



RAPPORT SCIENTIFIQUE

FSP-PARRUR (Juin 2014)

RASOAMANANA Noromalala Elysée

(Doctorante)

**Intitulé de la thèse : « *Mécanisme de la pollinisation des baobabs malgaches :
action des pollinisateurs et interaction pollen-pistil* »**

Département de Biologie et Ecologie Végétales

Facultés des Sciences

Université d'Antananarivo

Et DP Forêt et Biodiversité

Madagascar

Résumé

Le financement donné par le projet FSP-PARRUR a été utilisé essentiellement dans la réalisation d'une mission de terrain visant à la finalisation de nos travaux de thèse intitulé « Mécanisme de la pollinisation des baobabs malgaches : action des pollinisateurs et interaction pollen-pistil ». L'appui du projet FSP-PARRUR a contribué à l'élaboration d'un futur article scientifique intitulé « Efficacité des pollinisateurs et système de reproduction chez les baobabs malgaches (*A. grandidieri*, *A. madagascariensis* et *A. rubrostipa*). Attention particulière sur les Sphingidae », faisant l'objet de ce rapport.

Dans ce document, l'efficacité de pollinisateurs potentiels de trois espèces de baobabs malgaches a été testée et leur mode de reproduction (autopollinisation et/ou allopollinisation) a été étudié. D'une part, la fréquence de visite des pollinisateurs potentiels a été quantifiée. Puis, la qualité des sphinx à déposer des pollens suffisant sur le stigmate a été examinée. Parmi les pollinisateurs potentiels identifiés, les sphinx ont effectué le maximum de visite. Cependant, une seule visite de sphinx ne suffit pas à déposer des quantités de pollen suffisant pour une fécondation. Mais une fois les composantes « quantité » et « qualité » de visites des combiné, les sphinx s'avèrent être efficace à la pollinisation des baobabs. L'influence de la quantité des pollens déposés sur la germination des tubes polliniques a été établie. Par ailleurs, les baobabs s'avèrent être autocompatible du moins au stade prézygotique.

Efficacité des pollinisateurs et système de reproduction chez les baobabs malgaches (*A. grandidieri*, *A. madagascariensis* et *A. rubrostipa*). Attention particulière sur les Sphingidae

1. Introduction

En raison de l'immobilité des plantes, leur reproduction sexuée est dépendante d'un vecteur biotique ou abiotique transportant les gamètes mâles entre les individus. Chez les plantes zoophiles, le degré de dépendance des plantes vis-à-vis des animaux pour leur reproduction peut être très variable d'une espèce à une autre (Richards, 1986; Barrett, 2010a). Chez les espèces autoincompatibles, l'intervention d'un pollinisateur est obligatoire (mutualisme obligatoire); alors que les espèces autocompatibles peuvent accepter

à la fois les pollens d'un autre individu et son propre pollen (mutualisme facultatif). Dans le cas d'un mutualisme facultatif, la plupart des plantes ne s'autopollinise que lorsque les pollinisateurs se font rares. Aussi, quel que soit le système de reproduction (allopollinisation obligatoire ou facultative) utilisé par la plante, l'intervention d'un (ou des) pollinisateur efficace lui est toujours avantageuse car il permet une variabilité génétique des individus.

L'efficacité d'un pollinisateur dépend de la capacité des visiteurs à déposer les pollens compatibles en quantité suffisante pour une fécondation qui aboutissent à la production des graines (Spears Jr., 1983). Cette capacité peut être estimée par la combinaison de la composante quantitative et qualitative des pollinisateurs. L'efficacité en termes quantitative des pollinisateurs est basé sur l'abondance et la fréquence de leur visite, tandis que leur efficacité qualitative dépend du comportement au butinage, et du dépôt sur la surface stigmatique d'un nombre de pollens suffisant à féconder les ovules (Fumero-Cabán and Meléndez-Ackerman, 2007; Herrera, 1989, 1987).

Les baobabs sont des arbres à floraison nocturne. Les fleurs sont grandes, parfumées, riche en nectar. Plusieurs visiteurs de fleurs ont été identifiés chez les baobabs malgaches (Andriafidison et al., 2005; Baum, 1995; Ryckewaert et al., 2011). Quelques visiteurs floraux ont été considérés comme pollinisateurs potentiels après l'étude de leur capacité à toucher les organes reproducteurs des fleurs tels que les sphinx, les abeilles, les chauves-souris et les lémuriers (Rasoamanana et al., en prép.). Parmi eux, les sphinx dominent par leur richesse spécifique et leur présence dans tous les habitats prospectés (Ryckewaert et al., 2011, Rasoamanana et al., en prép.). D'après Ryckewaert et al (2011), la capacité des sphinx à réaliser la pollinisation des baobabs réside dans le fait que la longueur de leur trompe est adaptée à la profondeur du tube corollaire (tube staminal+étamines) des fleurs qu'ils visitent. Lors de ces visites, des pollens de baobabs se sont accrochés sur la trompe des sphinx (Ryckewaert et al., 2011). Cependant, leur aptitude à décharger des pollens de quantité suffisante sur le stigmate n'a pas été encore étudiée.

La connaissance du système de reproduction des baobabs permet de savoir s'ils développent un mutualisme obligatoire avec ces pollinisateurs ou non. L'introgession identifié chez les *Longitubae* témoigne l'existence d'une pollinisation croisée par un pollinisateur commun entre deux espèces proches (Leong Pock Tsy et al., 2013). Cependant, la biologie florale des baobabs ne montre pas de barrière physique (le pistil et les étamines peuvent se toucher) ni physiologique (maturation des pollens et réceptivité du stigmate synchrone) entre l'organe

reproducteur mâle et femelle qui peuvent empêcher l'autofécondation (obs. pers., Baum 1995). De plus, certains comportements des visiteurs semblent permettre l'autopollinisation des baobabs (Rasoamanana et al., en prép.).

Dans ce travail, trois espèces de baobabs : *Adansonia grandidieri* (section Brevitubae), *Adansonia madagascariensis* et *Adansonia rubrostipa* (section Longitubae) ont été choisies comme modèles pour étudier les différentes composantes de l'efficacité de la pollinisation. Les objectifs spécifiques de ce chapitre est de (i) vérifier le système de reproduction (autopollinisation et/ou allopollinisation) des baobabs. (ii) analyser la quantité de visites de chaque pollinisateur potentiel des baobabs (iii) mesurer la qualité de visite des sphinx par leur capacité à déposer un nombre de pollen suffisant sur le stigmate, en comparaison avec la pollinisation naturelle et les pollinisations contrôlées.

2. Méthodes

2.1 Les sites d'études

Les travaux ont été réalisés dans les habitats des trois espèces de baobabs étudiées dans l'Ouest de Madagascar. Les zones prospectées sont montrées par la figure 1.

