

AUGMENTER LE NIVEAU DE PRODUCTION DE BIOMASSE DES CULTURES LIGNEUSES DÉDIÉES OU SEMI-DÉDIÉES. PRINCIPAUX ENSEIGNEMENTS DU PROJET SYLVABIOM

**JEAN-CHARLES BASTIEN – ALAIN BERTHELOT – FRANCK BRIGNOLAS –
NICOLAS MARRON – STÉPHANE MAURY – GUILLAUME BODINEAU – JEAN GAUVIN –
JULIEN TOILLON – ERWIN DALLÉ – ALAIN DELAUNAY – ISABELLE LE JAN – FRANÇOIS CHARNET –
PATRICE MAINE – DOMINIQUE MERZEAU**

LE PROJET

L'utilisation de cultures en rotations courtes d'arbres à croissance rapide, dédiées en tout ou partie à la production de biomasse, est une des voies envisageables pour contribuer aux objectifs fixés par l'Union européenne en matière de développement des énergies renouvelables (Bastien *et al.*, 2011). Malgré leur potentiel pour la production de biomasse ligneuse, l'étude de ces systèmes a été un peu délaissée en France depuis la fin du siècle dernier. Il apparaît néanmoins important de bien comprendre les interactions entre la nature et les propriétés du matériel végétal et les conditions de culture (pédoclimat, densité de plantation) afin d'optimiser l'adéquation entre ces paramètres et augmenter les chances de réussite des plantations. Dans le cadre de l'appel à projets ANR-BIO-E 2008, le projet SYLVABIOM a mobilisé un large consortium pluridisciplinaire autour de l'étude des facteurs génétiques et environnementaux déterminant la production de biomasse par des espèces ligneuses cultivées en plantations à rotations courtes. Le projet intégratif portait à la fois sur des aspects appliqués (évaluation des potentialités de croissance, comparaison de clones) et des aspects fondamentaux ayant des conséquences appliquées (efficacités d'utilisation de l'eau et de l'azote, contrôle épigénétique de la plasticité phénotypique). Le projet était organisé en deux tâches relativement indépendantes correspondant à deux itinéraires culturaux :

– Taillis à courte et très courte rotation : Quatre sites ateliers installés dans des stations écologiquement contrastées avec trois espèces (Peuplier, Saule, Robinier) cultivées en taillis à courte ou à très courte rotation (TCR ou TTCR) ont permis d'évaluer les potentialités de croissance des arbres et l'efficacité avec laquelle ils utilisent l'eau et l'azote en fonction des conditions de culture. Des données relatives au taux de méthylation de l'ADN et à sa pertinence en tant que marqueur précoce de la productivité, ont également été recueillies.

– Futaie à courte révolution : Les réseaux d'essais forestiers de l'INRA et de FCBA ont été réévalués sous l'angle de la production de biomasse totale. Les essences les plus performantes ont pu faire l'objet de nouvelles mesures de croissance et biomasse totale compartimentée (bois, écorce, branches, feuilles).

Dans le cadre spécifique des TCR ou TTCR et pour les trois espèces, le projet s'est attaché à étudier l'efficacité de l'utilisation de l'eau et de l'azote, deux facteurs clés de la durabilité de ces systèmes, les arbres utilisant efficacement ces ressources étant plus à même de produire

en conditions limitantes (Jørgensen et Schelde, 2001). La plasticité de ces caractères en réponse à des sites contrastés en termes de fertilité et d'alimentation en eau et à des densités de plantation variables a également été étudiée. Enfin, les liens entre les efficacités et la productivité des arbres, ainsi que la plasticité de ces relations ont été évalués.

Une des tâches du projet proposait également d'étudier dans quelle mesure les variations phénotypiques observées pourraient avoir une composante épigénétique chez le Peuplier (*Populus × canadensis*). L'hypothèse de travail était que des variations épigénétiques dans le méristème apical entre différents génotypes, ou en réponse à des variations de l'environnement, induisent des variations d'expression de gènes. Ces variations seraient transmises aux futurs organes, aboutissant à des variations de la morphogenèse de la tige feuillée. Ce processus expliquerait une part de l'adaptation des arbres en réponse à des variations des conditions environnementales – c'est-à-dire la plasticité phénotypique – (Plomion *et al.*, 2015).

Cet article se propose de présenter les principaux acquis obtenus à l'issue de ce projet de recherche.

L'un des points forts du projet SYLVABIOM était son partenariat multidisciplinaire, couvrant des échelles allant de la molécule, au tissu, à l'arbre et au peuplement forestier :

- Unité de recherche « Amélioration, Génétique et Physiologie forestières » (UR 0588 AGPF) et unité expérimentale « Génétique et Biomasse forestière » (UE 0995 GBFor), INRA Val de Loire - Orléans : coordinateur du projet, implication dans la gestion de deux sites ateliers (Guéméné-Penfao et Saint-Cyr-en-Val) et dans l'élaboration des tarifs de biomasse sur espèces résineuses.
- UMR 1137 INRA Nancy-Lorraine - Université de Lorraine « Écologie et Écophysiologie forestières » (EEF) : implication dans l'évaluation de l'efficacité de l'utilisation de l'eau et de l'azote des quatre sites ateliers TCR / TCCR.
- LBLGC EA 1207 INRA USC1328 ARCHE Université d'Orléans « Laboratoire de Biologie des Ligneux et des grandes Cultures » : implication dans l'évaluation de l'efficacité de l'utilisation de l'eau et de l'azote et dans l'évaluation du degré de méthylation de l'ADN des sites portant du Peuplier.
- Institut technologique FCBA : implication dans la gestion d'un site atelier (Échigey) et dans l'élaboration des tarifs de biomasse sur espèces résineuses.
- IDF-CNPF : implication dans la gestion d'un site atelier (Brinon-sur-Sauldre) et dans l'étude de l'apport de boues de station d'épuration (STEP) sur TCCR de Saule.

MÉTHODOLOGIE

Les sites ateliers (TCR et TCCR)

- *Caractéristiques des sites*

La croissance et les efficacités d'utilisation de l'eau et de l'azote des arbres en TCR et TCCR ont été suivies au sein d'un réseau de quatre parcelles implantées en début de projet (figure 1, p. 252 et photos 1 à 4, p. 253).

