



Diversité génétique des sapins pyrénéens

Projet « sapin de Volvestre »

B. Fady, A. Roig, M. Lingrand

INRA – URFM, Ecologie des Forêts Méditerranéennes, Avignon

B. Musch, B. Le Guerroué, R. Chircop-Beck

USC ONF-INRA





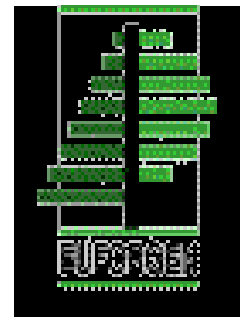
La politique de conservation des ressources génétiques forestières : pourquoi ?

- **La diversité génétique des arbres forestiers est le meilleur garant de leur adaptation (santé, stabilité, croissance, changement climatique).**
- **Elle doit être maintenue, voire élargie.**
- **Une politique globale de conservation est nécessaire pour la gestion des ressources génétiques forestières (in situ, ex situ).**
- **La gestion pour l'adaptation à long terme doit progressivement intégrer les pratiques courantes de gestion forestière.**



La politique de conservation des ressources génétiques forestières : le cadre légal

- **Convention sur la diversité biologique (CBD, 1992)**
- **Conférence Ministérielle sur la Protection des Forêts en Europe (MCPFE, 1990, 1993, 1998, 2003, 2007)**
- **Programme Européen de Conservation des Ressources Génétiques Forestières (Euforgen, 1994)**
- **Commission (Nationale) des Ressources Génétiques Forestières (CRGF, 1992)**



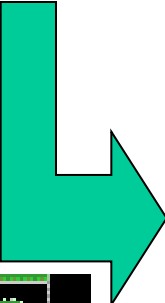
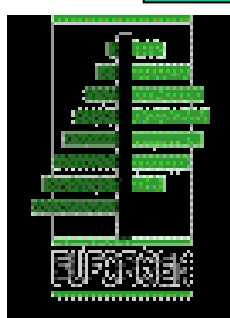
Commission
Ressources
Génétiques
Forestières



Conserver le potentiel adaptatif des espèces forestières : une approche pragmatique en France et en Europe

- Favoriser « *des méthodes simples, faciles à mettre en oeuvre et efficaces sur le long terme* » (Arbez, 1994)
- « *La variabilité génétique des espèces est calquée sur la variabilité des milieux qu'elle occupe* » (Steinmetz, 1991)

Commission
Ressources
Génétiques
Forestières

- 
- 
- Echantillonner dans les principales zones de présence
 - Grands découpages écologiques (base : régions de provenance)
 - Compléments avec situations écologiques marginales
 - Apports de données marqueurs phénotypiques, adaptatifs et moléculaires



Les réseaux de conservation des ressources génétiques forestières en France

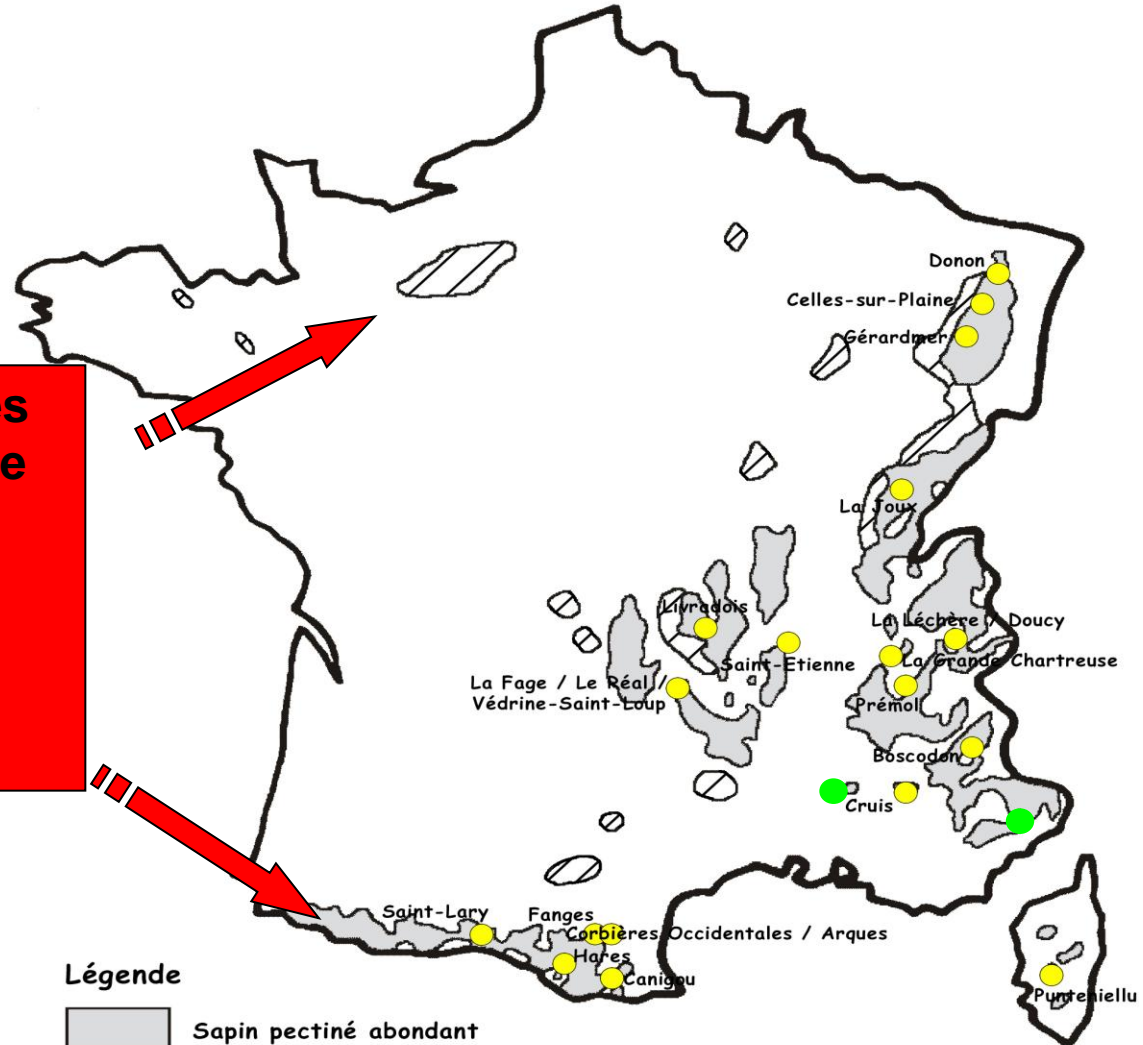
- Réseaux in situ existants : *Abies alba*, *Fagus sylvatica*, *Populus nigra*, *Quercus petraea*, *Ulmus* sp.
- Réseaux ex situ existants : *Ulmus* sp., *Juglans regia*, *Populus nigra*.
- Réseaux in situ en cours de construction : *Picea abies*, *Pinus nigra salzmanni*, *Pinus pinaster*, *Pinus sylvestris*.