2.2 Réceptivité du stigmate et longévité florale

La réceptivité du stigmate a été testée à l'aide de l'hydroxyde d'oxygène (H₂O₂) à l'anthèse à la tombée de la nuit (Ryckewaert et al., 2011), 24h, 36h et 48h après. Nous avons mesuré la longévité floral, défini comme le temps entre l'anthèse et lorsque la corolle est tombé ou a été flétrie et a changée de couleur (NAGY et al., 1999). 11 à 15 fleurs par espèces ont été suivies jours après jours.

2.3 Systèmes de reproductions

Des tests sur La pollinisation croisée ont été réalisés avec le dépôt artificiel des pollens venant d'un autre individu de la même espèce sur le stigmate de fleurs préalablement émasculés. Les autopollinisations ont été obtenues par le dépôt artificiel des pollens venant du même individu. Pour chaque test, trois à cinq fleurs par espèces ont été utilisées. Après chaque manipulation, les fleurs ont été marquées puis encapuchonnées par les voiles.

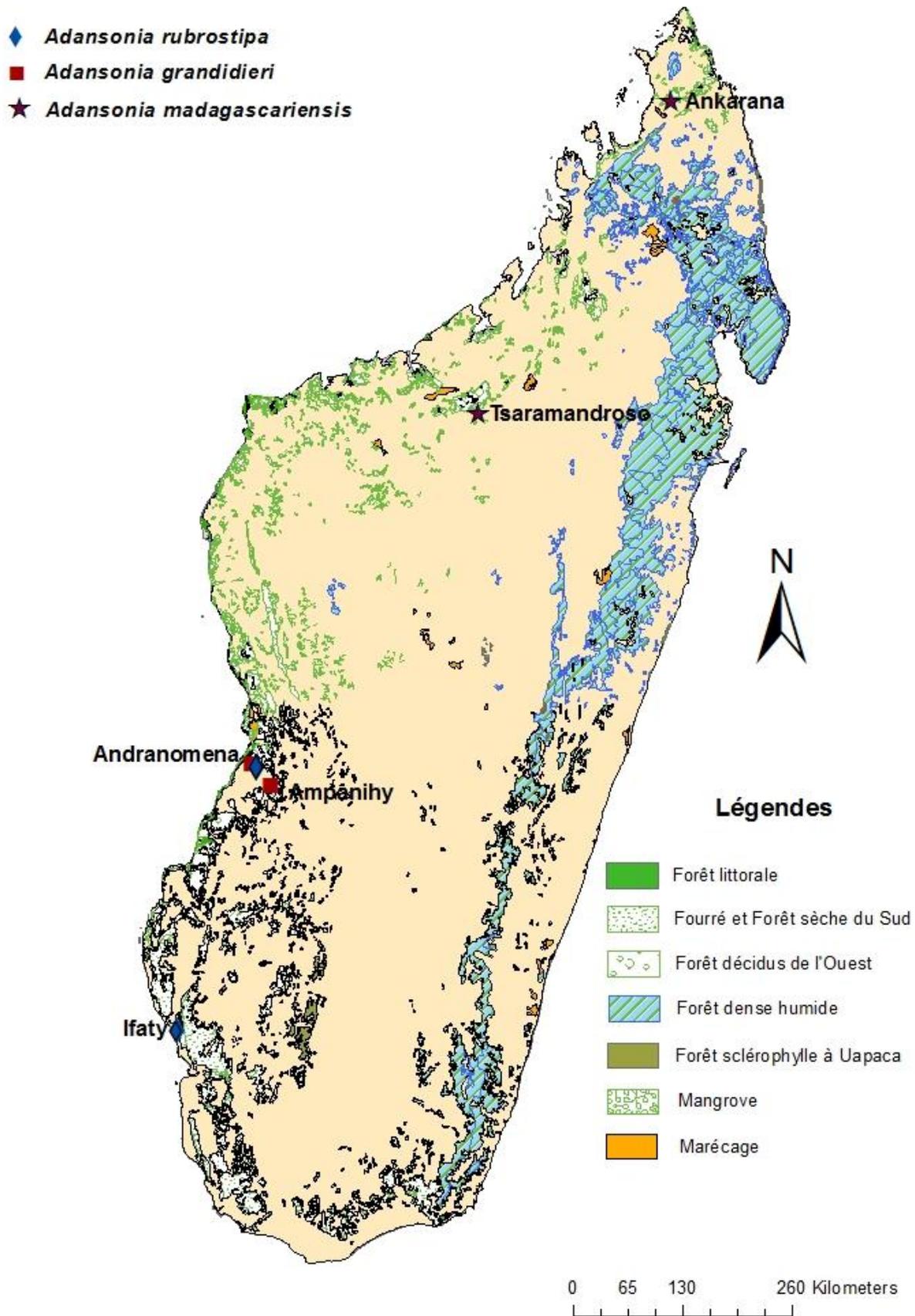


Figure 1 : Sites d'étude

Pour chaque mode de pollinisation, les pistils ont été collectés quatre à six jours après la pollinisation, temps suffisant aux tubes polliniques d'arriver jusqu'à l'ovaire. Les échantillons ont été fixés dans du glutaraldehyde-paraformaldehyde-caféine. Après avoir été blanchi au NaOH 8N pendant 16h ont été coloré au bleu d'aniline décoloré 0,001% pH pendant 30mn et observé au microscope épifluorescent (filtre A4) (Snow and Spira, 1991). Les pollens présents sur le stigmate ont été comptés. Le pourcentage d'ovules a été calculé pour chaque traitement. Les ovules ont été considérés comme fécondés quand un tube pollinique a été observé à l'entrée de l'ovule.

2.4 Quantité de visites des pollinisateurs potentiels

Pour chaque espèce étudiée, la quantité de visite des pollinisateurs potentiels (c'est-à-dire ceux qui butinent légitimement la fleur en touchant les organes reproducteurs de celle-ci) ont été dénombrée après deux phases d'observations. Chaque observation a été réalisée après l'anthèse. Pour la première phase, quinze observations continues ont été effectuées pendant les heures d'activité maximale des visiteurs c'est-à-dire de 17 h 00 à 20 h 00 pour *A. grandidieri* et de 18 h 00 à 21 h 00 pour *A. madagascariensis* et *A. rubrostipa*, correspondant à 45h d'observation pour chaque espèce. Pour la deuxième phase, quatre observations discontinues de 30mn ont été effectuées toutes les 3heures sur une période de 12h (nuit), correspondant à 8h d'observation supplémentaire. Chaque pollinisateur potentiel est identifié soit visuellement soit à partir des photographies prises au cours de leur visite. Dans la mesure du possible, les insectes visiteurs ont été capturés. La fréquence de visite de chaque pollinisateur potentiel calculé correspond au nombre de visites par fleur par individu par heure.