Trois des sites ateliers ont été installés au printemps 2009 et un quatrième au printemps 2010. Le site d'Échigey (Côte-d'Or) était représentatif d'une situation optimale pour le Peuplier, tandis que les sites de Guéméné-Penfao (Loire-Atlantique) et de Saint-Cyr-en-Val (Loiret) présentaient des conditions pédoclimatiques beaucoup plus contraignantes pour cette espèce (tableau I, ci-dessous). Dans ces sites plus contraints, le Peuplier était alors comparé au Saule (Saint-Cyr-en-Val) ou au Saule et au Robinier (Guéméné-Penfao), essences plus plastiques. Sur ces trois sites ont été comparés le système de culture (TCR et TCCR) et, dans certains cas, le matériel génétique. Le quatrième site (Brinon-sur-Sauldre) était dédié au TCCR de Saule (8 clones) et portait une expérimentation sur l'intérêt de l'épandage de boues de station d'épuration (STEP), permettant de cumuler une fonction de valorisation de déchets à la fonction de production de biomasse.

Les quatre dispositifs ont été instrumentés de façon à pouvoir suivre et comparer leurs caractéristiques édaphiques et climatiques de base (température et humidité du sol, éclaircissement). Une description et des analyses physicochimiques du sol ont également été effectuées en début et fin de projet (tableau I, ci-dessous).

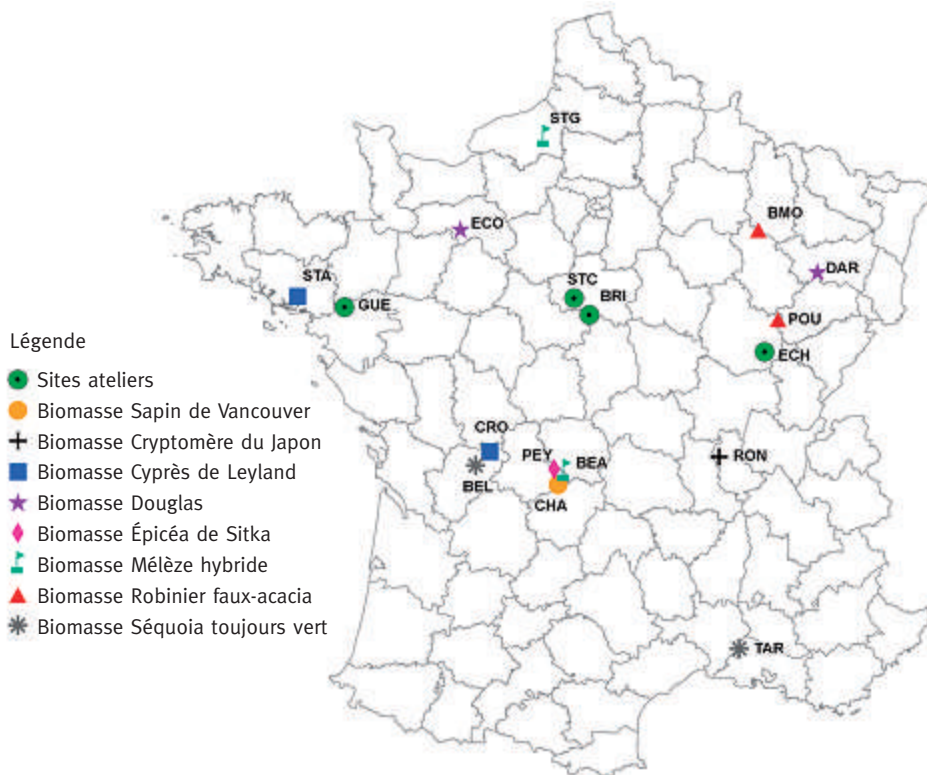
TABLEAU I

**Caractéristiques des systèmes de culture
et conditions pédoclimatiques (période 2009-2011)
des quatre sites ateliers**

Parcelle		Guéméné-Penfao (Loire-Atlantique)	Brinon-sur-Sauldre (Cher)	Saint-Cyr-en-Val (Loiret)	Échigey (Côte-d'Or)
Date d'installation		2009	2009	2010	2009
Tests sylvicoles	Peuplier TCR et TCCR	Dorskamp		Dorskamp	Dorskamp
	Saule TCCR	6 génotypes	6 génotypes	6 génotypes	6 génotypes
	Robinier TCR et TCCR	2 provenances			
Tests génétiques	Peuplier TCR et TCCR			56 génotypes	56 génotypes
	Saule TCCR			20 génotypes	
	Robinier TCR	15 génotypes			
Sol	Texture	Limono-argileux	Sableux	Sablo-argileux	Argilo-limoneux
	Teneur en azote (g/kg)	1,7	0,6	0,7	3,2
	Humidité du sol estivale (mai-août, %)	17,5	27,7	15,5	53,1
Climat	Précipitations estivales (mai-août, mm)	148	257	189	382
	Température estivale (mai-août, °C)	16,7	17,0	17,4	17,4

FIGURE 1 LOCALISATION DES SITES ATELIERS ET DES CHANTIERS DE BIOMASSE TOTALE

[ECH : Échigey ; STC : Saint-Cyr-en-Val ; GUE : Guéméné-Penfao ; BRI : Brinon-sur-Sauldre ; STG : Sainte-Geneviève-en-Bray ; ECO : Écouves ; BMO : Bois-Monsieur ; DAR : Darney ; STA : Saint-Avé ; POU : Pouilly-sur-Vingeanne ; BEL : Bel-Air ; CRO : La Croze ; PEY : Peyrat-le-Château ; BEA : Beaumont-du-Lac ; CHA : Chaud ; RON : Ronno ; TAR : Tarascon]



- *Croissance et production*

À ce jour, les TTCR ont tous été récoltés à deux reprises (à 2 et 5 ans), tandis que les TCR poursuivent leur développement. La croissance a été suivie annuellement et, pour les TTCR, des pesées directes et l'élaboration de tarifs de biomasse ont permis d'évaluer la production. Pour les TCR les plus productifs, nous avons pu utiliser un tarif général (Bonduelle, 1983) et un modèle de croissance (FCBA, non publié) a permis de prédire la production à 7 ou 8 ans, à partir des données à notre disposition (mi-rotation). Tous les résultats de biomasse sont exprimés en tonnes de biomasse sèche aérienne totale par hectare et par an (t/ha/an).

