

Mesure du potentiel d'adaptation des arbres forestiers au changement climatique : approches in-situ et ex-situ sur gradients altitudinaux à l'aide de dispositifs de transplantation croisée (Gradient Altitudinal, GRAAL)

Rapport Final

Table des matières

Aspects administratifs	1
Introduction.....	2
Objectifs des recherches	3
1. Matériel et Méthodes	3
1.1 Deux espèces modèles, le mélèze d'Europe et le sapin pectiné, sur quatre gradients altitudinaux.....	3
1.2 Méthodes d'études des mécanismes d'adaptation sur arbres adultes en place.....	6
1.3 Approches des mécanismes de l'adaptation locale par l'installation et l'étude de dispositifs de transplantation croisée	10
2. Résultats et discussion	11
2.1 Mesure de la réponse à l'échelle de la saison de végétation : suivi de la formation du bois .	11
2.2 Mesure de la réponse à l'échelle de la vie des arbres : approche microdensitométrique	19
2.3 Mécanismes non sélectifs de la structuration génétique	25
2.4 Mécanismes sélectifs et adaptation locale	26
3. Conclusions.....	30
4. Références Bibliographiques	31

Aspects administratifs

Date d'engagement : 26 janvier 2011

Montant du budget : subvention 267 000 pour un budget total de 267 373,60

Participants au projet

Responsable scientifique du projet :

Philippe Rozenberg
INRA Val de Loire Orléans UR0588
2163 Avenue de la Pomme de Pin, CS 40001 ARDON,
45075 ORLEANS Cedex 2
philippe.rozenberg@orleans.inra.fr

Partenaires Scientifiques :

INRA Val de Loire, Orléans

- Charpentier J.-P., Guérin V., Millier F., Pâques L., Sanchez L., Nardin M., Rozenberg P., INRA Val de Loire, UR 0588, unité de recherche AGPF, Orléans

- Poursat P. (et la plupart des agents de l'UE) INRA Val de Loire, UE 0995 GBFOR, unité expérimentale Génétique et Biomasse Forestières d'Orléans
- J.-P. Charpentier, F. Millier, Plateau Technique Génobois (INRA Val de Loire Orléans et Bordeaux)

INRA PACA, Avignon

- S. Oddou-Muratorio, C. Pichot, H. Davi, B. Fady, A. Latreille, INRA PACA, UR 0629, unité de recherche Forêts Méditerranéennes, Avignon
- J.-C. Martin, F. Jean, UE 3048, unité expérimentale Entomologie et Forêt Méditerranéenne, INRA PACA, Avignon
- F. Huard, INRA, US 1116, INRA PACA, unité de service Agroclim, Avignon

INRA Bordeaux

- Gerber S., INRA Bordeaux, UMR 1202 Biogeco et F. Salin, INRA, Plateforme Génome Transcriptome, Bordeaux

INRA Nancy

- C. Rathgeber, INRA et ENGREF, UMR 1092 Lerfob, Nancy

INRA Montpellier

- J.-P. Rossi, INRA Montpellier, UMR CBGP, Montpellier

ONF

- J. Ladier, B. Musch, Y. Rousselle, C. Ruth, J. Baubion, ONF, Centre PACA, direction scientifique de Fontainebleau et CGAF Orléans

Mots clés :

Adaptation biologique, Gradient altitudinal, Transplantation réciproque, Climat, Mélèze, Sapin

Introduction

La plupart des peuplements d'arbres forestiers se distribuent et se structurent le long de gradients latitudinaux et longitudinaux et, pour certaines espèces, le long de gradients altitudinaux. Cette distribution altitudinale est associée à des variations environnementales de deux grands types : des facteurs qui ne sont pas spécifiquement liés à l'altitude, comme par exemple l'humidité, la fertilité des sols ou la force du vent, et des facteurs physiquement liés à l'altitude, comme la pression atmosphérique, la température de l'air, les radiations solaires et la quantité d'UV reçue (irradiance). De tous les facteurs liés physiquement à l'altitude, la température est celui qui varie le plus fortement et le plus systématiquement : elle diminue de 5,5°C pour chaque kilomètre d'altitude, soit 800 fois plus rapidement qu'avec la latitude.

A ces fortes variations environnementales correspondent des pressions de sélection divergentes favorisant l'apparition de phénotypes et de groupes d'arbres différemment adaptés en fonction de l'altitude.

L'adaptation génétique est, avec la plasticité phénotypique et la migration, l'un des trois mécanismes d'adaptation qui permettent aux populations de s'harmoniser vis-à-vis des variations de leur environnement (Aitken et al. 2008). L'adaptation génétique peut conduire une population distribuée le long d'un gradient altitudinal à se différencier en plusieurs groupes d'arbres adaptés localement, sous l'effet de pressions de sélection divergentes. Ces groupes d'arbres tendent à se différencier phénotypiquement et génétiquement, développant des différences de fréquences alléliques pour les allèles codant pour les caractères soumis à sélection.

Selon le concept d'adaptation locale, une population présente dans son environnement d'origine une fitness¹ moyenne plus grande que si elle se trouvait dans un autre environnement (Kawecki et Ebert 2004) : selon ce concept, si deux populations sont transplantées respectivement de leur environnement d'origine vers l'environnement de l'autre population, chaque population possède dans son environnement d'origine une fitness moyenne plus élevée que l'autre.

Objectifs des recherches

Graal contribue à l'étude des mécanismes de l'adaptation locale des organismes et à l'estimation de leur potentiel d'adaptation aux variations du climat et en particulier au changement climatique. A long terme, il vise à mesurer les parts respectives de la plasticité (comme mesure de la réponse individuelle - court terme) et de l'adaptation génétique (comme mesure de la réponse génétique au niveau des populations – plus long terme) dans l'expression des caractères adaptatifs. Mis en œuvre dans le cas particulier des arbres forestiers, il a également pour objectif de déterminer si ce potentiel d'adaptation, s'il existe, peut-être mobilisé par les gestionnaires pour atténuer les éventuels effets négatifs des changements climatiques. Les espèces modèles du projet sont deux espèces forestières représentatives, pour le sapin, de l'étage montagnard et pour le mélèze, de l'étage subalpin. L'approche développée consiste à mettre en place sur plusieurs gradients altitudinaux un réseau de dispositifs d'observation à court, moyen et long terme, basé sur des observations in-situ (sur arbres adultes en place) et surtout ex-situ, sur des dispositifs de transplantation réciproque d'arbres issus de différents niveaux altitudinaux. Il a également pour objectif d'évaluer le cadre méthodologique utilisé pour les espèces du projet et de généraliser à d'autres espèces.