2.5 Qualité d'une visite des sphinx

La qualité de visite des sphinx a été estimée par le nombre de pollen déposé sur un stigmate vierge après une seule visite. Pour ce test, trois à cinq fleurs de chaque espèce ont été utilisés. A l'anthèse les fleurs ont été émasculées, puis isolées à l'aide d'un voile à petite maille après le passage d'un pollinisateur potentiel pour éviter le contact avec les visiteurs. Pour vérifier qu'aucun dépôt de pollen n'est fait avant l'anthèse, trois fleurs témoins ont été émasculées et isolées dès leur ouverture. Pour étudier la pollinisation en condition naturelle, 10 autres fleurs ont été laissées en pollinisation libre pour chaque espèce.

Le dénombrement des pollens et des tubes polliniques atteignant les ovules ont été réalisés sur des échantillons de pistils et d'ovaires de 4 à 6 jours d'âge, colorées au bleu d'aniline décoloré 0,001% pH et observé au microscope épifluorescent (Snow and Spira, 1991).

2.6 Graine/ Ovule ratio

Afin d'avoir un aperçu sur la capacité des ovules à produire des graines, nous avons compté le nombre d'ovules dans une fleur, le nombre de graines dans le fruit et la graine: ovule ratio. Pour chaque espèce, la quantification des ovules a été effectuée sur cinq fleurs en utilisant une loupe binoculaire ; la quantification des graines a été réalisée à partir de cinq graines.

2.7 Analyses statistiques

La différence de la fréquence de visite moyenne de chaque pollinisateur potentiel a été effectuée par le test de Kruskal Wallis. La différence est significative pour p inférieur à 0,05. Les différences de la quantité moyenne des pollens déposés sur les stigmates et le pourcentage moyen des ovules fécondés après les différents types de pollinisation ont été analysées en utilisant une analyse de variance à une voie (ANOVA) suivie, par un test de Tukey de comparaisons multiples pour détecter les différences entre les types de pollinisation. La différence est significative quand la valeur de p est inférieure à 0,05. Le coefficient de corrélation de Pearson R^2 a été calculé entre la quantité de pollen déposé sur le stigmate et le pourcentage d'ovules fécondés. La valeur est significative pour p inférieure à 0,001.

3. Résultats

3.1 Longévité florale et temps d'exposition aux pollinisateurs

Les anthères déhiscentes avant la floraison, quand le périanthe s'ouvre. Les anthères ont une déhiscence longitudinale. Le stigmate est réceptif dès l'anthèse et pendant 36h après. Les pétales changent de couleur 24h après l'anthèse et ne sont plus attractifs pour les visiteurs. Le temps d'exposition de la fleur aux pollinisateurs nocturnes ne dure donc qu'une nuit.

Pour *A. grandidieri*, la corolle tombe entre 4 à 6 jours après l'anthèse avec une moyenne de 5,3 jours. Pour *A. madagascariensis*, les corolles tombent au bout de 3 à 5 jours après l'anthèse avec une moyenne de 3,7 jours. Pour *A. rubrostipa*, les corolles tombent, laissant le

pistil et l'ovaire sur l'arbre entre 2 à 6 jours après l'anthèse avec une moyenne de 3,9 jours. La durée de vie du pistil ne dépasse pas 7 jours chez toutes les espèces de baobabs étudiés.

3.2 Systèmes de reproduction

Il n'y a pas de différence significative entre le mode de germination du tube pollinique après l'autopollinisation et la pollinisation croisée chez *A. grandidieri*, *A. madagascariensis* et *A. rubrostipa* (Fig. 3). Chez *A. grandidieri*, le pourcentage moyen d'ovules fécondés est de $60,44 \pm 8,78\%$ après l'autopollinisation et $75,46 \pm 12,76\%$ après la pollinisation croisée ($F=7,23$; $p<0,05$) et ne sont pas significativement différents. Chez *A. madagascariensis*, $382,33 \pm 17,15$ après l'autopollinisation et $193 \pm 75,44$ après la pollinisation croisée ($F=$. Chez *A. rubrostipa*, $261,33 \pm 19,81$ après l'autopollinisation et $212,5 \pm 4,56$ après la pollinisation croisée.

3.3 Fréquence de visite des pollinisateurs potentiels

Chez *A. grandidieri*, au total 215 visites des cinq pollinisateurs potentiels ont été relevées sur les fleurs d'*A. grandidieri* au cours de 53h d'observation. La moyenne des fréquences de visite des pollinisateurs sont significativement différente (fig. 2A) $X^2=28,76$ ($p<0,05$). Les maximum de visite ont été réalisé par *N. comma* 46,05% (99) et *A. mellifera* 34,88% (75). Les visites de *H. celerio* 7,44% (16), *E. dupreanum* 6,98% (15) et *P. jasmini* 4,75% (10) sont rares.

Les pollinisateurs potentiels identifiés chez *A. madagascariensis* et *A. rubrostipa* sont identiques, à l'exception de *P. furcifer* et diffèrent par leur quantité. Chez *A. madagascariensis*, cinq pollinisateurs légitimes ont effectué 184 visites pour 144 visites réalisées par quatre pollinisateurs chez *A. rubrostipa* sur 53h d'observation. Chez *A. madagascariensis*, il n'y a pas de différence significative entre la fréquence de visite des pollinisateurs potentiels (fig. 2B) $X^2=16,26$ ($p>0,05$). *C. solanii* effectue 36,96% (68) des visites, *A. mellifera* 34,78% (64), *A. convolvuli* 21,74% (40) et *jasmini* 6,52% (12). Chez *A. rubrostipa*, la moyenne des fréquences de visite des pollinisateurs sont significativement différente (fig. 2C) $X^2=19,51$ ($p<0,05$). Parmi eux, *A. convolvuli* et *C. solanii* effectuent le maximum de visite avec respectivement 57,54% (83) et 23,61% (34). Les visites de *P. jasmini* 15,97% (23) et *Phaner furcifer* 2,78% (4) sont rares.

