

THÈSE

Pour obtenir le grade de
Docteur

Délivré par l'Université de Montpellier

**Préparée au sein de l'école doctorale Gaia
Et de l'unité de recherche Bios**

Spécialité : Ecologie et biodiversité

Présentée par Thomas AUFFRAY

**Etude des interactions chimiques entre
les espèces cultivées d'*Elaeis* et leurs
insectes pollinisateurs.**

Soutenue le 11 mai 2017 devant le jury composé de

Mr Emmanuel DESOUHANT, Pr, CNRS Lyon

Rapporteur

Mme Mathilde DUFAYŹ, Pr, Université de Lille

Rapporteur

Mme Marie-Stéphane TIXIER, Pr, SupAgro

Examinatrice

Mme Brigitte FRÉROT, Dr, INRA Versailles

Examinatrice

Mr Tristan Durand-Gasselin, Directeur PalmElit

invité

Mme Beaudoin-Ollivier Laurence, Dr, CIRAD

invitée



Résumé

Le palmier à huile africain *Elaeis guineensis* Jacqu. (Arecales : Arecaceae) est une plante tropicale de d'intérêt économique et la première source mondiale d'huile végétale. La production d'huile dépend de la pollinisation par des charançons du genre *Elaeidobius* (Coleoptera : Curculionidae). Ces insectes sont impliqués dans une relation mutualiste spécialisée avec leur plante-hôte : ils se développent au dépend des inflorescences mâles qu'ils détectent à travers les odeurs émises durant l'anthèse, tandis que les inflorescences femelles sont pollinisées en mimant les odeurs mâles. Une maladie mortelle sévissant en Amérique du sud et qui touche l'*E. guineensis* a contribué au développement de variétés commerciales d'hybrides interspécifiques, résultat du croisement entre *E. guineensis* et le palmier à huile sud-américain *Elaeis oleifera* (Knuth) Cortés. Mais ces hybrides s'avèrent être naturellement mal pollinisés et nécessitent l'intervention d'une pollinisation assistée coûteuse et contraignante. Cette thèse part de l'hypothèse que la communication chimique qui permet la rencontre entre les deux espèces de palmiers et leurs pollinisateurs respectifs est déficiente chez les hybrides.

L'objectif principal de cette thèse a été d'étudier le fonctionnement du système de pollinisation des deux espèces de palmiers afin de comprendre pourquoi les hybrides sont mal pollinisés. L'étude a été conduite dans une plantation commerciale en Equateur, dans laquelle coexistent les deux espèces *E. guineensis* et *E. oleifera* avec leur insecte pollinisateur respectif, le charançon africain *Elaeidobius kamerunicus* Faust. et le charançon sud-américain *Grasidius hybridus* O'Brien & Beserra (Coleoptera : Curculionidae) et des palmiers hybrides interspécifiques. En utilisant des techniques de piégeage et l'échantillonnage des odeurs florales, nos résultats ont montré que le système de pollinisation des deux espèces de palmier est basé sur l'émission d'un signal chimique spécifique et sur une duperie olfactive, renforcées par un phénomène de thermogénèse. Les deux insectes sont attirés en faible proportion sur les hybrides, qui possèdent une composition chimique intermédiaire à celle des espèces parentales. Des tests physiologiques et comportementaux ont permis d'identifier les composés organiques volatils clés responsables de l'attraction des insectes pollinisateurs.

Ce travail devrait contribuer à apporter des connaissances théoriques sur le système de pollinisation du palmier à huile, et permettre d'élaborer des méthodes pratiques de gestion des pollinisateurs afin de réduire les coûts en pollinisation assistée.

Mots-clés : *Elaeis guineensis*, *Elaeis oleifera*, hybrides interspécifiques, *Elaeidobius kamerunicus*, *Grasidius hybridus*, pollinisation, odeurs florales

Abstract

The African oil palm *Elaeis guineensis* Jacqu. (Arecales: Arecaceae) is a tropical plant of economic interest and the world's leading source of vegetable oil. Oil production depends on pollination by weevils of the genus *Elaeidobius* (Coleoptera: Curculionidae). These insects are involved in a specialized mutualistic relationship with the host plant: they develop at the expense of the male inflorescences they detect through the odors emitted during the anthesis, while the female inflorescences are pollinated by mimicking the male odors. *E. guineensis* is affected by a lethal disease in South America that leads to the development of commercial varieties of interspecific hybrids, resulting from artificial crossing between *E. guineensis* and the South American oil palm *Elaeis oleifera* (Knuth) Cortés. However, the natural pollination of these hybrids is inadequate and requires the intervention of a costly assisted pollination. This thesis hypothesizes that the chemical communication underlying the successful encountering between each oil palm species and their respective pollinators is deficient in hybrid palms.

The main objective of this work was to study the functioning of the pollination system for both oil palm species to understand why natural pollination in hybrids is inefficient. The study was conducted in a commercial plantation in Ecuador, including the two species *E. guineensis* and *E. oleifera* present with their respective pollinating insect, the African weevil *Elaeidobius kamerunicus* Faust. and the South American weevil *Grasidius hybridus* O'Brien & Beserra (Coleoptera: Curculionidae), as well as interspecific hybrid palms. Using techniques of trapping and sampling of floral odors, our results showed the pollination system of both species of palm is based on the emission of a specific chemical signal and an olfactory deception, reinforced by a phenomenon of thermogenesis. The two insects are attracted in a small proportion to hybrid palms, which have an intermediate chemical composition compare to parent species. Physiological and behavioral tests permit the identification of the key volatile organic compounds responsible for pollinator attraction. This work should contribute to theoretical knowledge about the oil palm pollination system and the development of practical methods for pollinator management to reduce costs in assisted pollination.

Keywords: *Elaeis guineensis*, *Elaeis oleifera*, interspecific hybrids, *Elaeidobius kamerunicus*, *Grasidius hybridus*, pollination, floral scent.

Remerciements

Je tiens à remercier toutes les personnes qui m'ont accompagné de près ou de loin dans cette aventure.

Je veux tout d'abord remercier mes deux directrices de thèse, Brigitte Frérot et Laurence Ollivier, qui m'ont fait confiance à me proposant ce sujet de thèse passionnant et qui m'ont donné l'opportunité de vivre une expérience formidable.

Je tiens à remercier les membres de mon jury de thèse d'avoir accepté d'évaluer ce travail : Emmanuel Desouhant, Mathilde Dufaj, Marie-Stéphane Tixier et Tristan Durand-Gasselin.

Un grand merci aux collègues et amis de l'INRA avec qui j'ai partagé le bureau ou la pause-café : à Centina pour sa gentillesse et son extrême patience face à mes questions sans queue ni tête, à Rachid pour nos discussions philosophiques et scientifiques, parfois très sérieuses, parfois complètement loufoques, à Ené pour les discussions et les anecdotes sur l'actualité durant la pause-café, à Perrine et à Magali pour leur bonne humeur, à Stéphane et à Paul-André.

Merci aux collègues de l'unité Créa et d'IEES Paris

Merci aux collègues de l'unité Bioagresseurs du CIRAD : Natacha, Fabienne et Guillaume pour leurs précieux conseils, ma collègue de bureau Christine, à Claudie pour ces formidables éclats de rire, aux inséparables Fred' et Philippe, à Fabrice, à Christian, et à Bernard. Merci aux collègues du Cirad et de PalmElit impliqués dans ce travail, qui m'ont apporté une aide précieuse : Philippe et Albert.

Gracias a los ecuatorianos que colaboran conmigo durante este proyecto: Primero gracias a Roberto Poveda que supervisa este proyecto, Claude Louise por las discusiones científicas, el director Camilo Gallardo por su amabilidad y su preciosa ayuda por la resolución de los problemas.

*¡Gracias a todos los ingenieros de la plantación Palmeras del Ecuador!
Grandes agradecimientos a la gente con quien trabajo en el departamento de investigación de PDE: Laurita, Oscarito, Klever, Tito, y Juan Pablo.
Agradecimiento a Valeria y Marcelo “mi Mama y Papa del Ecuador” por su amabilidad y amistad.*

*Agradecimientos a los obreros que realizaron un trabajo formidable:
Marcos, Oscar, Edwin, Armando, René, Alex, Diego*

*¡Gracias a mis amigos Valeria y Oscar por el viaje a los Galapagos!
¡Muchas gracias a mi compañero y amigo Edwin por su amistad, su ayuda y todas las discusiones!*

Un très grand merci à Martin, Béatrice et Grisou pour m’avoir hébergé et supporté durant mes séjours à Montpellier, ainsi qu’à la communauté du Mas Reynes, Philippe, Loic et William, Vincent et Claire, Nadine, Martine et Sacha, Yann et Hélène.

Merci à Camille qui m’a accompagné un sacré petit bout de temps ! Nous avons pris des chemins séparés, mais je souhaite vraiment que tout te réussisse dans ta vie Nantaise ! Merci à ta famille pour leur amitié et leur soutien !

Merci à Eleftheria pour ses cours de grecs et pour son soutien indispensable jusqu’au bout !

Merci à Antoine et Pauline, que je n’ai hélas pas beaucoup vu durant ces trois années... On a plein de choses à rattraper ensemble !

Merci à ma famille pour leur soutien, mes parents tout particulièrement qui se sont inquiétés plus d’une fois pour moi, à mes petits frères que je suis toujours heureux de retrouver et pour qui je souhaite toute la réussite possible ! Merci à mes grand-mères.

Merci à vous tous ! Gracias a todos !

Assurons-nous bien du fait, avant de nous inquiéter de la cause. Il est vrai que cette méthode est bien lente pour la plupart des gens, qui courent naturellement à la cause, et passent par-dessus la vérité du fait ; mais enfin nous éviterons le ridicule d'avoir trouvé la cause de ce qui n'est point.

La dent d'or, Histoire des Oracles, Bernard Le Bouyer de Fontenelle (1687)

Table des matières

Table des illustrations.....	11
Liste des tableaux.....	12
Introduction.....	14
Importance de la pollinisation chez les plantes cultivées et menaces des pratiques agricoles.....	15
Le palmier à huile : une culture à la productivité élevée, dont l'accroissement du rendement est au centre des processus de sélections.....	16
Le palmier à huile, une plante qui dépend étroitement de la pollinisation entomophile.....	20
Le problème de la pollinisation des palmiers hybrides.....	24
Problématique de la thèse.....	26
Le rôle des Composés Organiques Volatils (COVs) dans l'attraction des pollinisateurs.....	27
Le « nursery pollination mutualism » : interaction réciproque et jeu de dupe.....	29
La pollinisation des palmiers : des interactions spécialisées avec des insectes.....	31
Les insectes pollinisateurs et les odeurs florales des deux espèces de palmier à huile en Amérique du sud.....	32
Stratégie de recherche.....	35
Eléments de matériel et méthodes.....	37
Le site d'étude : La plantation Palmeras del Ecuador (PDE).....	37
La méthode de piégeage des insectes.....	39
La méthode d'échantillonnage des odeurs.....	40
Bibliographie.....	42
Chapitre 1 : Evaluation de l'attractivité des deux espèces de palmier à huile et de plusieurs croisements hybrides interspécifiques pour les insectes pollinisateurs.....	53
Introduction.....	54
Matériel et méthodes.....	54
Résultats.....	57
Nombre d'inflorescences mâles et femelles par parcelles d'expérimentations.....	57
Comparaison des captures moyennes d'insectes entre les types de palmier.....	58
Comparaison de l'attractivité de plusieurs croisements hybrides.....	59
Discussion.....	62
E. kamerunicus et G. hybridus visitent-ils les inflorescences de l'espèce de palmier non-hôte ?	62
Quelle est la variabilité de visite entre différents croisements d'hybrides interspécifiques à travers la plantation de PDE ?.....	63
Bibliographie.....	64
Chapitre 2 : Diel pattern of activity for insect pollinators of two oil palm species.....	66
Abstract.....	67
Introduction.....	68

Materials and Methods	70
Site Location	70
Plant Materials	70
Trapping Methods	70
Insect Identification.....	72
Statistical Analyses	72
Results	72
Diel Pattern of Pollinator Insect Activity at Inflorescences of <i>E. guineensis</i> and <i>E. oleifera</i> Using Interception Trapping.....	72
Precise Pattern of the Activity of Pollinating Insects at Inflorescences Using Aspiration Trapping	74
Discussion	76
Acknowledgments	79
References cited.....	79
Chapitre 3 : Dispersal abilities and population estimates of two pollinators of oil palm trees using the mark-recapture method.....	82
Abstract	83
Introduction.....	83
Materials and Methods	85
Study site and plant materials.....	85
Trapping.....	86
Survival of colored powder-marked pollinator insects.	87
Mark-release-recapture experiment.....	87
Estimation of weevil population.....	88
Dispersal range experiment	89
Results	89
Survival comparison between the two pollinator species	89
Range of dispersal of the released pollinator insects	92
Estimation of the population from trapping data	95
Dispersal range of pollinator insects	95
Discussion	96
Acknowlegments	100
References.....	100
Chapitre 4 : Floral scent chemistry and intersexual mimicry in the American Oil palm <i>Elaeis oleifera</i> (Knuth), Cortés (Arecaceae)	103
Abstract –	104
Introduction.....	105

Materials and methods	107
Plant material and study site.....	107
Floral scent collection.....	108
Gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS) analysis and compound identification	108
Statistical analysis.....	109
Results	109
Discussion	113
Floral scent composition	113
Similarity in male and female floral bouquet in <i>E. oleifera</i> Taisha.....	115
Similarity of floral scent composition in <i>E. oleifera</i> palm trees originated from Brazilian and Ecuadorian population.	117
References.....	118
Acknowledgments	121
Chapitre 5 : Thermogénèse, signature chimique spécifique et période d'activité des insectes pollinisateurs durant la floraison de deux espèces de palmier à huile.	122
Introduction.....	123
Matériels et méthodes.....	124
Sites d'étude.....	124
Suivi de la floraison des inflorescences.....	125
Suivi de la dynamique de visite des insectes pollinisateurs	128
Mesure de la température des inflorescences.....	128
Echantillonnage et analyse des odeurs florales	129
Analyses statistiques	130
Résultats	132
Variations des quantités d'insectes au cours de la floraison	132
Rythmicité de la thermogénèse florale	134
Variations temporelles de la composition des odeurs florales	137
Variation de la température florale et des proportions des principaux COVs.....	140
Discussion.....	141
Bibliographie.....	147
Chapitre 6 : Etude des traits floraux chez l'hybride interspécifique <i>Elaeis guineensis</i> x <i>Elaeis oleifera</i> en lien avec l'attraction des insectes pollinisateurs.....	153
Introduction.....	154
Matériels et méthodes.....	156
Sélection du matériel végétal.....	156
Mesure de la température des inflorescences.....	157
Echantillonnage et analyse des odeurs florales	158

Résultats	159
Comparaison des odeurs florales entre les espèces parentales et leurs hybrides interspécifiques	159
Comparaisons des odeurs florales entre les hybrides interspécifiques.....	161
Evolution de la température florale durant la floraison d'un croisement hybride Coari x La Mé	162
Comparaison de la température florale entre plusieurs croisements hybrides et les espèces parentales.....	163
Discussion	164
Y-a-t-il des différences dans la composition des odeurs florales entre les espèces parentales de palmier à huile et leur hybrides interspécifiques ?	164
Les inflorescences des hybrides interspécifiques sont-elles thermogéniques ?.....	166
Les différences de captures d'insectes entre les différents croisements hybrides s'expliquent-elles par la variabilité de la composition des odeurs et des caractéristiques de la thermogénèse florale ?	167
Bibliographie.....	169
Chapitre 7 : Effet des composés volatils sur la spécificité de l'attraction des insectes pollinisateurs du palmier à huile.....	173
Introduction.....	174
Matériels et méthodes	176
Stimulation antennaire des insectes pollinisateurs par électroanténographie (EAG)	176
Identification des composés attractifs pour les insectes pollinisateurs et effet de la température sur l'attraction	178
Comparaison de l'attraction de différentes doses d'estragole et de 2-isobutyl-3-méthoxy-pyrazine avec celle des inflorescences.....	179
Analyse des données	180
Résultats	181
Réponses antennaires de différents composés volatils testés en EAG.....	181
Effet des différents composés et de l'élévation de température sur l'attraction des insectes..	182
Comparaison de l'attraction des insectes à différentes doses de composé volatil	184
Discussion	187
Bibliographie.....	192
Conclusion générale et perspectives.....	195
Bibliographie.....	201
Annexes	204

Table des illustrations

Figure 1 : Distribution naturelle d' <i>E. guineensis</i> et d' <i>E. oleifera</i>	17
Figure 2 : Aspect du palmier à huile africain, <i>E. guineensis</i> Jacq	20
Figure 3 : Morphologie des inflorescences mâles et femelles d' <i>E. guineensis</i> durant la phase d'anthèse	21
Figure 4 : Les étapes de pollinisation entomophile d' <i>E. guineensis</i>	24
Figure 5 : Insectes pollinisateurs d' <i>E. guineensis</i> et d' <i>E. oleifera</i> <i>E. kamerunicus</i> et <i>G. hybridus</i>	34
Figure 6 : Localisation de la plantation Palmeras del Ecuador	38
Figure 7 : Les deux méthodes de piégeage utilisées	40
Figure 8 : méthode du head space statique pour l'échantillonnage des odeurs florales.....	42
Figure 9 : Comparaison du nombre moyen d'inflorescences mâles et femelles entre les différents types de matériel végétal	57
Figure 10 : Comparaison des captures moyennes d' <i>E. kamerunicus</i> et de <i>G. hybridus</i> dans les 10 parcelles d'expérimentations.....	58
Figure 11 : Approximate visiting periods of <i>E. kamerunicus</i> and <i>G. hybridus</i> on inflorescences of <i>E. guineensis</i> and <i>E. oleifera</i> Taisha.....	74
Figure 12 : . Precise visiting period of <i>E. kamerunicus</i> and <i>G. hybridus</i>	76
Figure 13 : Survival of marked and unmarked individuals (control) of <i>E. kamerunicus</i> and <i>G. hybridus</i>	90
Figure 14 : Maps showing pollinator insects captured after release.....	91
Figure 15 : Percentage of insects marked and recaptured in <i>E. oleifera</i> , <i>E. guineensis</i> and hybrid plots.....	92
Figure 16 : Comparison of the mean distance (m) covered by <i>E. kamerunicus</i> and <i>G. hybridus</i>	94
Figure 17 : Proportion of captures of marked <i>E. kamerunicus</i> and <i>G. hybridus</i>	96
Figure 18 : Inflorescences of <i>E. oleifera</i> Taisha et <i>E. oleifera</i> Coari	110
Figure 19 : Comparison of the mean relative proportion of the four dominant classes.....	111
Figure 20 : Non-multidimensional scaling representation of all sampled inflorescences at anthesis, based on their chemical profile	113
Figure 21 : Evolution de la floraison des inflorescences mâles et femelles d' <i>E. guineensis</i> et d' <i>E. oleifera</i> Taisha.	127
Figure 22: Evolution des captures moyennes d'insectes pollinisateurs sur les inflorescences de leur espèce de palmier respective en fonction de la floraison	133
Figure 23 : Evolution moyenne de l'écart entre la température florale et la température ambiante	137
Figure 24 : : Représentation des différences de profil chimique entre les phases de pré-anthèse, anthèse matinale, anthèse crépusculaire et post-anthèse.....	139
Figure 25 : Variation moyenne des écarts entre la température florale et la température ambiante et variation de la proportion relative des principaux composés organiques volatils.	141
Figure 26 : Représentation nMDS des profils d'odeurs florales des deux espèces de palmier à huile <i>E. guineensis</i> et <i>E. oleifera</i> et de trois croisements d'hybrides interspécifiques.....	160
Figure 27 : Représentation nMDS des profils d'odeur florale femelle de plusieurs croisements hybrides <i>E. oleifera</i> Coari x <i>E. guineensis</i> La Mé	161

Figure 28 : Evolution de la température florale des inflorescences femelles d'un croisement hybride interspécifique au cours de la floraison.....	163
Figure 29 : Comparaison de l'évolution de la température florale femelle entre les deux espèces de palmiers à huile <i>E. guineensis</i> et <i>E. oleifera</i> (Coari) et 9 croisements hybrides interspécifiques différents au cours de l'anthèse.....	164
Figure 30 : Schéma du montage des électrodes sur <i>E. kamerunicus</i>	177
Figure 31 : Schéma des sites expérimentaux destinés à tester l'attraction des insectes pollinisateurs pour différents composés volatils	179
Figure 32 : Intensité des réponses antennaires (mV) d' <i>E. kamerunicus</i>	183
Figure 33 : Effet des différents composés et de l'élévation de température sur le nombre de captures d' <i>E. kamerunicus</i> et de <i>G. hybridus</i>	185
Figure 34 : Nombre d' <i>E. kamerunicus</i> et de <i>G. hybridus</i> attirés par différentes doses d'estragole et de 2-isobutyl-3-méthoxypyrazine	186
Figure annexe 35 : Evolution des captures moyennes d' <i>E. kamerunicus</i> et de <i>G. hybridus</i> au cours de la floraison des inflorescences femelles d'un croisement hybride interspécifique.	205
Figure 36 : Représentation nMDS des odeurs florales mâle et femelle d'un croisement hybride Coari x La Mé en fonction des étapes de la floraison.	205
Figure 37 : Evolution des captures d' <i>E. kamerunicus</i> et de <i>G. hybridus</i> au cours de la journée, le premier jour de l'anthèse des inflorescences femelles d'un croisement hybride interspécifique.....	206
Figure annexe 38: Aspect de l'antenne d' <i>E. kamerunicus</i> mâle en position dorsale.	207
Figure annexe 39 : Poste de montage EAG.	207
Figure annexe 40 : Localisation des zones d'expérimentation destinée à tester l'attractivité de différents composés volatils	208
Figure annexe 41 : Poster Pollinator insect movement in oil palm plantings	209
Figure annexe 42 : Poster : Oil palm entomophile pollination depends on an intersexual mimicry.....	210
Figure annexe 43 : Les étapes de la pollinisation assistée.....	211
Figure annexe 44 : Pattern d'évolution de la température des inflorescences individuelle en fonction de la floraison.....	233

Liste des tableaux

Tableau 1 : Résumé de l'identité des parcelles sélectionnées pour évaluer l'attractivité des insectes.....	55
Table 2 : évaluation de la moyenne de captures d' <i>E. kamerunicus</i> et de <i>G. hybridus</i> sur 357 croisements hybrides différents	60
Table 3 : Summary of the results of the capture-mark-recapture experiment in different plots	94
Table 4 : Statistiques des différences du profil d'odeur entre les inflorescences mâles et femelles au cours de la floraison.....	Erreur ! Signet non défini.
Table annexe 5 : Nombre de pièges posés sur les inflorescences mâles et femelles de chaque type de matériel végétal au cours de toute la durée des expérimentations	212
Table annexe 6 : Relative proportion of volatile compounds emitted during the anthesis stage of inflorescences of two <i>E. oleifera</i> palm populations.	213

Table annexe 7 : Composition moyenne relative des inflorescences mâles et femelles d'E. guinensis d'E. oleifera Taisha et des inflorescences femelles d'E. oleifera Coari à différents stades de la floraison.....	215
Table annexe 8 : Caractéristiques des espèces de palmiers, et d'un croisement hybrides interspécifiques ayant servi à l'échantillonnage des odeurs florales.....	224
Table annexe 9 : Croisements hybrides Eo Coari x Eg La Mé dont les odeurs florales femelles ont été échantillonnées	225
Table annexe 10: Composition moyenne relative des composés volatils des inflorescences mâles et femelles en anthèse d'E. guinensis, d'E. oleifera Taisha, d'E. oleifera Coari, des hybrides Coari x La Mé, des hybrides Taisha x La Mé et des hybrides Taisha x Yangambi ...	226
Table annexe 11 : Composition moyenne relative des composés volatils (% ± sd) des inflorescences femelles de 9 croisements hybrides	229
Table annexe 12: liste des composés volatils testés en EAG, et sur le terrain	232

Introduction

Importance de la pollinisation chez les plantes cultivées et menaces provenant des pratiques agricoles

La reproduction sexuelle des plantes découle du processus de pollinisation : il s'agit du transfert des cellules germinales mâles, le pollen, vers les cellules germinales femelles, les ovules. Ce processus aboutit à la fertilisation, puis à la production de graines, assurant une descendance à la plante. Les plantes étant des organismes qui restent fixés durant la majeure partie de leur cycle de vie, les partenaires sexuels sont dans l'incapacité de se rencontrer directement. La pollinisation fait donc intervenir un vecteur mobile qui peut être soit abiotique, tels que le vent ou l'eau (Ackerman 2000; Culley et al. 2002) ou biotique comme les animaux (Kevan and Baker 1983). La pollinisation par les animaux (zoogamie) domine chez les plantes à fleurs, puisqu'elle concerne 78 % des espèces de plante au niveau des latitudes tempérées, et jusqu'à 94 % aux latitudes tropicales (Ollerton et al. 2011). Les animaux pollinisateurs sont principalement dominés par les insectes en termes de diversité et d'abondance, mais inclus aussi des oiseaux, des chauves-souris et de petits mammifères. Les plantes et leurs pollinisateurs sont engagés dans des interactions mutualistes, c'est-à-dire que chacun des partenaires obtient un bénéfice à interagir avec l'autre (Bronstein 1994; Bronstein et al. 2006). La pollinisation est un composant clé assurant la stabilité de nombreux écosystèmes.

Le service écosystémique fourni à l'Homme par les animaux pollinisateurs est considérable puisque 75 % des 124 principales plantes cultivées dans un but alimentaire sont zoogames (Klein et al. 2007). La contribution économique des pollinisateurs a d'ailleurs été évaluée à 153 milliards d'euros, soit 9.5 % de la production mondiale de nourriture (Gallai et al. 2009). Au niveau mondial, la dépendance de l'agriculture vis-à-vis de la pollinisation animale a nettement progressé ces 50 dernières années : la production et l'étendue des surfaces plantées des cultures pollinisées par les animaux se sont significativement accrues par rapport aux cultures dont la production se dispensent du rôle des animaux (Aizen et al. 2008). La dépendance des cultures aux pollinisateurs pourrait encore s'amplifier les prochaines décennies avec l'accroissement et la diversification des besoins humains en nourriture, et pour répondre à la demande croissante en biocarburants (Aizen et al. 2008). Cependant, il est constaté depuis plusieurs décennies que les insectes pollinisateurs sont en déclin et ce déclin s'accompagne de changements dans l'abondance et la diversité de leurs communautés. La diminution, voire la disparition des insectes pollinisateurs, pourraient avoir

des conséquences écologiques et économiques néfastes mettant en péril la sécurité alimentaire humaine (Potts et al. 2010, 2016; Smith et al. 2015; Bauer and Sue Wing 2016). Les menaces d'origines anthropiques, comme les pratiques agronomiques actuelles, l'intensification de l'agriculture, la fragmentation de l'habitat, les changements dans l'usage des terres, l'utilisation de biocides, les espèces invasives, et d'autres d'origines naturelles, comme les pathogènes et le changement global, sont ainsi particulièrement pointées du doigt (Kearns et al. 1998; Kremen et al. 2007; Potts et al. 2010).

Alors que l'agriculture humaine dépend étroitement de l'activité des insectes pollinisateurs, les interactions mutualistes plus ou moins complexes que ceux-ci entretiennent avec les plantes qu'ils pollinisent ne sont pas toujours bien connues. Il est pourtant primordial d'étudier ces interactions afin de comprendre quel impact les pratiques agronomiques peuvent avoir sur la viabilité, et subséquemment sur la productivité des agroécosystèmes eux-mêmes (Kearns et al. 1998). La connaissance de ses interactions peut permettre de protéger et de mieux intégrer les pollinisateurs au sein des systèmes agricoles.

Le palmier à huile : une culture à la productivité élevée, dont l'accroissement du rendement est au centre des processus de sélection

Il existe deux espèces de palmier à huile, appartenant toutes deux au genre *Elaeis*, lui-même inclus dans l'ordre des Arecales, famille des Aracaceae, tribu Cocosaeae, sous-tribu Elaeidinae : le palmier à huile africain *Elaeis guineensis* Jacq. et le palmier à huile sud-américain *Elaeis oleifera* (Kunth) Cortés. Les deux espèces se rencontrent dans les zones tropicales humides mais *E. guineensis* est originaire d'Afrique de l'ouest, avec une distribution naturelle s'étendant de la Gambie à l'Angola, alors qu'*E. oleifera* est naturellement distribué en Amérique Centrale, du Honduras à la Colombie, et sous la forme de petites populations dispersées à travers la région Amazonienne (Corley and Tinker 2008) (Figure 1). L'espèce africaine possède un intérêt économique considérable dû à la teneur élevée en huile extraite à partir des fruits (Figure 2). L'usage de cette huile est principalement alimentaire, mais sert aussi en tant que biocarburant (Corley 2009; Jacquemard 2012). Au contraire de son homologue africain, le palmier américain n'est quasiment pas cultivé. Entre 2009 et 2010, l'huile de palme occupait la première place mondiale parmi les huiles végétales, avec 47,5 millions de tonnes produites, soit 33% de l'ensemble des huiles végétales produites dans le

monde au cours de cette période (Jacquemard 2012).

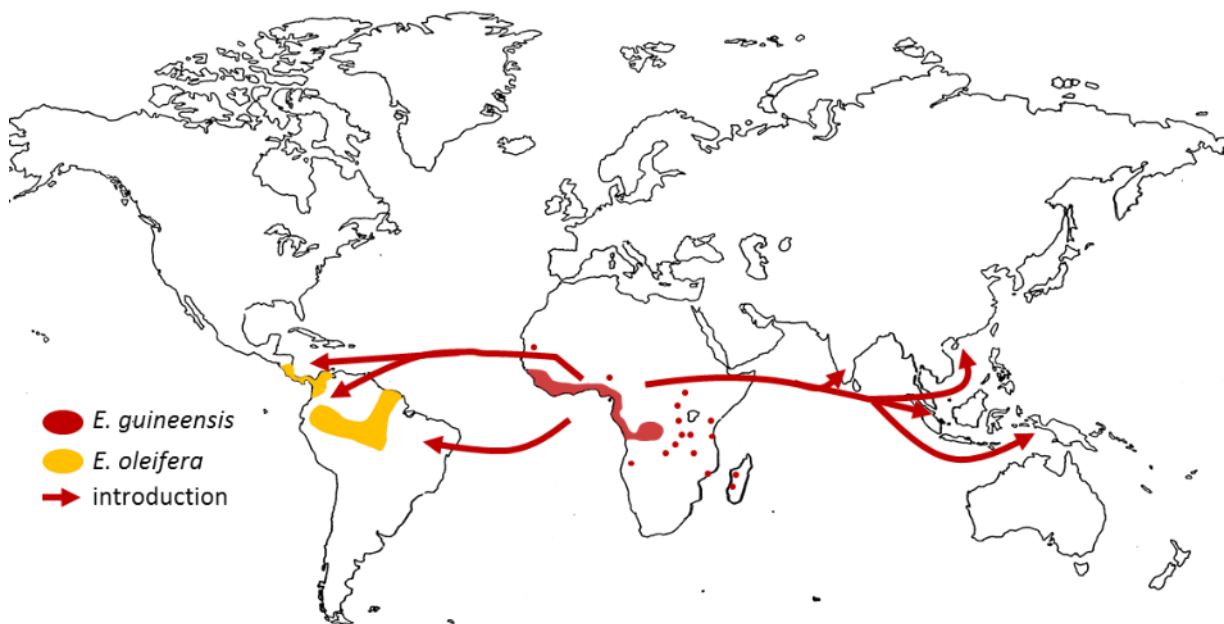


Figure 1 : Distribution naturelle d'*E. guineensis* (rouge) et d'*E. oleifera* (orange). Les points rouges indiquent les endroits où l'*E. guineensis* se retrouve à l'état subspontané, les flèches rouges désignent les localités d'introduction d'*E. guineensis* (Barcelos 2000; Meunier 1975; Syed et al. 1982; Syed 1986; Tandon et al. 2001; Corley and Tinker 2008; Yue et al. 2015).

La culture du palmier à huile est très dépendante des activités humaines. Les traces de la relation entre cette plante et l'Homme remontent à plusieurs siècles (Zeven 1972; Corley and Tinker 2008). C'est au cours du 20^{ème} siècle que la culture du palmier à huile a connu un essor majeur, avec le développement de grandes plantations industrielles en Asie du sud-est (Corley and Tinker 2008). Les premières plantations asiatiques de palmiers à huile ont été créés à partir de la descendance de 4 *E. guineensis* dont l'origine est incertaine, introduits en 1848 dans le jardin botanique de Bogor, à Java (Corley and Tinker 2008). Le développement de la culture s'est intensifiée après la Seconde Guerre Mondiale en Asie du sud-est et en Afrique, puis en Amérique du sud à partir des années 60 (Syed 1986; Durand-Gasselin et al. 2002; Corley and Tinker 2008).

L'expansion relativement rapide de la culture du palmier à huile africain est en partie due aux programmes d'amélioration génétique visant à augmenter le rendement en huile à l'hectare. Le progrès génétique est représenté par 4 cycles successifs de sélection visant à

favoriser les traits¹ liés au rendement (Durand-Gasselin et al. 2002, 2010; Corley and Tinker 2008). Le premier cycle est un cycle de sélection massale² organisé sur plusieurs générations. Le second cycle est décisif car il est basé sur la découverte de gènes associés à l'épaisseur de la coque des fruits (encart 1). Le troisième cycle repose sur l'exploitation de l'hétérosis entre les populations d'*E. guineensis* plantées en Afrique et celles introduites en Indonésie (encart 2).

Encart 1 : Hérité du caractère génétique d'épaisseur de la coque des fruits

Dans l'aire de distribution naturelle d'*E. guineensis*, il existe deux types d'individus : ceux qui produisent des fruits à coque épaisse (type *dura*), normalement fertiles mais avec une faible teneur en huile, et ceux qui produisent des fruits sans coque (type *pisifera*) avec une haute teneur en huile qui les rendent plus intéressants que les *dura* en production, mais qui présente une stérilité femelle. Un gène co-dominant *sh* contrôle l'épaisseur de la coque, les individus homozygotes *sh+/sh+* étant des *dura* alors que les homozygotes *sh-/sh-* étant des *pisifera*. Le croisement des deux types conduit à des palmiers hétérozygotes *sh+/sh-* de type *tenera* qui produisent 30 % d'huile de plus que les *dura*. C'est donc le type *tenera* qui est utilisé en plantation (Durand-Gasselin et al. 2010).

Enfin la sélection actuelle repose sur des processus de sélection récurrente. Comme le palmier à huile est sensible à de nombreuses maladies, la sélection a aussi été réalisée sur la résistance ou la tolérance face à certaines maladies. En addition de ces processus de sélection, la pérennité (rentabilité sur 25 ans), les faibles surfaces occupées et les coûts de production réduits rendent cette plante particulièrement compétitive comparativement aux autres plantes oléagineuses. Par exemple, en 2009, les surfaces de production mondiales de palmier à huile étaient 10 fois inférieures à celle du soja, pour un rendement 10 fois supérieur (Durand-Gasselin et al. 2010).

¹ En biologie, un trait est un attribut morphologique, phénologique ou comportemental d'un organisme. Par exemple, l'attraction des pollinisateurs résulte d'un ensemble de traits liés à la forme, la couleur ou les odeurs de la fleur.

² Sélection massale : sélection des semences produites par les individus qui possèdent des critères agronomiques intéressants, sur plusieurs générations

Encart 2 : Amélioration d'*E. guineensis* par croisement d'individus d'origines différentes

Les palmiers des populations africaines et sud-asiatiques possèdent une grande variabilité dans les caractères « nombre » et « poids » des régimes. Les palmiers de l'origine Deli (du nom de la région indonésienne où les 4 premiers palmiers ayant servis de base à la création des plantations du sud-est asiatique) produisent un petit nombre de gros régimes, alors que les palmiers La Mé (du nom d'une station scientifique de Côte d'Ivoire) produisent beaucoup de petits régimes. Le croisement de géniteurs femelles Deli (de type *dura*) avec des géniteurs mâles La Mé (de type *pisifera*) provoquent un effet d'hétérosis (= vigueur hybride), où les deux caractères s'additionnent, accroissant ainsi nettement le rendement des hybrides intraspécifiques Deli x La Mé ([Durand-Gasselín 2009](#)).

Cependant, tous ces processus de sélection ont été réalisés indépendamment de la pollinisation. La pollinisation est pourtant indispensable dans la production des fruits d'où sont extraits l'huile, et la non prise en compte de ce facteur a provoqué – et provoque encore – des effets néfastes sur la productivité de la culture.

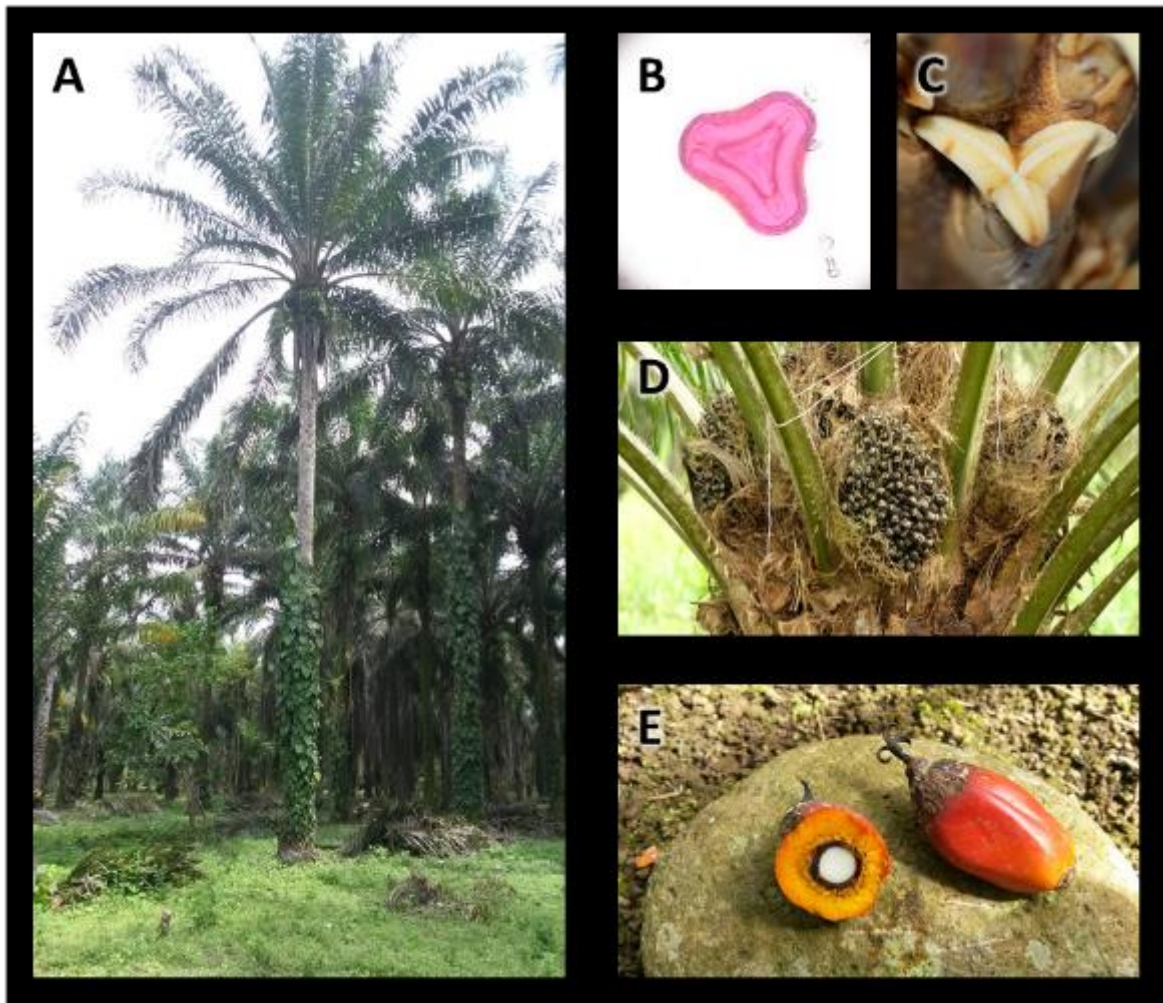


Figure 2 : Aspect du palmier à huile africain, *E. guineensis* Jacq. (Arecales : Arecaceae). A : port général d'un palmier de 30 ans (environ 15 m de hauteur) ; B : grain de pollen trilobé ; C : fleur réceptive ; D : régime de fruits ; E : aspect d'un fruit (droite) et coupe transversale (gauche) montrant la pulpe (couleur orange), la coque (anneau noir) et l'huile de palmiste (partie blanche centrale).

Le palmier à huile, une plante qui dépend étroitement de la pollinisation entomophile.

Elaeis guineensis est une plante monoïque, c'est-à-dire que les fleurs des deux sexes se rencontrent sur un même individu. La morphologie florale diffère nettement entre les sexes (Figure 3). Les inflorescences mâles et femelles sont chacune constituées d'une centaine d'épillets arrangés en spirale autour d'un axe central. Les épillets mâles portent de 400 à 1 500 fleurs et les épillets femelles de 5 à 30 fleurs (Adam et al. 2005; Jacquemard 2012). Les

inflorescences sont produites à l'axile des palmes (= les feuilles des palmiers) et leur développement prends 2 ans avant qu'elles ne deviennent matures. La maturité se caractérise par la phase d'anthèse, c'est-à-dire la phase fonctionnelle durant laquelle les fleurs de la fonction mâle produisent du pollen, et les fleurs de la fonction femelle deviennent réceptives au pollen. Les phases de maturité des inflorescences mâles et femelles sont temporellement séparées, car le palmier à huile présente généralement une alternance entre des cycles mâles et femelles, s'apparentant à une forme de dioïcité temporelle (Adam et al. 2011), appelée dichogamie (Nadot et al. 2016). Cette situation rend la pollinisation croisée obligatoire et nécessite l'intervention d'un vecteur qui réalise le transfert de pollen de la fonction mâle vers la fonction femelle.



Figure 3 : Morphologie des inflorescences mâles (A) et femelles (B) d'*E. guineensis* durant la phase d'anthèse. Echelle = 30 cm.

Le palmier à huile a longtemps été considéré comme une plante à pollinisation anémophile, notamment parce que le pollen est produit en grande quantité (25 à 100 g par inflorescence, Corley and Tinker 2008), qu'il peut être dispersé par le vent jusqu'à une dizaine

de mètre (Hardon and Turner 1967; Syed 1979), et que les insectes qui visitent les inflorescences, comme les abeilles, ne visitent quasiment pas les inflorescences femelles (Gater 1925). Cependant ces postulats n'étaient basés que sur de simples observations, et le manque de connaissances du mode de pollinisation du palmier à huile s'est parfaitement illustré suite à l'expansion de la culture en Asie du sud-est. Dans les régions sud-asiatiques (Indonésie et Malaisie) dans lesquelles se sont développées les plantations industrielles, le taux de nouaison³ des régimes était généralement inférieur à 50 %, et la pollinisation assistée par l'Homme était nécessaire afin d'obtenir des rendements satisfaisants (Syed et al. 1982; Corrado 1985). Partant du constat que le taux de nouaison dans les plantations africaines était très satisfaisant, au moins supérieur à 60 %, alors que les conditions climatiques sont similaires à celles rencontrées en Indonésie, Syed (1979) a mis en lumière l'importance de la pollinisation entomophile du palmier à huile africain. Il a observé que 5 espèces de charançon du genre *Elaeidobius*, et des Nitidulidae du genre *Prosoestus*, se développent dans les épillets mâles de la plante-hôte, transportent du pollen et visitent les inflorescences femelles. Parmi ces insectes, *Elaeidobius kamerunicus* Faust (Coleoptera : Curculionidae) a été introduit en 1982 dans les plantations d'Asie du sud-est dans le but de rétablir la pollinisation naturelle d'*E. guineensis*. Les principales raisons du choix d'introduire *E. kamerunicus*, plutôt qu'un des autres pollinisateurs identifiés, étaient 1) la grande quantité de pollen que cet insecte est capable de transporter (jusqu'à 1 500 grains), 2) sa haute spécificité pour son palmier-hôte, 3) sa tolérance aux conditions hydriques humides et sèches, et 4) sa capacité de dispersion d'une centaine de mètre par jour (Syed et al. 1982; Mariau and Genty 1988). L'introduction fut une réussite car les populations d'*E. kamerunicus* se sont rapidement développées et étendues, conduisant à une hausse nette du taux de nouaison et de la quantité de fruits par régime et une augmentation du rendement en huile de près de 33 %, aboutissant à l'arrêt de la pollinisation assistée (Syed et al. 1982; Corrado 1985; Wood 1985).

En Colombie, les taux de nouaison dans les plantations d'*E. guineensis* étaient comparables à ceux observés dans les plantations d'Asie du sud-est avant l'introduction d'*E. kamerunicus* (Corrado 1985; Syed 1986). A partir de 1985, l'introduction de cet insecte dans les plantations sud-américaines d'*E. guineensis*, notamment en Amazonie équatorienne, a permis d'obtenir des taux de nouaison des régimes tout à fait satisfaisants (70 – 80 %) (Mariau

³ Taux de nouaison : ratio du nombre de fruits formés par rapport au total de fleurs initiales (Lecoustre and Reffye 1987)

and Genty 1988).

Le succès de l'introduction d'*E. kamerunicus* et la hausse du rendement en huile d'*E. guineensis* consécutive à l'introduction du pollinisateur sont attribués à la relation mutualiste obligatoire qui lie ces deux organismes, ainsi qu'à une duperie olfactive. Les *E. kamerunicus* accomplissent la majeure partie de leur cycle de vie sur les inflorescences mâles. Les adultes pondent sur les épillets et se nourrissent du tube des anthères et du pollen produit par les fleurs mâles fonctionnelles (Syed 1979). Les larves se développent assez rapidement (10 à 15 jours) en consommant les tissus floraux flétrissant. L'anthèse des inflorescences mâles dure en moyenne 5 jours (Corley and Tinker 2008), durée au bout de laquelle il n'y a plus de production de nouvelles fleurs - et donc de pollen. Cette pénurie de nourriture oblige les *E. kamerunicus* à quitter l'inflorescence sur laquelle ils se trouvent, pour s'envoler à la recherche d'autres inflorescences mâles en anthèse. Durant cette phase de prospection, les insectes détectent l'odeur anisée caractéristiques des inflorescences mâles en anthèse (Opute 1975; Syed 1979; Lajis et al. 1985; Hussein et al. 1989; Tandon et al. 2001). C'est à ce moment que survient la duperie olfactive qui aboutit à la pollinisation : les inflorescences femelles en anthèse émettent une odeur similaire à celle des inflorescences mâles et leurrent les insectes chargés en pollen (mais aussi les nouveaux émergents qui n'en possèdent pas). Ceux-ci réalisent ainsi le transfert de gamètes entre les deux sexes (Figure 4).

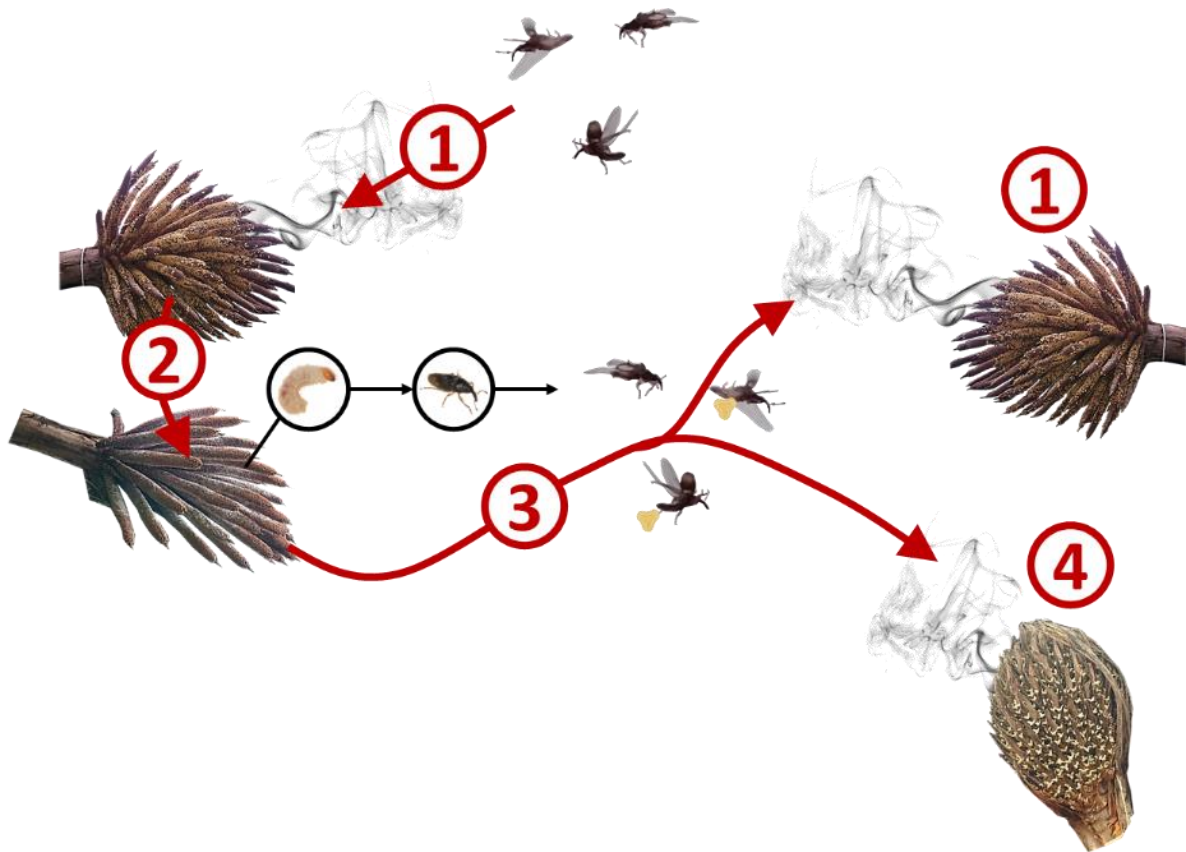


Figure 4 : Les étapes de pollinisation entomophile d'*E. guineensis*. 1) des individus *E. kamerunicus* sont attirés par les effluves émises par les inflorescences mâles en anthèse ; 2) Les insectes se nourrissent, pondent, et les larves se développent dans les inflorescences mâles ; 3) Les insectes chargés en pollen quittent l'inflorescence en fin d'anthèse (ou les adultes émergents sans pollen) et se déplacent à la recherche d'une nouvelle inflorescence mâle en anthèse ; 4) certains individus sont leurrés par l'effluve des inflorescences femelles et pollinisent leur plante-hôte.

Le problème de la pollinisation des palmiers hybrides

Un complexe de maladies mortelles de type « Pourriture du Cœur⁴ » (PC) a occasionné des pertes massives des *E. guineensis* dans les plantations sud-américaines à partir des années 60, provoquant jusqu'à la disparition quasiment complète de la plante dans certaines

⁴ Les symptômes généraux de la Pourriture du Cœur commencent par une chlorose qui touchent les jeunes palmiers, suivis de la pourriture des tissus foliaires qui s'étend jusqu'au cœur du palmier, le méristème, ce qui provoque en général la mort de la plante. La maladie se répand dans les plantations en quelques années en passant par différentes phases

plantations d'Amazonie équatorienne (De Franqueville 2003; Louise et al. 2007). Le vecteur n'a pour le moment pas été formellement identifié, et l'origine de la maladie reste assez mystérieuse (C. Louise, com. pers.). En revanche, dès les années 60, il a été observé que des palmiers hybrides interspécifiques étaient rarement affectés par la maladie, et ceux qui étaient touchés se rétablissaient spontanément (De Franqueville 2003). Ces hybrides interspécifiques sont le résultat de combinaisons entre individus originaires des populations sauvages de palmier sud-américain *E. oleifera*, et des individus *E. guineensis* déjà sélectionnés (Meunier et al. 1976; Le Guen et al. 1991; Corley and Tinker 2008).

La tolérance des palmiers hybrides à la PC est probablement transmise par le parent *E. oleifera*, qui ne semble pas être affecté par cette maladie. De plus, les palmiers hybrides *E. oleifera* x *E. guineensis* possèdent d'autres traits agronomiques hérités du parent *E. oleifera* particulièrement intéressants pour les palmiculteurs, notamment une résistance à d'autres maladies qui touchent l'*E. guineensis*, une faible croissance en hauteur (qui rallonge la durée d'exploitation), des rendements acceptables (quoique variables) et une huile riche en acides gras insaturés (Meunier and Boutin 1975; Meunier et al. 1976; Le Guen et al. 1991; Meunier 1991; Mozzon et al. 2013). Ces avantages ont conduit certains planteurs à remplacer les *E. guineensis* des plantations touchées par la maladie par des palmiers hybrides, notamment en Equateur, en Colombie et au Brésil.

Cependant, les palmiers hybrides interspécifiques produisent moins d'huile que les *E. guineensis* et présentent de graves problèmes de pollinisation naturelle. Le taux de nouaison des inflorescences femelles est mauvais, ce qui nécessite d'avoir recours à la pollinisation assistée pour rétablir un taux de nouaison correct. Par exemple, un essai réalisé sur des hybrides interspécifiques entre 2009 et 2011 dans la plantation de Palmeras del Ecuador (située en Amazonie équatorienne) a montré que l'absence de pollinisation assistée entraînait une diminution de 30 à 35 % du poids moyen en fruits des régimes, et une baisse de près de 40 % de la production totale de fruits. Ainsi la quantité de fruits récoltée oscillait entre 14.3 et 16.8 tonnes/hectare/an en condition de pollinisation assistée alors qu'elle était située entre 8.6 et 9.7 tonnes/hectares/an en condition de pollinisation naturelle (C. Louise, com. pers.). Pour les palmiculteurs, la pollinisation assistée est techniquement et économiquement contraignante (Durand-Gasselín et al. 2010) : dans le cas de la plantation de Palmeras del Ecuador, le coût en pollinisation assistée était de 440\$/ha/an en 2012 (L. Beaudoin-Ollivier, com. pers.), ce qui à l'échelle des hybrides en production dans la plantation représenterai un

coût de près de 2 millions de dollars par an. Le coût élevé de la pollinisation assistée est un facteur qui limite les petites exploitations familiales à se doter de matériel de palmier hybride (Durand-Gasselin et al. 2010). Plusieurs hypothèses ont été avancées afin d'expliquer la mauvaise pollinisation naturelle des hybrides : 1) des palmiers au sex-ratio hautement féminins qui produisent peu d'inflorescences mâles, 2) le pollen des rares inflorescences mâles produit en faible quantité et peu viable, 3) la faible attraction des insectes pollinisateurs (De Franqueville 2003; Durand-Gasselin et al. 2010).

Problématique de la thèse

Cette thèse part de l'hypothèse que la pollinisation des palmiers hybrides interspécifiques est déficiente, parce que les insectes qui pollinisent habituellement *E. guineensis* et *E. oleifera* ne sont pas ou peu attirés par les inflorescences de ces hybrides. L'écologie chimique des inflorescences des espèces de palmier parentales peuvent agir sur la reconnaissance de la plante-hôte et sur l'attraction des insectes pollinisateurs. L'analyse de l'interaction entre chacune des deux espèces de palmier, *E. guineensis*, *E. oleifera* et de leurs insectes pollinisateurs respectifs, peut permettre de mieux comprendre la spécialisation vis-à-vis du palmier hôte. Transposer les mécanismes en jeu intervenant chez les espèces parentales aux inflorescences des palmiers hybrides peut permettre de proposer des hypothèses sur la faible attractivité de ces palmiers. A terme, le but est d'apporter les connaissances et les éléments de compréhension nécessaires afin de réduire les coûts liés à la pollinisation assistée des hybrides *E. guineensis* x *E. oleifera*, et, par conséquent, d'améliorer leur productivité.

L'étude des paramètres de visite des insectes sur les inflorescences peut permettre d'appréhender la spécificité vis-à-vis des espèces de palmiers-hôtes et leurs hybrides interspécifiques. L'étude des traits floraux liés à l'attraction des insectes (l'identification de la composition chimique des odeurs émises par les inflorescences, l'étude de l'émission de chaleur florale et du fonctionnement de la duperie olfactive), associée à des tests de comportement, peut permettre d'expliquer les modalités de l'attraction. L'étude de la variabilité chimique des odeurs entre différents matériels hybrides en production peut permettre d'expliquer la variabilité de l'attraction. Cette approche mêlant entomologie et

écologie chimique doit contribuer à apporter des connaissances sur le système de pollinisation du palmier à huile dans le contexte sud-américain.

L'originalité de la thèse réside dans l'étude d'une interaction obligatoire au sein d'un agrosystème où la pression de sélection qui agit sur la relation mutualiste est dépendante du rendement. Un deuxième aspect qui rend cette étude originale est la description d'un système de pollinisation par duperie. L'intérêt de l'étude repose sur un modèle constitué d'une plante d'intérêt économique considérable étudiée sous des aspects à la fois théoriques et appliqués.

Le rôle des Composés Organiques Volatils (COVs) dans l'attraction des pollinisateurs

La fonction des traits floraux affichés par une plante est de favoriser la rencontre avec les pollinisateurs. En plus de permettre à la plante de signaler sa présence et son identité, les traits floraux peuvent informer de l'existence d'une récompense ou d'un site sur lequel se reproduire, et inciter les pollinisateurs à réaliser une visite. Un pollinisateur attiré avec succès sera d'autant plus susceptible d'être attiré de nouveau par une autre plante conspécifique et de transférer du pollen. Parmi les traits floraux, les signaux olfactifs ont un rôle essentiel puisqu'ils permettent la détection et donnent des informations sur la plante-hôte à longue distance (Raguso 2008), et peuvent parfois agir en synergie avec les signaux visuels (forme et couleur) (Schiestl 2015). Les signaux olfactifs sont faits de composés organiques volatils (COVs) produits à partir du métabolisme secondaire. Les COVs sont des composés carbonés de faible poids moléculaire, appartenant à plusieurs classes chimiques, incluant des composés aromatiques, des terpènes, des dérivés d'acides gras, et des composés azotés ou soufrés (Dudareva and Pichersky 2000; Dudareva 2004; Knudsen et al. 2006). La grande diversité des COVs (Dudareva and Pichersky 2006; Knudsen et al. 2006) et la multitude de combinaisons quantitatives et qualitatives possibles font des odeurs florales un trait hautement variable à travers les espèces (Raguso 2008), et même entre les individus au sein de la même espèce (Dufaÿ et al. 2004; Suinyuy et al. 2015).

Des variations de la composition des COVs dans les odeurs florales sont souvent observées. Ces variations dépendant du contexte ou de l'échelle à laquelle elles sont considérées. Au niveau de l'individu, la composition des odeurs florales peut différer entre les deux sexes, soit pour permettre au pollinisateur de faire la distinction entre les fonctions

mâles et femelles et favoriser le transfert de pollen (Okamoto et al. 2013), ou soit reflète le phénomène de sélection sexuelle, c'est-à-dire la présence d'un dimorphisme dans l'apparence olfactive des fleurs mâles et femelles qui sont soumises à des pressions de sélection différentes (Waelti et al. 2009). Les odeurs florales peuvent aussi subir des changements drastiques au cours de la floraison : des COVs spécifiques à la phase de réceptivité peuvent favoriser l'attraction des pollinisateurs, alors que la diminution de ces COVs attractifs et/ou l'augmentation de COVs répulsifs peut empêcher les visites en phase de post-réceptivité (Schiestl and Ayasse 2001) ou induire le départ forcé des pollinisateurs pour qu'ils visitent d'autres fleurs et favorisent le flux de pollen (Terry et al. 2007). A plus large échelle, la composition florale des COVs d'une espèce de plante peut varier d'une population à l'autre (on parle d'écotypes quand des populations diffèrent pour certains traits, et de chémotypes lorsque ces traits concernent les composés issus du métabolisme secondaire). Par exemple, dans l'aire de distribution sud-africaine du *Cycas Encephalartos villosus*, les populations se distinguent par un profil chimique floral dominé au nord par un dérivé d'acide gras, et au sud par un composé azoté. En parallèle, le principal pollinisateur de cette plante, le charançon *Porthetes sp.*, perçoit différemment les odeurs de sa plante-hôte en fonction des localités nord et sud, reflétant un processus de coévolution qui pourrait conduire à la divergence des populations (Suinyuy et al. 2015).

Enfin, la spécificité des odeurs florales peut permettre de maintenir l'isolation reproductive entre espèces apparentées lorsqu'elles coexistent en sympatrie, par la mise en place de barrières prézygotiques qui limite l'hybridation des deux espèces. Mais l'isolation reproductive n'est pas toujours parfaite, car des formes hybrides se rencontrent dans les zones où la distribution de certaines plantes se recouvrent (Stöckl et al. 2008; Vereecken et al. 2010; Chartier et al. 2016; Svensson et al. 2016). Cela signifie que les barrières prézygotiques (reflétées par une chimie florale qui distinguent les deux espèces) sont poreuses et que le transfert de pollen se produit. L'hybridation peut aboutir à la création de nouvelles formes dans les traits floraux (Orrians 2000; Vereecken et al. 2010; Chartier et al. 2016; Marques et al. 2016). Le potentiel reproducteur des hybrides pourrait ne pas être optimal si un changement dans les odeurs florales modifiait leur apparence vis-à-vis des pollinisateurs visitant habituellement les espèces parentales. Si les hybrides exhibent un profil d'odeur floral intermédiaire à ceux des deux parents, il peut résulter une attraction combinée des pollinisateurs spécifiques aux parents (Chartier et al. 2016). En revanche, si l'hybridation mène

à un profil chimique différent, de nouveaux assemblages de pollinisateurs peuvent apparaître sur les hybrides (Vereecken et al. 2010; Marques et al. 2016), ou conduire à la réduction ou l'absence d'attraction qui sera néfaste à la pollinisation (Barrett and Harder 1996).

Ce bref aperçu du rôle des COVs dans la communication plante-pollinisateur souligne la complexité de ces traits floraux et leur importance cruciale dans la rencontre des partenaires mutualistes.

Le « nursery pollination mutualism » : interaction réciproque et jeu de dupe.

Dans certaines des interactions plantes pollinisateurs les plus spécialisées, les odeurs florales apparaissent jouer un rôle clé dans le succès de la pollinisation et le maintien du mutualisme.

Le « mutualisme à pollinisation par nurserie » (nursery pollination mutualism) est une interaction obligatoire⁵, où chaque partenaire nécessite la présence de l'autre pour se reproduire. Dans ce système, les pollinisateurs déposent leurs œufs sur les organes reproducteurs de la plante et les larves se développent en consommant les tissus floraux ou les ovules (Sakai 2002). En réponse, la plante-hôte doit inciter les pollinisateurs à visiter le sexe femelle pour réaliser le transfert de pollen, mais sans leur fournir la récompense qu'ils convoitent. Le système se présente donc sous la forme de deux interactions antagonistes, qui se révèlent finalement mutuellement bénéfiques puisque elles aboutissent au succès de la reproduction de chaque partenaire (Dufaÿ and Anstett 2003). On peut considérer qu'un tel système repose sur une exploitation réciproque, ce qui rend la barrière entre parasitisme et mutualisme assez floue (Bronstein 2001; Dufaÿ and Anstett 2003). Le mutualisme à pollinisation par nurserie a émergé plusieurs fois au cours de l'histoire évolutive des plantes et des insectes, puisqu'il concerne des organismes non apparentés phylogénétiquement, par exemple les *Yucca* (Agavaceae) et leurs lépidoptères pollinisateurs *Tegeticula* (Pellmyr et al. 1996; Svensson et al. 2005), les *Ficus* (Moraceae) et leurs hyménoptères pollinisateurs Agaonidae (Anstett et al. 1997; Conchou 2013), les *Cycas* (Cycadaceae) pollinisés par des Curculionidae (Suinyuy et al. 2013) ou des Thysanoptera (Terry et al. 2004), le palmier

⁵ Interaction obligatoire : se dit d'une interaction dans laquelle chaque partenaire nécessite une ressource ou l'action fournie par l'autre partenaire pour accomplir au moins une partie de son cycle de vie (Junker and Bluthgen 2010)

Chamaerops humilis pollinisé par le Curculionidae *Derelomus chamaeropsis* (Dufaÿ et al. 2004) ou les couples *Glochidion* (Phyllantaceae) – *Epicephala* (Lepidoptera : Gracillariidae) (Okamoto et al. 2013) ou *Silene latifolia* (Caryophyllaceae) – *Hadena bicruris* (Lepidoptera : Noctuidae) (Dötterl et al. 2005).

La médiation chimique apparaît comme ayant un rôle central dans le mutualisme à pollinisation par nurserie. Comme ces relations sont très spécialisées, on peut s'attendre à ce qu'elles se soient développées au cours d'un processus de coévolution, où le message chimique a évolué pour être spécifique (Hossaert-McKey et al. 2010; Suinyuy et al. 2015). Comme la plante et l'insecte sont interdépendants et que le succès de la reproduction de l'un est lié à la rencontre réussie avec l'autre, la communication entre les partenaires doit être hautement performante pour favoriser la rencontre. L'efficacité de la communication est généralement assurée par l'émission par la plante d'un signal singulier et exclusif (Hossaert-McKey et al. 2010) se présentant soit sous la forme d'une combinaison de COVs tout à fait communs mais en proportion très précise (Schiestl et al. 1999; Svensson et al. 2010), ou soit sous la forme d'un composé inhabituel, rarement rencontré dans les odeurs de fleurs (Chen et al. 2009; Maia et al. 2012; Schäffler et al. 2015), et spécifiquement perçu par le pollinisateur spécialisé.

Puisque les organes reproducteurs qui récompensent et ceux qui leurrent sont généralement séparés (dioécie), la question est de savoir pourquoi les pollinisateurs se laissent manipuler par un sexe alors qu'ils n'y trouveront pas de site sur lequel pondre. La réponse communément admise est que la plante empêche son pollinisateur de choisir, en prévenant sa capacité à discriminer entre les deux sexes. L'hypothèse d'un mimétisme chimique intersexuel est souvent avancée (Dufaÿ and Anstett 2003; Soler et al. 2012). Le pollinisateur associe le signal olfactif spécifique émis par son hôte à la promesse d'y trouver une ressource. Le sexe tricheur imite le signal du sexe honnête, signalant ainsi la présence d'une ressource qui n'existe pas. Pour être efficace, la duperie olfactive implique aussi que la phénologie des partenaires soit parfaitement synchronisée : par exemple, chez plusieurs espèces de figuier, le mimétisme chimique entre les sexes mâles et femelles se produit quand la phénologie de la floraison est synchrone (Hossaert-McKey et al. 2016). Comme les fleurs des deux sexes sont présentés simultanément aux pollinisateurs, la sélection favorisera un mimétisme chimique étroit. A l'opposé, la sélection pour la ressemblance sera relâchée chez les espèces dont la floraison est asynchrone, car le pollinisateur ne sera pas confronté à un

choix, mais la ressemblance entre mâles et femelles sera suffisante pour permettre le mouvement du pollinisateur entre les sexes (Ashman 2009; Soler et al. 2012).

Le mutualisme à pollinisation par nurserie associé à un mimétisme chimique intersexuel semble être assez commun dans certains groupes de plantes, notamment chez les palmiers.

La pollinisation des palmiers : des interactions spécialisées avec des insectes

Les palmiers (Arecaceae) constituent un groupe de plantes très diversifiées, avec près de 2 600 espèces décrites (Baker and Dransfield 2016), dont la distribution est principalement tropicale (Henderson 1986). L'expression sexuelle à l'intérieur de ce groupe est assez variée puisqu'on rencontre des palmiers hermaphrodites, dioïques et monoïques, et dans certains cas de la polygamie (combinaison de fleurs unisexuées et bisexuées chez des individus dioïques ou monoïques) (Nadot et al. 2016). La monoécie domine puisqu'elle représente un peu plus de 50 % des espèces de palmiers. Les fleurs sont généralement rassemblées en inflorescences et la morphologie des inflorescences mâles et femelles diffère souvent (Barfod et al. 2011). Les palmiers sont principalement pollinisés par des insectes, parmi lesquels les coléoptères dominent, suivis par les abeilles et les mouches (Henderson 1986; Barfod et al. 2011). Parmi les coléoptères, les charançons (Curculionidae), et plus particulièrement le tribu *Derelomini*, représentent le groupe d'insectes le plus fréquemment rencontré sur les inflorescences de nombreuses espèces de palmiers (Syed 1979; Henderson 1986; Ervik et al. 1999; Dufaÿ et al. 2003; Franz and Valente 2006; Barfod et al. 2011). Ces insectes (exceptés les Scarabeidae) sont très dépendants des organes reproducteurs mâles des palmiers, car ils s'y nourrissent, s'y reproduisent et y pondent, et sont attirés par les inflorescences femelles mais ne font que s'y déplacer. Cette caractéristique est un aspect important de l'écologie de la pollinisation des palmiers. (Listabarth 1994, 1996; Bernal and Ervik 1996; Ervik et al. 1999; Barfod et al. 2011).

Relativement au nombre d'espèces de palmier existantes, les relations avec leurs pollinisateurs ont été étudiées chez peu d'entre elles. Les odeurs florales ont été caractérisées pour une trentaine d'espèces seulement, incluant 5 espèces sud-asiatiques : 4 du genre *Licuala* (Meekijjaroenroj et al. 2007), et *Nypa fruticans* unique espèce de la sous-famille

Nypoideae (Azuma et al. 2002), 1 espèce africaine : *E. guineensis* (Opote 1975; Lajis et al. 1985; Hussein et al. 1989; Misztal et al. 2010; Gomes 2011; Jardine et al. 2016), 1 espèce du pourtour méditerranéen : *Chamaerops humilis* (Dufaÿ et al. 2003), et le reste étant des palmiers sud-américains (Ervik et al. 1999; Knudsen et al. 2001; Knudsen 2002). Les odeurs florales des palmiers étudiés se révèlent être généralement dominées par un ou quelques composés majoritaires appartenant à plusieurs classes chimiques, incluant des composés aromatiques, des terpènes, des dérivés d'acide gras. Pour deux espèces (*Aphandra natalia* et *Bactris gasipaes*), le même composé azoté 2-methoxy-3-sec-butylpyrazine domine le bouquet floral. Knudsen et al. (2001) n'ont pas trouvé de lien de parenté étroit entre les palmiers pollinisés par le même groupe de pollinisateur ou émettant un composé dominant de même classe chimique. Ervik et al. (1999) ont mis en évidence une grande similarité chimique entre les inflorescences mâles et femelles chez les espèces appartenant au tribu Phytelephea. Ils ont aussi mesuré la production de chaleur florale qui doit probablement résulter d'un phénomène de thermogénèse, phénomène qui par ailleurs semble être tout à fait commun chez les palmiers (Ervik and Barfod 1999).

Les insectes pollinisateurs et les odeurs florales des deux espèces de palmier à huile en Amérique du sud.

En Afrique, il existe plusieurs espèces d'insectes pollinisateurs. Parmi les plus notables : *E. kamerunicus*, *Elaeidobius subvittatus* F., *Elaeidobius plagiatus* F., *Prosoestus minor* Marshall (Coleoptera : Curculionidae) et *Microporum* sp. (Coleoptera : Nitidulidae) (Syed 1979; Tuo et al. 2011; Hala et al. 2012; Kouakou et al. 2014). Nous ne rentrerons pas dans des détails sur ces insectes pour se concentrer sur les insectes pollinisateurs en Amérique du sud.

Dans les plantations sud-américaines de palmier à huile, avant l'introduction d'*E. kamerunicus* (Figure 5), la pollinisation d'*E. guineensis* était assurée par le charançon *E. subvittatus*⁶ Faust et par *Mystrops costaricensis* Gillogly (Coleoptera: Nitidulidae). La présence de ces deux insectes en Amérique du sud a été attribuée aux populations endémiques d'*E.*

⁶ A priori le même *E. subvittatus* que l'espèce africaine, qui aurait colonisé le continent sud-américain par l'état de Bahia (Brésil) suite une introduction d'origine humaine (probablement des esclaves africains) (Mariau and Genty 1988)

oleifera (Wood 1968). D'après Mariau and Genty (1988), les deux insectes se distribuent en Amérique centrale et sur la côte Pacifique (Colombie, Equateur et Pérou) de l'Amérique du sud, mais ils n'ont jamais été mentionnés dans la zone amazonienne. Genty et al. (1986) ont estimé que la pollinisation effectuée sur *E. guineensis* par ces insectes était satisfaisante sur le continent sud-américain. Cependant ils ont attribué les mauvais taux de nouaison constatés dans certaines régions, notamment en Colombie, à un effet dépressif des précipitations sur le niveau de population des insectes pollinisateurs. Bulgarelli-Mora et al. (2002) et Labarca and Narváez (2009) ont mis en évidence une diminution des populations d'*E. kamerunicus* durant les périodes pluvieuses de l'année et une hausse durant les périodes de sécheresse. Les conditions hydriques agiraient en fait sur la quantité d'inflorescences mâles disponibles, sur lesquelles se développent les insectes (Williams and Hsu 1970). En effet les palmiers favoriseraient la production d'inflorescences mâles lorsqu'ils sont en condition de stress (par exemple un stress hydrique en période de sécheresse) car elles seraient énergétiquement moins coûteuses à produire pour la plante (Kevan et al. 1986). Le niveau de population des insectes pollinisateurs est donc très dépendant de la quantité des inflorescences mâles dans les plantations.

L'entomofaune d'*E. oleifera* est très mal connue. Beserra et Couturier (2003), au cours d'une mission à Taisha dans la province de Pastaza, Equateur, ont identifié sur les inflorescences mâles et femelles de ce palmier plusieurs charançons Derelomini inconnus jusqu'alors. Ils ont introduit deux espèces qu'ils considéraient comme pollinisateurs, *Grasidius hybridus* (Figure 5) et *Couturierus sp.* dans la plantation Equatorienne de Shushufindi (Palmeras Del Ecuador). Cette introduction visait à évaluer si ces insectes pouvaient subvenir aux besoins en pollinisation des hybrides interspécifiques *E. guineensis* x *E. oleifera* et se substituer à la pollinisation manuelle. L'introduction n'a fonctionné que pour *Grasidius hybridus* (Couturier 2005) mais elle n'a pas permis de supplanter la pollinisation manuelle. Seuls *E. guineensis* et son hybride constituaient le matériel planté à PDE avant 2005, date à laquelle furent plantés les premiers *E. oleifera*⁷. Cela signifie que *Grasidius hybridus* a probablement réussi à se développer sur le type de matériel hybride, qui partage des caractères morphologiques avec *E. oleifera* (com. pers. C. Louise). Cependant, la spécificité de l'insecte pour son palmier-hôte *E. oleifera* comme son rôle dans la pollinisation de sa plante

⁷ Bien qu'une centaine d'individus ait été planté dès 2002 pour remplir localement un bas-fond.

hôte et des hybrides interspécifiques n'est pas connu.

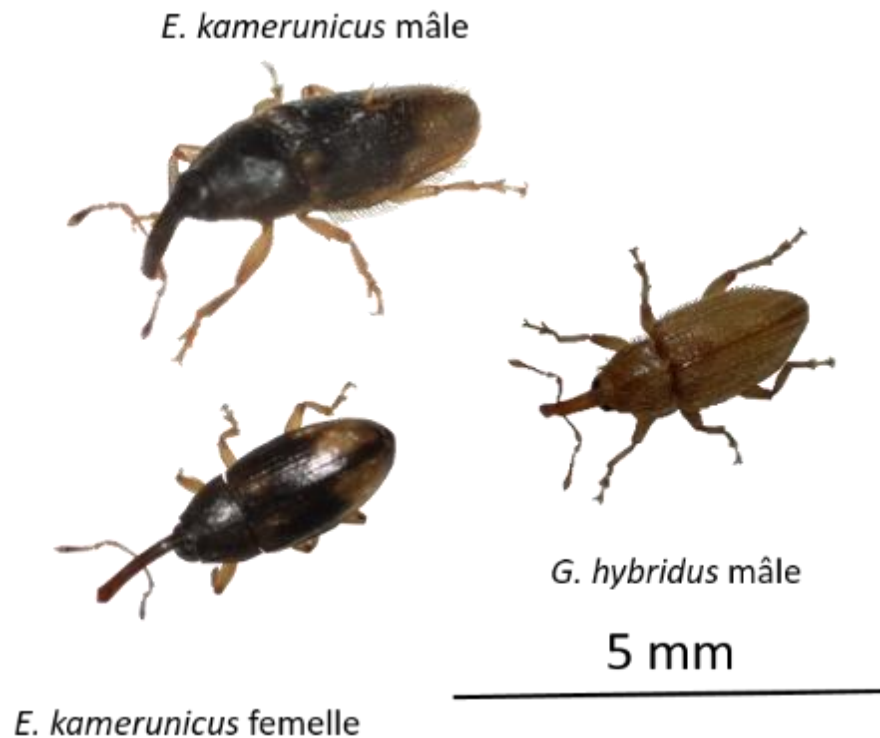


Figure 5 : Insectes pollinisateurs d'*E. guineensis* : *E. kamerunicus* ; et d'*E. oleifera* : *G. hybridus* dans la plantation de PDE

Très peu de données existent quant à l'attractivité des insectes pollinisateurs sur les inflorescences mâles et femelles des palmiers hybrides. Des observations réalisées dans la plantation de PDE-Shushufindi en Equateur ont mis en évidence une grande disparité du nombre d'individus d'*E. kamerunicus* et de *G. hybridus* visitant les inflorescences de ces palmiers (Godoy et Morales, 2012, dans un rapport interne à PDE). Globalement, les observations révèlent que *Grasidius hybridus* est attiré en plus grand nombre par les inflorescences femelles hybrides qu'*E. kamerunicus* (jusqu'à 1 500 individus observés, contre près de 170 pour *E. kamerunicus*). Cependant ils n'ont pas mentionné si des plantations d'*E. oleifera* ou d'*E. guineensis* agissant comme source d'insectes étaient présentes à proximité, ce qui pourraient expliquer les effectifs d'insectes observées. Ils ont cependant noté une inégalité dans l'attraction au sein même de certains croisements hybrides, laissant présager l'existence d'une variabilité intraspécifique de l'attraction. Au Brésil, Moura et al. (2013) ont montré qu'*E. subvittatus* et qu'*E. kamerunicus* sont plus attirés par les odeurs émises par les inflorescences mâles et femelles d'*E. guineensis* que celles émises par les hybrides.