1. Matériel et Méthodes

1.1 Deux espèces modèles, le mélèze d'Europe et le sapin pectiné, sur quatre gradients altitudinaux

La localisation des quatre gradients altitudinaux du projet est présentée sur la figure 1

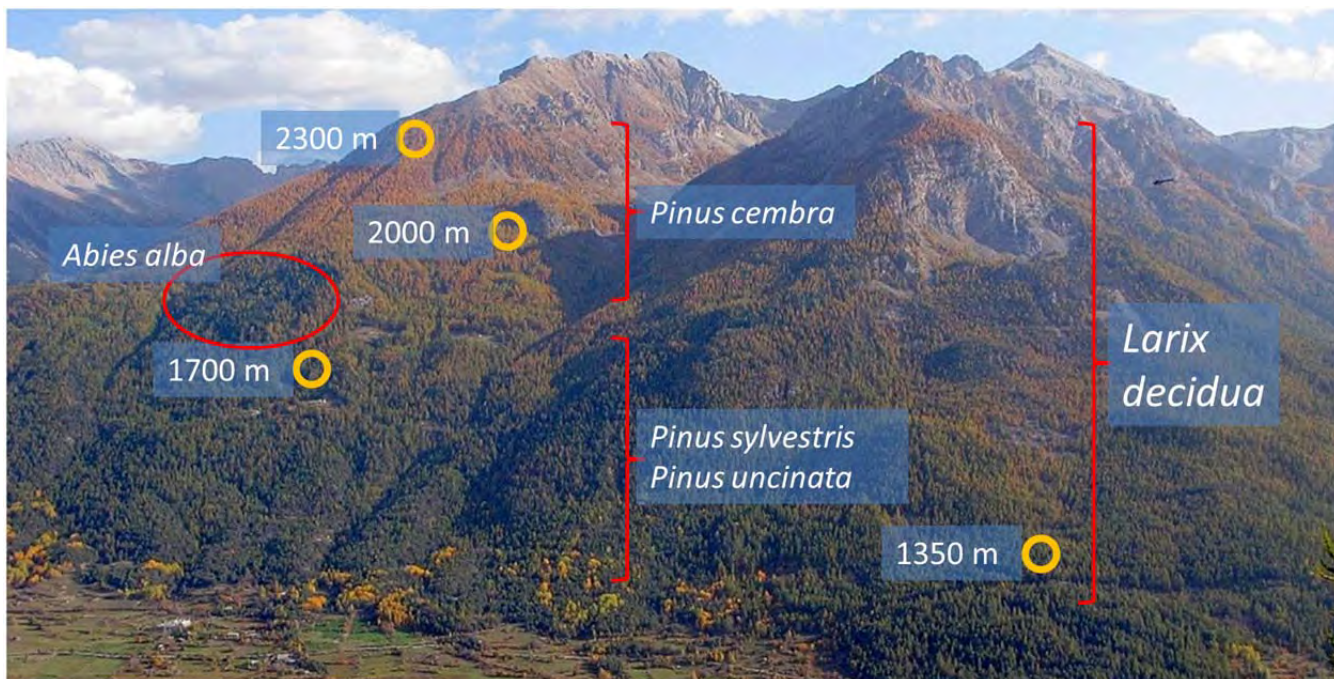
¹ La fitness est le succès reproducteur global, dont les composantes sont la survie, le développement et la reproduction



Figure 1 : localisation des quatre gradients altitudinaux

Pour le mélèze d'Europe le projet s'appuie sur un gradient altitudinal situé dans les forêts communales de Villard-St-Pancrace et de St-Martin-de-Queyrières, à proximité de Briançon, dans les Hautes-Alpes (Latitude : 44.5° N; Longitude : 6.37° E). Il est composé de quatre placettes de 200 arbres chacune, distribuées à quatre altitudes (1350, 1700, 2000 et 2300 m) le long d'un gradient orienté nord-nord-ouest.

Photo 1 : vue générale du gradient mélèze dans le Briançonnais avec indication de l'emplacement des quatre placettes (cercles orange) et de la distribution des principales espèces forestières sur ce gradient.



La figure 2 montre l'emplacement des quatre placettes du gradient mélèze sur le fond de carte IGN au 1/25000^{ème}.