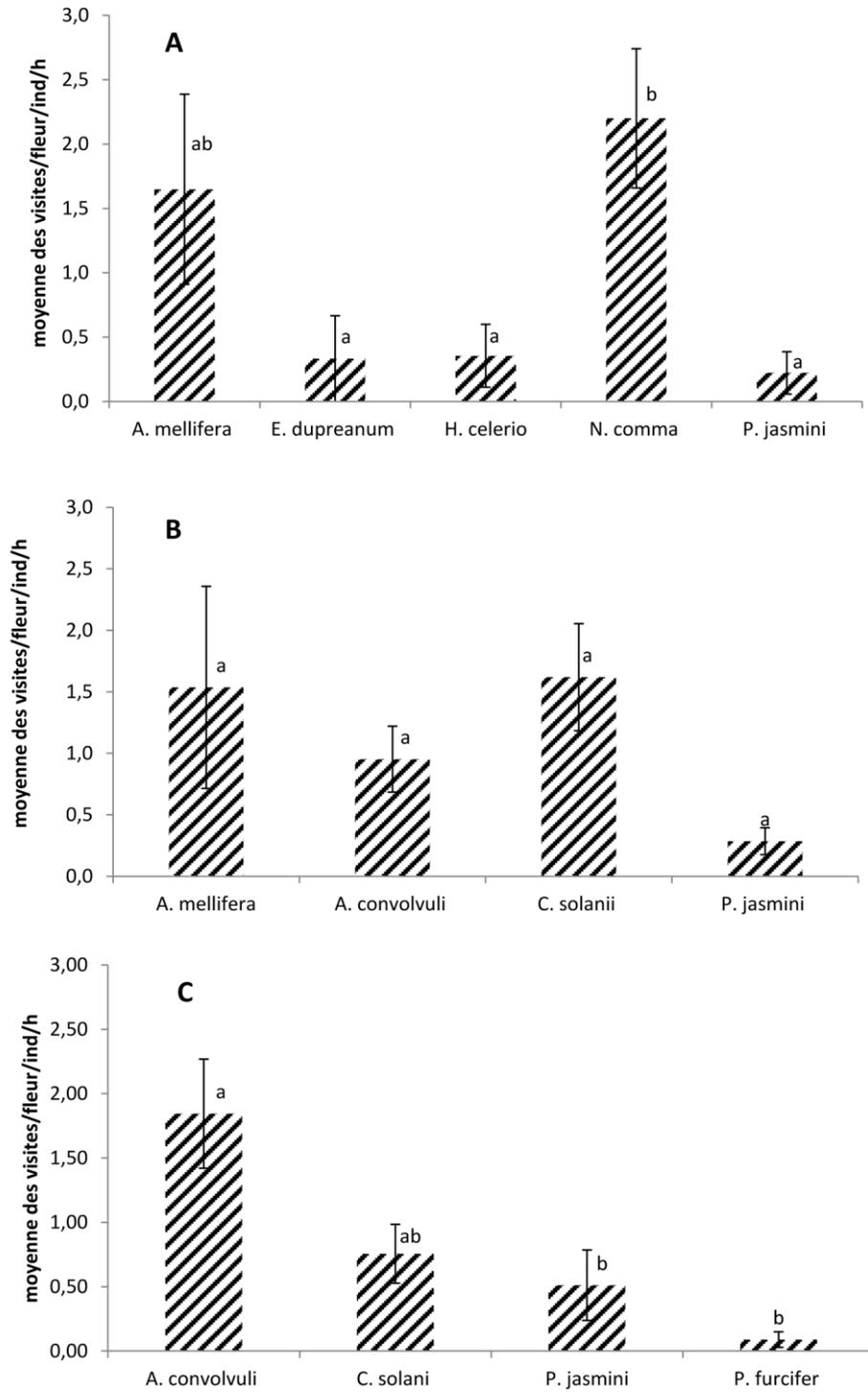


Figure 2 : Taux de visite par fleur par individu par heure de chaque pollinisateur légitime sur (A) *A. grandidieri*. (B) *A. madagascariensis*. (C) *A. rubrostipa*.

3.4 « Qualité » d'une visite par les sphinx et pollinisation libre

Pour toutes les espèces étudiées, la quantité de pollens déposés après une seule visite de sphinx n'est pas significativement différent du témoin (sans pollen) et ne suffit pas à féconder les ovules (Fig.3). La pollinisation libre est meilleure que la pollinisation après une seule visite de sphinx mais n'est pas significativement différente de celle-ci sauf pour *A. rubrostipa* où la pollinisation naturelle a été meilleure par rapport aux pollinisations contrôlées. Chez *A. grandidieri*, la quantité moyenne de pollens déposés après une seule visite est de $26,67 \pm 11,72$ pour aucun ovule fécondé ; la pollinisation libre a déposé une quantité moyenne de pollen de $166 \pm 59,16$ et a donné $20,83 \pm 5,4\%$ d'ovules fécondés (Fig. 3A ; $F=7,61$; Fig. 3B ; $F=7,23$; $P<0,05$). Chez *A. madagascariensis*, la quantité moyenne de pollens déposés est égale à $73,33 \pm 7,13$ pour $4,76 \pm 4,76\%$ d'ovules fécondés ; la pollinisation libre a déposé en moyenne $177,8 \pm 53,05$ pollens pour une moyenne de $26,40 \pm 16,18\%$ d'ovules fécondés (Fig. 3C ; $F=8,09$; Fig. 3D ; $F=4,009$; $P<0,05$). Chez *A. rubrostipa*, une seule visite de sphinx dépose en moyenne $113,37 \pm 50,7$ et $8,42 \pm 8,42\%$ d'ovules fécondés. La pollinisation libre a été significativement plus efficace que les pollinisations contrôlées sur la quantité de pollens sur le stigmate ($794 \pm 295,15$) mais n'est pas significativement différent quant au pourcentage moyen d'ovules fécondés ($60 \pm 24,49\%$ contre $65,14 \pm 11,60\%$ et $69,48 \pm 9,93\%$ pour les pollinisations contrôlées) (Fig. 3E ; $F=4,53$; Fig. 3F ; $F=7,23$; $p<0,05$).

3.5 Densité du pollen sur le stigmate et germination du tube pollinique

Il existe une corrélation positive entre la quantité de pollen déposé sur le stigmate et le pourcentage d'ovules fécondés pour les trois espèces étudiées (tableau II). Plus le nombre de pollen déposé sur le stigmate est élevé, plus la quantité d'ovules fécondés augmente (Fig. 4). Le ratio des grains de pollens sur le stigmate par rapport aux ovules varient de 0,96 à 9,04 en fonction des espèces. Chez *A. grandidieri* les fleurs qui reçoivent moins 232 grains de pollens ne développent pas de tube pollinique; la totalité des ovules est fécondé à partir de 363 grains de pollens. Chez *A. madagascariensis* au moins autour de 160 pollens sont nécessaires pour activer la germination des tubes polliniques ; au cours de nos expériences, la fécondation complète n'a pas été atteinte pour cette espèce. Chez *A. rubrostipa*, 201 pollens doivent être déposés sur le stigmate pour activer la germination pollinique ; la totalité des ovules a été fécondée à partir de 1042 pollens.