L'attraction plus faible des hybrides pour les insectes pollinisateurs pourraient être la conséquence d'une composition des COVs différente⁸, qui altérerait la spécificité de la relation entre l'insecte et sa plante (Moura *et al.*, 2013).

D'abord Opute (1975), puis Lajis *et al.* (1985), ont isolé une substance chimique très majoritaire durant la phase d'anthèse d'*E. guineensis*, l'1-methoxy-4-(2-propenyl) benzene, ou estragole, responsable de l'odeur anisée détectable, et qui est produite par les fleurs des deux sexes. Cependant on ne sait pas si ce composé agit seul dans l'attraction, ou si un mélange plus complexe de COVs est nécessaire (Frérot *et al.*, non publ.). Ripoll (2009) et Petit (2010) ont confirmé que l'estragole était majoritaire, et ont mis en évidence que les fleurs femelles dégageaient plus d'estragole saturé et d'isomère anéthole-estragole que les fleurs mâles. D'autres auteurs ont aussi identifié l'estragole comme le principal composé émis par les inflorescences du palmier à huile africain (Misztal *et al.* 2010; Gomes 2011; Jardine *et al.* 2016), mais n'ont jamais étudié si d'autres composés sont émis. En condition naturelle, les inflorescences mâles sont généralement plus attractives que les femelles, car plus d'insectes y sont capturés (Syed, 1979). Cependant Petit (2012) a observé au moyen de tests de comportements olfactifs une attraction plus élevée des insectes pour les fleurs femelles en anthèse. A notre connaissance, il n'existe pas de données concernant les variations des COVs émis tout au long de la durée de l'anthèse des inflorescences des deux sexes. Les fleurs femelles pourraient devenir plus attractives que les mâles lorsqu'elles atteignent leur maximum de réceptivité au pollen, comme suggéré par Genty *et al.*, 1986. Ces mêmes auteurs ont aussi mentionné l'existence d'émission de chaleur chez l'inflorescence femelle d'*E. guineensis* soit une augmentation de 8 à 10°C supérieure à la température ambiante, durant la période d'activité des insectes. Les caractéristiques olfactives et physiologiques (= les traits floraux) des inflorescences femelles pourraient donc être des éléments clés de la duperie olfactive.

Stratégie de recherche

La thèse s'est déroulée en partie en Equateur (2 séjours de 6 mois et un troisième de 4 mois),

⁸ La composition des COVs peut être différente à cause d'une variation qualitative ou quantitative des composés, ce qui fait la spécificité de la signature chimique d'une odeur

et le reste du temps en France. Le travail de terrain en Equateur est réalisé en collaboration avec la société Danec qui gère plusieurs plantations de palmier à huile dans ce pays, dont la plantation PDE (Palmeras Del Ecuador) où se déroulent les investigations. Afin de répondre aux objectifs de la thèse, la stratégie de recherche choisie a consisté à orienter le travail vers trois approches complémentaires.

La première approche visait à identifier la spécificité des insectes pollinisateurs pour les différents types de palmiers cultivés. Des dispositifs de piégeage à interception ont permis de capturer les insectes visitant les inflorescences des palmiers en anthèse et de quantifier l'attraction des inflorescences en fonction du sexe, de l'évolution de l'anthèse et du type de matériel végétal (*Elaeis guineensis*, *E. oleifera* et hybrides interspécifiques *E. guineensis* x *E. oleifera*). En modulant la fréquence de vérification des pièges, il a été également possible de préciser le cycle journalier de visite des insectes et la dynamique de visite au cours de la floraison. Enfin des méthodes de marquage et de lâcher ont été utilisées pour étudier le comportement et les capacités de dispersion des pollinisateurs en plantation.

La seconde approche reposait sur l'étude des traits floraux potentiellement responsables de l'attraction des pollinisateurs : l'émission des odeurs et la production de température florale. La technique des fibres SPME (Solid Phase Micro-Extraction) couplée à du headspace statique a été utilisée sur le terrain afin d'échantillonner les composés organiques volatils (COVs) émis par les fleurs des différents types de matériel végétal disponibles dans la plantation de PDE. Les échantillonnages ont été réalisés à différents stades de la floraison, incluant le moment du pic d'activité des insectes. Les COVs capturés par les fibres SPME ont été analysés à l'INRA de Versailles au sein du laboratoire d'écologie chimique de l'UMR IEES. Un appareil de GC-MS (Gas Chromatography – Mass Spectrometry) a servi à la séparation et l'identification des différents composés chimiques qui composent l'odeur florale des individus échantillonnés. En comparant les chromatogrammes⁹ de chaque individu échantillonné, on peut caractériser la variabilité interspécifique et intraspécifique des odeurs de fleurs entre *E. guineensis*, *E. oleifera* et leurs hybrides, ou entre différents stades

⁹ Un chromatogramme est une représentation des composés chimiques constituant un mélange. Il permet d'apprécier un mélange en trois dimensions : 1) une dimension de temps, où les différents composés sont séparés en fonction de leur poids moléculaire et leur affinité pour la fibre en polymère dans laquelle ils progressent après leur injection dans l'appareil GC ; 2) une dimension d'abondance, évaluée en fonction de l'aire du pic correspondant à chaque composé ; 3) une dimension qui représente le spectre, c'est-à-dire la signature chimique de chaque composé

physiologiques de l'inflorescence. La production de chaleur a été mesurée au moyen de « Thermoboutons » déposés dans les inflorescences, et comparée entre les différentes phases de la floraison pour les différents types de palmiers.

Enfin **la troisième approche** visait à identifier les composés potentiellement actifs dans l'attraction des insectes, en testant l'aspect physiologique de l'attraction et l'aspect comportemental. La réponse physiologique des insectes aux COVs identifiés dans les odeurs florales a été mesurée par la méthode d'électroantennographie, qui permet d'évaluer la présence et la sensibilité des récepteurs antennaires des insectes à ces composés. La réponse comportementale à différents composés, a été testée directement sur le terrain, en y associant soit un effet dose, soit une élévation de température.

Eléments de matériels et méthodes

Le site d'étude : La plantation Palmeras del Ecuador (PDE)

La plantation Palmeras del Ecuador est localisée au nord-ouest de l'Equateur, dans la province de Sucumbios, à proximité de la ville de Shushufindi. Cette zone est située dans la partie amazonienne de l'Equateur, et offre des conditions pédoclimatiques idéales à la culture du palmier à huile (altitude de 260 m, température moyenne de 30°C et précipitations moyennes de 3 300 mm) (Torres Alarcón 2013). La plantation a été créée en 1976, essentiellement avec des *E. guineensis*. Après un épisode de pourriture du cœur particulièrement aiguë qui a sévi de 1994 à 1999, les *E. guineensis* dans les parcelles détruites ont depuis été remplacés par du matériel hybride. En 2012, parmi les 8 600 hectares cultivés de la plantation, 65.8 % étaient plantés avec différents types de croisements hybrides interspécifiques, 33.6 % avec des *E. guineensis* (la plupart issue d'une nouvelle génération censée être tolérante à la PC), et moins de 1 % avec des *E. oleifera* destinés à remplir les bas-fonds (Torres Alarcón 2013).

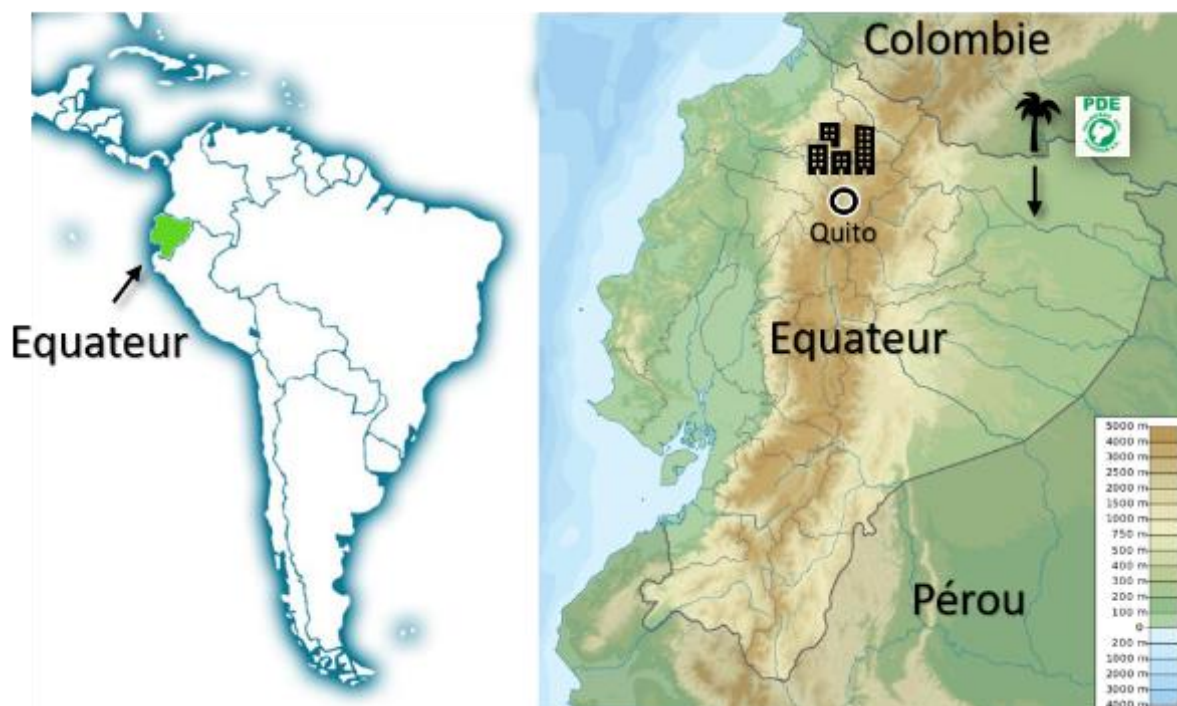


Figure 6 : Localisation de la plantation Palmeras del Ecuador

Les différents croisements hybrides interspécifiques sont des générations F1, élaborés en combinant des individus parents des deux espèces *E. guineensis* et *E. oleifera* de différentes origines. Actuellement, les meilleurs hybrides, du point de vue productivité, sont réalisés à partir d'individus maternels d'*E. oleifera* originaire de Coari (Brésil) croisés avec des individus paternels originaires de La Mé (Côte d'Ivoire).

E. oleifera se rencontrent sous la forme de petites populations d'une dizaine à une centaine d'individus, généralement associées à des terrains inondables, comme des zones marécageuses, des bas-fonds et à proximité de petites rivières (Meunier 1975). La biologie de cette espèce a été très peu étudiée. Le système de pollinisation ressemble en tout point de vue à celui d'*E. guineensis*, avec des individus monoïques, mais les vecteurs sont peu connus. Contrairement à l'*E. guineensis* dont les inflorescences mâles produisent un pollen sec, susceptible d'être véhiculé à faible distance par le vent, le pollen d'*E. oleifera* semble assez collant (tout du moins celui des individus que j'ai eu l'opportunité d'étudier durant cette thèse). Cette espèce est donc probablement exclusivement zoophile.

Les différentes populations d'*E. oleifera* exhibent une variabilité génétique importante (Barcelos et al. 2002). Dans la plantation PDE, les accessions (= les individus plantés qui proviennent d'une graine obtenue à partir d'un individu d'une population naturelle) d'*E.*

oleifera proviennent soit de Taisha (province Morona Santiago, Amazonie Equatorienne), soit de Coari (état de l'Amazonas, Amazonie brésilienne). A la différence des *E. oleifera* Taisha, directement plantés à partir de graines collectées sur les individus natifs de Taisha, les *E. oleifera* Coari plantés proviennent de graines résultant d'une succession de 10 fécondations artificielles, réalisés à partir de graines d'un ou deux régimes collectés dans la population d'*E. oleifera* de Coari (C. Louise, com. pers.). Comme les différentes populations d'*E. oleifera* investiguées présentent des variations morphologiques de certains caractères, comme la croissance, la teneur en huile, la taille des feuilles par exemple, on parle d'écotypes.

La méthode de piégeage des insectes

Le piégeage à interception (sticky trap) a été la principale méthode de piégeage utilisée, adaptée de [Beaudoin-Ollivier et al. \(2017\)](#) (Figure 7). Elle consiste en une plaque de Plexiglas transparente (L : 180 mm, l : 145 mm, H : 5 mm, 0.026 m²). A chaque extrémité de la plaque, un trou permet l'insertion d'un fil fixé aux palmes, et maintient le piège au-dessus de l'inflorescence. Chaque plaque est couverte de chaque côté par une feuille transparente collante tenue au moyen de pinces. Une proportion des insectes volants qui s'approchent de l'inflorescence et qui entrent en contact avec le piège se retrouvent ainsi collés. Il ne reste plus qu'à récupérer la feuille collante et d'identifier et compter les insectes capturés. Ce dispositif permet de maintenir le piège sans changer sa position, tout en permettant le remplacement des feuilles collantes.

La seconde méthode de piégeage est une méthode active, faite d'une cage cubique (= une armature métallique recouverte d'une moustiquaire blanche) (L : 500 mm, l : 300 mm, H : 250 mm). Cette cage est ouverte à une extrémité, et peut être placée sur une inflorescence (Figure 7). A la différence de la méthode de piégeage à interception, tous les visiteurs volants peuvent être capturés, en les aspirant au moyen d'un aspirateur à bouche. Elle est en revanche plus contraignante à mettre en place, et est chronophage.



Figure 7 : Les deux méthodes de piégeage utilisées. A – D : piégeage à interception (sticky trap) au-dessus d'inflorescences femelles de palmiers hybrides Coari x La Mé. (A - B) et mâles d'*E. guineensis* (C – D) E : Piégeage « cage » recouvrant une inflorescence mâle d'*E. guineensis*. Les deux expérimentateurs capturent les insectes avec un aspirateur à bouche.

La méthode d'échantillonnage des odeurs

Avant d'analyser les COVs impliqués dans la communication chimique de la plante, une première étape préliminaire passe par l'extraction du message chimique. Le palmier à huile est une plante pérenne de grande taille, l'étude des odeurs florales est donc restreinte au champ. Nous avons donc utilisé la méthode du headspace statique associée avec de la SPME (Solid Phase Micro-Extraction) pour réaliser les collectes d'odeur directement sur le terrain.

La méthode du headspace statique est un moyen non-destructif qui permet de concentrer les COVs émis par un organe précis (Frérot et al. 1997; Leppik and Frérot 2012; Cornu et al. 2015). Elle consiste en l'ensachement de l'inflorescence dans un sac fait d'une substance inerte, généralement un sac de cuisson en Teflon, qui permet la concentration des composés volatils (Tholl et al. 2006). Une fibre SPME est insérée à l'intérieur du headspace quelques minutes après qu'un équilibre soit atteint et laissée en place pendant 2 heures. La fibre SPME est faite d'une surface absorbante inerte fixée à une seringue qui capte des molécules volatiles présentes à des concentrations très faibles. Une fois la collecte des composés volatils accomplie, la fibre est conservée au congélateur jusqu'à l'analyse à l'INRA de Versailles.

L'étape analytique passe par une première phase de chromatographie en phase gazeuse (GC) qui sert à séparer les composés du mélange à analyser, puis une phase de spectrométrie de masse (MS) qui permet de caractériser chaque composé une fois qu'ils sont séparés. On commence par injecter la fibre à analyser dans le GC : Les composés volatils sont désorbés¹⁰ et passent dans un injecteur. Sous l'effet d'une montée en température progressive, déterminée selon un programme prédéfini, les composés sont volatilisés et entraînés dans une colonne par un gaz vecteur (=Hélium). Les composés chimiques parcourent la colonne et se séparent les uns des autres en fonction de leur affinité pour la phase stationnaire qui compose de la colonne. En sortie de colonne, les composés sont envoyés dans le spectromètre de masse et ionisés par un bombardement électronique (70 eV). Les ions de charge positive issus de l'ionisation sont ensuite séparés par un champ magnétique, récoltés par un détecteur qui convertit le signal électrique obtenu en un signal analysable, sous la forme d'un spectre propre à chaque composé. Les composés sont identifiés en comparant leur spectre à ceux déjà référencés dans les bases de données dédiées.

¹⁰ Désorption : les molécules chimiques absorbées sur la fibre sont libérées sous l'action de la température.



Figure 8 : méthode du head space statique pour l'échantillonnage des odeurs florales d'une inflorescences femelles d'*E. oleifera* Coari en anthèse (A) et d'une inflorescence mâle d'*E. guineensis* en pré-anthèse ; C : photos d'une fibres SPME sur laquelle est insérée un papier filtre où sera déposé le standard externe ; D : Schéma d'une fibre SPME (source : https://fr.wikipedia.org/wiki/Microextraction_sur_phase_solide)

Bibliographie

Ackerman JD (2000) Abiotic pollen and pollination: ecological, functional, and evolutionary perspectives. In: Pollen and Pollination. Springer, pp 167–185

Adam H, Collin M, Richaud F, et al (2011) Environmental regulation of sex determination in oil palm: current knowledge and insights from other species. *Ann Bot* 108:1517–1527. doi: doi:10.1093/aob/mcr149

Adam H, Jouannic S, Escoute J, et al (2005) Reproductive developmental complexity in the African oil palm (*Elaeis guineensis*, Arecaceae). *Am J Bot* 92:1836–1852.

Aizen MA, Garibaldi LA, Cunningham SA, Klein AM (2008) Long-Term Global Trends in Crop

- Yield and Production Reveal No Current Pollination Shortage but Increasing Pollinator Dependency. *Curr Biol* 18:1572–1575. doi: 10.1016/j.cub.2008.08.066
- Anstett MC (1999) An experimental study of the interaction between the dwarf palm (*Chamaerops humilis*) and its floral visitor *Derelomus chamaeropsis* throughout the life cycle of the weevil. *Acta Oecologica* 20:551–558. doi: 10.1016/S1146-609X(00)86622-9
- Anstett MC, Hossaert-McKey M, Kjellberg F (1997) Figs and fig pollinators: evolutionary conflicts in a coevolved mutualism. *Trends Ecol Evol* 12:94–99. doi: 10.1016/S0169-5347(96)10064-1
- Ashman T-L (2009) Sniffing out patterns of sexual dimorphism in floral scent. *Funct Ecol* 23:852–862. doi: 10.1111/j.1365-2435.2009.01590.x
- Ayasse M, Schiestl FP, Paulus HF, et al (2003) Pollinator attraction in a sexually deceptive orchid by means of unconventional chemicals. *Proc R Soc B Biol Sci* 270:517–522. doi: 10.1098/rspb.2002.2271
- Azuma H, Toyota M, Asakawa Y, et al (2002) Floral scent chemistry of mangrove plants. *J Plant Res* 115:47–53.
- Baker WJ, Dransfield J (2016) Beyond Genera Palmarum: progress and prospects in palm systematics.
- Barcelos E Etude de la diversité génétique du genre *Elaeis oleifera* et *guineensis* par marqueurs moléculaires RFLP et AFLP.
- Barcelos E, Amblard P, Berthaud J, Seguin M (2002) Genetic diversity and relationship in American and African oil palm as revealed by RFLP and AFLP molecular markers. *Pesqui Agropecu Bras* 37:1105–1114.
- Barfod AS, Hagen M, Borchsenius F (2011) Twenty-five years of progress in understanding pollination mechanisms in palms (Arecaceae). *Ann Bot* 108:1503–1516. doi: 10.1093/aob/mcr192
- Barrett SC, Harder LD (1996) Ecology and evolution of plant mating. *Trends Ecol Evol* 11:73–79.
- Bauer DM, Sue Wing I (2016) The macroeconomic cost of catastrophic pollinator declines. *Ecol Econ* 126:1–13. doi: 10.1016/j.ecolecon.2016.01.011
- Bernal R, Ervik F (1996) Floral Biology and Pollination of the Dioecious Palm *Phytelephas seemanii* in Colombia: An Adaptation to Staphylinid Beetles. *Biotropica* 28:682–696. doi: 10.2307/2389054
- Bernhardt P (2000) Convergent evolution and adaptive radiation of beetle-pollinated angiosperms. *Plant Syst Evol* 222:293–320.
- Beserra P (2003a) Informe de avance del programa de introducción de insectos polinizadores

nativos en PDE.

- Beserra P (2003b) Informe de avance de las actividades del programa de introduccion de polinizadores en PDE - Shushufindi - Ecuador.
- Bory S, Lubinsky P, Risterucci A-M, et al (2008) Patterns of introduction and diversification of *Vanilla planifolia* (Orchidaceae) in Reunion Island (Indian Ocean). *Am J Bot* 95:805–815. doi: 10.3732/ajb.2007332
- Bronstein J (1994) Our Current Understanding of Mutualism. *Q Rev Biol* 69:31–51. doi: 10.1086/418432
- Bronstein JL (2001) The costs of mutualism. *Am Zool* 41:825–839.
- Bronstein JL, Alarcón R, Geber M (2006) The evolution of plant–insect mutualisms. *New Phytol* 172:412–428. doi: 10.1111/j.1469-8137.2006.01864.x
- Bronstein JL, Hossaert-McKey M (1995) Hurricane Andrew and a Florida Fig Pollination Mutualism: Resilience of an Obligate Interaction. *Biotropica* 27:373. doi: 10.2307/2388922
- Bulgarelli-Mora J, Chinchilla-López CM, Rodríguez R (2002) Male inflorescences, population of *Elaeidobius kamerunicus* (Curculionidae) and pollination in a young commercial oil palm plantation in a dry area of Costa Rica. *Organ Para Estud Trop* 24:32–37.
- Chartier M, Liagre S, Weiss-Schneeweiss H, et al (2016) Floral traits and pollination ecology of European *Arum* hybrids. *Oecologia* 180:439–451. doi: 10.1007/s00442-015-3498-9
- Chen C, Song Q, Proffitt M, et al (2009) Private channel: a single unusual compound assures specific pollinator attraction in *Ficus semicordata*. *Funct Ecol* 23:941–950. doi: 10.1111/j.1365-2435.2009.01622.x
- Conchou L (2013) Les odeurs dans les interactions plantes-insectes au-delà de la communication. Application au modèle *Ficus*-pollinisateurs-parasites et conséquences pour la compréhension des processus de coévolution. Université Montpellier 2
- Corley RHV (2009) How much palm oil do we need? *Environ Sci Policy* 12:134–139. doi: 10.1016/j.envsci.2008.10.011
- Corley RHV, Tinker PB (2008) *The oil Palm* 4th ed., Blackwell Science. John Wiley & Sons
- Cornu A, Farruggia A, Leppik E, et al (2015) Trapping the Pasture Odorscape Using Open-Air Solid-Phase Micro Extraction, a Tool to Assess Grassland Value. *PLOS ONE* 10:e0140600. doi: 10.1371/journal.pone.0140600
- Corrado F (1985) La conformation des regimes de palmier a huile (*Elaeis guineensis* Jacq.) dans quelques plantations de Colombie. *Oleagineux* 40:173–187.
- Couturier G (2005) Informe de seguimiento de la introducción de insectos polinizadores en la

plantación palmeras del Ecuador - Shushufindi.

- Culley TM, Weller SG, Sakai AK (2002) The evolution of wind pollination in angiosperms. *Trends Ecol Evol* 17:361–369.
- De Franqueville H (2003) Oil palm bud rot in Latin America. *Exp Agric* 39:225–240. doi: 10.1017/S0014479703001315
- Dötterl S, Wolfe LM, Jürgens A (2005) Qualitative and quantitative analyses of flower scent in *Silene latifolia*. *Phytochemistry* 66:203–213. doi: 10.1016/j.phytochem.2004.12.002
- Dudareva N (2004) Biochemistry of Plant Volatiles. *PLANT Physiol* 135:1893–1902. doi: 10.1104/pp.104.049981
- Dudareva NA, Pichersky E (eds) (2006) *Biology of floral scent*. CRC/Taylor & Francis, Boca Raton, FL
- Dudareva N, Pichersky E (2000) Biochemical and molecular genetic aspects of floral scents. *Plant Physiol* 122:627–634.
- Dufaÿ M, Anstett M-C (2003) Conflicts between plants and pollinators that reproduce within inflorescences: evolutionary variations on a theme. *Oikos* 100:3–14. doi: 10.1034/j.1600-0706.2003.12053.x
- Dufaÿ M, Hossaert-McKey M, Anstett MC (2003) When leaves act like flowers: how dwarf palms attract their pollinators. *Ecol Lett* 6:28–34. doi: 10.1046/j.1461-0248.2003.00382.x
- Dufaÿ M, Hossaert-McKey M, Anstett M-C (2004) Temporal and sexual variation of leaf-produced pollinator-attracting odours in the dwarf palm. *Oecologia* 139:392–398. doi: 10.1007/s00442-004-1538-y
- Durand-Gasselín T, Blangy L, Picasso C, et al (2010) Sélection du palmier à huile pour une huile de palme durable et responsabilité sociale. *Ol Corps Gras Lipides* 17:385–392.
- Durand-Gasselín T, Cochard B, Amblard P, De Franqueville H (2002) Un regard sur quarante ans d'amélioration génétique du palmier à huile (*Elaeis guineensis*) et son impact sur la filière. *Sélectionneur Fr* 53:133–147.
- Ervik F, Barfod A (1999) Thermogenesis in palm inflorescences and its ecological significance. *Acta Bot Venezuelica* 22:195–212.
- Ervik F, Tollsten L, Knudsen JT (1999) Floral scent chemistry and pollination ecology in phytelephantoid palms (Arecaceae). *Plant Syst Evol* 217:279–297.
- Faegri K, Pijl L van der (1966) *The Principles of Pollination Ecology*. 248 pp.
- Fenster CB, Armbruster WS, Wilson P, et al (2004) Pollination syndromes and floral specialization. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 35:375–403. doi: 10.1146/annurev.ecolsys.34.011802.132347

- Flamini G, Tebano M, Cioni PL (2007) Volatiles emission patterns of different plant organs and pollen of Citrus limon. Anal Chim Acta 589:120–124. doi: 10.1016/j.aca.2007.02.053
- Franz NM, Valente RM (2006) Evolutionary trends in derelomine flower weevils (Coleoptera : Curculionidae): from associations to homology. Invertebr Syst 19:499–530.
- Frérot B, Malosse C, Cain AHLN (1997) Solid-phase microextraction (SPME): a new tool in pheromone identification in Lepidoptera. J High Resolut Chromatogr 20:340–342.
- Gallai N, Salles J-M, Settele J, Vaissière BE (2009) Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. Ecol Econ 68:810–821. doi: 10.1016/j.ecolecon.2008.06.014
- Garibaldi LA, Aizen MA, Klein AM, et al (2011) Global growth and stability of agricultural yield decrease with pollinator dependence. Proc Natl Acad Sci 108:5909–5914.
- Gater BAR (1925) La pollinisation du palmier à huile par les insectes. Rev Bot Appliquée Agric Colon 51:864–886.
- Genty P, Garzon A, Lucchini F, Delvare G (1986) Polinización entomófila de la palma africana en América tropical. Oleagineux 41:99–112.
- Gomes SMDS (2011) Polinizadores e semioquímicos do dendezeiro híbrido (*Elaeis oleifera* Cortés x *Elaeis guineensis* Jacq). Universidade federal de Viçosa
- Hala N, Tuo Y, Akpessa AAM, et al (2012) Entomofauna of Oil Palm Tree Inflorescences at La Mé Experimental Station (Côte d’Ivoire). Am J Exp Agric 2:306–319.
- Hardon JJ, Turner PD (1967) Observations on Natural Pollination in Commercial Plantings of Oil Palm (*Elaeis Guineensis*) in Malaya. Exp Agric 3:105–116. doi: 10.1017/S0014479700021864
- Henderson A (1986) A review of pollination studies in the Palmae. Bot Rev 52:221–259.
- Herrera CM (1988) Variation in mutualisms: the spatiotemporal mosaic of a pollinator assemblage. Biol J Linn Soc 35:95–125.
- Hossaert-McKey M, Proffit M, Soler CCL, et al (2016) How to be a dioecious fig: Chemical mimicry between sexes matters only when both sexes flower synchronously. Sci Rep 6:21236. doi: 10.1038/srep21236
- Hossaert-McKey M, Soler C, Schatz B, Proffit M (2010) Floral scents: their roles in nursery pollination mutualisms. Chemoecology 20:75–88. doi: 10.1007/s00049-010-0043-5
- Hussein MY, Lajis NH, Kinson A, Teo CB (1989) Laboratory and field evaluation on the attractancy of *Elaeidobius kamerunicus* Faust to 4- allylanisole. PORIM Bull 20–26.
- Jacquemard J-C (2012) Le palmier à huile. Editions Quae

- Jardine KJ, Gimenez BO, Araújo AC, et al (2016) Diurnal pattern of leaf, flower and fruit specific ambient volatiles above an oil palm plantation in Pará State, Brazil. *J Braz Chem Soc.* doi: 10.5935/0103-5053.20160194
- Johnson SD, Steiner KE (2000) Generalization versus specialization in plant pollination systems. *Trends Ecol Evol* 15:140–143.
- Junker RR, Bluthgen N (2010) Floral scents repel facultative flower visitors, but attract obligate ones. *Ann Bot* 105:777–782. doi: 10.1093/aob/mcq045
- Kearns CA, Inouye DW, Waser NM (1998) Endangered mutualisms: the conservation of plant-pollinator interactions. *Annu Rev Ecol Syst* 83–112.
- Kevan PG, Baker HG (1983) Insects as flower visitors and pollinators. *Annu Rev Entomol* 28:407–453.
- Kevan PG, Hussein MY, Hussey N, Wahid MB (1986) Modelling the use of *Elaeidobius kamerunicus* for pollination of oil palm. *Planter* 62:89–99.
- Klein A-M, Vaissiere BE, Cane JH, et al (2007) Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proc R Soc B Biol Sci* 274:303–313. doi: 10.1098/rspb.2006.3721
- Knudsen JT (2002) Variation in floral scent composition within and between populations of *Geonoma macrostachys* (Arecaceae) in the western Amazon. *Am J Bot* 89:1772–1778. doi: 10.3732/ajb.89.11.1772
- Knudsen JT, Eriksson R, Gershenzon J, Ståhl B (2006) Diversity and Distribution of Floral Scent. *Bot Rev* 72:1–120. doi: 10.1663/0006-8101(2006)72[1:DADOF5]2.0.CO;2
- Knudsen JT, Tollsten L, Ervik F (2001) Flower scent and pollination in selected neotropical palms. *Plant Biol* 3:642–653. doi: 10.1055/s-2001-19366
- Kouakou M, Hala N, Akpessè AAM, et al (2014) Comparative efficacy of *Elaeidobius kamerunicus*, *E. plagiatus*, *E. subvittatus* (Coleoptera: Curculionidae) and *Microporum* spp. (Coleoptera: Nitidulidae) in the pollination of oil palm (*Elaeis guineensis*). *J Exp Biol* 2:6.
- Kremen C, Williams NM, Aizen MA, et al (2007) Pollination and other ecosystem services produced by mobile organisms: a conceptual framework for the effects of land-use change. *Ecol Lett* 10:299–314. doi: 10.1111/j.1461-0248.2007.01018.x
- Labarca MV, Narváez Z (2009) Identificación y fluctuación poblacional de insectos polinizadores en palma aceitera (*Elaeis guineensis* Jacquin) en el sur del lago de Maracaibo, estado Zulia, Venezuela. *Rev Fac Agron* 26:305–324.
- Lajis MN, Hussein MY, Toia RF (1985) Extraction and identification of the main compound present in *Elaeis guineensis* flower volatiles. *Pertanika* 8:105–108.
- Lautenbach S, Seppelt R, Liebscher J, Dormann CF (2012) Spatial and temporal trends of

- global pollination benefit. PLoS One 7:e35954.
- Le Guen V, Amblard P, Omore A, et al (1991) Le programme hybride interspécifique *Elaeis oleifera* x *Elaeis guineensis* de l'IRHO. *Oleagineux* 46:479–487.
- Lecoustre R, Reffye PD (1987) Méthode d'estimation de la part due à la pollinisation dans l'expression du taux de nouaison. *Oléagineux* 42:175–183.
- Leppik E, Frérot B (2012) Volatile organic compounds and host-plant specialization in European corn borer E and Z pheromone races. *Chemoecology* 22:119–129. doi: 10.1007/s00049-012-0104-z
- Listabarth C (1994) Pollination of palm *Desmoncus*. *Principes* 38:13–23.
- Listabarth C (1996) Pollination of *Bactris* by *Phyllotrox* and *Epurea*. Implications of the palm breeding beetles on pollination at the community level. *Biotropica* 28:69. doi: 10.2307/2388772
- Louise C, Amblard P, Franqueville H de, et al (2007) Investigaciones dirigidas por el Cirad sobre las enfermedades del complejo pudrición del cogollo de la palma aceitera en Latinoamérica. *Rev Palmas* 28:345–362.
- Maia ACD, Dötterl S, Kaiser R, et al (2012) The key role of 4-methyl-5-vinylthiazole in the attraction of scarab beetle pollinators: a unique olfactory floral signal shared by Annonaceae and Araceae. *J Chem Ecol*. doi: 10.1007/s10886-012-0173-z
- Mariau D, Genty P (1988) Contribution de l'IRHO à l'étude des insectes pollinisateurs du palmier à huile en Afrique, Amérique du Sud et Indonésie. *Oléagineux* 43:233–240.
- Marques I, Jürgens A, Aguilar JF, Feliner GN (2016) Convergent recruitment of new pollinators is triggered by independent hybridization events in *Narcissus*. *New Phytol* 210:731–742. doi: 10.1111/nph.13805
- Meekijjaroenroj A, Bessière J-M, Anstett M-C (2007) Chemistry of floral scents in four *Licuala* species (Arecaceae). *Flavour Fragr J* 22:300–310. doi: 10.1002/ffj.1797
- Meunier J (1975) Le "palmier à huile" américain *Elaeis melanococca*. *Oleagineux* 30:51–61.
- Meunier J (1991) Una posible solución genética para el control de la pudrición de cogollo en la Palma Aceitera: Híbrido interespecífico *Elaeis oleifera* x *Elaeis guineensis*. *Rev Palmas* 12:39–42.
- Meunier J, Boutin D (1975) L'*Elaeis melanococca* et l'hybride *Elaeis melanococca* x *Elaeis guineensis*. Premières données. *Oleagineux* 30:5–8.
- Meunier J, Vallejo G, Boutin D (1976) L'hybride *E. melanococca* x *E. guineensis* et son amélioration. *Oleagineux* 31:519–528.
- Misztal PK, Owen SM, Guenther AB, et al (2010) Large estragole fluxes from oil palms in Borneo. *Atmospheric Chem Phys* 10:4343–4358. doi: 10.5194/acp-10-4343-2010

- Moura JIL, Cividanes FJ, Santos LP dos, et al (2013) Moura & al. -2013- Influência das fragrâncias florais do híbrido (caiaué x dendezeiro) na visitação dos polinizadores..pdf. *Agrotropica* 25:97–102.
- Mozzon M, Pacetti D, Lucci P, et al (2013) Crude palm oil from interspecific hybrid *Elaeis oleifera*×*Elaeis guineensis*: Fatty acid regiodistribution and molecular species of glycerides. *Food Chem* 141:245–252. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.03.016
- Nadot S, Alapetite E, Baker WJ, et al (2016) The palm family (Arecaceae): a microcosm of sexual system evolution.
- O'Brien CW, Beserra P, Couturier G (2004) Taxonomy of *Couturierius*, new genus and *Grasidius*, genus new to South America, palm flower weevils in the derelomini (Coleoptera, Curculionidae). *Rev Fr Entomol* 26:145–156.
- Okamoto T, Kawakita A, Goto R, et al (2013) Active pollination favours sexual dimorphism in floral scent. *Proc R Soc B Biol Sci* 280:20132280–20132280. doi: 10.1098/rspb.2013.2280
- Ollerton J, Winfree R, Tarrant S (2011) How many flowering plants are pollinated by animals? *Oikos* 120:321–326. doi: 10.1111/j.1600-0706.2010.18644.x
- Opute FI (1975) Identification of p.Methoxyallylbenzene in the pollen of the oil palm *Elaeis guineensis* Jacq. *J Exp Bot* 26:619–623. doi: 10.1093/jxb/26.4.619
- Orians CM (2000) The effects of hybridization in plants on secondary chemistry: implications for the ecology and evolution of plant–herbivore interactions. *Am J Bot* 87:1749–1756.
- Pellmyr O, Thompson J, Brown J, Harrison R (1996) Evolution of Pollination and Mutualism in the Yucca Moth Lineage. *Am Nat* 148:827–847.
- Petit C (2010) Interactions entre le palmier à huile et ses insectes pollinisateurs en Afrique centrale. Effet des conditions climatiques. Cameroun
- Potts SG, Biesmeijer JC, Kremen C, et al (2010) Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. *Trends Ecol Evol* 25:345–353. doi: 10.1016/j.tree.2010.01.007
- Potts SG, Imperatriz-Fonseca V, Ngo HT, et al (2016) Safeguarding pollinators and their values to human well-being. *Nature*. doi: 10.1038/nature20588
- Raguso RA (2008) Wake up and smell the roses: the ecology and evolution of floral scent. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 39:549–569. doi: 10.1146/annurev.ecolsys.38.091206.095601
- Rosas-Guerrero V, Aguilar R, Martén-Rodríguez S, et al (2014) A quantitative review of pollination syndromes: do floral traits predict effective pollinators? *Ecol Lett* 17:388–400. doi: 10.1111/ele.12224
- Sakai S (2002) A review of brood-site pollination mutualism: plants providing breeding sites

- for their pollinators. *J Plant Res* 115:161–168.
- Schäffler I, Steiner KE, Haid M, et al (2015) Diacetyl, a reliable cue and private communication channel in a specialized pollination system. *Sci Rep* 5:12779. doi: 10.1038/srep12779
- Schiestl FP (2015) Ecology and evolution of floral volatile-mediated information transfer in plants. *New Phytol* 206:571–577. doi: 10.1111/nph.13243
- Schiestl FP, Ayasse M (2001) Post-pollination emission of a repellent compound in a sexually deceptive orchid: a new mechanism for maximising reproductive success? *Oecologia* 126:531–534. doi: 10.1007/s004420000552
- Schiestl FP, Ayasse M, Paulus HF, et al (1999) Orchid pollination by sexual swindle. *Nature* 399:421–421. doi: 10.1038/20829
- Smith MR, Singh GM, Mozaffarian D, Myers SS (2015) Effects of decreases of animal pollinators on human nutrition and global health: a modelling analysis. *The Lancet* 386:1964–1972. doi: 10.1016/S0140-6736(15)61085-6
- Soler CCL, Proffitt M, Bessièrè J-M, et al (2012) Evidence for intersexual chemical mimicry in a dioecious plant. *Ecol Lett* 15:978–985. doi: 10.1111/j.1461-0248.2012.01818.x
- Stebbins GL (1970) Adaptive radiation of reproductive characteristics in angiosperms, I: pollination mechanisms. *Annu Rev Ecol Syst* 307–326.
- Stökl J, Schlüter PM, Stuessy TF, et al (2008) Scent variation and hybridization cause the displacement of a sexually deceptive orchid species. *Am J Bot* 95:472–481. doi: 10.3732/ajb.95.4.472
- Suinyuy TN, Donaldson JS, Johnson SD (2015) Geographical matching of volatile signals and pollinator olfactory responses in a cycad brood-site mutualism. *Proc R Soc B Biol Sci* 282:20152053. doi: 10.1098/rspb.2015.2053
- Suinyuy TN, Donaldson JS, Johnson SD (2013) Variation in the chemical composition of cone volatiles within the African cycad genus *Encephalartos*. *Phytochemistry* 85:82–91. doi: 10.1016/j.phytochem.2012.09.016
- Svensson GP, Jr MOH, Bartram S, et al (2005) Chemistry and geographic variation of floral scent in *Yucca filamentosa* (Agavaceae). *Am J Bot* 92:1624–1631. doi: 10.3732/ajb.92.10.1624
- Svensson GP, Okamoto T, Kawakita A, et al (2010) Chemical ecology of obligate pollination mutualisms: testing the “private channel” hypothesis in the *Breynia–Epicephala* association. *New Phytol* 186:995–1004. doi: 10.1111/j.1469-8137.2010.03227.x
- Svensson GP, Raguso RA, Flatz R, Smith CI (2016) Floral Scent of Joshua trees (*Yucca brevifolia* sensu lato): Divergence in scent profiles between species but breakdown of signal integrity in a narrow hybrid zone. *Am J Bot*. doi: 10.3732/ajb.1600033

- Syed RA (1979) Studies on oil palm pollination by insects. Bull Entomol Res 69:213–224. doi: 10.1017/S0007485300017673
- Syed RA (1986) Factibilidad de la introducción de *E. kamerunicus* en Colombia. Rev Palmas 7:11–15.
- Syed RA, Law IH, Corley RHV (1982) Insect pollination of oil palm: introduction, establishment and pollinating efficiency of *Elaeidobius kamerunicus* in Malaysia. Planter 58:547–561.
- Tandon R, Manohara TN, Nijalingappa BHM, Shivanna KR (2001) Pollination and pollen-pistil interaction in oil palm, *Elaeis guineensis*. Ann Bot 87:831–838. doi: 10.1006/anbo.2001.1421
- Terry I, Moore CJ, Walter GH, et al (2004) Association of cone thermogenesis and volatiles with pollinator specificity in *Macrozamia* cycads. Plant Syst Evol 243:233–247. doi: 10.1007/s00606-003-0087-x
- Terry I, Walter GH, Moore C, et al (2007) Odor-Mediated Push-Pull Pollination in Cycads. Science 318:70–70. doi: 10.1126/science.1145147
- Thien LB, Azuma H, Kawano S (2000) New Perspectives on the Pollination Biology of Basal Angiosperms. Int J Plant Sci 161:S225–S235. doi: 10.1086/317575
- Tholl D, Boland W, Hansel A, et al (2006) Practical approaches to plant volatile analysis. Plant J 45:540–560. doi: 10.1111/j.1365-313X.2005.02612.x
- Thøstesen AM, Olesen JM, Thøstesen AM (1996) Pollen Removal and Deposition by Specialist and Generalist Bumblebees in *Aconitum septentrionale*. Oikos 77:77. doi: 10.2307/3545587
- Torres Alarcón E (2013) Avances en el desarrollo industrial del híbrido oxg en Palmeras del Ecuador. Rev Palmas 34:294–304.
- Tuo Y, Herve KK, Nklo H (2011) Biology of *Elaeidobius Kamerunicus* and *Elaeidobius Plagiatus* (Coleoptera: Curculiorrid~ e) main pollinators of oil palm in West Africa. Ettorepan J Sci Res 49:426–432.
- Vereecken NJ, Cozzolino S, Schiestl FP (2010) Hybrid floral scent novelty drives pollinator shift in sexually deceptive orchids. BMC Evol Biol 10:103.
- Waelti MO, Page PA, Widmer A, Schiestl FP (2009) How to be an attractive male: floral dimorphism and attractiveness to pollinators in a dioecious plant. BMC Evol Biol 9:190. doi: 10.1186/1471-2148-9-190
- Waser NM, Chittka L, Price MV, et al (1996) Generalization in Pollination Systems, and Why it Matters. Ecology 77:1043–1060. doi: 10.2307/2265575
- Williams CN, Hsu YC (1970) Oil palm cultivation in Malaya-technical and economic aspects. xvii + 205 pp.

Wood BJ (1985) Some consequences of weevil pollination of the oil palm in South East Asia. *Planter* 61:423–438.

Wood BJ (1968) Pest of Oil Palms in Malaysia and their Control.

Yue J, Yan Z, Bai C, et al (2015) Pollination activity of *Elaeidobius kamerunicus* (Coleoptera: Curculionoidea) on oil palm on Hainan Island. *Fla Entomol* 98:499–505. doi: 10.1653/024.098.0217

Zeven AC (1972) The partial and complete domestication of the oil palm (*Elaeis guineensis*). *Econ Bot* 26:274–279.

Chapitre 1

Evaluation de l'attractivité des deux espèces de palmier à huile et de plusieurs croisements hybrides interspécifiques pour les insectes pollinisateurs

Introduction

Très peu de données existent quant à l'attractivité des insectes pollinisateurs sur les inflorescences mâles et femelles des palmiers hybrides interspécifiques. Parmi les données existantes, [Gomes \(2011\)](#) a montré qu'*Elaeidobius kamerunicus* et *Elaeidobius subvittatus* étaient faiblement attirés par les inflorescences hybrides par rapport à celles d'*E. guineensis*. Elle a pu mettre en évidence que les inflorescences mâles du palmier *E. oleifera* dans la localité de Manicoré (Brésil) étaient plus visitées par le Nitidulidae *Mystrops sp.* et un Curculionidae non identifié (présentant l'habitus de *Grasidius hybridus*) que ne l'étaient les inflorescences femelles. [Moura et al. \(2013\)](#) ont testé l'attraction d'*E. kamerunicus* et d'*E. subvittatus* pour des inflorescences mâles d'*E. guineensis* et d'un croisement hybride, placées dans des boîtes trouées, et ont mis en évidence une attraction plus élevée pour l'espèce parentale.

Des observations réalisées dans la plantation de PDE en Equateur ont permis de mettre en évidence l'existence d'une grande disparité du nombre d'individus d'*E. kamerunicus* et de *Grasidius hybridus* visitant les inflorescences de ces palmiers ([Godoy et Morales, 2012](#), dans un rapport interne à PDE). Cependant, la faible quantité de données disponibles nous a conduit à réaliser une nouvelle campagne de piégeage des insectes sur plusieurs types de palmiers à plus long terme.

Ce premier chapitre consiste en une étude préliminaire dont l'objectif est d'évaluer la spécificité des insectes pollinisateurs *E. kamerunicus* et *G. hybridus* vis-à-vis de leur plante-hôte respective, et des hybrides interspécifiques.

Spécifiquement, les questions posées sont les suivantes : 1) *E. kamerunicus* et *G. hybridus* visitent-ils les inflorescences de l'espèce de palmier non-hôte ? 2) Quel sexe d'inflorescence est le plus visité ? 3) Quelle est la variabilité de visite entre différents croisements d'hybrides interspécifiques à travers la plantation de PDE ?

Matériel et méthodes

Dix parcelles expérimentales contenant de 70 à 100 palmiers ont été sélectionnées dans la plantation de PDE sur la base des critères suivants : 1) l'espèce de palmier ou le type de croisement de façon à avoir un assortiment représentatif du matériel végétal disponible dans la plantation, 2) l'âge des palmiers : 3 ans minimum afin d'avoir des palmiers qui

produisent déjà des inflorescences fonctionnelles, mais inférieur à 8 ans pour que les inflorescences soient accessibles sans avoir à grimper dans l'arbre, 3) la présence de parcelles contenant des *E. guineensis* ou des *E. oleifera* à proximité des parcelles d'hybrides interspécifiques.

Le Tableau 1 indique les caractéristiques des palmiers des parcelles d'expérimentation sélectionnées. Ces parcelles expérimentales incluent : une parcelle d'*E. guineensis*, deux parcelles d'*E. oleifera* différant par l'écotype Coari (Brésil) et Taisha (Equateur), quatre parcelles d'hybrides Coari x La Mé différant par leur position dans la plantation et la présence d'*E. guineensis* et d'*E. oleifera* à proximité, et 3 parcelles d'hybrides dont les parents sont d'origines différentes : Coari x Yangambi, Taisha x Yangambi et Taisha x La Mé, toutes trois localisées dans la même parcelle en production.

La pollinisation assistée des inflorescences femelles (c'est-à-dire l'apport artificiel de pollen) a été stoppée sur tous les individus des parcelles d'expérimentations afin d'éviter une éventuelle attraction artificielle de pollinisateurs liée à la présence de pollen exogène.

Dans chaque parcelle d'expérimentation, un suivi de toutes les inflorescences mâles et femelles en anthèse a été réalisé. Durant un jour par semaine, tous les palmiers des parcelles d'expérimentation ont été individuellement observés. Les individus possédant une inflorescence en anthèse, ou proches de débiter la phase d'anthèse au cours des deux jours suivants l'observation ont été identifiés. Le suivi des inflorescences s'est étalé de juin 2014 à mai 2015.

Tableau 1 : Résumé de l'identité des parcelles sélectionnées pour évaluer l'attractivité des insectes. Code : référence de la parcelle expérimentale ; Type de matériel végétal : espèce de palmier ou type de croisement hybride ; Culture : année de semis ; Parcelle : référencement de la parcelle dans la plantation ; Croisement : identité du croisement ; Origine : origine parentale des individus ; Parcelles à proximité : présence de parcelle ou de spot d'individus d'*E. guineensis* ou d'*E. oleifera* à moins de 500 m des parcelles étudiées.

Code	Type de matériel végétal	Culture	Parcelle	Croisement	Origine	Parcelles à proximité	
						<i>E. guineensis</i>	<i>E. oleifera</i>
Eg	<i>E. guineensis</i> Deli x	2008	E05c	C0731	Deli (Indonésie) x La Mé	-	-

La Mé		(Côte d'Ivoire)					
EoC	<i>E. oleifera</i> Coari	2011	G11c	-	Coari (Brésil)	-	-
EoT	<i>E. oleifera</i> Taisha	2002	C03b	-	Taisha (Equateur)	-	-
HA		2008	C03c	TT1875		Oui	Oui
HB	Hybrides EoC x Eg La	2008	C03b	TT1872			Oui
HC	Mé	2011	Z06D	SA3393	Coari x La Mé	Non	Non
HD		2006	D11c	TT748		Oui	Non
HCY	Hybrides EoC x Eg Yangambi	2006	D11c	TT650	Coari x Yangambi (RD Congo)	Oui	Non
HTY	Hybrides EoT x Eg Yangambi	2006	D11c	HU12	Taisha x Yangambi	Oui	Non
HTL	Hybride EoT x Eg La Mé	2006	D11c	HU3	Taisha x La Mé	Oui	Non

L'attractivité des inflorescences des palmiers de chaque parcelle expérimentale a été évaluée au moyen de séries de piégeages menées de juin 2014 à octobre 2015. Les parcelles expérimentales ont été divisées en deux groupes (groupe 1 : Eg – EoT – HA – HB – HC ; groupe 2 : EoC – HD – HCY – HTY – HTL) et les séries de piégeage ont été réalisées toutes les semaines, en alternant le groupe chaque semaine. Chaque série de piégeage dans une parcelle expérimentale a donc été espacée de deux semaines. A chaque série, 2 à 7 inflorescences de chaque sexe dans chaque parcelle d'expérimentation ont été équipées d'un piège, en fonction de la disponibilité des inflorescences en anthèse ou proches de le devenir. Le piégeage a été réalisé selon le protocole développé par [Beaudoin-Ollivier et al. \(2017\)](#), décrit dans l'introduction.

Afin de d'évaluer les variations de l'attractivité de plusieurs croisements hybrides pour les deux espèces d'insectes, des pièges à interception ont été placés sur les inflorescences femelles d'individus appartenant à un total de 123 croisements hybrides, répartis dans toutes la plantation de PDE. Toutes les inflorescences proches de l'anthèse ont été équipées d'un piège. Une seule série de piégeage a été réalisée par croisement.

Un test de Kruskal-Wallis a permis de comparé le nombre d'inflorescences mâles et femelles pour chaque type de matériel végétal. Le nombre moyen d'*E. kamerunicus* et de *G. hybridus* capturés entre les inflorescences mâles et femelles des différents types de matériel végétal a été comparé au moyen d'un modèle linéaire mixte en utilisant le package *lme4* ([Bates et al. 2015](#)), en considérant la semaine de piégeage comme facteur aléatoire. Le nombre de captures de ces deux insectes a été comparé entre les différents croisements

hybrides en utilisant un modèle linéaire mixte en prenant la date de piégeage en tant que facteur aléatoire.

Résultats

Nombre d'inflorescences mâles et femelles par parcelles d'expérimentations

La Figure 9 indique le nombre d'inflorescences mâles et femelles par parcelles d'expérimentations par semaine. La quantité d'inflorescences mâles et femelles pour 100 palmiers par semaine différait dans toutes les parcelles d'expérimentations. En moyenne, 9 et 11 inflorescences mâles étaient produites respectivement par les *E. guineensis* et *E. oleifera* toutes les semaines, alors que la production d'inflorescences femelles était de respectivement 6.5 et 4. Parmi les hybrides, les croisements Coari x Yangambi et Taisha x Yangambi ont produits des inflorescences mâles, mais significativement moins que les femelles. Les hybrides Coari x La Mé, ainsi que *E. oleifera* Coari n'ont quasiment produit aucune inflorescence mâle durant toute la durée des expérimentations. Tous les types de croisements hybrides ont produit plus de 10 inflorescences femelles / 100 plantes / semaine.

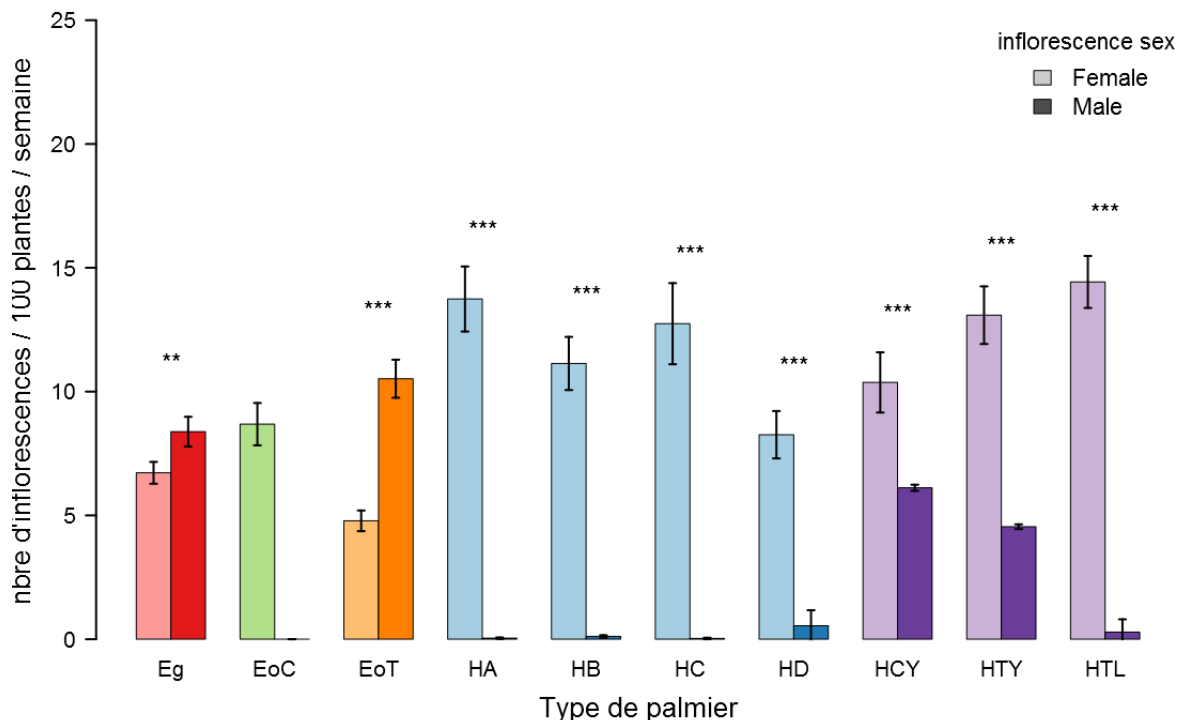


Figure 9 : Comparaison du nombre moyen d'inflorescences mâles (foncé) et femelles (clair) / 100 palmiers / semaine (\pm SE), entre les différents types de matériel végétal. Eg = *E. guineensis* ; EoC = *E. oleifera* Coari ; EoT = *E. oleifera* Taisha ; HA - HD = hybrides Coari x La Mé ;

HCY, HTY, et HTL = autres croisement hybrides. Les étoiles indiquent une différence significative du nombre d'inflorescences mâles et femelles par type de palmier : ** > 0.001, *** > 0.0001

Comparaison des captures moyennes d'insectes entre les types de palmier

Globalement, les captures d'*E. kamerunicus* variaient en fonction du type de palmier ($F = 154, p < 0.0001$) et du sexe ($F = 44, p < 0.0001$) et de l'interaction entre ces deux facteurs ($F = 22, p < 0.0001$) (Figure 10 A). Les captures de *G. hybridus* variaient entre les types de palmiers ($F = 16, p < 0.0001$), mais pas du sexe d'inflorescence ($F = 0.01, p = 0.9$), alors que l'interaction des deux était significative ($F = 3.9, p < 0.001$) (Figure 10 B). Les captures d'*E. kamerunicus* et de *G. hybridus* ont toujours été plus élevées sur les inflorescences mâles de l'espèce parentale *E. guineensis* ou *E. oleifera* Taisha que sur l'ensemble des hybrides. Il y avait assez peu de différences significatives de captures des deux espèces d'insectes entre les hybrides.

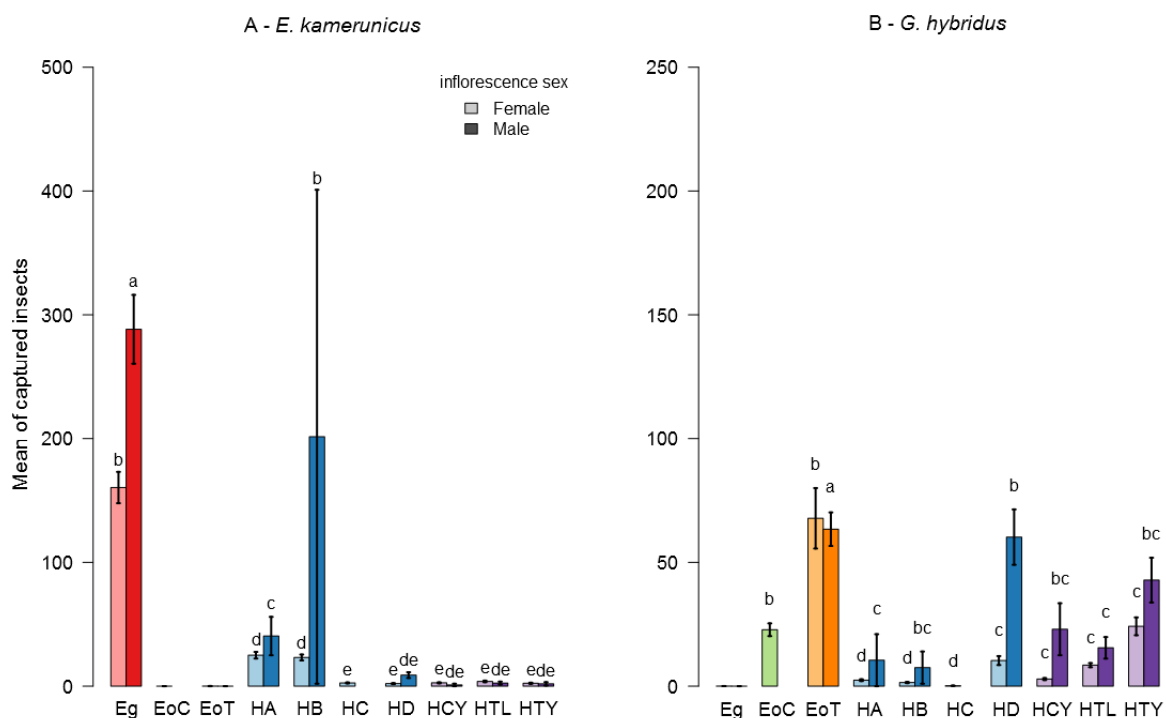


Figure 10 : Comparaison des captures moyennes d'*E. kamerunicus* (A) et de *G. hybridus* (B) dans les 10 parcelles d'expérimentations. Eg = *E. guineensis* ; EoC = *E. oleifera* Coari ; EoT = *E. oleifera* Taisha ; HA - HD = hybrides Coari x La Mé ; HCY, HTY, et HTL = autres croisements

hybrides. Une même lettre indique une absence de différence significative. Le nombre de pièges posés par types de palmier et par sexe est indiqué dans le tableau annexe 1.

Comparaison de l'attractivité de plusieurs croisements hybrides

Le tableau annexe 7 présente les résultats des captures des deux insectes pollinisateurs *E. kamerunicus* et *G. hybridus* sur 357 croisements hybrides différents répartis dans toute la plantation de PDE. Pour chacun des deux insectes, les captures étaient significativement différentes entre les croisements (*E. kamerunicus* : $F = 234$, $p = 0.0001$, *G. hybridus* : $F = 313$, $p = 0.0001$). Les captures ont été relativement faibles sur la plupart des croisements hybrides, avec 15 % d'entre eux (54 croisements) sur lesquels en moyenne moins de 10 individus des deux espèces d'insectes ont été capturés. Pour près de 7 % des croisements (26 croisements), seul *G. hybridus* a été capturé. Aucun croisement n'a été attractif pour le seul *E. kamerunicus*. Un peu plus de 10 % des croisements hybrides (38) n'ont été attractifs pour aucun des deux insectes. Certains croisements se sont révélés être relativement bien visités par les insectes, notamment le TT2192 sur lequel une moyenne de près de 100 *E. kamerunicus* et plus de 150 *G. hybridus* ont été capturés. Les croisements TT2075 et 2206 ont été bien visités par *G. hybridus*, avec respectivement 283 et 87 individus capturés.

Table 2 : évaluation de la moyenne de captures d'*E. kamerunicus* et de *G. hybridus* (moyenne \pm sd) sur 123 croisements hybrides différents

croisement hybride	<i>E. kamerunicus</i>	<i>G. hybridus</i>	croisement hybride	<i>E. kamerunicus</i>	<i>G. hybridus</i>
SA 2237	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	TT 1694	0,0 \pm 0,0	12,7 \pm 11,0
SA 2287	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	TT 1700	5,5 \pm 0,7	0,0 \pm 0,0
SA 6207	5,4 \pm 6,2	7,6 \pm 9,2	TT 1711	0,0 \pm 0,0	10,0 \pm 11,3
SA 6328	8,0 \pm 2,2	8,8 \pm 5,6	TT 1819	0,0 \pm 0,0	1,0 \pm 1,4
SA 6509	0,3 \pm 0,6	12,7 \pm 13,0	TT 1849	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0
SA 6513	7,6 \pm 6,3	10,8 \pm 7,0	TT 1871	22,7 \pm 5,7	0,7 \pm 1,2
SA 6575	4,3 \pm 5,1	3,3 \pm 3,2	TT 1872	28,8 \pm 19,0	1,3 \pm 2,5
SA 6598	0,0 \pm 0,0	11,7 \pm 17,6	TT 1873	19,4 \pm 22,5	0,0 \pm 0,0
SA 6607	0,3 \pm 0,6	16,3 \pm 14,4	TT 1884	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0
SA 6609	0,0 \pm 0,0	5,0 \pm 3,6	TT 1887	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0
SA 6612	3,0 \pm 1,7	1,3 \pm 2,3	TT 1890	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0
SA 6613	0,0 \pm 0,0	5,5 \pm 3,1	TT 1891	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0
SA 6639	9,8 \pm 5,4	15,3 \pm 15,4	TT 1905	0,0 \pm 0,0	1,0 \pm 1,2
SA 6685	3,8 \pm 2,1	3,3 \pm 3,0	TT 1907	0,0 \pm 0,0	1,0 \pm 1,4
SA 6782	4,3 \pm 2,9	6,5 \pm 9,7	TT 1912	4,3 \pm 4,8	14,1 \pm 14,6
SA 6885	1,7 \pm 2,9	23,3 \pm 35,2	TT 1918	1,0 \pm 1,4	9,0 \pm 12,7
SA 6904	1,5 \pm 1,0	20,3 \pm 21,0	TT 1927	0,0 \pm 0,0	0,3 \pm 0,5
SA3328	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	TT 1934	3,7 \pm 1,5	6,3 \pm 5,5
SA3408	1,0 \pm 1,4	0,5 \pm 0,7	TT 1943	9,7 \pm 10,6	12,3 \pm 3,1
SA3456	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	TT 1950	1,0 \pm 1,0	16,7 \pm 17,8
SA3526	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	TT 2033	16,3 \pm 14,1	2,0 \pm 2,4
SA3705	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	TT 2056	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0
SA3791	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	TT 2057	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0
SA3952	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	TT 2065	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0
TT 1125	2,0 \pm 2,2	1,5 \pm 1,9	TT 2066	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0
TT 1130	3,0 \pm 4,2	1,0 \pm 1,4	TT 2071	1,7 \pm 1,5	7,7 \pm 1,5
TT 1142	0,0 \pm 0,0	0,7 \pm 1,2	TT 2075	18,0 \pm 0,0	283,5 \pm 21,9
TT 1143	0,0 \pm 0,0	1,0 \pm 1,0	TT 2085	5,0 \pm 5,7	50,0 \pm 43,8
TT 1164	3,3 \pm 5,0	2,3 \pm 4,8	TT 2091	4,3 \pm 3,8	14,0 \pm 7,9
TT 129	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	TT 2123	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0
TT 1351	3,0 \pm 3,0	19,0 \pm 4,4	TT 2162	2,3 \pm 2,2	2,3 \pm 4,5
TT 1354	14,5 \pm 2,1	5,0 \pm 4,2	TT 2166	19,0 \pm 4,2	3,0 \pm 4,2
TT 1363	38,5 \pm 35,5	18,0 \pm 9,7	TT 2179	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0
TT 137	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	TT 2192	97,7 \pm 22,4	153,0 \pm 187,6
TT 1379	7,3 \pm 9,2	10,7 \pm 12,5	TT 2203	1,3 \pm 1,2	7,0 \pm 3,5
TT 1533	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	TT 2204	1,7 \pm 0,6	6,7 \pm 9,1
TT 1542	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	TT 2206	1,0 \pm 1,4	87,0 \pm 39,6

TT 1548	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	TT 2213	9,3 ± 16,2	5,4 ± 5,3
TT 1590	2,2 ± 3,3	2,6 ± 1,8	TT 2216	0,0 ± 0,0	1,8 ± 1,9
TT 1594	11,8 ± 12,7	2,2 ± 2,9	TT 2220	0,0 ± 0,0	3,0 ± 2,8
TT 1598	5,7 ± 6,7	1,0 ± 1,7	TT 2222	0,0 ± 0,0	2,0 ± 3,5
TT 1599	1,1 ± 1,4	4,1 ± 5,6	TT 267	0,0 ± 0,0	6,0 ± 0,0
TT 1625	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	TT 2702	0,3 ± 0,6	12,7 ± 17,6
TT 1692	0,8 ± 1,0	6,0 ± 4,6	TT 2707	0,3 ± 0,5	0,5 ± 1,0

croisement hybride	<i>E. kamerunicus</i>	<i>G. hybridus</i>
TT 319	0,3 ± 0,5	0,0 ± 0,0
TT 329	0,0 ± 0,0	0,7 ± 1,2
TT 341	0,0 ± 0,0	1,5 ± 0,7
TT 35	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
TT 39	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
TT 588	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
TT 599	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
TT 600	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
TT 666	3,0 ± 2,9	11,8 ± 5,6
TT 670	1,0 ± 1,7	9,3 ± 3,5
TT 675	25,0 ± 13,6	31,3 ± 20,5
TT 682	1,0 ± 0,8	13,8 ± 8,4
TT 726	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
TT 746	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
TT 767	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
TT 787	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
TT 791	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
TT2695	0,0 ± 0,0	1,0 ± 1,4
TT2959	0,0 ± 0,0	0,8 ± 1,5
TT2979	0,0 ± 0,0	0,8 ± 1,5
TT2981	1,3 ± 1,5	3,3 ± 2,5
TT3000	16,0 ± 0,0	9,0 ± 0,0
TT3002	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
TT3004	0,3 ± 0,6	0,0 ± 0,0
TT3006	0,3 ± 0,6	3,0 ± 2,6
TT3010	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
TT3024	0,0 ± 0,0	1,3 ± 1,2
TT3028	0,0 ± 0,0	1,0 ± 1,7
TT3090	0,0 ± 0,0	0,3 ± 0,5
TT3091	0,0 ± 0,0	0,3 ± 0,5
TT3398	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
TT3399	0,0 ± 0,0	0,5 ± 0,7
TT3405	0,0 ± 0,0	0,3 ± 0,6
TT3406	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
TT3914	2,4 ± 2,6	8,0 ± 10,2

Discussion

E. kamerunicus et *G. hybridus* visitent-ils les inflorescences de l'espèce de palmier non-hôte ?

Les deux insectes pollinisateurs se sont révélés être très spécifiques à leur espèce de palmier-hôte : *E. kamerunicus* n'a jamais été capturé sur *E. oleifera* et *G. hybridus* n'a jamais été observé sur *E. guineensis*. Cette spécificité dans les captures n'est pas expliquée par la localisation des parcelles d'expérimentations d'*E. guineensis* et d'*E. oleifera* dans la plantation, car celles-ci sont situées à proximité soit de « dents » d'*E. guineensis* (4 à 6 spots d'une 20^{aine} d'individus répartis dans la plupart des parcelles commerciales), soit de bas-fonds remplis avec de l'*E. oleifera*. De plus des captures sur les palmiers non hôtes auraient forcément été observées ponctuellement. *G. hybridus* a été observé sur les inflorescences d'*E. oleifera* Taisha et sur celles d'*E. oleifera* Coari. Ces résultats sont en accord avec [O'Brien et al. \(2004\)](#) qui ont identifiés cette espèce d'insecte sur les inflorescences d'*E. oleifera* présents dans plusieurs populations naturelles et en plantation en Amazonie brésilienne. La spécificité des insectes pour ces deux espèces demande à être étudiée du point de vue de la chimie florale, ainsi que par la détermination de la phénologie de l'activité de ces insectes.

Les deux espèces d'insectes ont été capturées sur tous les types de croisements hybrides qui ont été suivis sur deux ans. Cela suggère que la spécificité de ces insectes pour leur palmier hôte est « cassée » par une caractéristique propre aux parents qui se retrouveraient chez les hybrides. Les traits floraux responsables de l'attraction des insectes devront donc être identifiés chez *E. guineensis* et *E. oleifera* et être comparés aux hybrides. En revanche, les différents types de croisements hybrides étaient tous moins attractifs pour les deux espèces d'insectes que les espèces de palmiers parentales. Les traits responsables de l'attractivité chez les parents pourraient être quantitativement ou qualitativement différents de ceux des parents ([Orians 2000](#); [Vereecken et al. 2010](#); [Chartier et al. 2016](#)) et ainsi réduire l'attractivité des inflorescences des palmiers hybrides.

Sur *E. guineensis* et *E. oleifera* Taisha, chacun des insectes pollinisateurs a été plus attiré sur les inflorescences mâles que sur les inflorescences femelles. La plus forte attractivité des inflorescences mâles chez *E. guineensis* a déjà été mise en évidence par plusieurs auteurs (par exemple [Syed 1979](#); [Desmier de Chenon 1981](#)), mais d'autres ont

trouvés que les inflorescences femelles sont plus attractives (Yue et al. 2015). A cause des différences morphologiques des inflorescences mâles et femelles, l'efficacité du piégeage pourrait être influencé par le design du piège. Des méthodes permettant de capturer tous les visiteurs permettraient de connaître les quantités réelles attirées par sexe.

Quelle est la variabilité de visite entre différents croisements d'hybrides interspécifiques à travers la plantation de PDE ?

Les différents croisements hybrides ont montré une grande disparité dans les captures d'insectes. La variabilité dans l'attractivité de ces croisements pourrait être due à plusieurs facteurs : 1) les traits floraux qui attirent les insectes chez les espèces parentales sont variables entre les croisements. Certains traits favoriseraient donc plus des captures de *G. hybridus* puisque cette espèce a été trouvée chez 75 % des croisements. Des variations qualitatives et quantitatives des traits floraux pourraient aussi expliquer que certains croisements soient beaucoup plus visités que d'autres. 2) il existe une variabilité des populations d'insectes. Cette variabilité pourrait être liée au nombre d'inflorescences mâles que produisent les hybrides. En effet *E. kamerunicus* et *G. hybridus* se développent à partir des épillets des inflorescences mâles (Syed 1979; Beserra 2003). Dans les parcelles expérimentales d'hybrides Caori x La Mé suivies sur deux ans, le nombre d'inflorescences mâles a toujours été très faible, et les rares qui ont été produites ne l'ont été que ponctuellement dans l'année. Le déficit en inflorescences mâles empêcherait une population stable de pollinisateurs de se développer et de se maintenir dans les parcelles. Sur l'ensemble des individus des 357 croisements hybrides dont l'attractivité a été évaluée, aucun suivi des inflorescences mâles n'a été effectué, ce qui ne permet pas de tester le lien entre inflorescences mâles et quantité d'insectes capturés à l'échelle de la plantation.

Cependant, les parcelles de palmiers hybrides de la plantation de PDE contiennent généralement des « dents » d'*E. guineensis* et les bas-fonds sont remplis avec des *E. oleifera*. Il existe aussi un certain nombre de parcelle d'*E. guineensis* en production (Torres Alarcón 2013). Ces parcelles ne sont cependant pas réparties de manière régulière à travers la plantation, et certaines parcelles hybrides sont donc isolées par rapport à elles. Comme indiquée sur la figure 1, les espèces de palmier *E. guineensis* et *E. oleifera* produisent beaucoup d'inflorescences mâles, sources de pollinisateurs. Les capacités de dispersion des

pollinisateurs sont peu connues, mais on sait que des *E. kamerunicus* sont capables de voler une centaine de mètres durant leur période d'activité matinale (Syed 1979). Il serait donc intéressant de réaliser des études combinant des captures d'insectes et des données concernant leurs paramètres de dispersion avec des analyses spatiales, afin d'évaluer s'il existe un lien entre le nombre d'inflorescences mâles et l'importance des populations d'insectes pollinisateurs.

Ces résultats préliminaires donnent un aperçu des populations des deux insectes pollinisateurs *E. kamerunicus* et *G. hybridus* dans la plantation de PDE. Les données montrent que les hybrides sont moins attractifs que les deux espèces parentales. Il existe une variabilité de captures entre les hybrides qui pourraient être liée à une attractivité différente entre les croisements. Enfin, les inflorescences femelles des palmiers parents sont moins visitées que les mâles. Les traits floraux affichés par les inflorescences devront être comparés : 1) entre les sexes à l'échelle des deux espèces *E. guineensis* et *E. oleifera*, 2) entre les croisements hybrides Coari x La Mé, et 3) entre les deux espèces parentales et les hybrides.

Bibliographie

- Bates D, Mächler M, Bolker B, Walker S (2015) Fitting Linear Mixed-Effects Models Using **lme4**. J Stat Softw. doi: 10.18637/jss.v067.i01
- Beaudoin-Ollivier L, Flori A, Syahputra A, et al (2017) New trapping method to study *Elaeidobius* spp. and *Grasidius hybridus* population activity (Coleoptera: Curculionidae) during oil palm anthesis.
- Beserra P (2003) Informe de avance de las actividades del programa de introduccion de polinizadores en PDE - Shushufindi - Ecuador.
- Chartier M, Liagre S, Weiss-Schneeweiss H, et al (2016) Floral traits and pollination ecology of European *Arum* hybrids. *Oecologia* 180:439–451. doi: 10.1007/s00442-015-3498-9
- Desmier de Chenon R (1981) New data of the entomophily pollination of the oil palm in west africa.
- Gomes SMDS (2011) Polinizadores e semioquímicos do dendezeiro híbrido (*Elaeis oleifera* Cortés x *Elaeis guineensis* Jacq). Universidade federal de Viçosa
- Moura JIL, Cividanes FJ, Santos LP dos, et al (2013) Moura & al. -2013- Influência das

fragrâncias florais do híbrido (caiaué x dendezeiro) na visitação dos polinizadores..pdf. *Agrotropica* 25:97–102.

O'Brien CW, Beserra P, Couturier G (2004) Taxonomy of *Couturierius*, new genus and *Grasidius*, genus new to South America, palm flower weevils in the derelomini (Coleoptera, Curculionidae). *Rev Fr Entomol* 26:145–156.

Orians CM (2000) The effects of hybridization in plants on secondary chemistry: implications for the ecology and evolution of plant–herbivore interactions. *Am J Bot* 87:1749–1756.

Syed RA (1979) Studies on oil palm pollination by insects. *Bull Entomol Res* 69:213–224. doi: 10.1017/S0007485300017673

Torres Alarcón E (2013) Avances en el desarrollo industrial del híbrido oxg en Palmeras del Ecuador. *Rev Palmas* 34:294–304.

Vereecken NJ, Cozzolino S, Schiestl FP (2010) Hybrid floral scent novelty drives pollinator shift in sexually deceptive orchids. *BMC Evol Biol* 10:103.

Yue J, Yan Z, Bai C, et al (2015) Pollination activity of *Elaeidobius kamerunicus* (Coleoptera: Curculionoidea) on oil palm on Hainan Island. *Fla Entomol* 98:499–505. doi: 10.1653/024.098.0217

Chapitre 2

Diel Patterns of Activity for Insect Pollinators of Two Oil Palm Species.

Version de l'article accepté dans *Journal of Insect Science* le
27/02/2017

Diel Patterns of Activity for Insect Pollinators of Two Oil Palm Species.

Thomas Auffray¹, Brigitte Frérot², Roberto Poveda³, Claude Louise⁴ and Laurence Beaudoin-Ollivier¹

¹Cirad, UPR Bioagresseurs, Avenue du Campus Agropolis, F-34398 Montpellier, France. ²Inra, UMR IEES, Route de Saint-Cyr, F-78026 Versailles, France. ³Palmeras Del Ecuador s.a., Avenida Eugenio Espejo, 2410 y Rincón del Valle, Quito, Ecuador. ⁴Palmelit sas, Parc Agropolis, 2214 Boulevard de la Lironde, F-34980 Montferrier-sur-Lez, France.

