez les arbres fruitiers, les plantes maraîchères et la vigne.

- Historique des travaux conduits sur Douglas aux USA et au Canada : influence du mode de greffage avec une prédominance du greffage en tête.
- Travaux de Don Copes (USDA – Corvallis, Or.) sur Douglas : détection précoce de l'IG, dynamique de l'IG, variabilité génétique du caractère, sélection de parents de familles compatibles, amélioration génétique de la compatibilité.
- Présentation de revues biblio sur les causes de l'IG :
  - Chez les arbres fruitiers : transmission de pathogènes, effet de l'âge du greffon, méthylation de l'ADN, différenciation cellulaire dans les tissus en contact (activités enzymatique et peroxydase).
  - Chez la tomate : expression de gènes.
  - Chez la vigne : activité peroxydase, expression de gènes et métabolisme des jasmonates.

#### Contact avec des chercheurs :

Mathilde Montibus a contacté l'Institut de la vigne et du vin de Bordeaux (Anne Sophie Spilmont) qui travaille sur les aspects anatomiques et physiologiques de la greffe chez la vigne. Il semble que pour la détection précoce de la compatibilité, le plus efficace reste le test du "coup de pouce" : vérification de la solidité du cal par pression du pouce sur le point de greffe. En outre, des échantillons de jeunes greffes de Douglas ont été envoyés à Bordeaux pour examen anatomique. Les résultats ont été comparés avec les données des publications de Copes. Les premières analyses ont permis d'identifier clairement le greffon et le porte-greffe. Désormais, plusieurs greffes compatibles ou non doivent être analysées pour identifier les différences visibles en microscopie.



*Images des greffes en microscopie : A gauche, coupe longitudinale au niveau du porte-greffe, X100 ; à droite, coupe longitudinale au niveau du point de greffe X 200.*

Ici, les tissus du porte-greffe sont visibles en orientation longitudinale et les tissus du greffon en transversale (cellules rondes, plus ou moins grandes). Des cellules élargies peuvent faire penser à une incompatibilité d'après les travaux de Copes.

### **Appréciation indirecte de la tolérance au stress hydrique**

Le rapport d'activité 2022 du projet DA2 a présenté l'intérêt de la mesure du SLA<sup>3</sup> sur aiguilles de Douglas comme prédicteur de la tolérance de l'arbre au stress hydrique. La valeur du SLA est inversement liée à la tolérance / résistance de la plante à des périodes de sécheresse ou de canicule. Une étude préliminaire conduite par FCBA en 2022 sur 36 clones de l'archive clonale de Peyrat le Château a mis en évidence une variabilité clonale importante du SLA. Cette étude a également permis d'optimiser le nombre d'aiguilles à mesurer par ramet.

Une nouvelle étude a été conduite en 2023 par FCBA sur un sous-ensemble de clones DA2, présents dans deux sites : archive clonale de Peyrat le Château et test clonal-Série 1 de Laurerie-Vicq sur Breuilh (87). Les objectifs visés par l'étude sont de mettre en évidence les effets du site et de date du prélèvement des aiguilles sur le classement et la diversité des clones pour leurs valeurs de SLA.

L'effet du site a été évalué sur 17 clones répartis dans trois classes de variabilité inter ramets de leur valeur de SLA mesurée en 2022. Les mesures de SLA ont été réalisées sur des aiguilles récoltées à Laurerie en juillet 2023. L'effet date de prélèvement a été évalué sur 5 clones (sélectionnés parmi les 17) dont les aiguilles ont été récoltées à Laurerie en juillet et en octobre 2023.

Cette étude, supervisée par FCBA, a été conduite par Olivier Arfaoui. Les comptes rendus détaillés des études conduites en juillet et octobre 2023 figurent en annexes 2 et 3. Les principales conclusions sont les suivantes :

- Effet site (17 clones) :
  - Comme observé à Peyrat en 2022, les SLA mesurés en 2023 à Laurerie mettent en évidence une variabilité significative des valeurs moyennes par clone mais aussi de la diversité des SLA des ramets d'un même clone (variabilité "intra").

<sup>3</sup> SLA : Surface Leaf Area (surface spécifique des feuilles). Rapport entre la surface des aiguilles fraîches et leur poids anhydre.

- Le site de prélèvement des aiguilles semble avoir un effet majeur sur la valeur du SLA d'un clone. Les valeurs moyennes des SLA des clones sont systématiquement plus élevées à Peyrat (2022) qu'à Laurerie (2023). Selon les clones, les écarts entre valeurs moyennes par site vont de 4% à 63% (moyenne 27%).
  - Sur les 17 clones observés en 2023 à Laurerie, 8 présentent une variabilité intra similaire à celle observée en 2022 à Peyrat, 9 présentent cependant une variabilité "intra" différente (en plus ou en moins), voire très différente, de celle observée en 2022 à Peyrat.
  - Un examen plus approfondi des données permet d'attribuer en grande partie ces écarts de comportement à des problèmes de précision des mesures de masses foliaires, principalement, et de surface foliaire, secondairement. Ces imprécisions cumulées peuvent se traduire par une incertitude sur la valeur (calculée) du SLA de l'ordre de 13%.
- Effet date de mesure du SLA (5 clones récoltés à Laurerie) :
    - Les valeurs moyennes de SLA mesurées sur les feuilles récoltées en juillet sont systématiquement supérieures à celles mesurées sur les feuilles récoltées en octobre (de l'ordre de 32 à 46% selon les clones). La différence de SLA entre les deux dates s'explique principalement par la réduction de la surface foliaire.
    - Si les classements des clones sur valeurs moyennes de SLA en juillet et octobre sont bien respectés, la variabilité intra-clonale est significativement plus faible en octobre qu'en juillet.

En complément de l'étude des effets site et date de prélèvement sur les valeurs de SLA de clones de Douglas, FCBA a aussi réalisé une étude méthodologique destinée à évaluer l'influence de la diminution du nombre d'aiguilles mesurées par échantillon (ramet) sur la précision de la surface et de la masse foliaires. Cette étude, qui complète celle présentée en 2022, s'insère dans une démarche visant à diminuer la charge de travail lorsque la mesure du SLA porte sur de grands nombres d'échantillons, sans altérer la précision de cette mesure.

L'étude a consisté à mesurer les surfaces et masses foliaires<sup>4</sup> d'une dizaine d'échantillons d'aiguilles en réduisant progressivement le nombre d'aiguilles mesurées de 25 à 8 par échantillon. Le détail des résultats sous forme de graphiques sont présentés en annexe 4. Les principales conclusions sont les suivantes :

- Concernant la surface foliaire, sur 11 échantillons, en réduisant de 25 à 8 le nombre d'aiguilles mesurées, l'erreur relative moyenne reste inférieure à 10%, voire inférieure à 5% pour 9 échantillons.
- Il n'y a pas d'effet opérateur sur la mesure de la surface foliaire quel que soit le nombre d'aiguilles mesurées ( $r^2 = 0,98$ ).
- Concernant la masse foliaire, sur 10 échantillons, en réduisant de 25 à 8 le nombre d'aiguilles mesurées, l'erreur relative moyenne est très souvent supérieure à 10%. Ici il ne faut donc pas réduire le nombre d'aiguilles pour évaluer la masse foliaire.

## Bilan des études FCBA sur les mesures de SLA sur clones de douglas en 2023

- L'évaluation du SLA est dépendante du site et de la date de récolte des aiguilles.
- La mauvaise corrélation des valeurs de SLA observée entre sites en 2023 reste à expliquer par une nouvelle étude intégrant plus de sites et plus d'individus par clone et par site.

---

<sup>4</sup> Surface foliaire : mesurée sur aiguilles fraîches en mm<sup>2</sup> par analyse d'image (logiciel [imageJ](#))  
 Masse foliaire : mesurée sur aiguilles anhydres par pesage au 1/10 mg

- Pour un site donné, une évaluation du SLA en début d'automne semble diminuer la variabilité intra-clone sans affecter le classement des moyennes de clone.
- Pour estimer au mieux le SLA d'un clone il est important de faire des mesures par ramet et sur un nombre suffisamment élevé de ramets (valeur à préciser).
- Pour augmenter le débit des mesures de SLA, il est envisageable de mesurer la surface foliaire sur 8 à 10 feuilles seulement par ramet. En revanche la mesure de la masse foliaire anhydre doit être évaluée sur au moins 25 feuilles par ramet.

#### 4- Communiquer sur le projet DA2 et les variétés améliorées de douglas

En 2023, les membres de la cellule d'animation du projet DA2 ont communiqué sur le programme d'amélioration du douglas, la diffusion des variétés améliorées de douglas et le projet DA2 lui-même sous diverses formes. Ces réalisations sont énumérées ci-dessous

- Présentation du projet DA2; Séminaire Xylodating – 6 octobre 2023
- Présentation du protocole SLA, forum projets FCBA- 17 novembre 2023

#### 5- Gestion du projet

Le suivi de la réalisation du projet est assuré par une cellule d'animation et un comité de pilotage.

La **cellule d'animation** est composée de :

- Leopoldo SANCHEZ : coordination INRAE et coordination scientifique du projet
- Mathilde MONTIBUS : coordination FCBA
- Yves ROUSSELLE : coordination ONF
- Sabrina PEDRONO : coordination France-Douglas

En 2022, la cellule d'animation s'est réunie 7 fois.