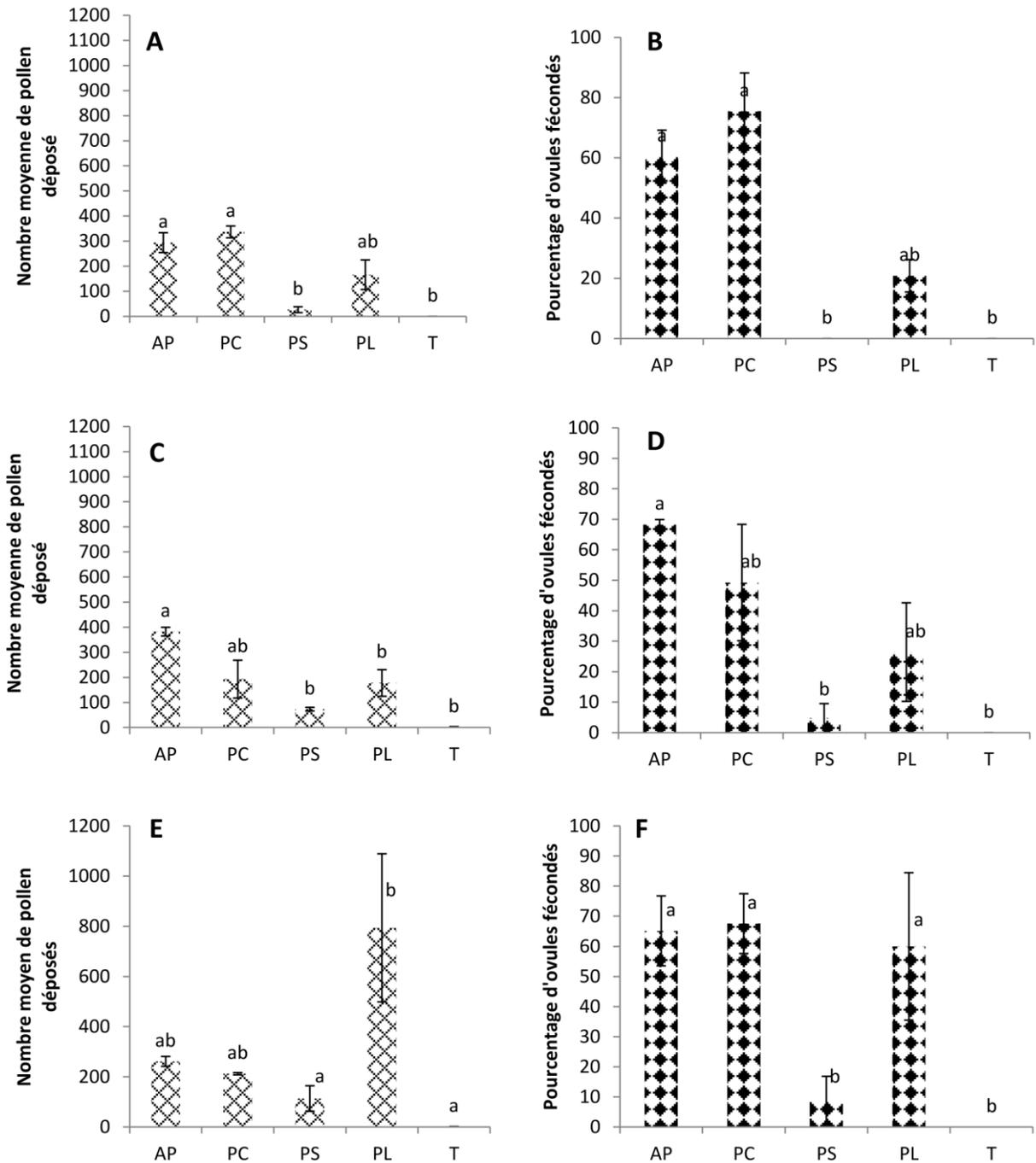


Figure 3 : (A) Quantité moyenne de pollens déposés sur le stigmate et (B) pourcentage d'ovules fécondés chez *A. grandidieri* en fonction des tests de pollinisation. (C) Quantité moyenne de pollens déposés sur le stigmate et (D) Pourcentage d'ovules fécondés sur *A. madagascariensis* en fonction des tests de pollinisation. (E) Quantité moyenne de pollens déposés sur le stigmate et (F) Pourcentage d'ovules fécondés sur *A. rubrostipa* en fonction des tests de pollinisation. AP : autopollinisation ; PC : pollinisation croisée ; PS : après une seule visite de sphinx ; PL : pollinisation libre ; T : témoins émasculés.

Tableau II : Corrélation de Pearson R entre le nombre de pollens déposés et pourcentage d'ovules fécondés. Valeur minimale et maximale du ratio pollen déposé/ovule fécondé (P/O)

Espèces	<i>A. grandidieri</i>	<i>A. madagascariensis</i>	<i>A. rubrostipa</i>
R	0,94	0,81	0,82
p	<0,0001	<0,0001	<0,0001
P/O (min_max)	1,15_1,83	0,96_2,44	1,17_9,04
N	18	17	22

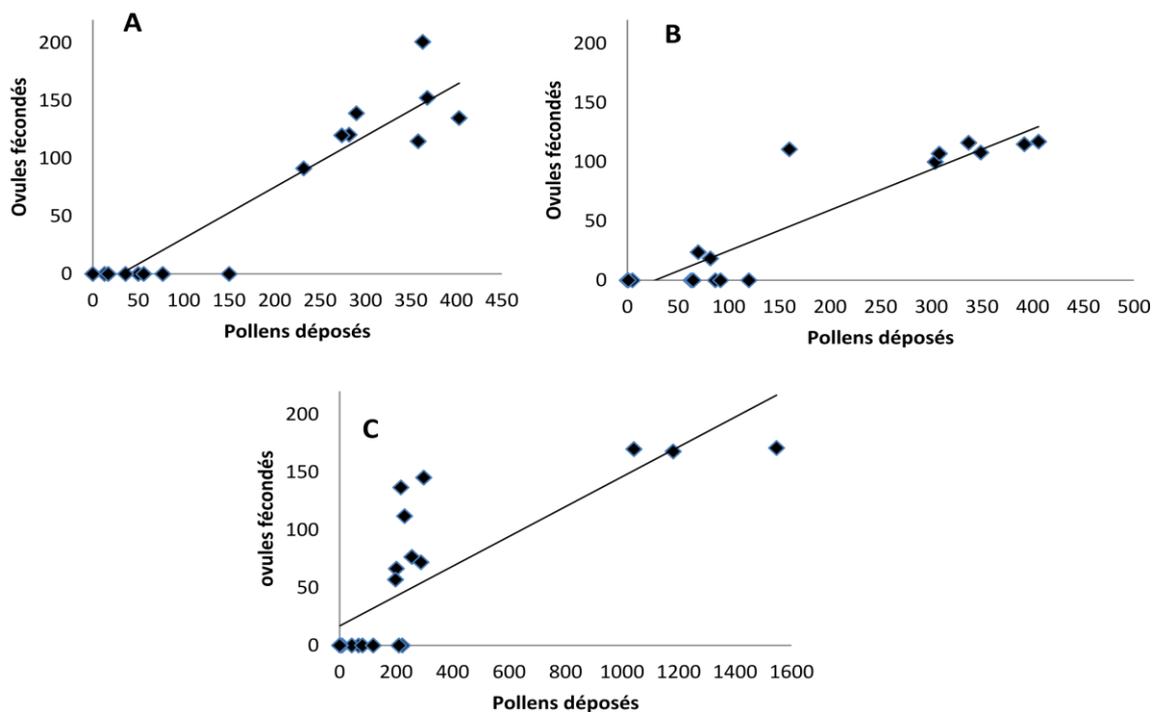


Figure 4 : Corrélation entre la quantité de pollens déposés et le nombre d'ovules fécondés. (A) *A. grandidieri*. (B) *A. madagascariensis*. (C) *A. rubrostipa*