- *Efficacités d'utilisation des ressources et méthylation de l'ADN*

L'efficacité d'utilisation de l'eau est définie, au niveau de la plante entière, comme la quantité de biomasse produite par unité d'eau consommée. Elle a été estimée, sur tous les sites et pour les trois espèces, sur des feuilles prélevées au cours de la deuxième saison de végétation par l'intermédiaire de leur composition en carbone 13, déterminée par spectrométrie de masse. Cette composition est en effet négativement et linéairement corrélée à l'efficacité d'utilisation de l'eau chez de nombreuses espèces (Toillon *et al.*, 2013a). L'efficacité d'utilisation de l'azote (la quantité de biomasse produite par unité d'azote consommée) a été estimée par analyse élémentaire

d'échantillons de bois prélevés lors de l'exploitation des TTCR. Enfin, pour le Peuplier uniquement, la méthylation de l'ADN génomique a été mesurée par deux approches complémentaires à partir de l'ADN génomique extrait de bourgeons et de jeunes feuilles en formation.

Photos 1 à 4 : Aspect des peuplements dans les quatre sites ateliers

Photos : 1 FCBA ; 2 à 4 : INRA



① Échigey (Côte-d'Or). À gauche : rejets de TTCR de Peuplier de 2 ans ; à droite : TCR de Peuplier de 4 ans



② Saint-Cyr-en-Val (Loiret). Rejets de TTCR de 1 an ; 1^{er} plan : Peuplier ; 2^e plan : Saule



③ Guémené-Penfao (Loire-Atlantique). TTCR de Peuplier (à gauche) et de Robinier (à droite) de 3 ans



④ Brinon-sur-Sauldre (Cher). Rejets de TTCR de 2 ans de Saule

Le réseau expérimental forestier INRA et FCBA

Pour les essences forestières à croissance rapide, une recherche multicritère (âge, station, densité, diversité génétique) a permis de sélectionner les parcelles les plus pertinentes au sein des réseaux d'essais âgés de 15 à 30 ans, mis en place par l'INRA et FCBA. Après avoir étudié l'importance ou le potentiel de plusieurs dizaines d'espèces forestières en France, l'âge des tests,

les traitements sylvicoles, le contenu génétique et la répartition géographique des parcelles, huit essences d'intérêt ont été retenues : Douglas, Sapin de Vancouver, Épicéa de Sitka, Séquoia toujours vert, Mélèze hybride, Cyprès de Leyland, Cryptomère du Japon et Robinier. Douze sites expérimentaux ont finalement été retenus pour la construction de tarifs de biomasse compartimentée (figure 1, p. 252).

Pour établir le tarif de biomasse propre à chaque parcelle, une trentaine de tiges, représentatives des classes de diamètres, ont été abattues puis pesées par compartiment (bois du tronc, écorce du tronc, branches, cime + branches, feuilles). Ces tarifs ont permis, à partir de critères dendrométriques simples (circonférence à 1,30 m), de déterminer le volume et la biomasse de chaque arbre, en fonction de sa taille, puis d'évaluer la production au niveau du peuplement. Selon les espèces, lorsque des unités génétiques étaient identifiées, il a été possible d'estimer les perspectives de gain sur la production de biomasse offertes par le choix des populations, des familles ou des clones les plus performants.

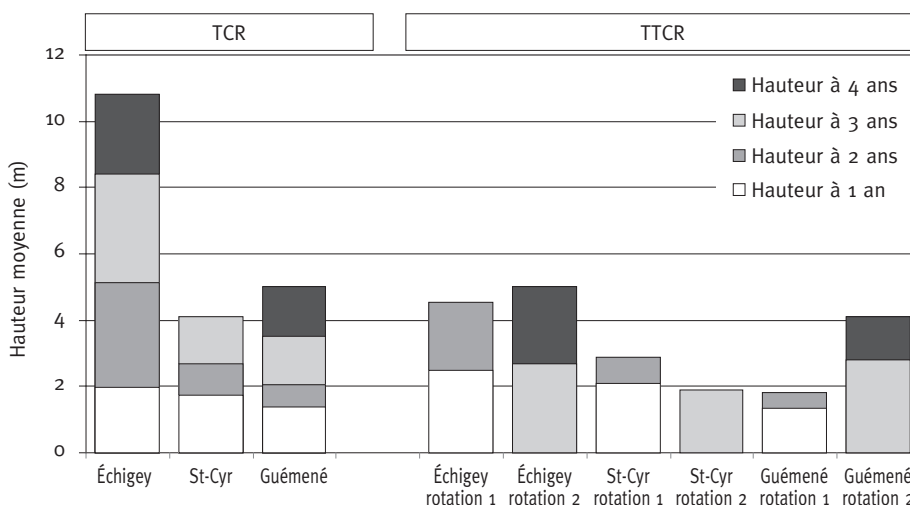
RÉSULTATS ET DISCUSSION

TCR et TCCR (sites ateliers)

- *Croissance et production des peuplements*

La croissance des différentes essences est directement liée à la qualité de la station en termes d'alimentation en eau et de teneur en azote du sol (tableau 1, p. 251) et la hiérarchie des sites est respectée (figure 2, ci-dessous). Ainsi le site le plus productif (Échigey) atteint à 4 ans un accroissement de 5,8 t/ha/an (TCR) et 4,7 t/ha/an (TCCR 2^e rotation) en Peuplier tandis que les autres sites (Guéméné-Penfao et Saint-Cyr-en-Val) voient leur production s'établir entre 1,5 et 3,5 t/ha/an selon les essences et les génotypes. Le site de Brinon-sur-Sauldre a par ailleurs démontré l'intérêt de l'épandage de boues de STEP chaulées (dose simple de 1,2 t/ha et dose double de 2,4 t/ha) pour

FIGURE 2 CROISSANCE EN HAUTEUR DU PEUPLIER cv. DORSKAMP, EN FONCTION DES SITES ET DES SYLVICULTURES [Dorskamp : *P. x canadensis*]



augmenter la production des TTCR de Saule en sol pauvre. La production de la 2^e rotation varie en effet, selon les cultivars, de 3 à 4 t/ha/an pour le témoin tandis qu'elle atteint de 4 à 12 t/ha/an dans les modalités ayant reçu un apport de boues.