## Comité de pilotage

Rappel de la composition de ce comité :

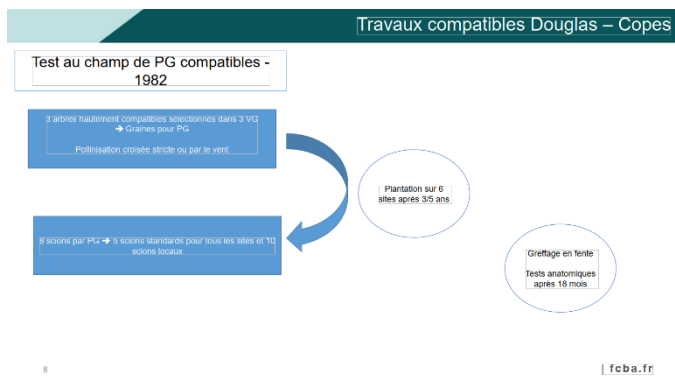
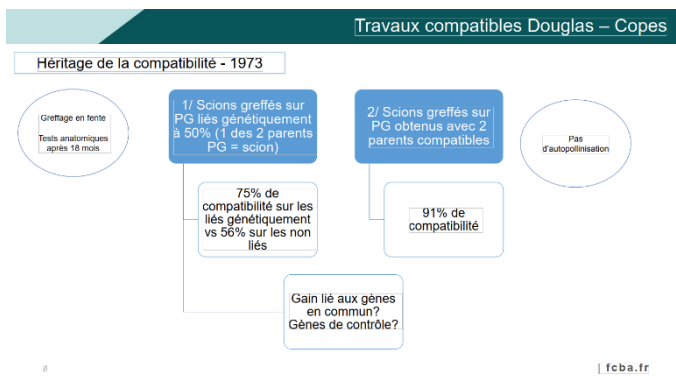
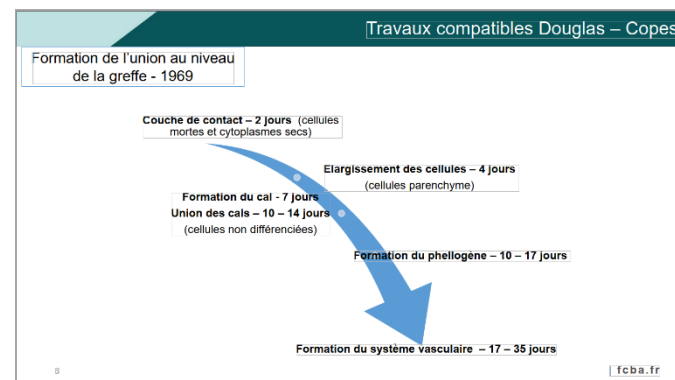
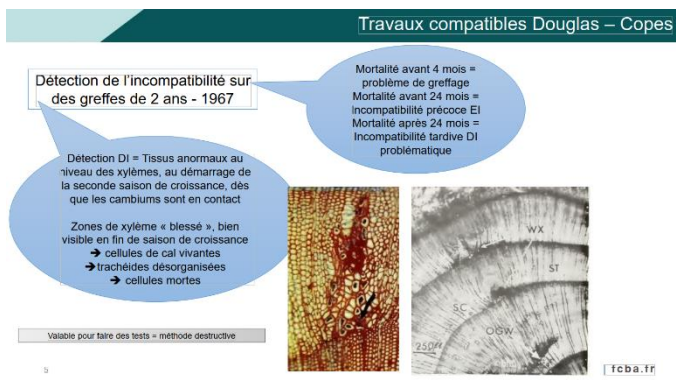
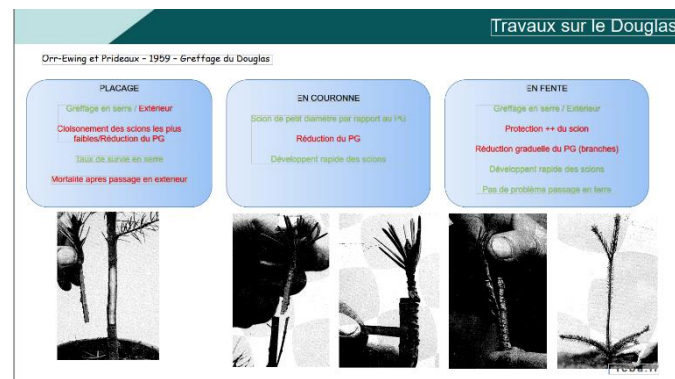
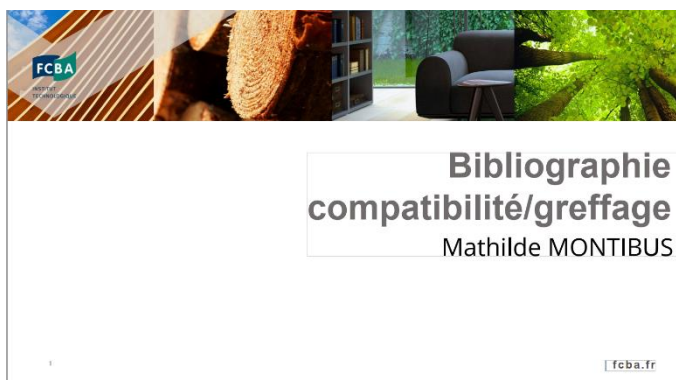
<b>COPIL (établi selon convention)</b>	<b>Représentant</b>
<b>INRAE</b>	Leopoldo SANCHEZ
<b>FCBA</b>	Marin CHAUMET
<b>ONF</b>	Yves ROUSSELLE
<b>France Douglas</b>	Sabrina PEDRONO
<b>France Bois Forêt</b>	Vincent NAUDET
<b>MASA</b>	Marc FOURNIER
<b>COPIL ELARGI</b>	
<b>Alliance Forêts Bois</b>	Loïc COTTEN
<b>BBF</b>	Jean-Philippe BAZOT
<b>CNPF/IDF</b>	Sabine GIRARD
<b>Experts Forestiers de France</b>	Frédéric LEJUEZ
<b>Farges Bois</b>	Sébastien BOHAN
<b>FCBA</b>	Alain BAILLY
<b>Groupe Monnet-Sève</b>	Guy MONNET
<b>INRAE</b>	Jean-Charles BASTIEN
<b>Union de la Coopération Forestière Française</b>	Lionel SAY
<b>SNPF</b>	Gilles BAUCHERY
<b>ONF/GIE SFA</b>	Joël CONCHE
<b>Vilmorin/GIE SFA</b>	Richard HEBRAS

Le comité de pilotage du projet DA2 s'est réuni le matin du 24 janvier 2023 dans les locaux de FCBA à Bordeaux. Cette réunion a été suivie l'après-midi par la visite des pépinières FORELITE.

# ANNEXE 1

## Revue Bibliographique sur l'incompatibilité de greffe chez le Douglas, les arbres fruitiers, la tomate et la vigne

Mathilde Montibus - FCBA



## Test au champ de PG compatibles - 1982

Donneur	Recepteur				Donneur	Recepteur				Donneur	Recepteur			
	100	101	102	103		100	101	102	103		100	101	102	103
100	100	101	102	103	100	100	101	102	103	100	100	101	102	103
101	101	101	101	101	101	101	101	101	101	101	101	101	101	101
102	102	102	102	102	102	102	102	102	102	102	102	102	102	102
103	103	103	103	103	103	103	103	103	103	103	103	103	103	103

→ Pollinisation contrôlée 91% de compatibilité  
→ Pollinisation par le vent 78% de compatibilité

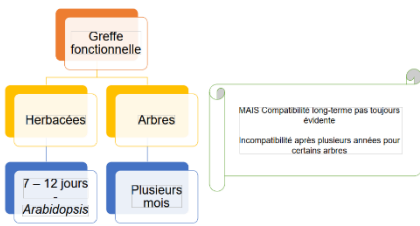
Greffage en terre?  
Tests anatomiques  
après 18 mois

fcbba.fr

## Revue Incompatibilité

Revue greffage  
Goldschmidt et al, 2014

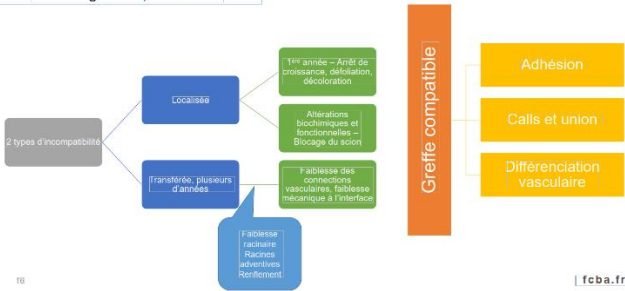
Autogreffe > Intraspécifique (espèce) >  
Interpécifique (genre) > Intrafamilial (rare)



Parfois compatibilité intrafamiliale (*curcubitaceae*) et incompatibilité intraspécifique chez la tomate