Abstract

The pollination of two oil palm species, *Elaeis guineensis* Jacquin and *Elaeis oleifera* Cortés (Arecales: Arecaceae), depends on a mutualistic relation with insects, which use male inflorescences as a brood site, and visit female inflorescences lured by the emitted odor which is similar to that of males. Although the activity of visiting the inflorescences by these insects is critical for the adequate natural pollination of the host-plant, their activity is poorly documented. In the present study, we determine the diel activity of two specialized pollinator weevils (Coleoptera: Curculionidae) on inflorescences of their respective host-palm: *Elaeidobius kamerunicus* Faust specialized on *E. guineensis*, and *Grasidius hybridus* O'Brien and Beserra specialized on *E. oleifera*. The average timing of activity was studied by using passive interception traps. Then the pattern and the duration was refined by using aspiration trapping within the active period for each insect species at the male and female

inflorescences. All the experiments were conducted in an Ecuadorian oil palm plantation, located close to Amazonian forest. *Elaeidobius kamerunicus* and *G. hybridus* were found to be the pollinators of *E. guineensis* and *E. oleifera*, respectively. The two species differed in their diel pattern of activity: *E. kamerunicus* was active in the morning, and *G. hybridus* during a short period at dusk. For both palm species, insect visits were synchronous on both male and female inflorescences. The synchronicity is discussed as a strategy to maintain the relation mutualistic between partners. These findings increase our understanding of the oil palm pollination system.

Keywords: *Elaeidobius kamerunicus*, *Elaeis guineensis*, *Elaeis oleifera*, *Grasidius hybridus*, pollination

Introduction

Insect behavior is structured by a succession of activities through time, e.g., seeking food or shelter, mating, oviposition, and resting, among other activities. The time and duration insect pollinators spend foraging on flowers may be affected by intrinsic and extrinsic factors (Gottlieb et al. 2005, Willmer & Stone 2004; Herrera 1990, Willmer 1983). Insect pollinators are generally active fliers, and therefore, the combination of intrinsic factors related to pollinator metabolism (e.g., thermoregulation abilities) and extrinsic factors related to the environment (e.g., ambient temperature or light intensity) constrain insect pollinators to visit flowers at a specific time, termed the “daily activity window” (Stone et al. 1999, Herrera 1990). The genus *Elaeis* contains two species of oil palm, the African oil palm *Elaeis guineensis* Jacquin and the American oil palm *E. oleifera* (Kunth) Cortés. Both oil palm species are monoecious; each individual of these palms produces unisexual male and female inflorescences (Adam et al. 2011), which are produced in alternate cycles. As a result, oil palm reproduction requires cross-pollination by insects (Syed 1979). The most important insect pollinators of oil palms are beetles in the families Curculionidae and Nitidulidae (Coleoptera). These pollinators have a mutualistic relation with the host-plant; the post-anthesis male inflorescences serve as brood sites, and the female inflorescences are pollinated by deceit, as explained below. The underlying pollination process is mediated by the release of inflorescence odor. In *E. guineensis*, female inflorescences emit an anise-like fragrance similar to the fragrance emitted

by the male inflorescences at anthesis to attract insects (Hussein et al. 1989, Lajis et al. 1985, Opute 1975). Insect pollination is critical for an economically sustainable oil palm industry because it increases fruit set and consequently oil yields (Genty et al. 1986, Corley and Tinker 2003). The oil palm industry is dependent on the artificial reinforcement of pollination, using human-assisted pollination or the introduction of insects in areas in which they are absent (Syed et al. 1982). Thus, the study of the pollination system of *Elaeis* and the interactions with insect pollinators of these palms may help improve pollination in oil palm plantations. The biology of the pollinators of oil palm species, particularly the timing of visits to inflorescences is not well understood. To date, most of the published studies on insect activity on oil palm inflorescences have focused on the derelomine weevils of the genus *Elaeidobius* (Coleoptera: Curculionidae), including *Elaeidobius kamerunicus* Faust and *Elaeidobius subvittatus* Faust, and on a nitidulid beetle *Mystrops costaricensis* Gillogly (Coleoptera: Nitidulidae). *Elaeidobius kamerunicus* and *E. subvittatus* are both reportedly morning visitors on inflorescences of *E. guineensis* in Africa, their country of origin (Desmier de Chenon 1981, Mariau et al. 1991) and in regions where these species were artificially introduced, such as Asia (Tandon et al. 2001, Yue et al. 2015) and South America (Mariau et Genty 1988, Chinchilla-López and Richardson 1990, Prada et al. 1998, Moura et al. 2010). *Elaeidobius subvittatus* also showed morning activity on *E. oleifera* inflorescences in South America (Genty et al. 1986, Prada et al. 1988). However, a short second period of activity at the end of the day was observed for *E. kamerunicus* in West Africa (Mariau et al. 1991) and on Hainan Island, China (Yue et al. 2015). Conversely, *M. costaricensis* is principally a crepuscular visitor of inflorescences of both *E. oleifera* and *E. guineensis* in Central America and on the Pacific coast of South America, with sometimes a period of minimal and short early-morning activity depending on the geographic locality (Genty et al. 1986, Mariau and Genty 1988, Chinchilla-López and Richardson 1990). These insect pollinators were not present in the Amazonian area of Ecuador (Mariau and Genty 1988) before the successful introduction of *E. kamerunicus* in oil palm plantations in 1984 (Mariau and Genty 1988). An additional, recently described and very poorly known derelomine weevil, *Grasidius hybridus* O'Brien and Beserra (Coleoptera: Curculionidae), was collected in a natural population of *E. oleifera* in Taisha (Pastaza Province, Ecuador), and introduced in the oil palm plantations of Amazonian Ecuador in 2003 (Couturier 2005, unpublished data, Beserra 2003, unpublished data). The presence together of *E. kamerunicus* and *G. hybridus* in the same oil palm plantation with their respective host-plants (many plots

of cultivated *E. guineensis* and some plots of *E. oleifera* from either Ecuadorian or Brazilian origins), provides the opportunity to study the diel pattern of visits of these insect species to inflorescences, in addition to determine the specificity of interactions with the host-plants. We used two complementary trapping techniques, the first to identify the average period of activity and the second to precise the dynamic of visit within these periods for the two insect species. We addressed the following questions: What is the timing of pollination activity for the two insect species *E. kamerunicus* and *G. hybridus*, with a special concern for *G. hybridus* for which nothing is known? Are these insect species specialists on their respective host palm inflorescences?

Materials and Methods

Site Location

This study was conducted at the Palmeras del Ecuador (PDE) oil palm plantation (S -0.268325, W -76.552265) located in the northeast of the Amazonian part of Ecuador. Among the 8,650 ha of the plantation, 33% are planted with the introduced African palm *E. guineensis*; less than 1% with the native palm *E. oleifera*, which originated either in Taisha (Amazonian Ecuador) or in Coari (Amazonian Brazil); and 65% with interspecific hybrids of *E. guineensis* x *E. oleifera* (Torres-Alarcon 2013).

Plant Materials

Four experimental plots of approximately 0.7 ha were used that contained 100 palms of each species. Two plots of *E. guineensis*, both planted in 2008, and a plot of *E. oleifera* Taisha planted in 2002 were used for both interception and aspiration trapping. An additional plot of *E. oleifera* Coari planted in 2011 was also used for aspiration trapping.

Trapping Methods

The period of activity was defined as the interval of time in which insects take off or land on the inflorescences. We used two complementary trapping methods to capture insects and measure their period of activity: 1) passive trapping by using interception traps on

inflorescences and 2) active trapping of insects visiting caged inflorescences. For both trapping methods, both the selected male and female inflorescences inside each oil palm plot were at the physiological stage close to the onset of anthesis. Insect sampling and trapping were conducted continuously throughout anthesis and then stopped one day after the end of anthesis, i.e., when all flowers were withered.

The passive interception trapping was designed followed [Beaudoin-Ollivier et al. \(2017\)](#). The trap was a transparent, rectangular Plexiglas plate (180 mm length, 145 mm width, 5 mm thickness, 0.026 m² surface). At each end, strings through holes (5 mm diameter) were used to hang the plate over the palm inflorescence. Each plate was positioned approximately 15 cm above either the male or female inflorescence at an approximately 45° incline relative to the horizontal. Each plate was covered on both sides with a removable, transparent plastic sheet coated with transparent, odorless glue. The interception trapping experiment was conducted for two weeks from March to April 2014. At the beginning of each week of the experiment, all male and female inflorescences beginning anthesis inside a plot were equipped with a trap. The sticky sheets were checked and renewed three times a day throughout anthesis after the following periods of time: 1) the first period of trapping was from 9:00 p.m. to 10:00 a.m., which included 9 h of night + 4 h of morning the next day, 2) the second period was from 10:00 a.m. to 4:00 p.m., with 6 h of daytime, and 3) the third period of trapping was from 4:00 p.m. to 9:00 p.m., which included 3 h of daytime + 2 h at night. Each removed sheet was wrapped with transparent plastic kitchen wrap before identification and counting of insects.

The active aspiration trapping was designed to precisely characterize the activity period of pollinators. Insects were captured throughout the period during which insect diel activity was the highest, as indicated in the interception trapping experiment. The aspiration trapping method consisted of covering a palm inflorescence with a cubic cage (500 mm height, 300 mm length, and 250 mm width) wrapped with a white mosquito net (mesh size 0.5 mm). All the visiting insects were collected either hourly (*E. guineensis*) or at 20-min intervals (*E. oleifera* Taisha and Coari) using a mouth aspirator. The collected insects were stored in vials with alcohol before identification and counting. Trapping lasted from 7:00 a.m. to 2:00 p.m. for *E. guineensis* and from 5:00 p.m. to 7:00 p.m. for *E. oleifera*. The aspiration trapping experiment was conducted during March and December 2015. Because of changes in sunrise and sunset times over the year (between 5:48 a.m. and 6:18 a.m. and between 5:54 p.m. to 6:24 p.m., for

sunrise and sunset, respectively), we used min/h after sunrise and min/h before and after sunset rather than clock time. The precise clock times of sunrise and sunset for each day were obtained from <http://www.timeanddate.com>.

Insect Identification

Depending on the trapping method, the insects were identified and counted either on the sticky sheets protected with transparent plastic kitchen wrap or directly from vials. A stereomicroscope was used for identifications (x 45 magnification, BSZ-405, Boeco, Hamburg, Germany). *Elaeidobius kamerunicus* were identified according to Ripoll et al. (unpublished data). *Grasidius hybridus* were identified by reference to O'Brien et al. (2004).

Statistical Analyses

Data were analyzed using the R 3.1.2 statistical software (R Development Core Team 2015). A nonparametric Friedman's test was performed on both the interception and the aspiration trapping data. The number of insects captured according to the sex of inflorescence was compared between each time interval. When the Friedman test was significant for the interception trapping data, a post hoc analysis based on the Wilcoxon rank test was used to make pairwise comparisons between time periods. Pairwise comparisons were also performed for aspiration trapping data to identify differences of insect captures between each interval of time. Seven female and 5 male inflorescences, and 5 female and 7 male inflorescences, for *E. guineensis* and *E. oleifera* Taisha respectively, were monitored with interception traps. Nine female and 5 male inflorescences, 9 female and 5 male inflorescences and 11 female inflorescences, for *E. guineensis*, *E. oleifera* Taisha and *E. oleifera* Coari, respectively, were monitored by aspiration trapping.

Results

Diel Pattern of Pollinator Insect Activity at Inflorescences of *E. guineensis* and *E. oleifera* Using Interception Trapping

All 2,109 *E. kamerunicus* captured with interception trapping were on *E. guineensis*, whereas all 12,178 *G. hybridus* captured were on *E. oleifera*. The majority of *E. kamerunicus* and *G.*

hybridus, 93.6% and 96.3%, respectively, were trapped on the male inflorescences of their respective host-plant, with fewer insects trapped on female inflorescences (Figs. 11A and 11B). Few other species were captured during the interception trapping, except flies belonging to Sphaeroceridae and Sciaridae. No pollen was observed on their body, suggesting no role in oil palm pollination. Few stingless bees (Hymenoptera, Meliponidae) were observed visiting male inflorescences of *E. oleifera* Taisha at the beginning of the aspiration trapping, and some individuals of Forficulidae (Dermaptera) were observed, but not trapped.

Among the five *E. guineensis* male inflorescences sampled, all *E. kamerunicus* were captured during the two first periods of trapping ($Q = 9.1$; $P < 0.05$), with no catches recorded between 4:00 p.m. and 9:00 p.m. (Fig. 11A). The captures of *E. kamerunicus* peaked during the second period (10:00 a.m. to 4:00 p.m.) with 71% of the 1,973 individuals captured in total; however, the average number of insects captured on male inflorescences were not significantly different between the first and the second period of trapping ($W = 4$; $P = 0.21$). Among the 136 *E. kamerunicus* captured on the seven *E. guineensis* female inflorescences sampled, 90% were captured during the second trapping period (10:00 a.m. to 4:00 p.m.; Fig. 11A); however, this low number of insects captured on the female inflorescences resulted in marginally significant differences between the three periods of trapping ($Q = 5.6$; $P = 0.06$).

For *E. oleifera* Taisha, the average number of *G. hybridus* caught on the seven male inflorescences and the five female inflorescences varied significantly between the three periods of trapping ($Q = 11.2$; $P < 0.01$ and $Q = 10$; $P < 0.01$, for male and female inflorescences, respectively). All the 456 insects captured on female inflorescences and 95% of the 11,722 insects captured on male inflorescences were during the third period (4:00 p.m. to 9:00 p.m.) (Fig. 11B).

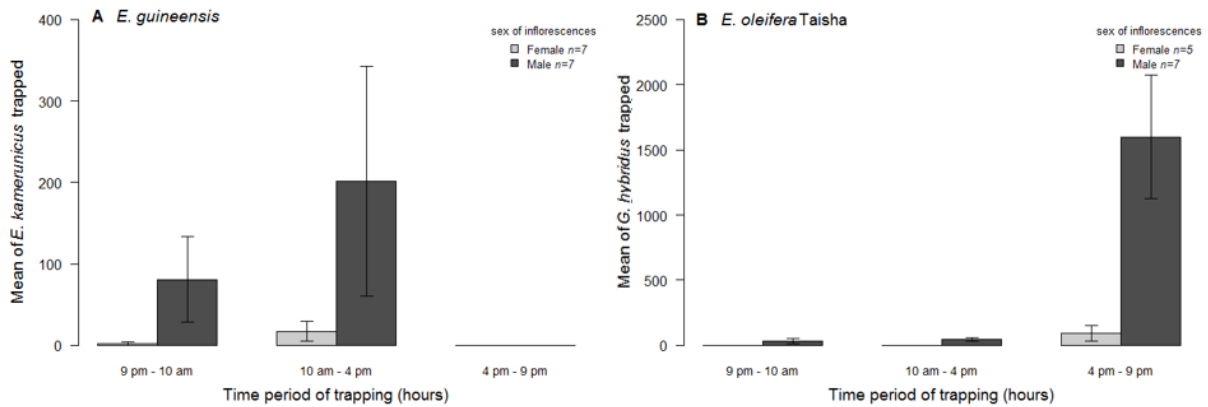


Figure 11 : Approximate visiting periods of *E. kamerunicus* (A) and *G. hybridus* (B) on inflorescences of *E. guineensis* and *E. oleifera* Taisha. Average number (\pm SEM) of pollinators trapped on male and female inflorescences during three periods of time. n = number of inflorescences sampled.

Precise Pattern of the Activity of Pollinating Insects at Inflorescences Using Aspiration Trapping

A total of 34,688 *E. kamerunicus* were captured on *E. guineensis* during the aspiration trapping, with 6,674 and 28,014 insects on five female and nine male inflorescences, respectively. The activity period of *E. kamerunicus* on male inflorescences started 2 to 3 h after sunrise and ended between 7 and 8 h after sunrise, resulting in approximately 6 h of activity. The insect activity observed on female inflorescences was shorter than that on male inflorescences, ranging from 3 h up to 7 h after sunrise, representing 4 hours of activity. The average number of insects captured on inflorescences varied significantly between the different 1-hour intervals of trapping ($Q = 37$; $P < 0.01$ and $Q = 27.4$; $P < 0.01$, for male and female inflorescences, respectively). Post-hoc comparisons performed on inflorescences of each sex revealed no differences of insect captures between intervals ranging from 3 h to 7 h after sunrise. On the contrary, insect captures in intervals at each extremities of the activity range (from 1 h to 3 h after sunrise and from 7 h to 9 h after sunrise) were significantly different of the previously cited period, except the two intervals ranging from 6 h to 8 h presenting no differences. The insect visits occurred in the same range of time on inflorescences of both sexes, peaking between the third and the sixth h after sunrise (83% of total insects) for male inflorescences and between the fourth and the seventh h after sunrise

(87% of total insects) for female inflorescences (Fig. 12A). More insects were trapped on male inflorescences, although mean number of captures were not significantly different between the inflorescences of the two sexes ($t = 1.99$; $P = 0.07$).

Among the 29,476 *G. hybridus* captured on *E. oleifera* Taisha, 12,908 and 16,568 insects were on ten female and nine male inflorescences, respectively. All 7,536 *G. hybridus* captured on *E. oleifera* Coari were on 11 female inflorescences because no male inflorescences were found at the time of the study (Fig. 12B). The average number of *G. hybridus* individuals captured on inflorescences varied significantly between each 20 min-interval of trapping for *E. oleifera* Taisha male ($Q = 39.7$; $P < 0.01$) and female inflorescences ($Q = 43.3$; $P < 0.01$; Fig. 12B) and for *E. oleifera* Coari female inflorescences ($Q = 46.2$; $P < 0.01$; Fig. 12B). Precise timing of *G. hybridus* activity was similar on both *E. oleifera* Taisha and *E. oleifera* Coari, with visits concentrated in a 1 h interval between 20 min before and 40 min after sunset (Fig. 2B). The visits in this interval represented 92.8% and 94.8% of total catches on male and female *E. oleifera* Taisha inflorescences, respectively, and 92.4% on *E. oleifera* Coari female inflorescences. The culmination of insect activity was perfectly synchronized on the two sexes of inflorescence of *E. oleifera* Taisha, with activity peaking on both precisely within the 0–20 min interval after sunset when 67% and 60% of catches on female and male inflorescences were recorded, respectively. Pairwise comparisons revealed that the average number of *G. hybridus* captured during this interval was significantly different from all other interval of trapping, for male and female sex of *E. oleifera* Taisha and for female sex of *E. oleifera* Coari. Insects were always trapped in lower numbers on female inflorescences in all time intervals; however, differences of mean captures between the inflorescence sexes of *E. oleifera* Taisha were only marginally significant ($t = 2.19$; $P < 0.05$).

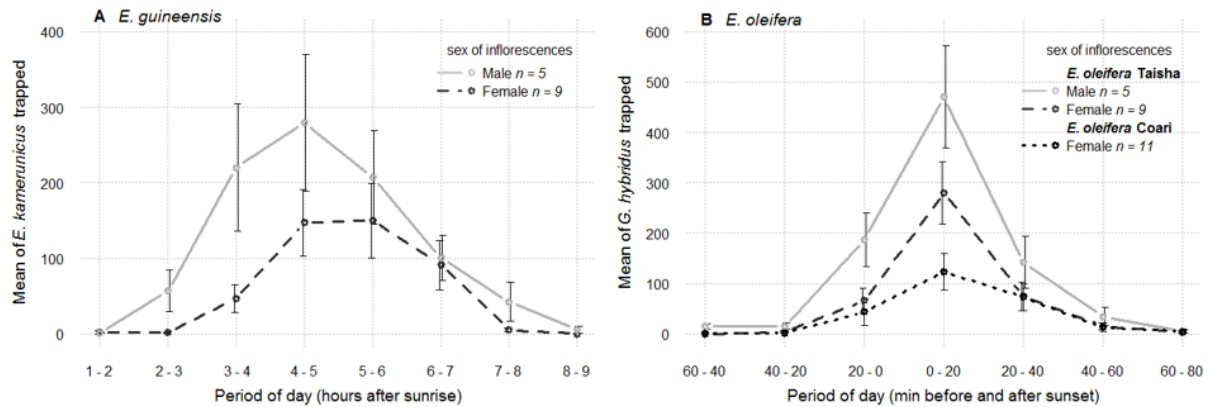


Figure 12 : . Precise visiting period of *E. kamerunicus* and *G. hybridus* on male and female inflorescences of *E. guineensis* (A) and *E. oleifera* Taisha and *E. oleifera* Coari (B). Average (\pm SEM) of the total number of insects captured hourly or per 20-min interval per inflorescence. *n* = number of inflorescences sampled.

Discussion

In this study, a unimodal pattern of flight activity was observed for the two derelomine weevil species *Elaeidobius kamerunicus* and *Grasidius hybridus*; notably, the diel pattern of activity differed between the two insect pollinator species depending on both the timing and the duration of the visiting period on the inflorescences of their respective host-palms, *E. guineensis* and *E. oleifera*. Whereas *E. kamerunicus* had an extended diurnal activity period ranging from 2 to 8 h after sunrise, *G. hybridus* had a short active period of flight that peaked precisely at dusk, ranging between 20 min before and 40 min after sunset. Consequently, *G. hybridus* is a crepuscular pollinator, and *E. kamerunicus* a diurnal pollinator.

To our knowledge, this is the first report of the precise flight activity of *G. hybridus*. *Grasidius hybridus* was introduced in the PDE plantation in 2003 from some spikelets of male inflorescences collected from a natural population of *E. oleifera* in Taisha in the Amazonian part of Ecuador (C. Louise, personal communication, Beserra 2003, unpublished data). Given this species is also found on inflorescences of *E. oleifera* in various Amazonian localities in Brazil (O'Brien et al. 2004), *G. hybridus* and *E. oleifera* likely coevolved in the Amazonian distribution area of *E. oleifera*. In this study, the diel pattern of activity for *G. hybridus* is similar regardless of the origin of *E. oleifera* (Taisha or Coari) in the PDE plantation, i.e., the visiting periods on the inflorescences of both palm types, are characterized by the same unimodal pattern, the same duration and take place at dusk. Interestingly, the nitidulid beetle *Mystrops*

costariscencis, which pollinate *E. oleifera* palms in the Pacific coast of Colombia and Ecuador and throughout Central America (Genty et al. 1986, Mariau and Genty 1988) share the same ecological niche that *G. hybridus*, whereas these species are geographically isolated by the Andes. Both species behave like crepuscular insects, making this behavior consistent for the pollinators of *E. oleifera*. Further studies on the complex of *E. oleifera* palms pollinators will be of interest as well as the study of the floral scent emission. The result on the insect behavior addressed the question on the occurrence of hypothetic rhythm of the release of the chemical signal that attract the insect. The result of the co-evolution could be an optimal adjustment between the release and the perception of the chemical signal.

According to our trapping data and frequent observations conducted during the day and at night, the activity pattern of *E. kamerunicus* in the PDE plantation is proven to be exclusively unimodal and occurring the morning. These findings are consistent with *E. kamerunicus* activity already reported in their African native area (Desmier de Chenon 1981), and in South America (Mariau et al. 1991, Chinchilla-López and Richardson 1990, Prada et al. 1998, Moura et al. 2010) and Asia (Tandon et al. 2001, Yue et al 2015) where the insect was introduced. The short, additional activity described by Mariau et al. (1991) in Colombia and Yue et al. (2015) on Hainan Island (China) was never observed in our experiment. It is known that environmental variables, such as temperatures or rainfall can shape the insect activity (Stone and Willmer 1989, Herrera 1990, Willmer and Stone 2004, Gottlieb et al. 2005). It would be interesting to study the activity of *E. kamerunicus* in different oil palm plantations with contrasting climatic factors to identify which are potentially responsible for shaping the activity of this insect.

Elaeidobius kamerunicus and *G. hybridus* were highly specific to their respective native host palm species. Although the two species of weevil were both in the PDE oil palm plantation and continually exposed to *E. guineensis* and *E. oleifera* growing in artificial sympatry, we never trapped or observed individuals of these insect species cross-attracted by the inflorescences of the other palm species. The synchronization between the timing of anthesis and the activity period of a pollinator insect likely increases plant reproduction (Herrera 1990). In both palm species, the visits of the respective pollinator insects are synchronized with the timing of anthesis for male and female inflorescences. The crepuscular visits of *G. hybridus* occur precisely when flowers on *E. oleifera* (Taisha or Coari) inflorescences of both sexes are

functional (pollen emission for male flowers or pollen receptivity for females; Auffray, unpublished data). Male and female flowers of *E. guineensis* become functional between 8:00 a.m. and 10:00 a.m. (Tandon et al. 2001), which matched the onset of the *E. kamerunicus* activity period. The insect activity is adjusted to the flower physiology for optimal pollination. Although *E. oleifera* and *E. guineensis* can artificially hybridize (Corley and Tinker 2003), a temporal specialization between mutualistic plant-insect partners could act as a reproductive barrier and lead to reproductive isolation of the two oil palm species in areas in which they are artificially sympatric, such as in the oil palm plantation of this study.

Both oil palm species and their specific pollinators are implicated in a mutualistic interaction. As other nursery pollination system in which insects develop at the expense of the floral structure of the host-plant they pollinate (Dufaÿ and Anstett 2003), *E. kamerunicus* and *G. hybridus* use male inflorescences of their respective oil palm species as a feeding site, consuming pollen released by freshly opened flowers, and as an oviposition site for larval development. Thousands *E. kamerunicus* can be found in a single *E. guineensis* male inflorescences in anthesis (Syed and Salleh 1988, Chinchilla et al. 1990), and *G. hybridus* individuals can reach between 30,000 to 50,000 individuals in *E. oleifera* Taisha male inflorescences (Auffray T., pers. obs.). Consequently, intraspecific competition for food and brood site may occur, and lead to the departure of insects looking for new sites. As see previously, the synchronicity between male inflorescence anthesis and insect activity is crucial for partner encounter. Although never demonstrated, female inflorescences are unrewarding, and insects likely visit them by mistake. By synchronizing the anthesis with the timing at which male inflorescences and insects interact, the efficiency of the cheating by female inflorescences could be increased. Thus, the perfect synchronicity between the functional phase of both sexes of palms and the activity pattern of insects could make the interaction beneficial for all partners, allowing the persistence of the mutualistic relation. However, pollinators could have innate preference for the honest male sex: other plant traits, such as similarity of the scents emitted by male and female inflorescences, can added to the activity synchronicity and impede insects to discriminate between sexes (Dufaÿ 2010).

We demonstrated a highly specific relation between the insect pollinators and their native palm species. The temporal specialization between insect activity and inflorescence anthesis ensure reproductive isolation among palms. The knowledge on the biology of pollinating insects could have important implication in the management strategy of pollination, e.g., the

artificial release of these insects at the period of receptivity of female inflorescences of the host-plant, or the improving of the efficiency of the assisted pollination by pollen intake on female inflorescences at the time of insect pollinator activity.

Acknowledgments

The authors thank Palmelit, Cirad and Danec for financial support and S. Gutt for hosting these experiments. We also thank PDE (Palmeras del Ecuador) oil palm plantation and C. Gallardo for their hospitality, logistical support and access to the palm plots for experiments. We are grateful for all the employees of PDE that contributed to this work, particularly E. Samaniego, M. Vargas, D. Ajila, O. Ajila, R. Alvarez, and A. Briseño, who assisted with trapping in the field and insect counts in the lab. T. Auffray thanks E. Samaniego and O. Carvajal for fruitful discussions about the experiments.

References cited

- Adam, H., M. Collin, F. Richaud, T. Beulé, D. Cros, A. Omoré, L. Nodichao, B. Nouy, and J. W. Tregear. 2011.** Environmental regulation of sex determination in oil palm: current knowledge and insights from other species. *Ann Bot.* 108: 1517–1527.
- Chinchilla-López, C. M., and D. L. Richardson. 1990.** Polinización en palma aceitera (*Elaeis guineensis* Jacq.) en Centroamérica. 1. Población de insectos y conformación de racimos. *Turrialba.* 40: 452–460.
- Corley, R. H. V. 2009.** How much palm oil do we need? *Environmental Science & Policy.* 12: 134–139.
- Corley, R. H. V., and P. B. Tinker. 2008.** *The oil palm*, 4th edition, 562 p. Blackwell Science Ltd., A Blackwell Publishing company, Oxford.
- Desmier de Chenon, R. 1981.** New data of the entomophily pollination of the oil palm in west Africa.
- Dufaÿ, M., and M.-C. Anstett. 2003.** Conflicts between plants and pollinators that reproduce within inflorescences: evolutionary variations on a theme. *Oikos.* 100: 3–14.
- Dufaÿ, M. 2010.** Impact of plant flowering phenology on the cost/benefit balance in a nursery pollination mutualism, with honest males and cheating females. *Journal of Evolutionary*

Biology. 23: 977–986.

- Genty, P., A. Garzon, F. Lucchini, and G. Delvare. 1986.** Polinización entomófila de la palma africana en América tropical. *Oleagineux*. 41: 99–112.
- Gilbert, F. 1985.** Diurnal activity patterns in hoverflies (Diptera, Syrphidae). *Ecological Entomology*. 10: 385–392.
- Gottlieb, D., T. Keasar, A. Shmida, and U. Motro. 2005.** Possible Foraging Benefits of Bimodal Daily Activity in *Proxycopa olivieri* (Lepeletier) (Hymenoptera: Anthophoridae). *Environmental Entomology*. 34: 417–424.
- Herrera, C. M. 1990.** Daily patterns of pollinator activity, differential pollinating effectiveness, and floral resource availability, in a summer-flowering Mediterranean shrub. *Oikos*. 58: 277–288.
- Hussein, M. Y., N. H. Lajis, A. Kinson, and C. B. Teo. 1989.** Laboratory and field evaluation on the attractancy of *Elaeidobius kamerunicus* (Faust) to 4- allylanisole. *PORIM Bulletin*. 20–26.
- Lajis, M. N., M. Y. Hussein, and R. F. Toia. 1985.** Extraction and identification of the main compound present in *Elaeis guineensis* flower volatiles. *Pertanika*. 8: 105–108.
- Mariau, D., and P. Genty. 1988.** IRHO contribution to the study of oil palm insect pollinators in Africa, South-America and Indonesia. *Oleagineux*. 43: 233–240.
- Mariau, D., M. Houssou, R. Lecoustre, and B. Ndigui. 1991.** Oil palm pollinating insects and fruitset rates in West Africa. *Oleagineux*. 46: 43–51.
- Moura, J. I. L., F. J. Cividanes, J. L. Pires, L. P. Santos, E. A. Santos, R. R. Valle, and J. H. C. Delabie. 2010.** Behavior of Curculionidae pollinators on oil palm inflorescences in the State of Bahia, Brazil. *Agrotrópica*. 22: 45–50.
- Núñez, L. A., R. Bernal, and J. T. Knudsen. 2005.** Diurnal palm pollination by mystropine beetles: is it weather-related? *Plant Systematics and Evolution*. 254: 149–171.
- O'Brien, C. W., P. Beserra, and G. Couturier. 2004.** Taxonomy of *Couturierius*, new genus and *Grasidius*, genus new to South America, palm flower weevils in the derelomini (Coleoptera, Curculionidae). *Revue Française d'Entomologie*. 26: 145–156.
- Opute, F. I. 1975.** Identification of p.Methoxyallylbenzene in the pollen of the oil palm *Elaeis guineensis* Jacq. *J. Exp. Bot.* 26: 619–623.
- Prada, M., D. Molina, D. Villarroel, R. Barrios, and A. Díaz. 1998.** Effectiveness of two pollinator species of the genus *Elaeidobius* (Coleoptera: Curculionidae) in oil palm. *Bioagro*. 10: 3–10.
- R Core Team. 2015.** R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for

Statistical Computing. www.R-project.org

- Stone, G. N., F. Gilbert, P. G. Willmer, S. G. Potts, F. Semida, and S. Zalut. 1999.** Windows of opportunity and the temporal structuring of foraging activity in a desert solitary bee. *Ecological Entomology*. 24: 208–221.
- Stone, G. N., and P. G. Willmer. 1989.** Warm-up rates and body temperatures in bees: the importance of body size, thermal regime and phylogeny. *Journal of Experimental Biology*. 147: 303–328.
- Syed, R. A., and A. Salleh. 1988.** Population of *Elaeidobius kamerunicus* FST in relation to fruit set, pp. 528–534. *In* Progress Prospects. Presented at the Proceedings of the 1987 International Oil Palm/Palm Oil Conferences, Kuala Lumpur, Malaysia.
- Syed, R. A. 1979.** Studies on oil palm pollination by insects. *Bulletin of Entomological Research*. 69: 213–224.
- Syed, R. A., I. H. Law, and R. H. V. Corley. 1982.** Insect pollination of oil palm: introduction, establishment and pollinating efficiency of *Elaeidobius kamerunicus* in Malaysia. *Planter*. 58: 547–561.
- Tandon, R., T. N. Manohara, B. H. M. Nijalingappa, and K. R. Shivanna. 2001.** Pollination and pollen-pistil interaction in oil palm, *Elaeis guineensis*. *Annals of Botany*. 87: 831–838.
- Torres Alarcón, E. 2013.** Avances en el desarrollo industrial del híbrido oxg en Palmeras del Ecuador. *Revista Palmas*. 34: 294–304.
- Willmer, P. G. 1983.** Thermal constraints on activity patterns in nectar-feeding insects. *Ecological Entomology*. 8: 455–469.
- Willmer, P. G., and G. N. Stone. 2004.** Behavioral, ecological, and physiological determinants of the activity patterns of bees, pp. 347–466. *In* *Advances in the Study of Behavior*. Elsevier.
- Yue, J., Z. Yan, C. Bai, Z. Chen, W. Lin, and F. Jiao. 2015.** Pollination activity of *Elaeidobius kamerunicus* (Coleoptera: Curculionoidea) on Oil Palm on Hainan Island. *Florida Entomologist*. 98: 499–505.

Chapitre 3

Dispersal abilities and population estimates of two pollinators of oil palm trees using the mark-recapture method

Dispersal abilities and population estimates of two pollinators of oil palm trees using the mark-recapture method

Auffray T.^{1,4}, Poveda R.², Louise C.³, Cilas C.¹, Frérot B.⁴, Beaudoin-Ollivier L.¹

Abstract

The pollination efficiency of the female inflorescences of the oil palm species *Elaeis guineensis* Jacq. and *E. oleifera* (Kunth) Cortés (Arecaceae: Arecales) is dependent on insects that develop in male inflorescences. These palm species hybridize; although natural pollination of the hybrid palms is deficient and requires assistance. We hypothesize that pollinator insects are poorly attracted to the hybrid inflorescences. As a demonstration, we compared the displacements on inflorescences of the two oil palm species and their hybrids and the dispersal abilities of two weevil pollinators, *Elaeidobius kamerunicus* F. and *Grasidius hybridus* O'Brien & Beserra (Coleoptera: Curculionidae) using a mark-recapture method coupled with trapping. Using the data, we provide a method to estimate the population levels of these insects. The results showed that both insect species move over a significantly higher distance in the hybrid plot than in plots of their respective host-palm species. *G. hybridus* dispersed wider than *E. kamerunicus*. The higher displacement of pollinators in the hybrid plot could be related to both the poor chemical attraction of insects by female inflorescences and the lack of male inflorescences, leading to foraging behavior to find a suitable host. The reliability of the mark-recapture method in estimating the population size and in the study of insect displacement in oil palm plantations is discussed. The data provided new information for improving the agronomical management of hybrid pollination and modelling oil palm pollinator dispersal in plantations.

Introduction

Different palm species are cultivated, among which oil palm have the most economic importance. Oil palm are represented by two species, including the African *Elaeis guineensis*

Jacquín (Arecaceae: Arecales) introduced in tropical area worldwide for oil production, and the American *Elaeis oleifera* (Kunth) Cortés native to Central and South America from Honduras to northern Brazil, much less cultivated. The interbreeding of these species lead to the production of interspecific hybrids (*E. oleifera* x *E. guineensis*).

The oil palm is monoecious, producing separate male and female inflorescences on the same palm in alternating cycles (Adam et al., 2007). Until the late 1970s, it was generally believed that the oil palm was wind pollinated (Hardon & Corley, 1976; Turner, 1978) until Syed (1979) found that the pollination was almost exclusively achieved by insects, mainly weevils of the genus *Elaeidobius*, among which *E. kamerunicus* F. (Coleoptera: Curculionidae) is the most efficient (Syed, 1979). Other pollinator insects have been found to pollinate the African oil palm in Southeast Asia, e.g., *Thrips hawaiiensis* Morg. (Coleoptera: Thysanoptera) (Syed, 1979), or in South America, e.g., *Mystryps costaricensis* Gill. (Coleoptera: Nitidulidae) and *Elaeidobius subvittatus* F. (Genty et al., 1986). The latter insects were found to also visit inflorescences of *E. oleifera*. These insects feed and complete the entirety of their life cycle on male inflorescences. The strong aniseed fragrance emitted during the anthesis of *E. guineensis* likely attracts *E. kamerunicus* (Opute, 1975; Lajis et al., 1985; Hussein et al., 1989), potentially promoted by the warming of the inflorescence (Genty et al., 1986). They also visit the female flowers during anthesis; they are likely attracted by the fragrance, which is similar to the human nose to that of the male flowers. Pollen-bearing insects quickly leave the receptive female inflorescences after visiting, probably deceived by the absence of a reward (Tandon et al., 2001). Such a phenomenon of pollination by beetles based on deceit is also known from some cycads (Norstog et al., 1986; Tang, 1987).

Elaeis guineensis was introduced to Ecuador decades ago and was cultivated in both the western and eastern parts of the country without associated pollinating insects. In 1985, *E. kamerunicus* was introduced from Africa to different South American oil palm plantations to increase the pollination and the palm oil yield (Syed, 1986; Chinchilla-López & Richardson, 1990; Corley & Tinker, 2008). A lethal disease, i.e., bud rot, which affects the African oil palm, was responsible for the destruction of plantations (Louise et al., 2007) but was prevented by the producing interspecific hybrids between *E. guineensis* and *E. oleifera*, resistant to bud rot. However, despite having an acceptable yield and tolerance to diseases, the hybrid palms suffer from deficient natural pollination, and assisted pollination is required. In Ecuador, native weevil pollinators such as *Grasidius* spp. and *Couturierius* spp. O'Brien & Beserra

(Coleoptera: Curculionidae) were identified and collected from a natural population of *E. oleifera* in Taisha, in Amazonian Ecuador, then introduced in a commercial oil palm plantation with the aim to improve hybrid pollination (Beserra, 2003, unpublished; O'Brien et al., 2004; Couturier, 2005, unpublished). Only the introduction of *G. hybridus* was successful. However, the natural pollination of the hybrid palms present in this oil palm plantation remained deficient despite the presence of both *E. kamerunicus* and *G. hybridus* as pollinators of the parental host-palm species *E. guineensis* and *E. oleifera*.

We hypothesize that the pollinator insects *E. kamerunicus* and *G. hybridus* are less attracted to hybrid palm inflorescences than to their native host palm. We studied the dispersal activity in the field by comparing the flight distances from a release point to the inflorescences of hybrid and host-palm species. We tracked the dispersal of marked pollinators on the inflorescences they visit through time and space using the mark-release-recapture technique. The following questions were addressed: Are the displacement patterns of *E. kamerunicus* and *G. hybridus* on palm inflorescences similar between hybrid palms and their respective host-palm species? Do the dispersal abilities differ between the two insect species? Further, we evaluate the reliability of this technique for the estimation of pollinator population levels.

Materials and Methods

Study site and plant materials

Six mark-release-recapture experiments were carried out in the Palmeras Del Ecuador commercial oil palm plantation (S -0.268325, W -76.552265), located approximately 15 km southeast of Shushufindi, Sucumbios Province, in Amazonian Ecuador during June 2015. This plantation (8,600 ha) is mainly composed of different interspecific hybrids (*E. oleifera* Coari x *E. guineensis* La Mé) (5,700 ha) and *E. guineensis* origin Deli x La Mé (2,900 ha). In addition, some plots of *E. oleifera* that originated in Taisha, Ecuador, (50 ha in total) are distributed through the plantation to fill in rough areas or shallows. The experiments were conducted using three different breeding populations: one *E. oleifera* Taisha plot (1.44 ha; 124 palms/ha) surrounded by interspecific hybrids (*E. oleifera* Coari x *E. guineensis* La Mé), one *E. guineensis* Deli x La Mé plot (6.1 ha; 143 palms/ha) surrounded by other *E. guineensis* Deli x La Mé plots and one interspecific hybrid plot (9.24 ha; 124 palms/ha), which were established in 2002,

2008 and 2011, respectively (Table 3). Additionally, a non-cultivated plot 1 km in length, which was laterally bordered by two non-cultivated plots, a plot of young palms that did not produce inflorescences and a plot of mature hybrid palms were used to evaluate the dispersal rate of pollinator insects.

Trapping

A passive interception trapping method was used to capture the insects that visited either the male or female inflorescences of the oil palm trees, as described by Beaudoin-Ollivier et al., 2017, submitted). The interception traps consisted of a transparent Plexiglas plate (200 x 145 x 4 mm) set 10 cm above an inflorescence and maintained in place by ties attached to the petioles of the palms. A glued transparent sheet (190 x 100 x 2 mm) was placed on each side of the plate before the activity period of the pollinator insects (Ripoll, 2009, unpublished). Within each experimental plot, all male and female inflorescences starting anthesis were daily equipped with a trap. The glued transparent sheets were removed daily from the Plexiglas plates and replaced with new glued sheets throughout inflorescence anthesis. The removed glued sheets were protected with plastic wrap before the insect counting. Both non-marked and marked insects captured on the traps were counted.

Insect material and marking method

Emerging *E. kamerunicus* were directly collected from decaying male *E. guineensis* inflorescences and stored in a mesh cage, whereas *G. hybridus* were collected at the adult stage on male *E. oleifera* inflorescences in anthesis. Insect marking was conducted by introducing groups of two to three hundred individuals into a plastic bag (140 x 100 mm) containing 20 mg of colored powder (BioQuip Products Inc, USA). The bag was shaken for 1-2 min, and the color-marked insects were then transferred into a mesh cage (300 x 300 x 300 mm) before being released in the field. Both red and yellow fluorescent powders were used for marking the insects according to (Loisel, 2015, unpublished). Prior to the mark-recapture experiment, each fluorescent powder was tested to estimate the effects on the mortality and take-off capability of each weevil species. After trapping, the marked insects were identified by visual inspection and color-revealed with a UV lamp; these identifications were subsequently confirmed under a stereomicroscope (x 45 Boeco BSZ-405, Hamburg, Germany).

Survival of colored powder-marked pollinator insects.

Fifty red-colored *E. kamerunicus* and 50 red-colored *G. hybridus* were separately introduced into mesh net containers (diam. 45 mm, h 70 mm). A small piece of wet tissue was the source of humidity. This experiment was conducted with unmarked insects as a control. A total of 5 replicates per treatment were carried out for each species. The survival of each species was recorded daily for 7 days.

Mark-release-recapture experiment

Among the 103 palm trees constituting the *E. oleifera* Taisha plot, 5 female and 12 male inflorescences in anthesis were equipped with a trap. Fifteen female and 24 male inflorescences in anthesis were equipped with a trap among the 883 palm trees within the *E. guineensis* plot. Forty-two female inflorescences in anthesis were equipped with an interception trap among the 1,096 palm trees in the interspecific hybrid plot (Table 1). Marked *E. kamerunicus* and *G. hybridus* were released from a central position in each experimental plot by opening the mesh cage for 20 min at the insect activity periods (from 10:10 a.m. and 06:30 p.m., respectively). A single release of 2,500 red-colored *G. hybridus* were released in the *E. oleifera* plot on 2015/06/10 (26.3°C, 78% r.h.). Five thousand and twenty-eight yellow-colored *E. kamerunicus* were released in the *E. guineensis* plot on 2015/06/11 (28.2°C, 77% r.h.). In the hybrid plot, two consecutive releases of both insect species were carried out: 2,500 yellow-colored *E. kamerunicus* (29°C, 79% r.h.) and 2,300 red-colored *G. hybridus* (27.7°C, 74% r.h.) were released on 2015/06/15, then 3,000 yellow-colored *G. hybridus* were released on 2015/06/16 (30°C, 69% r.h.), and finally, 3,000 red-colored *E. kamerunicus* were released on 2015/06/17 (28°C, 83% r.h.) (Table 3).

After each release of marked insects, the number of remaining insects in the cage (alive or dead) was counted and subtracted from the total number of insects. Traps with both marked and unmarked (i.e., wild) insects were collected at the end of the day for *E. kamerunicus* and early the next morning for *G. hybridus*.

The wind direction was assessed hourly during and after the insect releases using a meteorological Davis Vantage Pro2 Plus™ weather station (Davis Instruments Corp., Vernon Hills, IL, USA) located to the east of the oil palm plantation (S -0.290932, W -76.647592).

The distances of insect dispersal were established by calculating the distances from the

release point to the inflorescences that trapped the marked insects using satellite images acquired from Google Earth™, knowing that the palms are planted 8.50 x 9.50 m in the *E. oleifera* plot, 7.81 x 9 m in the *E. guineensis* plot, and 8.50 x 9.50 m in the hybrid plot, following an equilateral triangle. The maps were constructed in Quantum GIS (version 2.8.1 “Wien” 2015; Quantum GIS Development Team, Boston, USA). In each plot, each palm tree bearing either a male or a female inflorescence in anthesis equipped with an interception trap was numbered and represented on a map with the size of graphic symbols proportional to the number of marked insects recaptured (*E. kamerunicus* or *G. hybridus*), grouped by the classes of the captures.

Estimation of weevil population

The Lincoln–Petersen method was used to estimate the populations of the pollinator insects in the different experimental plots. Mark-and-recapture is a method commonly used in ecology to estimate an animal population size (Pollock, 2000). A portion of the population is captured, marked, and released. Later, another portion of marked individuals (in this study, insects captured from traps placed on inflorescences in anthesis) within the second sample should be proportional to the number of marked individuals in the whole population; an estimate of the total population size can be obtained by dividing the number of marked individuals by the proportion of marked individuals in the second sample.

The estimation is given by the Lincoln–Petersen index (Heyer et al., 1994):

$$N = (M \cdot n) / m$$

where:

N: the estimated population size

M: the number of individuals marked and released

n: the number of non-marked individuals captured

m: the number of marked individuals recaptured

The standard deviation (SD) is given by the formula (Bailey, 1951)

$$SD = \frac{m^2 \cdot N \cdot (N - M)}{M^2 \cdot (M + 1)}$$

The size of the population was estimated using the data collected from the trapping 24 h after release. During our mark-recapture study, there was no rainfall that might affect flying behavior.

Dispersal range experiment

This experiment aimed to study the dispersal potential of both insect species. Marked insects were released in an open field and recaptured on attractive traps distributed along an east-west axis. An attractive trap consisted of a female inflorescence at anthesis cut at the peduncle level and then placed in a white mesh cage, thereby allowing the release of fragrance. Four inflorescences were cut 20 min before the experiment began and were then placed at different distances from the insect release point along an east-west axis as follows: one trap at 100 m eastward, one trap at 100 m westward, one trap at 300 m westward and one trap at 800 m westward. The mesh cage containing marked insects remained open throughout the insect activity period (6 h and 30 min for *E. kamerunicus* and *G. hybridus*, respectively). All marked insects visiting an attractive trap were captured with a mouth aspirator and were then counted. Male inflorescences were discarded for this experiment due to pollen shedding during transport to the capture locations, which could create “attractive paths” detected by insects. This experiment was repeated 3 times for each insect species, including releases of 3,750, 8,700 and 5,242 marked *E. kamerunicus* and 8,878, 6,780 and 23,097 marked *G. hybridus*.

Results

Survival comparison between the two pollinator species

G. hybridus survived 6 days and *E. kamerunicus* 4 days. More than 75% of both the marked and unmarked *E. kamerunicus* died after the first two days, whereas mortality was still less than 50% after 3 days for *G. hybridus*. The survival of the marked and unmarked insects did not differ for the two insect species (Fig. 13).

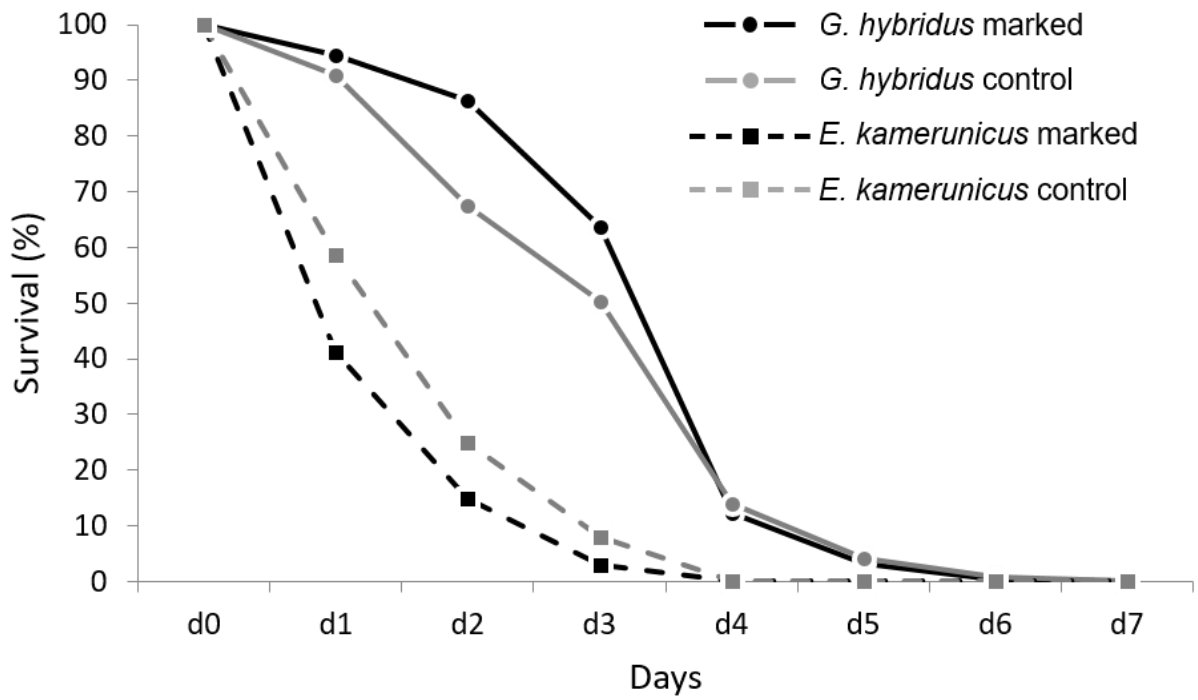


Figure 13 : Survival of marked and unmarked individuals (control) of *E. kamerunicus* and *G. hybridus*.

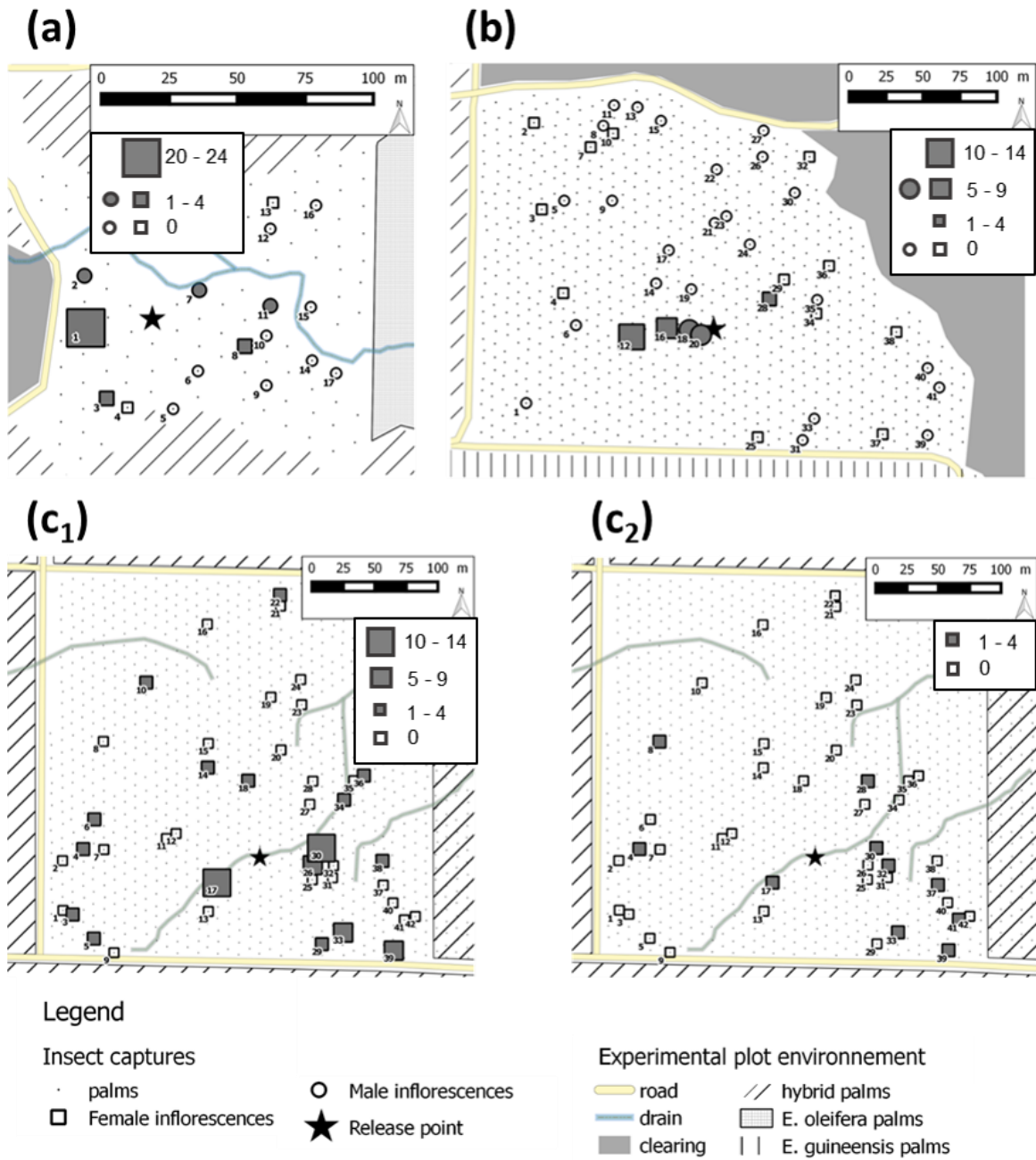


Figure 14 : Maps showing pollinator insects captured after release: (a) *E. oleifera* Taisha with *G. hybridus* captures, (b) *E. guineensis* La Mé with *E. kamerunicus* captures, (c) Interspecific hybrid *E. oleifera* Coari x *E. guineensis* La Mé with (c₁) *E. kamerunicus* captures and (c₂) *G. hybridus* captures. Square (female inflorescences) or circle (male inflorescences) sizes are proportional to the class of insect captures, indicated below each scale bar. Note the scale different on (a) compared to others maps.

Range of dispersal of the released pollinator insects

The results of the mark-recapture experiments are presented in Fig. 14.

In the *E. oleifera* plot, 94.2% of the marked *G. hybridus* flew successfully out of the mesh cage, and there was no mortality during the release. Along the 5 consecutive days of trapping, 38 of these marked insects, representing 1.52% of the total number released, were captured in traps on 6 inflorescences (3 females and 3 males) among the 17 inflorescences in anthesis. Among the marked individuals, 84.2% were recorded in traps n°1, n°3, n°7 and n°8 24 h after release, then 7.9% in traps n°1 and n°11 after 48 h, 5.3% in trap n°2 after 4 days and finally 2.6% in trap n°2 after 5 days (Fig. 14a). The minimum distance of capture from the release point was 20 m, whereas the maximum distance was 44 m (Fig.14 and Table 3). Among the recaptured *G. hybridus*, 68.4% were trapped at 25 m (female inflorescence n°1) and 10.5% at 34 m (female inflorescence n°3) from the release point. Additionally, 3,062 non-marked individuals were captured, representing 98.76% of the total captured (Fig. 14). *G. hybridus* was the only pollinator species trapped in the *E. oleifera* Taisha plot.

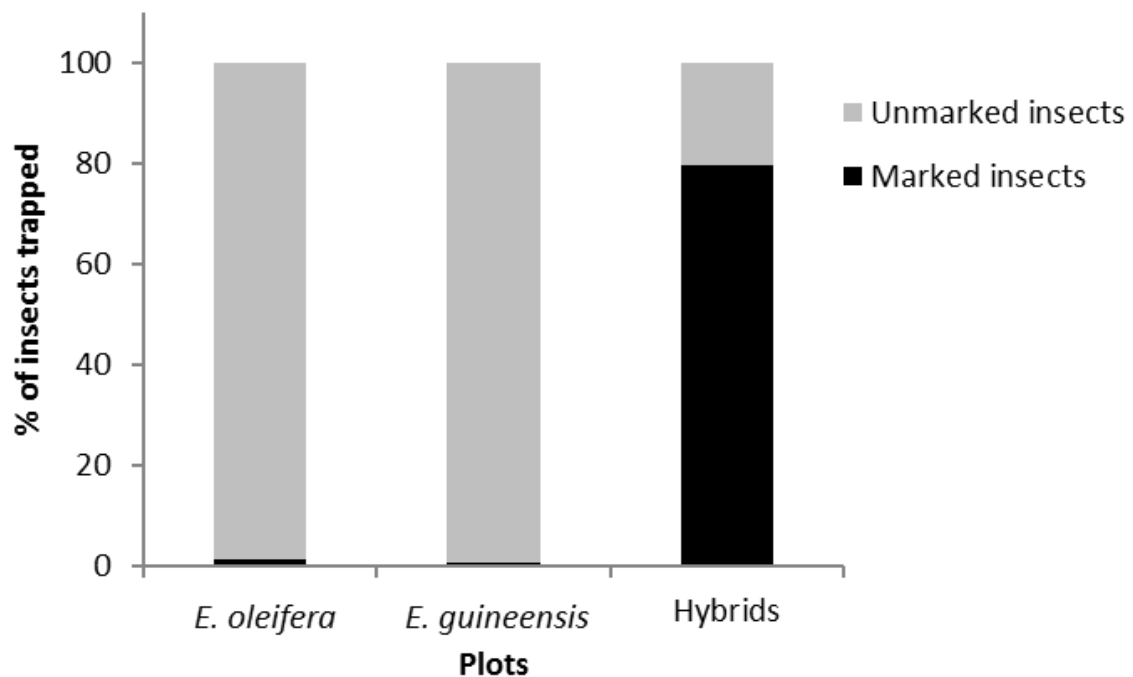


Figure 15 : Percentage of insects marked and recaptured in *E. oleifera*, *E. guineensis* and hybrid plots.

In the *E. guineensis* plot, 67% of the marked *E. kamerunicus* flew out of the cage, and 24.9% of the remaining weevils were dead. Thirty-five marked insects were captured, representing 0.7% of the released insects. All marked individuals were captured on the first day of trapping on 5 inflorescences (2 males and 3 females) among the 39 in anthesis (Fig. 14b), i.e., on inflorescences n°12, n°16, n°18, n°20 and n°28. The maximum distance of capture was 56 m from the release point, for which the highest number of recaptures was obtained (female inflorescence n°12 represented 34.3% of the marked *E. kamerunicus*) (Table 3). All other marked insects were captured on inflorescences close (< 20 m) to the release point i.e., female inflorescences n°16 (17.1% of the marked insects) and n°28 (5.7%) and male inflorescences n°18 (28.6%) and n°20 (14.3%) (Fig. 14b). Additionally, 6,105 non-marked individuals were captured, representing 99.43% of the total number captured (Fig. 15). Only *E. kamerunicus* was trapped in the *E. guineensis* plot.

In the hybrid plot, 94% and 85% of the *G. hybridus* individuals flew out of the cage during the first and the second release, respectively, whereas the percentages were lower for *E. kamerunicus*, with 75% and 80% of take-off success during the two respective releases. The mean mortality was 3.6% for *G. hybridus*, and 16.8% for *E. kamerunicus*. Out of all the marked insects, 74 *E. kamerunicus* and 23 *G. hybridus* were captured from the two consecutive releases, corresponding to 1.4% and 0.4% of the total released, respectively. Among the 42 female inflorescences in anthesis, insects were captured on 23 inflorescences, including 17 with *E. kamerunicus* captures, 10 with *G. hybridus* captures, and 4 with captures of both insect species (n°4, n°17, n°30 and n°39). Including the two successive releases, 90% of the marked *E. kamerunicus* was trapped the first day after the release, and the remaining were captured over the following 2 days. For *G. hybridus*, although 48% were captured the first day, some marked individuals were still captured 7 days after the start of the experiment. Concerning the distance of the flight, 54.1% of the marked *E. kamerunicus* were captured on the closest inflorescences (approximately 40 m) from the release point (female inflorescences n°17, n°26 and n°30), whereas 63.6% of the *G. hybridus* individuals were captured on inflorescences located in a range of 90 m or less from the release point (inflorescences n°17, n°28, n°30, n°32 and n°33) (Fig. 14c1 and 14c2). Marked *E. kamerunicus* were recaptured up to a distance of 210 m (female inflorescence n°22), and marked *G. hybridus* were found up to 155 m away (inflorescence n°8) (Fig. 14c1 and 14c2 and Table 3).

Table 3 : Summary of the results of the capture-mark-recapture experiment in different plots (Gh = *G. hybridus*, Ek = *E. kamerunicus*).

	palm types		
	<i>E. oleifera</i>	<i>E. guineensis</i>	Hybrids
Experimental area (ha)	1.44	6.10	9.24
Density (palms/ area)	124	143	124
No. of traps on female inflorescences	5	15	42
No. of traps on male inflorescences	12	24	–
No. of <i>E. kamerunicus</i> released	–	5,028	5,500
No. of <i>G. hybridus</i> released	2,500	–	5,300
Recaptured-marked insects / total marked-released (%)	1.52	0.7	0.93
Recaptured-marked insects / total captured (%)	1.23	0.57	79.5
Minimal distance from release (m)	20	17	39
Maximal distance from released (m)	44	56	155 (Gh) / 210 (Ek)
Population estimation (insect no. / palm)	5,634	13,887	–
Recapture time (days)	5	1	7 (Gh) / 5 (Ek)

Both insect species covered a significantly higher mean distance in the hybrid plot compared to their respective host-palm plot (*E. kamerunicus*: $W = 27,612$, $p\text{-value} = 0.01223$; *G. hybridus*: $W = 576$, $p\text{-value} < 0.001$) (Fig. 16). Alternatively, the mean distances covered by the two insect species were not significantly different in the hybrid plot ($W = 98,332$, $p\text{-value} = 0.16$) (Fig. 16).

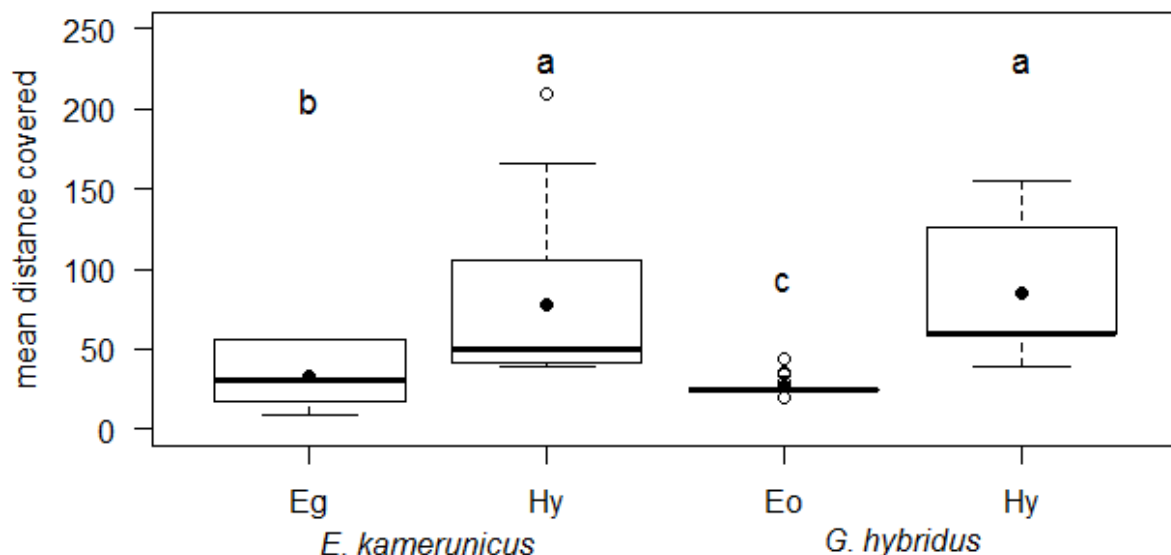


Figure 16 : Comparison of the mean distance (m) covered by *E. kamerunicus* and *G. hybridus* in plots of their respective host-palm species, *E. guineensis* (Eg) and *E. oleifera* (Eo), and in the hybrid plot (Hy). Within each boxplot, the black line represents the median and black dots represent the mean; boxes extend to the 25th and 75th percentiles, and whiskers extend to

the most extreme points ranging from the median. Identical letters indicate no significant differences (Dunn's test).

Estimation of the population from trapping data

In the *E. oleifera* plot, the size of the *G. hybridus* population was estimated to be $45,078 \pm 247$ from the individuals captured on 8 inflorescences in anthesis, corresponding to 5,634 *G. hybridus* per inflorescences. In the *E. guineensis* plot, the *E. kamerunicus* population size was estimated to be $83,321 \pm 123$ insects from 6 inflorescences in anthesis, corresponding to 13,887 *E. kamerunicus* per palm. The number of wild insects of both species was too small to estimate the size of their populations in the hybrid plot (Table 3).

Dispersal range of pollinator insects

G. hybridus was captured 800 m (1.82% of the total) away from the release point, whereas *E. kamerunicus* was no more captured beyond 300 m (Fig. 17). The numbers of captures were significantly different between each distance for both *E. kamerunicus* ($F = 32.61$, p -value < 0.001) and *G. hybridus* ($F = 36.31$, p -value < 0.001). More than 99% of the *E. kamerunicus* individuals and 82% of the *G. hybridus* individuals were trapped within 100 m from either side of the release point (Fig. 17). The mean take-off success from the mesh cages was 44.1% and 100% for *E. kamerunicus* and *G. hybridus*, respectively.

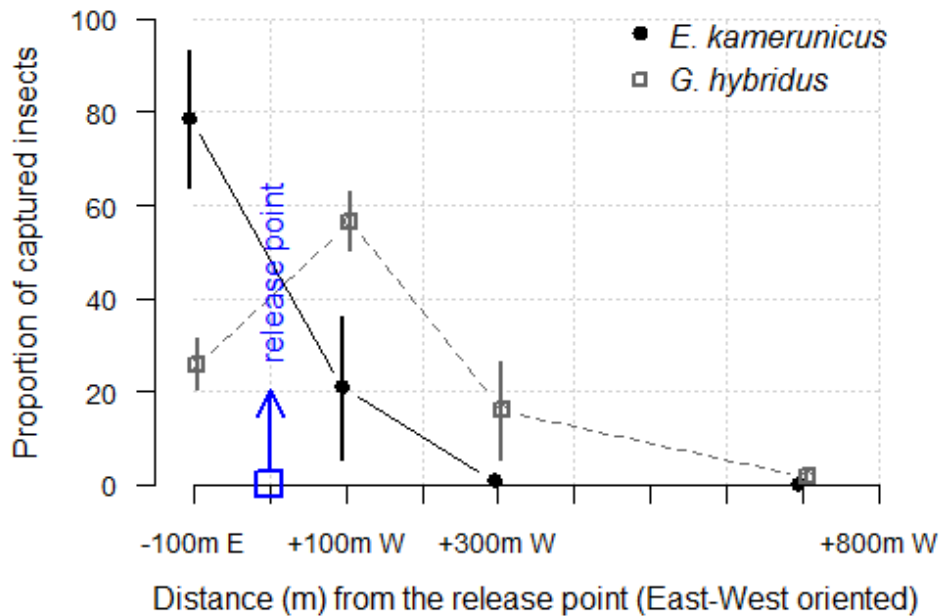


Figure 17 : Proportion of captures (mean \pm sd) of marked *E. kamerunicus* (black dots) and *G. hybridus* (gray squares) at 4 distances: Attractive traps were placed 100 m eastward, 100 m westward, 300 m westward and 800 m westward of the release point along an east-west axis. The release point is indicated by the arrow at 0 m on the x axis.

Discussion

The two pollinator weevils *E. kamerunicus* and *G. hybridus* exhibit different movement patterns within plots containing their respective host palms (*E. guineensis* or *E. oleifera*) and the interspecific hybrids; while individuals of both pollinator species flew until they reach inflorescences on palms closer to the place from which they take off in their respective host-palm plots, they move farther in the hybrid plot, corresponding to a putative prospection behavior. The influence of wind direction on insect movement was discarded due to a null or weak force (< 5 km/h, east to west oriented) during the experiments, except for the release of *E. kamerunicus* in the *E. guineensis* plot, for which the longitudinal-oriented direction of insect captures could be explained by local east-west gusts occurring during the release.

Such a variation in the displacement behavior of insects between the hybrid plot and the native host-palm plots should be linked to the biology of this plant-insect interaction. Generally, insects navigate and orient in a dynamic and complex chemical environment (Vickers, 2000; Riffell et al., 2014); therefore, the floral scents emitted by flowers provide

valuable cues to discriminate and locate hosts at long distances (Raguso, 2008; von Arx et al., 2011; Riffell et al., 2014). It is hypothesized that the strong anise-like fragrance emitted by male and female *E. guineensis* inflorescences give an exclusive, species-specific signal guiding *E. kamerunicus* to the inflorescences (Opute, 1975; Lajis et al., 1985; Hussein et al., 1989). The strong bell pepper-like fragrance emitted by the inflorescences of both sexes in *E. oleifera* probably act similarly in attracting *G. hybridus*. Thus, despite the spatial proximity of the plots containing each host-palm species, only *G. hybridus* was trapped in the *E. oleifera* plot, and only *E. kamerunicus* was trapped in the *E. guineensis* plot, indicating a high specificity of these insect species for their respective native palms, likely resulting from a coevolution process. The floral fragrances emitted by the hybrid palm inflorescences received little interest. Tan (1985) reported the hybrid inflorescences to be less attractive to *E. kamerunicus*, causing poor fruit set, and Gomes (2011) detected a lower floral emission of estragole compared to *E. guineensis*. Consequently, we assume that the higher dispersal rate of pollinator insects observed in the hybrid plot could be related to the poor chemical detection of hybrid inflorescences, leading to extended prospecting behavior to find hosts with appropriate fragrances. It could be interesting to compare both the composition and emission rates of floral fragrances between the hybrid and parental palms.

Male inflorescences were totally absent in all 1,096 palms of the experimental hybrid plot, whereas there were more male than female inflorescences in both the *E. guineensis* and *E. oleifera* plots. The deficit of male inflorescences on hybrid palms has already been reported in other studies (i.e., see Zambrano, 2004). Because *E. kamerunicus* and *G. hybridus* depend entirely on male inflorescences to complete their life cycle, the lack of this flower sex could impede the maintenance of sustainable populations of these species in plots with hybrid palms. In this study, we were unable to calculate the population level of either insect species in the hybrid plot due to the very low number of wild insects captured on the inflorescences, making any estimation attempt odd. The absence of a resident population in the hybrid plot is in accordance with previous observations reporting the poor natural pollination of hybrid female inflorescences (Meunier & Hardon, 1976) as well as the requirement of human pollination as a substitute for natural pollination. More researches are needed to test these assumptions, notably studies in plots in which hybrid palms exhibit a higher production of male inflorescences.

The dispersion range differs between *E. kamerunicus* and *G. hybridus*.

Our results indicate that *G. hybridus* flew over a longer distance than *E. kamerunicus*, although the former is active for significantly less time than the latter, i.e., approximately 20 min and 6 h, respectively (Auffray et al., 2017, submitted). Our study gives a dispersion range of *E. kamerunicus* (100 m with a maximum of 300 m) that is consistent with those previously determined in its natural range in Africa (less than 200 m during the activity period; Syed et al., 1982) or in Malaysia (spread of 500 m by 20 days after its artificial introduction; Syed, 1982). This is the first report of the flying dispersal of *G. hybridus*. The great distance covered by this insect species (800 m) is surprising compared to that of *E. kamerunicus*; we do not have an explanation for the different rates of dispersion between these two pollinators, considering they present similar ecologies. However, due to the very short, crepuscular period of activity of *G. hybridus* (Auffray et al., 2017, submitted), we hypothesize that this insect should quickly detect and cover a large distance to reach a suitable host. Both great and rapid dispersal have been reported for different bark beetle species, such as *Ips sexdentatus* Börner (Coleoptera: Curculionidae) (Jactel, 1991), which, like other saproxylic insects, need to widely explore the environment in search of a scarce and randomly distributed resource while avoiding adverse conditions (e.g., heavy rain).

We attempted to estimate the population levels of insects using a capture-mark-recapture method. The populations of *E. kamerunicus* and *G. hybridus* were estimated at 13,887 per palm and 5,634 per palm for *E. guineensis* and *E. oleifera*, respectively. This is the first time that the level of a *G. hybridus* population is estimated on the inflorescences of the host palm. The estimate of *E. kamerunicus* individuals per inflorescence is consistent with previous estimates obtained in other plantations, ranging between 2,500 and 30,000 insects in male inflorescences (Syed et al., 1982; Wood, 1985; Chiu et al., 1986), although the range in estimates is sometimes very large because of variations related to anthesis stage, palm age or season (Chiu et al., 1986; Chinchilla-López & Richardson, 1990). These estimates were generally conducted using time-consuming methods, such as directly counting samples or all weevils on various male spikelets or inflorescences (Chiu et al., 1986; Syed & Salleh, 1988). Estimation using the mark-release-recapture method appears to be particularly useful, time-saving and pertinent. However, the percentage of marked weevils recaptured was very low, not exceeding 1.2% in the *E. oleifera* plot, where it was the most captured. This low recapture rate is consistent with studies using the same methodology. For example, less than 0.3% of marked *Ips typographus* L. beetles (Coleoptera: Curculionidae) were recaptured in a 1-ha

experimental spruce plot (Franklin & Grégoire, 1999). Different factors could impact the recapture rate, such as the spatial scale (Schneider, 2003; Ranius, 2006), an underestimated dispersal rate (Ranius, 2006), or predation (e.g., spider webs within the vicinity of oil palm inflorescences; Ponnamma et al., 2006).

The use of fluorescent powders as a marking method is useful in studying the movement of oil palm pollinator insects in plantations because they do not affect the survival rates of either insect species compared to non-marked insects, and take-off success was high, exceeding 85% for *G. hybridus* and 67-80% for *E. kamerunicus*. Our experiments revealed that the powders are retained for several numbers of days on the hairy bodies of both insect species, allowing dispersal to be followed over the long term. The use of fluorescent powders is a simple, non-toxic, inexpensive method that allows large groups of individuals to be marked with different colors for comparison between groups (Hagler & Jackson, 2001). In addition, the combination of such marking with the regular monitoring of insect visits on inflorescences in anthesis through the trapping of insects on palms spatially distributed in a defined area (Beaudoin-Ollivier et al., 2017, submitted) is particularly appropriate for tracking the movement of *E. kamerunicus* and *G. hybridus* through time and space, as also demonstrated for other insects such as *Pissodes strobi* Peck (Coleoptera: Curculionidae) (McIntosh, 1999).

This study presents mark-recapture as a reliable method for studying oil palm pollinator movements in plantations. The consequence of the artificial hybridization between *E. guineensis* and *E. oleifera* as well as the need—for economical purposes—of a high palm oil yield led to the strong femininity of hybrid palms at the expense of male inflorescences, which serve as a brooding site for pollinators. Thus, the insect population level is not sufficient to ensure the satisfactory pollination of the hybrid female inflorescences, and the apparent avoidance of these inflorescences by the insects could be related to the fragrances that did not match with the insect preferences. *E. kamerunicus* and *G. hybridus* have different dispersal abilities, opening perspectives in agronomical management, particularly in terms of the spatial arrangement of parental palm plots within hybrid plots to ensure constant pollinator flows and therefore sufficient pollination. Pollinator movement modelling in oil palm plantations should be an interesting application resulting from this work, but the estimation of parameters influencing insect dispersal (e.g., climatic conditions, landscape structure, physiological state of insects) must be further studied.

Acknowledgments

The authors acknowledge Mr. Camilo Gallardo, manager of the Shushufindi plantation at PDE and Ing. Enrique Torres for providing facilities for the field and laboratory investigations. We wish to thank Edwin Samaniego for field supervision, trap set up, specimen collection and data recording. We are grateful to Mr. Philippe Amblard for his helpful comments on earlier versions of this manuscript. The results described form part of Thomas Auffray's Ph.D. thesis. This study was supported by Danec, Cirad and PalmElit SAS. We are grateful to our colleagues for fruitful discussions on subjects relevant to this paper.