Il est possible de compléter la comparaison des sylvicultures (TCR et TTCR) par des résultats issus de deux parcelles de Peuplier, installées par FCBA dans le cadre d'un projet précédent (BIOMagri, programme Enerbio, fondation Tuck). Ces deux parcelles, très favorables au Peuplier, sont situées en Seine-et-Marne (La Brosse-Montceaux) et en Côte-d'Or (Saint-Usage). Elles confirment, pour six cultivars, les niveaux de production atteints par le Peuplier en situation favorable (Échigey). Cependant, après 3 ou 4 années de croissance, la comparaison entre les deux itinéraires sylvicoles (TCR et TTCR) n'est pas en faveur des TTCR. En effet, si les prédictions de production des TCR de Peuplier (en bon site) font espérer des valeurs comprises entre 9 et 11 t/ha/an vers 8 ans, les productions des premières rotations de TTCR, sur les mêmes sites, sont décevantes et n'atteignent, pour l'instant, que 3 à 6 t/ha/an (figure 3, ci-dessous). Plusieurs explications peuvent être avancées pour expliquer ce constat :

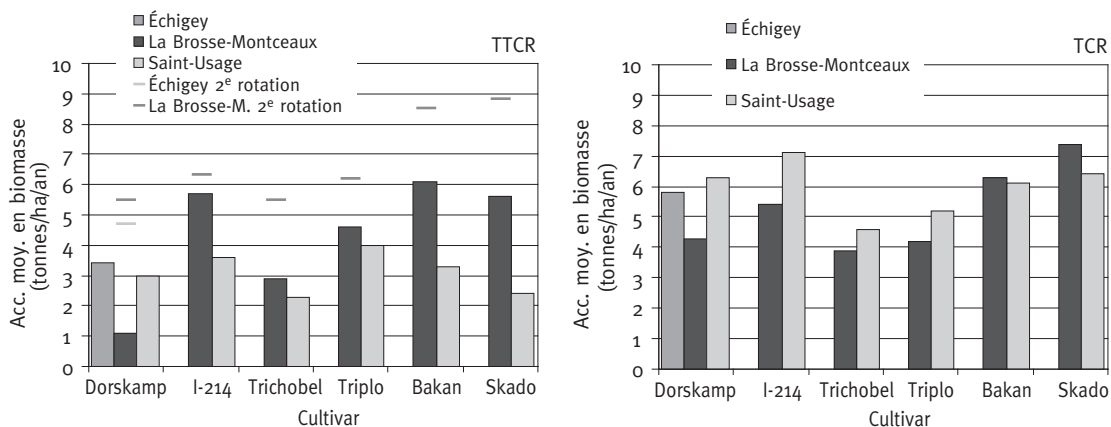
- la première rotation est pénalisée par la présence d'un unique brin par souche, or, la densité des tiges à l'ha est un des critères déterminants pour le rendement,
- le choix a été fait de ne pas réaliser d'entretiens après la phase d'installation du peuplement, ce qui a provoqué une compétition herbacée importante en début de seconde rotation, préjudiciable à la production,
- la durée de rotation, fixée initialement à 2 ans, est peut-être trop courte, une année supplémentaire de croissance augmenterait sans doute significativement les rendements.

FIGURE 3

**ACCROISSEMENT MOYEN ANNUEL EN BIOMASSE TOTALE,
OBSERVÉ SUR LES TROIS SITES FAVORABLES AU PEUPLIER
ET POUR SIX CULTIVARS**

À gauche, en TTCR récolté à 2 ou 3 ans (première et deuxième rotations)
et à droite en TCR à mi-rotation (4 ou 5 ans)

[Dorskamp, I-214 et Triplo : *P. x canadensis* ; Trichobel : *P. trichocarpa* ;
Bakan et Skado : *P. trichocarpa* x *P. maximowiczii*]



• *Physiologie des arbres*

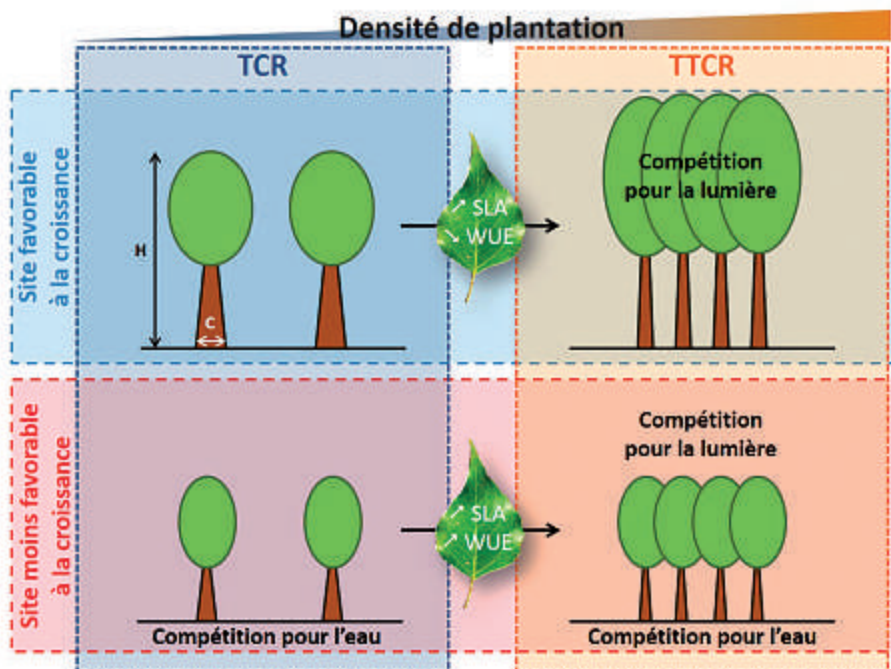
Efficiencia de l'utilisation de l'eau et de l'azote

Concernant l'effet du contexte pédoclimatique sur la physiologie de l'arbre, nous ne présenterons ici que les résultats concernant le Peuplier cultivé en TTCR (collection de 56 génotypes de *Populus x canadensis*), les résultats obtenus sur Saule étant en tous points comparables. Les deux

sites les plus contrastés par leurs conditions pédoclimatiques ont été pris en compte : Échigey et Saint-Cyr-en-Val (tableau 1, p. 251). À l'échelle de la plante entière, des conditions moins favorables à la croissance ont impliqué une augmentation de l'efficacité d'utilisation de l'eau et favorisent l'expression de sa variabilité génétique. En revanche, elles impliquent une diminution de l'efficacité d'utilisation de l'azote et une réduction de l'expression de sa variabilité génétique. À l'échelle de la feuille, les conditions moins favorables à la croissance se traduisent par une moindre teneur en azote par unité de masse des feuilles, mais aussi par des feuilles plus denses ou plus épaisses, ce qui fait que les teneurs exprimées par unité de surface étaient relativement constantes entre sites (Toillon *et al.*, 2013a et 2013b).