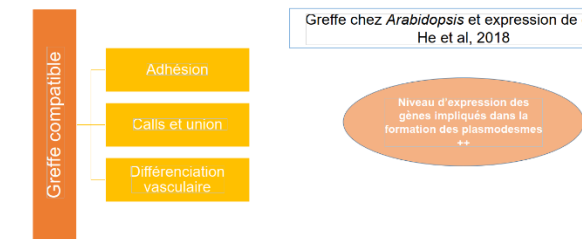
fcbba.fr

## Incompatibilité fruitiers

Incompatibilité en horticulture  
Dogra et al, 2018

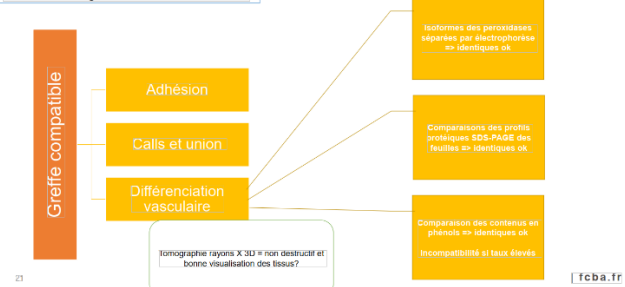
fcbba.fr

## Incompatibilité fruitiers – Marqueurs – Focus plasmodemes

Incompatibilité en horticulture - Revue  
Dogra et al, 2018Greffage chez *Arabidopsis* et expression de gènes  
He et al, 2018

fcbba.fr

## Incompatibilité fruitiers - Marqueurs

Incompatibilité en horticulture - Revue  
Dogra et al, 2018

fcbba.fr

21

Amélioration de la compatibilité des PG  
1999

27 autres sélectionnés comme compatibles comme donneurs pour les scions (tests 1981)  
→ Croisements contrôlés pour PG, croissance 2 ans sur le terrain avant greffage  
→ Greffage de chaque famille obtenus avec 50 scions sélectionnés au hasard par an

Greffage en terre?  
Tests anatomiques  
après 24 mois

27 parents

10 à plus de 92% de comptabilité

Lien avec débourrement et hauteur des semis

Résultats au champ vs prédiction pour les familles issues de ces 20 parents

Au champ 93% minimum

Prédiction pour simuler tous les croisements possibles 94% minimum

13

## Revue Incompatibilité

Revue greffage  
Goldschmidt et al, 2014

Causes incompatibilités tardives chez les fruitiers

Transmission de pathologies → via PG? Via racines ensuite?

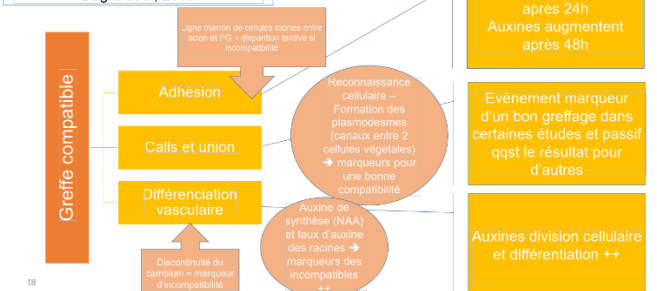
Age Scion/PG? → même pour autogreffe

Modification de l'ADN du scion? → méthylation/altération (hypothétique)

14

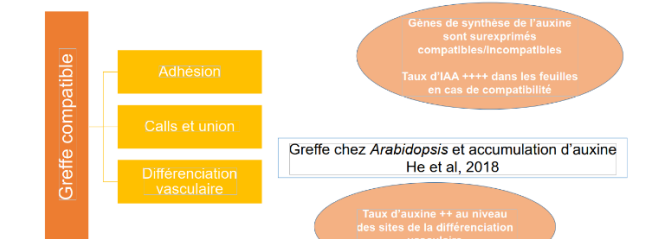
fcbba.fr

## Incompatibilité fruitiers - Marqueurs

Incompatibilité en horticulture - Revue  
Dogra et al, 2018

18

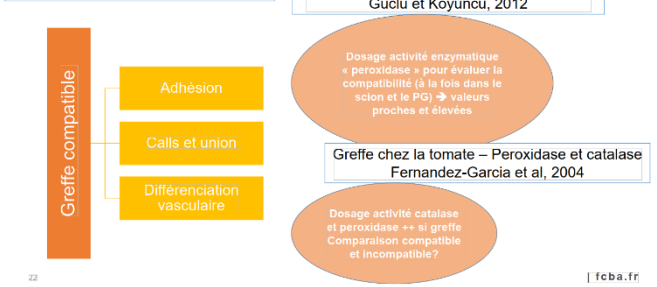
## Incompatibilité fruitiers – Marqueurs – Focus Auxine

Incompatibilité en horticulture - Revue  
Dogra et al, 2018Incompatibilité chez *Citrus*  
He et al, 2018

20

fcbba.fr

## Incompatibilité fruitiers – Marqueurs – Focus peroxidase

Incompatibilité en horticulture - Revue  
Dogra et al, 2018Incompatibilité chez le cerisier - Peroxidase  
Guclu et Koyuncu, 2012

22

fcbba.fr

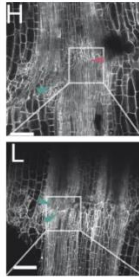
## Incompatibilité tomate - Marqueurs

Incompatibilité tardive tomate  
Thomas et al, 2022



Hétérogrefe  
tomate/poivre

- Essai de flexion → cassure à la jonction
- Prolifération de cellules désorganisées élargies en microscopie
- Expression des gènes : Sw5oxif implique dans la connexion des xylièmes, crucial pour la compatibilité



| fcba.fr

## Incompatibilité vigne

Incompatibilité histochimique  
Khili et al, 1995

Intérêt du greffage vis-à-vis du  
Phylloxera (insecte)  
Plusieurs assemblages compatibles  
ou non

- Greffage classique
  - A l'aide d'une machine
- Micro-greffage
  - Réalisation *in vitro*

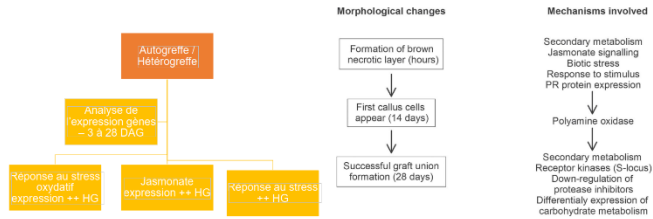
Marqueur 1 : Absence de connexions  
vasculaires après 45j, visible plus  
rapidement si micro-greffage, étape  
indispensable mais non suffisante ici

Marqueur 2 : Activité peroxydase au  
microscopie ++ avec les incompatibles au  
niveau de la ligne de contact (mais pas à  
100%)

| fcba.fr

## Incompatibilité vigne – Mécanismes moléculaires

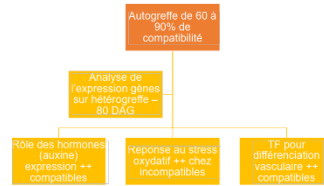
Compatibilité chez la vigne  
Cookson et al, 2014



| fcba.fr

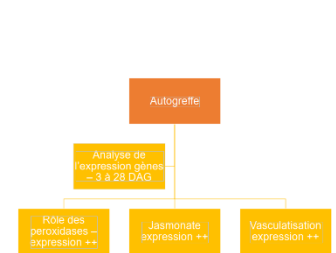
## Incompatibilité vigne – Mécanismes moléculaires

Compatibilité chez la vigne  
Assunção et al, 2018



| fcba.fr

Compatibilité chez la vigne  
Cookson et al, 2013



| fcba.fr



Merci de votre attention

| fcba.fr



## ANNEXE 2

### Influence du site de prélèvement des aiguilles sur la mesure du SLA de clones de Douglas

Olivier Arfaoui - FCBA

#### Contexte :

Dans le cadre du projet « Douglas avenir », étude sur la sélection génétique du douglas. Un des paramètres étudiés est le SLA (Specific Leaf Area). Pour obtenir cette donnée, il faut faire la surface foliaire/masse foliaire. L'hypothèse est que plus la valeur de SLA est basse et plus le plant est susceptible de résister à des périodes de sécheresses et/ou canicules.

Pour ce projet, des rameaux ont été prélevés sur le site de Laurerie. Une sélection clonale a été réalisée au préalable. L'objectif était de comparer les mêmes clones sur deux sites différents, Peyrat-le-Château et Laurerie.

Au final 17 clones ont été sélectionnés comptant chacun entre 5 et 8 individus. Ces 17 clones ont été classés par groupe de variabilité de SLA (basse, moyenne, haute) suivant les données de SLA obtenues en 2022 sur ces mêmes clones sur le site de Peyrat-le-Château (PLC). Contrairement à la manipulation de Laurerie, à Peyrat-le-Château le travail s'est fait sur 3 individus par clone.

L'objectif de cette manipulation est de voir les similitudes et différences concernant la valeur et la variabilité de SLA entre les clones des deux sites.