Commission
Ressources
Génétiques
Forestières

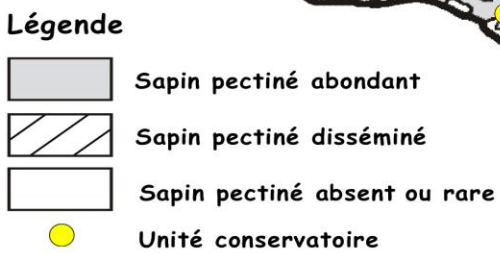
Réseau de conservation *in situ* des ressources génétiques du sapin pectiné (*Abies alba*)

Source : Cemagref Nogent/V.

- Une couverture des principales zones de présence
- Un réseau en évolution
- Des lacunes



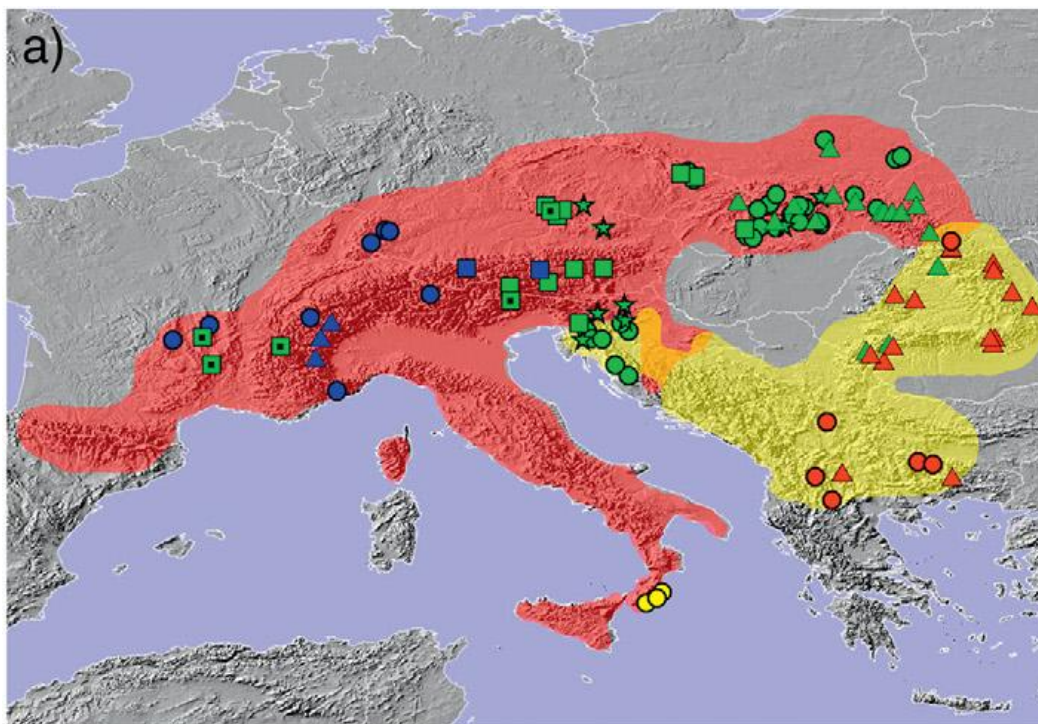
Commission
Ressources
Génétiques
Forestières



0 100 km
Source : Cemagref, 2004
Réalisation : Léo CASTEX

Caractérisation de la diversité génétique neutre de la sapinière de Ste Croix Volvestre et des sapins pyrénéens

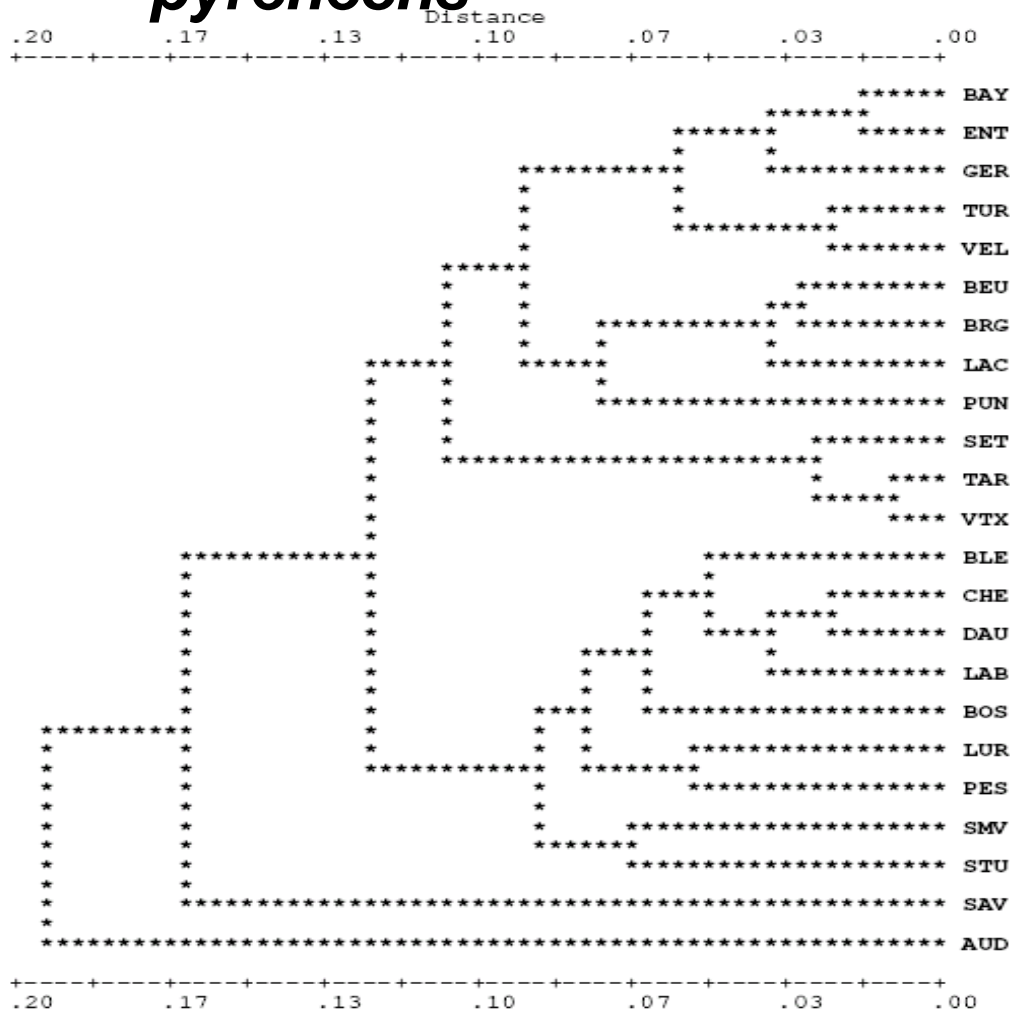
Une phylogénie du sapin pectiné à l'échelle européenne: le sapin pyrénéen, le grand absent.