FIGURE 4 **INFLUENCE DES CONDITIONS PÉDOCLIMATIQUES ET DE L'AUGMENTATION DE DENSITÉ DE PLANTATION SUR L'EFFICACITÉ DE L'UTILISATION DE L'EAU (WUE)**

L'effet de la densité de plantation sur la croissance et sur l'efficacité d'utilisation de l'eau (*water use efficiency*, WUE, définie au niveau foliaire comme le rapport entre assimilation photosynthétique et transpiration) est modulé par le contexte pédoclimatique. Lorsque les conditions sont favorables à la croissance, une augmentation de la densité entraîne une compétition accrue pour la lumière et par conséquent des arbres plus grands, de moindre diamètre, et une efficacité d'utilisation de l'eau réduite (diminution d'assimilation photosynthétique en raison de l'ombrage). Lorsque les conditions sont moins favorables à la croissance en termes de fertilité et d'alimentation en eau, une augmentation de la densité de plantation occasionne une compétition accrue pour l'eau et la lumière, source d'une réduction de la croissance secondaire (diamètre) mais pas primaire (hauteur), et d'une augmentation de l'efficacité (réduction de la transpiration pour limiter les pertes en eau) (Toillon *et al.*, 2013a). (SLA : *specific leaf area* ou surface massique sèche des feuilles).



Pour le Peuplier, les résultats indiquent clairement que l'effet d'une augmentation de densité de plantation sur la physiologie de la plante est modulé par les conditions pédoclimatiques. Ce résultat majeur et original permet maintenant d'éclaircir les apparentes contradictions observées dans la littérature au sujet des effets de densité de plantation (figure 4, ci-dessus). Lorsque les conditions

sont favorables à la croissance, une augmentation de densité de plantation se traduit par une augmentation de la hauteur des tiges et par une diminution de leur circonférence. Ces variations de phénotype sont classiquement observées en réponse à une compétition accentuée vis-à-vis de la lumière. De plus, une augmentation de densité de plantation implique une diminution de l'efficacité d'utilisation de l'eau due à un effet d'ombrage accentué et de fait à une diminution de l'assimilation nette de CO₂ (à l'échelle foliaire, l'efficacité d'utilisation de l'eau étant en effet définie comme le rapport entre cette assimilation et la transpiration). À l'échelle de la feuille, une augmentation de la densité de plantation entraîne une diminution de masse volumique ou d'épaisseur des feuilles, mais les teneurs en azote par unité de masse augmentent, ce qui fait que les teneurs en azote par unité de surface sont constantes quelle que soit la densité.

Lorsque les conditions pédoclimatiques sont moins favorables à la croissance, une augmentation de densité de plantation se traduit simplement par une diminution de la circonférence des tiges et par une augmentation de l'efficacité d'utilisation de l'eau. Ces variations de phénotype s'expliquent cette fois par une compétition accentuée vis-à-vis de la ressource en eau. À l'échelle de la feuille, une augmentation de la densité de plantation implique cette fois une diminution des teneurs en azote par unité de surface (Toillon *et al.*, 2013a).

Pour le Peuplier comme pour le Saule, une relation positive entre production de biomasse et efficacité d'utilisation de l'eau est détectée uniquement lorsque les conditions de croissance sont telles qu'elles minimisent toute source de compétition, pour la lumière, l'eau ou les nutriments. Cette relation pourrait avoir un réel sens physiologique : les génotypes les plus productifs devant alimenter en eau une surface foliaire plus importante, ils compenseraient cette forte demande en réduisant les pertes en eau par unité de surface et donc en augmentant leur efficacité d'utilisation de l'eau *via* des transpirations plus faibles (Toillon *et al.*, 2013a et 2013b).

D'un point de vue appliqué, aucun antagonisme n'a pu être détecté entre production de biomasse et efficacité d'utilisation de l'eau ou de l'azote, ce qui suggère la possibilité de sélectionner des génotypes efficaces sans diminuer la production de biomasse. Des interactions génotype x site ou génotype x densité de plantation ont été détectées. Cependant, le classement des génotypes est globalement conservé entre densités de plantation, mais pas entre sites. Ces résultats suggèrent donc que la sélection du matériel végétal pour ces caractères (production de biomasse, efficacité d'utilisation de l'eau et de l'azote) peut être effectuée indépendamment de la densité de plantation mais qu'en revanche, la sélection devra tenir compte du contexte pédoclimatique.

Méthylation de l'ADN

L'objectif de ce travail était d'établir si le niveau de méthylation de l'ADN pourrait être un marqueur précoce du niveau de productivité (production de biomasse aérienne) chez le Peuplier comme le suggérait une étude préalable sur des apex caulinaires de boutures de Peuplier en serre sur six génotypes (Gourcilleau *et al.*, 2010). Si tel est le cas, l'objectif était également d'identifier les loci⁽¹⁾ cibles des variations de la méthylation de l'ADN en relation avec les changements d'environnement pédoclimatique. La méthylation globale de l'ADN a été analysée par une méthode HPLC (Gourcilleau *et al.*, 2010) sur 31 génotypes de deux sites (Échigey et Saint-Cyr-en-Val) à partir de jeunes feuilles émergentes (TCR et TTCR) et de méristèmes apicaux caulinaires⁽²⁾ (TTCR). Le méthylome⁽³⁾ a été caractérisé par une approche d'épigénomique (Lafon-Placette, 2012 ; Lafon-Placette *et al.*, 2013 ; Plomion *et al.*, 2015) uniquement à partir des méristèmes apicaux caulinaires du dispositif monoclonal TTCR de trois sites (Échigey, Saint-Cyr-en-Val et Guéméné-Penfao) (Cottier, 2013).

(1) Un locus, pluriel des loci : en génétique, un locus est un emplacement physique précis et invariable sur un chromosome.

(2) Méristème apical caulinaire : zone de croissance de la partie aérienne des végétaux. Il est constitué de cellules indifférenciées qui vont se diviser tout au long de la vie de la plante en cellules se différenciant pour en former les différents organes et faire croître la plante.

(3) Méthylome : l'ensemble des cytosines méthylées dans le génome d'un organisme ou d'une cellule donnée.

Qu'est-ce que l'épigénétique ?

Le terme d'épigénétique a été proposé par Conrad Waddington en 1942. Il a défini l'épigénétique comme « la branche de la biologie qui étudie les interactions causales entre les gènes et leurs produits établissant le phénotype ». De nombreux cas ont été décrits, aussi bien chez les animaux que chez les plantes, suggérant qu'en plus de la génétique, une autre information influence le phénotype d'un individu. Elle est inductible par l'environnement et transmissible au cours des générations. Les biologistes actuels ont fait évoluer le concept d'épigénétique laissant une place de plus en plus grande aux mécanismes moléculaires. Ainsi, l'information épigénétique correspond à des modifications de la structure de la chromatine (association ADN-protéines dans le noyau) sous le contrôle de différentes marques sur la chromatine (méthylation de l'ADN, modification post-traductionnelles des histones), induisant des modifications d'expression de gènes et transmissibles par division cellulaire. Cette découverte remet en cause la séquence d'ADN comme *seul* support de l'information héréditaire.