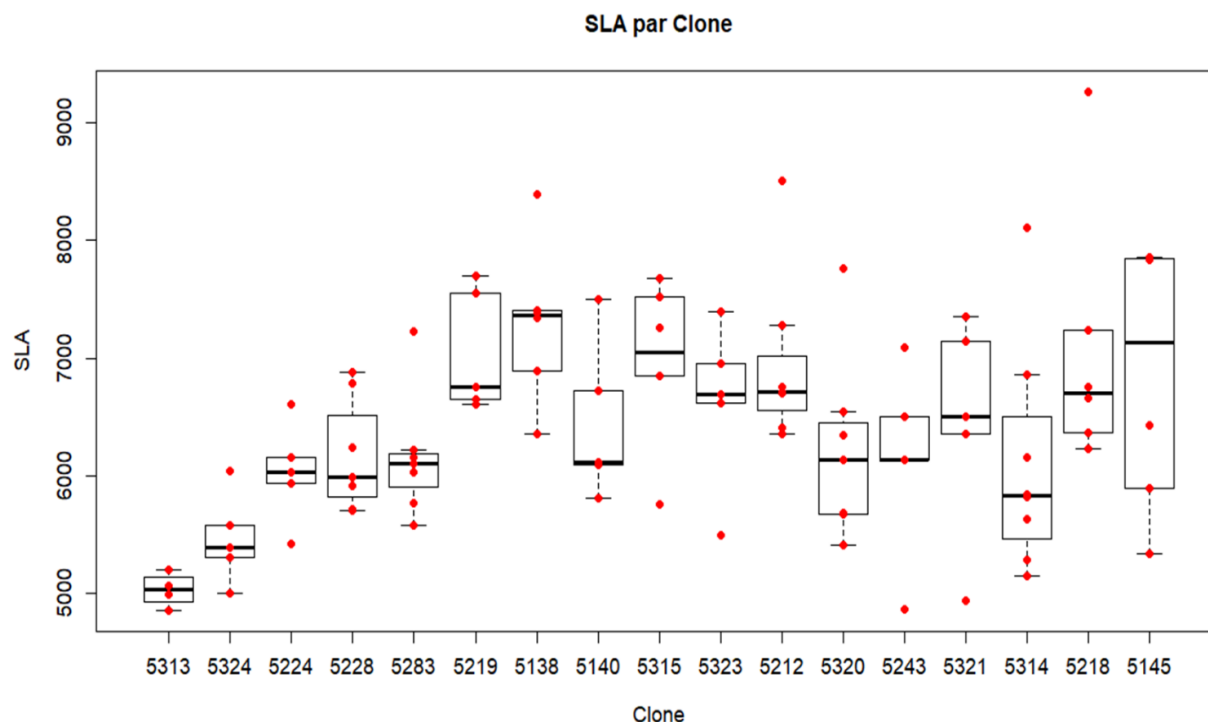
#### Table des matières

Restitution interprétation mesures Laurerie	22
1) Site de Laurerie, SLA	23
1.1) Analyse SLA Laurerie	23
1.2) Comparaison des classes de variabilités entre PLC et Laurerie	23
2) Comparaison du SLA entre les deux sites par clone	24
3) Test mesure masse	25
4) test mesure superficie	25
5) Effet d'erreur cumulatif	26
6) Vérification des hypothèses	26

## 1) Site de Laurerie, SLA

### 1.1) Analyse SLA Laurerie

Les aiguilles ont été mesurées (surface, masse) suivant le protocole de pesée et de mesure de surface foliaire préétablie.



Grâce au graphique si dessus, nous pouvons constater les valeurs de SLA pour chacun des clones ainsi que la variabilité de SLA.

Ils ont été triés du moins variable (à gauche) aux plus variable (à droite).

L'écart type moyen de tous les clones sur la valeur de SLA est de 691, avec un minimum de 142 et un maximum de 1123.

### 1.2) Comparaison des classes de variabilités entre PLC et Laurerie

Les effectifs par groupe de variabilité sont:

- 5 clones différents pour le groupe variabilité basse
- 7 clones différents pour le groupe variabilité moyenne
- 5 clones différents pour les le groupe variabilité haut

En comparant le SLA des clones des deux sites, on s'aperçoit que beaucoup de clones changent de groupe de variabilité entre le site de Peyrat-le-Château et le site de Laurerie. Voir tableau ci-dessous.

Clone	5313	5140	5219	5224	5243	5321	5323	5324	5138	5145	5218	5315	5212	5228	5283	5320	5314
Variabilité_PLR	Moyenne	Haute	Moyenne	Moyenne	Haute	Basse	Basse	Basse	Moyenne	Haute	Moyenne	Moyenne	Haute	Haute	Basse	Moyenne	Basse
Variabilité_laurerie	Basse	Moyenne	Moyenne	Basse	Haute	Haute	Moyenne	Basse	Moyenne	Haute	Haute	Moyenne	Moyenne	Basse	Basse	Moyenne	Haute
	Fort changement de variabilité					3											
	Faible changement de variabilité					6											
	Groupe de variabilité similaire					8											

Est-ce la cause de la différence du nombre d'individus par clone ?

Ou bien les approximations liées aux intervalles d'erreur résultant de la prise de mesures ?

Ou bien encore, l'effets d'erreur cumulatif des deux mesures ?

Ou à cause de la différence de protocole entre les mesures de PLC et de Laurerie ?

Pour une prochaine comparaison, nous pourrions borner les valeurs de SLA, afin de définir lesquelles sont faiblement, moyennement et fortement variables.

Pour ce faire, je propose d'additionner l'écart type le plus faible avec le plus fort, diviser cette valeur en 3 segments égaux ce qui donnerait.

Varibilié	Basse	Moyenne	Haute
SLA	0-417	418-836	836-1254

## 2) Comparaison du SLA entre les deux sites par clone

Sur le tableau ci-dessus, nous avons comparé le SLA de chaque clone de Peyrat-le-

Clone	SLA_PLR	Classement SLA avant	SLA_Laurerie	Classement SLA Laurerie	Différence SLA	%absolu_différence SLA	% différence SLA
5283	3785	1	6158	6	2373	63	-63
5320	4135	2	6225	8	2090	51	-51
5323	4318	3	6633	11	2315	54	-54
5321	4322	4	6460	10	2138	49	-49
5243	4338	5	6148	5	1810	42	-42
5314	4901	6	6109	4	1208	25	-25
5218	5149	7	7086	16	1937	38	-38
5313	5460	8	5032	1	428	8	8
5138	5687	9	7296	17	1609	28	-28
5145	5689	10	6868	12	1179	21	-21
5324	5878	11	5466	2	412	7	7
5219	5947	12	7054	15	1107	19	-19
5315	6199	13	6985	14	786	13	-13
5224	6301	14	6034	3	267	4	4
5212	6345	15	6961	13	616	10	-10
5140	6791	16	6452	9	339	5	5
5228	7449	17	6177	7	1272	17	17

Château avec celui des mêmes clones de Laurerie. Nous pouvons observer plusieurs phénomènes.

Le premier, est qu'il y en moyenne une différence significative de valeur de SLA entre les deux sites. En effet, seulement quatre clones (sur 17) ont une différence inférieure ou égale à 10% par rapport à son homologue de l'autre site.

De plus, on observe que tous les clones dont la différence de SLA entre sites est supérieure ou égal à 10% ont un pourcentage négatif. Ce qui veut dire que soit le SLA du site Laurerie est surévalué, ou, inversement, le SLA de PLC et sous-évalué.

Pour finir, on peut observer que le classement de SLA (la plus petite valeur jusqu'à la plus grande 17) ne suit pas la même logique pour les deux sites. On peut alors se demander, pourquoi il y a cette différence de SLA et de classement entre les deux sites.

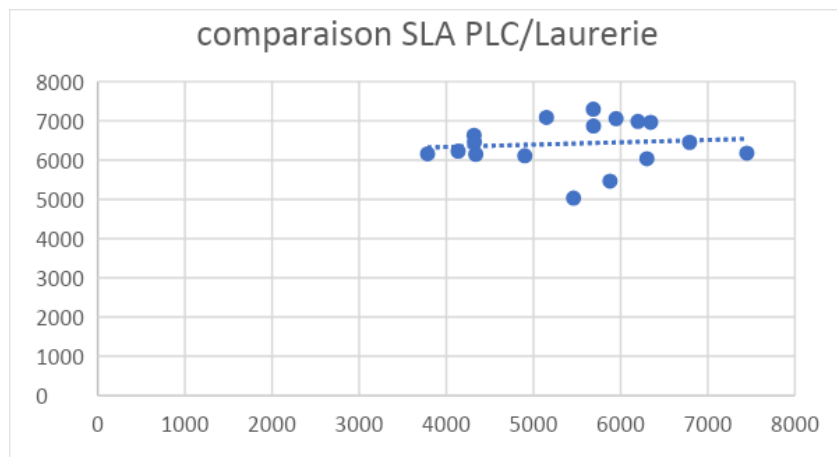


Figure SEQ Figure \\* ARABIC 4 Comparaison SLA PLC/ Laurerie

Le nuage de point ci-dessus, nous confirme qu'aucune corrélation ne peut être établie entre les SLA des clones des deux sites.

### 3) Test mesure masse

Pour essayer de répondre à ces interrogations, un test par rapport aux protocoles de pesée a été réalisé. Il consistait à réaliser exactement la même manipulation (rameaux utilisés, technique de prélèvement d'aiguille, temps et température de séchage, pesée sur balance) le tout 6 fois.

Ceci réalisé, nous obtenons un écart-type avec l'ensemble des 6 masses d'environ  $1.4 \cdot 10^{-4}$ . En sachant que la moyenne de 6 pesées est de  $5.67 \cdot 10^{-3}$ , ce qui équivaut à une erreur relative de d'approximativement 2.51%.

Si l'on étudie l'impact de ce pourcentage d'erreur lié à la valeur de masse sur la valeur de SLA on voit que cela entraine une amplitude de 2.61% d'erreur sur la valeur de SLA.

### 4) test mesure superficie

Un test sur le calcul de superficie a également été réalisé. Ce dernier consisté à réitérer la méthode pour obtenir la surface foliaire mais en le faisant 3 fois sur 4 clones.