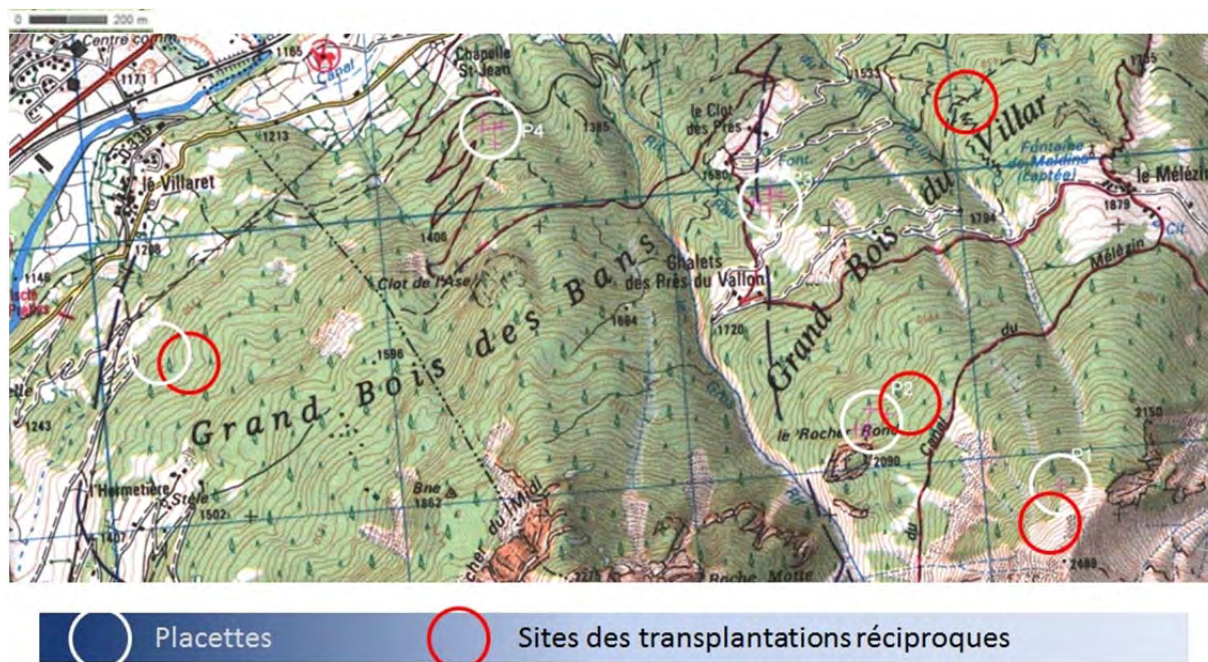


Figure 2 : emplacement des placettes du gradient altitudinal mélèze sur le fond de carte IGN 1/25000^{ème}.

Pour le sapin pectiné le projet s'appuie sur trois gradients altitudinaux (Figure 3) en placettes (mont Ventoux, forêt d'Issole à St André les Alpes et Vésubie) et sur un gradient continu (mont Ventoux). Sur les trois gradients en placettes sont suivis une cinquantaine d'arbres répartis sur cinq niveaux altitudinaux. Sur le gradient continu sont suivis une centaine d'arbres. En tout 4000 arbres sont suivis.

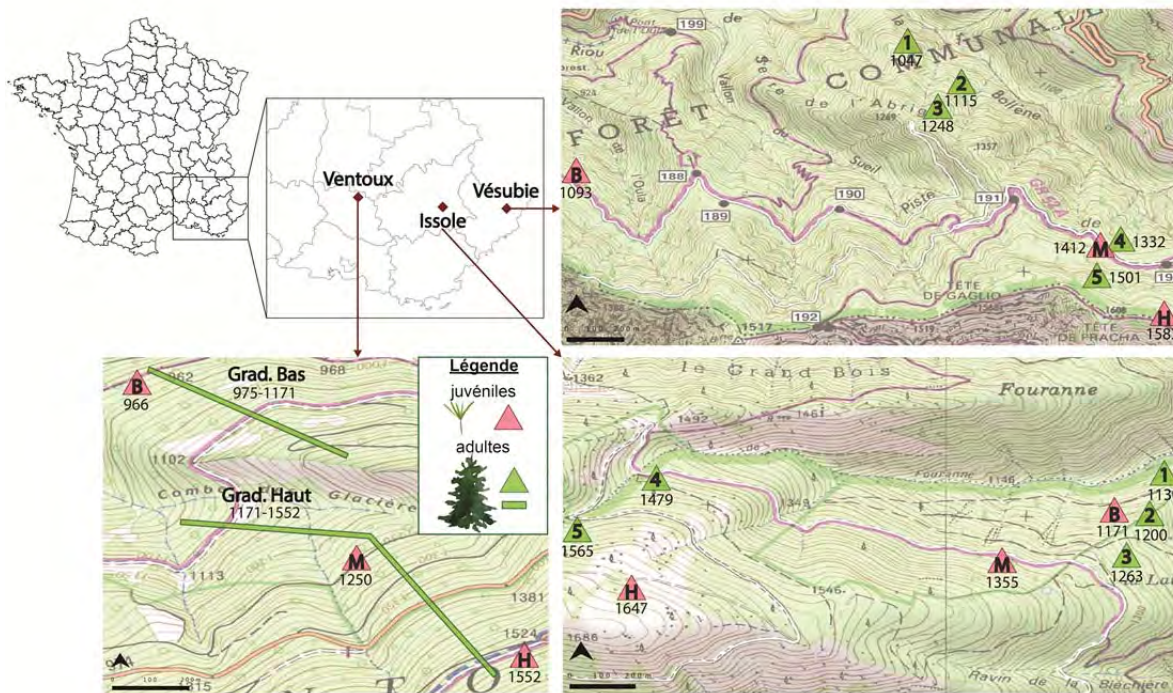


Figure 3 : carte des trois gradients altitudinaux sapin

1.2 Méthodes d'études des mécanismes d'adaptation sur arbres adultes en place

1.2.1 Réponses à court et moyen termes : approches phénotypiques de la réponse des arbres adultes aux variations de leur environnement

1.2.1.1 Mesure de la réponse à l'échelle de la saison de végétation : suivi de la formation du bois

Ce travail a été dirigé et réalisé par le LERFOB, INRA Nancy, avec l'assistance de l'ONF Hautes-Alpes, de l'UE GBFOR et le l'UR AGPF de l'INRA Val de Loire Orléans.

A chacun des quatre niveaux altitudinaux du gradient mélèze, quinze mélèzes dominants et en bonne santé ont été sélectionnés. Leur hauteur totale et leur circonférence ont été mesurées. De mai à novembre durant la saison de végétation 2013, des micro-carottes de 2 mm de diamètre et de 15 à 20 mm de longueur ont été récoltées à hauteur d'homme à une fréquence variable en fonction de la vitesse de croissance des arbres : toutes les semaines durant la phase de croissance rapide, toutes les deux puis trois semaines en phases de croissance plus lentes.

Photo 2, micro-carotte de mélèze



Des dendromètres manuels à bande ont été installés à hauteur d'homme sur les 4 × 15 arbres en mai 2013, de façon à mesurer les variations de la circonférence des arbres durant la saison de végétation 2013. Les données ont été relevées de mai à novembre 2013, selon la même fréquence que précédemment.