Les conclusions principales sur ces aspects sont :

- Une large gamme de variabilité génotypique de la méthylation de l'ADN est observée entre hybrides de Peuplier. La méthylation de l'ADN est affectée de manière dépendante du génotype par le pédoclimat et entre organes (entre le méristème caulinaire et la jeune feuille émergente) mais pas par la densité de plantation (données uniquement acquises sur jeunes feuilles).

- La variabilité phénotypique des hybrides du Peuplier en termes de production de biomasse est corrélée avec la variabilité de la méthylation de l'ADN dans le méristème caulinaire. Cette corrélation linéaire est positive sur le site d'Échigey et négative sur le site de Saint-Cyr-en-Val. Une corrélation n'implique pas de relation « cause à effet », mais elle renforce l'intérêt d'étudier les variations de méthylation à l'échelle du génome afin d'identifier des indicateurs précoces de la productivité du Peuplier.

- De nombreux loci caractérisés par un différentiel de méthylation entre les apex du génotype Dorskamp cultivé deux ans en TTCR sur les sites de Guéméné-Penfao, Saint-Cyr-en-Val et Échigey ont été identifiés. Ces loci ont été localisés sur les chromosomes du Peuplier et sont souvent localisés dans des gènes. Le rôle de ces séquences reste à démontrer dans le cadre de l'adaptation du Peuplier à son environnement pédoclimatique. Ces résultats correspondent aux premières données sur cette thématique (Le Gac, données non publiées).

Futaies à courte révolution

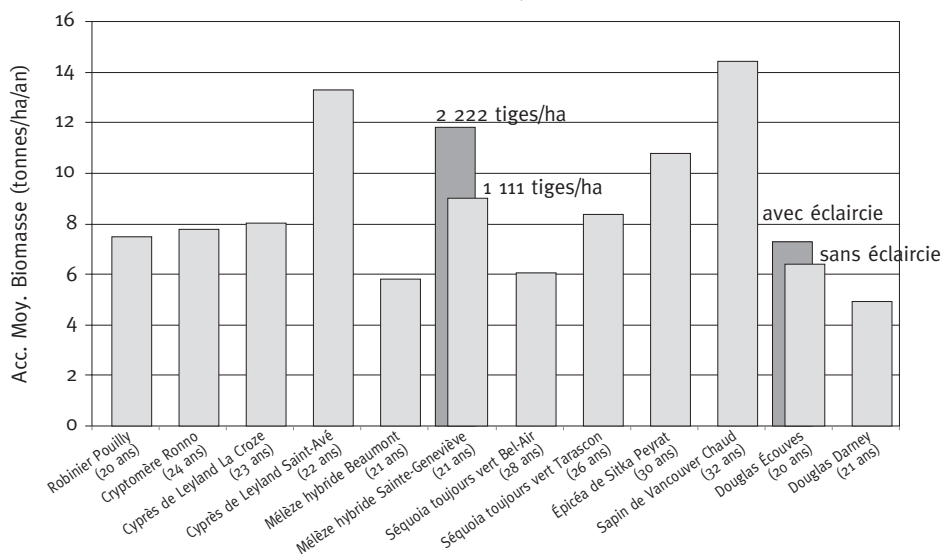
- *Production de biomasse totale en fonction de l'espèce et de la sylviculture*

Les résultats acquis dans le cadre du projet SYLVABIOM montrent que des productions très significatives de biomasse peuvent être espérées par une sélection judicieuse d'espèces forestières à croissance rapide conduites en futaie à courte révolution. Ainsi, dans une station adaptée à l'espèce, il est tout à fait envisageable d'atteindre autour de 25 ans une production de biomasse totale comprise entre 7 et 10 t/ha/an.

Certaines espèces peu ou mal connues, comme le Sapin de Vancouver, le Cyprès de Leyland (*Cupressus macrocarpa* x *Cupressus nootkatensis*) et dans une moindre mesure l'Épicéa de Sitka, révèlent même un potentiel de production de biomasse totale exceptionnel (10 à 14 t/ha/an), qui mériterait d'être confirmé par des mesures prises dans un plus grand nombre de parcelles

(figure 5, ci-dessous). La bonne productivité du Mélèze hybride au stade jeune est confirmée (proche de 12 t/ha/an). Le Douglas, en revanche, se montre décevant dans les deux stations d'étude (5 à 7 t/ha/an). Ces dernières sont sans doute peu optimales pour l'essence car une étude récente a mis en évidence une production plutôt comprise entre 6 et 10 t/ha/an vers 20 ans (Berthelot *et al.*, 2014). Enfin, malgré une densité de plants à l'hectare élevée, le Robinier fait état d'une production de biomasse inférieure à celles des résineux au même âge (7,5 t/ha/an).

FIGURE 5 ACCROISSEMENT MOYEN ANNUEL DE LA BIOMASSE TOTALE OBSERVÉ SUR LES PARCELLES DU PROJET SYLVABIOM



L'effet de la densité du peuplement sur la production de biomasse totale est confirmé (Berthelot *et al.*, 2014). Il semble en effet qu'une densité de plantation d'au minimum 1 100 à 1 200 tiges par hectare soit une condition nécessaire pour espérer produire au moins 8 t/ha/an vers 20 ans. Une sylviculture dédiée (100 % pour l'énergie) ou semi-dédiée (1^{re} éclaircie de 50 % pour l'énergie) devra plutôt envisager des densités supérieures, de l'ordre de 1 600 à 1 800 tiges par hectare, ce qui permettrait de dépasser significativement ces niveaux de production.

• Apport de la génétique

Des gains substantiels de productivité en biomasse peuvent être espérés par une sélection judicieuse de populations et augmentés par la production en masse de leurs meilleures familles ou clones.

Si l'on considère l'ensemble de l'aire d'une espèce (c'est le cas du Sapin de Vancouver et de l'Épicéa de Sitka), le choix de la meilleure population procure un supplément de production proche du double de la production moyenne de l'espèce considérée comme témoin. Lorsque la variabilité au sein de l'aire naturelle est connue, le choix d'une bonne population sauvage au sein d'une bonne région de provenance procure encore un supplément de production de 60 à 70 % (cas du Douglas par exemple).

Au sein d'une population, le gain génétique supplémentaire apporté par la sélection d'individus d'élite sur la base de la performance de leur descendance (taux de sélection de 5 %) est de l'ordre de 50 %. Ce gain est celui que procurerait un verger à graines constitué par l'intercroisement des meilleurs arbres mères sélectionnés en forêt.