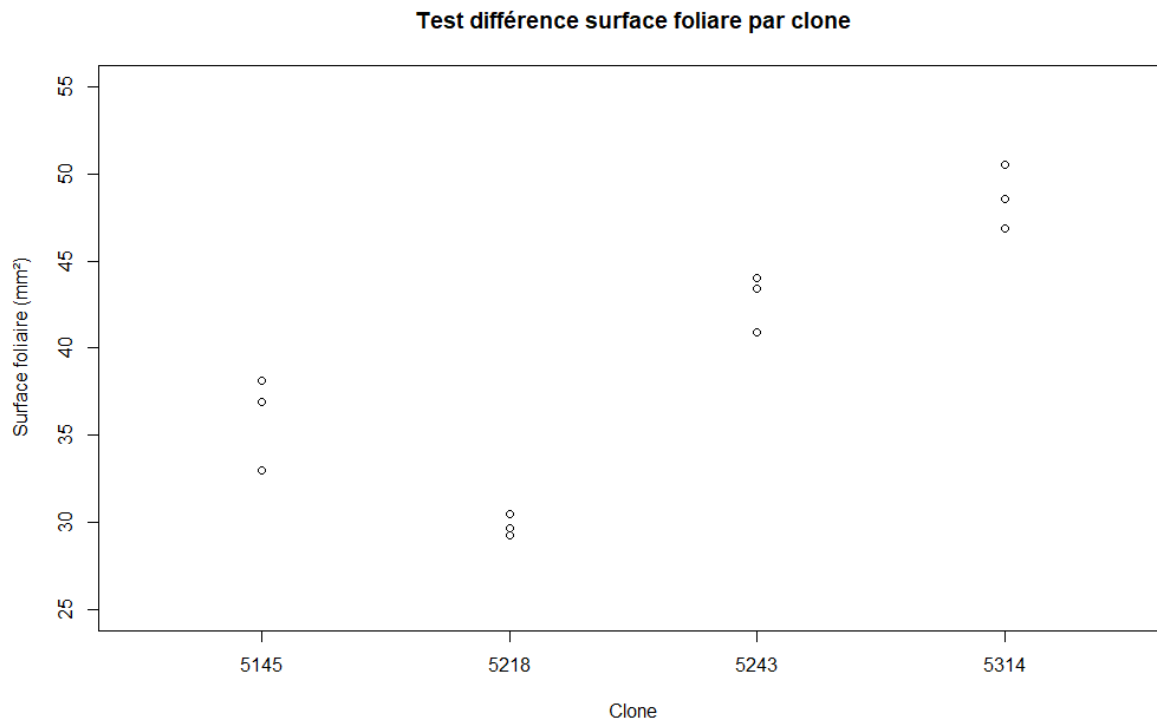


Figure 5 Test surface foliaire

L'écart-type moyen des 4 clones est de 1.38 mm<sup>2</sup> allant de 0.49 mm<sup>2</sup> pour le plus petit écart-type à 2.21 mm<sup>2</sup> pour le plus grand. Ce qui donne une amplitude d'erreur relative de 3.5% concernant la valeur de surface foliaire et de 3.3% d'impact sur la valeur de SLA.

## 5) Effet d'erreur cumulatif

Nous avons vu sur les deux parties précédentes que les valeurs de masses et de surfaces foliaires possèdent chacun un intervalle de confiance calculé sur l'écart-type.

Le paramètre de SLA étant dépendant à la fois de la surface foliaire et de la masse foliaire, les erreurs relatives de ces deux paramètres s'accumulent. En calculant cet effet d'erreur cumulatif nous obtenons la valeur 418 concernant le SLA. Ceci veut donc dire que pour une valeur de SLA mesurée, la mesure réelle peut se situer entre cette valeur mesurée plus ou moins 418.

Ce facteur a une importance afin de déterminer si deux valeurs de SLA sont significativement différentes ou non. Dans notre cas, ce seuil de significativité concernant la valeur de SLA est de 418.

## 6) Vérification des hypothèses

Afin de répondre à notre interrogation sur le classement de SLA de Peyrat-le-Château et Laurerie nous allons prélever de nouveaux rameaux et aiguilles des clones correspondant.

Nous préconisons cela car quand les mesures d'aiguille de PLC ont été réalisé le protocole de mesure était différent de celui actuel.

Une fois ce travail réalisé, nous pourrons à nouveau comparer le SLA de chaque clone des deux sites et voir si les dynamiques entre les deux changent ou restent les mêmes.

Site	Superficie	Masse	SLA
Laurerie	38,62	0,0074	5453
Peyrat-le-Château	38,11	0,0060	6447
Différence	0,51	0,0014	995
Différence relative %	1,3	18,5	18,2

Figure 6 Différences de SLA entre les deux sites

Le tableau ci-dessus, nous montre que la différence de SLA entre les deux sites provient particulièrement des mesures de la masse. Il faudra alors être particulièrement vigilant lors du protocole de prise de masse foliaire.

Clone	SLA PLC	SLA Laurerie	Différence SLA	%absolu différence SLA
5224	6301	6034	267	4
5140	6791	6452	339	5
5324	5878	5466	412	7
5313	5460	5032	428	8
5212	6345	6961	616	10
5315	6199	6985	786	13
5228	7449	6177	1272	17
5219	5947	7054	1107	19
5145	5689	6868	1179	21
5314	4901	6109	1208	25
5138	5687	7296	1609	28
5218	5149	7086	1937	38
5243	4338	6148	1810	42
5321	4322	6460	2138	49
5320	4135	6225	2090	51
5323	4318	6633	2315	54
5283	3785	6158	2373	63

Figure 7 Différence de SLA par clone entre les deux sites

Grâce au tableau ci-dessus, nous pouvons voir qu'il y a une grande hétérogénéité concernant la différence entre de SLA des deux sites.

Figure 1 SLA de chaque clones

Figure 2 Groupe de variabilité de SLA

Figure 3 Différence de SLA de chaque clone pour PLC et Laurerie

Figure 4 Test surface foliaire

**Erreur ! Signet non défini.**

**Erreur ! Signet non défini.**

**Erreur ! Signet non défini.**

## ANNEXE 3

### Influence de la date de prélèvement des aiguilles sur la mesure du SLA de clones de Douglas

Olivier Arfaoui - FCBA

#### Contexte :

Dans le cadre du projet « Douglas avenir », programme de sélection génétique du douglas. Un des nouveaux paramètres étudiés est le SLA (Specific Leaf Area). Pour obtenir cette donnée, il faut faire le ratio de la surface foliaire sur la masse foliaire. L'hypothèse est que plus la valeur de SLA est basse et plus le plant est susceptible de résister à des périodes de sécheresse et/ou canicule. (Voir Climate-related genetic variation in drought-resistance of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*) SHEEL BANSAL et al 2015)

Dans ce contexte, des rameaux ont été prélevés sur le parc à clones de Peyrat-le-Château et sur le test clonal de Laurerie. Une sélection clonale a été réalisée au préalable. L'objectif étant de comparer les mêmes clones sur deux sites différents, Peyrat-le-Château et Laurerie afin de voir s'il y a un effet site sur la variable de SLA.

Pour cette étude, 5 clones ont été sélectionnés parmi les 17 étudiés lors de l'étude de juillet 2023. Concernant Laurerie, chaque clone devait être représenté par au moins 6 individus. Cependant, suite à de nouveaux plants morts sur la parcelle, le clone 5243 n'a que 3 individus. Pour Peyrat-le-Château, chaque clone possède 3 individus.

L'objectif de cette étude est de vérifier si, sur la valeur de SLA, il existe un effet site, ou encore un effet saison de prélèvement.

#### Table des matières

1/ Analyse de SLA	30
1.1/ Distribution des SLA par clone	30
1.1.1/ Comparaison Laurerie Juillet/Aout	30
1.1.2/ Site de Peyrat-le-Château 2022/2023	31
1.2/ Conclusion	32
2/ Comparaison SLA Laurerie et Peyrat-le-Château	32
2.1/ Comparaison masse et superficie	32
2.2/ Comparaison SLA entre PLC et Laurerie	33
3/ Comparaison méthodes des moyenne	34
3.1/ Différence des valeurs de SLA	34
3.2/ Quel méthode choisir ?	35
3.2.1/ Comparaison d'un même site	35

1/ Analyse de SLA

## 1.1/ Distribution des SLA par clone

## 1.1.1/ Comparaison Laurerie Juillet/Aout

Les aiguilles ont été mesurées (surface, masse) suivant le protocole de pesée et de mesure de surface foliaire qui est le même pour les mesures faites en juillet.