3.6 Graines : ovules ratio

En moyenne, les baobabs étudiés produisent autour de 166 à 201 ovules par fleurs et 8 à 171 graines par fruits. Les moyennes des graines : ovules ratio de 0,14 à 0,43 sont très faible chez

toutes les espèces de baobabs étudiées (tableau III). On constate que seul 21% à 41% des ovules donnent des fruits.

Tableau III : la moyenne (\pm erreur standard moyenne) et le minimum_maximum du nombre d'ovules par fleur, du nombre de graines par fruit et la graine ovule : ration (G/O) chez les trois espèces de baobabs

	<i>A. grandidieri</i>		<i>A. madagascariensis</i>		<i>A. rubrostipa</i>	
	Moyenne \pm ES	Min_max	Moyenne \pm ES	Min_max	Moyenne \pm ES	Min_max
ovules	201,67 \pm 9,07	168_226	166,5 \pm 28,94	80_202	171,25 \pm 17,92	118_195
graines	84,2 \pm 16,09	47_127	171,2 \pm 15,32	42_126	36 \pm 15,51	8_95
G/O	0,43 \pm 0,08	0,22_0,64	0,37 \pm 0,07	0,22_0,54	0,14 \pm 0,06	0,08_030

4. Discussions

4.1 Système de reproduction

L'étude du système de reproduction des baobabs, réalisé de façon artificielle ont montré que le tube pollinique progresse normalement de la même manière chez les individus autopollinisés que les individus allopollinisés. D'après Baum (1995), les baobabs sont autocompatible au stade prézygotique mais les jeunes fruits (*A. gregorii*) sont abortifs après 32 à 38 jours après l'anthèse. Les baobabs présenteraient donc une auto-incompatibilité tardive.

Chez *Ceiba pentandra*, il existe plusieurs types de pollinisations en fonction de la fréquence de visite des pollinisateurs (Lobo et al., 2005). Ces auteurs ont trouvé un système essentiellement auto-incompatible dans les régions à forte visites de pollinisateurs, tandis que dans les environnements à faible taux de visite, *C. pentandra* a changé pour un système de reproduction mixte avec des niveaux élevés de l'autopollinisation. Le système mixte est utilisé par la plante pour s'assurer d'être pollinisée même en l'absence d'un pollinisateur, sacrifiant la recombinaison génétique. A notre avis, le même système peut être utilisé chez les baobabs pour maximiser leur chance à la reproduction, mais un suivi de la fructification devrait être effectué pour en être sûr.

4.2 Quantité relative des pollinisateurs potentiels

Les sphinx ont été les visiteurs les plus fréquents des trois espèces de baobabs étudiées. Trois espèces de sphinx ont été identifiées chez *A. madagascariensis* et *A. rubrostipa*, deux d'entre eux, *C. solanii* et *A. convolvuli* ont des fréquences de visite les plus élevées chez les deux espèces de Longitubae. Chez *A. grandidieri*, sur les trois espèces de sphinx identifiées *N. comma* a effectué le maximum de visite. Ryckewaert *et al.* (2011) ont supporté la pollinisation sphingophile. Les sphinx *Agrius convolvuli* et *Coelonia solanii* ont été identifiés sur les fleurs des Longitubae, et *Nephele comma* sur les fleurs des Brevitubae.

La quantité de visite d'*Apis mellifera* sur les fleurs de baobabs sont aussi élevée que ceux effectués par les espèces de sphinx. Cette quantité se traduit par le fait que les abeilles butinent en colonie cependant leur venue n'est pas systématique. D'autres études s'accordent à dire qu'*A. mellifera* a une efficacité de la pollinisation inférieure au pollinisateurs indigènes (Hansen *et al.*, 2002; Vaughton, 1996) par le fait que ces insectes sont généralistes et visitent les fleurs différentes de leur syndrome de pollinisation (Roubik, 1980).

La fréquence de visite de *P. furcifer* a été très faible. Baum (1995) a identifié deux espèces de Lémuriens : *Phaner furcifer* a été suggéré comme étant un pollinisateur potentiel d'*A. grandidieri*, *A. rubrostipa* et *A. za. Cheirogaleus medius* seulement chez *A. rubrostipa*. Des visites plus fréquentes de ces espèces ont été observées (Baum, 1995a). Il est possible que les visiteurs floraux varient fréquemment en abondance et en efficacité d'une année à une autre et d'un site à un autre (Moeller, 2006). De plus, la dégradation de l'habitat des baobabs aient pu avoir un influence sur la visite des Lémuriens sur les fleurs de ces derniers (Rasoamanana *et al.*, en prép.).

Au cours de nos observations, la fréquence de visite d'*Eidolon dupreanum* a été faible chez *A. grandidieri*. Les études réalisées par Andriafidison *et al.* (2006) ont par contre mentionné que les chauves-souris notamment *Eidolon dupreanum* ont un taux de visite élevé au cours de la nuit où les fleurs sont actives leur permettant une bonne efficacité à la pollinisation des Brevitubae. Leur comportement au butinage lui confère une bonne qualité en tant que pollinisateur (obs. pers., Baum, 1995, Andriafidison *et al.*, 2006).

Dans ce travail, seule la qualité de visite des sphinx a été étudiée. Masi il est recommandé d'examiner la qualité des autres pollinisateurs potentiels malgré la faible fréquence de leur visite afin de quantifier leur participation à la pollinisation naturelle des baobabs.