Fond coloré : les lignées ancestrales ADNmt

Points colorés : les groupes récents (isozymes et cpSSR)

Caractérisation de la diversité génétique neutre de la sapinière de Ste Croix Volvestre et des sapins pyrénéens



**Le sapin pyrénéen :
une forte originalité
génétique par
rapport au sapin
alpin, un ou des
refuges glaciaires
indépendants**



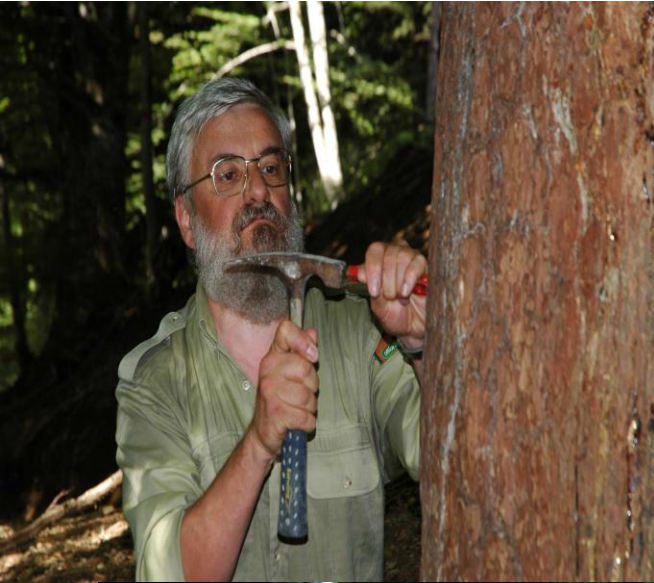
Comment mieux représenter des ressources génétiques?

- **Le grand absent: le massif pyrénéen et en particulier la partie centrale et occidentale;**
- **Les sapinières de basse altitude: Sainte croix Volvestre, le sapin de Normandie, sud du massif central**
- **Les sapinières en conditions méridionales**



Comment avons-nous procédé

Le matériel



Extraction de l'ADN

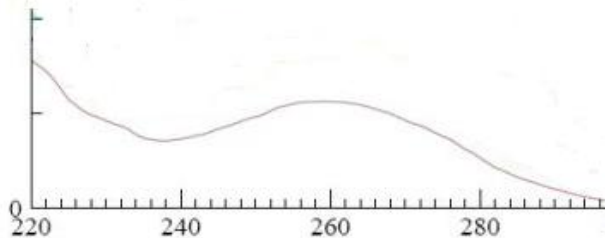
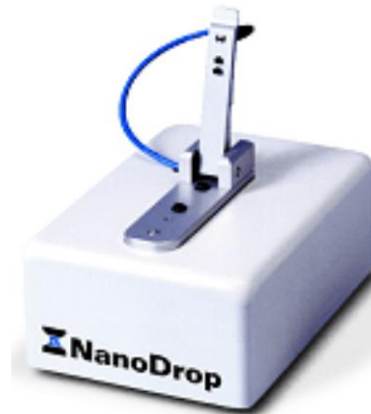
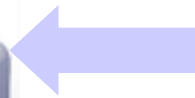
Mise en plaque « elisa » des échantillons (96 ind identifiés)



Broyage



Extraction de l'ADN par une série de produits chimiques

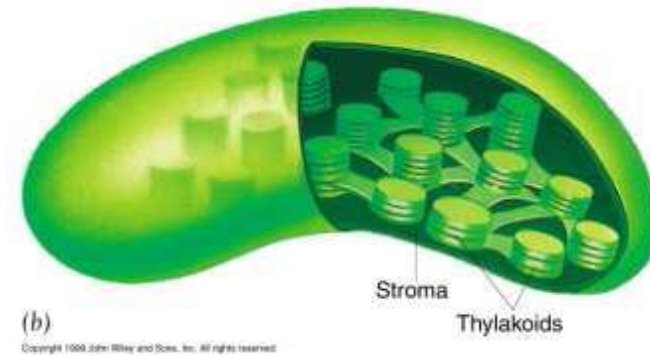
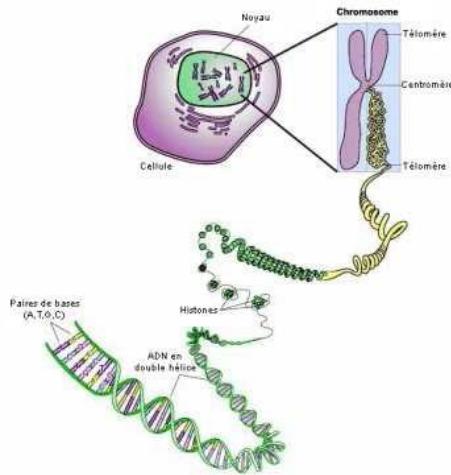


Dosage de la quantité et qualité de l'ADN



Stockage au froid avant utilisation

2 types de marqueurs moléculaires



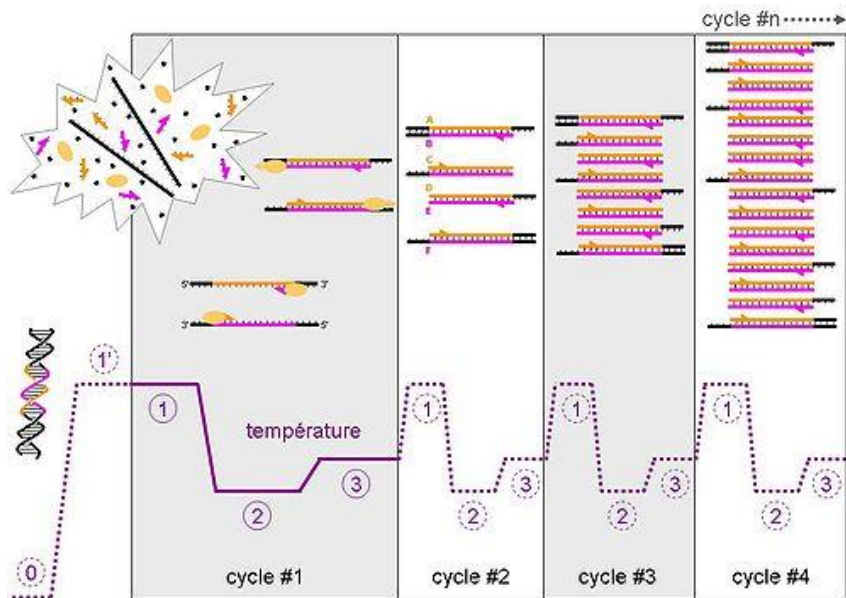
NUCLEAIRE

- Estimer le niveau de diversité génétique neutre
- caractériser les différences entre peuplements/ régions/massifs
- Suivre le régime de reproduction au sein des peuplements

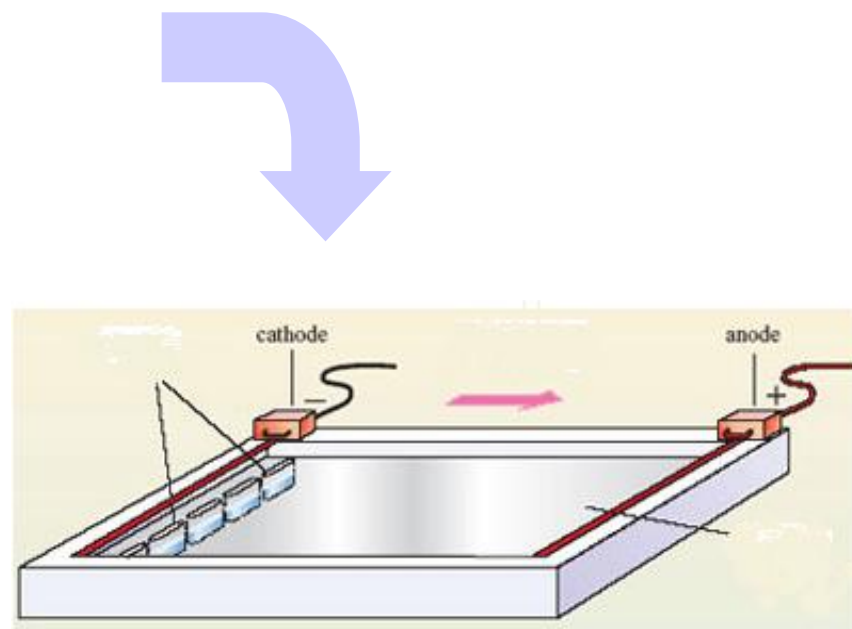
CHLOROPLASTE

- Identifier des hybridations avec d'autres sapins
- Caractériser les différences entre peuplements/ régions/massifs