Quatre dendromètres automatiques à pointe ont été installés sur quatre arbres à chaque niveau altitudinal de façon à enregistrer automatiquement les variations continues du diamètre de ces arbres de mai à novembre 2013. Ces dendromètres ont été installés à 4 m de hauteur de façon à être au-dessus de la neige en hiver, et à éviter toute dégradation de matériel en été.

Après récolte, les micros-carottes ont été imprégnées de paraffine puis des sections anatomiques transversales fines ont été découpées et observées au microscope. Les données recueillies ont été analysées à l'aide de la bibliothèque de fonctions R CaviaR (Rathgeber et al. 2011) pour permettre leur visualisation et le calcul des dates critiques à l'aide de régressions logistiques. En tout, 1260 coupes anatomiques ont permis de reconstituer l'histoire de la formation du cerne annuel 2013 sur les 60 arbres suivis.

1.2.1.2 Mesure de la réponse à l'échelle de la vie des arbres : approche microdensitométrique

Sur mélèze ce travail a été réalisé par l'UR AGPF et le plateau technique GENOBOIS de l'INRA Orléans, avec l'assistance des UMR BIOGECO à Bordeaux et CBGP à Montpellier.

Sur sapin ce travail a été réalisé par l'UR EFE et par l'UE FM de l'INRA Avignon, avec la participation de l'UR AGPF et du plateau technique INRA GENOBOIS à Orléans.

L'étude des deux espèces repose sur une méthodologie partagée : sur les quatre gradients, la réponse des arbres aux variations du climat est étudiée de façon rétrospective à l'aide d'analyses dendro-écologiques des cernes des arbres basée sur la microdensité indirecte aux rayons X, à raison de 200 arbres pour le sapin (100 puis deux fois 50) et de 800 pour le mélèze. Une carotte diamétrale de bois a été prélevée sur chaque arbre. L'échantillonnage a eu lieu en septembre 2008 pour les placettes 2300 m, 2000 m et 1700 m et en juillet 2009 pour la placette 1350 m du gradient mélèze, en 2011 sur le gradient Ventoux et 2012 sur les gradients Issole et Vésubie pour le sapin. Des récoltes ultérieures ont permis de remplacer des carottes défectueuses (juin 2009 pour les placettes 2300 m, 2000 m et 1700 m du gradient mélèze). Les carottes ont été récoltées à hauteur de poitrine (environ

1,30 mètre) selon une orientation nord-sud en utilisant une tarière de Pressler d'un diamètre de 5,5 mm, montée sur un carotteur à moteur thermique.

Photo 3, carotte de mélèze



Les carottes ont été séchées à l'air durant une période de deux à quatre mois puis ont été sciées à l'aide d'une scie-fraise à lames jumelles dans le but d'obtenir des planchettes de bois d'épaisseur uniforme d'environ 2 mm. Les planchettes ont été immergées dans du pentane durant une semaine afin d'extraire les résines puis à nouveau séchées et analysées par la méthode de microdensitométrie indirecte aux rayons X (Polge 1978). Finalement, elles ont été radiographiées aux rayons X et les films ont été scannés à une résolution de 4000 dpi. Les radiographies obtenues ont été analysées à l'aide du logiciel WinDendro©. Un certain nombre de carottes se sont révélées complètement ou partiellement illisibles et non exploitables, soit parce que le bois était détérioré par des champignons soit parce que l'angle du fil du bois trop marqué le long de la planchette empêchait de repérer les limites de cernes.

Au total, 555 profils microdensitométriques de mélèzes ont été obtenus dont 187 complets (du cœur à l'écorce) et 368 lisibles pour une période allant au moins de 1967 à 2007, soit 41 années consécutives qui ont été sélectionnées comme période d'étude de la réponse des mélèzes aux variations du climat.

Pour le sapin, des profils microdensitométriques exploitables ont été obtenus pour 179 arbres. Sur les carottes incomplètes (n'atteignant pas le cœur) les âges cambiaux ont été estimés à partir de la géométrie des cernes les plus anciens ainsi que de la circonférence des arbres. Les relations entre croissance des cernes et conditions d'environnement (particulièrement le climat) sont évaluées sur la période 1975-2012 (Thèse d'A. Latreille en cours, dirigée par C. Pichot de l'URFM, en cours).

Les profils microdensitométriques ont été découpés en cernes, interdatés puis des variables de cernes ont été calculées pour chaque cerne annuel : largeur de cerne, du bois initial, du bois final, densité moyenne du cerne, du bois initial et du bois final. Puis l'effet des différentes sources de variation sur ces variables (principalement altitude et temps) a été étudié à l'aide d'analyses de variance. En fonction des questions posées, quand c'était nécessaire, les données ont été ajustées de l'effet de certains facteurs confondants : âge cambial, défoliations et effet duramen-aubier pour les variations entre cernes annuels et âge des arbres et compétition pour les variations entre niveaux altitudinaux.

121.3 Mesure des variations environnementales entre niveaux altitudinaux et dans le temps.

Climat

Les données climatiques et leur acquisition sont gérées par l'US AGROCLIM de l'INRA Avignon, avec l'assistance de l'UR AGPF à l'INRA Orléans (pour le gradient mélèze) et de l'URFM (pour les gradients sapin) à Avignon.

Les données climatiques de l'étude ont été extraites de la base de données Storm gérée par Agroclim, INRA. Elles proviennent pour partie de données Météo-France, et pour partie de stations météorologiques installées sur les placettes des gradients à partir de 2008. Les variables d'intérêt sont les températures de l'air et du sol et les précipitations.

L'intensité des radiations solaires arrivant sur chaque placette du gradient mélèze a été prédite à l'aide du programme GIS Hélios (AgroParisTech, Nancy) (Lebourgeois et al. 2008). En l'absence de données se rapportant aux variations temporelles de la nébulosité, les radiations solaires ont été simulées en considérant que le ciel était clair et invariant durant la période 1967-2007.

Sol

L'US INFOSOL de l'INRA Val de Loire à Orléans a réalisé les analyses de sol sur le gradient mélèze.