Dans le cas très particulier du Mélèze, où l'objectif est de produire des familles issues de l'hybridation entre Mélèze d'Europe et Mélèze du Japon, certaines combinaisons de pleins frères F₁ ont une productivité en biomasse double des meilleures familles de l'espèce pure de Mélèze d'Europe.

Les gains procurés par une sélection de clones sont hautement dépendants de l'espèce. Dans le cas du Douglas, la production réalisée par un clone sélectionné par FCBA est supérieure de 40 % au témoin de référence, qui est lui-même une très bonne provenance. Dans le cas du Séquoia toujours vert ou de l'Épicéa de Sitka, le gain procuré par le meilleur clone passe à 150 % de la moyenne des clones testés. Chez l'Épicéa de Sitka, la valeur élevée du gain observé provient en grande partie de la variabilité du fond génétique testé, constitué de provenances représentatives de presque l'ensemble de l'aire naturelle de l'espèce.

Les gains génétiques sur la production de biomasse présentés ici devront toutefois être ajustés en fonction des objectifs sylvicoles et des liaisons génétiques entre caractères. De la même façon, les observations collectées sur des dispositifs monoarbres doivent être considérées avec précaution compte tenu des effets de la compétition à cette échelle.

CONCLUSIONS

Sur les sites ateliers, des différences significatives ont été mises en évidence, tant en TCR qu'en TTCR, entre les trois espèces, et entre les génotypes au sein d'une même espèce, pour la production de biomasse et l'efficacité d'utilisation des ressources. Les relations complexes entre ces caractères sont modulées en fonction des conditions pédoclimatiques et de la densité de plantation. Toutefois, aucun antagonisme n'a pu être détecté entre production de biomasse et efficacité d'utilisation de l'eau ou de l'azote, ce qui suggère, pour un contexte pédoclimatique donné, la possibilité de sélectionner des génotypes efficaces sans diminuer la production de biomasse. Par ailleurs, la mesure du taux de méthylation de l'ADN d'apex ou de feuilles pourrait constituer un bon prédicteur du potentiel de croissance chez le Peuplier. Enfin, un effet positif de l'épandage de boues de station d'épuration a été constaté sur un TTCR de Saule, deux saisons de végétation après leur application.

Sur des gammes de stations moins favorables que celles où sont généralement cultivés les TCR ou les TTCR, des accroissements moyens en biomasse compris entre 7 et 13 tonnes de matière sèche par hectare par an peuvent être espérés autour de 20 ans avec des conifères à croissance rapide cultivés en futaie. Des gains génétiques très importants sur la production de biomasse sont par ailleurs offerts par la sélection de génotypes performants. Dans la perspective de répondre aux besoins croissants en bois énergie, le projet SYLVABIOM a montré qu'il serait judicieux d'adapter dès maintenant la sylviculture des reboisements en adoptant notamment des densités initiales plus fortes et des éclaircies plus précoces.

Jean-Charles BASTIEN
Guillaume BODINEAU – Jean GAUVIN
UR Amélioration, Génétique et Physiologie forestières
UE Génétique et Biomasse forestière
INRA Centre Val de Loire
2163 avenue de la pomme de pin - CS 4001
F-45075 ORLÉANS CEDEX 2
(jean-charles.bastien@orleans.inra.fr)

Alain BERTHELOT
Patrice MAINE
FCBA Délégation territoriale Nord-Est
60 route de Bonnencontre
F-21170 CHARREY-SUR-SAÛNE
(alain.berthelot@fcba.fr)

Franck BRIGNOLAS
 Alain DELAUNAY – Isabelle LE JAN –
 Stéphane MAURY – Julien TOILLON
 LBLGC EA 1207 Université d'Orléans
 rue de Chartres
 BP 6759
 F-45067 ORLÉANS CEDEX 2
 (franck.brignolas@univ-orleans.fr)

Nicolas MARRON
 Julien TOILLON – Erwin DALLÉ
 UMR Écologie et Écophysiologie forestières
 INRA Centre de Nancy-Lorraine
 F-54280 CHAMPENOUX
 —————
 et —————
 Université de Lorraine
 F-54500 VANDŒUVRE-LÈS-NANCY
 (marron@nancy.inra.fr)

François CHARNET
 Dominique MERZEAU
 IDF CNPF
 13 avenue des droits de l'Homme
 F-45921 ORLÉANS CEDEX 9
 (francois.charnet@cnpf.fr)

Remerciements

Le projet SYLVABIOM ainsi que la thèse de Julien Toillon étaient soutenus par l'Agence nationale de la Recherche (ANR) au travers de son appel « Bioénergies » (ANR-BIO-E 2008). Les données de biomasse et de minéralomasse ont été partagées avec le projet EMERGE (Deleuze *et al.*, 2013), également soutenu par l'ANR. Enfin, les auteurs remercient l'ensemble des équipes techniques ayant contribué à l'acquisition des nombreuses données collectées dans le cadre du projet.

BIBLIOGRAPHIE

- BASTIEN (J.-C.), MARRON (N.), BERTHELOT (A.), LEPLUS (A.). — Les systèmes dédiés à la production de bois énergie en France. Travaux de recherche et projets en cours. — *Revue forestière française*, vol. LXIII, n° 2, 2011, spécial "Ateliers REGEFOR 2009. La forêt face aux défis énergétiques", pp. 217-228.
- BERTHELOT (A.), BOUVET (A.), RICHTER (C.), GIBAUD (G.). — Potentialités de production de biomasse de quelques essences résineuses en conditions forestières – Douglas, Épicéa commun, Épicéa de Sitka, Cyprès de Leyland, Séquoia toujours vert, Cryptomère du Japon, Pin maritime. — *Revue forestière française*, vol. LXVI, n° 5, 2014, pp. 695-713.
- BONDUELLE (P.). — Taillis de peupliers à courtes rotations, Tarifs de poids. — *Annales des Recherches sylvicoles AFOCEL*, 1983, pp. 375-401.
- COTTIER (C.). — Effet du contexte pédoclimatique sur la méthylation de l'ADN chez des hybrides de Peuplier cultivés en taillis à très courte rotation (ANR SYLVABIOM). — Université Pierre et Marie Curie (Paris VI), 2013. — 28 p. (Master 2 en Biologie intégrative et Physiologie).
- DELEUZE (C.), MORNEAU (F.), CONSTANT (T.), SAINT-ANDRÉ (L.), BOUVET (A.), COLIN (A.), VALLET (P.), GAUTHIER (A.), JAEGER (M.). — Le Projet EMERGE pour des tarifs cohérents de volumes et biomasses des essences forestières françaises métropolitaines. — *Rendez-vous techniques de l'ONF*, n° 39-40, 2013, pp. 32-36.
- GOURCILLEAU (D.), BOGEAT-TRIBOULOT (M.B.), LE THIEC (D.), LAFON-PLACETTE (C.), DELAUNAY (A.), EL-SOUD (W.A.), BRIGNOLAS (F.), MAURY (S.). — DNA methylation and histone acetylation: genotypic variations in hybrid poplars, impact of water deficit and relationships with productivity. — *Annals of Forest Science*, 2010, pp. 67-208.
- JØRGENSEN (U.), SCHELDE (K.). — Energy crop water and nutrient use efficiency. — International Energy Agency. IEA Bioenergy Task 17, Short Rotation Crops, 2001. — 38 p.
- LAFON-PLACETTE (C.). — Contrôle épigénétique de la plasticité de l'appareil végétatif du peuplier en réponse à des variations de la disponibilité en eau. — Université d'Orléans, Faculté des Sciences, 2012. — 314 p. (Thèse en Biologie et physiologie végétale – Épigénétique).