Amplification de L'ADN

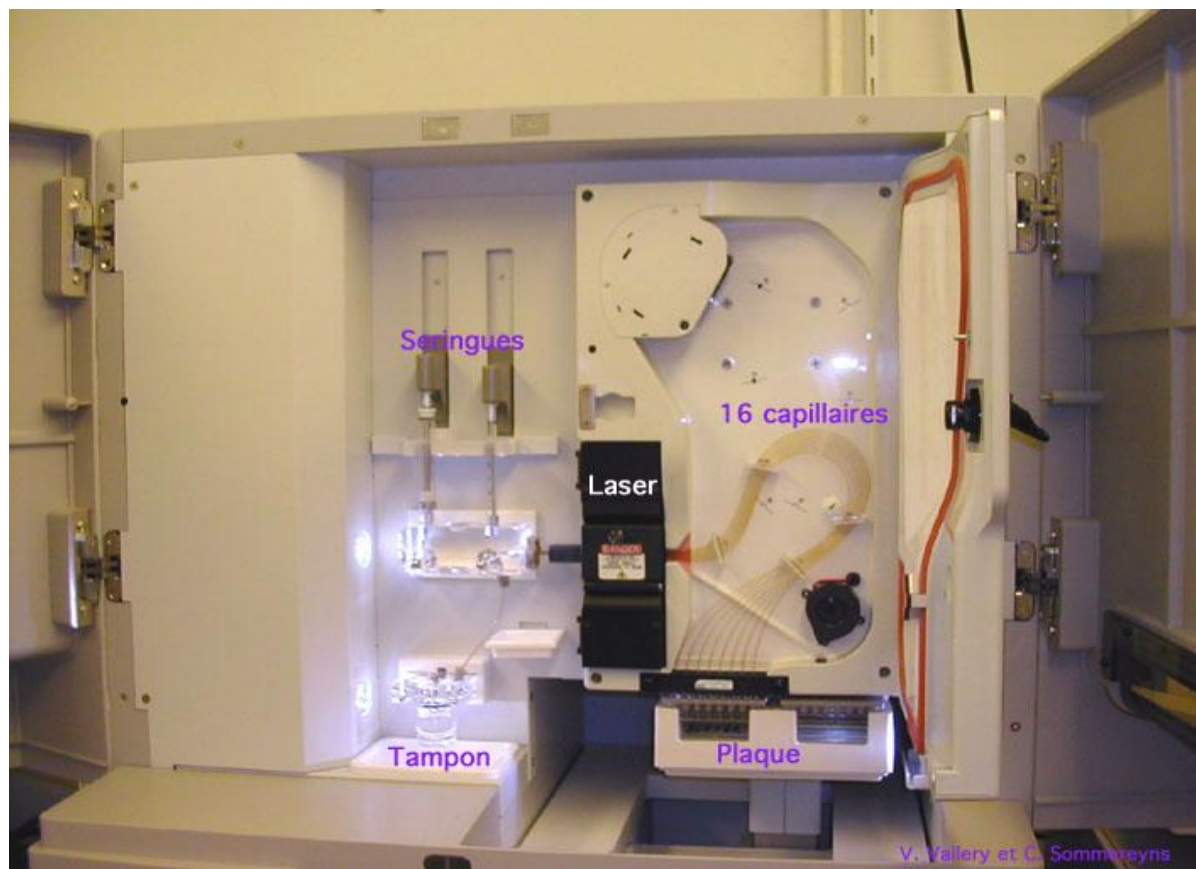


A partir d'un brin
d'ADNt multiplication
 2^{32}

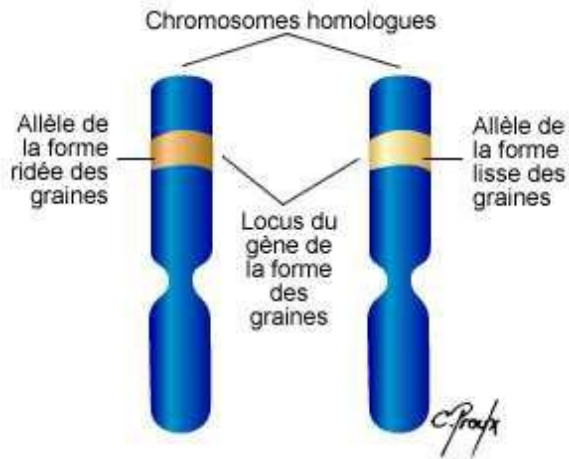


Vérification de
l'amplification

Mesure de la taille du marqueur



Quelques définitions liés à la mesure de la diversité génétique



Allèles = différentes versions d'un même gène. Les allèles d'un gène occupent le même emplacement sur le chromosome

Génotype = empreinte individuelle de tous les marqueurs génétiques haploïdes testés sur un individu

Haplotype = empreinte individuelle de tous les marqueurs génétiques haploïdes testés sur un individu

Richesse allélique = Nb d'allèles différents au même gène dans une population donnée

Taux d'hétérozygotie = mesure la diversité des deux allèles d'un gène

Au niveau du gène

Au niveau de l'individu

Au niveau de la population



Résultats de l'ADN nucléaire



Echantillonnage

■ Pyrénéen

- 45 populations
- Le long du gradient est/ouest et nord/sud
- Structuré par bassin versant et région forestière
- Par type d'habitat et écologie

■ Quelques populations supplémentaires

- 1 populations corse
- 2 populations alpines
- 4 populations cévenoles

Un échantillonnage pyrénéen très conséquent et écologiquement structuré



- 45 populations de 30 individus (cambium) en moyenne
- 1359 individus pyrénéens génotypés
- 10 marqueurs nSSR

Quelques données sur la variabilité des marqueurs et la diversité génétique

110 locus microsatellites nucléaires (nSSR), tous polymorphes dans toutes les populations

NNb moyen d'allèles par locus : 19 (de 6 à 36)

SStructuration inter-populations relativement forte (AMOVA = 12% de la variance génétique totale / $G_{st} = 0,063$)

EEquilibre Hardy Weinberg ($H_e = 0,617$, $H_o = 0,595$, $F_{is} = -0,07ns$) : en moyenne, pas de consanguinité et pas de structuration spatiale locale.