Une fosse pédologique a été creusée dans chaque placette du gradient mélèze. Pour chacun des horizons ont été déterminés la granulométrie, la quantité de matière organique, le pH, le pourcentage de calcaire ainsi que le complexe d'échange en $\text{cmol}^+.\text{kg}^{-1}$ (CEC). Les deux indices suivant ont été estimés :

- La réserve utile en eau.
- La fertilité chimique du sol

Une évaluation de la profondeur du sol, proxy de la réserve utile, a été effectuée sur les différentes placettes de sapin. Combinée aux données climatiques annuelles, cette information participe à l'estimation d'un indice de sécheresse.

12.2 Réponses à long terme, les mécanismes sélectifs et non sélectifs de l'évolution des populations

122.1 Mécanismes non sélectifs de la structuration génétique

Ce travail, placé sous la responsabilité de l'UR BIOGECO à Bordeaux, a été réalisé avec l'UR AGPF à Orléans et l'UR EFM à Avignon, avec la participation de l'ONF CGAF à Orléans et de l'UMR CBGP à Montpellier.

Les mécanismes non sélectifs de la structuration génétique sont étudiés à l'aide d'approches de génétique des populations basées sur l'estimation du polymorphisme moléculaire. Le polymorphisme moléculaire est évalué :

-sur mélèze à l'aide de 11 marqueurs microsatellites développés dans le cadre du projet Dendro PAF (Ministère de l'Agriculture) (Wagner, Gerber, et Petit 2012) ;

-sur sapin à l'aide de 267 marqueurs de type SNP récemment identifiés dans le cadre du projet ERANET LinkTree ; 28 d'entre eux seraient liés à des gènes sous sélection ; sur la base du génotype des arbres adultes analysés dans un premier temps, un échantillon de 760 semis issus de 20 mères et installés sur les sites Ventoux et Issole aux niveaux Haut et Bas est également génotypé ;

-sur mélèze des marqueurs de type SNP ont été également développés. Après deux échecs successifs dus à des difficultés méthodologiques particulières aux résineux en général et au mélèze en particulier, une 3ème opération de développement de marqueurs SNP s'est terminée avec succès début octobre 2014 en collaboration avec le projet ANR Flag (coord. I. Scotti) et s'est poursuivie avec la préparation et la réalisation du génotypage de 600 arbres adultes du gradient mélèze entre janvier et avril 2015. Les données seront analysées de façon préliminaire dans les mois qui viennent et de façon plus approfondie dans le cadre d'une prochaine thèse.

122.2 Mécanismes sélectifs et adaptation locale

Les méthodologies de l'analyse des mécanismes sélectifs et de la recherche d'une adaptation locale utilisent à la fois des données obtenues sur les arbres adultes (données phénotypiques et marqueurs génétiques) et des données mesurées sur les arbres des tests de transplantation réciproques. Compte-tenu des calendriers respectifs des activités de terrain sur les gradients des deux espèces, l'adaptation locale a été étudiée sur mélèze à l'aide d'approches combinant les observations génétiques et phénotypiques sur arbres adultes en place, alors que sur sapin elle a utilisé les données acquises sur les arbres des dispositifs de transplantation réciproque.

Sur mélèze, l'héritabilité au sens strict in situ (c'est-à-dire sans le recours à un dispositif génétique du type de ceux installés dans le cadre des programmes d'amélioration génétique) a été estimée par le biais d'une régression entre la similarité phénotypique et l'apparementement génétique de toutes les paires d'individus possibles de chaque placette altitudinale (Ritland 2000).

Les variations de la différenciation génétique entre placettes ont été modélisées à l'aide du coefficient PST à partir de la mesure de la variance phénotypique intra- et inter-placette et d'estimations de l'héritabilité ainsi que de la proportion de la variance phénotypique inter-placettes due à des effets génétiques additifs pour les différents caractères phénotypiques mesurés (Leinonen et al. 2013).

1.3 Approches des mécanismes de l'adaptation locale par l'installation et l'étude de dispositifs de transplantation croisée

Les transplantations réciproques de GRAAL ont été installées par les UR EFM et AGPF d'Avignon et Orléans, avec l'assistance des UE FM et GBEFOR à Avignon et Orléans et l'ONF Hautes-Alpes à Briançon.

La transplantation réciproque, ou croisée, consiste à redistribuer des individus issus de plusieurs sites dans tous les sites d'origine. Deux stratégies différentes ont été utilisées pour mettre en place les dispositifs de transplantations croisées du projet GRAAL : sur mélèze, on a installé à quatre niveaux altitudinaux (1350, 1700, 2000 et 2400 m) des tests clonaux à partir des copies végétatives de 30 arbres de chaque niveau altitudinal (multiplication végétative par greffage). Dans chaque test on a placé cinq copies de chaque arbre, plantées fin 2013 et fin 2014 à des écartements compatibles avec plusieurs dizaines d'années d'observations futures. Sur sapin on a installé des tests de descendances maternelles à partir de graines récoltées en 2008 sur des arbres situés à tous les niveaux altitudinaux. Ces semis représentent 57 descendances maternelles issues de semences récoltées sur respectivement 20, 20 et 17 arbres sur chacun des trois gradients (17 en Vésubie). Dans chaque test on a planté à très faible écartement un grand nombre de descendants de chaque arbre mère, afin d'observer à un stade juvénile, pendant un petit nombre d'années, la réponse de ces familles aux variations de leur environnement. Dans chacune des forêts, les plantules élevées en pépinières ont été installées à l'automne 2009 à trois niveaux altitudinaux (bas, moyen et haut). A chaque niveau les plantules ont été réparties dans cinq blocs composés de 12 caisses, chacune contenant cinq descendances représentées par sept plantules sur une même ligne. Tous les dispositifs ont été équipés de stations météorologiques gérées par Agroclim (INRA Avignon).