References

- Adam H, Jouannic S, Morcillo F, Verdeil J-L, Duval Y & Tregear JW (2007) Determination of flower structure in *Elaeis guineensis*: Do palms use the same homeotic genes as other species? *Annals of Botany* 100:1–12.
- Auffray T, Frérot B, Poveda R, Louise C, Beaudoin-Ollivier L (2017) Diel periodicity of activity in two oil palm pollinator insects. *Journal of Insect Science*
- von Arx M, Schmidt-Büsser D & Guerin PM (2011) Host plant volatiles induce oriented flight behaviour in male European grapevine moths, *Lobesia botrana*. *Journal of Insect Physiology* 57:1323–1331.
- Bailey NT (1951) On estimating the size of mobile populations from recapture data. *Biometrika*:293–306.
- Beaudoin-Ollivier L, Flori A, Syahputra A, Nodichao L, Poveda R & Louise C (2017) New trapping method to study *Elaeidobius spp.* and *Grasidius hybridus* population activity (Coleoptera: Curculionidae) during oil palm anthesis. *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*.
- Beserra P (2003) Informe de avance del programa de introducción de insectos polinizadores nativos en PDE.
- Chinchilla-López CM & Richardson DL (1990) Polinización en palma aceitera (*Elaeis guineensis* Jacq.) en Centroamérica. 1. Población de insectos y conformación de racimos. *Turrialba* 40:452–460.
- Chiu SB, Khoo KC & Hussein MY (1986) A method of estimating the natural population of the pollinating weevil *Elaeidobius kamerunicus* Faust, of oil palm [*Elaeis guineensis*].
- Corley RHV & Tinker PB (2008) *The oil Palm*. 4th edn. Blackwell Science, Oxford, UK.
- Couturier G (2005) Informe de seguimiento de la introducción de insectos polinizadores en la plantación palmeras del Ecuador - Shushufindi.
- Franklin AJ & Grégoire J-C (1999) Flight behaviour of *Ips typographus* L.(Col., Scolytidae) in an environment without pheromones. *Annals of forest science* 56:591–598.

- Genty P, Garzon A, Lucchini F & Delvare G (1986) Polinización entomófila de la palma africana en América tropical. *Oleagineux* 41:99–112.
- Gomes SMDS (2011) Polinizadores e semioquímicos do dendezeiro híbrido (*Elaeis oleifera* Cortés x *Elaeis guineensis* Jacq).
- Hagler JR & Jackson CG (2001) Methods for marking insects: current techniques and future prospects. *Annual review of entomology* 46:511–543.
- Hardon JJ & Corley RHV (1976) Pollination. Oil palm research. R.H.V. Corley, J.J. Hardon and B.J. Wood. Elsevier, Amsterdam, pp 89–108.
- Heyer WR, Donnelly MA, Foster MS & McDiarmid RW (1994) Measuring and monitoring biological diversity: Standard methods for amphibians. Smithsonian Institution Press, Washington, DC.
- Hussein MY, Lajis NH, Kinson A & Teo CB (1989) Laboratory and field evaluation on the attractancy of *Elaeidobius kamerunicus* Faust to 4- allylanisole. *PORIM Bulletin*:20–26.
- Jactel H (1991) Dispersal and flight behaviour of *Ips sexdentatus* (Coleoptera: Scolytidae) in pine forest. *Annales des sciences forestières*. EDP Sciences, pp 417–428.
- Lajis MN, Hussein MY & Toia RF (1985) Extraction and identification of the main compound present in *Elaeis guineensis* flower volatiles. *Pertanika* 8:105–108.
- Loisel C (2015) Comparaison de différentes poudres destinées au marquage de masse d'*Elaeidobius kamerunicus* (Coleoptera : Curculionidae).
- Louise C, Amblard P, Franqueville H de, Benavides D & Gallardo C (2007) Investigaciones dirigidas por el Cirad sobre las enfermedades del complejo pudrición del cogollo de la palma aceitera en Latinoamérica. *Revista Palmas* 28:345–362.
- McIntosh RL (1999) Technique for labeling individual *Pissodes strobi* (Coleoptera: Curculionidae) for mark-recapture studies. *The Canadian Entomologist* 131:131–136.
- Meunier J & Hardon JJ (1976) Interspecific hybrids between *Elaeis guineensis* and *Elaeis oleifera*. :127–138.
- Norstog KJ, Stevenson DW & Niklas KJ (1986) The role of beetles in the pollination of *Zamia furfuracea* L. fil. (Zamiaceae). *Biotropica* 18:300–306.
- O'Brien CW, Beserra P & Couturier G (2004) Taxonomy of *Couturierius*, new genus and *Grasidius*, genus new to South America, palm flower weevils in the derelomini (Coleoptera, Curculionidae). *Revue Française d'Entomologie*. 26:145–156.
- Opute FI (1975) Identification of p.Methoxyallylbenzene in the pollen of the oil palm *Elaeis guineensis* Jacq. *Journal of Experimental Botany* 26:619–623.
- Pollock KH (2000) Capture-recapture models. *Journal of the American Statistical Association* 95:293–296.
- Ponnamma KN, Sajeebkhan A & Vijayan A (2006) Adverse factors affecting the population of pollinating weevil, *Elaeidobius kamerunicus* F and fruit set on oil palm in India. *Planter* 82:555–557.
- Raguso RA (2008) Wake up and smell the roses: the ecology and evolution of floral scent.

- Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics 39:549–569.
- Ranius T (2006) Measuring the dispersal of saproxylic insects: a key characteristic for their conservation. *Population Ecology* 48:177–188.
- Riffell JA, Shlizerman E, Sanders E, Abrell L, Medina B, Hinterwirth AJ & Kutz JN (2014) Flower discrimination by pollinators in a dynamic chemical environment. *Science* 344:1515–1518.
- Ripoll J (2009) Interaction entre les inflorescences du palmier à huile *Elaeis guineensis* J. et leurs pollinisateurs du genre *Elaeidobius* spp. F. (Coleoptera : Curculionidae) en Afrique de l'Ouest.
- Schneider C (2003) The influence of spatial scale on quantifying insect dispersal: an analysis of butterfly data. *Ecological Entomology* 28:252–256.
- Syed RA (1979) Studies on oil palm pollination by insects. *Bulletin of Entomological Research* 69:213–224.
- Syed RA (1982) Insect pollination of oil palm: feasibility of introducing *Elaeidobius* spp. into Malaysia. *Incorporated Society of Planters*, pp 263–289.
- Syed RA (1986) Factibilidad de la introducción de *E. kamerunicus* en Colombia. *Revista Palmas* 7:11–15.
- Syed RA, Law IH & Corley RHV (1982) Insect pollination of oil palm: introduction, establishment and pollinating efficiency of *Elaeidobius kamerunicus* in Malaysia. *Planter* 58:547–561.
- Syed RA & Salleh A (1988) Population of *Elaeidobius kamerunicus* FST in relation to fruitset. *Progress Prospects*. Kuala Lumpur, Malaysia, pp 528–534.
- Tan YP (1985) Weevil pollination in the *Elaeis oleifera* x *Elaeis guineensis* hybrid. *Palm Oil Res. Inst. Malaysia*, pp 34–40.
- Tandon R, Manohara TN, Nijalingappa BHM & Shivanna KR (2001) Pollination and pollen-pistil interaction in oil palm, *Elaeis guineensis*. *Annals of Botany* 87:831–838.
- Tang W (1987) Insect pollination in the Cycad *Zamia pumila* (Zamiaceae). *American Journal of Botany* 74:90.
- Turner PD (1978) Some aspects of natural pollination in oil palm (*Elaeis guineensis*). *Planter* 54:310–328.
- Vickers NJ (2000) Mechanisms of animal navigation in odor plumes. *The Biological Bulletin* 198:203–212.
- Wood BJ (1985) Some consequences of weevil pollination of the oil palm in South East Asia. *Planter* 61:423–438.
- Zambrano JE (2004) Los híbridos interespecíficos *Elaeis oleifera* HBK. x *Elaeis guineensis* Jacq.: una alternativa de renovación para la Zona Oriental de Colombia. *Revista Palmas* 25:339–349.

Chapitre 4

Floral Scent Chemistry and Intersexual Mimicry in the American Oil Palm *Elaeis oleifera* (Knuth), Cortés (Arecaceae)

Floral Scent Chemistry and Intersexual Mimicry in the American Oil Palm *Elaeis oleifera* (Knuth), Cortés (Arecaceae)

Thomas Auffray^{1,2}, Centina Pinier², Laurence Beaudoin-Ollivier¹ and Brigitte Frérot²

¹Cirad, UPR Bioagresseurs, Avenue du Campus Agropolis, F-34398 Montpellier, France.

²Inra, UMR IEES, Route de Saint-Cyr, F-78026 Versailles, France.

Abstract –

The American oil palm *Elaeis oleifera* (Knuth), Cortés (Arecaceae) is pollinated by a mutualistic weevil, *Grasidius hybridus* O'Brien and Beserra (Coleoptera: Curculionidae), which use male inflorescences as a brood site. Female inflorescences are deceitful, consequently we suppose the pollination success depends on the resemblance of the chemical signal with male inflorescences. In an oil palm plantation, we tested the floral chemical mimicry hypothesis by comparing male and female scents of *E. oleifera* palms coming from two geographically distant populations in Ecuador (Taisha) and in Brazil (Coari). By using GC-MS analysis, we demonstrated that the dominant compound of floral scents was the benzenoid estragole for *E. oleifera* Coari, and the two sesquiterpenes cyclosativene and alpha-copaene for *E. oleifera* Taisha, whereas the nitrogen-bearing compound 2-isobutyl-3-methoxypyrazine was among the major compounds in both palm populations. We did not detect significant chemical differences between scents of male and female inflorescences in *E. oleifera* Taisha, suggesting that the pollination relies on an intersexual chemical mimicry, reinforced by the synchronicity of the anthesis of both sexes. Despite our expectation of a similar floral scents between *E. oleifera* Taisha and *E. oleifera* Coari, both pollinated by the same weevil species in the natural population and in our study site, we evidenced significant chemical differences, revealing a floral chemical diversity of *E. oleifera* through its distribution area, as well as the putative role of 2-isobutyl-3-methoxypyrazine in weevil attraction as it was the unique dominant compound shared by palms from both populations.

Key Words - *Elaeis oleifera* Coari, *Elaeis oleifera* Taisha, *Grasidius hybridus*, intersexual chemical mimicry, pollination by deceit, oil palm.

Introduction

Floral scents are complex mixtures of volatile organic compounds (VOCs) providing important signals to attract pollinators over relatively long distances and indicate the presence of floral rewards (Raguso 2008). Qualitative and quantitative variations in the composition of VOCs make floral scents one of the most highly diversified traits of plants, enabling them to mediate interactions with a large spectrum of pollinators, ranging from generalists to highly specialized (Knudsen et al. 2006 ; Dobson 2006). Nursery pollination system is considered among the most specialized plant-insect interactions and consists of an obligate mutualism in which insects develop at the expense of the reproductive parts of the plant they pollinate (Dufaÿ and Anstett 2003; Hossaert-McKey et al. 2010). The close interdependence between the two partners to assure the reproduction of both, as well as the need to renew the interaction at each generation, require to secure the encounter through an exclusive, specific signal (Hossaert-McKey et al. 2010), provided by the emission of either an unique compound (termed as “private channel”; Raguso 2008a; Chen et al. 2009; Schäffler et al. 2015), or a specific blend of common compounds (Svensson et al. 2010). However, most plants implicated in such obligate systems are dioecious, i.e. sexes are separate, with only the male sex rewarding pollinators as a brood site and with food, whereas the female sex is generally rewardless (Willson and Agren 1989; Hossaert-McKey et al. 2010). Selection should favor pollinators capable to discriminate between the two sexes with unequal reward, leading to the putative avoidance of the deceptive sex. Consequently, the signal provided by the deceitful sex should be selected to resemble to that of the rewarding sex, thus exploiting the pollinator preferences for the signal indicative of the presence of reward (Ashman 2009) and impeding them to discriminate. The “intersexual mimicry” hypothesis is crucial to assure the pollen movement between the two sexes and maintain the mutualistic relation with the obligate pollinator. However, the similarity of floral scents between sexes in dioecious plants has only been evidenced in a few plant-pollinator interactions, e.g. fig-fig wasp, while most of the other taxonomic groups remain largely unexplored (Ashman 2009; Hossaert-McKey et al. 2010).

Palms (Arecaceae) represent a very diversified group of plants (about 2600 described species; Baker and Dransfield 2016), among which several species have been documented as implicated in a nursery pollination system with specific insects – generally weevils and nitidulid

beetles (Coleoptera: Curculionidae and Nitidulidae, respectively) - which develop into the male inflorescences of the host-palm (Syed 1979; Genty et al. 1986; Henderson 1986; Mariau and Genty 1988; Listabarth 1994; Listabarth 1996; Dufaÿ et al. 2004; Franz and Valente 2006; Barfod et al. 2011). Floral scent chemistry, which is thought to mediate attraction of pollinators, has not received much interest. Available studies focused on the characterization of floral scents in around 20 palm species have reported the dominance of common fatty acid derivatives or uncommon methoxylated benzenoids and nitrogen-compounds in beetle-pollinated palm species (Lajis et al. 1985; Ervik et al. 1999; Knudsen et al. 2001; Núñez et al. 2005), whereas terpenoids were the dominant class of compounds in floral scents of palm species considered as bee- and fly-pollinated (Ervik et al. 1999; Knudsen et al. 1999; Knudsen et al. 2001; Meekijjaroenroj et al. 2007). Despite the marked sexual dimorphism, the scents emitted by male and female inflorescences at anthesis were reported as similar in various palm species (Ervik et al. 1999; Knudsen et al. 1999; Knudsen et al. 2001). In the dwarf palm *Chamaerops humilis* L. no qualitative differences in insect-attractive leaf scents was detected between of male and female individuals (Dufaÿ et al. 2004). The question whether the floral intersexual mimicry rules the pollination system in palms requires more extensive studies in this group of angiosperm.

Investigation of palm species with an obligate pollination system would contribute to our understanding of the floral intersexual mimicry in this group of plants. The present study focuses on the South-American oil palm, *Elaeis oleifera* (HBK) Cortés (Arecaceae: Arecoideae), the pollination ecology of which has been poorly documented. Although morphologically monoecious, *E. oleifera* unisexual male and female inflorescences are produced in alternative phases, so there is no overlap of the two sexes on the same plant making this palm species functionally dioecious (*sensu* Adam et al. 2005), and thus requiring cross-pollination. Recent studies have provided evidence of a highly-specialized interaction with the newly described, derelomine weevil *Grasidius hybridus* O'Brien and Beserra (Coleoptera: Curculionidae), revealed by prospections in *E. oleifera* natural populations across Amazonia (O'Brien et al. 2004), as well as by preliminary studies conducted in an Ecuadorian commercial oil palm plantation in which the palm tree and its respective pollinators were introduced (Beserra 2003, unpublished; Auffray et al., 2017, submitted): *E. oleifera* is exclusively pollinated by *G. hybridus*, which only reproduce by laying the eggs in male inflorescences. Even though female inflorescences seem not to provide any edible reward or brood site for pollinators, weevils

visit synchronously male and female inflorescences during the short crepuscular period of activity, precisely matching with the anthesis phase (the opening of flowers) of inflorescences of both sexes (Auffray et al., 2017, submitted). Additionally, the emission of a strong bell-pepper-like scent characterizing the anthesis, associated with a pronounced sexual dimorphism (Fig. 1) suggest an intersexual mimicry through similar floral scents of both sexes to achieve weevil attraction. In this study, we characterized for the first time the floral scent of *E. oleifera* using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) analysis. Our principal objective was to compare and identify differences in the VOCs emitted by male and female inflorescences at the anthesis stage. An additional objective was to study composition differences in floral scent of *E. oleifera* originated from two geographically distant populations (Brazil and Ecuador), because we expected that they share closely similar floral scent chemistry as palms from both localities are indistinctly visited by *G. hybridus* (Auffray et al., 2017, submitted).

Materials and methods

Plant material and study site

The study was performed in the commercial Palmeras del Ecuador (PDE) plantation (76°35'W, 0°17'S, alt. ca. 250m), Sucumbios Province, Ecuador, between March 2014 and August 2015. This plantation is comprised of plots of the African oil palm *E. guineensis* and scattered fragments of *E. oleifera* inserted in a matrix of hybrid palms *E. guineensis* x *E. oleifera*. Floral scents were sampled from some *E. oleifera* palms planted in 2004 with seeds collected in a natural population of *E. oleifera* in Taisha, Pastaza Province, Ecuador (thereafter referred to as *E. oleifera* Taisha), and from *E. oleifera* planted in 2011 from seeds collected in natural population in Coari, Amazonas Estate, Brazil (thereafter referred to as *E. oleifera* Coari). Floral scents of 4 *E. oleifera* Coari planted in 1997 were additionally sampled in Palmeras de los Andes (PDA) oil palm plantation (79°25'W, 0°07'S, alt. ca. 150m), Esmeralda Province, Ecuador, in July 2014. The fibrous bracts covering the pistillate inflorescence of *E. oleifera* Coari during the anthesis phase were the principal floral morphologic difference compared to the pistillate inflorescence of *E. oleifera* Taisha (Fig 18). Unfortunately, no functional staminate inflorescences were observed in *E. oleifera* Coari during our study period.

Floral scent collection

We used the headspace method to collect floral volatiles from male and female inflorescences of *E. oleifera* Taisha and *E. oleifera* Coari: inflorescences in anthesis were entirely enclosed within PET bags (Albal, 60 cm x 55 cm) prior to sampling to create a volume of “headspace” air and concentrate volatiles. Bags were sealed with tapes at the inflorescence base to limit volatile leak or pollutants entry. Volatiles were allowed to equilibrate for 15 min at ambient temperature (typically between 25°C and 30°C), then collected by inserting a solid-phase microextraction fiber (SPME fiber, 50/30µm Divinylbenzene/Carboxen/Polydimethylsiloxane coated, Supelco (Sigma Aldrich) Bellefonte, PA, USA) in the headspace through a small hole at the top of the bag (sealed with tape after SPME insertion). The SPME fiber was exposed between 5:30 p.m. and 7:30 p.m. corresponding to the visiting activity range of the main pollinator *Grasidius hybridus* (Coleoptera : Curculionidae) (Auffray et al. 2017, submitted). Controls corresponding to ambient air samples simultaneously collected from open empty bags was used to identify background contamination. After each floral scent collection, each SPME was removed and individually wrapped in aluminum foil and inserted in a screw-capped Pyrex tube, then stored in a refrigerator until analysis.

Gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS) analysis and compound identification

Volatile samples were analyzed using a Bruker Scion 436-GC coupled to a Bruker Scion SQ electron impact quadrupole mass spectrometer. The GC was equipped with a non-polar fused silica capillary column (Rxi[®]-5SilMS, Restek) of 30 m length x 0.32 mm internal diameter, coated with a 0.25 µm film thickness. Each SPME fiber was manually inserted in the GC-injector and volatiles were desorbed at 250°C in splitless mode. The oven temperature program was initially 50°C and increased to 300°C at 8°C/min. Helium N60 was used as carried gas at a constant flow of 2mL/min⁻¹. Compound detection was performed in electron impact at 70eV in full scan mode, with mass scanning from 35 m/z to 400 m/z. Peak compounds in the resulting chromatograms were integrated after spectral deconvolution process using Amdis software (v. 2.71, www.amdis.net). Kovats retention indices were generated for all detected compounds present in our samples, using the retention times of authentic alkane standards (C₁₀ -C₂₄) injected in the same GC column with the same temperature program.

Compound identification was carried out using NIST 11 mass spectral database (www.nist.gov) and the identity confirmed by both comparison of retention indices with published data (Adams 2007; Babushok et al. 2011) and matching with injected authentic compounds obtained from Sigma-Aldrich (www.sigmaaldrich.com).

Statistical analysis

All statistical analysis and visualization were performed using R software (v. 3.2.2; R Development Core Team; URL: <http://www.R-project.org>). Non-metric multidimensional scaling (NMDS) incorporated in the *Vegan* package (Oksanen et al. 2013) was used to visualize patterns of variation in scent composition among samples. A data matrix was built where each individual compound present in a sample was expressed as a proportion of the maximum peak area of the compound in all samples. The Bray-Curtis index was used to generate a distance matrix of pairwise similarity between all samples. NMDS allows for a two-dimensional visualization of the distribution of each sampled inflorescence in the space, based on the composition of the chemical profiles. The quality of NMDS visualization depends on a “stress” value: the smaller the stress value, the less is the loss of information when passing from a multidimensional to a two-dimensional representation. We tested for statistical differences in the relative scent composition between *E. oleifera* Taisha and *E. oleifera* Coari, and between staminate and pistillate inflorescences of *E. oleifera* Taisha, performing a permutational multivariate analysis of variance (Permanova) on the distance matrix using *adonis* function of the *Vegan* package (Oksanen et al. 2013). The SIMPER function included in the *Vegan* package was used to estimate the average dissimilarity and identify the floral compounds that best explained differences among groupings.

All identified compounds were grouped by chemical class based on their biosynthetic pathway (Pichersky and Gershenzon 2002; Knudsen et al. 2006), then differences in relative proportion for four major classes of compounds (see results) were tested between both *E. oleifera* populations and inflorescence sexes of *E. oleifera* Taisha. A simple t-test was performed on the relative proportion matrix after normality of data was checked.

Results

The chemical composition of floral volatiles emitted during anthesis of *E. oleifera* Taisha

male and female inflorescences and *E. oleifera* Coari female inflorescences (including samples of palms of 4-years old and 18-years old from PDE and PDA oil palm plantations, respectively) is indicated in **Table annexe 7**. The compounds are ordered in classes reflecting their biosynthetic pathway (see [Knudsen et al. 2006](#)) and listed according to Kovats retention index (RI). Overall, 73 volatile constituents were identified in the scent of *E. oleifera*, including 21 benzenoids, six fatty acid derivatives, 41 terpenoids (one irregular terpene, six monoterpenes and 34 sesquiterpenes), 1 sulphur-containing and two nitrogen-containing compounds. Sixty-six volatile compounds were detected for *E. oleifera* Taisha male inflorescences, while the number of compounds were fewer for females, with 62, 58 and 47 compounds recorded from *E. oleifera* Taisha, *E. oleifera* Coari from PDA and *E. oleifera* Coari from PDE, respectively. Only eight compounds were identified in all samples, including p-xylene, benzaldehyde, estragole, 2-isobutyl-3-methoxypyrazine, cyclosativene, α -copaene, delta-cadinene and trans-calamenene.

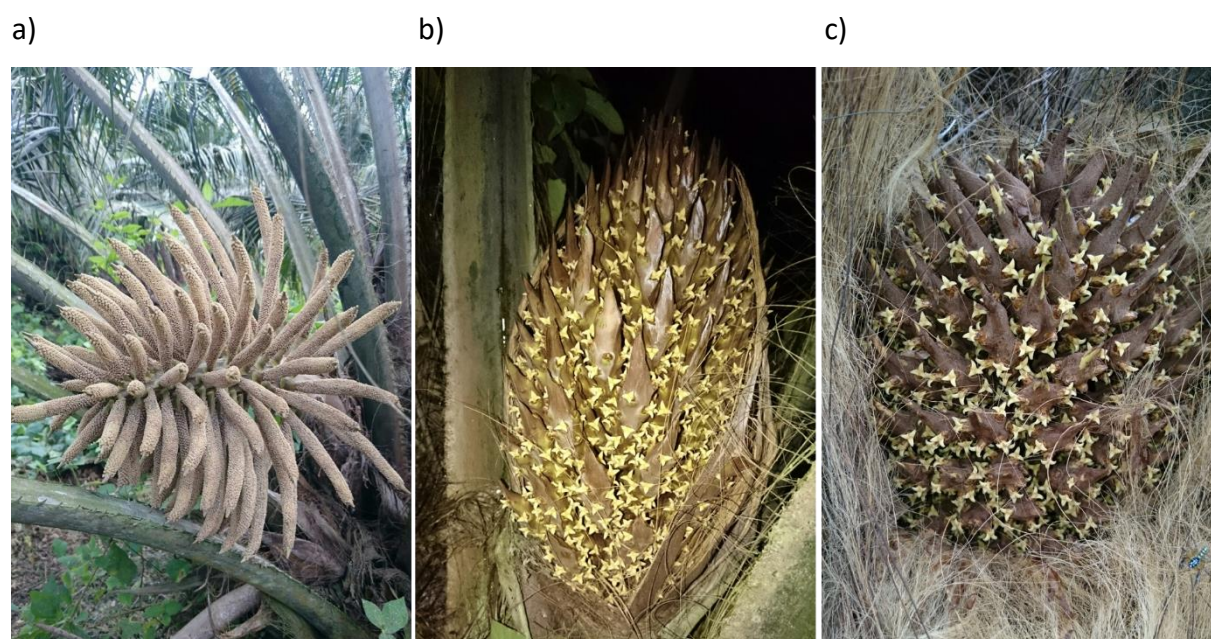


Figure 18 : a) Male inflorescence of *E. oleifera* Taisha, b) Female inflorescence of *E. oleifera* Taisha, c) Female inflorescence of *E. oleifera* Coari.

The comparison of the relative abundance of volatile compounds through all samples showed differences between the two populations of *E. oleifera* (Taisha or Coari), and between samples of *E. oleifera* Coari from PDE and PDA plantations, while there were subtle differences

between male and female inflorescences of *E. oleifera* Taisha. Striking is the large dominance of estragole in samples of *E. oleifera* Coari (56.9 and 39.6% from PDE and PDA plantation, respectively), whereas this compound was much less represented in *E. oleifera* Taisha (3.9 and 0.3%, from male and female inflorescences respectively). In addition, other major compounds of *E. oleifera* Coari, from PDA and PDE plantation respectively, were the benzenoid anethole (4.0 and 5.4%) and the two nitrogen-containing compounds 2-isopropyl-3-methoxypyrazine (3.2 and 8.2%) and 2-isobutyl-3-methoxypyrazine (9.6 and 18.0%) (**Table annexe 7**). The dominant compounds of *E. oleifera* Taisha, in male and female inflorescences respectively, were 2-isobutyl-3-methoxypyrazine (20.9 and 21.5%) and five sesquiterpenoid compounds including cyclosativene (20.1 and 18.9%), α -copaene (13.3 and 15.6%), and, in a lesser extent, beta-caryophyllene (3.7 and 3.5%), germacrene D (6.4 and 5.1%) and delta-cadinene (6.6 and 4.7%) (**Table annexe 7**).

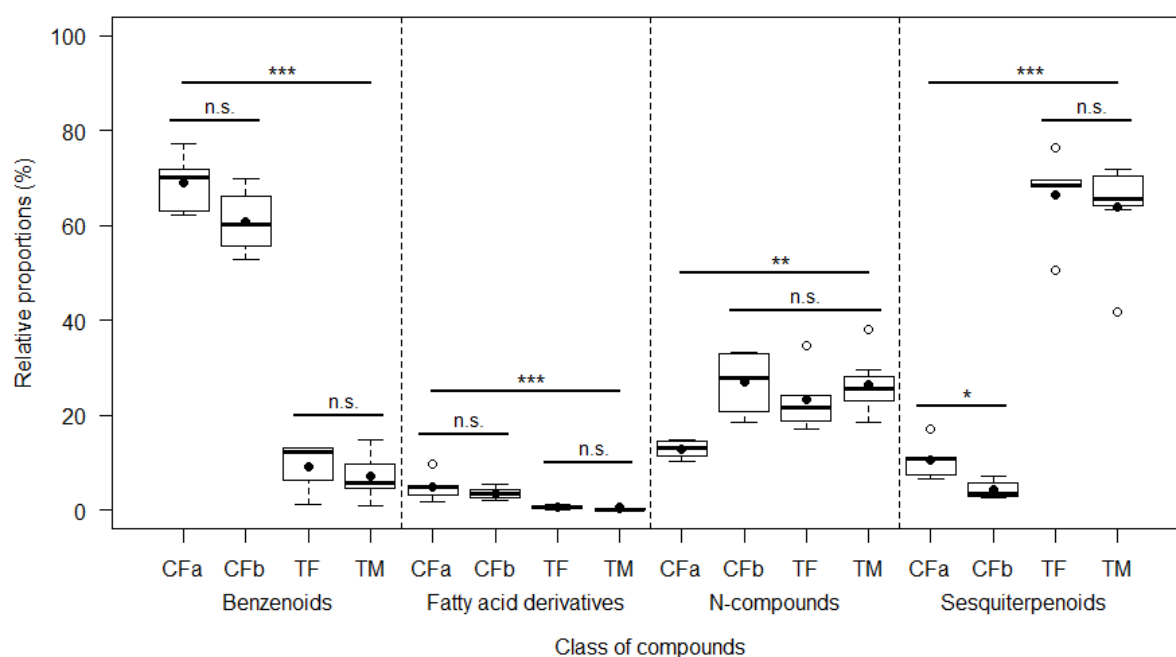


Figure 19 : Comparison of the mean relative proportion of the four dominant classes (Benzenoids, Fatty acid derivatives, Nitrogen-containing compounds and Sesquiterpenoids) of floral compounds emitted during the anthesis of *E. oleifera* inflorescences. Within each boxplot, the horizontal line represents the median and the black point the mean, boxes of both sides the median extend to the 25th and 75th percentiles, whiskers represent inferior and superior borders of values and white points are unique extreme values. CFa: female inflorescences of *E. oleifera* Coari from PDE, CFb: female inflorescences of *E. oleifera* Coari

from PDA, TF: female inflorescences of *E. oleifera* Taisha, TM: male inflorescences of *E. oleifera* Taisha. n.s.: non-significant, *: <0.05, **: < 0.01, ***: <0.001.

The principal difference in the chemical profile of volatile compounds between *E. oleifera* Taisha male and female inflorescences was the relative abundance of estragole (3.9 and 0.3%, respectively) (**Table annexe 7**), whereas the comparison of the relative abundance of the four dominant classes of compounds did not reveal any significant differences between sexes (**Figure 19**). In contrast, female inflorescences of *E. oleifera* Coari, from PDA and PDE plantation respectively, mainly differed in the relative proportion of some unique compounds, including estragole, p-xylene (0.7 and 8.9%), 3-heptanone (3.6 and 0.04%) and nonane (0.4 and 3.2%) (**Figure 19**), as well as the higher relative proportion of the two nitrogen-containing compounds and the absence of some sesquiterpenoid constituents in *E. oleifera* Coari from PDA (**Table annexe 7**). As far as classes of compounds are concerned, nitrogen-containing compounds and sesquiterpenoids were significantly different between PDE and PDA plantation ($F=3.8$, $p<0.05$, $F=2.75$, $p<0.05$, respectively), while benzenoids and fatty acid derivatives were not (**Figure 19**). Except for the nitrogen-compound class, comparisons between *E. oleifera* Taisha and *E. oleifera* Coari for each of the four main classes of compounds were always significantly different (benzenoids: $F=174.48$, $p<0.001$, fatty acid derivatives: $F=11.14$, $p<0.001$, nitrogen-compounds (comparison between *E. oleifera* Coari PDE vs. *E. oleifera* Coari PDA and *E. oleifera* Taisha): $F=6.28$, $p<0.01$, sesquiterpenoids: $F=87.77$, $p<0.001$).

NMDS performed on the relative proportion of all volatile compounds in each sample showed an evident separation between inflorescences of *E. oleifera* Coari and *E. oleifera* Taisha (**Figure 20**), confirmed by PERMANOVA ($F = 13.28$, $p < 0.001$). More than 50% of dissimilarity between the two groups can be explained by relative proportion of 15 compounds, including estragole, α -copaene, cyclosativene, germacrene D, delta-cadinene, beta-caryophyllene, trans-anethole, alpha-gurjunene, p-xylene, 2-isobutyl-3-methoxypyrazine, alpha-cubebene, benzyl alcohol, gamma-murolene, nonane and 3-heptanol (**Figure 3**). In addition, female inflorescences of *E. oleifera* Coari from PDE and PDA plantations were clearly separated on the graph (Permanova: $F= 7.84$, $p<0.01$), with the

compounds p-xylene, 3-heptanone, cyclosativene, estragole, nonane, 2-isobutyl-3-methoxypyrazine, 2-isopropyl-3-methoxypyrazine, gamma-butyrolactone, benzyl alcohol, cumene and cuminaldehyde explaining the dissimilarity of 50%. NMDS plot showed a clear tendency of *E. oleifera* Taisha male and female inflorescences to overlap, confirmed by PERMANOVA, indicating no difference between sexes ($F = 7.84, p = 0.08$) (**Figure 20**).

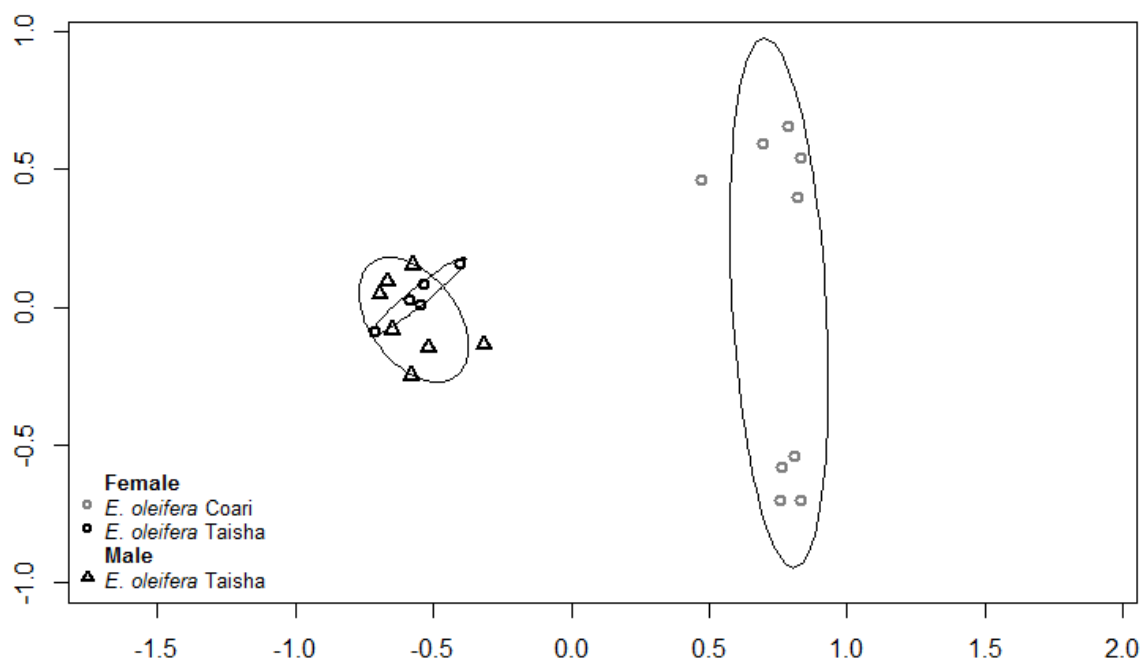


Figure 20 Non-metric multidimensional scaling representation of all sampled inflorescences at anthesis, based on their chemical profile. Black and grey circles are female inflorescences of *E. oleifera* Taisha and *E. oleifera* Coari, respectively. Black triangles are male inflorescences of *E. oleifera* Taisha. Calculating distances are based on Bray-Curtis dissimilarity index (stress = 0.13). Samples are grouped (solid lines) by both species and inflorescence sex.

Discussion

Floral scent composition

This study provides the first description of the floral scent composition of *E. oleifera*

palms. We showed that the floral scent consisted of a complex mixture of chemical compounds, grouped in 7 classes commonly found in the floral scents of many flowering plant taxa (Knudsen et al. 2006). Among them, 4 classes (i.e. sesquiterpenoids, benzenoids, fatty acid derivatives, nitrogen-bearing compounds) dominated the volatile blends in both proportion and/or number of compounds. A high number of compounds of various chemical classes has already been reported in the floral scents of other palm species (Ervik et al. 1999; Knudsen et al. 1999; Knudsen et al. 2001; Núñez et al. 2005; Meekijjaroenroj et al. 2007). This high chemical complexity could find origin in the context dependent function of floral scents: certain compounds may have multiple functions ranging from chemical defense to specific pollinator attraction, but other may only be by-products of biochemical pathways, without any known function (Raguso 2004).

Irrespective to the inflorescence sex or the population origin of *E. oleifera*, floral scents were mainly characterized by the large dominance of several compounds, including the benzenoid estragole, the two sesquiterpenoids α -copaene and cyclosativene, as well as the nitrogen-bearing compound 2-isobutyl-3-methoxypyrazine. Except for α -copaene, which is among the most frequent compound encountered in the floral scents of many taxonomic plants, these compounds were regarded as particularly uncommon (Knudsen et al. 2006). Some specialized plant-pollinator systems have been reported to use dominant unusual compounds as “private communication channels” (Raguso 2008; Hossaert-McKey et al. 2010), permitting a selective and exclusive attraction of the most efficient pollinator insect, while being poorly detectable by potential antagonist herbivores or competitive pollinators (Raguso 2008; Chen et al. 2009; Hossaert-McKey et al. 2010; Schiestl 2015). For example, the exclusive attraction of three cyclocephaline beetle species by four Annonaceae and one unrelated Areaceae species is mediated by the unique nitrogen- and sulfur-containing 4-methyl-5-vinylthiazole (Maia et al. 2012). Likewise, the exclusive communication between *Ficus semicordata* Buch-Ham (Moraceae) and the specific fig wasp pollinator is based on the strongly dominant benzenoid 4-methylanisole (Chen et al. 2009). Although the main compounds encountered in *E. oleifera* have rarely been identified in floral scents of other plants, these compounds have yet been reported to mediate highly specialized plant-pollinator interactions. Estragole has been reported as the major compound emitted by male and female cones of the gymnosperm *Cycas revoluta* Thunb. (Cycadaceae) (Azuma and Kono 2006), as well as male and female inflorescences of the African oil palm *Elaeis guineensis*

Jacqu. (Opote 1975; Lajis et al. 1985; Misztal et al. 2010; Jardine et al. 2016) mainly pollinated by the derelomine weevil *Elaeidobius kamerunicus* F. (Coleoptera: Curculionidae) (Syed 1979; Wood 1985). To our knowledge, it is the first occurrence of 2-isobutyl-3-methoxypyrazine in a floral scent. However, the homologue compounds 2-isopropyl-3-methoxypyrazine and 2-methoxy-3-secbutylpyrazine have been found in floral scents emitted by cones of the South-African Cycad *Encephalartos villosus* Lem. (Cycadales: Zamiaceae) (Suinyuy et al. 2012; Suinyuy et al. 2015) and the inflorescences of the palm species *Aphandra natalia* (Balslev & A. J. Hend.) Barfod and *Bactris gasipaes* Kunth (Ervik et al. 1999; Knudsen et al. 2001), respectively, both pollinated by weevils developing inside reproductive parts of their respective host plant.

Interestingly, all studies of palm species mainly pollinated by weevils and/or nitidulid beetles (including this study) are characterized by the dominance of either methoxylated benzenoids (estragole, 1,4-dimethoxybenzene, p-methylanisole) or methoxylated pyrazines (2-isobutyl-3-methoxypyrazine, 2-isopropyl-3-methoxypyrazine and 2-methoxy-3-secbutylpyrazine), despite the fact that they are not closely phylogenetically related: for example, palm species emitting a dominant pyrazine compound fall in two subfamilies, i.e., Ceroxyloideae for *A. natalia*, Arecoideae for *B. gasipaes* and *E. oleifera* (Asmussen et al. 2006). This is consistent with the pollination syndrome concept, i.e., a convergence of floral traits in plant species associated with a particular pollinator group (Fenster et al. 2004; Rosas-Guerrero et al. 2014). More chemical data of varied palm species pollinated by specialized pollinators are needed to confirm or not such an assumption.

Similarity in male and female floral bouquet in *E. oleifera* Taisha

Our results indicate that the scents emitted by *E. oleifera* Taisha male and female inflorescences during the anthesis phase are similar in composition and relative abundance. Neither the NMDS representation of the global set of volatile compounds, PERMANOVA between the two groups or the comparison of the 4 main classes of compounds revealed differences between both sexes. This close resemblance suggests that the pollination of *E. oleifera* Taisha would result from chemical intersexual mimicry. Such an olfactory mimicry associated with pollination by deception seems to be widespread in palm species hosting their pollinators in their reproductive structures, since scent similarity between sexes was also

reported in three species of *Phytelephas* (Ervik et al. 1999), and strongly suggested by the data for *Wetinia quinaria* (Núñez et al. 2005).

Male and female inflorescences differ in their interaction with the specific weevils *G. hybridus*: male inflorescences host weevils, which oviposit and probably feed on the anthers of male flowers, and larvae hatched from eggs laid on the inflorescence surface, develop by consuming internal tissues and decaying flowers ; on the contrary, female inflorescences deceive weevils, that cannot oviposit on them - incidentally, we have observed weevils either quickly leave them after visit, probably by realizing their mistake, or cease moving, probably waiting the next day to fly again in search of a suitable host (pers. obs.). Pollinator weevils should avoid deceptive females in which they would pay the cost of mistake by reduced access to reproduction, as a result female inflorescences should resemble with male to attract pollinators. Consequently, the intersexual mimicry observed in *E. oleifera* Taisha is thought to prevent pollinator discrimination, thus maintaining the mutualism sustainable by securing pollen transfer between sexes (Ashman 2009). Moreover, every day, numerous weevils leave male inflorescences during a brief active phase ranging from 6:00 p.m. to 6:30 p.m. of local hours (Auffray et al. 2017, submitted), during which they fly in search of another male inflorescence. During this period, the attracting odorant signal is simultaneously emitted by male and female inflorescences, as revealed by the synchronous visits of *G. hybridus* on both sexes in anthesis (Auffray et al. 2017, submitted). This synchronicity probably reinforces the intersexual mimicry, by impeding weevils to distinguish between male and female inflorescences. The absence of chemical intersexual variation of floral scents that are emitted synchronously by both sexes has been reported in various fig tree species hosting their pollinators (Soler et al. 2012; Hossaert-McKey et al. 2016). Alternatively, asynchrony in the floral display between male and female flowers is thought to relax selection for resemblance, since pollinators do not have to choose between male and female flowers at the same period of the day (Ashman 2009; Soler et al. 2012; Okamoto et al. 2013; Hossaert-McKey et al. 2016). While the floral scent similarity between both sexes is probably the critical factor permitting the success of *E. oleifera* pollination, we tested the intersexual mimicry on the level of both the global odorant bouquet and the four main classes of compounds. However, the attraction of *G. hybridus* might be mediated by one or a few compounds and, thus, the selection for resemblance might act only on these specific compounds rather than the complete bouquet (Ervik et al. 1999; Ashman 2009; Soler et al. 2012). Further studies would be needed to identify

the biologically active compounds.

Unfortunately, no male inflorescences were produced by *E. oleifera* Coari palm trees during our study period in both plantations. However, as *G. hybridus* cannot reproduce in Coari female palm inflorescences, we may suppose that a similar intersexual floral mimicry also occurs in the Coari natural population, assuring the cross-pollination of this palm tree.

Similarity of floral scent composition in *E. oleifera* palm trees originated from Brazilian and Ecuadorian population.

Contrary to our expectations that *E. oleifera* originated from Coari and *E. oleifera* originated from Taisha share a similar floral scent composition because they are both pollinated by the same pollinator species, floral scent composition of *E. oleifera* Coari female inflorescences differed significantly from that of *E. oleifera* Taisha, indicating a geographic divergence between these two distant populations. Principal differences in *E. oleifera* Coari were the higher proportion of estragole and the reduced proportion of sesquiterpenoids.

The chemical differences in the floral signals of *E. oleifera* suggest that a coevolution with local pollinators might have occurred in each population of this palm species. In fact, there are some variations in the floral morphology of *E. oleifera* palms originated from the two populations: during anthesis the large female inflorescences of *E. oleifera* Taisha are characterized by the complete exposure of the inflorescence after the opening of spathes, whereas that of *E. oleifera* Coari are smaller and completely covered by fibrous spathes (pers. obs.). Moreover, molecular analysis of *E. oleifera* populations across the natural distribution area of this palm species revealed an important interpopulation genetic diversity (Barcelos et al. 2002). While these morphological and genetic variations are not sufficient to consider palms of the two populations as different species, floral scent divergence between *E. oleifera* populations revealed by this study provides additional proof of an interpopulation variation. However, the presence of same pollinator species, namely *G. hybridus* and another derelomine weevil *Couturierius carinifrons* O'Brien and Beserra (Coleoptera: Curculionidae) (Beserra 2003, unpublished; O'Brien et al. 2004) in Coari and Taisha localities suggest either the olfactory preferences of these weevils have evolved in parallel with the local floral scent variation or that a specific attracting compounds are present in floral scents in both populations. For example, one of the main pollinators of the cycad *E. villosus*, the weevil *Porthetes* sp., has been reported to present variations in the olfactory responses depending

to geographic variations of the floral scents of its host-plant in two localities of South-Africa (Suinyuy et al. 2015). However, in our case the second assumption seem to be more consistent since *G. hybridus* weevils introduced in the PDE plantation was collected from the *E. oleifera* Taisha population (Beserra 2003, unpublished), and visit inflorescences of both Taisha or Coari palms, despite of the absence of male inflorescences in the latter (Auffray et al. 2017, submitted). This suggests that the attractive signal is present in chemical scents of palm from Coari and Taisha populations. Although, the biologically active compounds are not known, we hypothesize that the nitrogen-bearing compound 2-isobutyl-3-methoxypyrazine which is among the dominant compound in palms of both population is implicated in the attraction of *G. hybridus*.

The chemical profiles of *E. oleifera* Coari differ between the PDE plantation (Amazonian Ecuador) and the PDA plantation (Ecuadorian coast) where inflorescences scents were sampled. These floral scent differences might come from of a chemical change depending to the physiologic age of the plant, causing a quantitative modification of the chemical blend proportion. But the absence of pollinators on *E. oleifera* in PDA do not permit to evaluate the attractivity of scent of the palms in PDA plantation.

To conclude, we expect that our results will provide a better understanding of the pollination system of *E. oleifera* and the implication of chemical compounds in specific pollinator attraction. The study of floral scents in palms have important implications in the understanding of plant-pollinator interactions in an ecological and evolutionary context (Barfod et al. 2011), e.g. relatively to the high diversity of sexual expression in flowering (Henderson 1986; Nadot et al. 2016), as well as for agronomical management as some cultivated palm species depend closely of the entomophile pollination for production, e.g. the African oil palm (Wood 1985). However, our study was entirely conducted in a commercial plantation, where ecological factors affecting flowering and pollinator visitation in palms would be markedly different of that ruling in natural population (Kidyoo and McKey 2012).

References

Adam H, Jouannic S, Escoute J, et al (2005) Reproductive developmental complexity in the African oil palm (*Elaeis guineensis*, Arecaceae). *Am J Bot* 92:1836–1852.

Adams R (2007) Alphabetical listing of compounds with their retention time and arithmetic retention index on

- db-5 Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry, 4th Edition.
- Ashman T-L (2009) Sniffing out patterns of sexual dimorphism in floral scent. *Funct Ecol* 23:852–862. doi: 10.1111/j.1365-2435.2009.01590.x
- Asmussen CB, Dransfield J, Deickmann V, et al (2006) A new subfamily classification of the palm family (Arecaceae): evidence from plastid DNA phylogeny. *Bot J Linn Soc* 151:15–38.
- Azuma H, Kono M (2006) Estragole (4-allylanisole) is the primary compound in volatiles emitted from the male and female cones of *Cycas revoluta*. *J Plant Res* 119:671–676. doi: 10.1007/s10265-006-0019-2
- Babushok VI, Linstrom PJ, Zenkevich IG (2011) Retention indices for frequently reported compounds of plant essential oils. *J Phys Chem Ref Data* 40:43101.
- Baker WJ, Dransfield J (2016) Beyond Genera Palmarum: progress and prospects in palm systematics.
- Barcelos E, Amblard P, Berthaud J, Seguin M (2002) Genetic diversity and relationship in American and African oil palm as revealed by RFLP and AFLP molecular markers. *Pesqui Agropecu Bras* 37:1105–1114.
- Barfod AS, Hagen M, Borchsenius F (2011) Twenty-five years of progress in understanding pollination mechanisms in palms (Arecaceae). *Ann Bot* 108:1503–1516. doi: 10.1093/aob/mcr192
- Beserra P (2003) Informe de avance del programa de introducción de insectos polinizadores nativos en PDE.
- Chen C, Song Q, Proffitt M, et al (2009) Private channel: a single unusual compound assures specific pollinator attraction in *Ficus semicordata*. *Funct Ecol* 23:941–950. doi: 10.1111/j.1365-2435.2009.01622.x
- Dufay M, Anstett M-C (2003) Conflicts between plants and pollinators that reproduce within inflorescences: evolutionary variations on a theme. *Oikos* 100:3–14. doi: 10.1034/j.1600-0706.2003.12053.x
- Dufay M, Hossaert-McKey M, Anstett M-C (2004) Temporal and sexual variation of leaf-produced pollinator-attracting odours in the dwarf palm. *Oecologia* 139:392–398. doi: 10.1007/s00442-004-1538-y
- Ervik F, Tollsten L, Knudsen JT (1999) Floral scent chemistry and pollination ecology in phytelephantoid palms (Arecaceae). *Plant Syst Evol* 217:279–297.
- Fenster CB, Armbruster WS, Wilson P, et al (2004) Pollination syndromes and floral specialization. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 35:375–403. doi: 10.1146/annurev.ecolsys.34.011802.132347
- Franz NM, Valente RM (2006) Evolutionary trends in derelomine flower weevils (Coleoptera : Curculionidae): from associations to homology. *Invertebr Syst* 19:499–530.
- Genty P, Garzon A, Lucchini F, Delvare G (1986) Polinización entomófila de la palma africana en América tropical. *Oleagineux* 41:99–112.
- Henderson A (1986) A review of pollination studies in the Palmae. *Bot Rev* 52:221–259.
- Hossaert-McKey M, Proffitt M, Soler CCL, et al (2016) How to be a dioecious fig: Chemical mimicry between sexes matters only when both sexes flower synchronously. *Sci Rep* 6:21236. doi: 10.1038/srep21236
- Hossaert-McKey M, Soler C, Schatz B, Proffitt M (2010) Floral scents: their roles in nursery pollination mutualisms. *Chemoecology* 20:75–88. doi: 10.1007/s00049-010-0043-5
- Jardine KJ, Gimenez BO, Araújo AC, et al (2016) Diurnal pattern of leaf, flower and fruit specific ambient volatiles above an oil palm plantation in Pará State, Brazil. *J Braz Chem Soc*. doi: 10.5935/0103-5053.20160194
- Kidyoo AM, McKey D (2012) Flowering phenology and mimicry of the rattan *Calamus castaneus* (Arecaceae) in southern Thailand. *Botany* 90:856–865. doi: 10.1139/b2012-058

- Knudsen JT, Andersson S, Bergman P (1999) Floral scent attraction in *Geonoma macrostachys*, an understory palm of the Amazonian rain forest. *Oikos* 85:409. doi: 10.2307/3546690
- Knudsen JT, Eriksson R, Gershenzon J, Ståhl B (2006) Diversity and distribution of floral scent. *Bot Rev* 72:1–120. doi: 10.1663/0006-8101(2006)72[1:DADOFS]2.0.CO;2
- Knudsen JT, Tollsten L, Ervik F (2001) Flower scent and pollination in selected neotropical palms. *Plant Biol* 3:642–653. doi: 10.1055/s-2001-19366
- Lajis MN, Hussein MY, Toia RF (1985) Extraction and identification of the main compound present in *Elaeis guineensis* flower volatiles. *Pertanika* 8:105–108.
- Listabarth C (1994) Pollination of palm *Desmoncus*. *Principes* 38:13–23.
- Listabarth C (1996) Pollination of *Bactris* by *Phyllotrox* and *Epurea*. Implications of the palm breeding beetles on pollination at the community level. *Biotropica* 28:69. doi: 10.2307/2388772
- Maia ACD, Dötterl S, Kaiser R, et al (2012) The key role of 4-methyl-5-vinylthiazole in the attraction of scarab beetle pollinators: a unique olfactory floral signal shared by Annonaceae and Araceae. *J Chem Ecol*. doi: 10.1007/s10886-012-0173-z
- Mariau D, Genty P (1988) IRHO contribution to the study of oil palm insect pollinators in Africa, South-America and Indonesia. *Oleagineux* 43:233–240.
- Meekijjaroenroj A, Bessière J-M, Anstett M-C (2007) Chemistry of floral scents in four *Licuala* species (Arecaceae). *Flavour Fragr J* 22:300–310. doi: 10.1002/ffj.1797
- Misztal PK, Owen SM, Guenther AB, et al (2010) Large estragole fluxes from oil palms in Borneo. *Atmospheric Chem Phys* 10:4343–4358. doi: 10.5194/acp-10-4343-2010
- Nadot S, Alapetite E, Baker WJ, et al (2016) The palm family (Arecaceae): a microcosm of sexual system evolution.
- Núñez LA, Bernal R, Knudsen JT (2005) Diurnal palm pollination by mystropine beetles: is it weather-related? *Plant Syst Evol* 254:149–171. doi: 10.1007/s00606-005-0340-6
- O'Brien CW, Beserra P, Couturier G (2004) Taxonomy of *Couturierius*, new genus and *Grasidius*, genus new to South America, palm flower weevils in the derelomini (Coleoptera, Curculionidae). *Rev Fr Entomol* 26:145–156.
- Okamoto T, Kawakita A, Goto R, et al (2013) Active pollination favours sexual dimorphism in floral scent. *Proc R Soc B Biol Sci* 280:20132280–20132280. doi: 10.1098/rspb.2013.2280
- Oksanen J, Blanchet FG, Kindt R, et al (2013) Package “vegan.”
- Opute FI (1975) Identification of p.Methoxyallylbenzene in the pollen of the oil palm *Elaeis guineensis* Jacq. *J Exp Bot* 26:619–623. doi: 10.1093/jxb/26.4.619
- Pichersky E, Gershenzon J (2002) The formation and function of plant volatiles: perfumes for pollinator attraction and defense. *Curr Opin Plant Biol* 5:237–243.
- Raguso RA (2008) Wake up and smell the roses: the ecology and evolution of floral scent. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 39:549–569. doi: 10.1146/annurev.ecolsys.38.091206.095601
- Raguso RA (2004) Flowers as sensory billboards: progress towards an integrated understanding of floral advertisement. *Curr Opin Plant Biol* 7:434–440. doi: 10.1016/j.pbi.2004.05.010
- Rosas-Guerrero V, Aguilar R, Martén-Rodríguez S, et al (2014) A quantitative review of pollination syndromes: do floral traits predict effective pollinators? *Ecol Lett* 17:388–400. doi: 10.1111/ele.12224

- Schäffler I, Steiner KE, Haid M, et al (2015) Diacetin, a reliable cue and private communication channel in a specialized pollination system. *Sci Rep* 5:12779. doi: 10.1038/srep12779
- Schiestl FP (2015) Ecology and evolution of floral volatile-mediated information transfer in plants. *New Phytol* 206:571–577. doi: 10.1111/nph.13243
- Soler CCL, Proffit M, Bessièrè J-M, et al (2012) Evidence for intersexual chemical mimicry in a dioecious plant. *Ecol Lett* 15:978–985. doi: 10.1111/j.1461-0248.2012.01818.x
- Suinyuy TN, Donaldson JS, Johnson SD (2012) Geographical variation in cone volatile composition among populations of the African cycad *Encephalartos villosus*. *Biol J Linn Soc* 106:514–527.
- Suinyuy TN, Donaldson JS, Johnson SD (2015) Geographical matching of volatile signals and pollinator olfactory responses in a cycad brood-site mutualism. *Proc R Soc B Biol Sci* 282:20152053. doi: 10.1098/rspb.2015.2053
- Svensson GP, Okamoto T, Kawakita A, et al (2010) Chemical ecology of obligate pollination mutualisms: testing the “private channel” hypothesis in the *Breynia–Epicephala* association. *New Phytol* 186:995–1004. doi: 10.1111/j.1469-8137.2010.03227.x
- Syed RA (1979) Studies on oil palm pollination by insects. *Bull Entomol Res* 69:213–224. doi: 10.1017/S0007485300017673
- Willson MF, Agren J (1989) Differential floral rewards and pollination by deceit in unisexual flowers. *Oikos* 55:23–29.
- Wood BJ (1985) Some consequences of weevil pollination of the oil palm in South East Asia. *Planter* 61:423–438.

Acknowledgments

The authors thank PDE (Palmeras del Ecuador) and PDA (Palmeras de los Andes – Quinindé) for hosting these experiments, and the respective directors C. Gallardo and R. Hermosa for their hospitality, logistical support and access to the palm plots. We are grateful for R. Poveda and C. Louise for their help during sampling, and for all the employees that contributed to this work, E. Samaniego, D. Ajila, M. Vargas and G. Santos. This work was funded by Palmelit S.A., CIRAD and Danec.

Chapitre 5

Thermogénèse, signature chimique spécifique et période d'activité des insectes pollinisateurs durant la floraison de deux espèces de palmier à huile.

Introduction

Les plantes usent de diverses stratégies reproductives pour favoriser la pollinisation croisée. Chez les plantes pollinisées par des animaux, les traits floraux jouent un rôle déterminant dans les associations qui les lient à leurs pollinisateurs (Faegri and Pijl 1966; Raguso 2008). Les traits floraux se présentent généralement sous la forme de morphologies particulières (formes ou couleurs), d'odeurs, de récompenses alimentaires, ou encore d'abris ou de sites de ponte offerts aux visiteurs. Les odeurs, par exemple, sont un trait floral d'une importance critique pour la plante, puisqu'ils peuvent rendre les organes reproductifs « visibles » pour les pollinisateurs potentiels, en les attirant à distance tout en leur fournissant un ensemble d'informations concernant l'identité de l'hôte, le stage physiologique ou la promesse d'une récompense (Schiestl 2015). Mais les traits floraux peuvent aussi avoir un effet négatif, par un coût de production élevé, ou à cause de l'attraction de visiteurs non désirés, par exemple des herbivores (Theis et al. 2007). Il est donc plus rentable pour la plante de limiter l'investissement dans ces traits floraux à la période durant laquelle les pollinisateurs sont actifs (Steenhuisen et al. 2010). Le rôle fonctionnel des traits floraux peut varier au cours des stades de la floraison (e. g., Schiestl and Ayasse 2001 ou Suinyuy et al. 2013), et ainsi influencer le comportement des pollinisateurs, par exemple en alternant des phases d'attraction et de répulsion des visiteurs (Terry et al. 2007), ou en attirant différents types de pollinisateurs au cours de la journée (e.g. Hoballah et al. 2005; Borges et al. 2013; Jürgens et al. 2014), il est donc nécessaire d'étudier leurs variations temporelles en lien avec le pattern de visite des pollinisateurs.

La thermogénèse et un trait floral qui n'a été reporté que chez quelques familles de plantes basales, notamment les Araceae (Seymour et al. 2003), les Arecaceae (Henderson 1986; Ervik and Barfod 1999; Barfod et al. 2011) les Magnoliaceae (Azuma et al. 1999), les Annonaceae (Gottsberger 1989), les Rafflesiaceae (Patino et al. 2002), et d'autres (voir Seymour and Schultze-Motel 1997; Seymour 2001). Ce phénomène physiologique remarquable agit probablement en synergie avec les odeurs florales qui provoquent une réponse comportementale chez les insectes pollinisateurs (Angioy et al. 2004; Terry et al. 2007; Terry et al. 2016). La thermogénèse semble être assez commune à travers la famille des Arécacées, puisque ce phénomène a été décrit chez une quarantaine d'espèces de palmiers, toutes pollinisées, à de rares exceptions près, par des coléoptères, en particulier des

charançons Derelomini (Coleoptera : Curculionidae), et des Nitidulidae (Henderson 1986; Ervik and Barfod 1999; Barfod et al. 2011). D'après Ervik and Barfod (1999), les espèces de palmiers exhibant une thermogénèse florale se rencontrent dans deux des trois sous-tribus du tribu Cocoseae, i.e. *Attaleinae*, *Bactridinae*, mais ce phénomène n'a jamais été étudié au sein du sous-tribu *Elaeidinae*, contenant les genres *Elaeis* et *Barcella*. Genty et al. (1986) ont cependant noté une augmentation de température chez le palmier à huile *Elaeis guineensis* Jacqu. et Misztal et al. (2010) ont suggéré que les inflorescences de cette espèce étaient thermogéniques.

Dans les chapitres précédents, nous avons mis en évidence que la temporalité de l'activité des insectes pollinisateurs des deux espèces de palmiers à huile *E. guineensis* et *E. oleifera* est synchrone avec le moment de la journée où débute l'anthèse des inflorescences des deux sexes qu'ils visitent (Chapitre 2). L'étude de l'évolution des traits floraux au cours du développement de la floraison, en lien avec l'attraction d'*E. kamerunicus* et de *G. hybridus*, permettrait de comprendre quel rôle joue chacun de ces traits dans l'attraction des insectes pollinisateurs.

Dans cette étude, nous avons mesuré la température florale et la composition chimique des odeurs ainsi que le pattern des visites des deux insectes pollinisateurs, au cours de 3 étapes de la floraison des inflorescences mâles et femelles d'*E. guineensis* et d'*E. oleifera*, ainsi qu'entre le jour et la nuit au cours de la phase d'anthèse. Plus spécifiquement, nous avons tenté de répondre aux questions suivantes : les inflorescences mâles et femelles d'*E. guineensis*, d'*E. oleifera* Taisha et d'*E. oleifera* Coari sont-elles thermogéniques ? Si oui, la température florale suit-elle une rythmicité au cours de la journée et au cours des étapes de la floraison ? Y-a-t-il des variations de la composition des odeurs florales au cours des différentes étapes de la floraison ? Le pattern de visite d'*E. kamerunicus* et de *G. hybridus* sur les inflorescences de leur palmier respectif est-il relié aux variations temporelles de ces deux traits floraux ?

Matériels et méthodes

Sites d'étude

Trois parcelles expérimentales ont été sélectionnées dans la plantation : une parcelle

d'*E. guineensis*, une parcelle d'*E. oleifera* Taisha et une parcelle d'*E. oleifera* Coari. Dans chacune de ces parcelles d'expérimentations, nous avons réalisé un recensement hebdomadaire de tous les palmiers possédant une inflorescence mâle ou femelle approchant le début du stade d'anthèse, afin de mesurer la dynamique de visite des insectes, les variations de température ou l'échantillonnage des odeurs en fonction de la floraison.

Suivi de la floraison des inflorescences

Dans chaque parcelle d'expérimentations, l'évolution de la floraison d'une dizaine d'inflorescences de chaque sexe a été suivie au moyen de prises de photos quotidiennes. La floraison a été décomposée en trois catégories exclusives en fonction du développement des fleurs : pré-anthèse, anthèse et post-anthèse. La [figure 21](#) montre l'évolution de la floraison d'une inflorescence mâle et d'une inflorescence femelle d'*E. guineensis*, et d'une inflorescence mâle et d'une inflorescence femelle d'*E. oleifera* Taisha. La phase de pré-anthèse correspond à l'imminence de l'ouverture des fleurs : les inflorescences mâles et femelles sont bien libérées des spathes (exceptées les inflorescences femelles d'*E. oleifera* Coari qui restent couvertes de fibres), l'axe du pédoncule des inflorescences mâles s'allonge (aussi pour les inflorescences femelles d'*E. oleifera* Taisha), les épillets s'écartent les uns des autres et les bourgeons floraux deviennent turgescents. La phase d'anthèse se caractérise par l'ouverture des fleurs, et culmine par la déhiscence des anthères des fleurs mâles (libération du pollen), ou la réceptivité des stigmates femelles ([Tandon et al. 2001](#)), et s'accompagne chez les deux sexes d'une intense émission d'odeur, qui est anisée dans le cas d'*E. guineensis* ([Syed 1979](#); [Lajis et al. 1985](#)), ou avec un aspect de poivron vert dans le cas d'*E. oleifera*. La phase de post-anthèse débute lorsque toutes les fleurs des inflorescences mâles ont fané et celles des inflorescences femelles changent de teinte (passant du blanc au violet chez *E. guineensis*, du jaune au noir chez *E. oleifera* Taisha et du jaune au violet-noir chez *E. oleifera* Coari), et l'odeur devient beaucoup moins forte, parfois avec un léger aspect de tissus végétaux en putréfaction.

Durant l'anthèse des inflorescences mâles et femelles des deux espèces de palmier, l'ouverture des fleurs est progressive et accropétale, c'est-à-dire que la floraison s'effectue depuis la base vers l'extrémité des épillets, et que de nouvelles fleurs s'ouvrent chaque jour

sur une portion des épillets, tandis que celles de la veille sont déjà flétries. La durée de la phase d'anthèse mâle dure de 4 à 5 jours et est équivalente pour les deux espèces de palmiers. L'anthèse des inflorescences femelles est plus courte et diffère entre les deux espèces : l'ouverture de la majorité des fleurs s'étale généralement sur 2 jours successifs chez *E. guineensis*, tandis qu'elles s'ouvrent généralement en 1 jour chez *E. oleifera*. Des fleurs s'ouvrent parfois de manière isolée en phase pré-anthèse, ou plus tardivement en phase post-anthèse. La principale différence entre la floraison des deux espèces de palmier réside dans la phénologie journalière de l'anthèse : l'ouverture des fleurs des inflorescences mâles et femelles d'*E. guineensis* débute tôt le matin et culmine au début de la période d'activité d'*E. kamerunicus*, alors que l'anthèse des fleurs de celles d'*E. oleifera* démarre dans l'après-midi et culmine au moment de la période d'activité des *G. hybridus*.

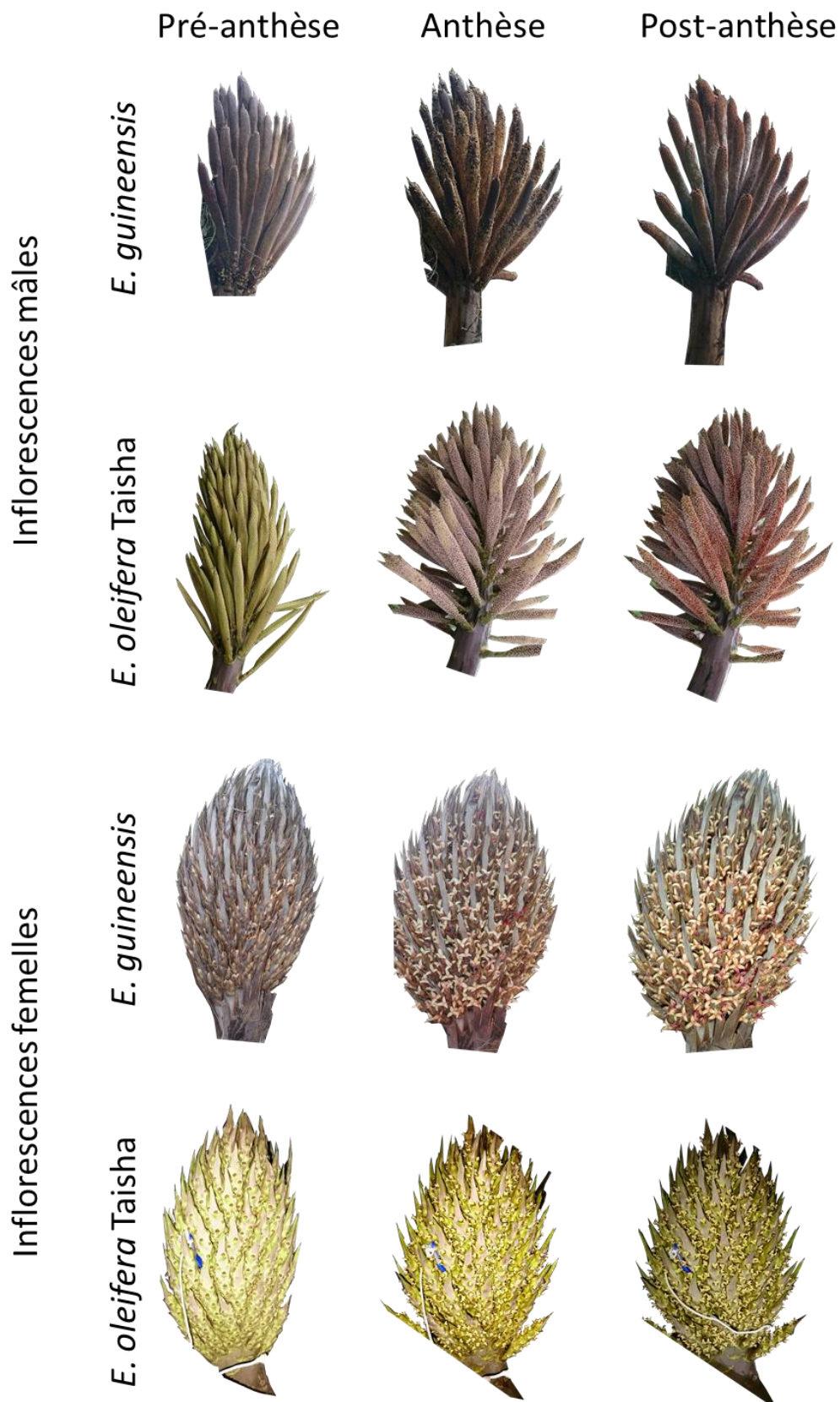


Figure 21 : Evolution de la floraison des inflorescences mâles et femelles d'*E. guineensis* et d'*E. oleifera* Taisha. Les photos ont été prises 1 jours avant que ne débute l'anthèse (*pré-anthèse*), les 1^{ers} jours de l'anthèse femelle, ou 3^{eme} de l'anthèse mâle (*anthèse*) et le 3^{eme}

jour de l'anthèse femelle ou le 7^{ème} jour de l'anthèse mâle (*post-anthèse*). Sur la dernière série de photos (*inflorescence femelle d'E. oleifera Taisha*), la pièce bleue représente le Thermobouton servant à mesurer la thermogénèse florale.

Suivi de la dynamique de visite des insectes pollinisateurs

Le suivi de la dynamique de visite des insectes pollinisateurs a été réalisé de mars à décembre 2015. Seuls *E. kamerunicus* et *G. hybridus* ont été capturés, parce que ces deux espèces d'insectes étaient largement majoritaire sur les inflorescences de leurs espèces de palmier respectives. Les inflorescences en pré-anthèse ont été couvertes par une cage en moustiquaire, comme décrit par [Auffray et al. 2017](#). Les insectes se posant sur la cage ont été capturés quotidiennement au moyen d'un aspirateur à bouche durant toutes les étapes de la floraison. La phase de piégeage quotidienne s'est étalée du début à la fin de la période d'activité des insectes, c'est-à-dire de 8 :00 à 14 :00 dans la parcelle d'*E. guineensis*, correspondant à la période d'activité d'*E. kamerunicus*, et de 17 :00 à 19 :00 dans la parcelle d'*E. oleifera*, correspondant à la période d'activité de *G. hybridus*, comme précédemment déterminé par [Auffray et al. 2017](#). Le suivi des visites des deux insectes a été réalisé sur 9 inflorescences mâles et 5 inflorescences femelles d'*E. guineensis*, 11 inflorescences femelles d'*E. oleifera* Coari, et 9 inflorescences mâles et 9 inflorescences femelles d'*E. oleifera* Taisha.

Mesure de la température des inflorescences

La température florale a été continûment mesurée tout au long de la floraison, à l'aide de « Thermoboutons » (ThermoButton 22L, -40/+85 °C, résolution ± 0.5 °C – Wimesure, France) placés dans les inflorescences. Un Thermobouton a été inséré dans chaque inflorescence, au milieu des épillets à environ 1/3 de la base des inflorescences mâles, ou dans la partie supérieure dirigée vers l'axe du stipe des inflorescences femelles. La fréquence de mesure des Thermoboutons a été programmée pour intervenir par intervalle de 5 minutes. En parallèle, un à trois Thermoboutons témoins réglés avec les mêmes paramètres de mesures que ceux placés dans les inflorescences, ont été suspendus sous les palmes des palmiers à plusieurs endroits des parcelles d'expérimentation, afin de contrôler la température ambiante locale. Après que toutes les inflorescences aient atteint le stade post-anthèse, les

Thermoboutons ont été récupérés et les données extraites à partir du logiciel Thermotrack PC Pro (Wimesure, France). La température florale a été échantillonnée sur 10 inflorescences mâles et 7 inflorescences femelles d'*E. guineensis*, 5 inflorescences femelles d'*E. oleifera* Coari, et 7 inflorescences mâles et 8 inflorescences femelles d'*E. oleifera* Taisha.

Echantillonnage et analyse des odeurs florales

Les odeurs des inflorescences mâles et femelles d'*E. guineensis* et d'*E. oleifera* ont été collectées en mars 2015 et en avril 2016 selon la technique du « static headspace » mise au point au laboratoire de l'INRA de Versailles (Frérot, data non publiées) : chaque inflorescence a été complètement ensachée dans un sac de cuisson inerte en PET (Albal, 60 cm x 55 cm, Espagne) de façon à créer un volume d'air dans lequel les composés organiques volatils ont été concentrés. Après 15 minutes d'équilibration, une fibre SPME (Solid Phase Micro-Extraction, enduite de Divinylbenzene/Carboxen/Polydimethylsiloxane ; Supelco, Bellefonte, USA) a été insérée à l'intérieur de l'espace de tête et exposée durant deux heures. Simultanément, l'air ambiant a été échantillonné à partir d'une SPME insérée dans un sac PET laissé ouvert durant toute la durée des collectes. Un papier filtre sur lequel a été déposé 10 µg d'un standard interne (C₁₀) (Frérot, data non publiées) a été ajouté dans chaque espace de tête et laissé tout au long de l'échantillonnage. Pour chacune des deux espèces de palmier, nous avons testé s'il existait une variation temporelle de la composition chimique des odeurs au cours de la floraison, en prélevant l'odeurs d'inflorescences mâles et femelles aux stades pré-anthèse, anthèse, et post-anthèse. Des échantillons ont été prélevés le matin et le soir durant la phase d'anthèse pour tester d'éventuelles différences journalières. Après l'échantillonnage, chaque SPME a été retirée du headspace, individuellement protégée par une feuille d'aluminium et placée dans un tube en pyrex fermé, puis conservée au congélateur avant d'être analysée. Les odeurs florales d'*E. guineensis* ont été échantillonnées à partir de 17 inflorescences femelles (3 pré-anthèses, 12 anthèses (parmi lesquelles 8 échantillonnées le matin et 4 le soir), et 2 post-anthèses), et 15 inflorescences mâles (3 pré-anthèses, 9 anthèses (6 le matin et 3 le soir) et 3 post-anthèses). Les odeurs florales d'*E. oleifera* ont été échantillonnées sur 13 inflorescences femelles d'*E. oleifera* Taisha (3 pré-anthèses, 7 anthèses (2 le matin et 5 le soir) et 3 post-anthèses), 15 inflorescences mâles d'*E. oleifera* Taisha (3 pré-anthèses, 9 anthèses (3 le matin et 6 le soir) et 3 post-anthèses) et 15 inflorescences d'*E.*

oleifera Coari (2 en pré-anthèses, 10 en anthèses (4 le matin et 6 le soir), 3 en post-anthèses). Les fibres SPME ont été directement désorbées dans l'injecteur à 250°C en mode splitless sur un Bruker Scion 436-GC équipé d'une colonne apolaire (30 m de long x 0.32 mm de diamètre interne, 0.25 µm d'épaisseur de film, Rxi®-5 MS, (Restek). La température du four a été programmée pour un départ à 50°C et une augmentation de 8°C/min pour atteindre 300°C. L'hélium N60 a servi de gaz vecteur à un flux constant de 2 mL.min⁻¹. La détection des composés chimiques a été réalisée à partir d'un spectromètre de masse quadripôle en mode impact électronique (Bruker Scion SQ). Les spectres de masse ont été obtenus à 70eV en mode full scan pour des masses allant de 35 à 400 m/z.

Les chromatogrammes obtenus à partir des échantillons ont été manuellement intégrés et soumis à une déconvolution spectrale avec le logiciel Amdis (v. 2.71, www.amdis.net) et le pourcentage relatif de l'aire de chaque pic du chromatogramme a été calculé pour chaque échantillon. Les indices de rétention selon Kovats (IK) ont été calculés pour chaque composés détectés à partir d'étalons externes constitués d'un mélange d'alcane de synthèse (C₁₀-C₂₄) injectés dans le GC dans les mêmes conditions d'analyse. L'identification des composés a été réalisée par comparaison avec des spectres de composés contenus dans la base de données spectrales NIST 11 (www.nist.gov) et la bibliothèque du laboratoire. Pour la plupart l'identité a été validée avec les indices de rétention des données publiées (Adams 2007; Babushok et al. 2011, Auffray et al. 2017, submitted), et par correspondance avec des composés authentiques obtenus chez Sigma-Aldrich (www.sigmaaldrich.com), injectés au laboratoire.

Analyses statistiques

Les quantités moyennes d'insectes capturés entre chaque jour d'anthèse ont été comparées avec un test non-paramétrique de Kruskal-Wallis, suite au rejet de l'hypothèse de normalité. Des tests post-hoc de comparaison deux à deux basés sur la correction de Holm ont été appliqués lorsque des différences de capture entre les jours d'anthèse ont été constatées.

La différence de température entre les inflorescences et le milieu ambiant a été calculée sur chaque intervalle de 5 minutes en soustrayant la moyenne des valeurs de température ambiante à chaque valeur de la température florale. Nous avons étudié l'évolution de la température des inflorescences au cours de la floraison, en calculant, pour chaque

inflorescence, la moyenne des valeurs de température comprises dans l'intervalle de temps correspondant à la période d'activité des insectes. Les intervalles de temps considérés étaient respectivement compris entre 9 :00 et 12 :00 pour *E. guineensis*, restreint au pic d'activité d'*E. kamerunicus*, et entre 17 :30 et 19 :00 pour *E. oleifera* Coari et *E. oleifera* Taisha, correspondant à la période d'activité complète de *G. hybridus* (Auffray et al. 2017). Pour chaque espèce de palmier et chaque sexe d'inflorescence, les températures moyennes des inflorescences ont été comparées entre les stades de floraison avec un test ANOVA ou un test de Kruskal-Wallis en fonction de l'acceptation ou du rejet de l'hypothèse de normalité des résidus, suivi d'un test post-hoc de comparaison deux à deux basé sur la méthode de correction de Holm.