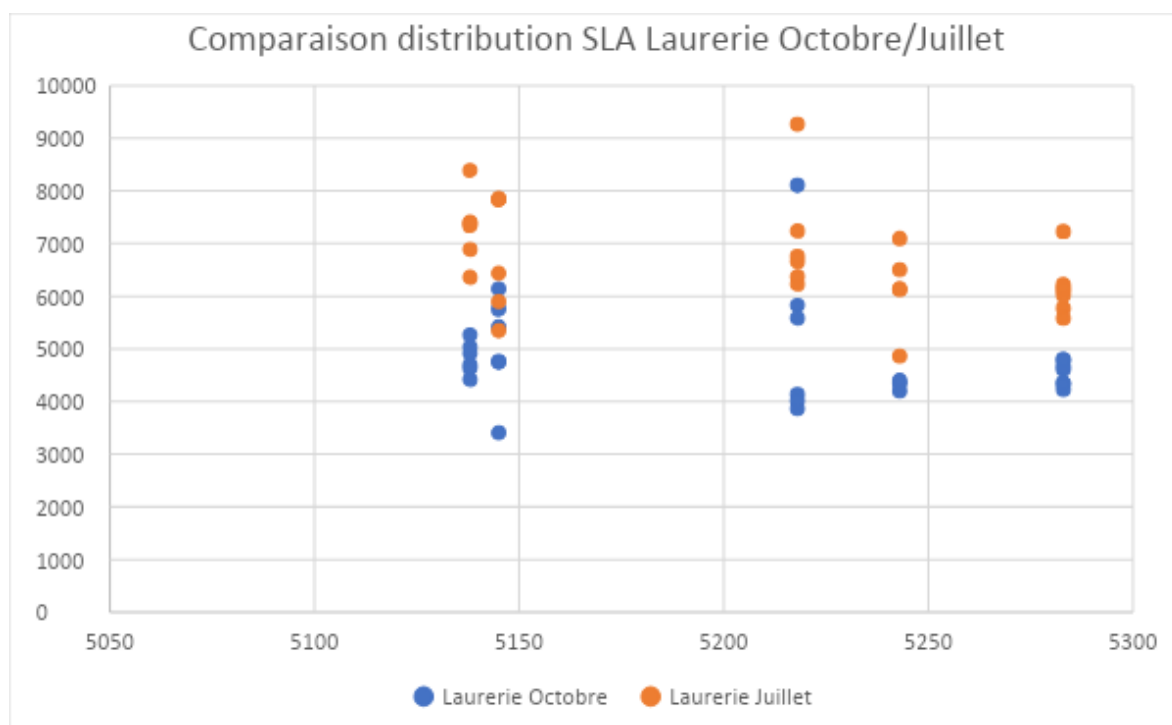


Figure 8 Distribution des SLA de Laurerie en Octobre et Juillet

Grâce au graphique ci-dessus, nous pouvons constater les valeurs de SLA pour chacun des clones pour l'étude faite en octobre 2023 (en bleu) ainsi que pour la manipulation faite en juillet 2023 (en orange).

Si l'on compare les deux prises de mesures, nous pouvons constater plusieurs faits.

La première observation est que l'on a une variabilité intra-clonale moins forte en octobre qu'en juillet. Le tableau, ci-dessous le confirme.

Tableau 1 Ecart type entre PLC et Laurerie dans deux temporalités

Clone	Écart type de SLA			
	PLC 2022	PLC 2023	L Juillet	L Octobre
5138	669	447	614	276
5145	823	369	1025	885
5218	455	491	1025	1488



5243	740	279	731	84
5283	21	419	486	216

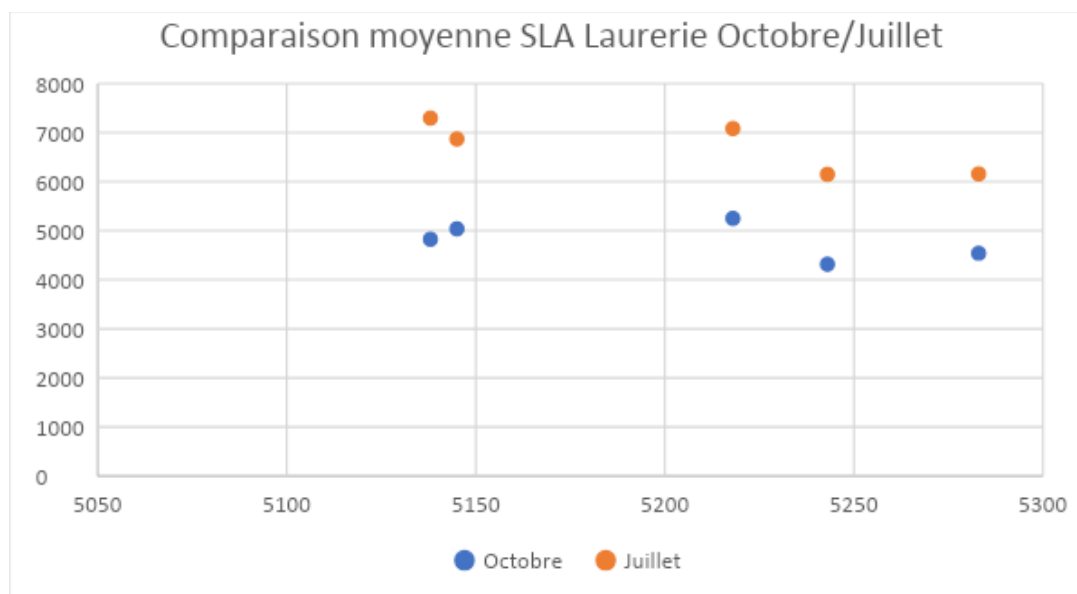
Le second, est que la moyenne des SLA en juillet est systématiquement supérieure à celle d'octobre comme nous l'atteste le graphique 2 ci-dessous. De plus, la différence de SLA entre les deux périodes est assez similaire entre chaque clone.

*Tableau 2 Classe de variabilité des clones*

Clone	PLC 2022	Laurerie juillet	PLC 2023	Laurerie octobre
5138	Moyenne	Moyenne	Basse	Moyenne
5145	Haute	Haute	Haute	Basse
5218	Moyenne	Haute	Haute	Moyenne
5243	Haute	Haute	Basse	Basse
5283	Basse	Basse	Basse	Basse

Également, grâce au tableau 2 ci-dessus, nous voyons que beaucoup de clones sont passés de la classe de variabilité « Moyenne » ou « Haute » à « Basse ». Ce qui montre que la saison et le protocole jouent un rôle dans cette variabilité.

Grâce à l'analyse de la moyenne des masses et des surfaces foliaires par clone, on peut remarquer que la différence se trouve sur la surface foliaire. En effet, entre les deux temporalités (Juillet et octobre) nous observons en moyenne une réduction de 30% de la surface foliaire entre juillet et octobre.



*Figure 9 Moyenne SLA Laurerie Octobre/Juillet*

Ce phénomène, pourrait s'expliquer par des réactions physiologiques ? (diminution photosynthèse et préparation aux températures hivernales ?)

#### 1.1.2/ Site de Peyrat-le-Château 2022/2023

Ce qui a été évoqué précédemment, pour le site de Laurerie, est applicable pour Peyrat-le-Château. Cependant, les données sont à relativiser. En effet, nous avons seulement 3 individus par clone sur cette dernière, ce qui rend la moyenne fragile.

De plus, on peut voir que la différence de surface foliaire n'est quasiment pas visible, contrairement à Laurerie. On l'explique par le fait que l'on ait effectué nos prélèvements en novembre 2022, soit en fin de saison de végétation également.

## 1.2/ Conclusion

Pour conclure, ces études ont pu nous apporter plusieurs réponses.

La première, est qu'il y a un effet saison sur le SLA. Comme nous l'avons expliqué précédemment, le fait d'avoir prélevé le matériel forestier en fin de saison de végétation nous a permis de réduire la variabilité au sein d'un même clone (graphique 1).

Le fait de récolter en fin de saison de végétation baisse le SLA de la plante par rapport à la récolte au cours de la saison de végétation comme vu précédemment (graphique 2). De plus, on peut voir que malgré cette baisse de SLA, cela ne change quasiment pas la hiérarchie inter-clonale par rapport au SLA (graphique 2).

Pour finir, grâce au tableau 1 et 2, nous voyons que grâce à notre nouveau protocole (entre PLC 2022 et 2023) et grâce à une récolte du matériel forestier durant l'automne, nous arrivons à baisser la variabilité du SLA intra-clonale.

## 2/ Comparaison SLA Laurerie et Peyrat-le-Château

### 2.1/ Comparaison masse et superficie

Ci-dessous, deux graphiques comparant les sites des Peyrat-le-Château (PLC) et de Laurerie (L) en 2023.

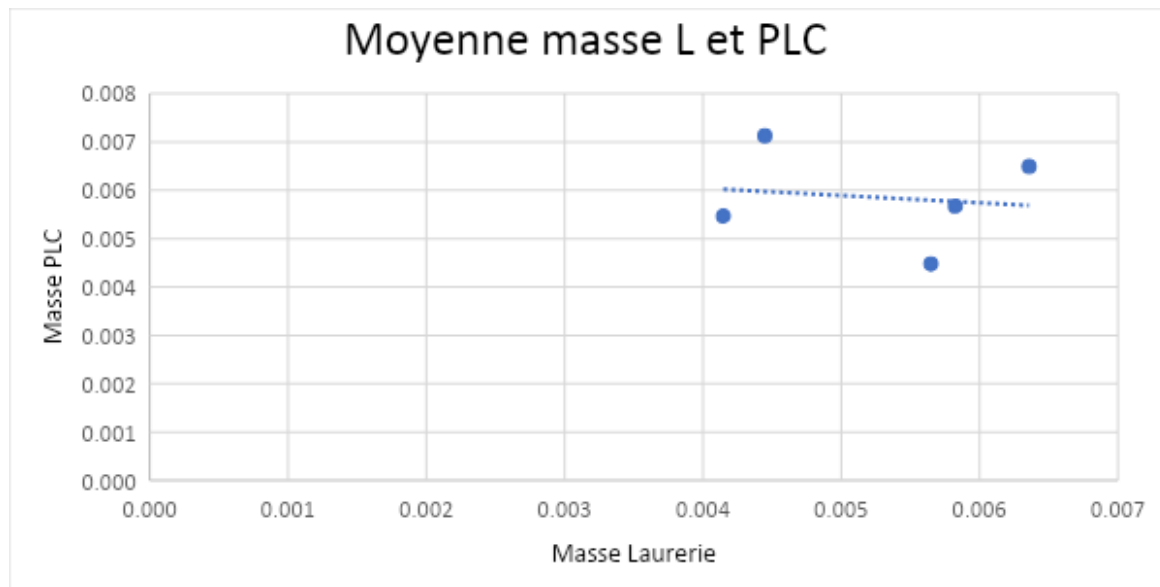


Figure 10 Corrélation des masses entre L et PLC

Sur ce premier graphique, nous avons comparé la moyenne des masses foliaire de chaque clone sur les deux sites. La corrélation entre les 2 valeurs est très mauvaise ( $r^2$  faible et corrélation de sens inverse de celle attendue)