4.3 Prédiction sur l'efficacité globale de la pollinisation par les sphinx

L'efficacité globale des pollinisateurs consiste à la multiplication des deux composantes de l'efficacité de la pollinisation, c'est-à-dire la quantité de pollen déposé sur les stigmates par visite et le taux de visite des pollinisateurs (Castro et al., 2013; Fumero-Cabán and Meléndez-Ackerman, 2007; Herrera, 1989, 1987). Les sphinx ne sont pas efficaces à déposer le pollen après une visite de fleur. Pourtant, lorsque les deux composants de l'efficacité de la pollinisation (c'est à dire, le dépôt de pollen et la fréquence des visites) ont été combinés après un temps d'exposition aux fleurs estimé à 10h, les sphinx apparaissent être des pollinisateurs efficace des espèces de baobabs étudiées. Les prédictions ont montré que chez *A. grandidieri*, *N. comma* est significativement plus efficace en déposant des pollens au dessus de la quantité seuil (>232 pollens) nécessaire à la germination du tube pollinique ($F=9,651$; $p<0,05$; fig. 5A); *H. celerio* et *P. jasmini* n'ont pas la quantité de visite suffisante pour être efficace. *Agrius convolvuli*, *C. solanii* et *P. jasmini* sont théoriquement efficace à la pollinisation d'*A. madagascariensis* et *A. rubrostipa*. Il n'y a pas de différence significative entre *A. convolvuli* et *C. solanii* qui sont significativement plus efficace que *P. jasmini* ($F=4,884$; $p<0,05$; fig. 5B et $F=4,922$; $p<0,05$; fig. 5C).

4.4 Densité des pollens et croissance du tube pollinique

Chez les baobabs, les ovules sont fécondés quand le nombre de pollen sur le stigmate est d'environ 1 à 9 fois supérieur au nombre d'ovules à féconder. La pollinisation manuelle dépose artificiellement un grand nombre de pollen sur le stigmate, résultant une efficacité supérieure par rapport à la pollinisation naturelle. La pollinisation naturelle est en fait plus aléatoire en fonction de la quantité et la qualité des pollinisateurs sur une fleur d'un individu d'un endroit donné.

Il a déjà été admis que la densité de pollen est dépendant de la germination du tube pollinique, et influence ainsi la fructification et pour la maturation des fruits (Björkman, 1995; Holm, 1994; Waites and Agren, 2004). Par exemple, chez *Pachira quinata* (Bombacaceae), les fleurs recevant en moyenne 2,6 :1 pollen : ovule développent des fruits (Quesada et al., 2001). D'une part, les tubes polliniques peuvent coopérer pendant la croissance dans le style pour accroître le succès de la fécondation (effet de masse), ou entrer en concurrence les uns des autres pour féconder les ovules disponibles (Mulcahy and Mulcahy, 1975; Niesenbaum, 1999; Pasonen and Käpylä, 1998). Cette compétition détermine la paternité de la progéniture et peut affecter les performances de la descendance.

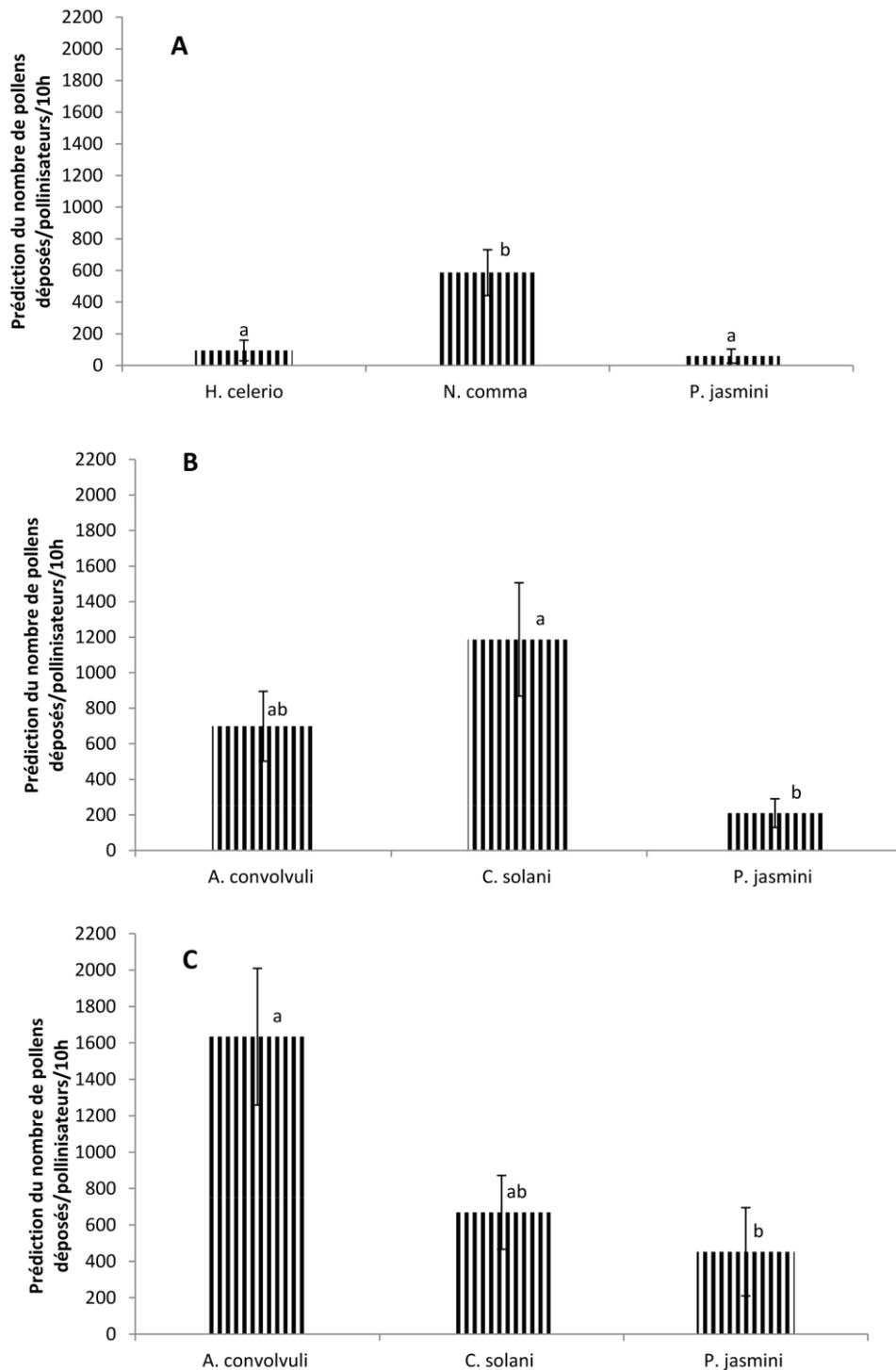


Figure 5 : Indices de l'efficacité de la pollinisation par les sphinx (= nombre moyen prévu de grains de pollen déposés par les sphinx après 10h d'exposition). (A) *A. grandidieri* ; (B) *A. madagascariensis* ; (C) *A. rubrostipa*

4.5 Ovules : Graines ratio

Chez les baobabs, on note un faible graine : ovule ratio. L'explication la plus plausible de cette faible production de graine l'insuffisance d'ovules fécondés, lorsqu'il y a une limitation de pollens. En effet, nous avons démontré que fécondation de la totalité des ovules n'a lieu qu'en grande quantité de pollens déposés (généralement >362). L'autre raison est qu'il peut y avoir avortement des embryons faibles quand il n'y a pas suffisamment de ressources maternelles au développement des zygotes (Berg, 2003; Holland and Chamberlain, 2007). Par exemple, les études sur le genre *Hibiscus* ont montré que même avec un grand nombre de pollen déposés, une partie des ovules restent non fécondé (Snow and Spira, 1991). En général en milieu naturel, les plantes produisent beaucoup plus de fleurs et d'ovules que de fruits et de graines (Holland and Chamberlain, 2007).