Les dispositifs de transplantations réciproques permettent d'évaluer (et croiser) les effets des sources de graines et des clones (peuplement, altitude, mère) et ceux des sites de plantation (site de test, niveau altitudinal de plantation, bloc). L'installation des dispositifs de transplantation réciproque de mélèzes s'est étalée sur les quatre années du projet : en novembre 2010, après la fin de la saison de végétation a eu lieu la récolte des greffons par grimpage. En février 2011 le greffage a eu lieu à la pépinière ONF de Peyrat-le-Château dans le Limousin. Très peu de clones se sont montrés réticents au greffage. La plupart des clones ont eu besoin de deux ou trois saisons de végétation d'élevage complètes pour atteindre une taille permettant de les transplanter en toute sécurité (pépinière ONF de Peyrat-le-Château) sur le gradient. Un petit nombre de clones a dû être regreffé début 2012. Après deux ou trois saisons d'élevage, les plants en mottes ont été transportés à Briançon juste avant le début de la saison de végétation (fin avril en 2013 et en 2014) et placés en jauge sur le gradient à 1600 m d'altitude pour acclimatation. Puis à l'automne (début octobre en 2013 et fin septembre en 2014) ils ont été installés aux quatre altitudes du gradient en dispositifs expérimentaux de transplantation réciproques avec blocs. Un cinquième dispositif identique a été planté à la pépinière ONF de Peyrat-le-Château dans le Limousin, donc en conditions plus chaudes que celles de la plantation située à plus basse altitude du gradient. Il sert à la fois de conservatoire de clones pour la production de greffes et à étudier la réponse des clones au climat dans un environnement plus chaud que tous ceux d'origine. A ce jour, seuls des comptages de survie ont eu lieu. Les premières observations et mesures, survie, croissance en hauteur et phénologie, auront lieu

au printemps 2015. Les semis de sapin ont été produits avant le début du projet Graal et les dispositifs de transplantation réciproque sapin ont été plantés de façon à pouvoir être observés dès le début de Graal (en 2009). Donc plusieurs campagnes d'observations se sont succédées durant Graal, dont une partie des résultats a été analysée. Les traits phénotypiques (survie, hauteur, débourrement) ont été analysés avec le modèle statistique suivant :

Trait = site + niveau [hiérarchisé dans site] + bloc [hiérarchisé dans niveau] + peuplement + mère [hiérarchisé dans peuplement] + bloc × mère + erreur

L'interaction bloc × mère permet d'évaluer l'effet parcelle unitaire correspondant à la ligne des sept plantules issues d'une même mère.

Les variances génétiques et l'héritabilité des caractères sont estimées par approche bayésienne avec un modèle mixte linéaire généralisé. Les semis étant structurés en familles de demi-frères, la variance associée à l'effet mère correspond au quart de la variance génétique additive.

La variation in-situ des caractères des arbres adultes est analysée à l'aide d'analyses de variance et d'analyse multi-variables.

2. Résultats et discussion

2.1 Mesure de la réponse à l'échelle de la saison de végétation : suivi de la formation du bois

La combinaison des données anatomiques et de croissance radiale recueillies durant la saison de végétation 2013 sur les quatre placettes du gradient altitudinal a permis de construire les courbes de formation du bois aux quatre altitudes. La formation d'une trachéide (cellule de xylème, conductrice de la sève brute) peut se décomposer en trois phases successives : division d'une cellule mère dans le cambium, élargissement de la nouvelle cellule, puis dépôt de la paroi secondaire et lignification des parois de la nouvelle cellule suivi de sa mort cellulaire programmée. La trachéide ainsi formée est mature et fonctionnelle, c'est-à-dire conductrice de sève brute. Le nombre et les caractéristiques des trachéides conditionnent la conductivité et la résistance à la cavitation du cerne annuel. A partir de l'observation des cellules de xylème en développement, il est possible de décrire un calendrier de la formation du bois qui décrit ce qui se passe au niveau de l'ensemble du xylème en sept dates critiques : démarrage de l'activité cambiale, de la période d'expansion, du dépôt des parois secondaires, apparition des premières cellules matures fonctionnelles, fin de l'activité cambiale, de l'expansion et de la lignification.

Les figures 4, 5, 6 et 7 montrent les courbes de formation du bois du cerne annuel 2013 respectivement aux altitudes 1350, 1700, 200 et 2350 m.