Pour chacune des espèces de palmier, la composition des odeurs florales a été comparée entre les stades de floraison, en réalisant une analyse de variance par permutations (PERMANOVA), effectuée à partir de la fonction `adonis` du package *vegan* (Oksanen et al. 2013). La surface de chacun des COVs constituant le profil chromatographique de chaque inflorescence échantillonnée a été préalablement rapporté à la surface du standard interne. L'analyse PERMANOVA a ensuite été appliquée sur le jeu de données en utilisant l'indice de distance de Bray-Curtis et en calculant la distribution du *F* ratio sous l'hypothèse nulle d'absence de différence, réalisé avec 10 000 permutations (Anderson 2001). Un test post-hoc de comparaisons multiples avec correction de Holm a été appliqué pour évaluer la significativité des différences entre chaque stade de floraison (voir le code R utilisé dans le lien ci-après :

[https://www.researchgate.net/post/How can I do PerMANOVA pairwise contrasts in R](https://www.researchgate.net/post/How_can_I_do_PerMANOVA_pairwise_contrasts_in_R))

. Comme aucune différence significative des profils chromatographiques entre les inflorescences mâles et femelles n'a été détectée lors de précédentes études (Auffray et al. 2016, unpublished), les deux sexes ont été analysés simultanément dans cette étude.

Les différences de profil chimique entre les inflorescences ont été représentées en deux dimensions au moyen d'une nMDS (non-metric multidimensional scaling) effectuée à partir de la fonction `metaMDS` du package *vegan*. La représentation en deux dimensions a été créée à partir de la matrice des distances deux à deux calculées avec l'indice de Bray-Curtis. La qualité de la représentation est évaluée à partir d'une fonction de stress (diagramme de Shepard). Une valeur stress de 0.30 indique une qualité de représentation moyenne tandis qu'une valeur de 0.10 désigne une excellente représentation. Une analyse SIMPER (Similarity

Percentage) du même package a été utilisée pour identifier les composés responsables de la majeure partie de la variabilité entre groupes.

Toutes les analyses statistiques ont été réalisées à partir du logiciel R (v.3.2.2; R Core Team 2015; URL: <http://www.R-project.org>).

Résultats

Variations des quantités d'insectes au cours de la floraison

Sur les 9 inflorescences mâles d'*E. guineensis* échantillonnées, 96.2 % des 30 134 *E. kamerunicus* ont été capturés entre les 1^{er} et 4^{eme} jours de l'anthèse (Figure 22A). Les 890 *E. kamerunicus* capturés le 6^{eme} jour après l'anthèse (3 % du total) sont dues à une seule inflorescence mâle dont l'anthèse a duré deux jours de plus que les autres. Sur les 5 inflorescences femelles échantillonnées, les 6 672 *E. kamerunicus* ont tous été capturés les 3 premiers jours de l'anthèse, dont 60 % d'entre eux capturés le 2nd jour (Figure 22A). Le faible nombre d'inflorescences échantillonnées n'a pas permis de révéler de variations significatives du nombre d'*E. kamerunicus* capturés entre les jours de la floraison (Kruskal-Wallis ; inflorescences mâles : $df = 4, \chi^2 = 6.79, p = 0.15$; inflorescences femelles : $df = 3, \chi^2 = 6.68, p = 0.08$).

Concernant *E. oleifera*, parmi les 30 693 *G. hybridus* capturés sur les 9 inflorescences mâles échantillonnées, 93.2 % l'ont été entre le 2nd et le 4^{eme} jour de l'anthèse (Figure 22B). Le nombre de captures ne diffèrent pas significativement entre ces 3 jours, mais diffèrent des autres jours de la floraison (Kruskal-Wallis : *E. oleifera* Taisha mâle : $df = 3, \chi^2 = 27.81, p < 0.0001$). Respectivement 93.5 % des 7 541 et 72.9 % des 12 035 *G. hybridus* capturés sur les 11 inflorescences femelles d'*E. oleifera* Coari et les 9 inflorescences femelles d'*E. oleifera* Taisha l'ont été le 1^{er} jour de l'anthèse (Kruskal-Wallis : *E. oleifera* Taisha femelle : $df = 3, \chi^2 = 15.60, p < 0.001$; *E. oleifera* Coari femelle : $df = 3, \chi^2 = 18.22, p < 0.001$) (Figure 22B).

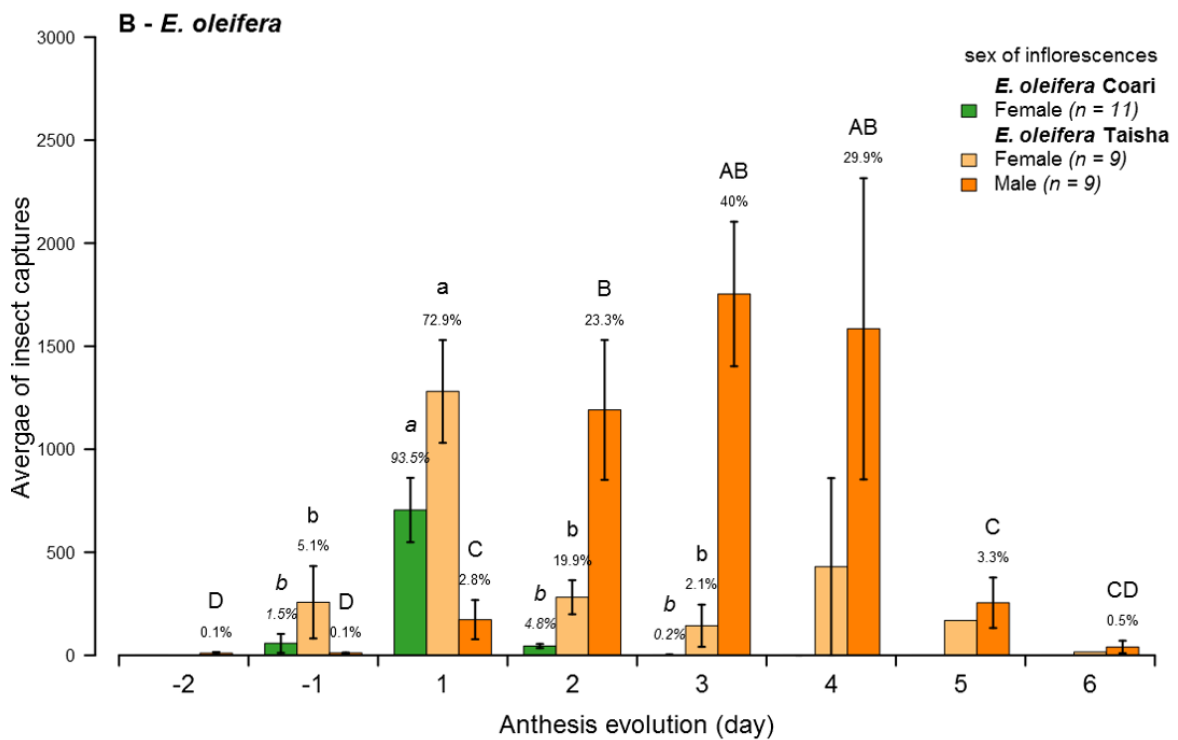
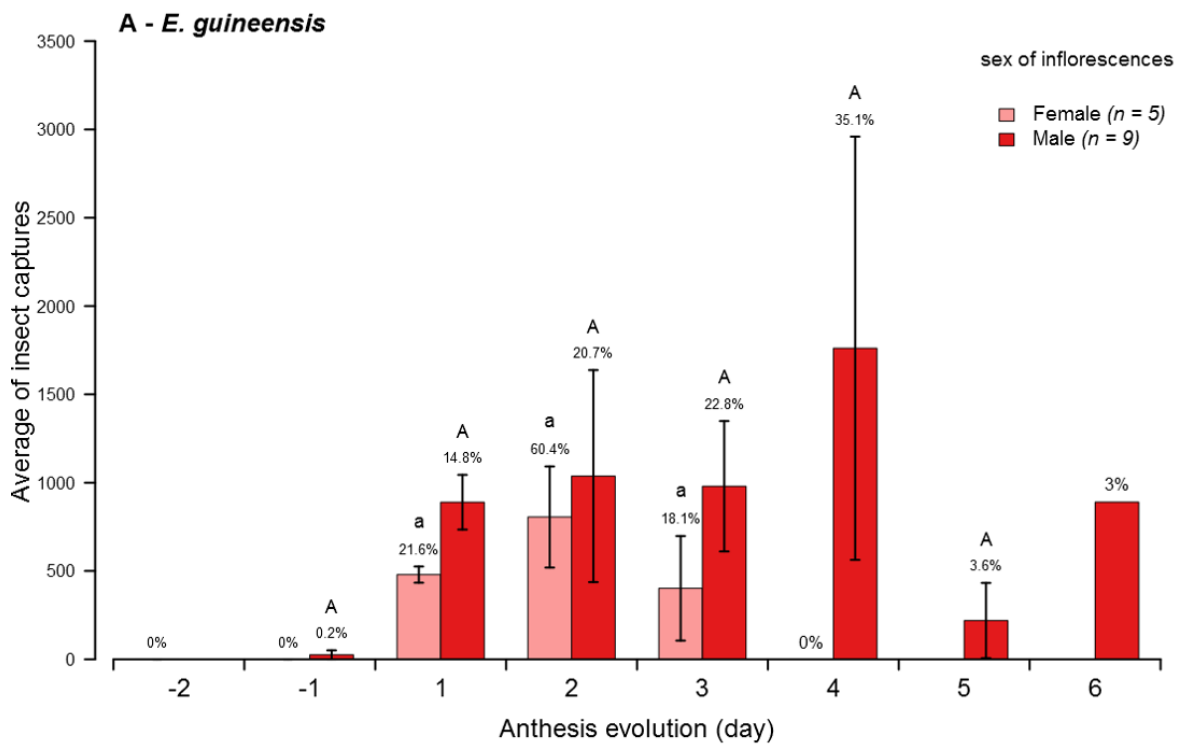


Figure 22: Evolution des captures moyennes d'insectes pollinisateurs sur les inflorescences de leur espèce de palmier respective en fonction de la floraison (pré-anthèse : jours -2 et -1 ; anthèse mâle : jours 1 à 5, anthèse femelle : jours 1 à 2 ; post-anthèse : jours faisant suite aux

jours d'anthèse). a) nombre moyen d'*E. kamerunicus* capturés sur les inflorescences mâles (gris) et femelles (noir) d'*E. guineensis*, b) nombre moyen de *G. hybridus* capturés sur les inflorescences mâles (gris) et femelles (noir) d'*E. oleifera* Taisha et femelles d'*E. oleifera* Coari (blanc). Pour chaque espèce de palmier, et chaque sexe d'inflorescence, les barres qui partagent la même lettre n'ont pas des captures moyennes d'insectes significativement différentes, et le pourcentage de captures pour chaque jour de floraison est indiqué sous chaque lettre. Dans la légende, *n* représente le nombre d'inflorescences échantillonnées par sexe.

Rythmicité de la thermogénèse florale

Au sein des inflorescences femelles, une augmentation de la température s'est manifestée les 1^{er} et 2nd jours de l'anthèse d'*E. guineensis*, et le 1^{er} jour de l'anthèse d'*E. oleifera* Taisha et Coari. Les [figures 23A, 23B et 23C](#) montrent la moyenne de température des inflorescences des deux espèces de palmiers en fonction des jours de l'anthèse par rapport à la température du milieu ambiant. La température des inflorescences mâles et femelles des deux espèces de palmier présente des variations journalières cycliques, avec de larges amplitudes entre le jour et la nuit les jours précédant le début de l'anthèse et les premiers jours de l'anthèse : la nuit, la température florale des inflorescences mâles et femelles est toujours légèrement plus élevée de 1°C à 6°C que la température ambiante, alors que cet écart s'inverse la journée jusqu'à atteindre de 0°C à 3°C de moins vers 12 h, aux heures les plus chaudes de la journée. Au fur et à mesure que l'anthèse progresse, la température florale nocturne se rapproche (inflorescences femelles) ou s'équilibre (inflorescences mâles) avec la température ambiante.

L'augmentation de température des inflorescences femelles d'*E. guineensis* atteint en moyenne de 3°C à 6°C de plus que la température ambiante et se présente sous la forme de trois pics qui surviennent le matin entre 6 h et 8 h puis le soir à 18 h au cours du premier jour de l'anthèse, puis vers 18h le second jour d'anthèse ([Figure 23a](#)). Entre ces trois pics de température la température florale femelle diurne est d'1 à 3 °C supérieure à la température ambiante, alors qu'à l'opposé, elle est à l'équilibre ou inférieure d'1 à 2°C en phase de pré-anthèse (jours -1 et -2) et de post-anthèse (après le 3^{eme} jour d'anthèse). La température des inflorescences mâles d'*E. guineensis* ne semble pas subir de hausse similaire à celle des femelles durant la phase d'anthèse. Cependant, la diminution de température qui se produit

en journée est moins prononcée du 1^{er} au 4^{ème} jour de l'anthèse que durant les phases de pré-anthèse et de post-anthèse (de 1°C à 2°C inférieure à la température ambiante contre 3°C inférieure).

Pour les inflorescences femelles d'*E. oleifera* Taisha et Coari, la hausse de température est particulièrement élevée à 18 h, au crépuscule du 1^{er} jour de l'anthèse, atteignant en moyenne 10°C de plus que la température ambiante (Figures 23B et 23C). De légères augmentations de 4 à 5°C se produisent également les deux jours précédant l'anthèse et le deuxième jour d'anthèse. Une hausse de température atteignant 4°C de plus que la température ambiante a aussi été détectée au même moment chez les inflorescences mâles d'*E. oleifera* Taisha, entre le jour précédant l'anthèse jusqu'au 3^{ème} jour d'anthèse.

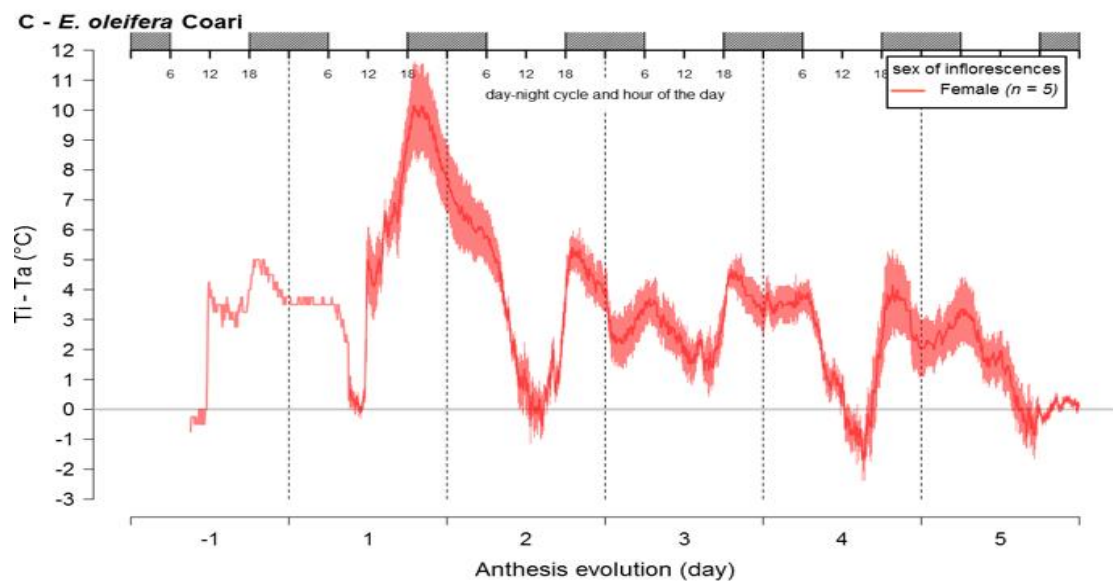
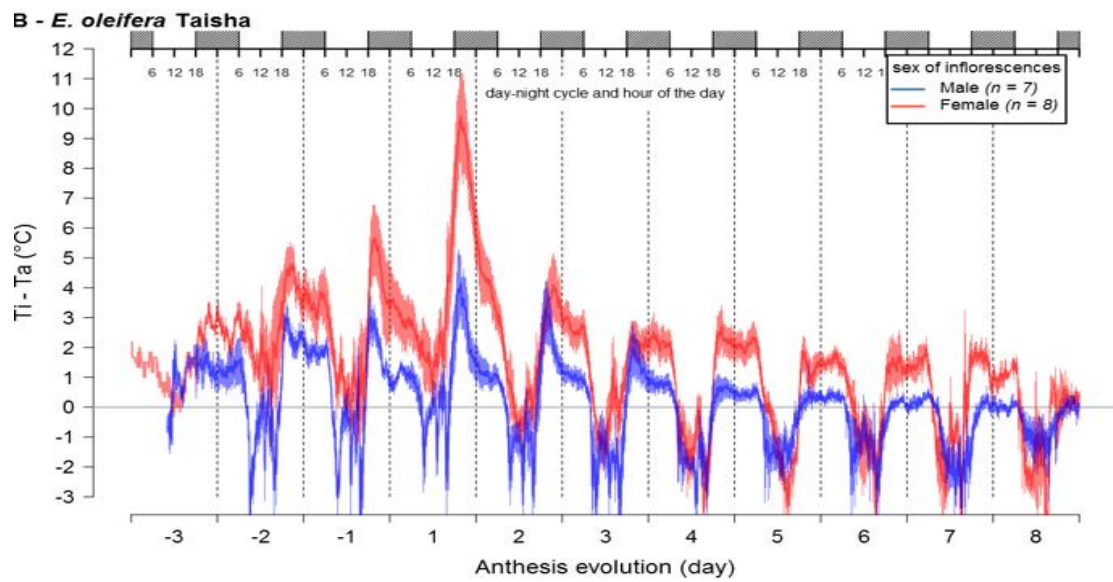
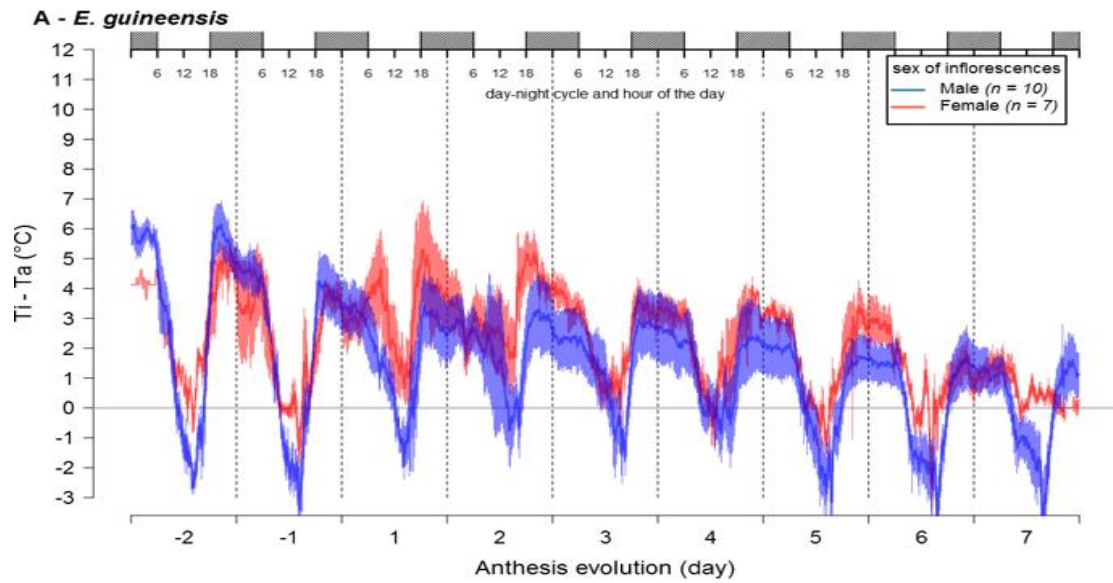


Figure 23 : Evolution de l'écart entre la température florale moyenne et la température ambiante en fonction des jours précédant l'anthèse (pré-anthèse : jours -2 et -1 ; anthèse mâle : jours 1 à 5, anthèse femelle : jours 1 à 2 ; post-anthèse : jours faisant suite aux jours d'anthèse) d'*E. guineensis* (A), d'*E. oleifera* Taisha (B) et d'*E. oleifera* Coari (C). Les inflorescences mâles sont en bleu et les femelles en rouge. La ligne foncée indique la moyenne des températures et les zones claires de part et d'autre de cette ligne l'écart-type. L'alternance des zones blanches et grisées au-dessus des graphiques de température représente le cycle jour-nuit, et les chiffres au-dessous les heures de la journée. n représente le nombre d'inflorescences échantillonnées par sexe pour chaque espèce et population.

Variations temporelles de la composition des odeurs florales

La composition des odeurs florales émises par les inflorescences d'*E. guineensis*, d'*E. oleifera* Taisha et d'*E. oleifera* Coari aux stades pré-anthèse, anthèse matinale, anthèse crépusculaire et post-anthèse est résumée dans le [tableau annexe 6](#). Un total de 87 COVs a été trouvé dans les chromatogrammes des odeurs florales, tous échantillons confondus, parmi lesquels 75 ont été trouvés chez *E. guineensis* et 72 chez *E. oleifera*. Ces COVs ont été répartis en plusieurs classes chimiques ([Knudsen et al. 2006](#)), incluant des composés benzéniques, des composés terpéniques (séparés en homoterpènes, monoterpènes et sesquiterpènes), des dérivés d'acides gras, et des composés azotés. Le butyrolactone a été mis dans une classe à part (*Miscellaneous*), et trois composés n'ont pas pu être identifiés.

D'après les tests statistiques, les odeurs florales présentent des variations temporelles significatives entre les quatre stades de floraison, que ce soit pour les inflorescences mâles et femelles d'*E. guineensis* (PERMANOVA : $df = 3$, $F = 6.71$, $r^2 = 0.41$, $p < 0.0001$), celles d'*E. oleifera* Taisha (PERMANOVA : $df = 3$, $F = 4.38$, $r^2 = 0.35$, $p < 0.0001$) et les inflorescences femelles d'*E. oleifera* Coari (PERMANOVA : $df = 3$, $F = 4.33$, $r^2 = 0.65$, $p < 0.05$). D'après les tests de comparaison post-hoc, les odeurs florales des inflorescences mâles et femelles d'*E. guineensis* et d'*E. oleifera* Taisha et Coari en anthèse ne sont pas significativement différentes entre le matin et le soir, mais sont différentes de celles des inflorescences en pré-anthèse et en post-anthèse. L'ordination des individus dans l'espace NMDS en fonction de la composition relative de leurs profils chromatographiques a permis de confirmer graphiquement, pour *E. guineensis*, la séparation du groupe des inflorescences en anthèse (matin et soir incluses) des groupes des inflorescences en pré-anthèse et des inflorescences en post-anthèse ([Figure 24a](#)).

Dans le cas d'*E. oleifera* Taisha, seules les inflorescences mâles et femelles échantillonnées le soir sont bien séparées des autres (Figure 24b). Dans le cas d'*E. oleifera* Coari, les inflorescences en anthèse du soir et celles en post-anthèse sont en partie superposées. En outre, les inflorescences en anthèse d'*E. oleifera* Coari et d'*E. oleifera* Taisha différaient par leur profil chimique, comme montré dans le chapitre 4).

D'après l'analyse SIMPER, la variation entre les phases d'anthèse et les phases pré- et post-anthèse d'*E. guineensis* est expliquée à 50 % par la proportion d'estragole et d'anethole. Le cyclosativene, le 2-isobutyl-3-methoxy-pyrazine, le 2-isopropyl-3-methoxy-pyrazine, l'alpha-copaene et le methyl benzoate expliquent près de 50 % des différences entre l'anthèse et les stades pré- et post- anthèse d'*E. oleifera* Taisha. L'estragole, le cyclosativene, le 2-isobutyl-3-methoxy-pyrazine et le p-xylene expliquent près de 50 % de celles observées pour *E. oleifera* Coari.

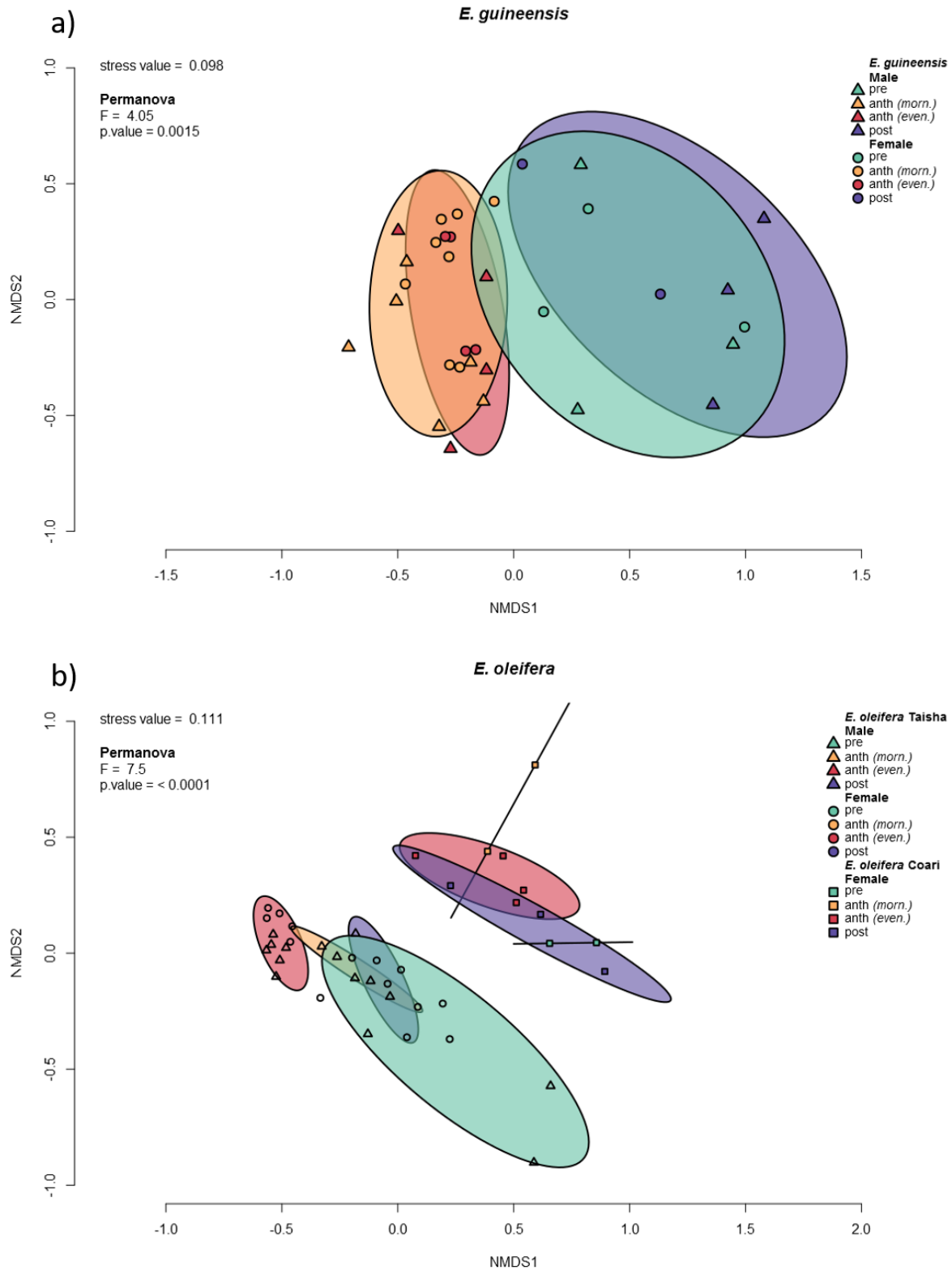


Figure 24 : Représentation des différences de profil chimique floral entre les phases de pré-anthèse (*pre* : ellipses et symboles verts), anthèse matinale (*anth (morn.)* : ellipses et symboles orange), anthèse crépusculaire (*anth (even.)* : ellipses et symboles rouges) et post-anthèse (*post* : ellipses et symboles violets) des espèces de palmiers a) *E. guineensis* (stress value =

0.09) et b) *E. oleifera* Taisha et *E. oleifera* Coari (stress value = 0.11). L'ordination des individus (inflorescences) dans l'espace NMDS se fait en fonction de la proportion relative des composés organiques volatils constituant les profils chimiques. Les triangles représentent les inflorescences mâles et les ronds les inflorescences femelles d'*E. guineensis* et d'*E. oleifera* Taisha, et les carrés les inflorescences femelles d'*E. oleifera* Coari.

Variation de la température florale et des proportions des principaux COVs

La comparaison des températures florales moyennes d'*E. guineensis* et d'*E. oleifera* mesurées sur toute la période d'activité de leurs insectes pollinisateurs respectifs (respectivement entre 9 h et 13 h, et entre 17 h30 et 19 h) montre des variations significatives entre les phases de l'anthèse (Kruskal-Wallis : *E. guineensis* mâle : $df = 3$, $\chi^2 = 200.47$, $p < 0.0001$; *E. guineensis* femelle : $df = 3$, $\chi^2 = 229.25$, $p < 0.0001$; *E. oleifera* Coari femelle : $df = 3$, $\chi^2 = 56$, $p < 0.0001$; *E. oleifera* Taisha mâle : $df = 3$, $\chi^2 = 195.19$, $p < 0.0001$; *E. oleifera* Taisha femelle : $df = 3$, $\chi^2 = 239.35$, $p < 0.0001$). D'après les tests de comparaison post-hoc, la température florale est toujours plus élevée durant la phase d'anthèse crépusculaire, peu importe l'espèce ou le sexe des inflorescences (Figure 25). Elle est aussi significativement plus élevée durant l'anthèse matinale d'*E. guineensis* femelle que les stades pré- et post-anthèse. Parmi les principaux composés à l'origine de la distinction entre les différentes phases de la floraison (estragole, anéthole, cyclosativène et 2-isobutyl-3-méthoxypyrazine), la proportion relative de ceux-ci varie au cours des phases de la floraison et diffère en fonction du sexe des inflorescences qui les émettent (Figure 25). Dans le cas d'*E. guineensis*, la proportion d'estragole ne varie pas significativement au cours de la floraison des inflorescences femelles, mais diminue fortement en post-anthèse des inflorescences mâles. Pour les deux sexes, la proportion d'estragole est très variable entre les individus au stade pré-anthèse. La proportion relative d'anéthole est significativement supérieure en phase d'anthèse, et est similaire entre mâles et femelles. Chez les inflorescences femelles d'*E. oleifera* Coari, la proportion relative d'estragole est significativement supérieure en phase d'anthèse. Pour les inflorescences mâles et femelles d'*E. oleifera* Taisha et Coari, la proportion relative de 2-isobutyl-3-méthoxypyrazine augmente en phase d'anthèse. Inversement, la proportion de cyclosativène diminue au cours de l'anthèse par rapport aux phases de pré- et post-anthèse, même si les tests post-hoc ne montrent pas de différences très significatives. D'autres composés ont vu

leur proportion augmenter en phases de pré-anthèse et post-anthèse, tels que le benzaldehyde, et le benzyl alcool chez *E. guineensis* (Tableau annexe 6).

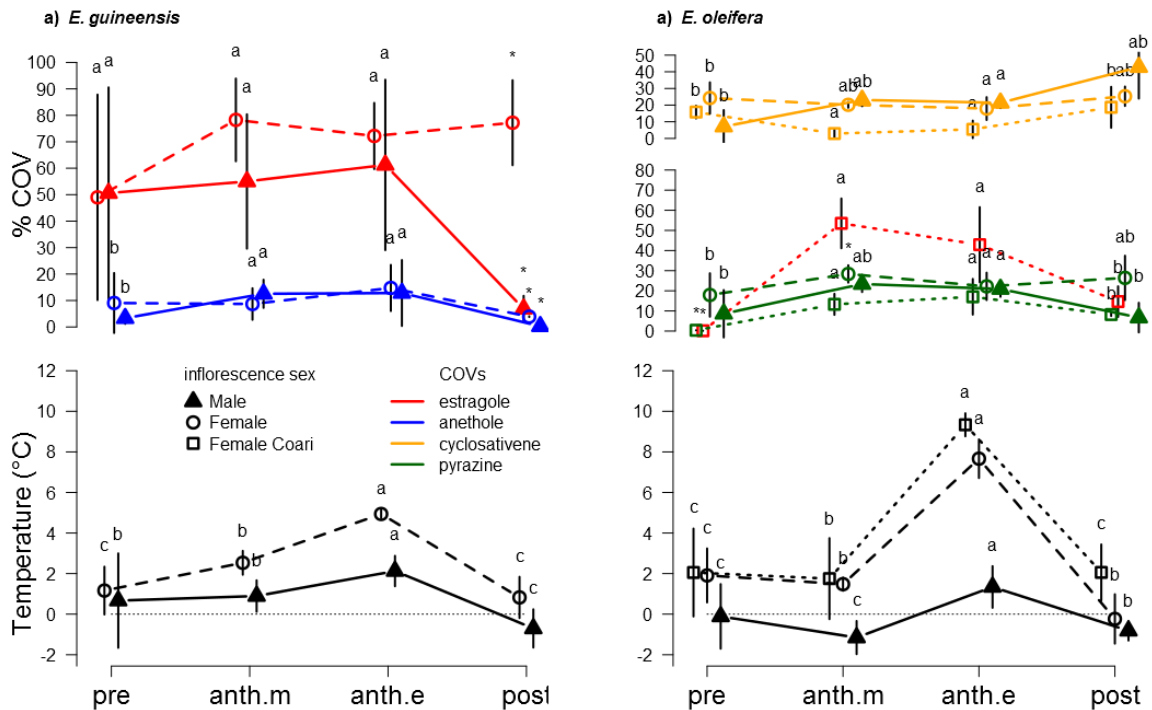


Figure 25 : Variation moyenne des écarts entre la température florale et la température ambiante (bas) et variation de la proportion relative des principaux composés organiques volatils (haut) en fonction des phases de pré-anthèse (*pre*), anthèse matinale (*anth.m* : entre 9 :00 et 12 :00), anthèse crépusculaire (*anth.e* : entre 17 :30 et 19 :00) et post-anthèse (*post*), pour les inflorescences mâles (triangle) et femelles (*E. oleifera* Coari : rond, *E. oleifera* Taisha : carré). Des lettres identiques indiquent que les températures moyennes ou la proportion des composés n'est pas différentes entre les stades de floraison considérés.

Discussion

Au cours de la floraison des inflorescences mâles et femelles des deux espèces de palmier, nous avons mis en évidence que celles-ci étaient essentiellement visitées par les deux insectes pollinisateurs *E. kamerunicus* et *G. hybridus* durant la phase d'anthèse, phase spécifiquement caractérisée par un changement dans la composition des odeurs florales et

par une production de chaleur chez les inflorescences femelles, et éventuellement par les inflorescences mâles d'*E. oleifera* Taisha. Cette étude démontre pour la première fois que les inflorescences femelles d'*E. guineensis* et d'*E. oleifera* sont thermogéniques. Ce phénomène avait déjà été signalé chez *E. guineensis* par [Genty et al. \(1986\)](#) et [Misztal et al. \(2010\)](#), mais c'est la première fois qu'il est rapporté chez *E. oleifera*, et que les variations de la température florale sont étudiées chez les deux espèces du genre *Elaeis*. Durant la phase d'anthèse, le timing de montée en température dans la journée coïncide avec le moment où les insectes sont actifs ([Chapitre 2](#)). De plus, la composition globale des odeurs florales et la proportion des principaux composés organiques volatils sont spécifiques durant l'anthèse par rapport aux autres phases, sauf le matin et le soir où elles sont similaires.

L'analyse NMDS a permis de mettre en évidence que la composition chimique des inflorescences varie au cours de la floraison. La phase d'anthèse, attractive pour les pollinisateurs, est chimiquement distincte des phases de pré-anthèse et de post-anthèse qui ne les attirent pas ou peu. La proportion relative des principaux COVs évolue au cours de la floraison. Un changement qualitatif ou quantitatif (en proportion relative ou en quantité) de certains composés en phase de pré- ou de post-anthèse peut provoquer une modification du comportement des pollinisateurs, par exemple en les incitant à se déplacer vers de nouvelles fleurs et à transférer du pollen ([Ashman 2009](#)), comme cela a été mis en évidence chez l'orchidée *Ophrys sphegodes* (Orchidales : Orchidaceae) ([Schiestl and Ayasse 2001](#)) ou au sein du genre *Cirsium* (Asterales : Asteraceae) ([Theis et al. 2007](#)). Chez le cycas australien *Macrozamia lucida* (Cycadales : Zamiaceae), [Terry et al. \(2007\)](#) ont mis en évidence un mécanisme de pollinisation original, dit « push-pull », où le spectaculaire accroissement de la concentration du β -myrcène - jusqu'à un million de fois la concentration habituelle -, synchrone avec un épisode de thermogénèse, incite les Thrips pollinisateurs *Cycadothrips chadwicki* (Thysanoptera : Aleothripidae) à quitter les cônes mâles, et à se diriger vers les cônes femelles qu'ils pollinisent. Le β -myrcène, d'ordinaire attractif pour les insectes pollinisateurs, devient répulsif et toxique lorsqu'il est produit à haute dose. Notre étude montre que chez les palmiers *Elaeis*, il se produit en phase de post-anthèse un changement de l'attractivité des inflorescences mâles pour les charançons pollinisateurs, reflété par la modification des proportions relatives des principaux composés (chez *E. guineensis* : diminution de l'estragole en parallèle de l'augmentation des composés aromatiques p-xylène et benzaldehyde, du dérivé d'acide gras 3-heptanone, du monoterpène limonène ; chez *E.*

oleifera Taisha : diminution du 2-isobutyl-3-methoxypyrazine en parallèle de l'augmentation du cyclosativene). L'augmentation de la proportion relative du cyclosativene en post-anthèse sur les inflorescences mâles d'*E. oleifera* Taisha est remarquable et pourrait avoir une fonction répulsive pour *G. hybridus* et d'éventuels herbivores post-floraux. L'augmentation de la production de ce sesquiterpène a été rapporté pour les fleurs de Centaurée *Centaurea solstitialis* (Asterales : Asteraceae) lorsqu'elles étaient manuellement endommagées de manière à simuler l'attaque d'un herbivore (Beck et al. 2015), suggérant que ce composé pourrait avoir une fonction de défense ou de répulsion à travers différents groupes taxonomiques. Le changement chimique des odeurs entre la phase de pré-anthèse et d'anthèse pourrait augmenter l'attractivité des pollinisateurs pour les inflorescences mâles, et à l'opposé le changement qui s'opère entre la phase d'anthèse et la phase post-anthèse pourrait inciter les insectes pollinisateurs couverts de pollen à quitter les inflorescences mâles en masse pour chercher de nouveaux hôtes sur lesquels se nourrir et pondre. L'augmentation de température qui se produit surtout durant la phase d'anthèse des inflorescences femelles pourrait également refléter un changement dans l'attractivité.

Bien que la composition chimique des odeurs émises par les inflorescences femelles en anthèse varie peu entre le jour et la nuit, la temporalité de la production de chaleur suggère que la thermogénèse a un rôle dans l'attraction des insectes. Les inflorescences femelles d'*E. guineensis* et d'*E. oleifera* exhibent une phase de production de chaleur dont le timing se superpose parfaitement à la période d'activité de leur pollinisateur respectif (ce chapitre et le chapitre 2), et pourrait par conséquent renforcer la spécificité de l'interaction. Dans la plantation PDE, l'activité d'*E. kamerunicus* se produit au cours de la matinée, dans un laps de temps principalement compris entre 9 h et 13 h, alors que l'activité de *G. hybridus* est très courte, survenant très précisément à la tombée de la nuit, vers 18 h (Auffray et al. 2017, chapitre 2) et c'est précisément à chacune de ces périodes que l'élévation de température des inflorescences femelles d'*E. guineensis* et d'*E. oleifera* se produit (bien que l'augmentation de température sur *E. guineensis* se poursuive après la période d'activité d'*E. kamerunicus*, voir plus loin). Malgré leurs différences chimiques, les inflorescences femelles des deux populations d'*E. oleifera* montrent un pattern de hausse de température tout à fait similaire, cohérent avec la visite crépusculaire de *G. hybridus*. Une telle synchronicité entre l'émission de chaleur et l'activité des pollinisateurs a déjà été rapporté sur plusieurs espèces de plante

thermogénique, incluant des Cycas visités par des charançons (Terry et al. 2004; Suinyuy et al. 2008; Suinyuy et al. 2010; Suinyuy et al. 2013) ou des thrips (Terry et al. 2004), ou encore des Arum (Arecales : Araceae) pollinisés par des coléoptères Dynastidae (e.g. Dötterl et al. 2012). Alors que nos résultats ne laissent aucun doute que les inflorescences femelles d'*E. oleifera* sont thermogéniques, la survenue de ce phénomène chez les inflorescences femelles d'*E. guineensis* est plus difficile à percevoir car la hausse de température est moins marquée. Pourtant l'émission de chaleur est aisée à distinguer lorsqu'on pose la main sur l'inflorescence (pers. obs.). Le phénomène de thermogénèse est généralement difficile à identifier lorsqu'il se produit en début de journée, car il suit l'augmentation de la température ambiante, alors qu'à l'opposé il est particulièrement flagrant en fin de journée lorsque la température ambiante diminue (Terry et al. 2004), comme dans le cas d'*E. oleifera*. En revanche, nos résultats n'ont pas permis d'identifier de hausse distincte de température chez les inflorescences mâles d'*E. guineensis*. De plus, la hausse constatée chez les inflorescences mâles d'*E. oleifera* Taisha est bien moins marquée que celle des femelles, et pourrait résulter d'un retard dans le refroidissement de l'inflorescence par rapport à celui de la température ambiante (voir annexe 44). Considérer les inflorescences mâles comme des organes thermogéniques restent donc pour le moment hypothétique. Cependant, comme l'indique Seymour and Schultze-Motel (1999), une production de chaleur ne conduit pas forcément à une augmentation de température, notamment à cause de l'évaporation. On remarque l'effet de l'évaporation par une perte de chaleur des inflorescences, quand la température de celles-ci devient inférieure à 0°C par rapport à la température ambiante. Cette diminution de température des inflorescences mâles d'*E. guineensis* pourrait d'ailleurs inciter les *E. kamerunicus* à partir, et à rechercher une autre inflorescence. L'évaporation des inflorescences femelles en anthèse des deux espèces est aussi constatée quand la température florale diminue aux heures les plus chaudes de la journée avant de remonter en fin de journée. Un moyen de contourner le masquage de la température ambiante en journée serait de mesurer les variations de consommation d'oxygène et l'humidité relative (Seymour and Schultze-Motel 1999; Terry et al. 2016).

Plusieurs explications ont été avancées concernant le rôle biologique de la thermogénèse florale : il a été suggéré qu'elle pouvait favoriser la croissance des tubes polliniques ou le développement des larves de pollinisateurs, pousser les insectes à quitter les inflorescences, agir intrinsèquement comme signal attractif, amplifier la diffusion des odeurs

(Ervik and Barfod 1999) ou agir en tant que récompense florale (Seymour et al. 2003). Contrairement à *Phytelphas aequatorialis* où la chaleur est produite par le bourgeon foliaire et non par l'inflorescence en anthèse (Pincebourde et al. 2016), la chaleur des inflorescences femelles d'*Elaeis* en anthèse est émise au niveau des épillets et de l'axe central de l'inflorescence (pers. obs.). L'association entre odeur florale et élévation de température pourrait renforcer l'attraction des pollinisateurs, en volatilisant les composés organiques volatils, et ferait du processus de thermogénèse un rouage essentiel dans le mécanisme de la pollinisation du palmier à huile, comme cela a déjà été montré chez les Araceae (Angioy et al. 2004). Les inflorescences femelles d'*Elaeis* sont supposées ne fournir aucune récompense à leur pollinisateur (Tandon et al. 2001). L'absence de différences de composition entre les profils chimiques des odeurs des inflorescences mâles et femelles des deux espèces de palmier a déjà été mis en évidence (Auffray et al. 2016, chapitre 4). Ce mimétisme intersexuel aurait un rôle crucial dans la pollinisation de ces plantes, en empêchant les insectes chargés de pollen partant des inflorescences mâles et à la recherche d'une nouvelle inflorescence mâle hôte, de choisir entre les deux sexes. Les inflorescences femelles leurrant les insectes seraient alors visitées « par erreur », permettant le transfert de pollen. L'élévation de la température femelle les rendrait plus distinctes vis-à-vis des inflorescences mâles avec qui elles compétent pour attirer les insectes, mais pourrait aussi permettre une attraction à longue distance. De plus l'anthèse des inflorescences mâles des deux espèces durent en moyenne 4 à 5 jours, alors que celle des inflorescences femelles est bien plus courte, n'excédant pas 2 jours chez *E. guineensis*, et un jour chez *E. oleifera*. La thermogénèse pourrait rendre les inflorescences femelles soudainement plus apparentes que les inflorescences mâles afin de leurrer plus efficacement les insectes. La plupart des insectes qui visitent une inflorescence femelle ne restent pas plus de quelques minutes, même s'il est possible qu'un certain nombre restent à l'intérieur bien plus longtemps (Ollivier L., pers. com.), suggérant qu'au-delà de l'hypothèse que les insectes se rendent compte de leur erreur, leur départ rapide soit induit soit par un effet de la température, soit un effet des odeurs, ou bien les deux.

Le pic de température observé en fin de journée lors des deux premiers jours de l'anthèse des inflorescences femelles d'*E. guineensis* n'est pas synchronisé avec l'activité d'*E. kamerunicus*. D'après les données (non montrées) où température ambiante et température florale sont superposées pour chaque inflorescence prise individuellement, il semblerait que la diminution de la température florale soit retardée par rapport à celle de la température

ambiante en fin de journée. Ceci est en accord avec [Misztal et al. \(2010\)](#) qui ont rapporté un pic dans la concentration atmosphérique d'estragole en fin de journée dans une plantation à Bornéo, ainsi qu'avec les observations de [Mariau et al. \(1991\)](#) en Afrique de l'Ouest et celles de [Yue et al. \(2015\)](#) sur l'île de Hainan, au large de la Chine, qui ont noté un léger pic d'activité d'*E. kamerunicus* au même moment, plus réduit à la fois en termes de durée et de nombre d'individus concernés par rapport à l'activité matinale. La production de chaleur le soir pourrait donc être un caractère dérivé reflétant le lien phylogénique entre *E. guineensis* et *E. oleifera*.

Etonnamment, les odeurs des inflorescences femelles entre les deux populations d'*E. oleifera* arborent des divergences dans leur composition chimique, qui sont dues en particulier à la dominance de l'estragole et à la faible proportion de sesquiterpènes chez les palmiers d'origine Coari, alors que l'inverse est observé chez les palmiers d'origine Taisha ([Chapitre 4](#)). Bien que ces différences chimiques placent l'*E. oleifera* Coari dans une position intermédiaire entre *E. oleifera* Taisha et *E. guineensis*, les palmiers des deux populations d'*E. oleifera* ont en commun de partager le même pollinisateur *G. hybridus*, que ce soit dans la plantation PDE ([Chapitre 4](#)) ou dans les populations naturelles de Taisha et Coari ([O'Brien et al. 2004](#)). Le fait qu'aucun *E. kamerunicus* n'ait été capturé sur les inflorescences femelles d'*E. oleifera* Coari ([Auffray et al. 2017](#)) alors que celles-ci émettent de l'estragole (composé auquel cet insecte répond ([Hussein et al. 1989](#); [Hussein et al. 1991](#)) en proportions dominantes le matin et le soir durant la phase l'anthèse, amène à plusieurs hypothèses : 1) l'attraction d'*E. kamerunicus* pour ce composé est dose-dépendante, et la quantité produite par les inflorescences d'*E. oleifera* Coari n'est pas compatible avec une réponse de cet insecte, 2) certains composés du blend d'odeurs émis par les inflorescences sont répulsifs pour *E. kamerunicus*, 3) aucune population d'*E. kamerunicus* n'est disponible à proximité, puisque la parcelle d'*E. oleifera* Coari est uniquement bordée par des parcelles hybrides qui ne produisent quasiment pas d'inflorescences mâles à partir desquelles se développent les insectes (pers. obs.), et ces insectes ne parcourent qu'une centaine de mètres durant leur période d'activité ([Chapitre 3](#)) rendant peu probable leur venue depuis des parcelles d'*E. guineensis* distantes, 4) l'absence d'élévation de température des inflorescences durant la période d'activité d'*E. kamerunicus* ne permet pas une volatilisation suffisante de l'estragole pour attirer les insectes à distance (voir ci-après). Il est tout à fait possible que plusieurs de ces hypothèses agissent en synergie.

En conclusion, les traits floraux – thermogénèse et odeurs florales – ont probablement un rôle important dans l’attraction des insectes pollinisateurs et agiraient en synergie pour permettre la pollinisation des inflorescences femelles. La fonction biologique de l’augmentation de température florale n'est pas précisément connue et devrait être davantage étudiée, et des tests complémentaires devraient être réalisés pour déterminer si l’attraction des insectes est renforcée par la synergie entre odeurs et thermogénèse (Suinyuy et al. 2013). De plus, l’étude des processus physiologiques sous-jacent au phénomène de thermogénèse apporterait des indications sur les éventuels rôles joués.

Bibliographie

- Adam H, Collin M, Richaud F, et al (2011) Environmental regulation of sex determination in oil palm: current knowledge and insights from other species. *Ann Bot* 108:1517–1527. doi: doi:10.1093/aob/mcr149
- Adam H, Jouannic S, Escoute J, et al (2005) Reproductive developmental complexity in the African oil palm (*Elaeis guineensis*, *Arecaceae*). *Am J Bot* 92:1836–1852.
- Anderson MJ (2001) A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecol* 26:32–46.
- Angioy A-M, Stensmyr MC, Urru I, et al (2004) Function of the heater: the dead horse arum revisited. *Proc R Soc B Biol Sci* 271:S13–S15. doi: 10.1098/rsbl.2003.0111
- Ashman T-L (2009) Sniffing out patterns of sexual dimorphism in floral scent. *Funct Ecol* 23:852–862. doi: 10.1111/j.1365-2435.2009.01590.x
- Auffray T, Frérot B, Poveda R, Louise C, Beaudoin-Ollivier L (2017, submitted) Diel Patterns of Activity for Insect Pollinators of Two Oil Palm Species
- Auffray T, Pinier C, Poveda R, Louise C, Beaudoin-Ollivier L, Frérot B (2016) Oil Palm Entomophile Pollination Depends on an Intersexual Chemical Mimicry. Poster. Presented to SFécologie2016, 24 - 28 October 2016, Marseilles
- Azuma H, Thien LB, Kawano S (1999) Floral scents, leaf volatiles and thermogenic flowers in *Magnoliaceae*. *Plant Species Biol* 14:121–127.

- Barfod AS, Hagen M, Borchsenius F (2011) Twenty-five years of progress in understanding pollination mechanisms in palms (Arecaceae). *Ann Bot* 108:1503–1516. doi: 10.1093/aob/mcr192
- Beck JJ, Porter N, Cook D, et al (2015) In-field volatile analysis employing a hand-held portable GC-MS: emission profiles differentiate damaged and undamaged yellow starthistle flower heads: Discrimination of Damaged and Undamaged Flower Heads by Portable GC-MS. *Phytochem Anal* 26:395–403. doi: 10.1002/pca.2573
- Borges RM, Bessière J-M, Ranganathan Y (2013) Diel Variation in Fig Volatiles Across Syconium Development: Making Sense of Scents. *J Chem Ecol* 39:630–642. doi: 10.1007/s10886-013-0280-5
- Cochard B, Amblard P, Durand-Gasselín T (2005) Oil palm genetic improvement and sustainable development. *Ol Corps Gras Lipides* 12:141–147. doi: 10.1051/ocl.2005.0141
- Corley RHV (2009) How much palm oil do we need? *Environ Sci Policy* 12:134–139. doi: 10.1016/j.envsci.2008.10.011
- Corley RHV, Tinker PB (2008) *The oil Palm* 4th ed., Blackwell Science. John Wiley & Sons
- Dötterl S, David A, Boland W, et al (2012) Evidence for Behavioral Attractiveness of Methoxylated Aromatics in a Dynastid Scarab Beetle-Pollinated Araceae. *J Chem Ecol* 38:1539–1543. doi: 10.1007/s10886-012-0210-y
- Dudareva NA, Pichersky E (eds) (2006) *Biology of floral scent*. CRC/Taylor & Francis, Boca Raton, FL
- Ervik F, Barfod A (1999) Thermogenesis in palm inflorescences and its ecological significance. *Acta Bot Venezuelica* 22:195–212.
- Ervik F, Tollsten L, Knudsen JT (1999) Floral scent chemistry and pollination ecology in phytelephantoid palms (Arecaceae). *Plant Syst Evol* 217:279–297.
- Faegri K, Pijl L van der (1966) *The Principles of Pollination Ecology*. 248 pp.

- Genty P, Garzon A, Lucchini F, Delvare G (1986) Polinización entomófila de la palma africana en América tropical. *Oleagineux* 41:99–112.
- Gomes SMDS (2011) Polinizadores e semioquímicos do dendezeiro híbrido (*Elaeis oleifera* Cortés x *Elaeis guineensis* Jacq). Universidade federal de Viçosa
- Gottsberger G (1989) Beetle pollination and flowering rhythm of *Annona* spp.(Annonaceae) in Brazil. *Plant Syst Evol* 167:165–187.
- Henderson A (1986) A review of pollination studies in the Palmae. *Bot Rev* 52:221–259.
- Hoballah ME, Stuurman J, Turlings TCJ, et al (2005) The composition and timing of flower odour emission by wild *Petunia axillaris* coincide with the antennal perception and nocturnal activity of the pollinator *Manduca sexta*. *Planta* 222:141–150. doi: 10.1007/s00425-005-1506-8
- Hussein MY, Lajis NH, Ali JH, et al (1991) Biological and chemical factors associated with the successful introduction of *Elaeidobius kamerunicus* Faust, the oil palm pollinator in Malaysia. Research Centre for Insect Pollination and Beekeeping and International Society for Horticultural Science, pp 81–87
- Hussein MY, Lajis NH, Kinson A, Teo CB (1989) Laboratory and field evaluation on the attractancy of *Elaeidobius kamerunicus* Faust to 4- allylanisole. *PORIM Bull* 20–26.
- Jardine KJ, Gimenez BO, Araújo AC, et al (2016) Diurnal pattern of leaf, flower and fruit specific ambient volatiles above an oil palm plantation in Pará State, Brazil. *J Braz Chem Soc*. doi: 10.5935/0103-5053.20160194
- Jürgens A, Glück U, Aas G, Dötterl S (2014) Diel fragrance pattern correlates with olfactory preferences of diurnal and nocturnal flower visitors in *Salix caprea* (Salicaceae). *Bot J Linn Soc* 175:624–640.
- Knudsen JT, Eriksson R, Gershenzon J, Ståhl B (2006) Diversity and Distribution of Floral Scent. *Bot Rev* 72:1–120. doi: 10.1663/0006-8101(2006)72[1:DADOF]2.0.CO;2
- Knudsen JT, Tollsten L, Ervik F (2001) Flower scent and pollination in selected neotropical

- palms. *Plant Biol* 3:642–653. doi: 10.1055/s-2001-19366
- Lajis MN, Hussein MY, Toia RF (1985) Extraction and identification of the main compound present in *Elaeis guineensis* flower volatiles. *Pertanika* 8:105–108.
- Mariau D, Houssou M, Lecoustre R, Ndigui B (1991) Oil palm pollinating insects and fruitset rates in West Africa. *Oleagineux* 46:43–51.
- Meekijjaroenroj A, Bessière J-M, Anstett M-C (2007) Chemistry of floral scents in four *Licuala* species (Arecaceae). *Flavour Fragr J* 22:300–310. doi: 10.1002/ffj.1797
- Misztal PK, Owen SM, Guenther AB, et al (2010) Large estragole fluxes from oil palms in Borneo. *Atmospheric Chem Phys* 10:4343–4358. doi: 10.5194/acp-10-4343-2010
- O’Brien CW, Beserra P, Couturier G (2004) Taxonomy of *Couturierius*, new genus and *Grasidius*, genus new to South America, palm flower weevils in the derelomini (Coleoptera, Curculionidae). *Rev Fr Entomol* 26:145–156.
- Oksanen J, Blanchet FG, Kindt R, et al (2013) Package “vegan.”
- Opute FI (1975) Identification of p.Methoxyallylbenzene in the pollen of the oil palm *Elaeis guineensis* Jacq. *J Exp Bot* 26:619–623. doi: 10.1093/jxb/26.4.619
- Patino S, Aalto T, Edwards AA, Grace J (2002) Is *Rafflesia* an endothermic flower? *New Phytol* 154:429–437. doi: 10.1046/j.1469-8137.2002.00396.x
- Pincebourde S, Montúfar R, Páez E, Dangles O (2016) Heat production by an Ecuadorian palm. *Front Ecol Environ* 14:571–572.
- Raguso RA (2008) Wake up and smell the roses: the ecology and evolution of floral scent. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 39:549–569. doi: 10.1146/annurev.ecolsys.38.091206.095601
- Schiestl FP (2015) Ecology and evolution of floral volatile-mediated information transfer in plants. *New Phytol* 206:571–577. doi: 10.1111/nph.13243
- Schiestl FP, Ayasse M (2001) Post-pollination emission of a repellent compound in a sexually

- deceptive orchid: a new mechanism for maximising reproductive success? *Oecologia* 126:531–534. doi: 10.1007/s004420000552
- Schiestl FP, Marion-Poll F (2002) Detection of physiologically active flower volatiles using gas chromatography coupled with electroantennography. In: Jackson JF, Linskens HF (eds) Analysis of taste and aroma, Jackson & Linskens. Springer, Berlin, p 269
- Seymour RS (2001) Biophysics and Physiology of Temperature Regulation in Thermogenic Flowers. *Biosci Rep* 21:223–236. doi: 10.1023/A:1013608627084
- Seymour RS, Gibernau M, Ito K (2003) Thermogenesis and respiration of inflorescences of the dead horse arum *Heliconia muscivora*, a pseudo-thermoregulatory aroid associated with fly pollination. *Funct Ecol* 17:886–894.
- Seymour RS, Schultze-Motel P (1999) Respiration, temperature regulation and energetics of thermogenic inflorescences of the dragon lily *Dracunculus vulgaris* (Araceae). *Proc R Soc B Biol Sci* 266:1975–1983. doi: 10.1098/rspb.1999.0875
- Seymour RS, Schultze-Motel P (1997) Heat-producing flowers. *Endeavour* 21:125–129. doi: 10.1016/S0160-9327(97)80222-0
- Steenhuisen S-L, Raguso RA, Jürgens A, Johnson SD (2010) Variation in scent emission among floral parts and inflorescence developmental stages in beetle-pollinated *Protea* species (Proteaceae). *South Afr J Bot* 76:779–787. doi: 10.1016/j.sajb.2010.08.008
- Suinyuy TN, Donaldson JS, Johnson SD (2013) Patterns of odour emission, thermogenesis and pollinator activity in cones of an African cycad: what mechanisms apply? *Ann Bot* 112:891–902. doi: 10.1093/aob/mct159
- Suinyuy TN, Donaldson JS, Johnson SD, et al (2008) Role of cycad cone volatile emissions and thermogenesis in the pollination of *Encephalartos villosus* Lem.: preliminary findings from studies of plant traits and insect responses. Panama City, Panama, pp 318–334
- Suinyuy TN, Donaldson JS, Johnson SD (2010) Scent chemistry and patterns of thermogenesis in male and female cones of the African cycad *Encephalartos natalensis* (Zamiaceae). *South Afr J Bot* 76:717–725. doi: 10.1016/j.sajb.2010.08.014

- Syed RA (1979) Studies on oil palm pollination by insects. *Bull Entomol Res* 69:213–224. doi: 10.1017/S0007485300017673
- Tandon R, Manohara TN, Nijalingappa BHM, Shivanna KR (2001) Pollination and pollen-pistil interaction in oil palm, *Elaeis guineensis*. *Ann Bot* 87:831–838. doi: 10.1006/anbo.2001.1421
- Terry I, Moore CJ, Walter GH, et al (2004) Association of cone thermogenesis and volatiles with pollinator specificity in *Macrozamia* cycads. *Plant Syst Evol* 243:233–247. doi: 10.1007/s00606-003-0087-x
- Terry I, Walter GH, Moore C, et al (2007) Odor-Mediated Push-Pull Pollination in Cycads. *Science* 318:70–70. doi: 10.1126/science.1145147
- Terry IL, Roemer RB, Booth DT, et al (2016) Thermogenic respiratory processes drive the exponential increase of volatile organic compound emissions in *Macrozamia* cycad cones: Cone volatile emissions track respiratory burst. *Plant Cell Environ* n/a-n/a. doi: 10.1111/pce.12730
- Theis N, Lerdau M, Raguso RA (2007) The challenge of attracting pollinators while evading floral herbivores: patterns of fragrance emission in *Cirsium arvense* and *Cirsium repandum* (Asteraceae). *Int J Plant Sci* 168:587–601.
- Tholl D, Boland W, Hansel A, et al (2006) Practical approaches to plant volatile analysis. *Plant J* 45:540–560. doi: 10.1111/j.1365-313X.2005.02612.x
- Yue J, Yan Z, Bai C, et al (2015) Pollination activity of *Elaeidobius kamerunicus* (Coleoptera: Curculionidae) on oil palm on Hainan Island. *Fla Entomol* 98:499–505. doi: 10.1653/024.098.0217

Chapitre 6

Etude des traits floraux chez l'hybride interspécifique *Elaeis guineensis* x *Elaeis oleifera* en lien avec l'attraction des insectes pollinisateurs

Introduction

L'isolation reproductive chez les plantes intervient lorsque des barrières pré- et/ou post-zygotiques se mettent en place et conduisent à l'interruption du flux de gènes entre des populations différentes, puis à l'évolution indépendante des traits adaptatifs dans chaque population (Rieseberg and Willis 2007; Baack and Rieseberg 2007). L'isolation reproductive entre certaines espèces n'est pas toujours complète et aboutit à la création d'hybrides. L'hybridation, qu'elle soit naturelle ou artificielle, peut résulter de changements génomiques et conduire à la formation de traits (i.e., la morphologie, la couleur, les odeurs ou la phénologie) qui sont soit intermédiaires entre les parents ou soit se rapprochent plus d'un seul des deux parents. Dans certains cas l'hybridation peut amener à la création de traits dits « extrêmes », aux caractéristiques nouvelles ou transgressives (Rieseberg et al. 1993; Rieseberg and Willis 2007). Lorsque les changements touchent à l'aspect des traits floraux, l'apparence florale des hybrides vis à vis des pollinisateurs peut s'en trouver potentiellement modifiée par rapport aux espèces parentes, et attirer de nouveaux assemblages de pollinisateurs (e.g. Vereecken et al. 2010; Marques et al. 2016). Etant donné qu'une diminution de l'attractivité ou un changement de l'assemblage de pollinisateurs pourrait affecter le succès reproducteur des hybrides, la comparaison des traits floraux relatifs à l'attraction des pollinisateurs chez les hybrides et chez les espèces parentes est donc essentielle afin d'identifier l'origine d'éventuels problèmes de pollinisation.

Les deux espèces de palmiers à huile *E. guineensis* et *E. oleifera* peuvent être artificiellement hybridées (Hardon and Tan 1969; Meunier and Boutin 1975; Meunier and Hardon 1976; Meunier et al. 1976). L'hybride interspécifique *E. guineensis* x *E. oleifera* est surtout exploité en Amérique du Sud, notamment en Colombie et en Equateur, où il a remplacé à partir des années 60 les plantations d'*E. guineensis* décimées par un complexe de maladies mortelles. Du point de vue agronomique, les hybrides interspécifiques possèdent des traits particulièrement intéressants : une résistance à plusieurs maladies qui touchent habituellement l'*E. guineensis* (Meunier et al. 1976; De Franqueville 2003; Louise et al. 2007), une faible croissance en hauteur permettant de rallonger la durée de l'exploitation en plantation, des rendements acceptables, et une huile aux qualités avantageuses pour

l'industrie agroalimentaire et pour la santé humaine (Hardon 1969; Meunier and Boutin 1975; Meunier et al. 1976; Mozzon et al. 2013). Ces traits placent l'hybride interspécifique dans une position intermédiaire entre les espèces parentes. Certains caractères agronomiques liés à la production résultent d'un effet d'hétérosis (Meunier and Boutin 1975). Malgré tous ces avantages, les palmiers hybrides sont naturellement mal pollinisés, et le maintien d'un rendement suffisant demande l'intervention d'une pollinisation manuelle, techniquement et économiquement contraignante (Durand-Gasselin et al. 2010).

Plusieurs théories ont été avancées pour tenter d'expliquer la mauvaise nouaison des inflorescences femelles hybrides, notamment : 1) la faible fertilité du pollen produit par les inflorescences mâles, 2) la féminité élevée des croisements hybrides et 3) la faible attraction des insectes normalement inféodés aux inflorescences d'*E. guineensis* et d'*E. oleifera* (Durand-Gasselin et al. 2010). Plusieurs études ont évoqué le lien entre le nombre d'inflorescences à partir desquelles se reproduisent et se multiplient les pollinisateurs, et la qualité de la pollinisation (Genty et al. 1986; Chinchilla-López and Richardson 1990; Bulgarelli et al. 2002). Dans le chapitre 1, nous avons mis en évidence que les palmiers hybrides issus de croisements *E. oleifera* Coari x *E. guineensis* La Mé produisent très peu d'inflorescences mâles par rapport à *E. guineensis* et *E. oleifera*. Cependant, comme étudié dans le chapitre 3, les charançons pollinisateurs *E. kamerunicus* et *G. hybridus* possèdent des capacités de dispersion plus ou moins importantes selon l'espèce, et sont théoriquement capables de se déplacer à partir de parcelles d'*E. guineensis* et d'*E. oleifera* où leurs populations sont consistantes, jusqu'aux parcelles hybrides situées à proximité. Les caractéristiques des traits floraux des palmiers hybrides, et en particulier les odeurs qui sont connues pour agir à distance sur le comportement des pollinisateurs (Raguso 2008; Schiestl 2015), ont été peu étudiées, et leur étude se révèle donc être cruciale pour évaluer le potentiel d'attraction des hybrides sur les insectes pollinisateurs.

La comparaison des traits floraux des palmiers hybrides avec ceux exhibés par leurs parents est essentielle pour comprendre comment s'opère la relation avec les insectes pollinisateurs. Certains des traits floraux affichés par *E. guineensis* et *E. oleifera* ont déjà été caractérisés. Leur étude a montré qu'ils pourraient être potentiellement responsables de l'attraction sélective des insectes pollinisateurs *E. kamerunicus* et *G. hybridus*. Les deux espèces de palmier divergent au niveau phénologique : la floraison des inflorescences mâles et femelles et le phénomène de thermogénèse des inflorescences femelles suivent le pattern

d'activité des insectes ([Chap. 2 et chap. 5](#)). Ils divergent aussi au niveau de la chimie florale ([Chap. 4 et Chap. 5](#)). Les résultats présentés dans le [chapitre 1](#) montrent que les deux espèces de charançon visitent les hybrides interspécifiques, mais en quantités bien plus faibles, et suggère que les traits floraux des deux parents se retrouvent chez les hybrides. Un screening des insectes pollinisateurs réalisé sur un ensemble de croisements hybrides interspécifiques à travers la plantation de PDE a révélé une variabilité en termes de spécificité et d'abondance vis-à-vis de l'une ou l'autre espèce de pollinisateur ([Chap. 1](#)), qui pourrait être liée à une variabilité des traits floraux dans les croisements hybrides.

Cette étude vise dans un premier temps à comparer les traits floraux des palmiers hybrides interspécifiques avec ceux des palmiers parents *E. guineensis* et *E. oleifera*, puis dans un second temps à évaluer la variabilité de ces traits à partir de plusieurs croisements hybrides présentant des différences au niveau des captures d'insectes. Plus spécifiquement, nous posons les questions suivantes : 1) Y-a-t-il des différences dans la composition des odeurs florales entre les espèces parentales de palmier à huile et leurs hybrides interspécifiques ?, 2) les inflorescences des hybrides interspécifiques sont-elles thermogéniques comme leurs parents ? et si oui 3) les différences de captures d'insectes entre les différents croisements hybrides sont-elles expliquées par la variabilité de la composition des odeurs et les caractéristiques de la thermogénèse florale ?

Matériels et méthodes

Sélection du matériel végétal

L'échantillonnage des odeurs et les mesures des températures florales ont été réalisés en 2015 et 2016 sur les inflorescences des deux espèces de palmiers *E. guineensis* et *E. oleifera*, et un type de croisement interspécifique *E. oleifera* Coari x *E. guineensis* La Mé (nommé hybride Coari x La Mé par la suite). Les *E. oleifera* ont été répartis en deux groupes en fonction de leur origine Coari (Brésil) ou Taisha (Equateur). Les informations sur l'origine de ces individus sont résumées dans le [tableau annexe 7](#).

Afin de déterminer si les variations de l'attractivité des insectes pollinisateurs entre différents hybrides est due à la variabilité des traits floraux, nous avons utilisé les résultats d'un screening des deux espèces de pollinisateurs ([Chap. 1](#)). Ce screening a été réalisé au

moyen de pièges à interception placés sur 3 à 7 inflorescences femelles par croisement hybride, et avait pour but d'évaluer l'attractivité de nombreux croisements hybrides Coari x La Mé différents à travers la plantation de PDE, sur la base de l'identité et de l'abondance des pollinisateurs capturés par croisement. A partir des résultats du screening, 9 croisements hybrides ont été sélectionnés en fonction de leur attractivité ([Tableau annexe 8](#)): 1 croisement très attractif à la fois pour *G. hybridus* et *E. kamerunicus*, 1 croisement peu attractif pour les deux pollinisateurs, 1 croisement très attractif pour *G. hybridus* et peu pour *E. kamerunicus*, 3 croisements pour lesquels seul *G. hybridus* a été capturé, et deux croisements pour lesquels aucun insecte n'a été capturé. Afin de limiter un éventuel effet spatial qui pourrait expliquer les différences de captures entre les croisements, nous avons sélectionné des croisements hybrides à l'attractivité contrastée dans la même parcelle, situés à une distance de 100m à 500m l'un de l'autre. Par exemple, les palmiers des croisements H7 et H8 sont localisés dans la même parcelle G06A à environ 150m de distance, H7 étant respectivement très attractifs pour les deux espèces de pollinisateurs pour l'un, et H8 pour aucun des deux. Le [tableau annexe 8](#) décrit les informations concernant l'origine de ces 9 types de palmiers hybrides sélectionnés, indique la parcelle où ils coexistent et présente les indices d'attractivité pour les deux espèces de pollinisateurs. L'échantillonnage des odeurs florales et les mesures de température ont été réalisés sur chacun de ces croisements hybrides.

Mesure de la température des inflorescences

L'évolution de la température florale a été mesurée continûment au cours de la floraison de 11 inflorescences femelles d'un même croisement hybrides Coari x La Mé, au moyen de « Thermoboutons » (ThermoButton 22L, – -40/+85 °C, résolution ± 0.5 °C – Wimesure, France) paramétrés de la même façon que décrit dans le [chapitre 5](#). La température ambiante a été mesurée simultanément avec des Thermoboutons témoins suspendus sous les palmes de plusieurs palmiers repartis dans la parcelle.

La température florale de 9 croisements hybrides a été mesurée le 1^{er} jour de l'anthèse, phase de la floraison durant laquelle les insectes pollinisateurs sont le plus attirés. Trois inflorescences femelles ont été utilisées par croisement (exceptés deux croisements où le Thermobouton d'une des trois inflorescences n'a pas été retrouvé). Les échantillonnages d'odeur ont été réalisés sur des inflorescences différentes de celles utilisées pour les mesures

de température.

Echantillonnage et analyse des odeurs florales

Les odeurs florales de 92 inflorescences en anthèse, mâles et femelles, représentatives de chaque espèce de palmier et de leurs hybrides ont été échantillonnées sur le terrain. Les [tableaux annexes 7 et 8](#) indiquent l'identité, les caractéristiques et le nombre d'inflorescences échantillonnées par espèce, croisement et sexe. Les odeurs ont été prélevées par la technique du head space statique à l'aide de fibres SPME. Les analyses ont été réalisées en GC-MS, avec les mêmes paramètres analytiques que ceux décrits dans les chapitres précédents. Les chromatogrammes obtenus ont été intégrés dans Amdis, et le pourcentage de l'aire de chaque pic a été calculé pour chaque échantillon (voir [chapitres 4 et 5](#) pour plus de détails).

Analyses statistiques

Afin de déterminer si les inflorescences échantillonnées possèdent une composition d'odeurs florales différentes en fonctions des espèces de palmiers et de leurs hybrides interspécifiques, une ANOVA fonctionnant par permutations (PERMANOVA) a été réalisée, en considérant le type de palmier comme facteur. Cette méthode génère aléatoirement une nouvelle matrice « composés/inflorescences » à partir de la matrice originale des données. Elle calcule ensuite les distances deux à deux à partir d'un indice de distance (Bray-Curtis), puis compare les différences entre les distances générées aléatoirement et les distances observées. De nouvelles configurations aléatoires sont réalisées selon un processus itératif jusqu'à atteindre une configuration optimale. En parallèle, une mesure de stress calculée à chaque étape du processus itératif permet d'apprécier la qualité de la représentation nMDS ([Oksanen et al. 2013](#)). La fonction metaMDS du package *vegan* ([Oksanen et al. 2013](#)) a été utilisée pour représenter les différences entre les inflorescences.

La température des inflorescences femelles des 9 croisements hybrides a été comparée à celle des inflorescences femelles d'*E. guineensis* et d'*E. oleifera* Coari et Taisha au moyen d'un modèle linéaire mixte, avec la fonction *lmer* contenue dans le package R *lme4* ([Bates et al. 2015](#)). La différence de température entre les inflorescences et le milieu ambiant a été testée en fonction de l'effet de l'heure de la journée et de l'espèce de palmier. Comme les données de température sont corrélées sur une inflorescence au cours de la journée, on

prend en compte cet effet en considérant l'inflorescence comme un facteur aléatoire. Des tests post-hoc de Tukey ont permis de comparer deux à deux les espèces et leurs hybrides interspécifiques, réalisés avec la fonction *lsmeans* (Lenth 2016) du package *lmerTest*. Les données de température d'*E. guineensis* et d'*E. oleifera* Coari et Taisha sont les mêmes que celles du [chapitre 5](#).

Résultats

Comparaison des odeurs florales entre les espèces parentales et leurs hybrides interspécifiques

Quatre-vingt-dix composés organiques volatils ont été détectés dans les odeurs de l'ensemble des inflorescences en anthèse échantillonnées (voir [tableau annexe 9](#)). Comme vu dans les chapitres précédents, les odeurs des inflorescences d'*E. guineensis* sont largement dominées par l'estragole, présent à plus de 75 % chez les femelles et plus de 60 % chez les mâles et par l'anéthole, à un peu plus de 10 % chez les deux sexes. Ces deux composés aromatiques sont également présents chez *E. oleifera* Coari, à près de 45 % et 5 % respectivement, mais sont minoritaires chez *E. oleifera* Taisha. Les deux composés azotés 2-isopropyl-3-méthoxy-pyrazine et 2-isobutyl-3-méthoxy-pyrazine n'ont été identifiés que chez *E. oleifera*, à près de 5 % pour le premier composé et à plus de 20 % pour le second chez les inflorescences mâles et femelles d'*E. oleifera* Taisha, et à près de 7 % et 15 % chez *E. oleifera* Coari. En addition, deux sesquiterpènes, le cyclosativène et l'alpha-copaène représentent respectivement environ 20 % et 15 % des bouquets floraux des inflorescences mâles et femelles d'*E. oleifera* Taisha, mais sont minoritaires chez *E. oleifera* Coari, et présents à l'état de trace chez *E. guineensis* (voir [tableau annexe 9](#) pour les proportions précises).

Les hybrides Coari x La Mé possèdent la plupart des composés présents chez les deux espèces parentales, exceptés plusieurs sesquiterpènes et monoterpènes ([tableau annexe 9](#)). Les proportions relatives des principaux composés des hybrides Coari x La Mé sont plus proches de celles d'*E. guineensis* que de celles rencontrés chez d'*E. oleifera*. En effet l'estragole représente environ 70 % du bouquet florale des inflorescences mâles et femelles, et l'anéthole 14 %. Mais la présence à l'état de trace des deux composés azotés et des deux sesquiterpènes exclusifs à *E. oleifera* Taisha rendent le bouquet d'odeur original par rapport aux espèces parentales.

Bien que seules deux inflorescences aient été échantillonnées pour les hybrides *E. oleifera* Taisha x *E. guineensis* La Mé et *E. oleifera* Taisha x *E. guineensis* Yangambi, les inflorescences de ces croisements possèdent un profil chromatographique similaire, avec une composition proche de celle d'*E. oleifera* Coari, avec l'estragole présent à près de 50 %, l'anethole autour de 15 %, ainsi que le cyclosativène et l'alpha-copaène entre 3 % et 6 % respectivement, mais avec les deux composés azotés présents à l'état de traces.

La nMDS réalisées sur les 92 inflorescences en anthèse a donné une représentation d'excellente qualité, avec une valeur de stress inférieure à 0.1. Selon le profil chromatographique des inflorescences, les espèces de palmier à huile et leurs hybrides ont montré des différences globales (PERMANOVA : $F = 31.32$, $p < 0.0001$). Les inflorescences d'*E. guineensis* et d'*E. oleifera* ont été parfaitement séparées (PERMANOVA : $F = 40.9$, $p < 0.0001$), comme celle d'*E. oleifera* Taisha et Coari (PERMANOVA : $F = 25.35$, $p < 0.0001$). L'analyse a confirmé la similarité des inflorescences des hybrides Coari x La Mé mâles et femelles avec celles d'*E. guineensis* (PERMANOVA : $F = 2.66$, $p = 0.07$). Les inflorescences des croisements hybrides Taisha x La Mé et Taisha x Yangambi se rapprochent de celles d'*E. oleifera* Coari (PERMANOVA : $F = 2.05$, $p = 0.07$) (Fig. 26).