Une explication à la diversité inter-populations : structuration spatiale de la diversité génétique

Le regroupement le plus probable des individus des 45 peuplements naturels sur la base de leur génotype multilocus nSSR est : $K = 2$ groupes

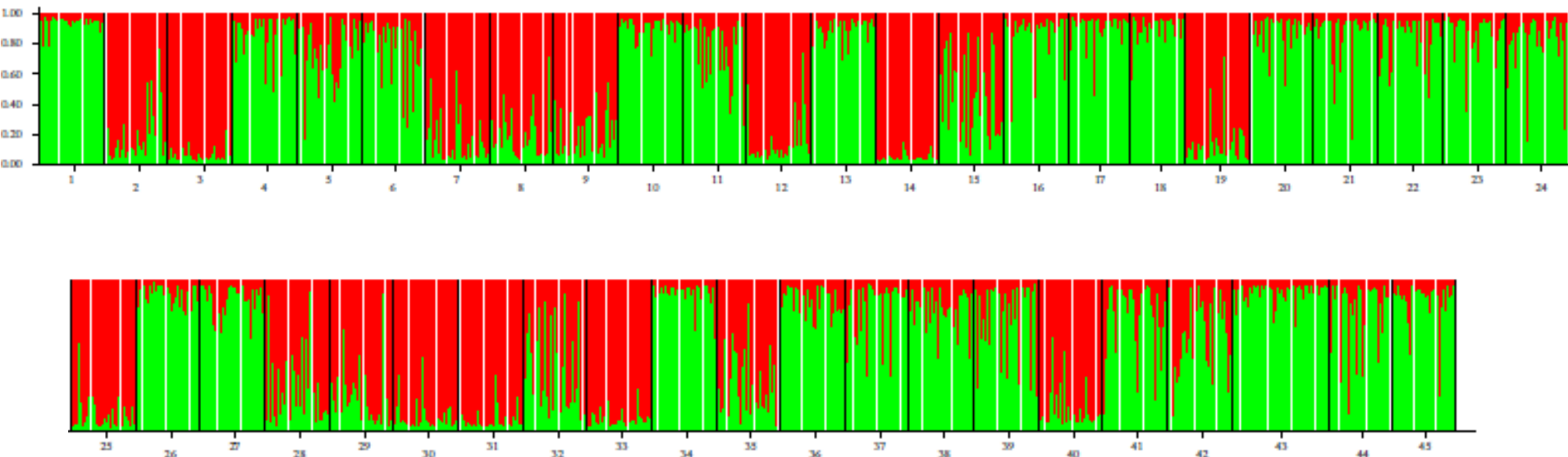
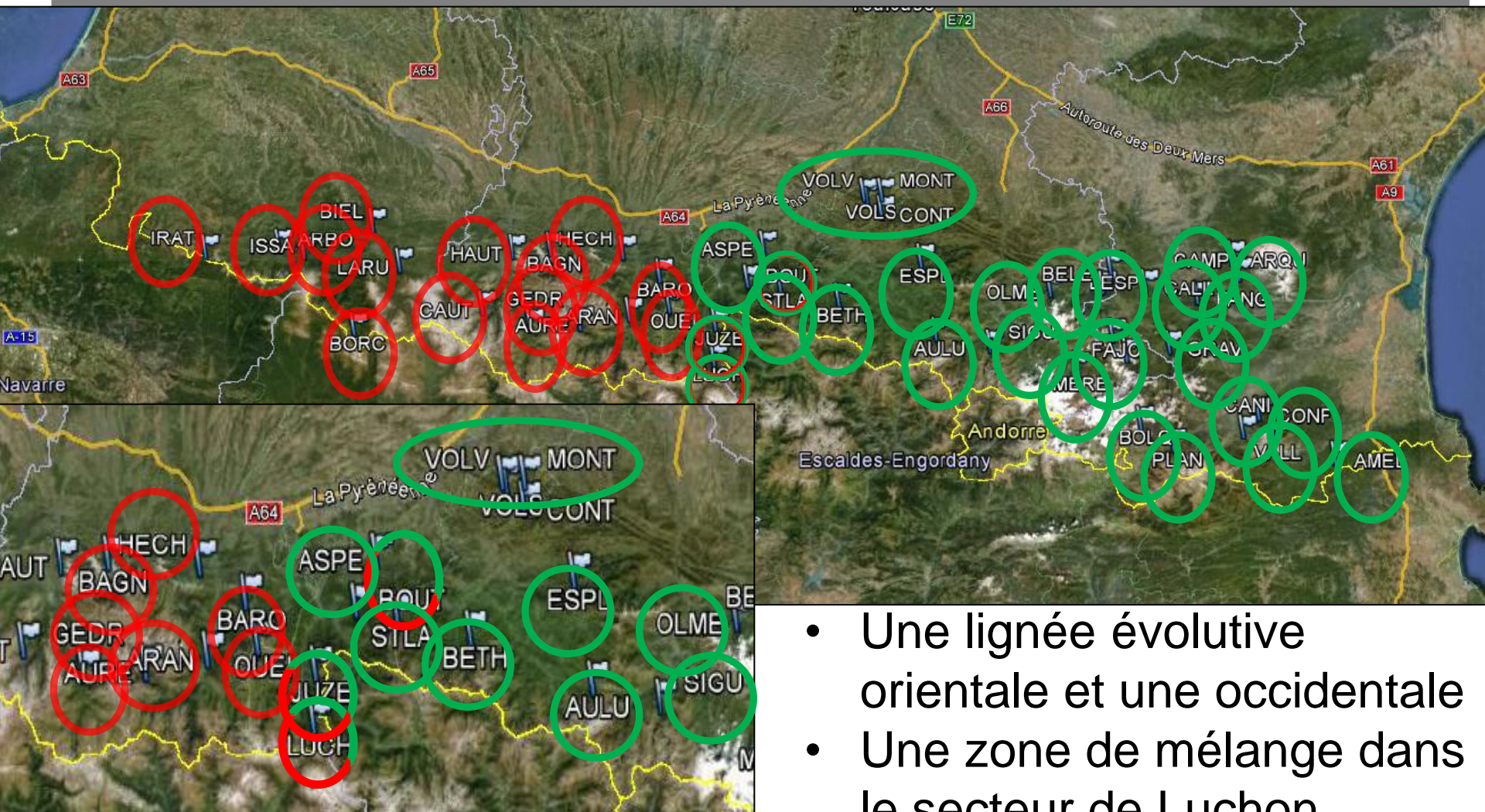


Figure : probabilité individuelle d'appartenance à l'un ou l'autre groupe (approche bayésienne, logiciel Structure).

Répartition géographique des deux groupes génétiques



- Une lignée évolutive orientale et une occidentale
- Une zone de mélange dans le secteur de Luchon

Le cas particulier de la population Aspe : une origine artificielle issue de plantation et de mélange de graines ?