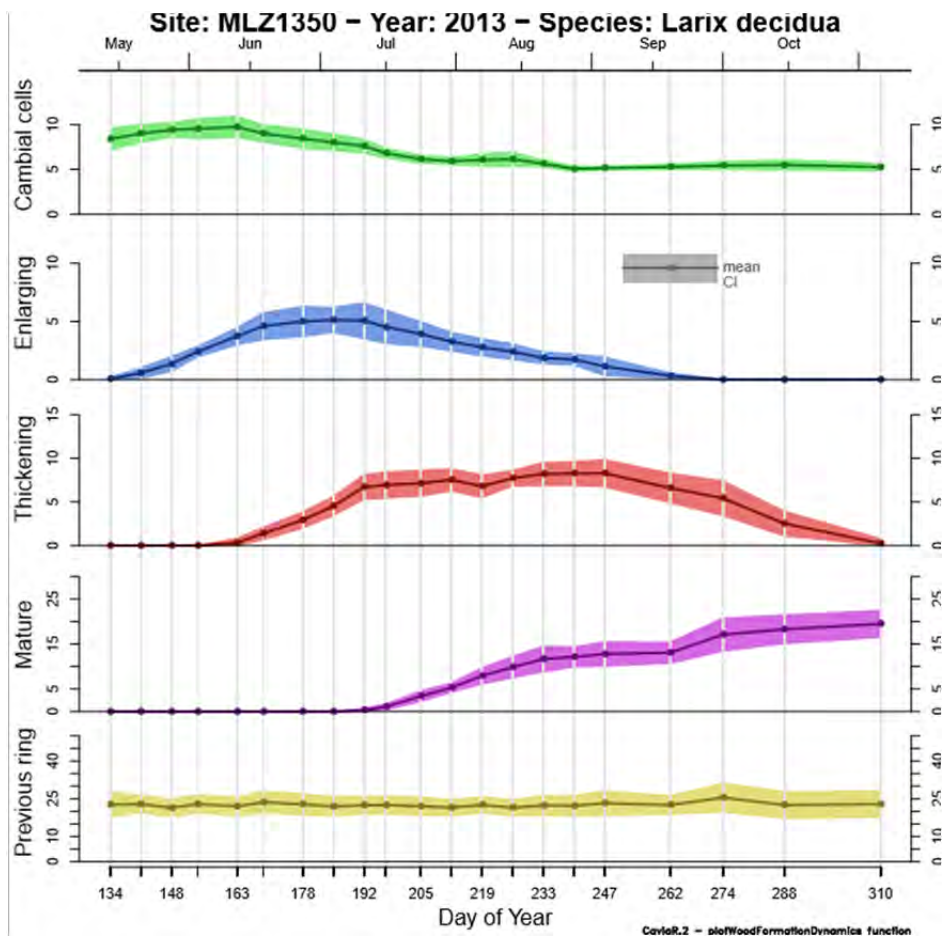


Figure 4 : courbes de formation du bois à l'altitude 1350 m en fonction du jour de l'année 2013. « Cambial cells » correspond au nombre de cellules dans le cambium, « Enlarging » au nombre de cellules en phase d'élargissement, « Thickening » au nombre de cellules en phase d'épaississement de la paroi, et « Mature » au nombre de cellules matures fonctionnelles. « Previous ring » indique le nombre de cellules comptées dans le cerne 2012. Les courbes correspondent à la moyenne pour 15 arbres alors que les enveloppes correspondent à l'erreur standard associée à la moyenne.

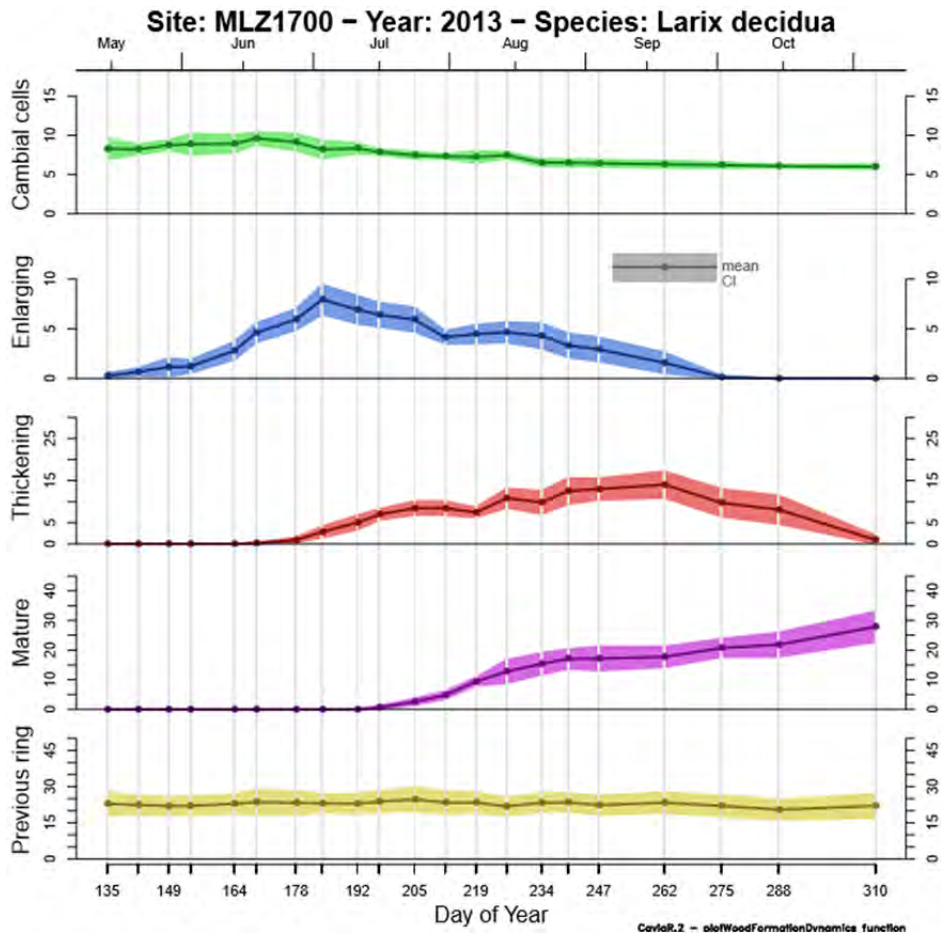


Figure 5 : courbes de formation du bois à l'altitude 1700 m en fonction du jour de l'année 2013. « Cambial cells » correspond au nombre de cellules dans le cambium, « Enlarging » au nombre de cellules en phase d'élargissement, « Thickening » au nombre de cellules en phase d'épaississement de la paroi, et « Mature » au nombre de cellules mature fonctionnelles. « Previous ring » indique le nombre de cellules comptées dans le cerne 2012. Les courbes correspondent à la moyenne de 15 arbres alors que les enveloppes correspondent à l'erreur standard associée à la moyenne.