5. Conclusion

Dans l'ensemble, nous avons montré que les sphinx, les chauves-souris et les lémuriens peuvent participer à la pollinisation des baobabs en terme quantitatif. Les preuves de l'efficacité par les sphinx ont été apportées une fois les composantes quantité et qualité combinées. La quantité de pollens déposés sur le stigmate influence la germination du tube pollinique et la fécondation des ovules. Dans le milieu naturel, la graine : ovule ratio est très faible. Ce phénomène peut être expliqué par une limitation de pollen en milieu naturel. Nos résultats ont en effet montré que la totalité des ovules ne sont fécondé qu'avec une grande quantité de pollen déposé. Les baobabs sont autocompatibles dans le stade prézygotique et présente ainsi un mode de pollinisation mixte pour maximiser leur chance pour se reproduire.

Références bibliographique

- Andriafidison, D., Andrianaivoarivelo, R.A., Ramilijaona, O.R., Razanahoera, M.R., MacKinnon, J., Jenkins, R.K.B., Racey, P.A., 2005. Nectarivory by Endemic Malagasy Fruit Bats During the Dry Season. *Biotropica* 38, 85–90.
- Baum, D.A., 1995. The comparative pollination and floral biology of baobabs (*Adansonia*-*Bombacaceae*). *Ann. Mo. Bot. Gard.* 82, 322–348.
- Berg, H., 2003. Factors Influencing Seed: Ovule Ratios and Reproductive Success in Four Cleistogamous Species: A Comparison between Two Flower Types. *Plant Biol.* 5, 194–202.

- Björkman, T., 1995. The effect of pollen load and pollen grain competition on fertilization success and progeny performance in *Fagopyrum esculentum*. *Euphytica* 83, 47–52.
- Castro, S., Loureiro, J., Ferrero, V., Silveira, P., Navarro, L., 2013. So many visitors and so few pollinators: variation in insect frequency and effectiveness governs the reproductive success of an endemic milkwort. *Plant Ecol.* 214, 1233–1245. doi:10.1007/s11258-013-0247-1
- Fumero-Cabán, J.J., Meléndez-Ackerman, E.J., 2007. Relative pollination effectiveness of floral visitors of *Pitcairnia angustifolia* (Bromeliaceae). *Am. J. Bot.* 94, 419–424.
- Hansen, D.M., Olesen, J.M., Jones, C.G., 2002. Trees, birds and bees in Mauritius: exploitative competition between introduced honey bees and endemic nectarivorous birds? *J. Biogeogr.* 29, 721–734.
- Herrera, C.M., 1987. Components of pollinator “quality”: comparative analysis of a diverse insect assemblage. *Oikos* 79–90.
- Herrera, C.M., 1989. Pollinator abundance, morphology, and flower visitation rate: analysis of the “quantity” component in a plant-pollinator system. *Oecologia* 80, 241–248.
- Holland, J.N., Chamberlain, S.A., 2007. Ecological and evolutionary mechanisms for low seed: ovule ratios: need for a pluralistic approach? *Ecology* 88, 706–715.
- Holm, S.O., 1994. Pollination density-effects on pollen germination and pollen tube growth in *Betula pubescens* Ehrh. in northern Sweden. *New Phytol.* 126, 541–547.
- Leong Pock Tsy, J.-M., Lumaret, R., Flaven-Noguier, E., Sauve, M., Dubois, M.-P., Danthu, P., 2013. Nuclear microsatellite variation in Malagasy baobabs (*Adansonia*, Bombacoideae, Malvaceae) reveals past hybridization and introgression. *Ann. Bot.* 112, 1759–1773.
- Lobo, J.A., Quesada, M., Stoner, K.E., 2005. Effects of pollination by bats on the mating system of *Ceiba pentandra* (Bombacaceae) populations in two tropical life zones in Costa Rica. *Am. J. Bot.* 92, 370–376.
- Moeller, D.A., 2006. Geographic structure of pollinator communities, reproductive assurance, and the evolution of self-pollination. *Ecology* 87, 1510–1522.
- Mulcahy, D.L., Mulcahy, G.B., 1975. The influence of gametophytic competition on sporophytic quality in *Dianthus chinensis*. *Theor. Appl. Genet.* 46, 277–280.
- NAGY, E.S., STRONG, L., GALLOWAY, L.F., 1999. Contribution of Delayed Autonomous Selfing to Reproductive Success in Mountain Laurel, *Kalmia latifolia* (Ericaceae). *Am. Midl. Nat.* 142, 39–46.

- Niesenbaum, R.A., 1999. The effects of pollen load size and donor diversity on pollen performance, selective abortion, and progeny vigor in *Mirabilis jalapa* (Nyctaginaceae). *Am. J. Bot.* 86, 261–268.
- Pasonen, H.L., Käpylä, M., 1998. Pollen–pollen interactions in *Betula pendula* in vitro. *New Phytol.* 138, 481–487.
- Quesada, M., Fuchs, E.J., Lobo, J.A., 2001. Pollen load size, reproductive success, and progeny kinship of naturally pollinated flowers of the tropical dry forest tree *Pachira quinata* (Bombacaceae). *Am. J. Bot.* 88, 2113–2118.
- Roubik, D.W., 1980. Foraging behavior of competing africanized honeybees and stingless bees. *Ecology* 61, 836–845.
- Ryckewaert, P., Razanamaro, O., Rasoamanana, E., Rakotoarimihaja, T., Ramavovololona, P., Danthu, P., 2011. Les Sphingidae, probables pollinisateurs des baobabs malgaches. *Bois For. Trop.* 307, 57–68.
- Snow, A.A., Spira, T.P., 1991. Differential pollen-tube growth rates and nonrandom fertilization in *Hibiscus moscheutos* (Malvaceae). *Am. J. Bot.* 78, 1419–142.
- Spears Jr., E.E., 1983. A direct measure of pollinator effectiveness. *Oecologia* 57, 196–199.
- Vaughton, G., 1996. Pollination disruption by European honeybees in the Australian bird-pollinated shrub *Grevillea barklyana* (Proteaceae). *Plant Syst. Evol.* 200, 89–100.
- Waites, A.R., Agren, J., 2004. Pollinator visitation, stigmatic pollen loads and among-population variation in seed set in *Lythrum salicaria*. *J. Ecol.* 92, 512–526.