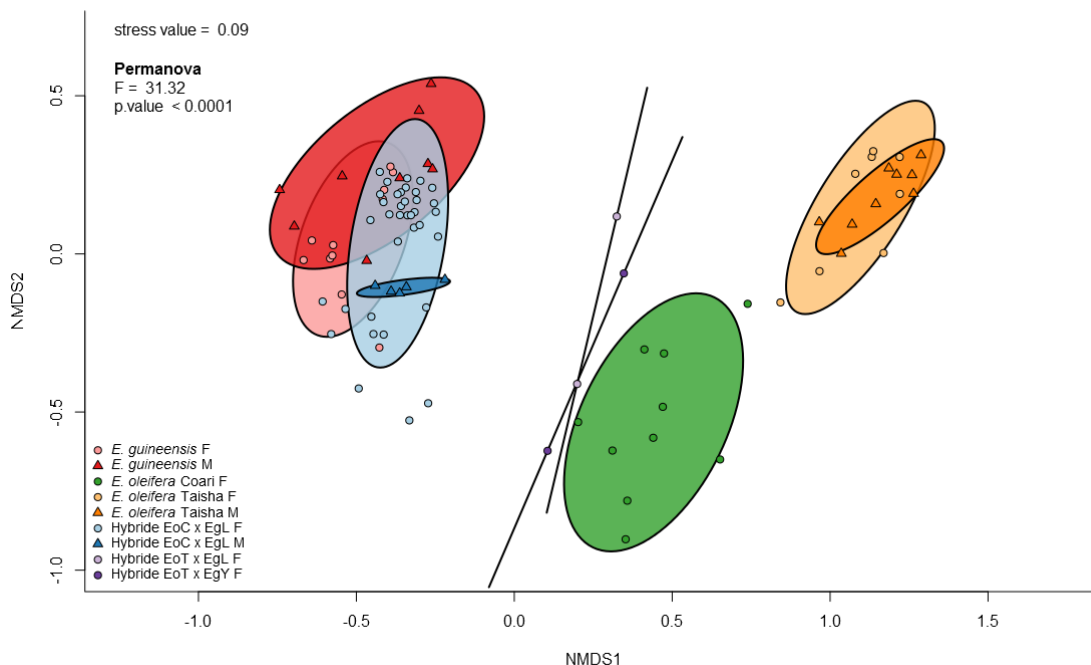


Figure 26 : Représentation nMDS des profils d'odeurs florales des deux espèces de palmier à huile *E. guineensis* et *E. oleifera* et de trois croisements d'hybrides interspécifiques. L'indice

de Bray-Curtis est utilisé pour calculer les distances entre échantillons. Les symboles ronds correspondent aux inflorescences femelles et les symboles triangulaires aux inflorescences mâles. Les groupements sont réalisés en fonction de l'espèce/type de palmier et du sexe. Les informations relatives à l'origine de chaque type de palmier sont disponibles dans le tableau annexe 1

Comparaisons des odeurs florales entre les hybrides interspécifiques

Les hybrides Caori x La Mé sont tous dominés par l'estragole (proportion comprise entre 55 % et 85 %), puis par l'anéthole (proportion comprise entre 5 à 16 %). Le méthyl eugenol et le benzyl alcool sont présents en proportion supérieure à 3 % du total dans respectivement 3 et 4 croisements (Tableau annexe 10).

La représentation nMDS est de bonne qualité, avec une valeur de stress de 0.18. Aucun de ces 9 croisements hybrides ne s'est révélé être significativement différents des autres, par rapport à leur profil chromatographique (PERMANOVA : $F = 1.11$, $p = 0.38$) (Fig. 27).

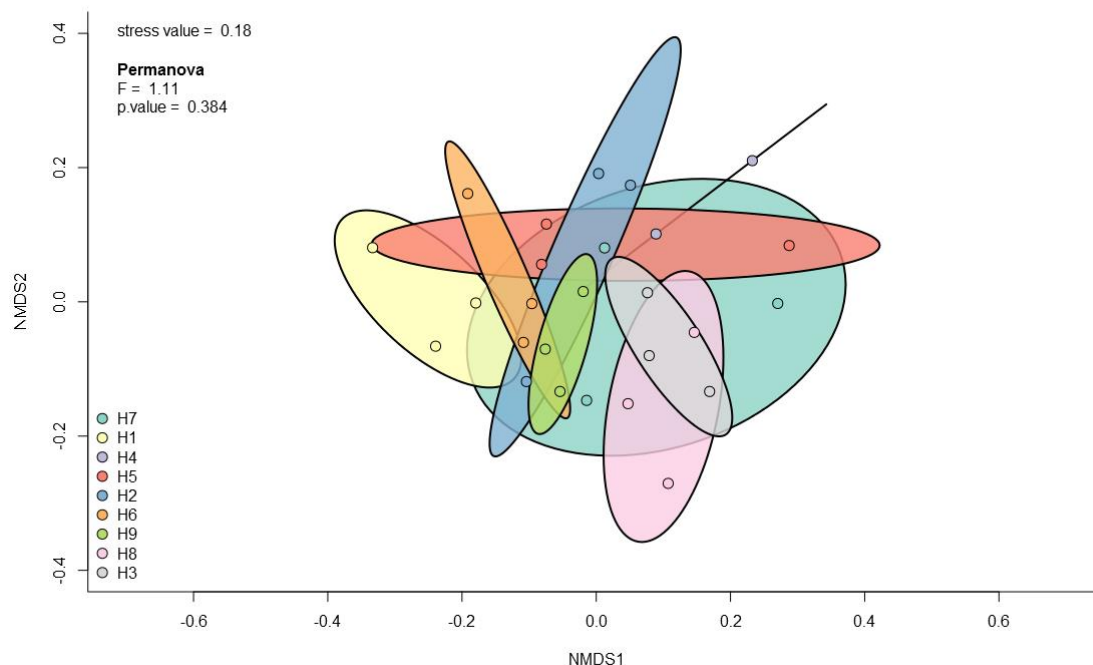


Figure 27 : Représentation nMDS des profils d'odeur florale femelle de plusieurs croisements hybrides *E. oleifera* Coari x *E. guineensis* La Mé (H1 à H9). L'indice de Bray-Curtis est utilisé pour calculer les distances entre échantillons. Toutes les inflorescences d'un même

croisement sont regroupées au sein d'une même ellipse colorée. Les informations relatives à l'origine et à l'attraction des insectes pollinisateurs de chaque croisement sont disponibles dans le [tableau annexe 8](#).

Evolution de la température florale durant la floraison d'un croisement hybride Coari x La Mé

Toutes les inflorescences femelles hybrides sur lesquelles la température a été mesurée se sont révélées être thermogéniques. Pour celles d'un des croisements hybrides, suivies durant toute la floraison, la température florale augmente nettement le 1^{er} jour de l'anthèse ([Fig. 28](#)). L'élévation de température atteint un pic vers 18h atteignant jusqu'à 10°C de plus que la température ambiante. Même si l'augmentation de température florale est moins nette dans la matinée du 1^{er} jour, elle atteint tout de même une moyenne de 4°C à 5°C supérieure à la température ambiante. Cela contraste nettement avec la diminution observée pendant la journée les 3 premiers jours avant le début de l'anthèse et les 3 jours qui suivent pendant lesquels la température florale s'équilibre ou devient inférieure d'un à 3 degrés à la température ambiante. L'amplitude des variations de température entre le jour et la nuit est importante avant l'anthèse, atteignant jusqu'à 9°C de différence le jour précédant l'anthèse, puis décroît à partir du 2^{ème} jour de l'anthèse avec 2°C de différences le 3^{ème} jour.

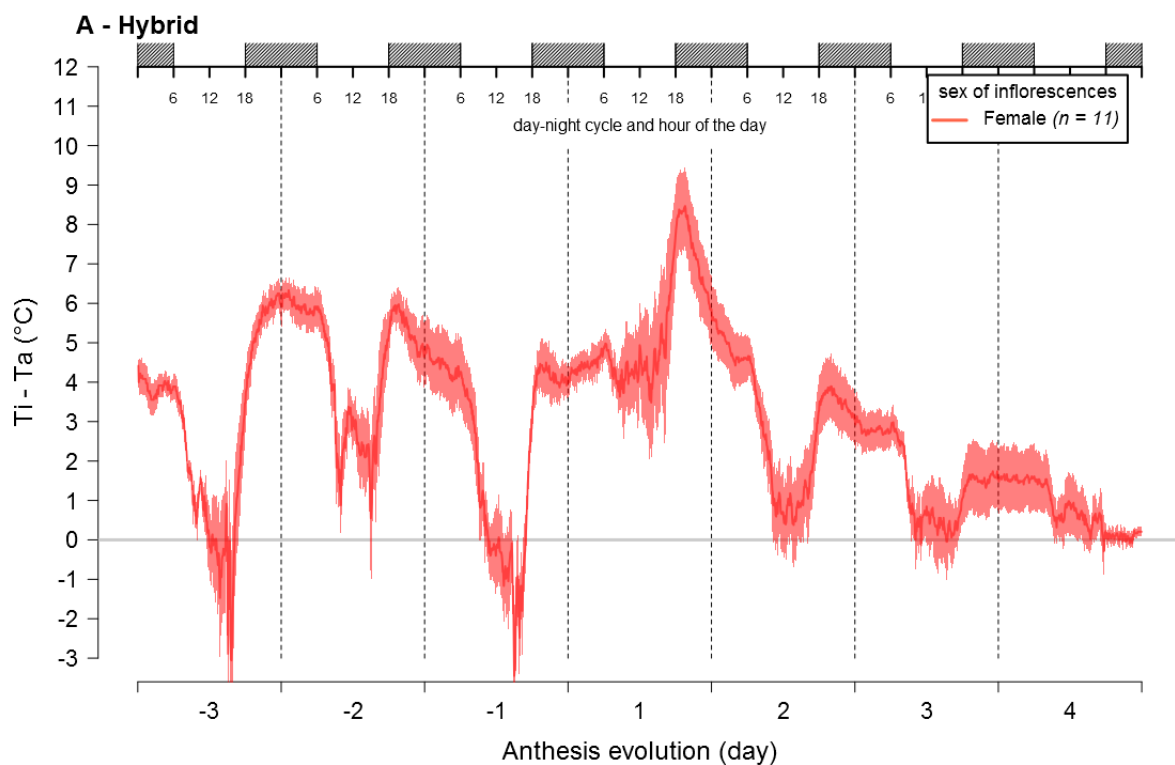


Figure 28 : Evolution de la température florale des inflorescences femelles d'un croisement hybride interspécifique au cours de la floraison. $T_i - T_a$ représente la différence entre la température de l'inflorescence et la température ambiante. Le 1^{er} jour est caractérisé par le début de l'anthèse. L'alternance des phases jour / nuit est indiquée par la succession des rectangles noirs et blancs, et les heures de la journée sont indiquées par tranches de 6 heures.

Comparaison de la température florale entre plusieurs croisements hybrides et les espèces parentales

Une tendance vers l'augmentation de température florale entre le matin et le soir a été observé pour toutes les inflorescences hybrides, avec une élévation de 4°C à 6°C observée le matin se poursuivant le soir jusqu'à atteindre 16°C de plus que la température ambiante (Fig. 29). La température des inflorescences des hybrides Coari x La Mé et les inflorescences femelles des *E. oleifera* Coari suivent les mêmes tendances au cours de la journée, alors que la température des inflorescences femelles d'*E. guineensis* reste inférieure aux deux autres pendant toute la période de mesure. La comparaison des températures florales a montré des différences significatives relatives à l'heure de la journée (ANOVA : $F = 8.68$, $p < 0.001$), et en fonction du type de palmier (ANOVA : $F = 36.43$, $p < 0.0001$). Les tests de comparaison deux à deux ont montré que la température des hybrides Coari x La Mé au cours de la journée est

significativement différente de celle d'*E. guineensis* mais n'est pas différente d'*E. oleifera* Coari.

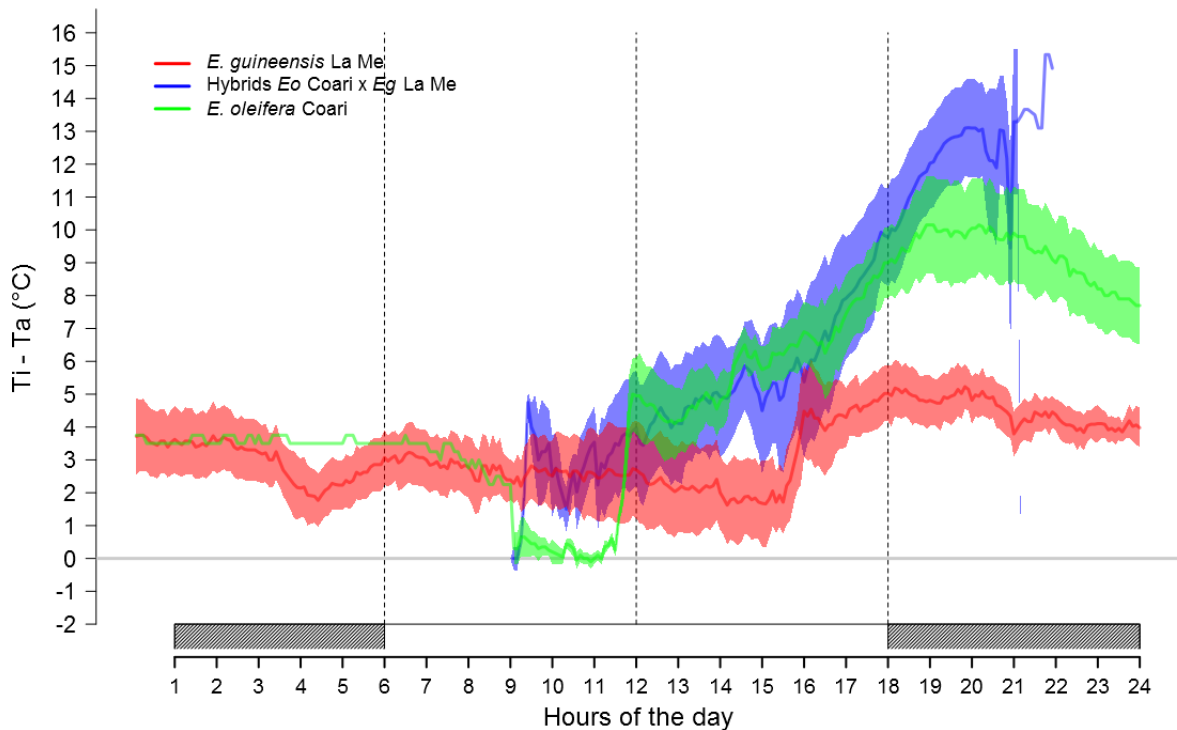


Figure 29 : Comparaison de l'évolution de la température florale femelle entre les deux espèces de palmiers à huile *E. guineensis* et *E. oleifera* (Coari) et la moyenne de 9 croisements hybrides interspécifiques différents au cours de l'anthèse. $T_i - T_a$ représente la différence entre la température de l'inflorescence et la température ambiante. Les données d'*E. guineensis* et d'*E. oleifera* sont extraites du chapitre 5 et représentent la moyenne des températures des inflorescences le 1^{er} jour de l'anthèse (*E. oleifera* Coari) ou le 2^{ème} jour de l'anthèse (*E. guineensis*). Les rectangles noirs indiquent les phases nocturnes.

Discussion

Y-a-t-il des différences dans la composition des odeurs florales entre les espèces parentales de palmier à huile et leurs hybrides interspécifiques ?

Cette étude montre que les inflorescences des palmiers hybride *E. oleifera* Coari x *E. guineensis* La Mé ont un profil chimique original. La composition des odeurs florales de ces hybrides est intermédiaire entre les deux parents *E. guineensis* et *E. oleifera* : elle est

caractérisée par une forte proportion d'estragole, qui les apparentent plus à *E. guineensis* au niveau de ce trait floral, mais la présence en faible proportion des composés azotés exclusifs à *E. oleifera* place ces palmiers hybrides dans une position intermédiaire.

La différence marquée dans la composition chimique des odeurs des deux espèces de palmier *E. guineensis* et *E. oleifera* est probablement responsable de la haute spécificité des insectes pollinisateurs *E. kamerunicus* et *G. hybridus* vis-à-vis de leur plante hôte ([chapitre 1, 2, 3 et 4](#)). Le rôle de l'estragole dans l'attraction d'*E. kamerunicus* a déjà été montré ([Hussein et al. 1989, 1991](#)), et nous avons suggéré que les composés azotés 2-isopropyl-3-méthoxy-pyrazine et 2-isobutyl-3-méthoxy-pyrazine pourraient agir sur l'attraction de *G. hybridus* ([Chap. 4](#)). La présence conjointe de ces composés dans le bouquet floral des inflorescences femelles hybrides est probablement à l'origine de l'attraction des deux espèces d'insectes observées chez certains hybrides, même si le nombre de captures restent toujours nettement inférieur ce qui est observé sur les espèces parentales. Cela suggère que la niche écologique de ces insectes, habituellement restreinte aux inflorescences mâles et femelles de leur palmier-hôte, est ainsi étendue à celle des palmiers hybrides.

Chez les plantes naturellement capables de s'hybrider, l'hybridation peut aboutir au partage des composés volatils produits par les deux parents, et induire des changements en terme de nombre de composés, de proportion relative ([Stökl et al. 2008](#); [Vereecken et al. 2010](#); [Svensson et al. 2016](#)) et parfois provoquer l'apparition de nouveaux composés inconnus chez les parents ([Chartier et al. 2016](#)). L'hybridation peut mener à de nouvelles combinaisons de traits floraux, en particulier au niveau de la composition des odeurs florales, et potentiellement conduire à la création de nouvelles niches écologiques, ouvrant l'opportunité de rencontrer des assemblages de pollinisateurs différents de ceux rencontrés sur les espèces parentes ([Vereecken et al. 2010](#); [Marques et al. 2016](#)). Le point de départ de cette étude reposait sur l'observation initiales que les deux charançons pollinisateurs *E. kamerunicus* et *G. hybridus* visitent les hybrides, et par conséquent, seuls ces insectes ont été étudiés. Il est cependant possible que d'autres familles d'insectes soient attirées par la nouveauté que représente les odeurs florales hybrides. Nos observations des insectes capturés par les sticky traps sur les inflorescences dans la plantation de PDE ne confirme pas cette hypothèse, qui demanderait à être investiguée dans d'autres localités où sont cultivés des palmiers hybrides. Cette étude fournit un exemple intéressant où les barrières pré-zygotiques qui maintiennent l'isolation reproductive entre les espèces parentales disparaissent, et permettent aux hybrides

d'exploiter une faible proportion des pollinisateurs spécifiques aux parents, par le biais de traits floraux partageant les caractéristiques de ceux-ci. Des études combinant l'analyse des différences génétiques qui sont à l'origine des voies de biosynthèse des composés volatils, et des analyses chimiques, pourraient permettre d'établir une sélection agronomique sur les odeurs florales.

Les inflorescences des hybrides interspécifiques sont-elles thermogéniques ?

Tout comme le sont les inflorescences femelles d'*E. guineensis* et d'*E. oleifera*, cette étude démontre que les inflorescences femelles des hybrides sont thermogéniques. Au cours de la floraison, l'élévation de température se produit le 1^{er} jour de l'anthèse, ce qui coïncide avec le pattern de visites des insectes (Figure annexe 9). Au cours de la journée, l'augmentation de température des inflorescences femelles hybrides se manifeste durant la matinée (malgré qu'elle soit difficile à percevoir) et la soirée, ce qui correspond parfaitement aux périodes d'activité respective d'*E. kamerunicus* et de *G. hybridus* (figure annexe 11).

La fonction de la thermogénèse florale n'est pas bien connue, mais elle pourrait modifier le comportement des pollinisateurs (Angioy et al. 2004; Terry et al. 2007) , et/ou permettre d'accroître la volatilisation des odeurs (Ervik and Barfod 1999). En augmentant la volatilité des odeurs florales, la température pourrait augmenter l'apparence florale et permettre de recruter les pollinisateurs à des distances plus importantes. L'augmentation de température, plus forte encore que celle des espèces parentales, devrait rendre les inflorescences femelles hybrides particulièrement attractives pour les deux espèces de pollinisateurs, ce qui n'est pas le cas.

Malgré la faible proportion des composés azotés dans le bouquet floral des hybrides qui pourrait potentiellement rendre les inflorescences femelles difficilement détectables vis-à-vis de *G. hybridus*, la forte augmentation de température qui se produit le soir accroîtrait l'attraction de ces insectes durant leur courte période d'activité nocturne. Il serait donc intéressant de connaître les composés qui agissent sur l'attraction des insectes et d'associer différentes concentrations de ces composés avec une augmentation de température afin de tester la distance à laquelle les pollinisateurs peuvent être recrutés.

Les différences de captures d'insectes entre les différents croisements hybrides s'expliquent-elles par la variabilité de la composition des odeurs et des caractéristiques de la thermogénèse florale ?

Contrairement à notre hypothèse que les variations de captures d'insectes pollinisateurs entre les différents croisements hybrides sont dues à la variabilité des traits floraux, nous n'avons pas mis en évidence de différences significatives dans la composition des odeurs florales émises par les inflorescences hybrides. De plus, il s'est avéré que les inflorescences hybrides sont thermogéniques, présentant toutes le même pattern de variations, et exhibant même des températures supérieures à celles des espèces parentes durant toute la période d'activité des deux espèces de pollinisateurs. Les traits floraux que nous avons étudiés ne sont donc probablement pas responsables du faible nombre d'insectes qui visitent les inflorescences femelles des palmiers hybrides, ou de la variabilité observée dans l'attraction. Cependant, nous avons abordés les odeurs florales seulement d'un point de vue compositionnel, et nous n'avons pas réalisé de quantifications absolues ou relatives des composés volatils émis par les inflorescences. En effet, la technique SPME ne permet pas de faire de quantification absolu des éléments chimiques (Bicchi et al. 2008; Cicchetti et al. 2008) sauf à étalonner les fibres et la détection, ce qui est très long. Des quantités absolues de composés volatils plus faibles chez les hybrides que chez les espèces parentales pourraient expliquer le faible taux de visites de pollinisateurs sur les hybrides, et expliquer la variabilité des visites entre les différents croisements hybrides. Par exemple, la production trop faible d'un composé volatil sélectivement attractif pour les insectes pourrait être peu efficacement perçu, car étant sous le seuil de détection nécessaire pour éliciter une réponse antennaire (Salzmann et al. 2007). Des analyses quantitatives complémentaires seraient donc nécessaires pour évaluer l'attractivité des croisements hybrides.

Une autre hypothèse est que l'association conjointe de l'estragole et des composés azotés dans l'odeur florale des hybrides pourrait avoir à un effet répulsif sur les insectes ou bien permettre aux insectes de discriminer efficacement entre les inflorescences femelles et les inflorescences mâles sur lesquelles ils vivent. Dans le chapitre 4, nous avons en effet suggéré que la similarité des odeurs entre les inflorescences mâles d'*E. oleifera* Taisha, qui hébergent les insectes pollinisateurs, et les femelles, qui les trompent, pouvait empêcher les insectes de choisir entre les sexes, aboutissant à la visite non-intentionnelle, et subséquentement à la pollinisation des inflorescences femelles. Dans les systèmes à

pollinisation obligatoire où les insectes dépendent d'un des deux sexes pour réaliser leur cycle de vie, la similarité du profil chimique entre les sexes est un aspect critique du maintien de la relation mutualiste (Dufaÿ and Anstett 2003; Ashman 2009; Hossaert-McKey et al. 2010). Le fait que le bouquet floral des inflorescences femelles soit modifié par l'hybridation, alors que celles-ci ne sont pas recherchées par les insectes pour se reproduire, conduirait au rejet des visites. L'analyse du comportement des insectes par des tests qui associent chacun des composés auxquels répondent sélectivement *E. kamerunicus* et *G. hybridus* pourraient apporter une réponse claire à cette hypothèse.

Une des hypothèses est que la signature chimique singulière de l'hybride ne correspond pas au prérequis olfactif qui suscite l'attraction. Le déficit de pollinisation pourrait aussi être lié et /ou renforcé par le déficit constaté en inflorescences mâles ; le faible taux de visites des inflorescences hybrides serait dû à une carence en insecte. Comme vu dans le chapitre 1, les hybrides ne produisent quasiment pas d'inflorescences mâles, alors qu'elles sont pourtant indispensables pour produire des insectes pollinisateurs. Dans la plantation PDE les insectes observés sur les inflorescences femelles proviennent donc très probablement de parcelles plantées avec des *E. guineensis* ou des *E. oleifera* Taisha qui produisent beaucoup d'inflorescences mâles, et donc beaucoup de pollinisateurs (avec des variations saisonnières ; Genty et al. 1986; Chinchilla et al. 1990; Bulgarelli et al. 2002). La variabilité des captures de pollinisateurs entre les croisements hybrides pourrait alors résider dans la proximité des palmiers hybrides échantillonnés avec des palmiers des espèces parentales. Le déplacement des pollinisateurs a été très peu étudié (Chap. 3, Syed et al. 1982). Des études spatiales incluant les relations de distances entre les parcelles hybrides et les parcelles d'*E. guineensis* et d'*E. oleifera*, ainsi que le comportement et les capacités de dispersion des insectes pollinisateurs s'avèrent donc nécessaires.

En conclusion, ces résultats indiquent que les inflorescences des palmiers hybrides sont singulières des parents en terme de profil chimique. Le fait que les insectes ont probablement co-évolué avec leur plante-hôte suggère que les différences observées chez les hybrides pourraient être liées à leur faible attraction. Cependant, la présence des composés majoritaires des parents chez les hybrides ainsi que le phénomène de thermogénèse qui se superposent à la période activité des deux espèces de pollinisateurs, « cassent » la spécificité et permet aux hybrides d'attirer les pollinisateurs de leurs parents. L'identification des

composés induisant l'attraction des insectes chez les parents permettrait de tester si leur association dans le bouquet floral des inflorescences hybrides les rendraient moins attractives.

Bibliographie

- Angioy A-M, Stensmyr MC, Urru I, et al (2004) Function of the heater: the dead horse arum revisited. *Proc R Soc B Biol Sci* 271:S13–S15. doi: 10.1098/rsbl.2003.0111
- Ashman T-L (2009) Sniffing out patterns of sexual dimorphism in floral scent. *Funct Ecol* 23:852–862. doi: 10.1111/j.1365-2435.2009.01590.x
- Baack EJ, Rieseberg LH (2007) A genomic view of introgression and hybrid speciation. *Curr Opin Genet Dev* 17:513–518. doi: 10.1016/j.gde.2007.09.001
- Bates D, Mächler M, Bolker B, Walker S (2015) Fitting Linear Mixed-Effects Models Using **lme4**. *J Stat Softw*. doi: 10.18637/jss.v067.i01
- Bicchi C, Liberto E, Matteodo M, et al (2008) Quantitative analysis of essential oils: a complex task. *Flavour Fragr J* 23:382–391. doi: 10.1002/ffj.1905
- Bulgarelli J, Chinchilla C, Rodríguez R (2002) Male inflorescences, population of *Elaeidobius kamerunicus* and pollination in a young commercial oil palm plantation in a dry area of Costa Rica. *ASD Oil Palm Pap* 32–37.
- Chartier M, Liagre S, Weiss-Schneeweiss H, et al (2016) Floral traits and pollination ecology of European *Arum* hybrids. *Oecologia* 180:439–451. doi: 10.1007/s00442-015-3498-9
- Chinchilla C, Escalante M, Richardson D (1990) Pollination of Oils Palms (*elaeis-Guineensis* Jacq) in Central-America .2. *Insect Behavior*. *Turrialba* 40:461–470.
- Chinchilla-López CM, Richardson DL (1990) Polinización en palma aceitera (*Elaeis guineensis* Jacq.) en Centroamérica. 1. Población de insectos y conformación de racimos. *Turrialba* 40:452–460.
- Cicchetti E, Merle P, Chaintreau A (2008) Quantitation in gas chromatography: usual

- practices and performances of a response factor database. *Flavour Fragr J* 23:450–459. doi: 10.1002/ffj.1906
- De Franqueville H (2003) Oil palm bud rot in Latin America. *Exp Agric* 39:225–240. doi: 10.1017/S0014479703001315
- Dufaÿ M, Anstett M-C (2003) Conflicts between plants and pollinators that reproduce within inflorescences: evolutionary variations on a theme. *Oikos* 100:3–14. doi: 10.1034/j.1600-0706.2003.12053.x
- Durand-Gasselin T, Blangy L, Picasso C, et al (2010) Sélection du palmier à huile pour une huile de palme durable et responsabilité sociale. *Ol Corps Gras Lipides* 17:385–392.
- Ervik F, Barfod A (1999) Thermogenesis in palm inflorescences and its ecological significance. *Acta Bot Venezuelica* 22:195–212.
- Genty P, Garzon A, Lucchini F, Delvare G (1986) Polinización entomófila de la palma africana en América tropical. *Oleagineux* 41:99–112.
- Hardon JJ (1969) Interspecific hybrids in the genus *Elaeis* II. vegetative growth and yield of F1 hybrids *E. guineensis* x *E. oleifera*. *Euphytica* 18:380–388.
- Hardon JJ, Tan GY (1969) Interspecific hybrids in the genus *Elaeis* I. crossability, cytogenetics and fertility of F1 hybrids of *E. guineensis* x *E. oleifera*. *Euphytica* 18:372–379.
- Hossaert-McKey M, Soler C, Schatz B, Proffit M (2010) Floral scents: their roles in nursery pollination mutualisms. *Chemoecology* 20:75–88. doi: 10.1007/s00049-010-0043-5
- Hussein MY, Lajis NH, Ali JH, et al (1991) Biological and chemical factors associated with the successful introduction of *Elaeidobius kamerunicus* Faust, the oil palm pollinator in Malaysia. Research Centre for Insect Pollination and Beekeeping and International Society for Horticultural Science, pp 81–87
- Hussein MY, Lajis NH, Kinson A, Teo CB (1989) Laboratory and field evaluation on the attractancy of *Elaeidobius kamerunicus* Faust to 4-allylanisole. *PORIM Bull* 20–26.
- Lenth RV (2016) Least-Squares Means: The R Package **lsmeans**. *J Stat Softw*. doi:

- Louise C, Amblard P, Franqueville H de, et al (2007) Investigaciones dirigidas por el Cirad sobre las enfermedades del complejo pudrición del cogollo de la palma aceitera en Latinoamérica. *Rev Palmas* 28:345–362.
- Marques I, Jürgens A, Aguilar JF, Feliner GN (2016) Convergent recruitment of new pollinators is triggered by independent hybridization events in *Narcissus*. *New Phytol* 210:731–742. doi: 10.1111/nph.13805
- Meunier J, Boutin D (1975) L'Elaeis melanococca et l'hybride Elaeis melanococca x Elaeis guineensis. Premières données. *Oleagineux* 30:5–8.
- Meunier J, Hardon JJ (1976) Interspecific hybrids between *Elaeis guineensis* and *Elaeis oleifera*. 127–138.
- Meunier J, Vallejo G, Boutin D (1976) L'hybride E. melanococca x E. guineensis et son amélioration. *Oleagineux* 31:519–528.
- Mozzon M, Pacetti D, Lucci P, et al (2013) Crude palm oil from interspecific hybrid *Elaeis oleifera* × *Elaeis guineensis*: Fatty acid regiodistribution and molecular species of glycerides. *Food Chem* 141:245–252. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.03.016
- Oksanen J, Blanchet FG, Kindt R, et al (2013) Package “vegan.”
- Raguso RA (2008) Wake up and smell the roses: the ecology and evolution of floral scent. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 39:549–569. doi: 10.1146/annurev.ecolsys.38.091206.095601
- Rieseberg LH, Ellstrand NC, Arnold M (1993) What Can Molecular and Morphological Markers Tell Us About Plant Hybridization? *Crit Rev Plant Sci* 12:213–241. doi: 10.1080/07352689309701902
- Rieseberg LH, Willis JH (2007) Plant Speciation. *Science* 317:910–914. doi: 10.1126/science.1137729
- Salzmann CC, Nardella AM, Cozzolino S, Schiestl FP (2007) Variability in Floral Scent in

Rewarding and Deceptive Orchids: The Signature of Pollinator-imposed Selection?

Ann Bot 100:757–765. doi: 10.1093/aob/mcm161

Schiestl FP (2015) Ecology and evolution of floral volatile-mediated information transfer in plants. *New Phytol* 206:571–577. doi: 10.1111/nph.13243

Stökl J, Schlüter PM, Stuessy TF, et al (2008) Scent variation and hybridization cause the displacement of a sexually deceptive orchid species. *Am J Bot* 95:472–481. doi: 10.3732/ajb.95.4.472

Svensson GP, Raguso RA, Flatz R, Smith CI (2016) Floral Scent of Joshua trees (*Yucca brevifolia* sensu lato): Divergence in scent profiles between species but breakdown of signal integrity in a narrow hybrid zone. *Am J Bot.* doi: 10.3732/ajb.1600033

Syed RA, Law IH, Corley RHV (1982) Insect pollination of oil palm: introduction, establishment and pollinating efficiency of *Elaeidobius kamerunicus* in Malaysia. *Planter* 58:547–561.

Terry I, Walter GH, Moore C, et al (2007) Odor-Mediated Push-Pull Pollination in Cycads. *Science* 318:70–70. doi: 10.1126/science.1145147

Vereecken NJ, Cozzolino S, Schiestl FP (2010) Hybrid floral scent novelty drives pollinator shift in sexually deceptive orchids. *BMC Evol Biol* 10:103.

Chapitre 7

Effet des composés volatils sur la spécificité de l'attraction des insectes pollinisateurs du palmier à huile

Introduction

La pollinisation de nombreuses plantes dépend d'une interaction mutualiste avec des animaux, en particulier des insectes. Un aspect important de la relation réside dans la rencontre entre les partenaires. La plante doit être capable de signaler sa présence à ses pollinisateurs en leur fournissant des informations fiables sur son identité, sa localisation et les récompenses que ceux-ci pourraient s'attendre à trouver lors de la visite. L'attraction des pollinisateurs repose généralement sur des indices visuels et/ou olfactifs (Gottsberger and Silberbauer-Gottsberger 1991; Raguso and Willis 2002; Füssel 2007; Schiestl 2015). Le rôle des indices olfactifs sur l'attraction à distance est souvent considéré comme plus important que les indices visuels, qui agissent en général à très courte distance.

L'environnement chimique dans lequel naviguent les insectes est complexe et dynamique (Schröder and Hilker 2008). De nombreuses espèces d'insectes pollinisateurs disposent de systèmes olfactifs performants qui leur permettent de détecter les odeurs qui leur sont biologiquement importantes et de s'orienter vers leur plante hôte (Riffell et al. 2014; Rusch et al. 2016). Pour cela, les insectes s'appuient sur un processus de détection des composés volatils très bref (inférieur à la seconde), à partir du système périphérique doté de neurones récepteurs olfactifs (ORNs) localisés dans l'antenne et d'un centre olfactif qui traite les informations perçues (Koutroumpa and Jacquin-Joly 2014). Cependant, la capacité du pollinisateur à distinguer les odeurs produites par la plante hôte de celles présentes en arrière-plan dans son environnement n'est pas toujours optimale, et peut être perturbée, par exemple par un phénomène de masquage (Schröder and Hilker 2008; Riffell et al. 2014).

De nombreux insectes pollinisateurs sont spécialisés sur une espèce végétale, ou un groupe systématique de plantes et dépendent donc de signaux olfactifs bien précis qui vont leur permettre d'identifier et de détecter efficacement la plante-hôte (Raguso 2008; Schiestl 2015). Dans certains cas, c'est un complexe d'odeur fait de composés très communs mais présents dans des proportions très précises qui va induire la spécificité du signal (Schiestl and Ayasse 2001; Schiestl 2005; Svensson et al. 2010; Bruce and Pickett 2011; Leppik and Frérot 2012), dans d'autres cas, le signal se présentera sous la forme d'un composé unique et original, spécifique du végétal ou de la famille botanique, peu souvent rencontré dans les odeurs florales des autres familles de plantes (Chen et al. 2009; Peakall et al. 2010; Maia et al. 2012). Dans le deuxième cas, un « canal de communication privé » (Raguso 2008) a souvent

été mis en évidence dans des systèmes de pollinisation obligatoire (Dufaÿ and Anstett 2003; Hossaert-McKey et al. 2010) où la plante héberge son propre pollinisateur au sein des structures florales.

Dans les chapitres précédents, nous avons mis en évidence que la spécialisation des insectes pollinisateurs *E. kamerunicus* et *G. hybridus* avec leur palmier hôte *E. guineensis* et *E. oleifera* reposait sur l'émission d'un bouquet d'odeur différent (chap. 4, 5 et 6). Ces différences étaient principalement expliquées par la prédominance d'un composé aromatique, l'estragole chez *E. guineensis*, et deux composés azotés (2-isopropyl-3-methoxy-pyrazine et 2-isobutyl-3-methoxy-pyrazine) et deux sesquiterpènes (alpha-copaène et cyclosativène) chez *E. oleifera* Taisha, et sont probablement à l'origine de l'isolation reproductive entre les deux espèces de palmier. Les palmiers hybrides issus du croisement interspécifique possèdent ces composés (chap. 6), mais sont peu attractifs pour les insectes pollinisateurs (chap. 1). En addition, les inflorescences femelles sont thermogéniques (chap. 5 et 6), ce qui pourrait avoir une fonction physiologique de volatilisation des odeurs, amplifiant l'attraction des insectes pollinisateurs. Le rôle des composés majoritaires composant le bouquet floral de ces palmiers en tant qu'attractifs pour les insectes pollinisateurs a été peu étudié. Jusqu'à maintenant, seuls Hussein et al. (1989) ont mis en évidence l'attraction d'*E. kamerunicus* pour l'estragole de synthèse, mais sans évaluer l'aspect quantitatif. L'attraction des composés d'*E. oleifera* ou des hybrides sur *E. kamerunicus* et *G. hybridus* est inconnu.

Afin de déterminer quels composés organiques agissent spécifiquement dans l'attraction des pollinisateurs, et afin d'établir si la thermogénèse florale joue un rôle dans l'attraction des insectes, nous avons conduit des expérimentations au laboratoire et sur le terrain. Initialement, nous avons testé la réponse des insectes pollinisateurs à différents composés organiques volatils identifiés dans les odeurs florales des deux espèces de palmier à huile et leurs hybrides interspécifiques, au moyen de l'électroantennographie. Nous avons ensuite testé le potentiel attractif des composés auxquels répondent les insectes sur le terrain, en y associant une augmentation de température ou en testant différentes doses des composés. Nous avons tenté de répondre aux questions suivantes : 1) Quels composés volatils appartenant au bouquet d'odeur floral d'*E. guineensis* et d'*E. oleifera* induisent une réponse antennaire des insectes pollinisateurs ? Les composés volatils estragole et 2-isobutyl-3-methoxy-pyrazine dominant le bouquet floral de chacune des deux espèces de palmier suffisent-ils seuls à assurer la spécificité de l'attraction de leurs pollinisateurs respectifs ? 3)

La production de chaleur florale augmente-t-elle l'attractivité des pollinisateurs ? et 4) l'attractivité des insectes est-elle dose-dépendante ?

Matériels et méthodes

Stimulation antennaire des insectes pollinisateurs par électroanténographie (EAG)

Des épillets d'inflorescences mâles contenant les larves des insectes pollinisateurs ont été collectés sur le terrain au stade post-anthèse, soit dans des parcelles d'*E. guineensis* et d'*E. oleifera* Taisha de la plantation de PDE, soit dans une plantation d'*E. guineensis* en Indonésie, puis ont été ramenés en France, à l'INRA de Versailles. Les épillets ont été placés dans des containers en plastique avec une éponge imbibée d'eau comme source d'humidité, et ont été maintenus en chambre climatique à 25°C et une photopériode de 12 : 12 h (jour : nuit) jusqu'à l'émergence des insectes adultes. Seules des émergences d'*E. kamerunicus* ont pu être obtenues, par conséquent les tests EAG n'ont été réalisés que sur cette espèce d'insecte. Chaque jour, plusieurs individus émergents ont été relevés et placés dans un béccher contenant un sopalin humide.

Chaque *E. kamerunicus* destiné aux tests EAG a été préalablement monté sur un support de façon à isoler la tête et les antennes (Fig. 30). La tête de l'individu testé a été introduite dans une pointe de pipette (200 µL) dont l'extrémité a été préalablement coupée. La tête est immobilisée avec de la pâte à fixer (Pritt Multi Fix, Henkel) et du ruban adhésif qui a servi à fixer le rostre sur la pipette, tout en laissant libre au moins une des deux antennes. Le signal électrique de l'antenne a été enregistré à partir de deux électrodes de verre remplies d'une solution saline électrolytique. L'électrode de référence a été plantée dans le cou de l'insecte, tandis que l'électrode d'enregistrement a été positionnée au contact de l'antenne, de façon à ce qu'une goutte de la solution électrolytique soit collée sur le côté de la massue (= le dernier segment antennaire qui renferme les sensilles olfactives) (Fig. 30, Figure annexe

2).

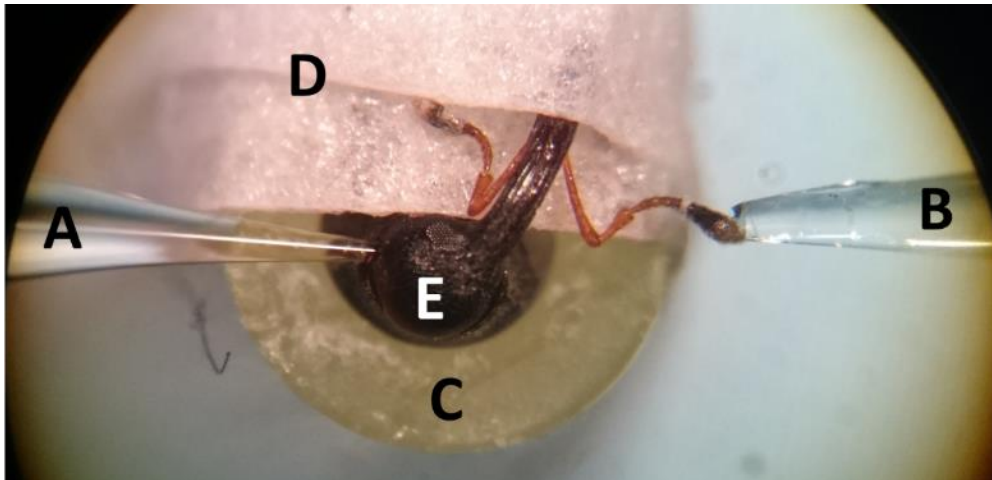


Figure 30 : Schéma du montage des électrodes sur *E. kamerunicus*. A : Electrode de référence ; B : électrode d'enregistrement ; C : pointe de pipette qui contient l'insecte ; D : ruban adhésif maintenant le rostre et la tête de l'insecte immobile ; E : *E. kamerunicus* femelle.

Trente composés volatils, dont la majorité ont été identifiés dans le bouquet floral d'*E. guineensis* et d'*E. oleifera*, ont été dilués dans l'hexane, à deux concentrations différentes : 1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ et 10 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$. La liste de ces composés est indiquée dans le [tableau annexe 11](#). Dix microlitres de chacune des solutions ont été déposés sur un morceau de papier filtre, lui-même inséré par la suite à l'intérieur d'une pipette Pasteur (= cartouche) après évaporation de l'hexane. La pipette a ensuite été insérée dans un stimulateur en verre dont l'ouverture distale débouche à environ 1 cm de l'extrémité de l'antenne équipée de l'électrode d'enregistrement. Un bref flux d'air (durée de 0.5 s au débit de 0.3 L.min⁻¹), préalablement filtré et humidifié, a été envoyé dans le stimulateur. Si l'insecte possède les récepteurs antennaires spécifiques qui répondent au composé, et en nombre suffisant, une dépolarisation se produit. Le signal électrique obtenu à partir de l'électrode d'enregistrement a été amplifié 500 fois, et analysé avec le logiciel Clampex 10 (Molecular devices). Chaque composé en solution dans l'hexane a été testé trois fois, avec 1 min de délais entre deux stimulations, et une à deux minutes entre chaque composé. Tous les 5 composés, deux cartouches témoins ont été utilisées : une cartouche vide (air filtré seul) puis une cartouche avec 10 μL d'hexane. Au total, 12 mâles et 8 femelles *E. kamerunicus* ont été testés, soit 20 individus.

Identification des composés attractifs pour les insectes pollinisateurs et effet de la température sur l'attraction

Parmi les composés testés en EAG, six d'entre eux ayant induit une réponse antennaire au moins supérieure à 50 % de celle de l'estragole ont été testés sur le terrain : le *p*-anisaldehyde, l'(E)-anethole, le benzaldehyde le 2-ethyl-1-hexanol, l'estragole et le 2-isobutyl-3-methoxypyrazine (tableau annexe 11). Pour évaluer si ces composés seuls attirent des insectes pollinisateurs, nous avons utilisés des pièges attractifs constitués d'une boîte de Pétri posée au sol, contenant 0.4 g pur d'un des composés volatils (0.1 g pour le 2-isobutyl-3-methoxypyrazine), et recouverte d'une cage en moustiquaire (même modèle que décrit dans les chapitres 2 et 3). Chaque boîte de Pétri avec un composé (ou sans composé pour les témoins) constitue un traitement, identifié par le nom du composé. Tous les insectes attirés par traitement ont été capturés au moyen d'un aspirateur à bouche, puis comptés au laboratoire.

Deux sites expérimentaux ont été utilisés (Fig. 31), le premier destiné à mesurer l'attraction d'*E. kamerunicus* entre 10 h et 12 h et le second pour évaluer l'attraction de *G. hybridus* de 17 h 30 à 19 h. Dans chaque site, les différents traitements ont été répartis en deux groupes. Le 1^{er} groupe contenait soit les traitements *p*-anisaldehyde, (E)-anethole, benzaldehyde et 2-ethyl-1-hexanol sur le site de test d'*E. kamerunicus* (3 réplicats en juin 2016) (Fig. 31a), soit les traitements benzaldehyde et 2-ethyl-1-hexanol sur le site de test de *G. hybridus* (2 réplicats en juin 2016) (Fig. 31b). Le second groupe contenait soit deux traitements estragole et un traitement 2-isobutyl-3-methoxypyrazine sur le site de test d'*E. kamerunicus* (4 réplicats en juin 2016, et 3 en octobre 2016), soit deux traitements 2-isobutyl-3-methoxypyrazine et un traitement estragole sur le site de *G. hybridus* (2 réplicats en juin 2016 et 3 autres en octobre 2016), à chaque fois accompagnés par deux traitements témoins sans composé. Pour tester si une élévation de température accroît l'attraction des insectes, un des deux traitements avec estragole ou 2-isobutyl-3-methoxypyrazine et un des deux traitements témoins du second groupe ont été posés sur une Thermos ouverte contenant de l'eau à la température comprise entre 50°C et 60°C. Dans chaque groupe, la position des traitements a été tirée au hasard entre chaque réplicat.

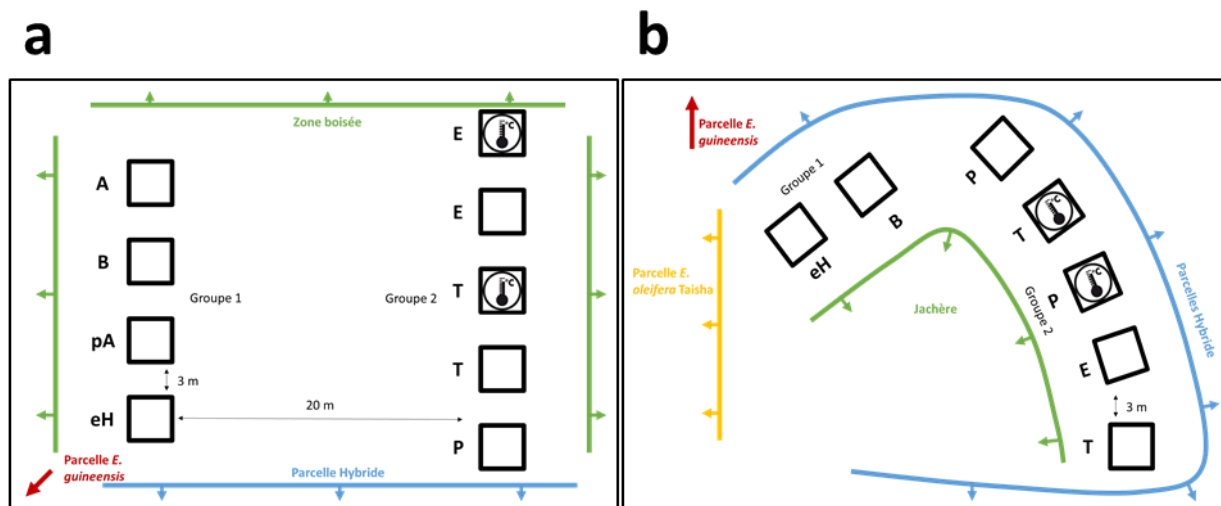


Figure 31 : Schéma des sites expérimentaux destinés à tester l'attraction des insectes pollinisateurs pour différents composés volatils. **a** : site de test d'*E. kamerunicus* ; **b** : site de test de *G. hybridus*. Chaque carré noir représente un traitement (une boîte de Pétri avec un composé dans une cage). Les boîtes associées avec de la chaleur sont indiquées par un pictogramme « thermomètre ». Les lettres représentent l'identité des composés testés, répartis en deux groupes : A : (E)-anethole ; B : benzaldehyde ; pA : *p*-anisaldehyde ; eH : 2-ethyl-1-hexanol ; E : estragole ; P : 2-isobutyl-3-methoxypyrazine ; T : Témoin. Les barres fléchées indiquent la proximité directe avec des parcelles de palmiers et des éléments du paysage environnants, et les flèches la direction des parcelles d'*E. guineensis* situées à moins de 100 m.

Comparaison de l'attraction de différentes doses d'estrageole et de 2-isobutyl-3-methoxypyrazine avec celle des inflorescences

L'effet de différentes doses d'estrageole et de 2-isobutyl-3-methoxypyrazine sur l'attraction d'*E. kamerunicus* et de *G. hybridus* a été testé en équipant d'un diffuseur des inflorescences mâles et femelles en pré-anthèse (stade de floraison non visité par les insectes pollinisateurs ; Chap. 5), de façon à rendre ces inflorescences attractives. Ces expérimentations ont été menées dans des parcelles de palmiers appartenant aux espèces *E. guineensis*, *E. oleifera* Taisha et un hybride interspécifique *E. oleifera* Coari x *E. guineensis* La Mé.

Deux types de diffuseur ont été utilisés : 1) un diffuseur « INRA », sous la forme d'un flacon en verre de 2 mL dans lequel a été introduit 1 mL d'une solution de composé volatil et

d'huile de paraffine, permettant une diffusion progressive du composé ; 2) un diffuseur « Pétri », fait d'une simple boîte de Pétri en verre dans laquelle a été ajoutée une quantité définie d'un composé volatil pur. Les diffuseurs INRA ont été répartis en deux ou trois traitements : 1 g, 0.1 g, et 0.01 g d'estragole ou 0.01 g et 0.001 g de 2-isobutyl-3-methoxypyrazine. Les diffuseurs « Pétri » ont été répartis en trois traitements : 0.4 g, 0.1 g et 0.02 g (respectivement 400 μ L, 100 μ L et 20 μ L) pour l'estragole, et 0.1 g, 0.02 g et 0.005 g (respectivement 100 μ L, 20 μ L et 5 μ L) pour le 2-isobutyl-3-methoxypyrazine. Les diffuseurs qu'ils soient INRA ou « Pétri », ont toujours été utilisés le matin de 10 h à 12 h lorsqu'ils contenaient de l'estragole, alors que ceux contenant du 2-isobutyl-3-methoxypyrazine ont été utilisés au crépuscule, de 17 h 30 à 19 h. En addition des diffuseurs « Pétri », un traitement supplémentaire fait d'un mélange de 0.4 g d'estragole et de 0.1 g de 2-isobutyl-3-methoxypyrazine a été utilisé à la fois le matin et le soir, afin de tester si l'association des deux composés modifiait l'attraction des insectes.

Après un recensement de tous les palmiers possédant une inflorescence dans chacune des parcelles d'expérimentation, toutes les inflorescences en pré-anthèse ont été équipées d'un piège à interception gluants (sticky trap, voir chapitres précédents) afin de capturer les insectes qui les visitent, et les différents traitements ont été aléatoirement dispatchés parmi ces inflorescences. En parallèle, d'autres inflorescences en pré-anthèse et toutes les inflorescences en anthèse dans la parcelle d'expérimentation ont été équipées de pièges sans être associées à un composé volatil, et ont été utilisées respectivement en tant que témoins négatifs (pas de captures d'insectes attendues) et témoins positifs (captures d'insectes attendues).

Analyse des données

L'intensité des réponses antennaires des insectes aux différents composés testés en EAG a été comparé à l'aide d'un modèle linéaire mixte en utilisant le package *lme4* (Bates et al. 2015). Les modèles linéaires généralisés mixtes permettent des comparaisons des courbes de réponses à différents traitements. L'identité des composés volatils testés a été utilisée en tant que facteur fixe, alors que l'identité des insectes a été considérée comme un facteur aléatoire. Aucun test de comparaison deux-à-deux n'a été effectué.

La comparaison des captures moyennes d'insecte entre les différents composés

volatils a seulement été réalisée pour les traitements estragole et 2-isobutyl-3-methoxy pyrazine comme ils ont été les seuls à être attractifs. Le nombre de captures entre les pièges avec élévation de température et sans élévation de température a été comparé en utilisant un test de Student pour l'espèce *E. kamerunicus* et un test de Wilcoxon pour l'espèce *G. hybridus*, en fonction de l'hypothèse de normalité des données.

Le nombre moyen d'*E. kamerunicus* et de *G. hybridus* capturés entre les différents traitements d'estrageole et de 2-isobutyl-3-methoxy pyrazine a été comparé au moyen d'un modèle linéaire généralisé utilisant une distribution des erreurs qui suit une loi binomiale négative. La fonction *glm.nb* contenue dans le package *lme4* a été utilisée, en considérant toujours les individus palmier comme facteurs aléatoires, ainsi que le sexe de l'inflorescence dans le cas d'*E. guineensis* et d'*E. oleifera* Taisha. Les comparaisons deux-à-deux entre les traitements ont été réalisées à partir de la fonction *lsmeans* provenant du package du même nom. Toutes les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide de R.

Résultats

Réponses antennaires de différents composés volatils testés en EAG

Tous les composés testés ont provoqué une réponse antennaire chez les *E. kamerunicus*. Cependant, l'intensité de la réponse diffère significativement d'un composé à l'autre ($F = 5.65$, $p < 0,0001$ à $1 \mu\text{g}/\mu\text{L}$ et $F = 6.61$, $p < 0,0001$ à $10 \mu\text{g}/\mu\text{L}$) (Fig. 32A et 32B). L'estrageole est le composé qui a provoqué la réponse la plus élevée (0,7 mV) quand testé à la concentration de $1 \mu\text{g}/\mu\text{L}$ (Fig. 32A) et la seconde réponse la plus élevée (1,1 mV) à $10 \mu\text{g}/\mu\text{L}$, devancé par le benzaldehyde ($1,3 \mu\text{g}/\mu\text{L}$) (Fig. 32B). Les composés aromatiques benzaldehyde, *p*-anisaldehyde, eugenol et methyl eugenol, les dérivés d'acides gras hexanal et 2-ethyl-1-hexanol et les sesquiterpenes : β -caryophyllene, germacrene D et cadinene, ont tous provoqué une réponse d'intensité moyenne supérieure à 50% de l'intensité de la réponse de l'estrageole. Les réponses aux composés ont été globalement plus intenses à $10 \mu\text{g}/\mu\text{L}$ qu'à $1 \mu\text{g}/\mu\text{L}$, exceptés pour le *p*-xylène, l'ethylbenzene, le 3-heptanone, le butyrolactone, le cyclosativene et l'aromadandrene qui ont toujours donné des réponses inférieures à 25 % de celle de l'estrageole quel que soit la concentration testée.

Parmi les composés volatils testés sur le terrain, seuls les traitements estragole et 2-isobutyl-3-méthoxy-pyrazine ont attiré *E. kamerunicus* et *G. hybridus* respectivement (Fig. 33), et aucune autre espèce n'a été capturée par les traitements. Tous les *E. kamerunicus* ont été capturés sur les pièges avec l'estrageole durant la matinée, mais jamais le soir. Les *G. hybridus* ont quasiment tous été capturés par les pièges avec du 2-isobutyl-3-méthoxy-pyrazine et cela uniquement au crépuscule. Quarante-et-un *G. hybridus* ont été capturés sur un piège avec de l'estrageole (soit moins de 2 % des 4 233 insectes de cette espèce capturés), certainement due à une pollution ou une erreur de manipulation.

En moyenne, 304 *E. kamerunicus* ont été capturés lorsque l'estrageole était associé à une élévation de température, alors que moins de 178 l'ont été en absence d'élévation de température, mais la différence n'était pas significative ($t = -1.86, p = 0.087$). Dans le cas de *G. hybridus*, la différence entre les deux traitements était significative ($W = 2, p < 0.05$), avec en moyenne 767 insectes capturés avec l'élévation de température et une moyenne de 178 individus sans température (Fig. 33).

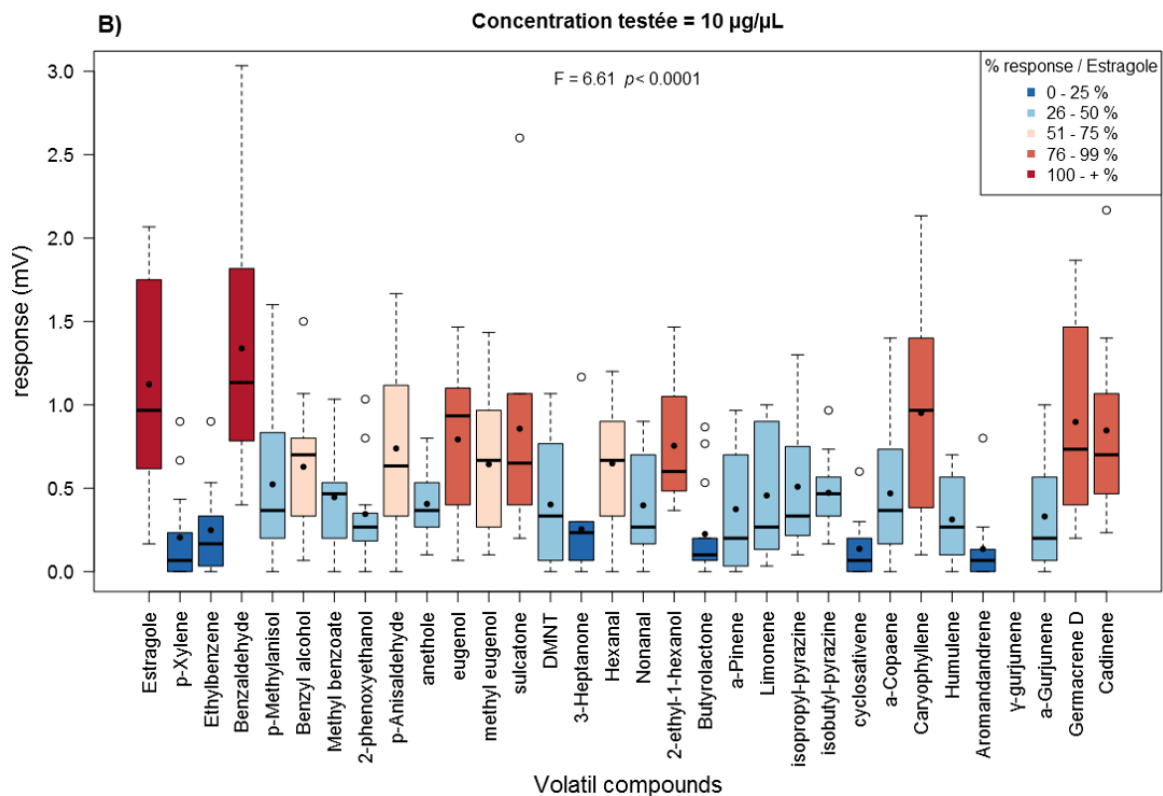
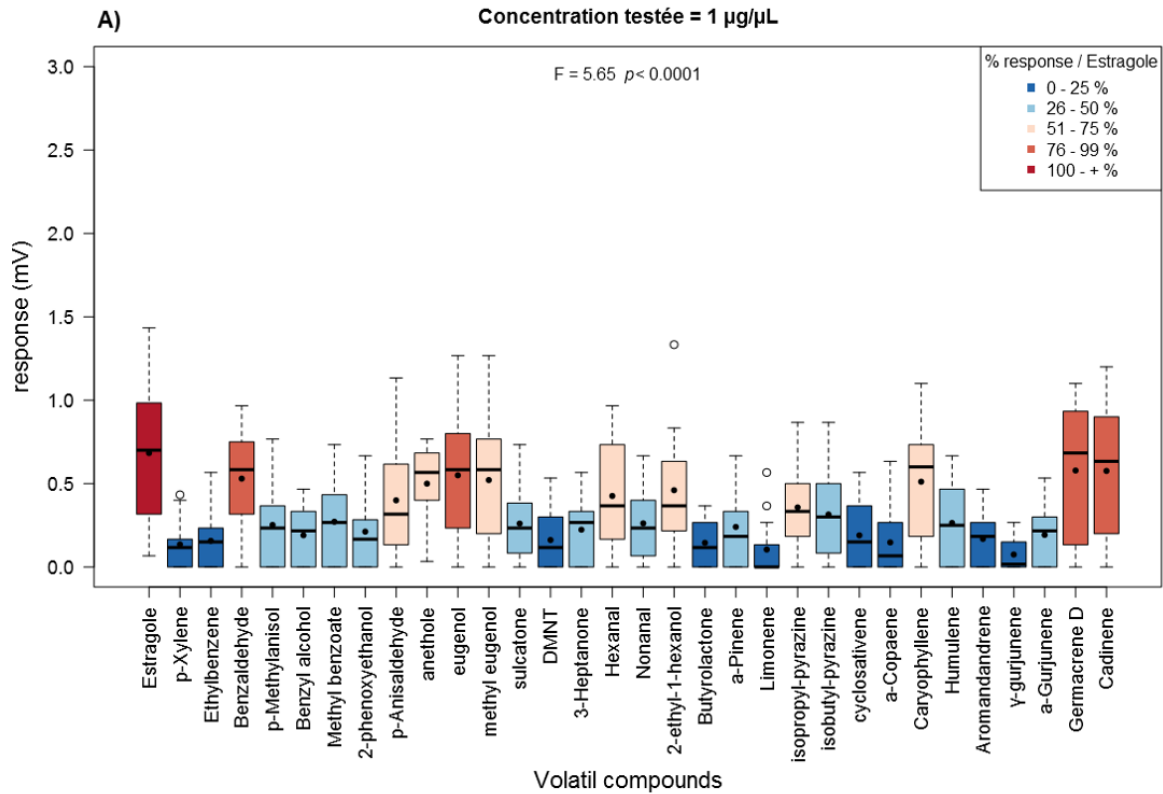


Figure 32 : Intensité des réponses antennaires (mV) d'*E. kamerunicus* après stimulation par les composés volatils identifiés aux concentrations de 1 µg/µL (A) et 10 µg/µL (B). Pour chaque boxplot, la ligne horizontale représente la médiane et les points noirs la moyenne, les boîtes de part et d'autre de la médiane s'étendent au 25^{ème} et 75^{ème} percentiles, les moustaches sont

les limites supérieures et inférieures des valeurs de réponse antennaires et les points blancs des valeurs uniques extrêmes. Les couleurs correspondent au pourcentage de réponse de chaque composé par rapport à la réponse de l'estragole, allant d'une réponse comprise entre 0 et 25 % de celle de l'estragole (bleu foncé) à une réponse égale ou supérieure à celle de l'estragole (rouge foncé). Les points noirs indiquent la moyenne, et les barres la médiane.

Comparaison de l'attraction des insectes à différentes doses de composé volatil

Aucun insecte n'a été capturé sur les pièges à interception lorsque les inflorescences étaient associées aux diffuseurs INRA. A l'opposé, *E. kamerunicus* et *G. hybridus* ont été capturés sur les pièges des inflorescences équipées de diffuseur sous forme de boîtes de Pétri (Fig. 34).

Pour les séries d'expériences avec des diffuseurs « Pétri », tous les traitements avec de l'estragole ont permis d'attirer des *E. kamerunicus*, et tous ceux avec 2-isobutyl-3-méthoxy-pyrazine ont attirés des *G. hybridus*, que ce soit dans les parcelles d'*E. guineensis* et d'*E. oleifera* Taisha, respectivement, ou dans la parcelle d'hybride (Fig. 34). Les captures d'*E. kamerunicus* ou de *G. hybridus* différaient significativement entre les traitements, dans la parcelle d'*E. guineensis*, d'*E. oleifera* ou dans la parcelle de palmiers hybrides ($p < 0.0001$). Le sexe des inflorescences a montré un effet significatif sur les captures dans la parcelle d'*E. guineensis* ($p = 0.05$, uniquement due aux inflorescences en anthèse) et *E. oleifera* Taisha ($p < 0.01$).

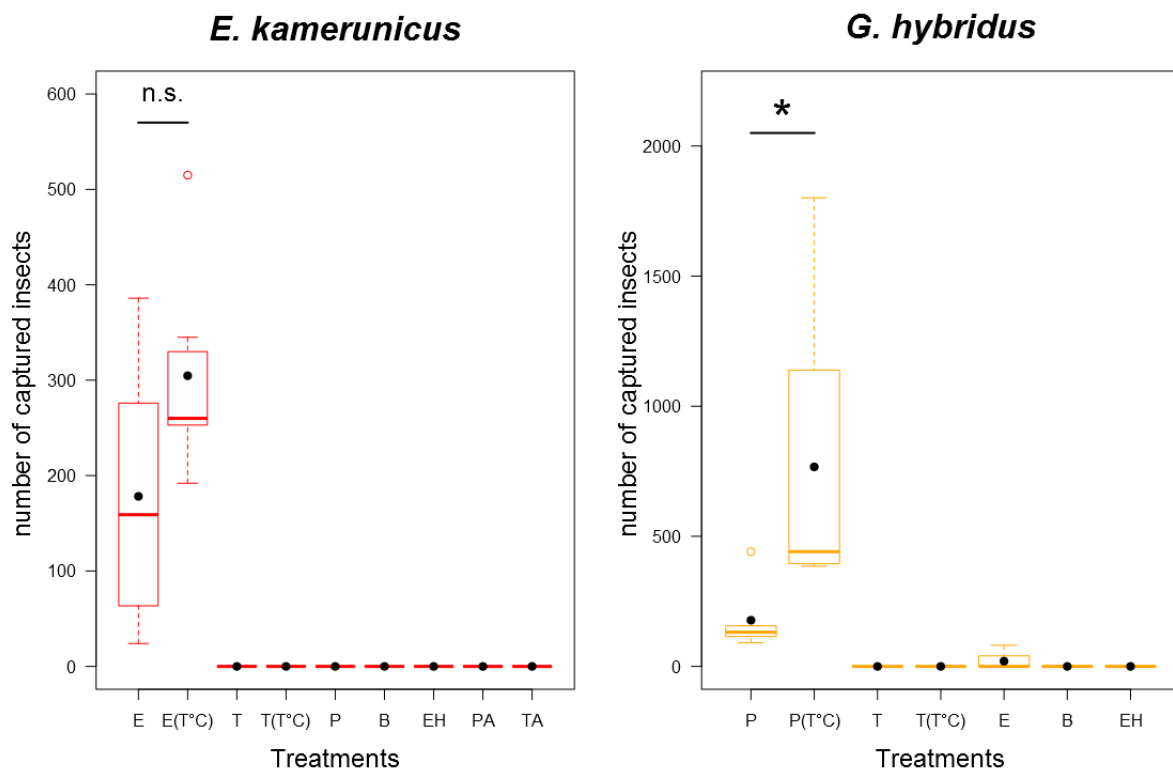


Figure 33 : Effet des différents composés et de l'élévation de température sur le nombre de captures d'*E. kamerunicus* (graphe de gauche) et de *G. hybridus* (graphe de droite). Traitements : E : estragole ; P : 2-isobutyl-3-méthoxy-pyrazine ; B : benzaldéhyde ; EH : 2-éthyl-1-hexanol ; PA : *p*-anisaldéhyde ; TA : (E)-anethole ; T : témoin sans composé. L'action de la température n'a été mesurée que sur l'estragole : E(T°C), le 2-isobutyl-3-méthoxy-pyrazine : P(T°C) et les témoins sans composé : T(T°C). *n.s.* indique que les différences entre traitements ne sont pas significatives, * indique une différence significative à $p < 0.05$ avec le modèle linéaire généralisé.

Le nombre d'*E. kamerunicus* capturés est significativement plus élevé sur les inflorescences en pré-anthèse associée à des doses de 0.4 g et 0.1 g d'estrageole (*E. guineensis* : 443 et 240 individus ; Hybrides : 295 et 137 individus) qu'avec une dose de 0.02 g d'estrageole (*E. guineensis* : 63 individus ; Hybrides : 24 individus) (Fig. 34A et 34C). Le nombre de captures de cette espèce d'insecte sur les inflorescences en anthèse (164 individus) n'était pas différent de celui sur les inflorescences en pré-anthèse associée à 0.1 g d'estrageole dans la parcelle d'*E. guineensis*, et des captures associées à une dose de 0.02 g d'estrageole dans la parcelle d'hybrides (37 individus).

Les doses de 0.1 g et 0.025 g de 2-isobutyl-3-méthoxy-pyrazine utilisées dans la parcelle

d'*E. oleifera* Taisha ont permis de capturer significativement plus de *G. hybridus* (242 et 168 individus, respectivement) que la dose à 0.005 g (44 individus), mais les captures avec ces deux doses n'étaient pas significativement différentes des inflorescences en anthèse (136 individus) (Fig. 34B). Dans la parcelle hybride, le nombre de *G. hybridus* capturés à la dose de 0.1 g (90 individus) était significativement plus élevé que pour la dose à 0.025 g (21 individus) et la dose à 0.005 g (4 individus) (Fig. 34D). Avec 6 individus capturés en moyenne, les inflorescences en anthèse n'étaient pas différentes de deux doses les plus faibles.

Les captures des deux espèces d'insectes sur les traitements associant 0.4 g d'estragole et 0.1 g de 2-isobutyl-3-méthoxy-pyrazine n'ont jamais été différentes de celles de chacun de ces composés testés individuellement à la même quantité (Fig. 34A – D).

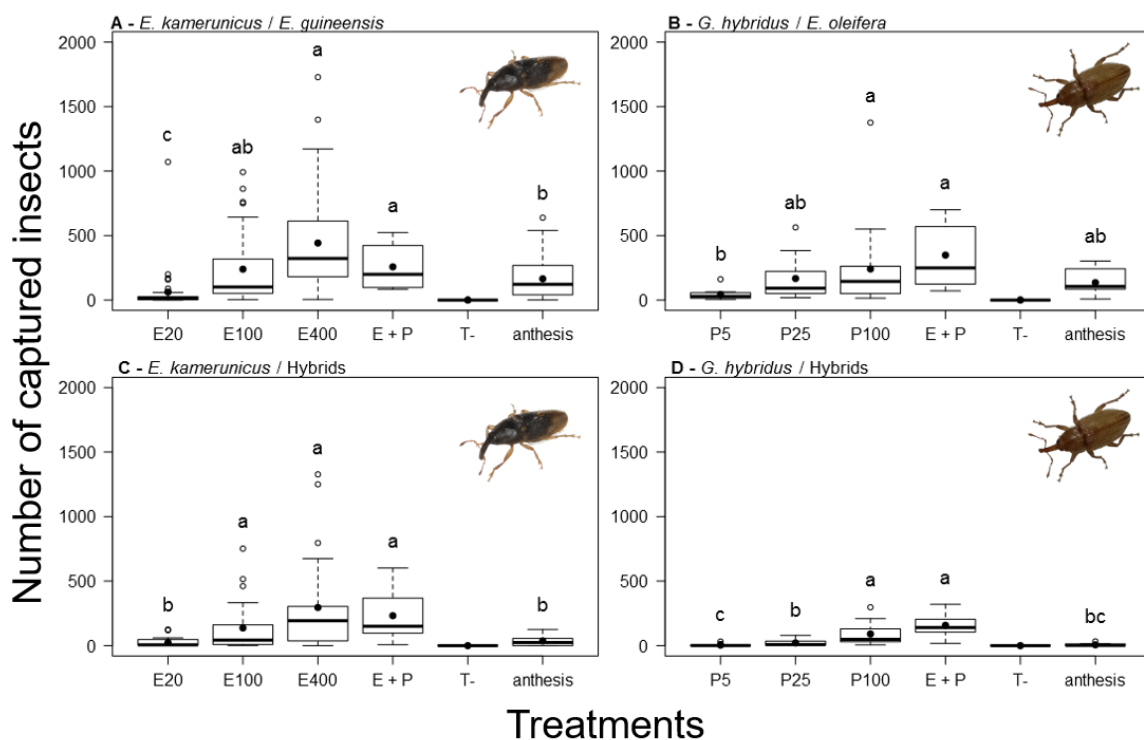


Figure 34 : Nombre d'*E. kamerunicus* et de *G. hybridus* attirés par différentes doses d'estragole (A-C) et de 2-isobutyl-3-méthoxy-pyrazine (B-D) dans une parcelle d'*E. guineensis* (A), d'*E. oleifera* Taisha (B), et d'hybrides (C-D) et capturés avec des pièges à interception. Des lettres indiquent des différences significatives entre les traitements sur l'attraction des insectes. Les encarts montrent la photo des deux espèces d'insectes spécifiquement attirés par les traitements. Doses d'estragole : E20 (0.02 g), E100 (0.1 g) et E400 (0.4 g) et doses de 2-isobutyl-3-méthoxy-pyrazine : P5 (0.005 g), P25 (0.025 g) et P100 (0.1 g). E + P : 0.4 g d'estragole + 0.1 g de 2-isobutyl-3-méthoxy-pyrazine. T- : Témoin sans composé volatil.

anthesis : inflorescences mâles et femelles en anthèse.

Discussion

Ces résultats fournissent l'évidence que des indices olfactifs seuls jouent un rôle déterminant dans l'attraction des insectes pollinisateurs du palmier à huile. La simplicité du signal est frappante puisqu'un seul composé volatil peut être un signal spécifique pour chacune des deux espèces de pollinisateurs, et leur permet de détecter et de localiser la plante-hôte à distance. Ce concept de communication spécifique et exclusive (« the private communication channel ») entre une plante et son pollinisateur, interagissant de manière hautement spécialisée, a été théorisé par [Raguso \(2008\)](#).

Les *E. kamerunicus* testés en EAG ont répondu assez fortement à plusieurs des composés volatils présents dans les odeurs florales de leur plante-hôte *E. guineensis*. L'estragole s'est révélé être le composé présentant la réponse antennaire la plus élevée aux deux concentrations testées (après celle du benzaldehyde à 10 µg/µL). Les composés benzaldehyde, β-caryophyllene et germacrene D ont élicité des réponses assez élevées ce qui laisse envisager une action sur le comportement de l'insecte. Ces composés présentent une distribution ubiquiste à travers les odeurs florales de plantes ([Knudsen et al. 2006](#)), et pourraient englober une multitude de fonctions physiologiques, allant par exemple de l'attraction, à la répulsion des insectes ([Raguso 2008](#); [Junker and Bluthgen 2010](#); [Schiestl 2015](#)), ou d'autres fonctions n'ayant aucun lien dans l'interaction plante-insectes. Les tests comportementaux réalisés avec certains des deux principaux composés du bouquet d'odeurs florales d'*E. guineensis*, l'estragole et l'anéthole (chap. 5) et des composés mineurs qui ont induit une réponse antennaire moyenne à forte par rapport à l'estragole, le *p*-anisaldehyde, le 2-ethyl-1-hexanol et le benzaldehyde, ont montré que seul l'estragole a induit une réponse comportementale pour *E. kamerunicus* ce qui est en accord avec l'hypothèse qu'il agit comme médiateur de la communication exclusive entre *E. kamerunicus* et *E. guineensis*. Aucun de ces composés n'ont induit de réponse comportementale pour *G. hybridus*. Les composés autre que l'estragole pourraient avoir des fonctions physiologiques différentes de celles de l'attraction des insectes, ou agir en tant que co-attractants, renforçant l'attraction. Le rôle des composés mineurs du bouquet floral d'*E. guineensis* sur l'attraction d'*E. kamerunicus* devrait être davantage étudié par des tests comportementaux.

En plus de montrer une forte spécificité individuelle dans l'attraction d'*E. kamerunicus* et de *G. hybridus*, l'estragole et le 2-isobutyl-3-méthoxy-pyrazine en mélange n'ont pas modifié l'attraction des insectes par rapport à chacun de ces composés utilisés individuellement, à la même quantité. Ce résultat renforce l'hypothèse du canal de communication privé entre la plante et ses insectes spécialisés. Comme les odeurs produites par les inflorescences femelles des palmiers hybrides contiennent de l'estragole et du 2-isobutyl-3-méthoxy-pyrazine (chap. 6), celles-ci devraient être attractives pour les deux espèces d'insectes. La faible quantité d'insectes capturés sur ces inflorescences des hybrides, par rapport à celles de palmiers *E. guineensis* ou *E. oleifera* (chap. 1) n'est donc pas expliquée par une absence des composés attractifs. Ce résultat permet aussi d'expliquer pourquoi *G. hybridus* visite les inflorescences femelles d'*E. oleifera* Coari, alors que l'odeur des inflorescences de ces palmiers est constituée à près de 15 % par le 2-isobutyl-3-méthoxy-pyrazine et à près de 50 % par de l'estragole (chap. 1). Cependant l'absence de visite d'*E. kamerunicus* sur ces palmiers est surprenant alors que l'estragole est dominant. Cela pourrait provenir de la volatilisation des composés volatils favorisée par le processus de thermogénèse qui survient seulement au crépuscule (chap. 5), alors qu'*E. kamerunicus* est inactif à ce moment de la journée (chap. 2, Auffray et al. 2017). Ces résultats sont préliminaires et l'attraction des composés volatils présents dans le bouquet floral des deux espèces de palmier demande donc à être davantage étudié, notamment en réalisant des tests en synergie avec différentes associations de composés en mélange, incluant les composés clés de l'attraction.