- LAFON-PLACETTE (C.), FAIVRE-RAMPANT (P.), DELAUNAY (A.), STREET (N.), BRIGNOLAS (F.), MAURY (S.) – Methylome of DNase I sensitive chromatin in *Populus trichocarpa* shoot apical meristematic cells: a simplified approach revealing characteristics of gene-body DNA methylation in open chromatin state. — *New Phytologist*, 197, 2013, pp. 416-430.
- PLOMION (C.), BASTIEN (C.), BOGEAT-TRIBOULOT (M.-B.), BOUFFIER (L.), DEJARDIN (A.), DUPLESSIS (S.), FADY (B.), HEUERTZ (M.), LE GAC (A.-L.), LE PROVOST (G.), LEGUE (V.), LELU-WALTER (M.-A.), LEPLE (J.-C.), MAURY (S.), MOREL (A.), ODDOU-MURATORIO (S.), PILATE (G.), SANCHEZ (L.), SCOTTI (I.), SCOTTI-SAINTAGNE (C.), SEGURA (V.), TRONTIN (J.-F.). — Forest tree genomics: 10 achievements from the past 10 years and future prospects. — *Annals of Forest Science*, 2015. DOI 10.1007/s13595-015-0488-3.
- TOILLON (J.), FICHOT (R.), DALLE (E.), BERTHELOT (A.), BRIGNOLAS (F.), MARRON (N.). — Planting density affects growth and water-use efficiency depending on site in *P. deltoides* x *P. nigra*. — *Forest Ecology and Management*, 304, 2013a, pp. 345-354.
- TOILLON (J.), ROLLIN (B.), DALLE (E.), FEINART-DURANCEAU (M.), BASTIEN (J.-C.), BRIGNOLAS (F.), MARRON (N.). — Variability and plasticity of productivity, water-use efficiency, and nitrogen exportation rate in *Salix* short-rotation coppice. — *Biomass & Bioenergy*, 56, 2013b, pp. 392-404.

AUGMENTER LE NIVEAU DE PRODUCTION DE BIOMASSE DES CULTURES LIGNEUSES DÉDIÉES OU SEMI-DÉDIÉES. PRINCIPAUX ENSEIGNEMENTS DU PROJET SYLVABIOM (Résumé)

Dans le cadre d'un traitement en taillis à courte ou très courte rotation (TCR et TTCR), le projet SYLVABIOM s'est appuyé sur le suivi de la croissance et de l'efficacité avec laquelle les arbres de trois espèces (Peuplier, Robinier et Saule) utilisent l'eau et l'azote dans un réseau de quatre sites ateliers, situés dans des stations contrastées. La pertinence du taux de méthylation de l'ADN en tant que marqueur précoce du niveau de productivité a également été évaluée. Dans le cadre d'un traitement en futaie à courte révolution (FCR), le projet a reposé sur la collecte de données de croissance et de biomasse dans les réseaux expérimentaux, pour construire des tarifs compartimentés (bois de tronc, écorce, branches et feuilles) d'essences forestières à croissance rapide peu ou pas documentées. Des différences significatives ont été mises en évidence, tant en TCR qu'en TTCR, entre les trois espèces, et entre génotypes au sein d'une espèce, pour la production en biomasse, ses déterminants phénologiques, foliaires et architecturaux et l'efficacité d'utilisation des ressources. Les relations complexes entre ces caractères sont modulées en fonction des conditions pédoclimatiques et de la densité de plantation. La mesure du taux de méthylation de l'ADN d'apex ou de feuilles pourrait constituer un bon prédicteur du potentiel de croissance chez le Peuplier. Des productions moyennes annuelles de biomasse comprises entre 7 et 13 tonnes de matière sèche par hectare et par an peuvent être espérées autour de 20 ans avec des conifères à croissance rapide cultivés en FCR sur d'autres gammes de stations que les espèces cultivées en TCR ou TTCR. Des gains génétiques très importants sur la production de biomasse sont par ailleurs offerts par sélection de génotypes performants.

INCREASING THE BIOMASS PRODUCTION LEVEL OF DEDICATED OR SEMI-DEDICATED WOODY CROPS. MAIN LESSONS LEARNED FROM THE SYLVABIOM PROJECT (Abstract)

For three species (poplar, black locust and willow) cultivated as short or very short rotation coppices (SRC/VSRC), the project relied on monitoring growth and efficiency with which trees use water and nitrogen in a network of four experimental sites, located in contrasting stations. The relevance of DNA methylation levels as an early marker of the level of productivity was also evaluated. For short-rotation plantations (SRP), the project was based on the collection of growth and biomass data in experimental networks, to build compartmented biomass yield tables (trunk, bark, branches and leaves) for forest species for which the literature is scarce. Significant differences appear, both in SRC and VSRC, between the three species, and between intra-specific genotypes for biomass production, its phenology, architecture, leaf structure, and resource use efficiency. The pedoclimatic conditions and the planting density modulated the complex relationships between these traits. Measurement of apex or leaf DNA methylation rate may be a good predictor for the growth potential in poplar. Mean annual biomass production ranging from 7 to 13 dry tons/ha can be expected at age 20 years with fast-growing conifers grown in SRP on site types other than those used for SRC and VSRC. Moreover, very significant genetic gains on biomass production in SRP are also offered by selection of efficient genotypes.