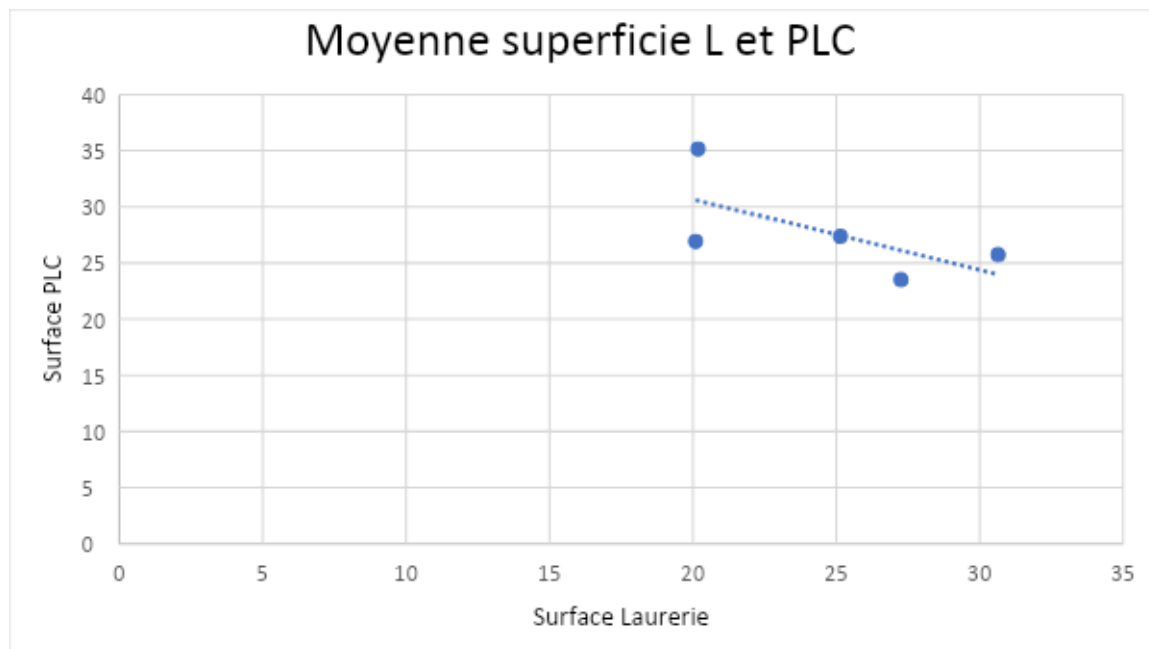


Figure 11 Corrélation des superficies entre L et PLC

Sur ce second graphique, nous avons comparé la moyenne des surfaces foliaires de chaque clone des deux sites. Comme pour les masses, la corrélation est très mauvaise.

## 2.2/ Comparaison SLA entre PLC et Laurerie

Sur ce graphique, nous avons comparé le SLA des deux sites, la corrélation reste très faible

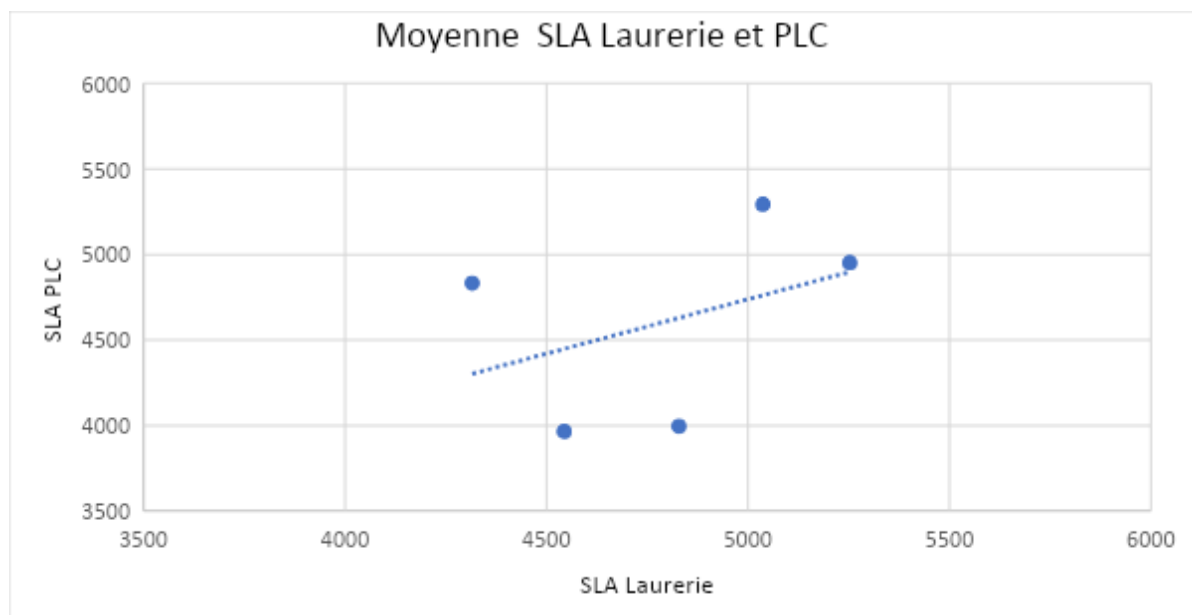


Figure 12 Corrélation des SLA entre L et PLC

## 2.3/ Hypothèse

Pourquoi trouvons-nous un effet site alors qu'il n'est pas censé en avoir suivant le rapport de (S. BANSAL et al.) ? Plusieurs hypothèses à cela :

- Les effectifs pas ne sont pas assez grands. Notamment à Peyrat-le-Château (3 répétitions de chaque clone) cela peut empêcher d'avoir des moyennes robustes.

- La moyenne n'est pas calculée de la bonne façon. Actuellement, nous obtenons la moyenne en prenant la valeur de SLA (leur surface foliaire/masse foliaire) de chaque individu du clone puis faisons la moyenne avec le SLA de chacun d'eux. Ainsi nous obtenons la valeur de SLA du clone. Nous travaillons donc à l'échelle de l'individu.

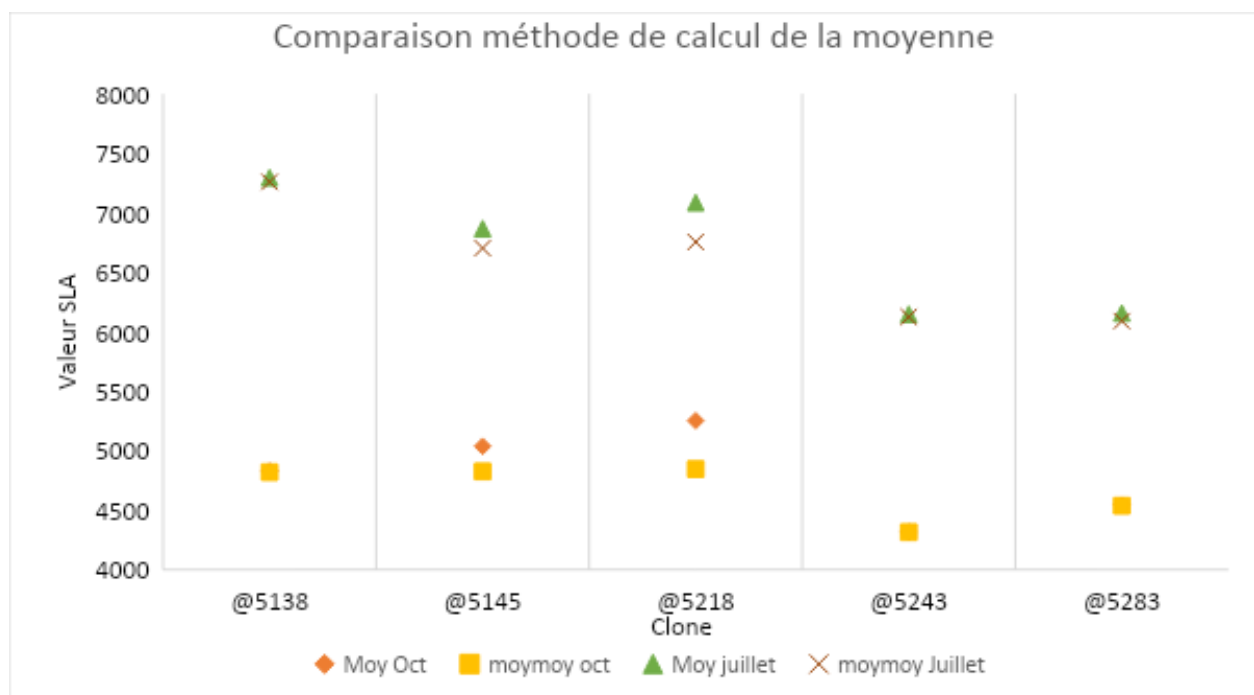
Or, nous pouvons obtenir une moyenne du clone différente. Si nous prenons la moyenne des masses de chaque individu du clone, de même pour les surfaces puis nous faisons le rapport surface/masse et ainsi nous avons le SLA du clone. Nous allons explorer cette méthode dans la suite de ce rapport.