L'attractivité des deux composés volatils s'est avérée être dose-dépendante. Bien que des individus des deux espèces d'insectes aient été attirés à toutes les doses d'estragole ou de 2-isobutyl-3-méthoxy-pyrazine testées, les doses les plus fortes ont permis de capturer des quantités d'insecte significativement plus élevées que les doses les plus faibles. Dans cette étude, la plus forte dose d'estragole (0.4 g) et la plus forte dose de 2-isobutyl-3-méthoxy-pyrazine (0.1 g) appliquées dans les boîtes de Pétri, respectivement dans la parcelle d'*E. guineensis* et dans la parcelle d'*E. oleifera* Taisha, étaient aussi attractives, voire plus attractives que les inflorescences elles-mêmes. Dans le cas des tests utilisant l'estragole, le nombre d'individus d'*E. kamerunicus* capturés sur les pièges à interception n'a représenté qu'une proportion insignifiante de la quantité de ces insectes réellement attirés, car les abords des inflorescences et la boîte de Pétri étaient littéralement « recouvert » d'*E. kamerunicus* (pers. obs.). Les inflorescences en anthèse étaient toujours plus attractives que les plus faibles

doses de composés testés, mais moins attractives ou également attractives par rapport aux plus fortes doses. On peut donc formuler l'hypothèse que la quantité totale de composé émis par une inflorescence est comprise entre 0.2 g et 0.4 g d'estragole / 2 h d'exposition dans le cas d'*E. guineensis*, et entre 0.05 g et 0.1 g de 2-isobutyl-3-methoxypyrazine / 1 h d'exposition dans le cas d'*E. oleifera* Taisha. Lajis et al. (1985) ont déjà avancé le chiffre de 0.7 g d'huile essentielle dominée à plus de 95 % par de l'estragole extrait à partir d'un kilogramme d'inflorescences mâles d'*E. guineensis*, et 0.2 g extrait d'un kilogramme d'inflorescences femelles. En comparaison, les deux espèces de palmier *Phytelephas seemanii* ou *Aphandra decasperma* émettent aussi de très grandes quantités de composé volatil, supérieures à 0.005 g / h, qui, bien qu'inférieures aux quantités estimées dans cette étude chez le palmier à huile, restent exceptionnelles parmi les plantes (Ervik et al. 1999). Les fleurs spécifiquement pollinisées par des coléoptères sont généralement très parfumées, comme le sont les inflorescences d'*E. guineensis* et d'*E. oleifera* et sont aussi connues pour émettre de grandes quantités de composés volatils (Dudareva and Pichersky 2000; Maia et al. 2013). Des répétitions supplémentaires des expériences réalisées dans cette étude permettraient d'estimer plus finement la quantité de composé émise par les inflorescences de palmier à huile, ainsi que la quantité optimale de composé nécessaire à l'attraction d'un nombre efficace d'individus pour la pollinisation adéquate des inflorescences en anthèse.

Si la quantité de composés volatils suffit à attirer des insectes, la pollinisation va aussi dépendre de la densité d'individus dans le rayon d'émission du composé volatil (Maia et al. 2013), ainsi que de la disponibilité en inflorescences mâles dans la parcelle d'expérimentation, à partir desquelles les insectes peuvent se reproduire. La quantité moyenne d'inflorescences mâles, dans les parcelles dans lesquelles les expérimentations de cette étude ont été menées, a été estimée à 8 pour 100 palmiers chaque semaine dans la parcelle d'*E. guineensis* et 10 pour 100 palmiers par semaine dans la parcelle d'*E. oleifera* Taisha, avec des fluctuations au cours de l'année (chap. 1). A l'opposé, les palmiers hybrides de la parcelle utilisée pour les expérimentations ne produisent des inflorescences mâles qu'exceptionnellement (chap. 1, pers. obs.), et la densité de population des insectes pollinisateurs est donc très faible (chap. 1). Cette particularité se retrouve dans notre étude, où la quantité d'insectes capturés sur les inflorescences femelles en anthèse des palmier hybrides est nettement inférieure à celle des palmiers parents (Fig. 4). A cause de l'absence d'inflorescences mâles, les insectes capturés proviennent donc très probablement des parcelles environnantes dans lesquelles la

densité de pollinisateurs est très élevée, comme celle des parcelles d'*E. guineensis* et d'*E. oleifera*. Si on se réfère à la quantité d'insectes capturés par traitement, les captures sur les inflorescences hybrides en anthèse étaient similaires à celle des plus faibles doses de composé testées. Ainsi, il est possible d'estimer que la quantité d'estragole émise par les inflorescences femelles hybrides est comprise entre 0.02 g et 0.1 g / 2h, et celle de 2-isobutyl-3-methoxypyrazine est comprise entre 0.005 g et 0.025 g / 1h, ce qui est inférieure à celle produite par les palmiers parents. En revanche, l'application d'une forte dose de composé (0.4 g d'estragole ou 0.1 g de 2-isobutyl-3-methoxypyrazine) sur les inflorescences en pré-anthèse a cependant permis d'attirer significativement plus d'insectes que pour les inflorescences en anthèse. Ce résultat suggère donc que de forte quantité de composé volatil déposée sur des inflorescences en anthèse permettrait de rétablir une attraction des insectes qui serait similaire à celles des palmiers parents, en augmentant significativement la distance à laquelle des pollinisateurs peuvent être attirés. Cela mériterait d'être expérimenté.

La chaleur générée durant la thermogénèse florale est suspectée de promouvoir la volatilisation des composés volatils et donc permettre à la fleur qui la produit d'augmenter significativement le rayon d'attraction de ses pollinisateurs (Maia et al. 2013). Durant notre étude, nous avons montré qu'une même dose d'estragole ou de 2-isobutyl-3-methoxypyrazine déposée dans une boîte de Pétri était plus attractive pour les pollinisateurs lorsqu'elle était associée à une augmentation de température (bien que la différence soit significative uniquement pour le second composé). Cela amène à des questions concernant les mécanismes de pollinisation par duperie chez le palmier à huile. En effet, l'augmentation de température observée chez les inflorescences femelles d'*E. guineensis*, d'*E. oleifera* et des hybrides modifierait leur apparence olfactive vis-à-vis des pollinisateurs. Ainsi les inflorescences femelles d'*E. guineensis*, qui semblent émettre de l'estragole en quantité inférieure par rapport aux inflorescences mâles (Lajis et al. 1985; Gomes 2011), renforceraient leur attractivité, voire deviendraient plus visibles que les mâles, durant les épisodes de thermogénèse grâce à la hausse de la volatilisation des composés. Cela inciterait donc des insectes pollinisateurs chargés en pollen à les visiter. Cependant, les inflorescences femelles sur lesquelles ont été déposés les différentes doses de composés volatils n'étaient pas en anthèse, et ne subissaient donc pas d'élévation de température (chap. 5 et 6). Nos résultats montrent donc que l'émission de chaleur n'est pas nécessaire pour attirer les insectes pollinisateurs provenant des parcelles des environs. On peut donc émettre deux hypothèses :

1) l'association des composés volatils testés avec une augmentation de température sur les inflorescences en pré-anthèse augmenterait significativement les quantités d'insectes pollinisateurs capturés. 2) Comme les inflorescences hybrides femelles sont thermogéniques (chap. 6), la quantité de composé volatil émise par celles-ci pourrait être un facteur limitant expliquant le faible taux de visite des insectes pollinisateurs. Des tests supplémentaires doivent être réalisés, faisant à la fois varier la distance par rapport à des parcelles où la densité de pollinisateurs est très élevée, et la quantité de composé volatil, afin d'estimer les paramètres optimaux (et leur interaction) nécessaires à une attraction adéquate des insectes pollinisateurs.

Les tests d'attraction réalisés avec des composés dilués dans la paraffine n'ont pas fonctionné. Il est possible que la paraffine, qui est censée favoriser une libération graduelle du composé, diminue la volatilisation et induise moins de capture. Le design des diffuseurs INRA pourrait aussi être en cause : la surface d'évaporation du composé pourrait être réduite à cause du faible diamètre du flacon (1 cm), alors que la boîte de Pétri permet une large surface d'évaporation (8 cm). L'efficacité de ces diffuseurs pourrait être comparée en testant le composé associé à la paraffine dans un diffuseur « boîte de Pétri », et à l'opposé le composé seul dans un diffuseur INRA.

En conclusion, nos résultats mettent en évidence le rôle des composés clés, l'estragole et le 2-isobutyl-3-méthoxy-pyrazine, dans l'attraction des insectes *E. kamerunicus* et *G. hybridus*. Ces composés permettent également d'expliquer la spécificité de la relation entre ces insectes et leur palmier-hôte respectif. Cette étude ouvre des perspectives intéressantes dans le développement de méthodes de gestion des insectes pollinisateurs du palmier à huile. Les informations apportées par cette étude peuvent déjà être appliquées dans l'élaboration de pièges attractifs, par exemple dans le but de capturer des insectes et de les relâcher dans des parcelles d'hybrides après les avoir artificiellement chargés en pollen. Du piégeage attractif peut aussi permettre d'estimer localement les densités de pollinisateurs, dans la perspective d'identifier les parcelles de palmier dans lesquelles l'effort de pollinisation artificielle devrait être accentué, et les parcelles dans lesquelles les densités de pollinisateurs sont suffisantes pour réduire la pollinisation artificielle. Des expérimentations supplémentaires doivent par conséquent être réalisées, notamment des tests incluant les composés minoritaires des odeurs florales des palmiers, et des tests EAG sur *G. hybridus* qui

n'ont pu être effectuées.

Bibliographie

Bates D, Mächler M, Bolker B, Walker S (2015) Fitting Linear Mixed-Effects Models Using **lme4**. J Stat Softw. doi: 10.18637/jss.v067.i01

Bruce TJA, Pickett JA (2011) Perception of plant volatile blends by herbivorous insects – Finding the right mix. Phytochemistry 72:1605–1611. doi: 10.1016/j.phytochem.2011.04.011

Chen C, Song Q, Proffitt M, et al (2009) Private channel: a single unusual compound assures specific pollinator attraction in *Ficus semicordata*. Funct Ecol 23:941–950. doi: 10.1111/j.1365-2435.2009.01622.x

Dudareva N, Pichersky E (2000) Biochemical and molecular genetic aspects of floral scents. Plant Physiol 122:627–634.

Dufaÿ M, Anstett M-C (2003) Conflicts between plants and pollinators that reproduce within inflorescences: evolutionary variations on a theme. Oikos 100:3–14. doi: 10.1034/j.1600-0706.2003.12053.x

Ervik F, Tollsten L, Knudsen JT (1999) Floral scent chemistry and pollination ecology in phytelephantoid palms (Arecaceae). Plant Syst Evol 217:279–297.

Füssel U (2007) Floral scent in *Salix L.* and the role of olfactory and visual cues for pollinator attraction of *Salix caprea L.*

Gomes SMDS (2011) Polinizadores e semioquímicos do dendezeiro híbrido (*Elaeis oleifera* Cortés x *Elaeis guineensis* Jacq). Universidade federal de Viçosa

Gottsberger G, Silberbauer-Gottsberger I (1991) Olfactory and Visual Attraction of *Erioscelis emarginata* (Cyclocephalini, Dynastinae) to the Inflorescences of *Philodendron selloum* (Araceae). Biotropica 23:23. doi: 10.2307/2388684

Hossaert-McKey M, Soler C, Schatz B, Proffitt M (2010) Floral scents: their roles in nursery

- pollination mutualisms. *Chemoecology* 20:75–88. doi: 10.1007/s00049-010-0043-5
- Hussein MY, Lajis NH, Kinson A, Teo CB (1989) Laboratory and field evaluation on the attractancy of *Elaeidobius kamerunicus* Faust to 4- allylanisole. *PORIM Bull* 20–26.
- Junker RR, Bluthgen N (2010) Floral scents repel facultative flower visitors, but attract obligate ones. *Ann Bot* 105:777–782. doi: 10.1093/aob/mcq045
- Knudsen JT, Eriksson R, Gershenzon J, Ståhl B (2006) Diversity and Distribution of Floral Scent. *Bot Rev* 72:1–120. doi: 10.1663/0006-8101(2006)72[1:DADOF5]2.0.CO;2
- Koutroumpa FA, Jacquin-Joly E (2014) Sex in the night: Fatty acid-derived sex pheromones and corresponding membrane pheromone receptors in insects. *Biochimie* 107:15–21. doi: 10.1016/j.biochi.2014.07.018
- Lajis MN, Hussein MY, Toia RF (1985) Extraction and identification of the main compound present in *Elaeis guineensis* flower volatiles. *Pertanika* 8:105–108.
- Leppik E, Frérot B (2012) Volatile organic compounds and host-plant specialization in European corn borer E and Z pheromone races. *Chemoecology* 22:119–129. doi: 10.1007/s00049-012-0104-z
- Maia ACD, Dötterl S, Kaiser R, et al (2012) The key role of 4-methyl-5-vinylthiazole in the attraction of scarab beetle pollinators: a unique olfactory floral signal shared by Annonaceae and Araceae. *J Chem Ecol*. doi: 10.1007/s10886-012-0173-z
- Maia ACD, Gibernau M, Dötterl S, et al (2013) The floral scent of *Taccarum ulei* (Araceae): Attraction of scarab beetle pollinators to an unusual aliphatic acyloin. *Phytochemistry* 93:71–78. doi: 10.1016/j.phytochem.2013.03.005
- Peakall R, Ebert D, Poldy J, et al (2010) Pollinator specificity, floral odour chemistry and the phylogeny of Australian sexually deceptive *Chiloglottis* orchids: implications for pollinator-driven speciation. *New Phytol* 188:437–450. doi: 10.1111/j.1469-8137.2010.03308.x
- Raguso RA (2008) Wake up and smell the roses: the ecology and evolution of floral scent.

- Annu Rev Ecol Evol Syst 39:549–569. doi:
10.1146/annurev.ecolsys.38.091206.095601
- Raguso RA, Willis MA (2002) Synergy between visual and olfactory cues in nectar feeding by naïve hawkmoths, *Manduca sexta*. Anim Behav 64:685–695. doi:
10.1006/anbe.2002.4010
- Riffell JA, Shlizerman E, Sanders E, et al (2014) Flower discrimination by pollinators in a dynamic chemical environment. Science 344:1515–1518. doi:
10.1126/science.1251041
- Rusch C, Broadhead GT, Raguso RA, Riffell JA (2016) Olfaction in context—sources of nuance in plant–pollinator communication. Curr Opin Insect Sci 15:53–60. doi:
10.1016/j.cois.2016.03.007
- Schiestl FP (2015) Ecology and evolution of floral volatile-mediated information transfer in plants. New Phytol 206:571–577. doi: 10.1111/nph.13243
- Schiestl FP (2005) On the success of a swindle: pollination by deception in orchids. Naturwissenschaften 92:255–264. doi: 10.1007/s00114-005-0636-y
- Schiestl FP, Ayasse M (2001) Post-pollination emission of a repellent compound in a sexually deceptive orchid: a new mechanism for maximising reproductive success? Oecologia 126:531–534. doi: 10.1007/s004420000552
- Schröder R, Hilker M (2008) The relevance of background odor in resource location by insects: a behavioral approach. Bioscience 58:308–316.
- Svensson GP, Okamoto T, Kawakita A, et al (2010) Chemical ecology of obligate pollination mutualisms: testing the “private channel” hypothesis in the *Breynia–Epicephala* association. New Phytol 186:995–1004. doi: 10.1111/j.1469-8137.2010.03227.x

Conclusion générale et perspectives

Nous avons étudié le cas d'interactions mutualistes très poussées, basées sur l'imbrication des cycles de reproduction d'organismes très différents et sur la duperie olfactive. La médiation chimique joue un rôle essentiel dans l'interaction, puisqu'elle permet à l'insecte de détecter sa plante-hôte, et à la plante de leurrer les insectes qui la pollinisent. Ce mécanisme rend la pollinisation d'*E. guineensis* et d'*E. oleifera* efficace. Notre étude est la première à caractériser aussi précisément les traits floraux responsables de l'attraction des insectes pollinisateurs des deux espèces de palmier à huile et de leurs hybrides interspécifiques.

Pour les deux couples palmier-insectes étudiés, la relation est spécifique entre les deux protagonistes car *E. kamerunicus* ne visite qu'*E. guineensis*, et *G. hybridus* ne visite qu'*E. oleifera* (Chap. 1, 2 et 3). Cette interaction est très probablement le résultat d'une coévolution où les deux organismes exercent une pression sélective l'un sur l'autre : elle se base sur un signal chimique unique, et une synchronisation de la phénologie des partenaires. Le signal chimique exhibé par la plante est fait d'un message simplifié. Cette simplification est caractérisée par l'émission d'une odeur florale dominée par un ou quelques COVs tout à fait inhabituels (Chap. 4 et 5), parmi lesquels l'estragole et le 2-isobutyl-3-methoxypyrazine. Ceux-ci ont rarement été rencontrés dans les odeurs florales d'autres plantes (Knudsen et al. 2006) et se sont révélés être les composés clés de l'attraction d'*E. kamerunicus* et *G. hybridus*, respectivement (Chap. 7). Comme les pollinisateurs nécessitent obligatoirement de trouver une inflorescence mâle pour se reproduire, les individus auront été sélectionnés pour leur capacité à détecter et extraire ce signal à travers le « bruit de fond chimique ambiant », renforçant la spécificité. En plus d'être différenciées par leur composition chimique, les deux espèces de palmiers se distinguent en plus par un décalage journalier de l'anthèse (Chap. 2) et de l'émission de chaleur par les inflorescences femelles (Chap. 5) qui matchent parfaitement avec la période d'activité de leurs insectes pollinisateurs respectifs. Durant cette période, les insectes s'envolent à la recherche d'une inflorescence, et l'émission de chaleur doit probablement amplifier la détection et la localisation de l'inflorescence en accroissant la volatilité des COVs (Chap. 5 et 7).

Le mimétisme intersexuel qui est observé entre les inflorescences mâles et femelles chez *E. guineensis* et *E. oleifera* Taisha suggèrent que le système de pollinisation de ces palmiers est performant. Pour compenser la préférence des insectes pour le sexe mâle qui

fournit nourriture (pollen) et site de reproduction, le sexe femelle affiche un signal chimique qui est très similaire à celui que présente le sexe mâle ([Chap. 4](#) et [poster 2](#)) : les insectes ne peuvent donc pas exprimer de préférence pour l'un ou l'autre des sexes. Au cours de la journée, l'anthèse des inflorescences femelles est synchronisée avec celle des mâles. Les inflorescences femelles interceptent donc les insectes chargés en pollen qui se déplacent entre les inflorescences mâles. Comme la phase fonctionnelle des deux sexes coïncide temporellement, le mimétisme chimique est probablement renforcé par une sélection qui maintient la similarité des bouquets floraux et empêche les insectes pollinisateurs de discriminer entre les mâles et les femelles. Le [chapitre 5](#) a ainsi permis de montrer que l'anthèse des inflorescences de deux espèces de palmier est caractérisée par un bouquet floral spécifique, différant des phases pré-anthèse et post-anthèse ainsi que par la forte émission de chaleur produite par les inflorescences femelles. Nous faisons l'hypothèse que cette augmentation de température doit permettre d'accroître la volatilisation des odeurs et d'augmenter leur rayon d'action, pour attirer des insectes à grande distance, mais aussi de rendre les inflorescences femelles plus attractives que les mâles. Nous avons montré dans le [chapitre 3](#) que *G. hybridus* est capable de voler sur des distances assez importantes en seulement 20 à 30 minutes d'activité, ce qui paraît cohérent avec cette hypothèse.

La réussite de la pollinisation de chacune de ces espèces de palmier repose donc probablement sur la coévolution des partenaires vers un système de communication spécifique et efficace. Cependant, dans les plantations la sélection des palmiers repose sur une action humaine : les traits sélectionnés sont liés au rendement et à la résistance aux maladies, et visent à accroître la productivité de la culture. Les variétés de palmier hybrides interspécifiques ont été développées suite à la nécessité de trouver une solution au complexe de maladie qui touche *E. guineensis* en Amérique du sud, et sont aussi sélectionnées dans l'optique d'atteindre les rendements similaires à *E. guineensis*. En revanche, l'étude des traits liés à l'attraction des insectes pollinisateurs a été largement délaissée jusqu'à maintenant, car ceux-ci n'ont pas été pris en compte dans les processus de sélection.

L'hybridation des deux espèces de palmier à huile est le résultat d'un processus totalement anthropique puisque la séparation géographique de ces palmiers n'aurait jamais pu permettre de tels croisements. L'hybridation peut aboutir à des variations qualitatives ou quantitatives dans l'expression du métabolisme secondaire ([Orians 2000](#)). Comme nous

l'avons vu dans le chapitre 6, l'hybridation aboutit à un bouquet d'odeurs florales original qui diffèrent des deux espèces parentales : les palmiers hybrides expriment les composés clés qui permettent d'attirer les insectes pollinisateurs. La barrière reproductive qui maintient habituellement la spécificité entre les deux espèces de palmier et leurs pollinisateurs est « cassée » et permet aux deux pollinisateurs de visiter les inflorescences des hybrides. Pourtant, l'abondance des visites est nettement inférieure à celles des espèces parentales, même si des variations existent entre les croisements hybrides (Chap. 1). La nouveauté représentée par l'originalité du bouquet d'odeur est susceptible d'affecter la communication entre les hybrides et les pollinisateurs spécifiques aux parents. L'association de l'estragole et du 2-isobutyl-3-méthoxy-pyrazine n'a pas induit de modification dans l'attractivité des insectes par rapport à ces composés testés individuellement (Chap. 7). Cependant, le rôle des composés minoritaires dans l'attraction de ces deux composés n'a pas été pris en compte dans cette étude. De telles associations pourraient tout simplement rendre les insectes moins susceptibles de détecter le signal chimique affiché par les hybrides. Par exemple, le chapitre 3 a montré que les deux insectes pollinisateurs se déplacent à plus grande distance dans les parcelles ne contenant que des palmiers hybrides, par rapport aux parcelles composées uniquement d'*E. oleifera* et d'*E. guineensis*, suggérant que les odeurs des inflorescences femelles hybrides en anthèse ne leur conviennent pas, ou qu'ils les détectent mal.

Nos résultats n'ont pas mis en évidence de différences significatives dans la composition relative des odeurs florales de plusieurs croisements hybrides (Chap.6). En revanche, les tests de comportement sur le terrain suggèrent que l'attraction est dose dépendante (Chap. 7). Nous n'avons pas étudié les différences quantitatives dans l'émission des composés volatils des inflorescences hybrides, ni par rapport aux espèces parentales, ni entre les différents croisements hybrides. La méthode SPME utilisée pour la collecte des odeurs n'est pas très performante pour estimer la quantité absolue de composés émis par les inflorescences, en particulier lorsque les composés sont saturants (Tholl et al. 2006; Bicchi et al. 2008). Une quantification peut éventuellement être réalisée par des méthodes couteuses en temps. De nouvelles collectes d'odeurs devraient donc être réalisées en adaptant la méthode, ou en utilisant une technique qui se révélerait être plus adaptée pour la quantification des composés volatils. En sachant que les infrastructures disponibles dans les pays où sont cultivés des palmiers à huile peuvent s'avérer être un facteur limitant dans la mise en pratique de telles techniques.

Un facteur d'importance qui pourrait être responsable du faible taux de visite d'insectes sur les palmiers hybrides est le déficit en inflorescences mâles. Les hybrides possèdent l'avantage, d'un point de vue agronomique, de produire beaucoup d'inflorescences femelles (environ une toutes les deux semaines). En revanche, comme les populations d'insectes se maintiennent grâce aux inflorescences mâles, leur absence résulte d'une pollinisation naturelle déficiente. Dans la parcelle d'expérimentations d'*E. oleifera* Taisha, dont les palmiers sont originaires de graines collectées à partir d'individus d'une population naturelle, le nombre d'inflorescences mâles pour 100 individus par semaine (10 inflorescences) est le double de celui des inflorescences femelles. En partant de l'hypothèse que la pollinisation est performante dans le milieu naturel, en absence de pressions de sélection anthropiques, l'efficacité de la pollinisation pourrait être liée à une sélection fréquence-dépendante (mimétisme batésien ; [Roy and Widmer 1999](#)), c'est-à-dire que les inflorescences femelles mimétiques voient augmenter leur valeur sélective si elles sont plus rares que les mâles. Dans les parcelles d'hybrides, où les inflorescences mimétiques sont majoritaires, la combinaison d'un déficit en inflorescences mâles et d'une haute fréquence en inflorescences femelles réduirait la valeur sélective de ces dernières, à travers le rejet des visites par les insectes. Cette hypothèse demanderait cependant à être étudiée.

Aujourd'hui, les sélectionneurs tentent de produire des palmiers *E. guineensis* dit « supermachos » (C. Louise, P. Amblard, com. pers), qui produisent beaucoup d'inflorescences mâles. L'intérêt de ces palmiers très masculins réside dans la production de grande quantité de pollen afin de subvenir aux besoins de pollinisation assistée des hybrides. Dispatchés dans les parcelles hybrides, ces palmiers *E. guineensis* supermachos, ainsi que des palmiers *E. oleifera* Taisha, pourraient rétablir des populations d'insectes conséquentes au sein des parcelles hybrides.

Les tests d'attraction sur le terrain ont permis de confirmer que l'estragole et le 2-isobutyl-3-méthoxy-pyrazine induisent chacun la réponse comportementale d'*E. kamerunicus* et de *G. hybridus*, respectivement. L'attractivité de ces composés méthoxylés pour les pollinisateurs était attendue, car l'estragole domine très largement le bouquet floral d'*E. guineensis* et le 2-isobutyl-3-méthoxy-pyrazine est un des composés dominant celui d'*E. oleifera*. La forte attractivité de ces composés pour les deux insectes ouvre des perspectives intéressantes dans la poursuite de l'étude de la pollinisation des palmiers hybrides.

L'utilisation de pièges attractifs, utilisant une quantité définie d'un ou des deux composés, disposés dans les parcelles d'hybrides au moment de la période d'activité des insectes pollinisateurs, permettrait d'évaluer spatialement les niveaux de population des pollinisateurs dans la plantation. Savoir où les populations de pollinisateurs sont conséquentes et suffisantes, et où elles sont limitées, laisse envisager le développement de méthodes de gestion de la pollinisation assistée : en adaptant l'effort de pollinisation assistée en fonction des zones ou des croisements hybrides où les populations d'insectes sont déficientes, les coûts de pollinisation assistée pourraient être réduits. Les pièges attractifs pourraient aussi être couplés à des réservoirs de pollen, sur lesquels viendraient se charger les insectes leurrés avant de quitter le piège et d'aller visiter les inflorescences hybrides à proximité.

Il semble évident que les processus de sélection artificiels doivent aujourd'hui prendre en compte les traits floraux pour améliorer la productivité du matériel végétal cultivé en plantation. L'utilisation de techniques d'échantillonnage des odeurs florales permettant de réaliser une quantification absolue permettrait de cibler les croisements hybrides - et les palmiers qui les composent considérés individuellement - qui présentent de fort taux d'émission des deux principaux composés d'intérêt, afin d'orienter la sélection génétique. La sélection devrait être basée sur l'identification préalable du ou des gènes liés à la synthèse des COVs responsables de l'attraction des insectes, c'est-à-dire de l'estragole et du 2-isobutyl-3-methoxy pyrazine. L'estragole étant un composé aromatique, produit de la voie de biosynthèse shikimique, son émission par les fleurs femelles est peut-être en lien avec la teinte violette (« concho de vino ») que celles-ci prennent 24 h après le début de l'anthèse. Cette coloration est probablement due à la production d'anthocyanine qui partage la même voie de biosynthèse (Dormont et al. 2014). Détecter une variabilité de teinte de ces fleurs à travers les individus pourrait constituer une piste intéressante à suivre et facile à mettre en œuvre. En revanche, il paraît plus difficile d'utiliser la même méthode pour le 2-isobutyl-3-methoxy pyrazine puisque la voie de biosynthèse est différente (Guillaumie et al. 2013). Il ne faut cependant pas négliger le reste des COVs qui pourraient avoir des effets répulsifs sur les pollinisateurs. Le phénomène de thermogénèse se révèle également avoir de l'importance dans l'attraction des insectes pollinisateurs. Enfin l'héritabilité de la masculinité chez les individus hybrides devraient être étudiée et prise en compte dans les processus de sélection.

Cette thèse visait à apporter les connaissances de base nécessaires pour comprendre

le système de pollinisation des deux espèces de palmier à huile et d'appliquer ces connaissances aux palmiers hybrides afin de comprendre pourquoi ils sont mal pollinisés. En se basant sur des aspects théoriques et pratiques, cette thèse ouvre la voie à des études complémentaires et aux premières applications pratiques qui permettront à plus ou moins court terme de proposer des solutions dans la gestion de la pollinisation des palmiers hybrides. Les prochaines étapes qui feront suites à cette étude devraient se tourner vers des études spatiales et la caractérisation de marqueurs génétiques qui relèvent d'un bouquet floral attractif. Cette thèse présente les premières données sur un nouveau modèle d'étude concernant des interactions plantes-insectes très spécialisées. Le modèle du palmier à huile semble prometteur parce qu'il présente l'avantage de pouvoir être étudié sous l'aspect de la sélection naturelle, c'est-à-dire dans les populations naturelles de ces palmiers, et sous l'aspect de la sélection artificielle, en plantations commerciales.

Bibliographie

- Althoff DM (2014) Shift in Egg-Laying Strategy to Avoid Plant Defense Leads to Reproductive Isolation in Mutualistic and Cheating Yucca Moths. *Evolution* 68:301–307. doi: 10.1111/evo.12279
- Bicchi C, Liberto E, Matteodo M, et al (2008) Quantitative analysis of essential oils: a complex task. *Flavour Fragr J* 23:382–391. doi: 10.1002/ffj.1905
- Dormont L, Delle-Vedove R, Bessière J-M, Schatz B (2014) Floral scent emitted by white and coloured morphs in orchids. *Phytochemistry* 100:51–59. doi: 10.1016/j.phytochem.2014.01.009
- Dötterl S, David A, Boland W, et al (2012) Evidence for Behavioral Attractiveness of Methoxylated Aromatics in a Dynastid Scarab Beetle-Pollinated Araceae. *J Chem Ecol* 38:1539–1543. doi: 10.1007/s10886-012-0210-y
- Dudareva NA, Pichersky E (eds) (2006) *Biology of floral scent*. CRC/Taylor & Francis, Boca Raton, FL

- Ervik F, Tollsten L, Knudsen JT (1999) Floral scent chemistry and pollination ecology in phytelephantoid palms (Arecaceae). *Plant Syst Evol* 217:279–297.
- Guillaumie S, Ilg A, Rety S, et al (2013) Genetic Analysis of the Biosynthesis of 2-Methoxy-3-Isobutylpyrazine, a Major Grape-Derived Aroma Compound Impacting Wine Quality. *PLANT Physiol* 162:604–615. doi: 10.1104/pp.113.218313
- Hossaert-McKey M, Proffit M, Soler CCL, et al (2016) How to be a dioecious fig: Chemical mimicry between sexes matters only when both sexes flower synchronously. *Sci Rep* 6:21236. doi: 10.1038/srep21236
- Knudsen JT, Eriksson R, Gershenzon J, Ståhl B (2006) Diversity and Distribution of Floral Scent. *Bot Rev* 72:1–120. doi: 10.1663/0006-8101(2006)72[1:DADOFS]2.0.CO;2
- Orians CM (2000) The effects of hybridization in plants on secondary chemistry: implications for the ecology and evolution of plant–herbivore interactions. *Am J Bot* 87:1749–1756.
- Raguso RA (2008) Wake up and smell the roses: the ecology and evolution of floral scent. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 39:549–569. doi: 10.1146/annurev.ecolsys.38.091206.095601
- Roy BA, Widmer A (1999) Floral mimicry: a fascinating yet poorly understood phenomenon. *Trends Plant Sci* 4:325–330.
- Terry I, Moore CJ, Walter GH, et al (2004) Association of cone thermogenesis and volatiles with pollinator specificity in *Macrozamia* cycads. *Plant Syst Evol* 243:233–247. doi: 10.1007/s00606-003-0087-x
- Terry I, Walter GH, Moore C, et al (2007) Odor-Mediated Push-Pull Pollination in Cycads. *Science* 318:70–70. doi: 10.1126/science.1145147
- Terry IL, Roemer RB, Booth DT, et al (2016) Thermogenic respiratory processes drive the exponential increase of volatile organic compound emissions in *Macrozamia* cycad cones: Cone volatile emissions track respiratory burst. *Plant Cell Environ* n/a-n/a. doi: 10.1111/pce.12730

Terry IL, Roemer RB, Walter GH, Booth DT Cycad cones' thermogenic signals govern pollinators' behaviour.

Terry LI, Roemer RB, Walter GH, Booth D (2014) Thrips' responses to thermogenic associated signals in a cycad pollination system: the interplay of temperature, light, humidity and cone volatiles. *Funct Ecol* 28:857–867. doi: 10.1111/1365-2435.12239

Tholl D, Boland W, Hansel A, et al (2006) Practical approaches to plant volatile analysis. *Plant J* 45:540–560. doi: 10.1111/j.1365-313X.2005.02612.x

Annexes

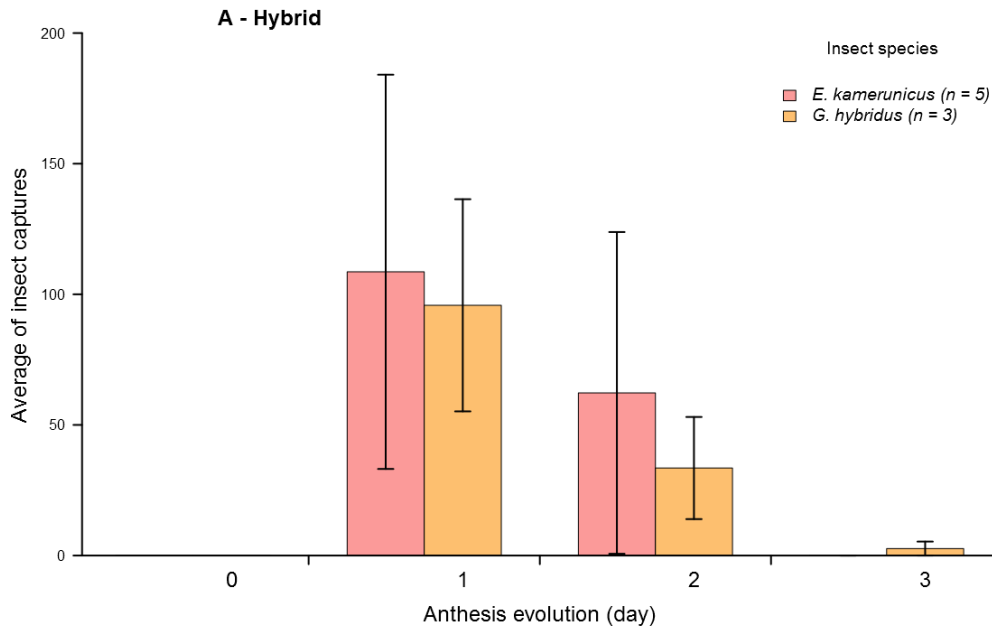


Figure annexe 35 : Evolution des captures moyennes d'*E. kamerunicus* et de *G. hybridus* au cours de la floraison des inflorescences femelles d'un croisement hybride interspécifique.

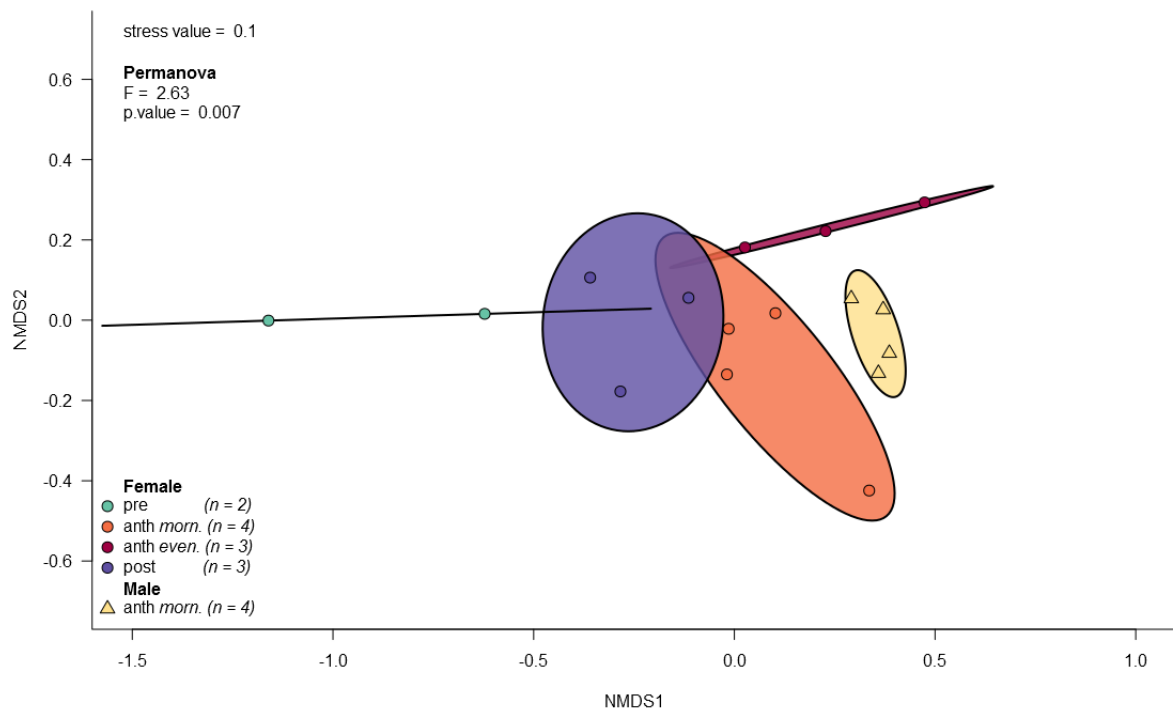


Figure annexe 36: Représentation nMDS des odeurs florales mâle et femelle d'un croisement hybride Coari x La Mé au cours des différentes étapes de la floraison. L'indice de Bray-Curtis est utilisé pour calculer les distances entre échantillons. Toutes les inflorescences d'un même croisement sont regroupées au sein d'une même ellipse colorée.

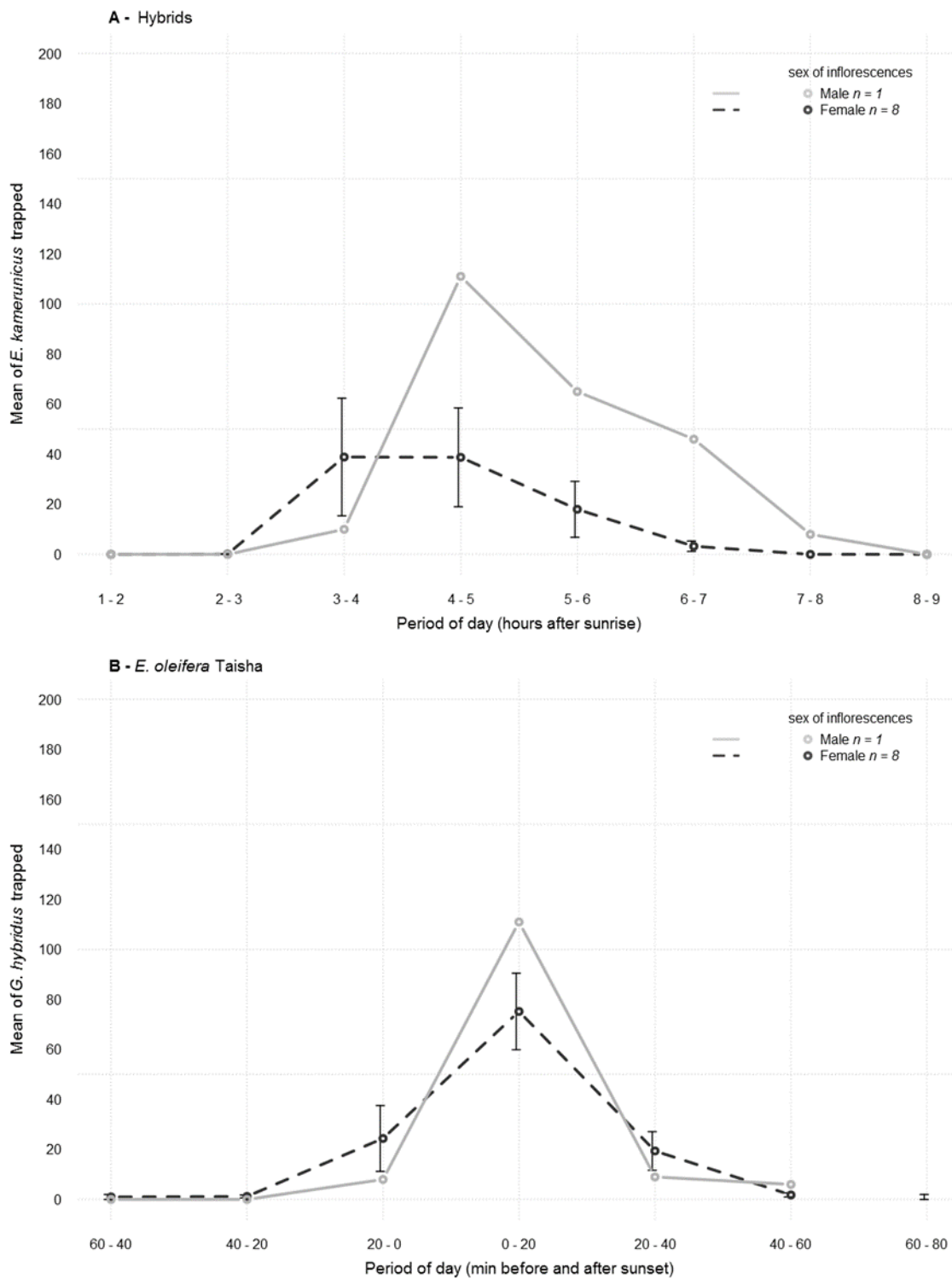


Figure annexe 37 : Evolution des captures d'*E. kamerunicus* (A) et de *G. hybridus* (B) au cours de la journée, le premier jour de l'anthèse des inflorescences femelles d'un croisement hybride interspécifique.

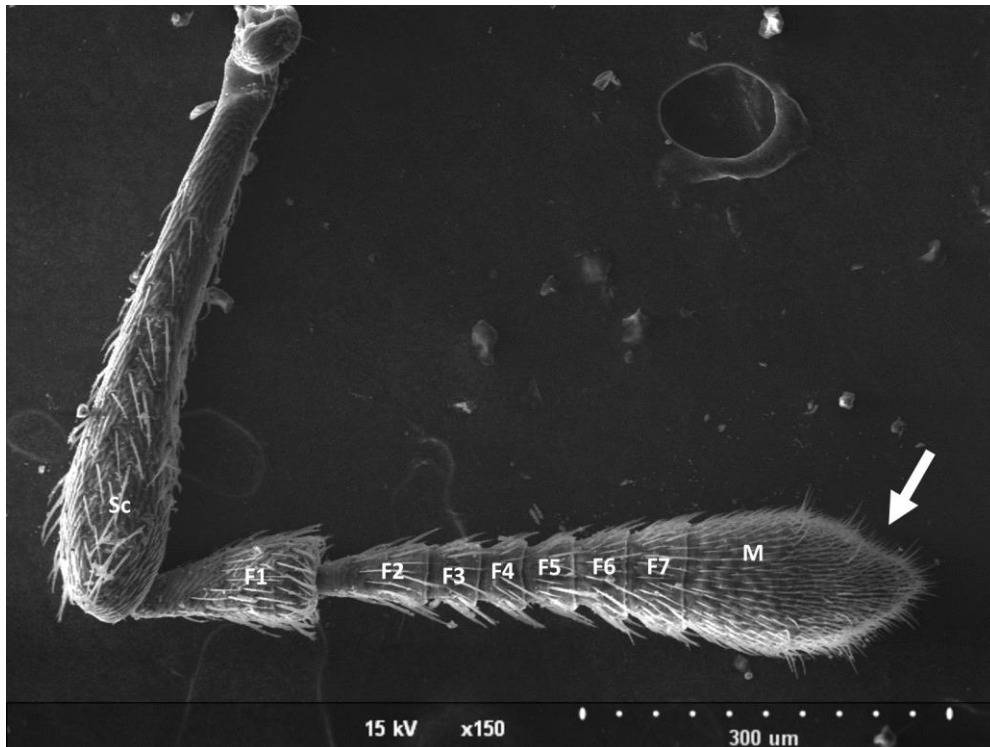


Figure annexe 38: Aspect de l'antenne d'*E. kamerunicus* mâle en position dorsale. Les sensilles olfactives se trouvent sur le segment terminal, appelé « massue ». La flèche indique la position de contact avec l'électrode d'enregistrement. M : massue ; F1 à F7 : segments funiculaires 1 à 7 ; Sc : scape.

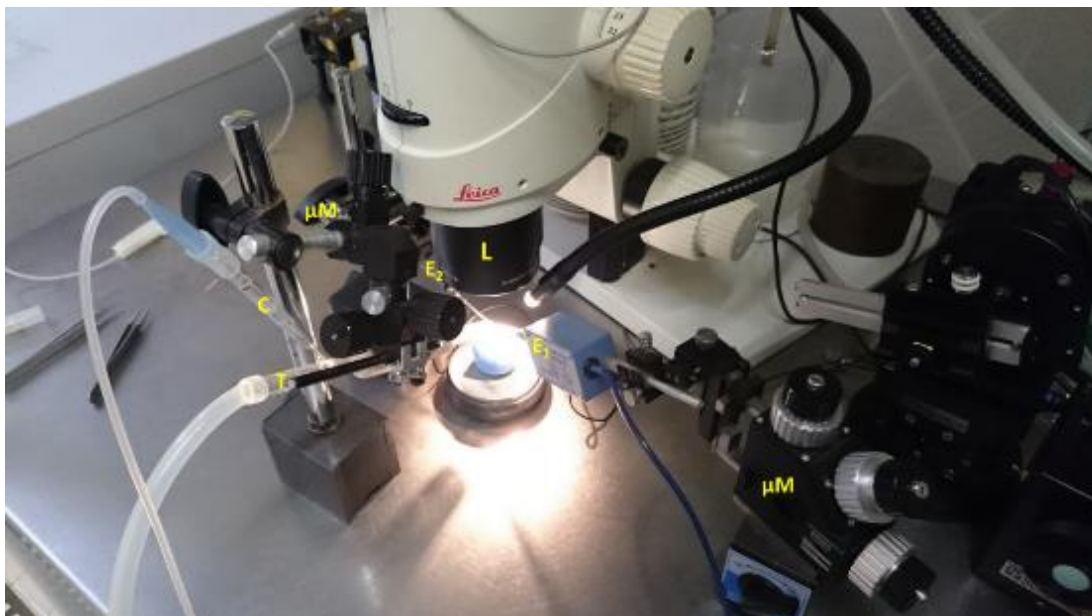


Figure annexe 39 : Poste de montage EAG. L : Loupe binoculaire ; µM : Micromanipulateur ; E₁ : Electrode d'enregistrement ; E₂ : électrode de référence ; C : cartouche (pipette Pasteur avec papier filtre et composé) ; T : tube en verre dans lequel débouche la cartouche.

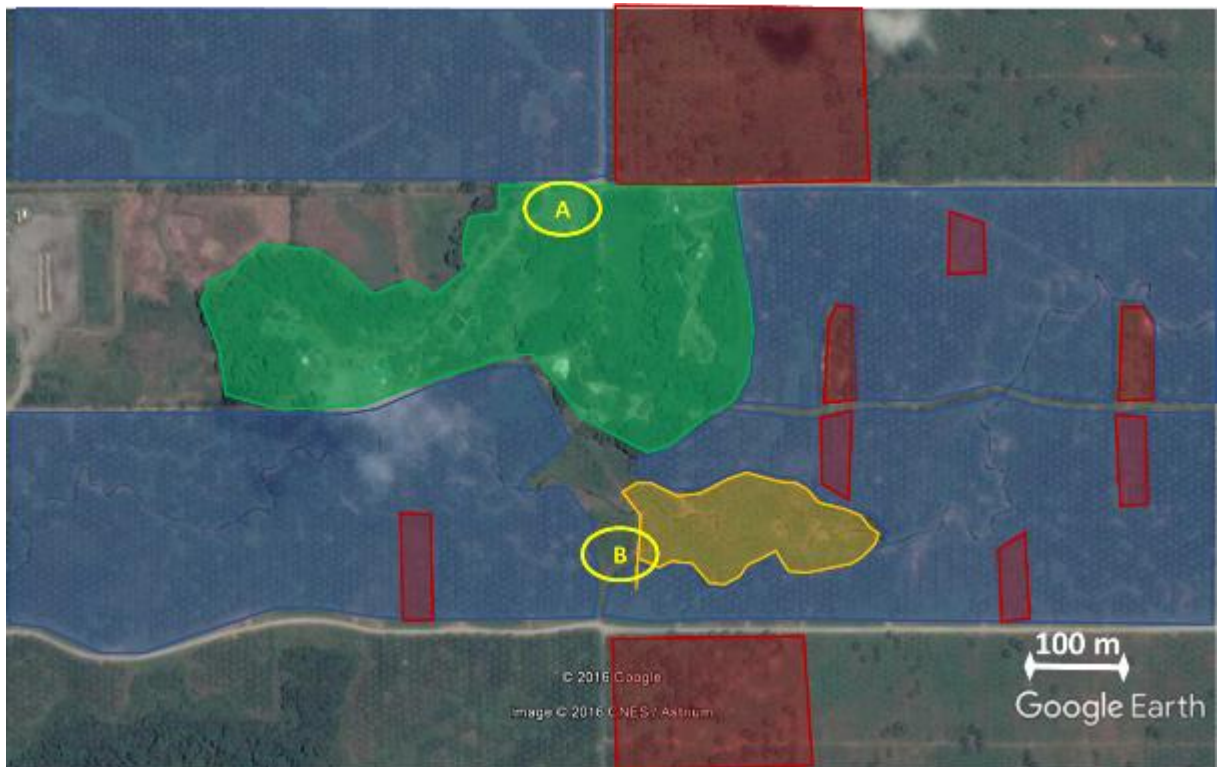


Figure annexe 40 : Localisation des zones d'expérimentation destinées à tester l'attractivité de différents composés volatils. L'attraction d'*E. kamerunicus* a été testée sur le site A (terrain de foot) et l'attraction de *G. hybridus* a été testée sur le site B (zone ouverte). Les parcelles plantées avec *E. guineensis* sont indiquée en rouge, celles des hybrides *Eo Coari x Eg La Mé* en bleue et la parcelle plantée avec *E. oleifera* est indiquée en jaune. L'échelle est représentée par un trait blanc en bas à droite.



Pollinator insect movement in oil palm plantings

Coleoptera Curculionidae, main pollinator for oil palm

Pollen is mainly transported by insects of the genus *Elaeidobius* and *Grasiidius* in the Amazonia area of Ecuador planting with oil palm trees. The flying activity of both species has a direct effect on fruit set rate and consequently on the production of well-formed fruits in a bunch.

AUFFRAY T.¹, POVEDA R.², LOUISE C.³, CILAS C.¹,
BEAUDOIN-OLLIVIER L.¹

¹ CIRAD, Unité Bioagresseurs, Campus International de
Baillarguet, 34398 Montpellier sur Lez, France

² DANEC, Palmiras Del Ecuador, Ecuador,

³ PALMELIT SAS, Parc Agropolis, 34360 Montpellier sur Lez,

Marking, Release, Recapture

The dispersal range of *Elaeidobius kamerunicus* and *Grasiidius hybridus* were studied in different breeding populations of oil palm trees in Ecuador using a mark-recapture technic. Insects released were marked using fluorescent powders (Fig.1)(Bioquip®). Mass release of *E. kamerunicus* (n=5.028) in a 6.1 ha *E. guineensis* La Mé plot, *G. hybridus* (n=2.500) in a 1.44 ha *E. oleifera* plot and both species (n=5.500 *E. kamerunicus* and 5.300 *G. hybridus*) in a 9.24 ha interspecific hybrid plot (Fig. 2).

Both species were released during their respective period of activity (Beaudoin-Ollivier, 2012).

Interception traps were used at the neighboring of inflorescences in anthesis to recapture both species (Fig. 3).

Colour insects were separated under UV light. They were caught at different distances from the release point.



Fig. 3. Pollinator insects trapped near a female inflorescence in anthesis

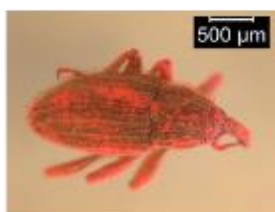


Fig. 1. *G. hybridus* marked with fluorescent powder



Fig. 2. Method of release in the field

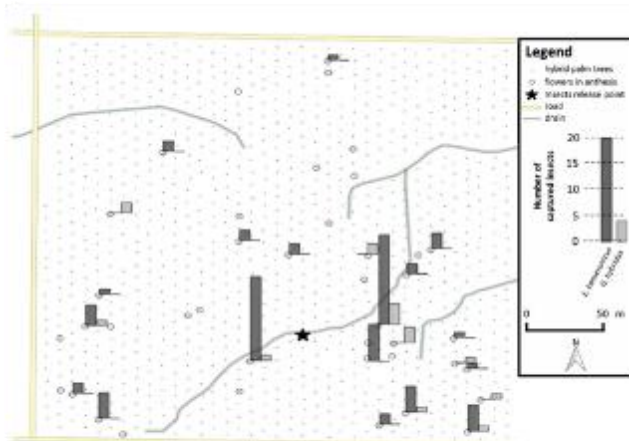


Fig. 4. Pollinator insects captured after release in an interspecific

Results

In the *E. oleifera* and *E. guineensis* plots, the weevils were trapped during five consecutive days and one day respectively at a distance up to 55 m.

In the interspecific hybrid plot, the two species were captured for 7 days at distances from 39 m up to 250 m from the release point (Fig. 4).

In *E. guineensis* and in *E. oleifera*, only few marked insects marked were recaptured (< 1,5%) whereas in the hybrid plot, 79,5% of the marked insects were

recaptured (Fig. 5).

hybrid *E. oleifera* Coari x *E. guineensis* La Méplot

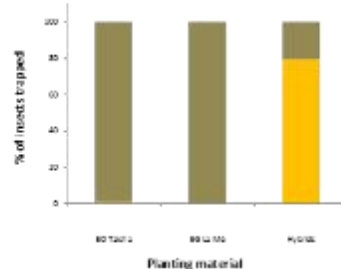


Fig. 5. Percentage of insects marked and recaptured in *E. oleifera*, *E. guineensis* and hybrid blocks

REFERENCES

Beaudoin-Ollivier L. 2012. Entomology mission to Danec, Palmiras Del Ecuador, February 2012, N° A-1062012-02. 39 p.
Loisel C. 2015. Comparaison de différentes poudres destinées au marquage de masse d'*Elaeidobius kamerunicus* (Coleoptera Curculionidae). Rapport de stage L3, Université de Rouen. 34 p.

> CONCLUSION

The insects flew longer distances when released in an interspecific hybrid plot than in their specific host plant plots. The mark release and recapture opens new opportunities for oil palm pollinator dynamic and dispersal studies.

© Cirad, March 2015 - IICOPE



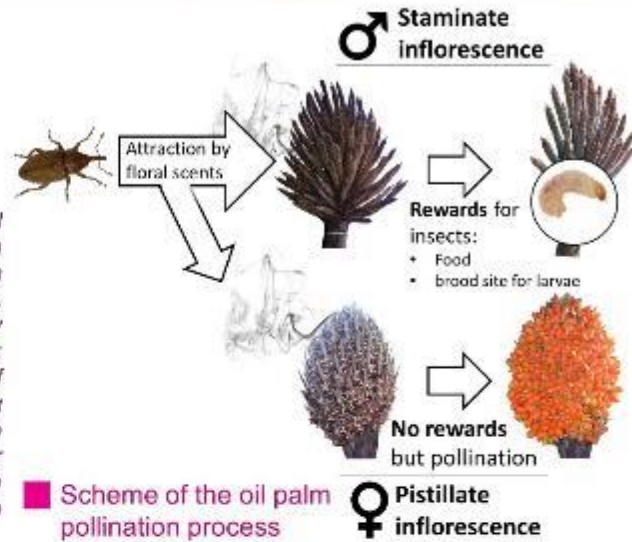
Oil palm entomophile pollination depends on an intersexual chemical mimicry



AUFFRAY Thomas^{1,2*}, PINIER Céline²,
BEAUDOIN-OLLIVIER Laurence¹, FRÉRODT Brigitte²
¹ UPR106, Unité de Recherche Biogéographes, CIRAD, Montpellier, France,
² UMR1352, Institut d'Ecologie et des Sciences de l'Environnement de Paris, INRA, Versailles, France
*thomas.auffray@gmail.com

Background

Understanding oil palm pollination system is of critical importance for oil palm industry by promoting natural pollination and developing sustainable production. Pollination of the African oil palm *Elaeis guineensis* Jacq. and the American oil palm *E. oleifera* (HBK) Cortés (Arecaceae: Arecoideae) is achieved by two species-specific *Dereolomine* weevils (Coleoptera: Curculionidae). The weevils develop at the expense of staminate inflorescences they detect by the scent emitted during anthesis. These insects are also attracted by pistillate inflorescences but did not seem to receive any reward for visitation. We hypothesize deceptive pistillate inflorescences are pollinated by mimicking the chemical signal used by insects to find nursery staminate inflorescences.

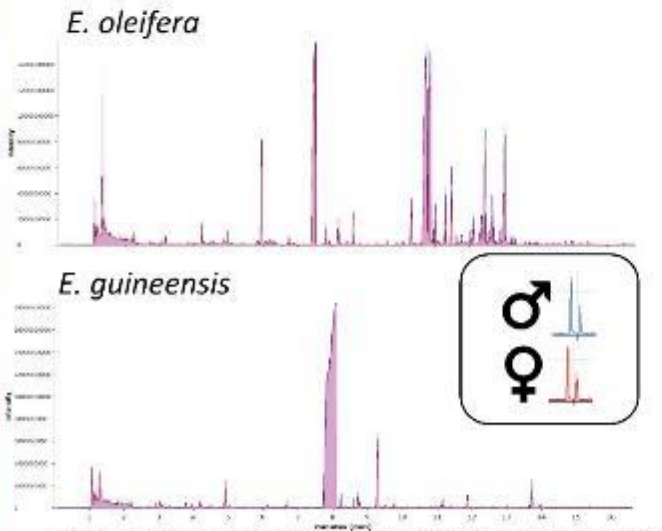


How similar is the odorant signal emitted by both, pistillate and staminate inflorescences in anthesis, for *E. guineensis* and *E. oleifera* oil palm species ?

Scent sampling and analysis

Volatiles organic compounds (VOC) were collected with SPME from pistillate and staminate inflorescences at anthesis on both palm species and analyzed by gas-chromatography/mass-spectrometry.

Superposed pistillate and staminate chromatographic profiles of both palm species

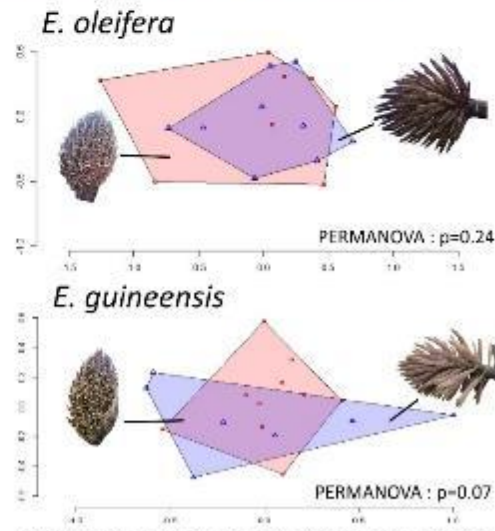


Pistillate and staminate inflorescences have similar chromatographic profiles in the two oil palm species.

> CONCLUSION

- For both oil palm species, deceptive pistillate inflorescences lure specific pollinators by mimicking the scent of staminate ones
- Volatiles specifically implicated in attracting pollinator insects are not yet known

Comparison of floral scents between sexes with NMDS representation



NMDS representation associated with Permanova test did not reveal significant differences in floral scents of pistillate and staminate inflorescences

> REFERENCES

Beaudoin-Olivier L, Frérot B, Collin A, Fiori A (2012) Dupercis affective et pollinisation chez le palmier à huile.

4/0 BAO, October 2016

www.cirad.fr

Figure annexe 42 : Oil palm entomophile pollination depends on an intersexual mimicry. Poster présenté à la conférence SFécologie2016, le 26 octobre 2016 à Marseille. Primé par le second prix du meilleur poster jeune chercheur.

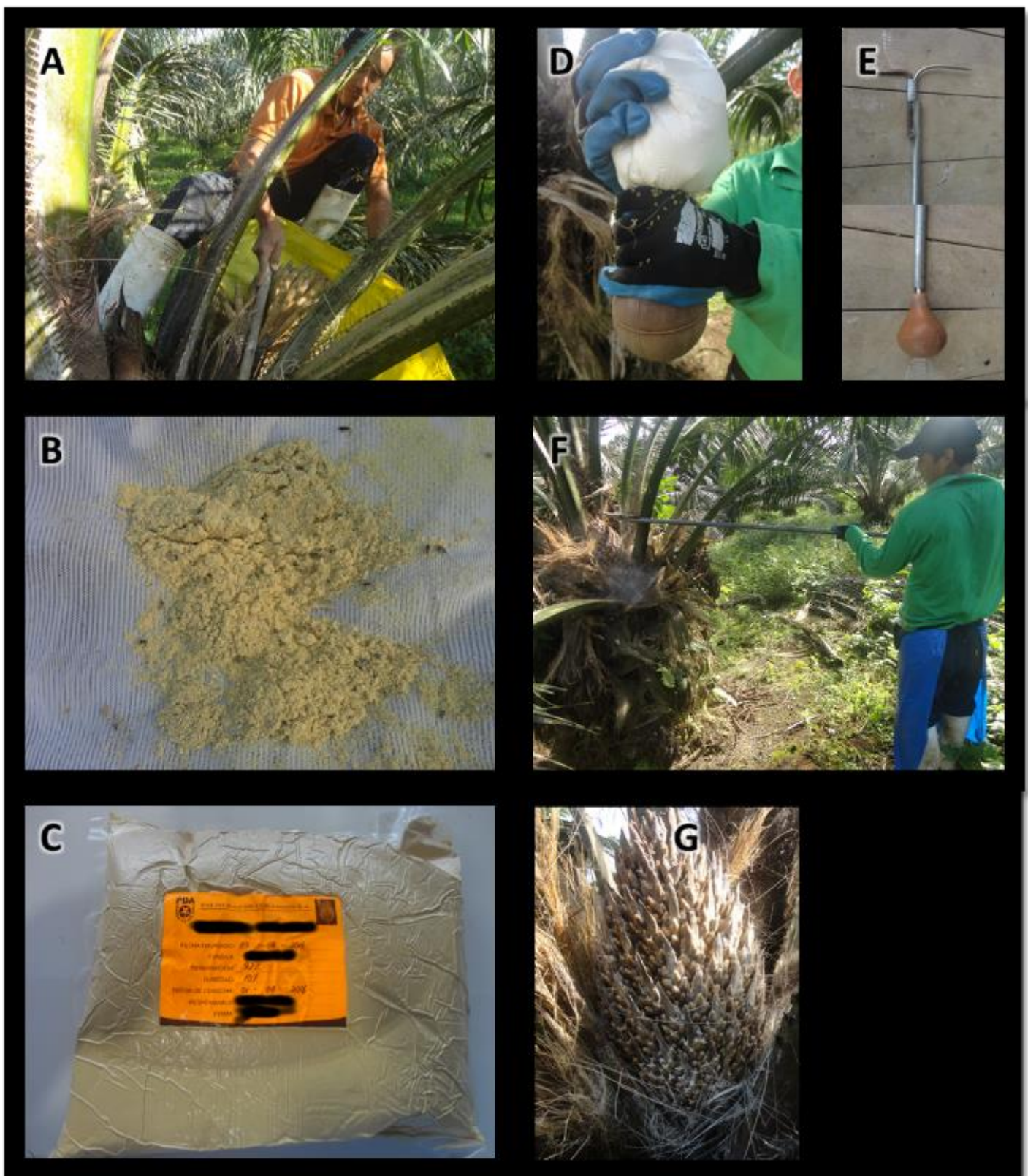


Figure annexe 43 : Les étapes de la pollinisation assistée. A) Collecte de pollen sur une inflorescences mâle d'*E. guineensis* par battage ; B) Aspect du pollen récolté ; C) Mode de conservation du pollen, coupé avec 90 % de talc ; D) Remplissage d'une poire avec le mélange talc et pollen, E) Extrémités de la canne à pulvériser du pollen ; F) Pulvérisation du pollen sur une inflorescence femelle en anthèse de palmier hybride ; G) Inflorescence hybride en anthèse recouverte de mélange talc et pollen.

Table annexe 4 : Nombre de pièges posés sur les inflorescences mâles et femelles de chaque type de matériel végétal au cours de toute la durée des expérimentations

sexe	Eg	EoC	EoT	HA	HB	HC	HD	HCY	HTL	HTY
F	131	202	112	220	182	196	168	143	186	140
M	104	0	165	4	2	0	5	62	4	45

Table annexe 5 : Relative proportion (mean \pm SD) of volatile compounds emitted during the anthesis stage of inflorescences of two *E. oleifera* palm populations. *E. oleifera* Coari originated from Northwest Brazil is represented only by female inflorescences from either 4-years or 18-years old palms sampled in two different commercial plantations (respectively PDE and PDA), while *E. oleifera* Taisha originated from Eastern Ecuador is represented by both male and female inflorescences of 13-years old palms sampled in the PDE plantation.

RI	<i>E. oleifera</i> Coari				<i>E. oleifera</i> Taisha				
	PDE (4 yrs. old)		PDA (18 yrs. old)		PDE (13 yrs. old)				
	Females		Females		Females		Males		
	N = 5	O	N = 4	O	N = 5	O	N = 7	O	
Benzenoids									
p-Xylene *	895	5	0.68 \pm 0.42	4	8.91 \pm 4.19	5	0.22 \pm 0.2	7	0.43 \pm 0.48
Cumene	933	4	0.04 \pm 0.04	4	0.96 \pm 0.87	5	tr.	7	tr.
Benzaldehyde *	966	5	1.69 \pm 1.52	4	1.03 \pm 0.45	5	0.64 \pm 0.64	7	0.56 \pm 0.5
Phenol	981	5	0.47 \pm 0.53	3	0.16 \pm 0.11	0	-	1	tr.
1,2,3-Trimethylbenzene	995	5	0.09 \pm 0.06	4	0.62 \pm 0.22	2	tr.	5	0.03 \pm 0.03
p-Methylanisole *	1020	5	0.52 \pm 0.66	4	1.53 \pm 0.66	3	tr.	7	1.01 \pm 1.43
Benzyl alcohol *	1033	3	1.72 \pm 2.38	3	0.07 \pm 0.05	4	1.73 \pm 1.9	6	1.72 \pm 1.67
Acetophenone	1064	4	tr.	4	0.31 \pm 0.14	5	0.10 \pm 0.12	7	0.03 \pm 0.01
Methyl Benzoate *	1095	1	0.36 \pm 0.81	1	tr.	2	0.08 \pm 0.12	7	1.62 \pm 1.35
Veratrole	1148	0	-	0	-	2	0.02 \pm 0.03	7	0.81 \pm 0.68
p-Vinylnisole	1153	3	0.03 \pm 0.03	0	-	1	tr.	1	tr.
Ethyl Benzoate	1170	0	-	4	0.07 \pm 0.07	0	-	2	0.03 \pm 0.06
Methyl Salicylate	1194	0	-	0	-	3	0.15 \pm 0.34	7	0.59 \pm 0.73
Estragole *	1198	5	56.93 \pm 8.85	4	39.58 \pm 11.04	5	3.95 \pm 2.39	7	0.30 \pm 0.4
Cuminaldehyde	1221	5	0.64 \pm 0.55	0	-	2	tr.	1	tr.
cis-Anethole	1253	5	0.62 \pm 0.17	4	0.92 \pm 0.37	4	0.09 \pm 0.07	2	tr.
p-Anisaldehyde *	1256	3	0.30 \pm 0.53	0	-	3	0.04 \pm 0.04	2	tr.
trans-Anethole *	1288	5	4.00 \pm 1.35	4	5.38 \pm 1.34	5	2.22 \pm 2.68	4	0.04 \pm 0.04
p-Propylanisole	1298	5	0.78 \pm 0.55	4	1.46 \pm 0.89	2	tr.	4	0.05 \pm 0.12
p-Acetonylanisole	1380	0	-	0	-	1	0.12 \pm 0.26	5	0.35 \pm 0.59
2,6-Di-tertbutyl-p-Benzoquinone	1460	5	0.05 \pm 0.04	4	0.99 \pm 0.89	0	-	0	-
Irregular terpenes									
DMNT	1113	5	0.19 \pm 0.1	4	0.17 \pm 0.14	4	0.02 \pm 0.03	7	0.71 \pm 1.15
Fatty acid derivatives									
3-Heptanone *	904	5	3.57 \pm 2.42	3	0.04 \pm 0.04	5	0.44 \pm 0.37	6	0.14 \pm 0.17
Nonane *	916	3	0.38 \pm 0.52	4	3.20 \pm 1.06	5	0.14 \pm 0.12	4	0.08 \pm 0.1
2-Octanol *	999	5	0.86 \pm 1.00	4	0.16 \pm 0.1	0	-	0	-
Cis-3-Henenyl acetate *	1004	2	0.08 \pm 0.15	0	-	3	0.04 \pm 0.06	1	tr.
Hexyl acetate	1011	0	-	0	-	2	tr.	4	tr.
1-Octanol	1069	2	0.13 \pm 0.21	3	0.17 \pm 0.26	4	0.04 \pm 0.05	6	0.02 \pm 0.02
Miscellaneous									
γ -Butyrolactone *	922	4	0.63 \pm 0.64	2	1.57 \pm 3.02	5	0.04 \pm 0.02	6	0.77 \pm 1.97
Monoterpenes									
α -Pinene *	943	5	0.22 \pm 0.19	2	0.04 \pm 0.06	2	tr.	5	tr.
β -Myrcene *	991	4	0.24 \pm 0.25	4	0.41 \pm 0.24	1	tr.	2	0.02 \pm 0.03
3-Carene *	1010	5	0.07 \pm 0.05	0	-	3	tr.	5	tr.
p-Cymene *	1025	4	0.14 \pm 0.10	4	0.34 \pm 0.21	2	tr.	5	0.02 \pm 0.03
Limonene *	1030	5	0.32 \pm 0.24	4	0.63 \pm 0.32	2	0.05 \pm 0.08	4	0.29 \pm 0.42
trans-Sabinene hydrate	1100	0	-	0	-	1	tr.	3	0.02 \pm 0.03
N-containing compounds									
2-Isopropyl-3-methoxypyrazine *	1087	5	3.21 \pm 0.73	4	8.62 \pm 4.39	4	2.31 \pm 2.37	7	4.88 \pm 3.23
2-isobutyl-3-methoxypyrazine *	1176	5	9.62 \pm 1.50	4	18.00 \pm 4.76	5	20.94 \pm 6.89	7	21.51 \pm 4.16
S-containing compound									
Benzothiazole	1224	3	0.61 \pm 1.16	4	0.46 \pm 0.11	2	tr.	4	0.03 \pm 0.04
Sesquiterpenes									
δ -Elemene	1339	0	-	0	-	5	0.33 \pm 0.12	5	0.18 \pm 0.14
Unidentified sesquiterpene	1346	1	0.15 \pm 0.33	1	tr.	5	0.05 \pm 0.03	7	0.08 \pm 0.06

<i>a</i>									
α -Cubebene	1348	5	0.15 ± 0.17	3	0.60 ± 1.13	5	2.11 ± 0.4	6	1.65 ± 1.01
(+)-Cyclosativene *	1370	5	5.16 ± 0.91	4	0.75 ± 0.23	5	20.15 ± 3.68	7	18.91 ± 6.54
α -Copaene *	1377	5	0.70 ± 0.36	4	1.72 ± 0.69	5	13.33 ± 3.08	7	15.65 ± 1.88
β -Cubebene	1380	3	0.06 ± 0.07	0	-	2	0.38 ± 0.79	5	1.44 ± 1.35
β -Elemene	1384	4	0.30 ± 0.26	0	-	5	1.79 ± 0.97	4	1.00 ± 1.29
<i>Unidentified sesquiterpene</i>	1389	1	0.03 ± 0.08	4	0.10 ± 0.06	1	tr.	3	0.38 ± 0.68
<i>b</i>									
α -Gurjunene *	1405	0	-	0	-	5	1.42 ± 0.42	7	2.24 ± 0.74
<i>Unidentified sesquiterpene c</i>	1407	0	-	4	0.07 ± 0.05	0	-	0	-
β -Caryophyllene *	1412	0	-	3	0.08 ± 0.06	5	3.68 ± 0.49	7	3.52 ± 0.69
<i>Unidentified sesquiterpene</i>	1419	5	0.49 ± 0.31	0	-	0	-	0	-
<i>d</i>									
β -Copaene	1431	4	0.16 ± 0.13	0	-	5	0.48 ± 0.1	7	0.36 ± 0.13
Aromadendrene *	1463	0	-	0	-	5	0.40 ± 0.12	7	0.26 ± 0.14
α -Humulene *	1457	0	-	1	0.16 ± 0.32	5	0.54 ± 0.1	7	0.46 ± 0.16
Alloaromadendrene	1463	3	0.16 ± 0.21	2	0.35 ± 0.43	5	1.63 ± 0.38	7	1.45 ± 0.31
γ -Muurolene	1476	4	0.62 ± 0.52	0	-	5	1.75 ± 0.57	7	1.51 ± 0.59
α -Curcumene	1481	2	0.06 ± 0.08	4	0.16 ± 0.16	0	-	0	-
Germacrene D *	1481	5	0.37 ± 0.39	0	-	5	6.39 ± 1.49	7	5.16 ± 3.6
β -Selinene	1488	5	0.18 ± 0.14	0	-	0	-	0	-
α -Selinene	1490	4	0.26 ± 0.28	0	-	4	0.73 ± 0.62	5	0.36 ± 0.28
Valencene	1493	4	0.04 ± 0.04	0	-	1	0.05 ± 0.1	2	0.06 ± 0.13
Bicyclogermacrene	1497	1	0.30 ± 0.68	0	-	2	0.65 ± 0.92	3	0.78 ± 0.99
α -Muurolene	1499	5	0.76 ± 0.61	3	0.02 ± 0.03	2	0.56 ± 0.9	4	0.50 ± 0.55
δ -Selinene	1499	0	-	0	-	3	1.23 ± 1.15	2	0.75 ± 1.32
γ -Cadinene	1514	4	0.07 ± 0.11	4	0.02 ± 0.01	5	0.90 ± 0.31	7	0.59 ± 0.22
δ -Cadinene *	1519	5	0.37 ± 0.29	4	0.11 ± 0.02	5	6.61 ± 3.25	7	4.75 ± 2.51
trans-Calamenene	1521	5	0.15 ± 0.11	4	0.04 ± 0.01	5	0.15 ± 0.08	7	0.21 ± 0.14
1,4-Cadinadiene	1533	2	tr.	2	tr.	5	0.25 ± 0.05	7	0.23 ± 0.08
α -Cadinene	1533	3	0.09 ± 0.18	1	tr.	5	0.28 ± 0.09	7	0.21 ± 0.09
α -Calacorene	1537	1	tr.	1	tr.	5	0.34 ± 0.18	7	0.23 ± 0.1
cis-Nerolidol	1547	2	tr.	4	tr.	5	0.20 ± 0.15	5	0.11 ± 0.09
β -Calacorene	1562	0	-	0	-	0	-	6	0.68 ± 0.65
Caryophyllene oxyde	1580	0	-	0	-	5	0.17 ± 0.11	7	0.10 ± 0.07
Unknown compound									
<i>Unidentified compound a</i>	832	5	0.05 ± 0.04	4	0.99 ± 0.89	0	-	0	-

RI: Retention index calculated from hydrocarbure standards; O: Occurrence of detected compounds among sampled inflorescences; N: number of inflorescences for which scent was sampled; *: VOC identification confirmed by injection of an authentic compound; tr.: trace compounds (< 0.01%); -: non-detected compounds. Values in bold font indicates compounds > 3% of total.

Table annexe 6 : Composition moyenne relative (% \pm sd) des inflorescences mâles et femelles d'*E. guineensis* d'*E. oleifera* Taisha et des inflorescences femelles d'*E. oleifera* Coari à différents stades de la floraison, incluant les phases de pré-anthèse, anthèse matinale, anthèse crépusculaire et post-anthèse. RI (Retention index) indique l'indice de Kovat du composé, O indique le nombre d'individus chez qui le composé a été détecté, N indique le nombre d'inflorescences échantillonnées, * indique que l'identité du composé a été authentifié par comparaison avec un composé authentique.