La population Aspe : très forte diversité ($H_e = 0,770$)

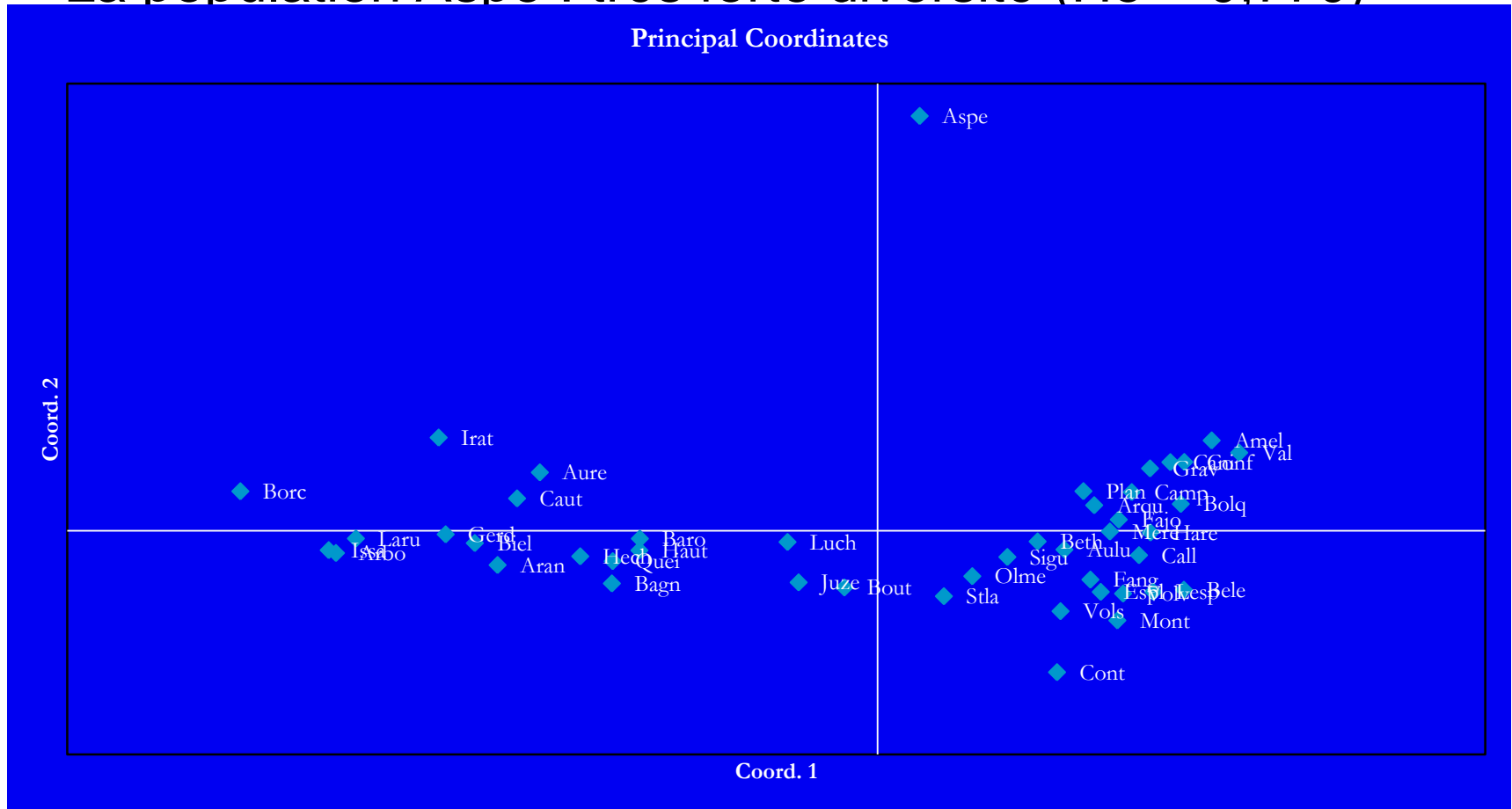
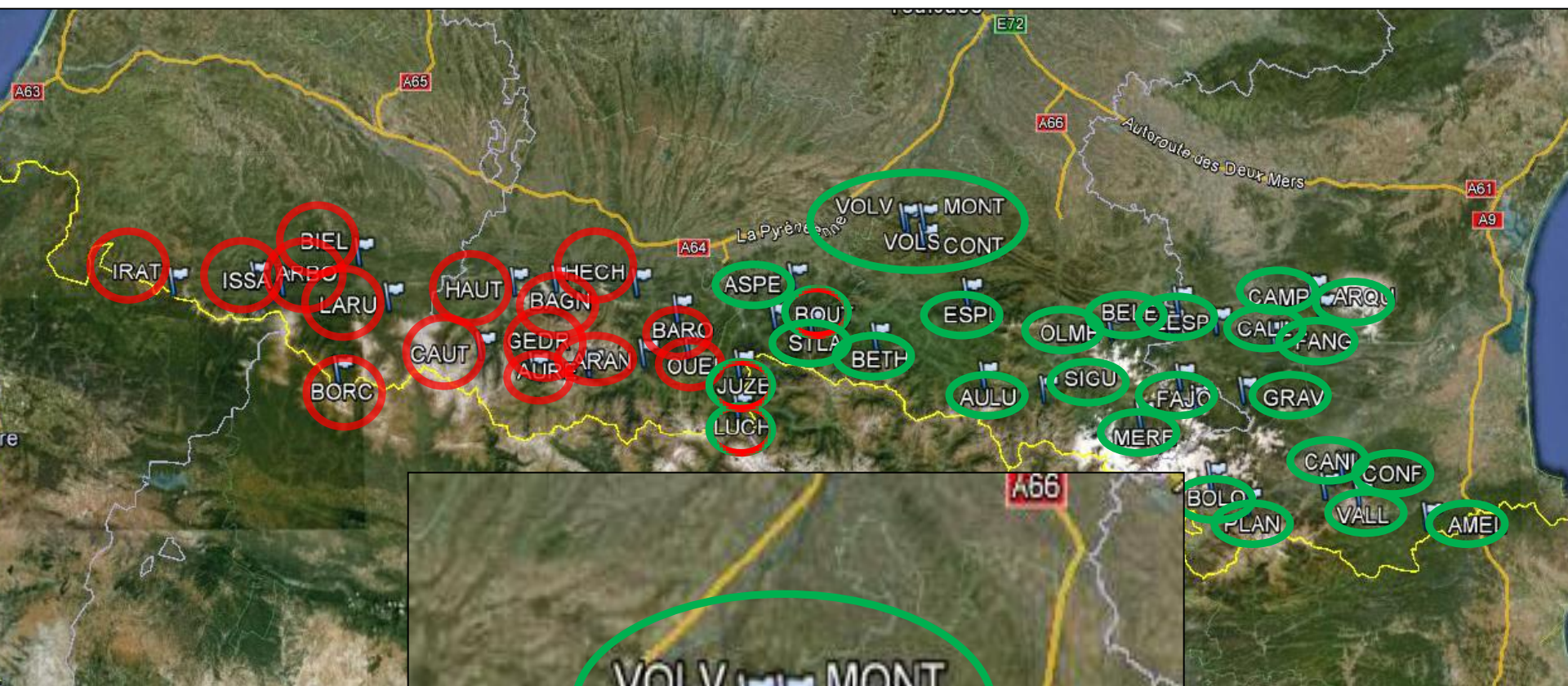
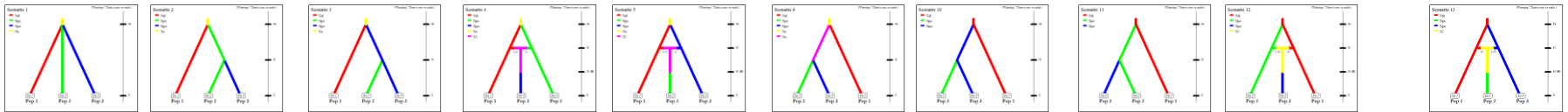