- Autre possibilité, il y a finalement bel est bien un effet site.

### 3/ Comparaison méthodes des moyennes

#### 3.1/ Différence des valeurs de SLA

Comme dit précédemment, pour répondre à notre question nous avons comparé les deux méthodes de calcul de moyenne. Nous avons pu représenter les résultats sur le graphique ci-dessous.



Moy = moyenne des SLA ; moymoy = ratio des moyennes surface et masse

Figure 13 Comparaison méthode de calcul de la moyenne

Sur ce graphique, nous avons comparé les deux méthodes de calcul. On a sélectionné le site de Laurerie car il possède plus d'effectifs que Peyrat-le-Château et est donc plus pertinent. Après cela, on a calculé la moyenne de chaque clone suivant les deux méthodes. Nous avons comparé octobre avec lui-même et juillet avec lui-même pour voir s'il y avait une différence.

Le graphique nous montre qu'il y a bien une différence de résultats. Cette différence peut être plus ou moins grande suivant l'écart-type au sein du clone (tableau 3 ci-dessous) donc, dépendante de la variabilité intra-clone.



Tableau 3 Ecart type intra-clone Octobre

Octobre	
Clone	écart-type
5138	276
5145	885
5218	1488
5243	84
5283	216

Comme nous le montre le tableau, plus l'écart-type sera grand et plus la différence de valeur du SLA sera grande.

### 3.2/ Quel méthode choisir ?

#### 3.2.1/ Comparaison d'un même site

Afin de savoir quelle méthode est la plus pertinente, nous avons comparé sur Laurerie les deux méthodes de moyenne. Pour chaque méthode de calcul, nous avons pris Laurerie juillet en abscisses et Laurerie octobre en ordonnées. Nous traçons la courbe de régression linéaire pour les deux méthodes et nous obtenons le graphique suivant.

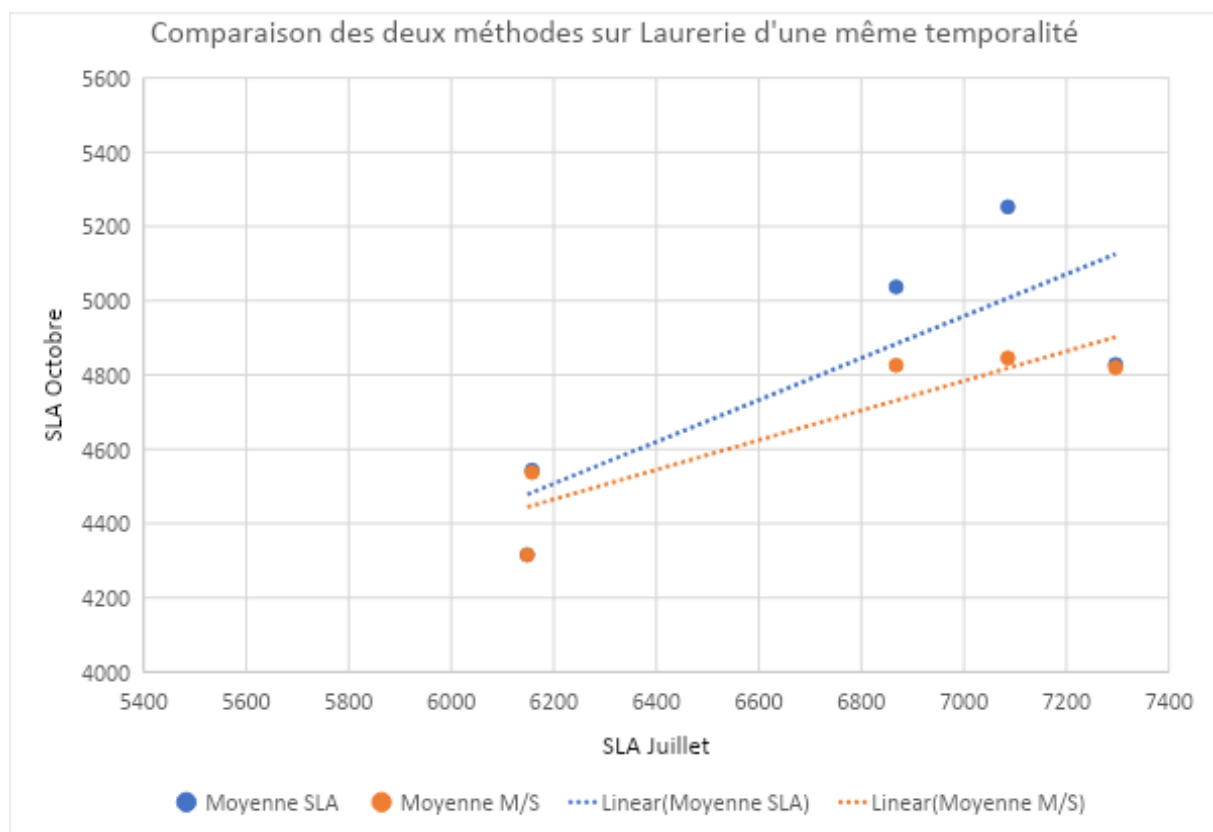


Figure 14 Comparaison des corrélations entre les deux méthodes

Grâce à la figure ci-dessus, nous pouvons voir que nous obtenons un meilleur  $R^2$  (0,81 contre 0,64) mais une moins bonne relation (on s'attend à  $y=x$ ) concernant la nouvelle technique de calcul de moyenne.

### 3.2.2 Comparaison entre Laurerie et Peyrat-le-Château

Afin de confirmer la pertinence de la nouvelle méthode de calcul de moyenne et évaluer l'effet site que celle dernièrement utilisée, nous avons comparé les échantillons de Laurerie et de Peyrat-le-Château prélevés en 2023.

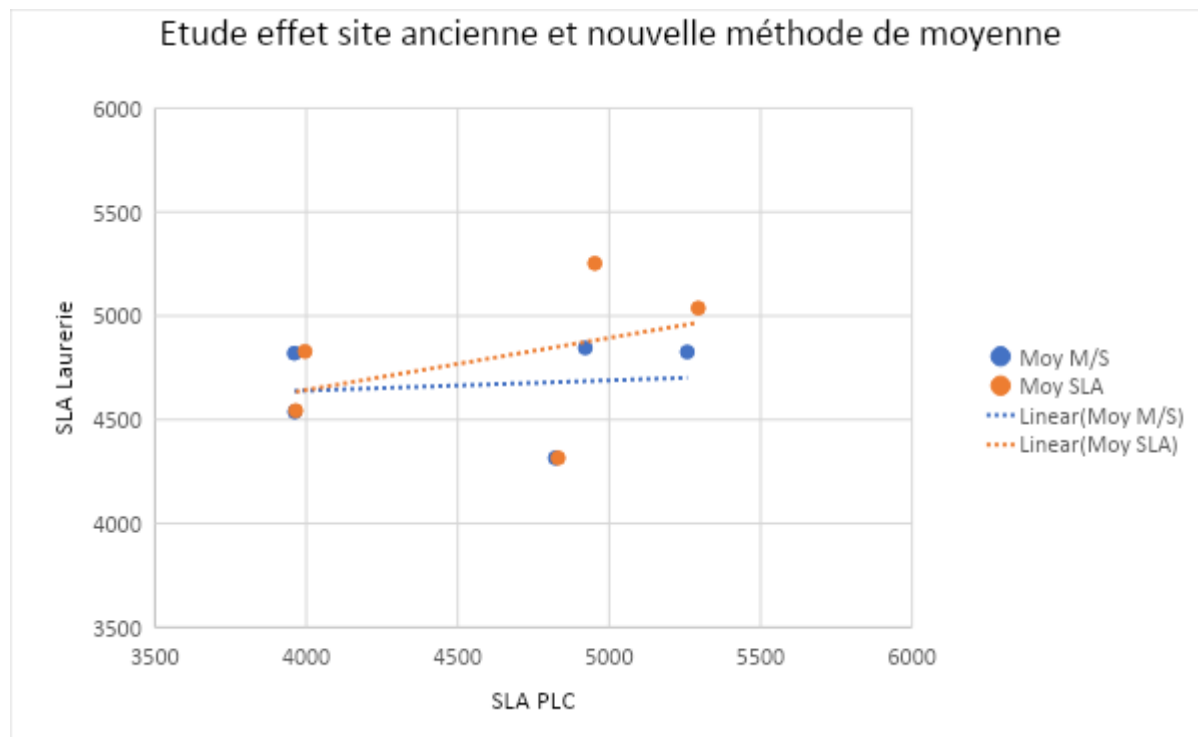


Figure 15 Etude effet site nouvelle méthode de moyenne

Avec le graphique ci-dessus, nous voyons que la courbe de régression et le  $R^2$  sont moins bons pour la méthode de calcul avec le ratio de moyenne.

### Conclusion

Pour conclure, grâce aux études faites en octobre 2023, nous avons pu mettre en évidence :

- que le SLA est différent suivant la saison sur un même site grâce au nouveau protocole de mesure, nous avons pu baisser la variabilité intra-clone par rapport à l'ancien.
- Que le SLA doit être calculé à l'échelle de l'individu
- Il existe une mauvaise corrélation des valeurs de SLA entre les sites, qui s'explique probablement par le faible nombre d'individu par clone mesuré à Peyrat le château.

## ANNEXE 4 :

### Amélioration du protocole de mesure des composantes du SLA sur clones de douglas

Mathilde Montibus - FCBA

#### Protocole