																								<i>E. guineensis</i>															
																								Females						Males									
																								pre		anthesis				post		pre		anthesis				post	
																								morning		morning		evening		morning		morning		morning		evening		morning	
																								N = 3		N = 8		N = 4		N = 2		N = 3		N = 6		N = 3		N = 3	
RI	O			O			O		O			O		O			O		O			O																	
Benzenoids																																							
p-Xylene *	900	3	1.66 \pm 1.92	8	0.31 \pm 0.52	4	0.29 \pm 0.36	2	1.62 \pm 0.05	3	1.55 \pm 1.51	6	0.33 \pm 0.55	4	0.11 \pm 0.07	3	23.82 \pm 33.1																						
Anisole	933		-		-		-	1	0.01 \pm 0.01		-	3	0.01 \pm 0.01	1	0.01 \pm 0.01	1	0.16 \pm 0.27																						
Cumene	938	3	0.51 \pm 0.71	7	0.04 \pm 0.06	4	0.01 \pm 0.01	2	0.5 \pm 0.69	3	0.26 \pm 0.18	6	0.01 \pm 0.01	4	0.02 \pm 0.02	3	0.25 \pm 0.04																						
Benzaldehyde *	972	3	5.97 \pm 7.98	8	1.09 \pm 1.89	4	0.3 \pm 0.14	2	1.56 \pm 1.52	3	6.78 \pm 7.03	6	1.14 \pm 1.03	4	1.22 \pm 1.97	3	6.04 \pm 5.12																						
Phenol	993	1	0.82 \pm 1.42	6	0.06 \pm 0.08	2	0.03 \pm 0.05	1	0.1 \pm 0.13	1	0.08 \pm 0.14	3	0.03 \pm 0.04	2	0.1 \pm 0.2	1	0.46 \pm 0.79																						
1,2,3-Trimethylbenzene	998	3	0.77 \pm 1.04	8	0.05 \pm 0.09	4	0.03 \pm 0.01	2	0.42 \pm 0.52	3	0.64 \pm 0.88	6	0.03 \pm 0.02	4	0.04 \pm 0.04	3	0.89 \pm 1.04																						
p-Methylanisole *	1020		-	4	0.01 \pm 0.01		-		-	1	0.04 \pm 0.07	2	0.01 \pm 0.01		-		-																						
Benzyl alcohol *	1038	3	6.52 \pm 8.85	6	0.15 \pm 0.17	4	0.11 \pm 0.08	2	0.25 \pm 0.36	3	3.19 \pm 3.87	6	0.85 \pm 0.88	4	0.25 \pm 0.34	3	5.32 \pm 7.37																						
Acetophenone	1070	3	0.94 \pm 1.01	8	0.09 \pm 0.08	4	0.08 \pm 0.03	2	0.65 \pm 0.84	3	0.47 \pm 0.29	6	0.07 \pm 0.04	3	0.07 \pm 0.08	3	0.68 \pm 0.2																						
p-Vinylanisole	1153	2	0.13 \pm 0.17	6	0.1 \pm 0.08	4	0.21 \pm 0.07	2	0.02 \pm 0.01	2	0.21 \pm 0.34	6	0.32 \pm 0.26	4	0.23 \pm 0.22	3	0.13 \pm 0.11																						
Ethyl Benzoate	1170	2	0.4 \pm 0.53	2	0.01 \pm 0.01	2	0.01 \pm 0.02	1	0.16 \pm 0.23	2	0.24 \pm 0.34	3	0.02 \pm 0.04		-	3	0.41 \pm 0.18																						
Benzoic acid	1174	1	0.02 \pm 0.03	3	0.02 \pm 0.04	1	0.01 \pm 0.01	1	0.1 \pm 0.14	2	0.26 \pm 0.3	3	0.03 \pm 0.04	3	0.01 \pm 0.01	2	0.25 \pm 0.38																						
Estragole *	1210	3	48.69 \pm 38.84	8	78.09 \pm 15.83	4	72 \pm 12.54	2	75.97 \pm 15.85	3	50.22 \pm 39.79	6	54.79 \pm 25.25	4	61.2 \pm 32.2	3	6.3 \pm 5.08																						
(Z)-Anethole	1253	2	1.18 \pm 1.36	8	0.83 \pm 0.55	4	1.29 \pm 0.93	2	0.5 \pm 0.03	2	0.36 \pm 0.37	6	1.87 \pm 1.15	4	1.32 \pm 1.28		-																						
p-Anisaldehyde *	1256	3	0.35 \pm 0.33	8	0.92 \pm 0.65	4	0.74 \pm 0.36	2	0.23 \pm 0.1	2	0.28 \pm 0.31	6	1.24 \pm 0.72	4	1.06 \pm 1.24		-																						
(E)-Anethole *	1288	3	8.99 \pm 11.22	8	8.64 \pm 5.88	4	14.7 \pm 8.71	2	3.84 \pm 0.15	3	3.29 \pm 2.15	6	12.52 \pm 5.33	4	12.83 \pm 12.43	3	0.23 \pm 0.14																						
p-Acetylanisole	1380	1	0.02 \pm 0.03	7	0.07 \pm 0.06	4	0.1 \pm 0.05	1	0.01 \pm 0.01	2	0.01 \pm 0.01	6	0.17 \pm 0.07	4	0.08 \pm 0.05		-																						
2-Allyl-1,4-dimethoxybenzene	1397	1	0.04 \pm 0.06	8	0.17 \pm 0.08	4	0.2 \pm 0.12	2	0.09 \pm 0.01	1	0.04 \pm 0.07	6	1.58 \pm 3.41	4	2.63 \pm 4.82		-																						

Methyleugenol	1404		-		3	0.1	±0.22	2	0.04	±0.07		-		1	0.05	±0.08	6	0.27	±0.17	3	0.11	±0.14		-	
p-Anisic acid	1432	1	0.03	±0.05	6	0.34	±0.4	2	0.19	±0.26	1	0.09	±0.12	1	0.01	±0.02	3	0.41	±0.55	2	0.16	±0.18		-	
p-Methoxypropiophenone	1453	2	0.56	±0.75	8	1.71	±1.46	4	1.84	±0.66	2	0.17	±0.14	2	0.2	±0.2	6	1.75	±1.62	4	0.86	±0.33	1	0.01	±0.01
2,6-Di-tertbutyl-p-Benzoquinone	1460																								
m-Methoxycinnamaldehyde	1509	2	0.97	±1.36	8	3.98	± 3.48	4	3.66	± 1.19	2	0.29	±0.14	2	0.26	±0.36	6	5.68	± 3.86	4	2.32	±1.14	1	0.02	±0.04
3,5-bis(tert-butyl)-4-hydroxypropiophenone	1624	2	0.06	±0.07	6	0.03	±0.07	4	0.03	±0.03	2	0.42	±0.22	3	0.77	±0.77	4	0.01	±0.01	4	0.05	±0.05	3	0.26	±0.31
Benzyl benzoate	1771		-		1	0.01	±0.02	2	0.01	±0.01		-			-			-		2	0.03	±0.05		-	
Homoterpenes																									
Dihydro-β-ionone	1436	2	0.07	±0.11	7	0.02	±0.03	4	0.25	±0.26	2	0.02	±0.02	1	0.29	±0.51	6	0.3	±0.31	4	0.29	±0.18	1	1.74	±3.01
(Z)-Geranylacetone	1451	2	0.36	±0.56	1	0.01	±0.02		-		1	0.16	±0.23	1	0.04	±0.08	1	0.02	±0.05		-		3	0.75	±0.26
Fatty acid derivatives																									
3-methyl-2-pentanone	807	3	1.71	±1.4	6	0.06	±0.06	4	0.09	±0.09	1	1.26	±1.79	3	8.28	± 13.25	6	0.12	±0.1	3	0.07	±0.05	3	1.67	±0.21
3-Heptanone *	904	3	4.98	± 6.3	7	0.3	±0.37	4	0.34	±0.16	2	2.13	±2.72	3	5.76	± 3.34	5	0.65	±0.81	4	0.53	±0.83	3	11.32	± 8.32
Nonane *	916	3	1.76	±2.45	8	0.11	±0.11	3	0.11	±0.08	2	1.27	±1.61	3	1.93	±2.2	6	0.32	±0.24	4	0.32	±0.46	3	3.67	± 1.35
2-Octanol *	999	1	0.01	±0.02	6	0.18	±0.43	2	0.04	±0.06	1	0.32	±0.46	1	0.18	±0.32	2	0.04	±0.08	2	0.15	±0.28		-	
(Z)-3-Henenyl acetate *	1004	3	1.09	±0.74	6	0.08	±0.15	4	0.06	±0.02	1	0.58	±0.82	3	0.61	±0.83	3	0.04	±0.06	3	0.04	±0.03	1	0.33	±0.57
1-Octanol	1069	3	0.89	±1.12	5	0.07	±0.14	2	0.03	±0.04	2	0.6	±0.63	3	0.61	±0.66	4	0.06	±0.07	3	0.11	±0.19	3	2.37	±2.37
Dodecanal	1411	3	0.33	±0.41	6	0.03	±0.05	4	0.02	±0.01	2	0.17	±0.14	3	0.34	±0.46	5	0.02	±0.01	4	0.04	±0.06	3	0.33	±0.23
1-Dodecanol	1477	3	0.26	±0.4	3	0.02	±0.04	1	0.01	±0.02	2	0.11	±0.07	2	0.13	±0.17	1	0.01	±0.01	1	0.04	±0.08	2	0.19	±0.19
(E)-β-Ionone	1482	1	0.01	±0.01	8	0.09	±0.15	4	0.54	±0.39	2	0.01	±0.01	1	0.06	±0.1	6	0.35	±0.48	4	0.23	±0.13	1	0.05	±0.08
Miscellaneous																									
γ-Butyrolactone *	922	3	0.61	±0.52	7	0.06	±0.11	4	0.06	±0.03	2	0.84	±0.63	3	0.23	±0.28	6	0.27	±0.44	4	0.29	±0.45	3	1.31	±2.03
Monoterpenes																									
α-Pinene *	943	3	1.34	±1.94	6	0.03	±0.07	4	0.02	±0.01	2	0.56	±0.75	3	1.12	±1.31	5	0.01	±0.01	4	0.01	±0.01	3	1.33	±1.05
β-Myrcene *	991	1	0.03	±0.06	2	0.01	±0.01		-			-		1	0.05	±0.08	2	0.01	±0.01	2	0.24	±0.47		-	
3-Carene *	1010	2	1.08	±1.77	2	0.01	±0.01	2	0.01	±0.02	1	0.45	±0.64	2	1.02	±1.58	3	0.01	±0.01	2	0.01	±0.01	3	0.67	±0.68
ρ-Cymene *	1025	3	0.22	±0.3	6	0.01	±0.01		-		1	0.12	±0.17	3	0.22	±0.29	6	0.01	±0	3	0.01	±0.01	2	0.5	±0.57
Limonene *	1030	2	2.86	±4.45	5	0.07	±0.11	3	0.2	±0.29	2	2.76	±3.62	3	2.47	±2.85	5	0.12	±0.09	3	0.29	±0.52	3	11.15	± 15.1
Sesquiterpenes																									
α-Cubebene	1348		-			-			-			-		1	0.05	±0.08	3	0.01	±0.02	2	0.02	±0.02		-	
(+)-Cyclosativene *	1370	2	0.05	±0.05	1	0.01	±0.03		-			-		1	0.37	±0.64	2	0.04	±0.07		-		1	0.39	±0.68

α -Copaene *	1377	3	0.06	± 0.05	2	0.01	± 0.01	-	1	0.02	± 0.03	3	0.28	± 0.32	3	0.09	± 0.11	2	0.08	± 0.1	2	0.38	± 0.54		
β -Cubebene	1380		-			-		-		-		1	0.06	± 0.11	2	0.21	± 0.49	1	0.04	± 0.08		-			
β -Elemene	1384		-		1	0.02	± 0.06	1	0.02	± 0.05		1	0.44	± 0.77	3	4.57	± 6.92	3	2.45	± 4.53		-			
α -Gurjunene *	1405	3	1.3	± 1.88	4	0.03	± 0.04	4	0.09	± 0.06	2	0.33	± 0.41	3	1.71	± 2.38	4	0.13	± 0.14	3	0.12	± 0.08	3	4.98	± 6.64
<i>Unidentified sesquiterpene c</i>	1407	1	0.22	± 0.38	2	0.38	± 0.79	2	0.84	± 1	1	0.04	± 0.05	1	0.07	± 0.13	4	0.71	± 0.79	2	0.33	± 0.46		-	
β -Caryophyllene *	1412		-		3	0.03	± 0.05	2	0.07	± 0.1		1	0.12	± 0.21	6	0.13	± 0.12	3	0.08	± 0.06	1	2.98	± 5.16		
Aromadendrene *	1463		-			-		2	0.02	± 0.04		1	0.01	± 0.03	3	0.05	± 0.07	2	0.09	± 0.11		-			
(Z,E)- α -Farnesene	1490	1	0.04	± 0.06	6	0.1	± 0.08	3	0.17	± 0.24		1	0.03	± 0.04	5	0.42	± 0.54	2	0.39	± 0.5	1	0.1	± 0.18		
Rotundene	1463	2	0.62	± 0.98	4	0.01	± 0.02	2	0.03	± 0.05	1	0.08	± 0.11	2	0.44	± 0.68	6	0.07	± 0.06	4	0.05	± 0.03	1	0.94	± 1.62
γ -Gurjunene	1475		-		1	0.01	± 0.03		-				-		3	0.52	± 1.14	2	0.16	± 0.3		-			
γ -Muurolene	1476		-		2	0.01	± 0.02	2	0.04	± 0.06		1	0.03	± 0.05	3	0.26	± 0.49	2	0.57	± 1.09	1	0.37	± 0.64		
α -Curcumene	1481		-			-			-				-			-			-		1	0.05	± 0.08		
(Z,E)- α -Farnesene	1490		-			-			1	0.02	± 0.03		-		1	0.01	± 0.02	1	0.02	± 0.04		-			
α -Selinene	1490	1	0.01	± 0.02	3	0.02	± 0.04	2	0.01	± 0.01		1	0.23	± 0.4	5	3.28	± 4.58	3	4.22	± 6.47	2	0.37	± 0.33		
Valencene	1493	2	0.08	± 0.08	2	0.02	± 0.04	2	0.03	± 0.03	1	0.01	± 0.01	1	0.2	± 0.35	2	0.17	± 0.36	1	0.02	± 0.04		-	
Bicyclogermacrene	1497	1	0.12	± 0.2	1	0.01	± 0.02		-			2	0.87	± 0.91	2	1.29	± 2.73	2	2.81	± 5.55	1	2.19	± 3.8		
(E,E)- α -Farnesene	1504	2	0.27	± 0.4	5	0.03	± 0.04	3	0.04	± 0.03	2	0.09	± 0.05	2	0.33	± 0.43	5	0.31	± 0.37	4	0.22	± 0.17	2	0.77	± 1.17
<i>Unidentified sesquiterpene d</i>	1505	1	0.01	± 0.02	2	0.02	± 0.04	2	0.01	± 0.01		1	0.01	± 0.02	5	0.2	± 0.35		-			-			
δ -Cadinene *	1519	2	0.1	± 0.16		-		2	0.02	± 0.03		2	0.11	± 0.1	3	0.06	± 0.12	2	0.12	± 0.21	1	0.08	± 0.14		
(E)-Calamenene	1521	1	0.02	± 0.03	3	0.01	± 0.01		-			2	0.02	± 0.02	4	0.01	± 0.01	3	0.01	± 0.01	2	0.11	± 0.18		
α -Calacorene	1537		-			-			-			1	0.01	± 0.01	5	0.02	± 0.04		-		1	0.04	± 0.08		
(Z)-Nerolidol	1547		-			-			-				-		4	0.13	± 0.13	4	0.07	± 0.09		-			
(Z)-Nerolidol	1547		-			-			-				-		2	0.05	± 0.07	1	0.02	± 0.03		-			
Caryophyllene oxide	1580		-			-			-			2	0.04	± 0.07		-			-		1	0.13	± 0.23		
Unknown compounds																									
<i>Unidentified compound a</i>	832	1	0.05	± 0.08	6	0.79	± 0.83	2	0.56	± 0.71	1	0.14	± 0.2		-	3	1.11	± 1.54	2	0.41	± 0.48		-		
<i>Unidentified compound b</i>	1423	1	0.15	± 0.25	8	0.15	± 0.15	4	0.23	± 0.15	1	0.02	± 0.04	1	0.7	± 1.21	6	0.34	± 0.21	4	0.1	± 0.1	1	0.35	± 0.6
<i>Unidentified compound c</i>	1650	1	0.01	± 0.02	4	0.02	± 0.04	2	0.02	± 0.02	1	0.02	± 0.03	1	0.05	± 0.08		-			-		-		

(E)-Anethole *	1288	-	4	5.17	± 1.22	6	4.4	± 1.52	3	1.25	± 0.62		
p-Methoxypropiophenone	1453	-	2	0.06	± 0.08		-			-			
2,6-Di-tertbutyl-p-Benzoquinone	1460	2	8.05	± 0.13	3	0.74	±1.1	6	0.62	±0.6	3	1.45	± 1.08
m-Methoxycinnamaldehyde	1509	-	3	0.13	± 0.14	1	0.02	± 0.04				-	
3,5-bis(tert-butyl)-4-hydroxypropiophenone	1624	2	5.62	± 0.12	4	0.84	± 0.63	6	1.12	± 0.83	3	4.18	± 3.26
Homoterpenes													
(Z)-Geranylacetone	1451	1	0.16	± 0.22		-		2	0.12	±0.2	2	0.87	± 0.89
Fatty acid derivatives													
3-methyl-2-pentanone	807	2	2.9	± 1.43	4	0.33	± 0.22	5	0.36	± 0.26	1	0.06	± 0.1
3-Heptanone *	904	2	8.82	±7.4	4	0.99	± 1.14	5	3.49	± 3.28	3	7.39	± 4.98
Nonane *	916	1	0.52	± 0.74	3	1.6	± 1.79	5	1.44	± 1.62	2	0.47	± 0.57
2-Octanol *	999	2	2.73	± 2.64	4	0.76	± 1.19	5	0.31	±0.3	2	4.41	± 7.25
(Z)-3-Henenyl acetate *	1004	-			1	0.01	± 0.02	2	0.16	± 0.27	3	0.56	± 0.47
1-Octanol	1069	-			1	0.01	± 0.02	4	0.21	± 0.25		-	
Dodecanal	1411	2	0.35	±0.1	3	0.16	± 0.11	5	0.24	± 0.21	3	0.93	± 0.67
Miscellaneous													
γ-Butyrolactone *	922	2	2.78	± 3.41	4	1.75	±2.9	3	0.48	± 0.66	3	3.78	± 5.47
Monoterpenes													
α-Pinene *	943	2	0.95	± 0.15	3	0.06	± 0.06	5	0.25	± 0.22	3	4.86	± 6.17
β-Myrcene *	991	1	0.28	±0.4	3	0.15	± 0.11	6	0.47	± 0.22		-	
3-Carene *	1010	2	0.29	± 0.12	2	0.02	± 0.03	3	0.04	± 0.06	3	0.79	± 0.93
p-Cymene *	1025	2	1.98	± 1.08	3	0.17	± 0.12	6	0.36	± 0.28	3	0.7	± 0.16
Limonene *	1030	2	2.69	± 0.57	4	0.35	± 0.27	6	0.6	± 0.34	2	3.58	± 4.42
N-containing compounds													
2-Isopropyl-3-methoxypyrazine *	1087	2	0.73	±0.2	4	7.07	±5.6	6	6.57	± 5.51	3	5.95	± 0.71
2-isobutyl-3-methoxypyrazine *	1176	2	0.35	±0.1	4	12.63	± 4.56	6	16.15	± 7.91	3	7.98	± 0.56
Sesquiterpenes													
<i>Unidentified sesquiterpene a</i>	1346	-			2	0.19	± 0.37		-			-	
α-Cubebene	1348	2	0.21	± 0.13	4	0.06	± 0.05	5	0.5	± 0.89	2	0.25	± 0.23
(+)-Cyclosativene *	1370	2	13.72	±6.2	4	2.89	± 2.58	6	5.4	± 5.25	3	18.33	±12.41
α-Copaene *	1377	2	2.66	± 0.16	4	0.84	± 0.44	6	1.36	± 0.75	3	2	± 0.44
β-Bourbonene	1377	-			1	0.09	± 0.17		-			-	

β -Cubebene	1380	-		1	0.02	± 0.03	2	0.04	± 0.07	2	0.1	± 0.1	
β -Elemene	1384	-		1	0.09	± 0.18	4	0.22	± 0.26	1	0.3	± 0.53	
<i>Unidentified sesquiterpene b</i>	1389	-		3	0.07	± 0.07	3	0.11	± 0.15		-		
α -Gurjunene *	1405	-			-			-		1	0.09	± 0.16	
<i>Unidentified sesquiterpene c</i>	1407	-		2	0.02	± 0.02	2	0.04	± 0.06		-		
β -Caryophyllene *	1412	-		2	0.05	± 0.06	1	0.02	± 0.05		-		
β -Copaene	1431	2	0.21	± 0.2	1	0.04	± 0.08	4	0.12	± 0.14	2	0.26	± 0.27
Aromadendrene *	1463	-			-			-		1	0.07	± 0.12	
α -Humulene *	1457	-		1	0.16	± 0.31		-			-		
Alloaromadendrene	1463	-		1	0.13	± 0.27	5	0.32	± 0.32	2	0.35	± 0.32	
γ -Muurolene	1476	2	2.01	± 0.87	1	0.19	± 0.37	3	0.4	± 0.56	2	1.03	± 1.03
α -Curcumene	1481	-		3	0.06	± 0.05	4	0.15	± 0.16	1	0.08	± 0.15	
Germacrene D *	1481	1	0.13	± 0.19	2	0.07	± 0.13	4	0.32	± 0.39	1	0.2	± 0.35
α -Selinene	1490	2	1.24	± 0.19	2	0.21	± 0.34	3	0.31	± 0.56	2	0.6	± 0.57
Valencene	1493	1	0.02	± 0.03	1	0.01	± 0.01	4	0.03	± 0.04	2	0.07	± 0.1
Bicyclogermacrene	1497	-			-		1	0.26	± 0.63		-		
α -Muurolene	1499	2	2.99	± 1.51	3	0.34	± 0.64	6	0.5	± 0.53	3	1.64	± 1.07
γ -Cadinene	1514	-		3	0.02	± 0.01	5	0.07	± 0.11	1	0.05	± 0.09	
δ -Cadinene *	1519	2	0.65	± 0.42	4	0.15	± 0.16	6	0.35	± 0.27	2	0.76	± 0.79
(E)-Calamenene	1521	2	0.18	± 0.15	4	0.04	± 0.03	6	0.16	± 0.11	3	0.44	± 0.13
1,4-Cadinadiene	1533	-			-		2	0.01	± 0.01		-		
α -Cadinene	1533	-			-		3	0.07	± 0.17		-		
α -Calacorene	1537	-			-		2	0.01	± 0.02		-		
β -Calacorene	1562	1	0.03	± 0.04	3	0.01	± 0.01	3	0.01	± 0.02	1	0.01	± 0.02
Unknown compounds													
<i>Unidentified compound c</i>	1650	2	0.54	± 0.37	4	0.23	± 0.21	5	0.54	± 0.89	3	0.31	± 0.23

Table annexe 7 : Caractéristiques des espèces de palmiers, et d'un croisement hybride interspécifique ayant servi à l'échantillonnage des odeurs florales.

« Odeurs florales » indiquent le nombre d'inflorescences échantillonnées pour chaque type de palmier, en prenant en compte le sexe

Reference	Matériel	Année semis	de Code croisement			Origine père	Origine mère	Odeurs florales	
			Echantillon	Mère	Père			Mâles	Femelles
Eg	<i>E. guineensis</i> La Mé	2008	C 0731	BA 128 D	LM 290 P	Deli	La Mé	9	11
EoC	<i>E. oleifera</i> Coari	2011	-	-	-	Coari	Coari	-	10
EoT	<i>E. oleifera</i> Taisha	2002	-	-	-	Taisha	Taisha	9	8
HA	Hybride <i>Eo</i> Coari x <i>Eg</i> La Mé	2008	TT 1875	TT 33 D	LM 14002 P	Coari	La Mé	5	10
HTL	Hybride <i>Eo</i> Taisha x <i>Eg</i> La Mé	Information manquante				Taisha	La Mé	-	2
HTY	Hybride <i>Eo</i> Taisha x <i>Eg</i> Yangambi	Information manquante				Taisha	Yangambi	-	2

Table annexe 8 : Croisements hybrides Eo Coari x Eg La Mé dont les odeurs florales femelles ont été échantillonnées. Chaque croisement est résumé par un code. « Année semis » et « Parcelle » indique respectivement la date de semis des palmiers et leur localisation dans la plantation Palmeras del Ecuador. Chaque croisement hybride est référencé par un « Code », et par celui de son géniteur paternel (« Père ») et maternel (« Mère »), dont l' « Origine » respective est également indiquée. Pour chaque hybride, l'évaluation de l'attractivité pour les insectes pollinisateurs *E. kamerunicus* et *G. hybridus* a été déterminée en fonction du nombre de captures sur deux sessions de piégeage à interception, et est représentée par un indice de capture : - aucune capture, + captures faibles (<30 insectes par piège), ++ captures moyennes (de 30 à 100 insectes par piège), +++ > 100 insectes par piège. « Odeurs florales » indiquent le nombre d'inflorescences échantillonnées pour chaque croisement.

Ref.	Année semis	Parcelle	Code	Mère	Père	Descendance	Origine mère	Origine père	Attractivité insectes		Odeurs florales
									<i>E. kamerunicus</i>	<i>G. hybridus</i>	
H1	2007	H05B	TT 1351	TT 62 D	LM 12633 P	LM 12045	COARI Quininde	LM 2 T AF	-	+	3
H2	2009	E06D	TT 2213	TT 22 D	LM 14033 P	LM 16452	COARI Quininde	LM 2 T AF	+	+	2
H3	2009	E06D	TT 2206	TT 90 D	LM 13539 P	LM 7232	COARI Quininde	LM 2 T AF	-	++	3
H4	2009	D06C	TT 2071	TT 95 D	LM 14002 P	LM 16452	COARI Quininde	LM 2 T AF	-	+	3
H5	2009	D06C	TT 2075	TT 16 D	LM 2270 P	LM 722	COARI Quininde	LM 2 T AF	+	+++	3
H6	2007	H05B	TT 1363	TT 66 D	LM 12669 P	LM 12045	COARI Quininde	LM 2 T AF	+++	+	3
H7	2009	G06A	TT 2192	TT 18 D	LM 13539 P	LM 7232	COARI Quininde	LM 2 T AF	+++	+++	3
H8	2009	G06A	TT 2179	TT 107 D	LM 12989 P	LM 9344	COARI Quininde	LM 2 T AF	-	-	3
H9	2011	Z05B	SA 3328	SA255D	LM4397P	LM 2764	COARI Indupalma	LM 10 T AF	-	-	3

Table annexe 9: Composition moyenne relative des composés volatils (% \pm sd) des inflorescences mâles et femelles en anthèse d'*E. guineensis*, d'*E. oleifera* Taisha, d'*E. oleifera* Coari, des hybrides Coari x La Mé, des hybrides Taisha x La Mé et des hybrides Taisha x Yangambi. RI (Retention index) indique l'indice de Kovat du composé, O indique le nombre d'individus chez qui le composé a été détecté, N indique le nombre d'inflorescences échantillonnées, * indique que l'identité du composé a été authentifiée par comparaison avec un composé authentique. Les nombres en gras correspondent aux composés volatils dont la proportion est supérieure à 3%.

	RI	<i>E. guineensis</i>				<i>E. oleifera</i> Coari		<i>E. oleifera</i> Taisha				Hybride Coari x La Mé				Hybride Taisha x La Mé		Hybride Taisha x Yangambi										
		Females		Males		Females	Females	Males		Females	Males		Females	Males		Females	Females											
		N = 11		N = 9		N = 10	N = 8		N = 9		N = 36		N = 5		N = 2		N = 2											
		O		O		O	O	O		O		O	O	O		O												
Benzenoids																												
p-Xylene *	900	11	0.33	\pm 0.47	9	0.26	\pm 0.45	10	3.95	\pm 4.86	8	0.46	\pm 0.59	9	0.44	\pm 0.45	36	1.07	\pm 1.54	5	0.14	\pm 0.13	2	4.52	\pm 2.37	2	6.23	\pm 3.95
Anisole	933	-			3	0.01	\pm 0.01	-	-		-			-			21	0.01	\pm 0.01	2	0.01	\pm 0.01	1	0.01	\pm 0.01	1	0.01	\pm 0.02
Cumene	938	10	0.03	\pm 0.05	9	0.01	\pm 0.01	9	0.41	\pm 0.68	8	0.02	\pm 0.02	9	0.02	\pm 0.03	28	0.01	\pm 0.04	4	0.01	\pm 0	2	0.09	\pm 0.1	2	0.07	\pm 0.04
Benzaldehyde *	972	11	0.38	\pm 0.34	9	1.21	\pm 1.46	10	1.39	\pm 1.11	8	1.01	\pm 0.95	9	0.71	\pm 0.67	36	1.48	\pm 1.71	5	0.58	\pm 0.43	2	0.61	\pm 0.28	2	0.74	\pm 0.24
Phenol	993	7	0.05	\pm 0.08	4	0.06	\pm 0.13	9	0.34	\pm 0.4	-			2	0.03	\pm 0.09	20	0.12	\pm 0.15	-			-			-		
1,2,3-Trimethylbenzene	998	11	0.04	\pm 0.07	9	0.04	\pm 0.03	10	0.32	\pm 0.29	4	0.06	\pm 0.12	7	0.05	\pm 0.06	35	0.07	\pm 0.09	5	0.04	\pm 0.03	2	0.38	\pm 0.32	2	0.36	\pm 0.26
p-Methylanisole *	1020	4	0.01	\pm 0.01	-			10	1.05	\pm 0.81	5	0.56	\pm 1.52	9	0.44	\pm 0.32	-			3	0.03	\pm 0.03	-			-		-
Benzyl alcohol *	1038	9	0.1	\pm 0.08	9	0.44	\pm 0.56	6	0.9	\pm 1.85	7	2.45	\pm 2.03	8	1.43	\pm 1.4	34	3.05	\pm 4.02	4	0.22	\pm 0.37	1	0.03	\pm 0.05	2	0.08	\pm 0.02
Acetophenone	1070	11	0.09	\pm 0.07	8	0.06	\pm 0.06	9	0.21	\pm 0.14	8	0.12	\pm 0.1	9	0.06	\pm 0.08	32	0.08	\pm 0.12	4	0.06	\pm 0.06	2	0.25	\pm 0.1	2	0.38	\pm 0.21
Methyl Benzoate *	1095	-			1	0.04	\pm 0.13	2	0.19	\pm 0.59	4	0.46	\pm 1.14	9	1.17	\pm 1.18	-			-			-			-		-
Veratrole	1148	-			-			-			3	0.13	\pm 0.32	9	0.61	\pm 0.66	-			1	0.01	\pm 0.03	-			-		-
p-Vinylanisole	1153	9	0.13	\pm 0.09	9	0.23	\pm 0.18	3	0.01	\pm 0.02	-			-			33	0.15	\pm 0.13	5	0.17	\pm 0.13	1	0.07	\pm 0.1	1	0.1	\pm 0.14
Ethyl Benzoate	1170	3	0.01	\pm 0.01	4	0.02	\pm 0.03	4	0.03	\pm 0.05	2	0.02	\pm 0.06	-			12	0.01	\pm 0.02	2	0.06	\pm 0.12	-			2	0.02	\pm 0.02
Benzoic acid	1174	4	0.02	\pm 0.03	5	0.02	\pm 0.03	-			-			2	0.04	\pm 0.09	-			1	0.04	\pm 0.1	1	0.22	\pm 0.31	1	0.25	\pm 0.35
Methyl Salicylate	1194	-			-			-			5	0.19	\pm 0.29	9	0.47	\pm 0.7	-			-			-			-		-
Estragole *	1210	11	76.34	\pm 15.2	9	61.59	\pm 24.6	10	45.71	\pm 17.04	8	3.49	\pm 2.39	9	0.77	\pm 0.99	36	65.7	\pm 18.47	5	70.04	\pm 14.35	2	49.59	\pm 21.4	2	48.98	\pm 4.97
(Z)-Anethole	1253	11	1.03	\pm 0.71	9	1.49	\pm 1.12	9	0.68	\pm 0.37	5	0.06	\pm 0.07	-			36	1.5	\pm 0.87	5	2.16	\pm 1.41	2	0.99	\pm 0.12	2	1.56	\pm 0.83
p-Anisaldehyde *	1256	11	0.8	\pm 0.54	9	1.15	\pm 0.95	3	0.15	\pm 0.39	4	0.03	\pm 0.04	4	0.03	\pm 0.06	35	0.76	\pm 0.49	5	0.52	\pm 0.25	2	0.4	\pm 0.38	2	0.22	\pm 0.14
(E)-Anethole *	1288	11	11.1	\pm 7.38	9	12.41	\pm 8.67	10	4.72	\pm 1.4	7	1.48	\pm 2.29	6	0.11	\pm 0.19	36	13.9	\pm 8.54	5	14.03	\pm 6.27	2	16.06	\pm 12.64	2	13.73	\pm 11.78
p-Acetonylanisole	1380	10	0.08	\pm 0.05	9	0.12	\pm 0.07	-			-			-			31	0.08	\pm 0.07	4	0.04	\pm 0.04	-			-		-
2-Allyl-1,4,-dimethoxybenzene	1397	11	0.18	\pm 0.1	9	2.22	\pm 3.98	-			-			-			27	0.17	\pm 0.19	5	0.2	\pm 0.13	-			-		-
Methyleugenol	1404	4	0.08	\pm 0.19	8	0.22	\pm 0.18	-			-			-			30	2.88	\pm 3.84	5	0.84	\pm 0.68	1	0.04	\pm 0.05	-		-
p-Anisic acid	1432	7	0.27	\pm 0.36	4	0.27	\pm 0.45	-			-			1	0.36	\pm 1.07	9	0.05	\pm 0.11	5	0.21	\pm 0.14	1	0.08	\pm 0.12	-		-

ρ-Methoxypropiophenone	1453	11	1.76	± 1.28	9	1	± 0.46	2	0.02	± 0.06	-	-	-	35	1.37	± 1.03	5	1.28	± 0.94	2	0.37	± 0.23	2	0.57	± 0.55				
2,6-Di-tertbutyl-ρ-Benzoquinone	1460	8	0.29	± 0.56	8	0.09	± 0.16	9	0.67	± 0.78	2	0.54	± 1.31	2	0.18	± 0.52	36	0.46	± 0.61	4	1.06	± 1.44	2	1.6	± 1.14	2	2.21	± 1.77	
m-Methoxycinnamaldehyde	1509	11	3.69	± 2.92	9	3.56	± 2.53	4	0.06	± 0.1	-	-	-	1	0.01	± 0.02	35	2.42	± 2.52	5	1.96	± 1.88	2	1.49	± 1.47	2	1.48	± 1.48	
3,5-bis(tert-butyl)-4-hydroxypropiophenone	1624	10	0.03	± 0.06	8	0.03	± 0.04	10	1.02	± 0.74	5	0.09	± 0.19	6	0.07	± 0.1	33	0.1	± 0.15	5	0.72	± 1.05	2	0.14	± 0.05	2	0.19	± 0.01	
Benzyl benzoate	1771	3	0.01	± 0.02	3	0.02	± 0.04	-	-	-	2	0.08	± 0.21	8	0.41	± 0.54	15	0.03	± 0.11	-	-	-	1	0.01	± 0.01	-	-	-	
Homoterpenes																													
Dihydro-β-ionone	1436	10	0.11	± 0.18	9	0.23	± 0.14	-	-	-	-	-	-	33	0.18	± 0.26	5	0.13	± 0.08	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
(Z)-Geranylacetone	1451	-	-	-	1	0.01	± 0.04	2	0.07	± 0.16	2	0.13	± 0.29	4	0.06	± 0.08	21	0.03	± 0.03	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fatty acid derivatives																													
3-Heptanone *	904	11	0.34	± 0.3	9	0.67	± 0.79	9	2.5	± 2.85	8	0.46	± 0.34	8	0.24	± 0.27	36	0.61	± 0.65	5	0.53	± 0.39	1	0.11	± 0.16	1	0.13	± 0.19	
Nonane *	916	10	0.1	± 0.1	9	0.33	± 0.34	8	1.51	± 1.6	6	0.3	± 0.56	5	0.09	± 0.1	36	0.15	± 0.16	4	0.13	± 0.12	2	1.69	± 1.28	2	1.37	± 1.02	
2-Octanol *	999	7	0.14	± 0.37	4	0.09	± 0.19	9	0.49	± 0.76	-	-	-	1	0.01	± 0.02	8	0.09	± 0.26	4	0.18	± 0.18	2	0.17	± 0.03	2	0.25	± 0.1	
(Z)-3-Heneny acetate *	1004	10	0.08	± 0.12	6	0.05	± 0.05	3	0.1	± 0.21	5	0.23	± 0.56	4	0.04	± 0.06	13	0.01	± 0.02	2	0.03	± 0.05	-	-	-	-	-	-	-
1-Octanol	1069	7	0.06	± 0.12	7	0.09	± 0.13	5	0.13	± 0.21	7	0.07	± 0.1	8	0.05	± 0.07	31	0.07	± 0.06	2	0.11	± 0.17	2	0.15	± 0.05	2	0.49	± 0.32	
Dodecanal	1411	10	0.03	± 0.04	9	0.03	± 0.04	8	0.21	± 0.18	1	0.04	± 0.11	-	-	-	30	0.05	± 0.07	5	0.1	± 0.1	-	-	-	-	-	-	
1-Dodecanol	1477	3	0.01	± 0.02	2	0.02	± 0.05	-	-	-	1	0.05	± 0.13	-	-	-	6	0.01	± 0.02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
(E)-β-Ionone	1482	11	0.25	± 0.33	9	0.19	± 0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	29	0.2	± 0.32	5	0.1	± 0.07	1	0.1	± 0.14	-	-	-	
Miscellaneous																													
γ-Butyrolactone *	922	11	0.06	± 0.09	9	0.31	± 0.44	7	0.99	± 1.87	6	0.1	± 0.21	9	0.75	± 1.68	36	0.16	± 0.27	5	0.38	± 0.52	2	0.36	± 0.32	2	7.54	± 10.01	
Monoterpenes																													
α-Pinene *	943	10	0.03	± 0.06	8	0.01	± 0.01	8	0.17	± 0.2	5	0.1	± 0.17	7	0.04	± 0.06	34	0.03	± 0.06	5	0.04	± 0.06	1	0.01	± 0.01	1	0.03	± 0.04	
β-Myrcene *	991	-	-	-	3	0.11	± 0.31	9	0.34	± 0.24	3	0.04	± 0.09	3	0.02	± 0.03	5	0.01	± 0.01	4	0.02	± 0.02	2	0.11	± 0.02	2	0.12	± 0.1	
3-Carene *	1010	4	0.01	± 0.01	5	0.01	± 0.01	5	0.03	± 0.05	6	0.08	± 0.2	6	0.03	± 0.06	-	-	-	4	0.01	± 0.01	-	-	-	-	-	-	
ρ-Cymene *	1025	-	-	-	8	0.01	± 0.01	9	0.29	± 0.24	5	0.04	± 0.05	7	0.02	± 0.03	23	0.01	± 0.01	4	0.01	± 0.01	2	0.03	± 0.02	2	0.04	± 0.03	
Limonene *	1030	7	0.1	± 0.19	7	0.18	± 0.34	10	0.5	± 0.32	5	1.22	± 2.37	6	0.35	± 0.5	24	0.11	± 0.19	4	0.07	± 0.06	2	0.34	± 0.04	2	0.47	± 0.35	
N-containing compounds																													
2-Isopropyl-3-methoxypyrazine *	1087	-	-	-	-	-	-	10	6.8	± 5.26	7	4.65	± 4.13	9	5	± 3.1	34	0.05	± 0.04	5	0.18	± 0.06	2	0.03	± 0.02	2	0.06	± 0.04	
2-isobutyl-3-methoxypyrazine *	1176	-	-	-	-	-	-	10	14.8	± 6.76	8	23.67	± 6.58	9	21.66	± 3.87	36	0.71	± 0.51	5	1.19	± 0.43	2	0.37	± 0.08	2	0.67	± 0.04	
Sesquiterpenes																													
δ-Elemene	1339	-	-	-	-	-	-	-	5	0.21	± 0.2	5	0.14	± 0.14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Unidentified sesquiterpene a	1346	-	-	-	-	-	-	2	0.08	± 0.23	8	0.08	± 0.05	9	0.08	± 0.06	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
α-Cubebene	1348	-	-	-	4	0.01	± 0.02	9	0.33	± 0.7	8	1.7	± 0.69	8	2.16	± 1.08	-	-	-	2	0.44	± 0.37	2	0.28	± 0.34	-	-	-	
(+)-Cyclosativene *	1370	1	0.01	± 0.02	2	0.03	± 0.06	10	4.41	± 4.4	8	18.43	± 5.91	9	21.88	± 3.31	9	0.01	± 0.04	3	0.06	± 0.06	2	6.06	± 1.72	2	4.78	± 3	
α-Copaene *	1377	-	-	-	4	0.06	± 0.08	10	1.15	± 0.68	8	13.86	± 2.53	9	16.75	± 3.15	20	0.02	± 0.03	5	0.34	± 0.22	2	4.04	± 1.85	2	2.81	± 1.8	
β-Cubebene	1380	-	-	-	2	0.02	± 0.05	3	0.03	± 0.06	5	0.67	± 1.03	6	0.96	± 1.16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
β-Elemene	1384	1	0.01	± 0.03	5	2.61	± 5.01	5	0.17	± 0.23	6	1.22	± 1.14	5	0.8	± 1.14	13	0.04	± 0.08	-	-	-	1	0.04	± 0.05	-	-	-	
α-Gurjunene *	1405	8	0.05	± 0.06	6	0.1	± 0.08	-	-	-	8	1.55	± 0.85	9	1.73	± 0.69	22	0.07	± 0.12	5	0.35	± 0.16	2	0.61	± 0.11	1	0.28	± 0.4	
Unidentified sesquiterpene c	1412	4	0.58	± 0.88	5	0.59	± 0.71	4	0.03	± 0.05	-	-	-	-	-	-	28	0.89	± 0.86	-	-	-	1	0.18	± 0.26	1	0.06	± 0.08	
β-Caryophyllene *	1431	4	0.04	± 0.07	8	0.08	± 0.05	3	0.03	± 0.05	8	3.03	± 1.23	8	2.92	± 1.39	22	0.04	± 0.11	-	-	-	1	0.13	± 0.18	1	0.36	± 0.51	
Z-β-Farnesene	1453	8	0.11	± 0.15	6	0.43	± 0.52	-	-	-	-	-	-	-	-	-	18	0.15	± 0.42	-	-	-	2	1.04	± 1.12	-	-	-	
α-Humulene *	1457	-	-	-	1	0.06	± 0.2	8	0.4	± 0.23	9	0.42	± 0.18	-	-	-	-	-	-	1	0.07	± 0.1	1	0.03	± 0.05	-	-	-	
β-Copaene	1463	-	-	-	5	0.09	± 0.12	8	0.35	± 0.21	9	0.34	± 0.12	-	-	-	-	-	-	1	0.08	± 0.11	1	0.05	± 0.08	-	-	-	
Aromadendrene *	1463	4	0.01	± 0.02	5	0.07	± 0.08	-	-	-	7	0.26	± 0.22	8	0.23	± 0.15	-	-	-	-	-	-	-	1	0.01	± 0.02	-	-	
Rotundene	1463	5	0.01	± 0.03	9	0.05	± 0.02	-	-	-	-	-	-	1	0.01	± 0.02	17	0.02	± 0.04	3	0.04	± 0.05	-	-	-	-	-	-	
Alloaromadendrene	1463	-	-	-	6	0.25	± 0.3	8	1.66	± 0.55	9	1.75	± 1.03	-	-	-	-	-	-	1	0.71	± 1	1	0.63	± 0.9	-	-	-	
γ-Gurjunene	1475	-	-	-	4	0.1	± 0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4	0.15	± 0.12	-	-	-	-	-	-	
γ-Murolene	1476	4	0.02	± 0.04	5	0.43	± 0.78	4	0.31	± 0.49	7	1.33	± 0.81	9	1.46	± 0.63	23	0.07	± 0.09	1	0.01	± 0.03	1	0.45	± 0.63	-	-	-	
α-Curcumene	1481	-	-	-	7	0.12	± 0.13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Germacrene D *	1481	-	-	-	6	0.22	± 0.33	8	4.34	± 3.2	8	3.89	± 4	-	-	-	-	-	-	1	0.03	± 0.05	1	0.15	± 0.21	-	-	-	
(Z,E)-α-Farnesene	1490	-	-	-	2	0.01	± 0.03	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

α -Selinene	1490	-		7	2.86	± 4.68	5	0.27	± 0.46	5	0.47	± 0.61	8	0.35	± 0.24	26	0.04	± 0.05	1	0.01	± 0.01	2	2.23	± 2.3	1	0.06	± 0.09	
Valencene	1493	4	0.02	± 0.04	3	0.12	± 0.3	5	0.02	± 0.03	2	0.04	± 0.08	4	0.11	± 0.16	17	0.06	± 0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	
Bicyclogermacrene	1497	1	0.01	± 0.02	4	2.11	± 4.06	1	0.16	± 0.49	2	0.41	± 0.77	6	0.68	± 0.87	6	0.03	± 0.09	4	0.09	± 0.11	-	-	-	-	-	
α -Muurolole	1499	-		-			9	0.44	± 0.55	5	0.55	± 0.68	6	0.56	± 0.52	-	-	-	-	-	-	-	-	2	0.13	± 0.11		
(E,E)- α -Farnesene	1504	7	0.03	± 0.03	9	0.31	± 0.29	-	-	-	1	0.01	± 0.03	-	-	-	22	0.03	± 0.03	-	-	1	0.18	± 0.26	-	-		
Unidentified.sesquiterpene.5		4	0.02	± 0.03	5	0.03	± 0.04	-	-	-	-	-	-	-	-	-	30	0.03	± 0.03	5	0.05	± 0.04	-	-	-	-		
γ -Cadinene	1514	-			1	0.01	± 0.02	8	0.05	± 0.08	8	0.62	± 0.47	9	0.55	± 0.22	-	-	-	-	-	2	0.17	± 0.18	2	0.11	± 0.12	
δ -Cadinene *	1519	4	0.01	± 0.02	5	0.09	± 0.16	10	0.27	± 0.25	8	4.9	± 3.54	9	4.28	± 2.4	30	0.04	± 0.04	5	0.06	± 0.05	2	1.6	± 1.78	2	0.85	± 1.01
(E)-Calamenene	1521	-			6	0.01	± 0.01	10	0.11	± 0.1	8	0.16	± 0.06	9	0.25	± 0.14	25	0.01	± 0.01	-	-	2	0.06	± 0.02	2	0.06	± 0.04	
1,4-Cadinadiene	1533	-			-			4	0.01	± 0.01	8	0.2	± 0.1	9	0.23	± 0.07	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
α -Cadinene	1533	-			-			4	0.04	± 0.13	7	0.19	± 0.14	9	0.18	± 0.09	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
α -Calacorene	1537	-			-			2	0.01	± 0.02	8	0.31	± 0.14	9	0.37	± 0.29	-	-	-	-	-	2	0.15	± 0.14	2	0.13	± 0.08	
β -Calacorene	1562	-			-			6	0.01	± 0.01	8	0.18	± 0.12	7	0.2	± 0.21	-	-	-	-	-	2	0.12	± 0.14	2	0.06	± 0.06	
(E)-Nerolidol	1565	-			2	0.02	± 0.05	-	-	-	1	0.09	± 0.26	8	0.51	± 0.65	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
Caryophyllene oxyde	1580	-			-			-	-	-	8	0.21	± 0.12	9	0.12	± 0.09	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
Unknown compounds																												
<i>Unidentified compound a</i>	832	7	0.67	± 0.79	4	0.49	± 0.66	-	-	-	-	-	-	-	-	8	0.26	± 0.67	4	1.03	± 1.08	1	0.28	± 0.4	-	-		
<i>Unidentified compound b</i>	1423	11	0.18	± 0.15	9	0.2	± 0.16	-	-	-	1	0.06	± 0.19	30	0.19	± 0.18	4	0.03	± 0.03	-	-	-	-	-	-	-		
<i>Unidentified compound c</i>	1650	6	0.02	± 0.04	-			9	0.42	± 0.7	-	-	-	1	0.01	± 0.02	7	0.06	± 0.24	5	0.09	± 0.11	2	0.86	± 0.32	2	0.81	± 0.33

Table annexe 10 : Composition moyenne relative des composés volatils (% ± sd) des inflorescences femelles de 9 croisements hybrides. Les informations concernant l'origine de ces croisements sont indiquées dans le tableau annexe 2. RI (Retention index) indique l'indice de Kovat du composé, O indique le nombre d'individus chez qui le composé a été détecté, N indique le nombre d'inflorescences échantillonnées, * indique que l'identité du composé a été authentifiée par comparaison avec un composé authentique. Les nombres en gras correspondent aux composés volatils dont la proportion est supérieure à 3% du total.

	RI	H1		H2		H3		H4		H5		H6		H7		H8		H9	
		N = 3		N = 3		N = 3		N = 2		N = 3		N = 3		N = 3		N = 3		N = 3	
		O		O		O		O		O		O		O		O		O	
Benzenoids																			
p-Xylene *	900	3	0.33 ± 0.18	3	1.02 ± 0.26	3	0.88 ± 0.21	2	2.08 ± 0.03	3	4.23 ± 3.03	3	0.44 ± 0.4	3	0.48 ± 0.12	3	0.42 ± 0.37	3	0.65 ± 0.44
Cumene	938	-		3	0.01 ± 0.01	2	0.01 ± 0.01	2	0.01 ± 0.01	2	0.01 ± 0.01	3	0.01 ± 0	2		3	0.01 ± 0.01	3	0.01 ± 0
Benzaldehyde *	972	3	3.44 ± 2.64	3	1.03 ± 1.4	3	1.27 ± 0.88	2	0.15 ± 0	3	1.99 ± 1.99	3	1.9 ± 1.87	3	1.39 ± 1.49	3	1.41 ± 0.81	3	0.92 ± 0.53
Phenol	993	2	0.06 ± 0.06	2	0.22 ± 0.2	2	0.06 ± 0.06	2	0.37 ± 0.05	3	0.2 ± 0.06	2	0.15 ± 0.23	3	0.29 ± 0.25	2	0.1 ± 0.11	2	0.07 ± 0.08
1,2,3-Trimethylbenzene	998	3	0.01 ± 0.01	3	0.07 ± 0.06	3	0.08 ± 0.06	2	0.08 ± 0	3	0.11 ± 0.04	3	0.04 ± 0.05	3	0.05 ± 0.03	3	0.05 ± 0.08	3	0.04 ± 0.04
Benzyl alcohol *	1038	3	9.7 ± 9.41	3	2.3 ± 3.26	3	3.57 ± 2.93	2	0.46 ± 0.07	3	2.24 ± 2.93	3	3.88 ± 3.7	3	4.24 ± 4.35	3	4.7 ± 2.07	3	2.33 ± 0.76
Acetophenone	1070	3	0.05 ± 0.01	3	0.05 ± 0.04	3	0.08 ± 0.04	2	0.06 ± 0.06	3	0.05 ± 0.02	3	0.04 ± 0.04	3	0.04 ± 0.03	3	0.06 ± 0.03	3	0.04 ± 0.02
p-Vinylisole	1153	3	0.17 ± 0.09	3	0.19 ± 0.22	3	0.15 ± 0.07	2	0.07 ± 0.05	3	0.27 ± 0.22	3	0.18 ± 0.1	3	0.28 ± 0.14	3	0.14 ± 0.08	3	0.17 ± 0.09
Ethyl Benzoate	1170	-		1	0.01 ± 0.01	-		1	0.02 ± 0.02	2	0.03 ± 0.06	-		2	0.01 ± 0.01	-		-	
Estragole *	1210	3	56.08 ± 18.95	3	75.95 ± 20.46	3	61.48 ± 18.17	2	85.38 ± 1.77	3	55.65 ± 23.37	3	70.78 ± 18.35	3	64.86 ± 13.04	3	55.52 ± 14.07	3	65.14 ± 14.28
(Z)-Anethole	1253	3	1.5 ± 0.52	3	0.94 ± 0.67	3	1.61 ± 0.69	2	0.49 ± 0.01	3	0.84 ± 0.3	3	1.28 ± 0.91	3	1.48 ± 0.17	3	1.84 ± 0.45	3	1.64 ± 0.65
p-Anisaldehyde *	1256	3	0.66 ± 0.25	3	0.9 ± 0.81	3	0.74 ± 0.4	2	0.44 ± 0.08	3	1.31 ± 0.79	3	0.54 ± 0.33	3	0.91 ± 0.47	3	1.14 ± 0.43	3	0.51 ± 0.18
(E)-Anethole *	1288	3	15.74 ± 5.72	3	7.92 ± 5.67	3	15.28 ± 6.67	2	5.39 ± 0.09	3	11.2 ± 4.32	3	11.29 ± 7.17	3	14.09 ± 2.01	3	16.68 ± 1.72	3	14 ± 5.47
p-Acetonylanisole	1380	3	0.11 ± 0.05	3	0.08 ± 0.07	3	0.08 ± 0.05	2	0.04 ± 0.02	3	0.14 ± 0.07	3	0.07 ± 0.04	3	0.14 ± 0.08	3	0.15 ± 0.07	3	0.07 ± 0.03
2-Allyl-1,4,-dimethoxybenzene	1397	3	0.19 ± 0.1	3	0.42 ± 0.46	3	0.25 ± 0.2	2	0.05 ± 0.05	3	0.17 ± 0.06	3	0.28 ± 0.02	3	0.26 ± 0.15	3	0.16 ± 0.05	3	0.16 ± 0.17
Methyleugenol	1404	3	2.38 ± 1.37	3	0.93 ± 1.42	3	6.57 ± 3.7	2	0.12 ± 0.13	3	5.39 ± 3.19	3	1.74 ± 0.39	3	1.24 ± 1.52	3	7.16 ± 5.73	3	7.9 ± 6.82
p-Methoxypropiophenone	1453	3	1.15 ± 0.41	3	1.09 ± 0.9	3	1.23 ± 0.64	2	1.06 ± 0.21	3	2.54 ± 1.51	3	1.01 ± 0.62	3	1.83 ± 1.06	3	1.86 ± 0.85	3	0.99 ± 0.47
2,6-Di-tertbutyl-p-Benzoquinone	1460	3	0.49 ± 0.52	3	0.26 ± 0.09	3	0.07 ± 0.03	2	0.24 ± 0.08	3	0.99 ± 1.16	3	1 ± 0.77	3	0.48 ± 0.6	3	0.14 ± 0.11	3	0.03 ± 0.01
m-Methoxycinnamaldehyde	1509	3	1.61 ± 0.61	3	2.37 ± 2.82	3	1.76 ± 1.73	2	1.7 ± 0.78	3	6.4 ± 5.03	3	0.85 ± 0.34	3	3.5 ± 1.8	3	3.27 ± 2.97	3	1.45 ± 1.29
3,5-bis(tert-butyl)-4-hydroxypropiophenone	1624	3	0.07 ± 0.04	3	0.05 ± 0.05	3	0.01 ± 0	2	0.02 ± 0.01	3	0.05 ± 0.05	3	0.04 ± 0.01	2	0.01 ± 0.02	3	0.09 ± 0.12	3	0.01 ± 0
Benzyl benzoate	1771	1	0 ± 0.01	0	0 ± 0	1	0.21 ± 0.36	1	0.01 ± 0.01	1	0.01 ± 0.02	2	0.01 ± 0.01	2	0 ± 0.01	2	0.01 ± 0.01	3	0.01 ± 0
Homoterpenes																			

Dihydro- β -ionone	1436	3	0.52	± 0.14	3	0.28	± 0.45	3	0.12	± 0.07	2	0.09	± 0.04	3	0.05	± 0.04	3	0.11	± 0.13	3	0.75	± 0.31	3	0.1	± 0.04	3	0.03	± 0.03	
(Z)-Geranylacetone	1451	1	0.02	± 0.03	3	0.05	± 0.04	1	0.01	± 0.01	2	0.03	± 0.01	3	0.06	± 0.03	2	0.03	± 0.03	3	0.04	± 0.02	3	0.05	± 0.03	3	0.04	± 0.01	
Fatty acid derivatives																													
3-Heptanone *	904	3	0.85	± 0.4	3	0.22	± 0.2	3	0.62	± 0.23	2	0.16	± 0.03	3	0.34	± 0.18	3	1.01	± 1.53	3	0.59	± 0.43	3	0.98	± 0.68	3	1.08	± 0.84	
Nonane *	916	3	0.16	± 0.15	3	0.13	± 0.16	3	0.07	± 0.04	2	0.05	± 0.01	3	0.12	± 0.08	3	0.17	± 0.18	3	0.13	± 0.11	3	0.12	± 0.02	3	0.08	± 0.05	
(Z)-3-Heneny acetate *	1004	-			1	0.01	± 0.02	3	0.02	± 0.02	-			-				1	0.01	± 0.01	1	0.04	± 0.07	2	0.01	± 0.01	2	0.03	± 0.02
1-Octanol	1069	3	0.06	± 0.03	3	0.06	± 0.04	3	0.07	± 0.04	2	0.04	± 0.01	3	0.1	± 0.02	3	0.09	± 0.07	3	0.06	± 0.02	3	0.06	± 0.04	3	0.04	± 0.02	
Dodecanal	1411	3	0.03	± 0.02	3	0.03	± 0.03	3	0.05	± 0.05	2	0.02	± 0	3	0.09	± 0.1	3	0.04	± 0.02	3	0.03	± 0.02	1	0.02	± 0.04	1	0.01	± 0.01	
(E)- β -Ionone	1482	3	0.71	± 0.84	3	0.1	± 0.14	3	0.35	± 0.33	2	0.09	± 0.04	3	0.13	± 0.06	3	0.3	± 0.36	3	0.47	± 0.13	3	0.14	± 0.06	3	0.09	± 0.08	
Miscellaneous																													
γ -Butyrolactone *	922	3	0.07	± 0.06	3	0.08	± 0.03	3	0.28	± 0.37	2	0.05	± 0.05	3	0.07	± 0.05	3	0.09	± 0.1	3	0.06	± 0.03	3	0.1	± 0.1	3	0.04	± 0.01	
Monoterpenes																													
α -Pinene *	943	3	0.04	± 0.04	3	0.02	± 0.01	3	0.03	± 0.02	2	0	± 0	2	0.02	± 0.02	3	0.02	± 0.01	3	0.01	± 0.01	2	0.04	± 0.05	3	0.02	± 0.01	
Limonene *	1030	1	0.01	± 0.01	2	0.02	± 0.03	2	0.06	± 0.09	2	0.02	± 0	3	0.13	± 0.18	1	0.05	± 0.08	3	0.1	± 0.04	1	0.1	± 0.17	1	0.08	± 0.13	
N-containing compounds																													
2-Isopropyl-3-methoxypyrazine *	1087	3	0.04	± 0.01	3	0.06	± 0.03	3	0.08	± 0.06	2	0.03	± 0.02	3	0.03	± 0.02	3	0.03	± 0.02	3	0.07	± 0.03	3	0.04	± 0.02	3	0.05	± 0.02	
2-isobutyl-3-methoxypyrazine *	1176	3	0.97	± 0.55	3	1.18	± 0.37	3	0.72	± 0.47	2	0.32	± 0.22	3	0.5	± 0.17	3	0.62	± 0.42	3	0.51	± 0.35	3	0.83	± 0.2	3	0.73	± 0.2	
Sesquiterpenes																													
α -Cubebene	1348	2	0.03	± 0.03	-			-			-			-						1	0.01	± 0.01	-			-			
(+)-Cyclosativene *	1370	3	0.11	± 0.07	-			-			-			1	0.04	± 0.08	-			-			1	0.02	± 0.03	-			
α -Copaene *	1377	2	0.03	± 0.03	3	0.03	± 0.02	3	0.03	± 0.03	1	0.01	± 0.01	1	0.02	± 0.03	-			1	0.01	± 0.01	2	0.01	± 0.01	3	0.01	± 0.01	
β -Elemene	1384	3	0.14	± 0.06	-			1	0.01	± 0.02	-			2	0.11	± 0.1	3	0.12	± 0.12	1	0.01	± 0.01	-			3	0.13	± 0.11	
α -Gurjunene *	1405	2	0.09	± 0.08	3	0.1	± 0.02	-			1	0.02	± 0.02	2	0.02	± 0.03	2	0.05	± 0.06	-			-			3	0.05	± 0.04	
<i>Unidentified sesquiterpene c</i>	1412	3	1.1	± 0.27	3	0.92	± 0.76	3	1.47	± 0.96	2	0.59	± 0.06	3	2.34	± 1.47	3	0.78	± 0.12	3	0.77	± 0.19	3	1.77	± 0.53	3	0.91	± 0.65	
β -Caryophyllene *	1431	3	0.03	± 0.02	3	0.26	± 0.33	3	0.07	± 0.07	-			-			3	0.04	± 0.02	2	0.01	± 0.01	3	0.01	± 0	2	0.01	± 0.01	
Z- β -Farnesene	1453	2	0.2	± 0.24	1	0.06	± 0.11	2	0.14	± 0.12	-			3	0.94	± 1.36	1	0.12	± 0.21	2	0.14	± 0.18	3	0.13	± 0.08	3	0.04	± 0.01	
Rotundene	1463	2	0.04	± 0.04	3	0.04	± 0.02	-			-			1	0.02	± 0.03	3	0.03	± 0.02	1	0.01	± 0.02	-			3	0.02	± 0	
γ -Muurolene	1476	3	0.21	± 0.04	3	0.06	± 0.02	2	0.04	± 0.04	2	0.04	± 0.01	2	0.17	± 0.16	3	0.19	± 0.1	2	0.06	± 0.05	2	0.02	± 0.03	3	0.08	± 0.03	
α -Selinene	1490	3	0.13	± 0.06	2	0.01	± 0.01	3	0.02	± 0	2	0.01	± 0.01	3	0.04	± 0.04	3	0.11	± 0.06	2	0.04	± 0.03	3	0.01	± 0.01	3	0.03	± 0.01	
Valencene	1493	2	0.13	± 0.12	3	0.17	± 0.27	1	0.04	± 0.07	2	0.01	± 0.01	2	0.12	± 0.14	3	0.12	± 0.05	3	0.06	± 0.05	-			1	0.02	± 0.03	
(E,E)- α -Farnesene	1504	3	0.06	± 0.03	3	0.05	± 0.05	2	0.01	± 0.01	1	0.01	± 0.01	3	0.05	± 0.04	3	0.06	± 0.03	2	0.02	± 0.02	2	0.01	± 0.01	3	0.05	± 0.02	
Unidentified.sesquiterpene.5		3	0.02	± 0.01	3	0.05	± 0.05	3	0.02	± 0.01	2	0.02	± 0.01	3	0.07	± 0.04	3	0.02	± 0.01	3	0.04	± 0.02	3	0.04	± 0.02	3	0.02	± 0	
δ -Cadinene *	1519	3	0.13	± 0.05	3	0.03	± 0.03	3	0.03	± 0.01	2	0.01	± 0.01	3	0.08	± 0.07	3	0.06	± 0.03	3	0.02	± 0.01	2	0.01	± 0.01	3	0.03	± 0.02	
Unknown compounds																													
<i>Unidentified compound b</i>		3	0.22	± 0.05	3	0.15	± 0.11	3	0.21	± 0.14	2	0.13	± 0.06	3	0.46	± 0.3	3	0.2	± 0.11	3	0.33	± 0.17	3	0.38	± 0.2	3	0.17	± 0.06	

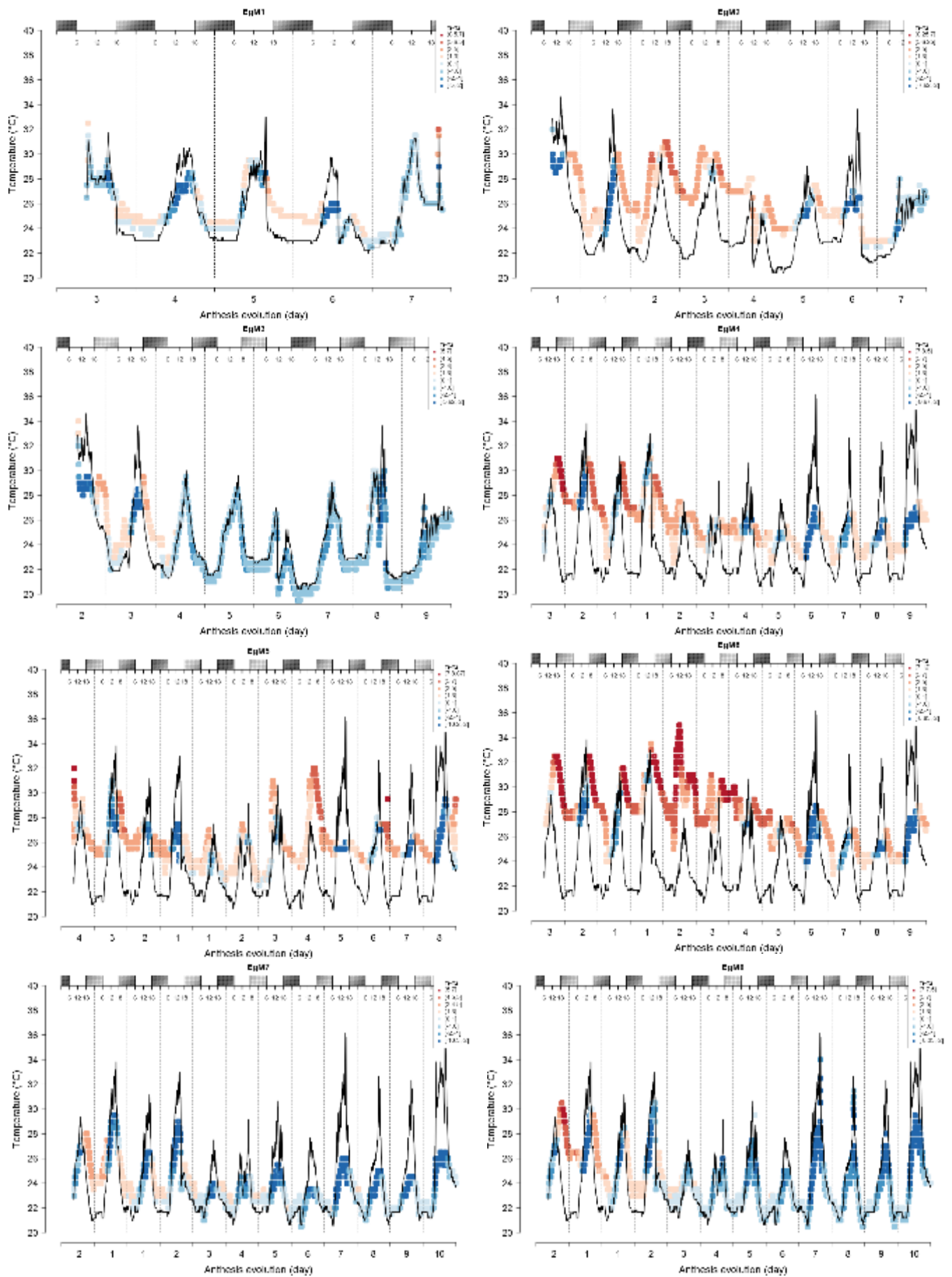
Table annexe 11: liste des composés volatils testés en EAG, et sur le terrain

NOM	CAS	UTILISÉ EN EXPÉRIMENTATION TERRAIN
BENZENOÏD		
p-Xylene	106-42-3	
Ethylbenzene	100-41-4	
Benzaldehyde	100-52-7	x
p-Methylanisol	104-93-8	
Benzyl alcohol	100-51-6	
Methyl Benzoate	93-58-3	
Estragole	140-67-0	x
2-phenoxyethanol	122-99-6	
p-Anisaldehyde	123-11-5	x
E-Anethole	104-46-1	x
Eugenol	97-53-0	
Methyl Eugenol	93-15-2	
DÉRIVÉS D'ACIDE GRAS		
3-Heptanone	106-35-4	
Hexanal	66-25-1	
Nonanal	124-19-6	
2-Ethyl-1-Hexanol	104-76-7	x
MONOTERPÈNES		
α -Pinene	80-56-8	
Limonene	138-86-3	
HOMOTERPÈNES		
sulcatone	110-93-0	
DMNT	19945-61-0	
COMPOSÉS AZOTÉS		
2-Isopropyl-3-Methoxypyrazine	25773-40-4	
2-Isobutyl-3-Methoxypyrazine	24683-00-9	x
DIVERS		
Butyrolactone	96-48-0	
SESQUITERPÈNES		
(+)-Cyclosativene	22469-52-9	
α -Copaene	3856-25-5	
α -Gurjunene	489-40-7	
β -Caryophyllene	87-44-5	
Aromandandrene	25246-27-9	
Humulene	6753-98-6	
Germacrene D	23986-74-5	
δ -Cadinene	483-76-1	

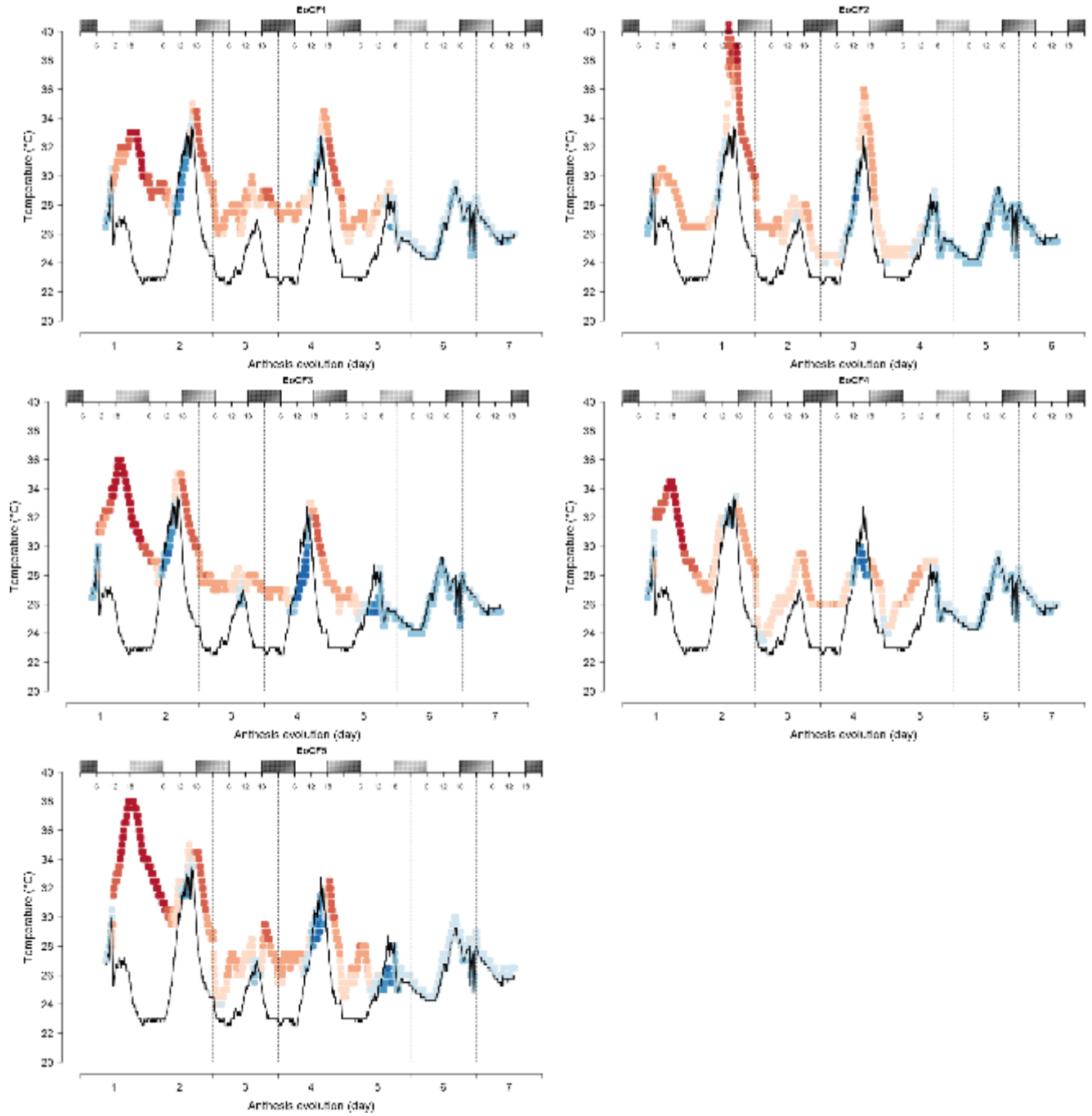
Figures des pages suivantes

Figure annexe 44 : Pattern d'évolution de la température des inflorescences individuelles en fonction de la floraison. A) inflorescences femelles d'*E. guineensis*, B) inflorescences mâles d'*E. guineensis*, C) inflorescences femelles d'*E. oleifera* Coari, D) inflorescences femelles d'*E. oleifera* Taisha, E) inflorescences mâles d'*E. oleifera* Taisha et F) inflorescences femelles d'hybride Coari x La Mé. La ligne noire représente la température ambiante. Chaque point de couleur représente la température florale prélevée toutes les 5 minutes. Plus la couleur tend vers le rouge, plus l'écart entre la température de l'inflorescence et la température ambiante est positif, et inversement, plus la couleur tend vers le bleu, plus l'écart est négatif. Le jour 1 représente le début de l'anthèse. L'alternance des zones blanches et grisées au-dessus des graphiques de températures représente le cycle jour-nuit, et les chiffres au-dessous les heures de la journée.

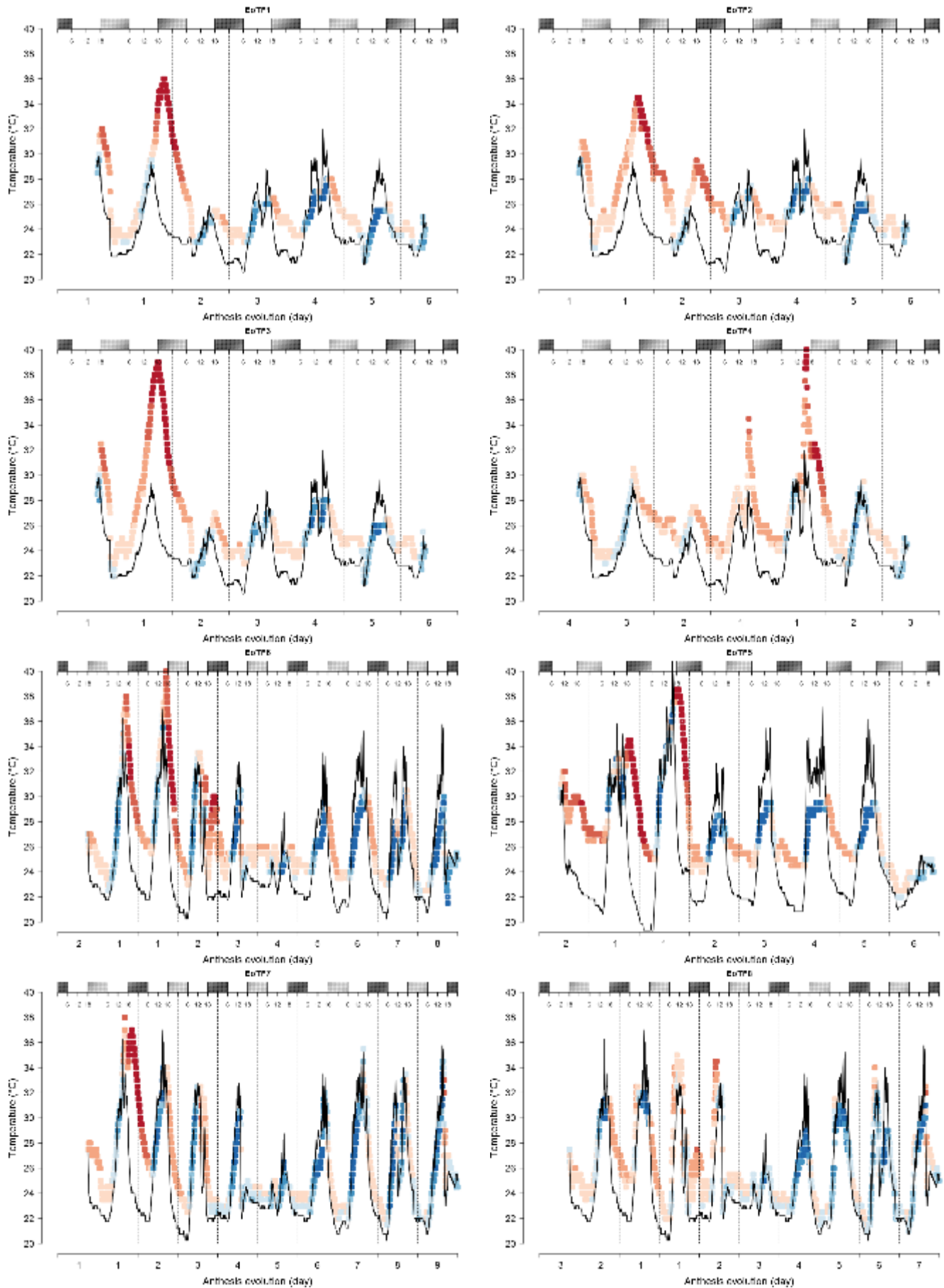
B - Inflorescences mâles d'*E. guineensis*



C - Inflorescences femelles d'*E. oleifera* Coari



D - Inflorescences femelles d'*E. oleifera* Taisha



F - Inflorescences femelles d'hybrides Coari x La Mé