Figure : Analyse en Composantes Principales sur les fréquences alléliques

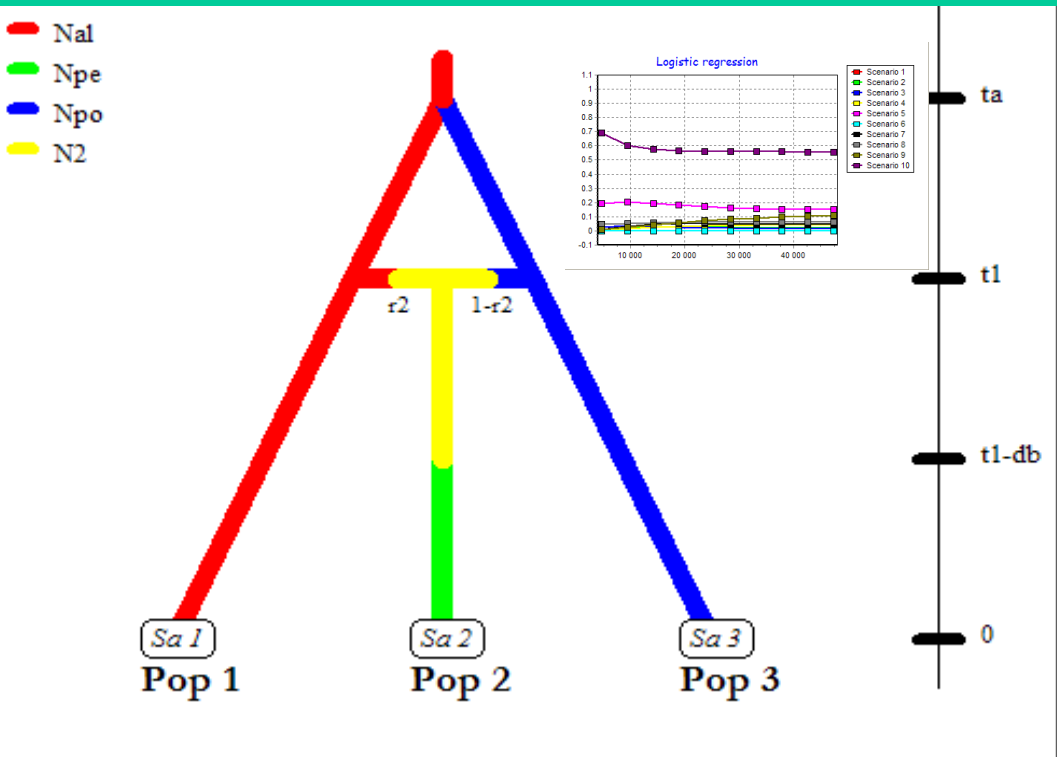
La sapinière du Volvestre appartient clairement à la lignée géographique orientale



Un scénario démographique pour expliquer la structure géographique du sapin dans les Pyrénées : tests en cours



Le meilleur scénario démographique parmi les 10 testés (méthode ABC)



Ancêtre= **Alpes**

Pyrénées ouest= divergence ancienne

Pyrénées est= mélange **Alpes**+pyrénées ouest+goulot d'étranglement



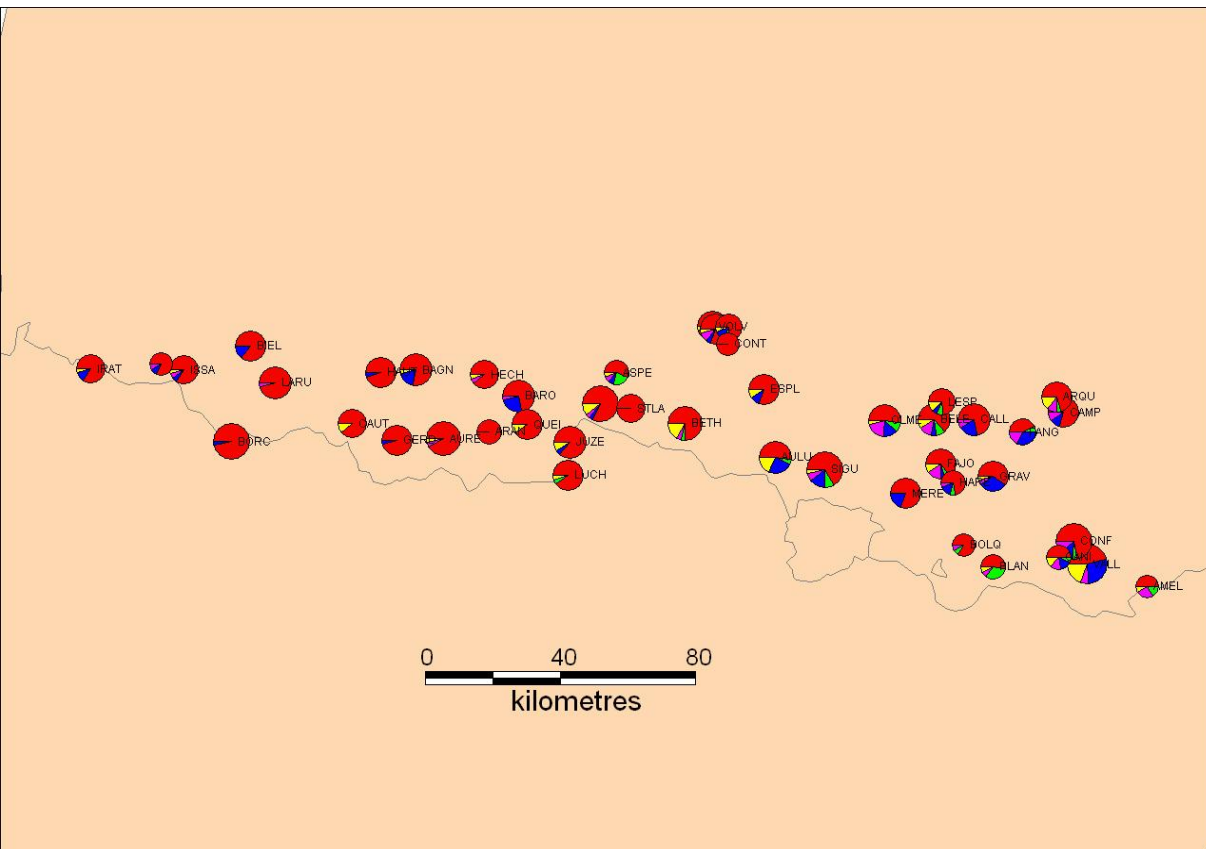
Résultats ADN chloroplastique



Quelques données sur la variabilité des marqueurs chloroplastiques et la diversité génétique

- 6 locus microsattellites chloroplastiques (cpSSR), 5 sont polymorphes dans toutes les populations
- Nb moyen d'allèle par locus: 3,62 (de 2,33 à 4,5)
- Nb moyen d'allèle efficace par locus: 2,02 de (1,26 à 2,8)
- Diversité intra population $H=0,40$ (0,53 à 1,84)

Diversité haplotypiques importantes



- 102 haplotypes détectés
- 14 haplotypes en moyenne par populations
- 1 haplotype très fréquent et 36 unique
- Inversion des fréquences haplotypiques entre les Alpes et les Pyrénées
- Populations cévenoles intermédiaires



■ Une structuration entre massif

- Inversion des fréquences haplotypiques entre les Alpes et les Pyrénées
- Populations cévenoles intermédiaires
- Une augmentation de la variabilité de l'ouest vers l'est des Pyrénées en nombre d'haplotypes



■ Des populations atypiques

- **Borce: diversité allélique ($H=0,53$) et haplotypique la plus faible (4). Population récente ou isolée?**
- **Aspe et Vallespire : une diversité très importante pouvant être du soit à des multiples origines soit à des flux de pollen importants**
- **Mais la population de volvestre ne se distingue pas des populations environnantes ni de celles des Pyrénées**

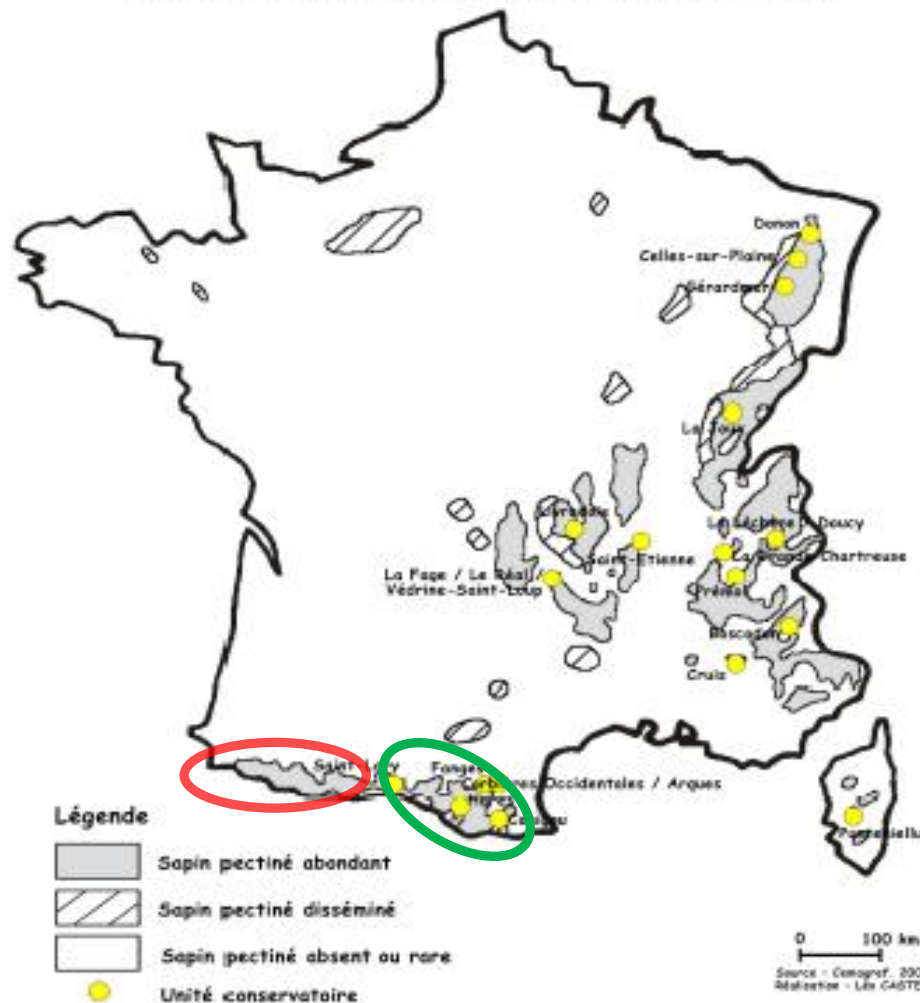


Perspectives

- **Vérifier l'autochtonie de la forêt d'Aspe et l'isolement de celle de Borce**
- **Redéfinir des UC dans l'ouest du massif pyrénéen pour compléter le réseau de conservation des ressources génétiques**
- **Comparer avec la variabilité des autres UC en cours de récolte pour même type d'analyse**

Conservation des RGF sapin dans les Pyrénées: la lignée **occidentale** n'est pas représentée !

Réseau de conservation *in situ* des ressources génétiques du sapin pectiné (*Abies alba*)



L'absence d'unité conservatoire dans le secteur ouest pyrénéen constitue un manque dans la stratégie nationale de conservation des RGF du sapin pectiné.



Projet Giono



■ Objectifs

- **Premier objectif: Préservation des ressources génétiques vulnérables**
- **Deuxième objectif: Mieux connaître les capacités d'adaptation de ces populations à la sécheresse**



■ Démarche

- **S'appuyer sur un réseau de RGF connus**
 - **Peuplements sélectionnés**
 - **Réseau de conservation in situ**
- **Utiliser l'outil de simulation IKS issu du projet Nomades pour détecter les zones vulnérables au CC**
- **Croiser les deux répartitions pour sélectionner les populations.**



Résultats

■ Sélection des UC vulnérables par modélisation

- Données utilisées: climat présents, hypothèses pour 2080, worldclim ipcc4 avec le rayonnement, ETP de turc.
- Enveloppe bioclimatique froid hivernal, sommes des températures, déficit hydrique.
- Nota bene: les méthodes de calcul du bilan hydrique ont évolué depuis 2011 sans remettre en cause le choix des UC vulnérables.

Forêts vulnérables au changement climatique

		actu	moyennefut	aggravation
AA05	FD la Joux	0	0	0
AA10	FD Gérardmer	0	0	0
AA19	FC de la Brigue	0,557	1,12975	0,707
AA15	FD de la Grande Chartreuse	3,71	5,525	3,868
AA08	FD du Canigou	2,637	4,6945	4,134
AA11	FD des Hares	0	2,367	5,311
AA23	FD des Trois Asses	32,161	40,25825	15,175
AA01	FD du Donon	1,839	7,736	17,296
AA14	FD de Boscodon	9,729	20,6495	22,456
AA17	FC de Saint-Etienne	7,43	19,4735	29,573
AA12	FD Saint-Lary	0	9,194	30,254
AA18	FC de la Léchère-Doucy	2,38	22,49375	37,133
AA22	FC de Beaumont-du-Ventoux	72,396	100,62	40,206
AA04	FT Punteniellu	14,783	36,6365	40,611
AA16	Fd de Prémol	43,866	65,89975	43,607
AA13	FC de Cruis	44,165	74,669	48,582
AA09	FD celles sur Plaine	4,327	26,7395	51,489
AA06	FD Riassesse et FC Arques	113,214	154,57825	64,701
AA07	FD des Fanges	91,902	137,81175	69,159
AA03	FD Livradois	4,919	44,2065	75,747
AA02	FS la Fage	18,79	61,95075	81,667



■ Bilan des récoltes

- **Problème de suivi de la fructification: peu ou pas de données sur les floraisons et fructifications sauf sur peuplements sélectionnés pour ceux récoltés**
- **Difficultés pour certains peuplements pour trouver 20 arbres fructifères une année donnée sur le ND de l'UC**



Conclusion

■ De nombreux enseignements:

- Capacité à prédire une bonne fructification
- Suivi des peuplements
- Capacité à se mobilier
- Problème pour récolter la quantité voulue

■ Que faire pour la suite

- À quelles populations s'adresse t'on (France, aire naturelle, populations marginales...)
- Toute essence venant « buter » sur la limite climatique sèche de sa niche est vulnérable au CC