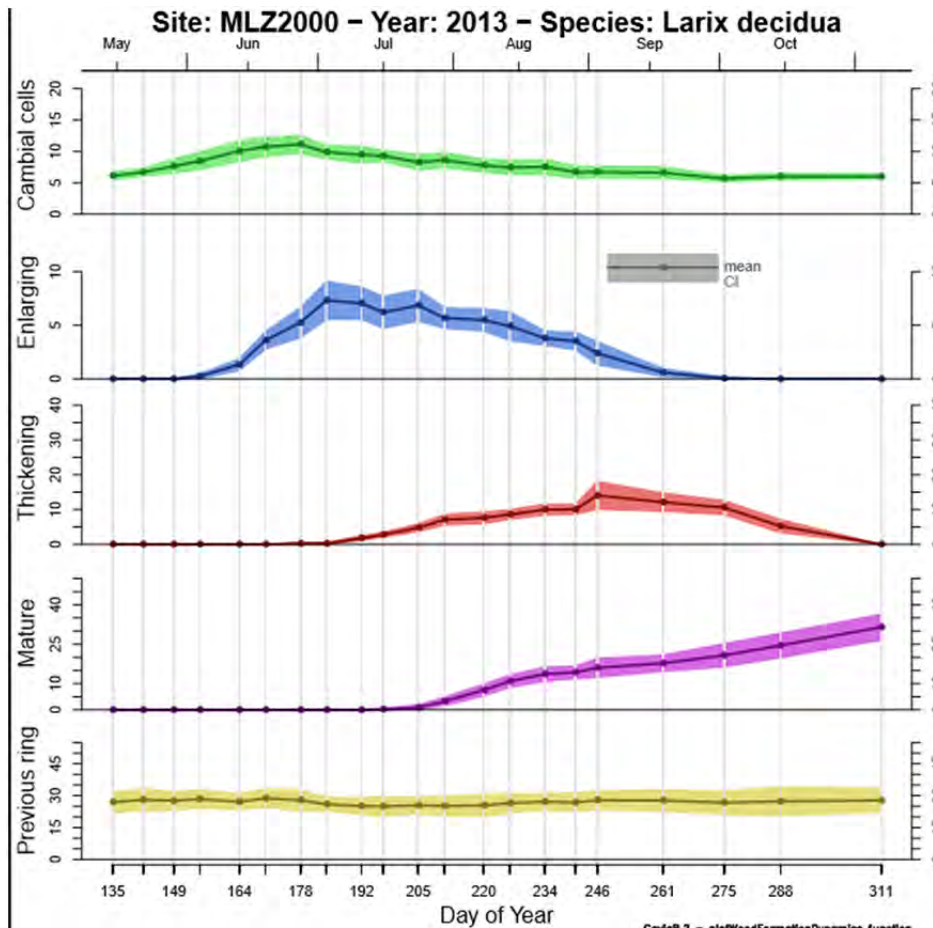


Figure 6 : courbes de formation du bois à l'altitude 2000 m en fonction du jour de l'année 2013. « Cambial cells » correspond au nombre de cellules dans le cambium, « Enlarging » au nombre de cellules en phase d'élargissement, « Thickening » au nombre de cellules en phase d'épaississement de la paroi, et « Mature » au nombre de cellules mature fonctionnelles. « Previous ring » indique le nombre de cellules comptées dans le cerne 2012. Les courbes correspondent à la moyenne de 15 arbres alors que les enveloppes correspondent à l'erreur standard associée à la moyenne.

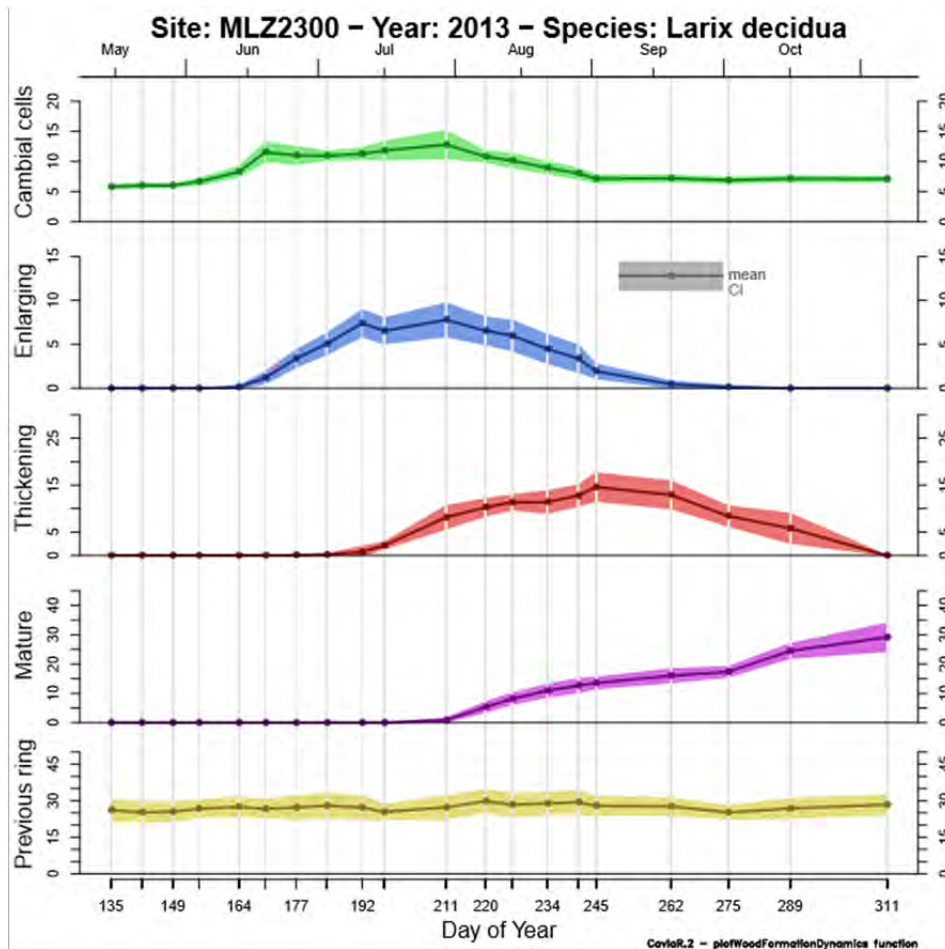


Figure 7 : courbes de formation du bois à l'altitude 2300 m en fonction du jour de l'année 2013. « Cambial cells » correspond au nombre de cellules dans le cambium, « Enlarging » au nombre de cellules en phase d'élargissement, « Thickening » au nombre de cellules en phase d'épaississement de la paroi, et « Mature » au nombre de cellules mature fonctionnelles. « Previous ring » indique le nombre de cellules comptées dans le cerne 2012. Les courbes correspondent à la moyenne de 15 arbres alors que les enveloppes correspondent à l'erreur standard associée à la moyenne.

Les graphiques de synthèse des courbes de dynamique de formation (figure 8) du bois montrent qu'il y a un fort décalage entre le bas et le haut du gradient altitudinal, avec des dynamiques plus brèves et explosives sur le haut du gradient et plus longues et amorties sur le bas.

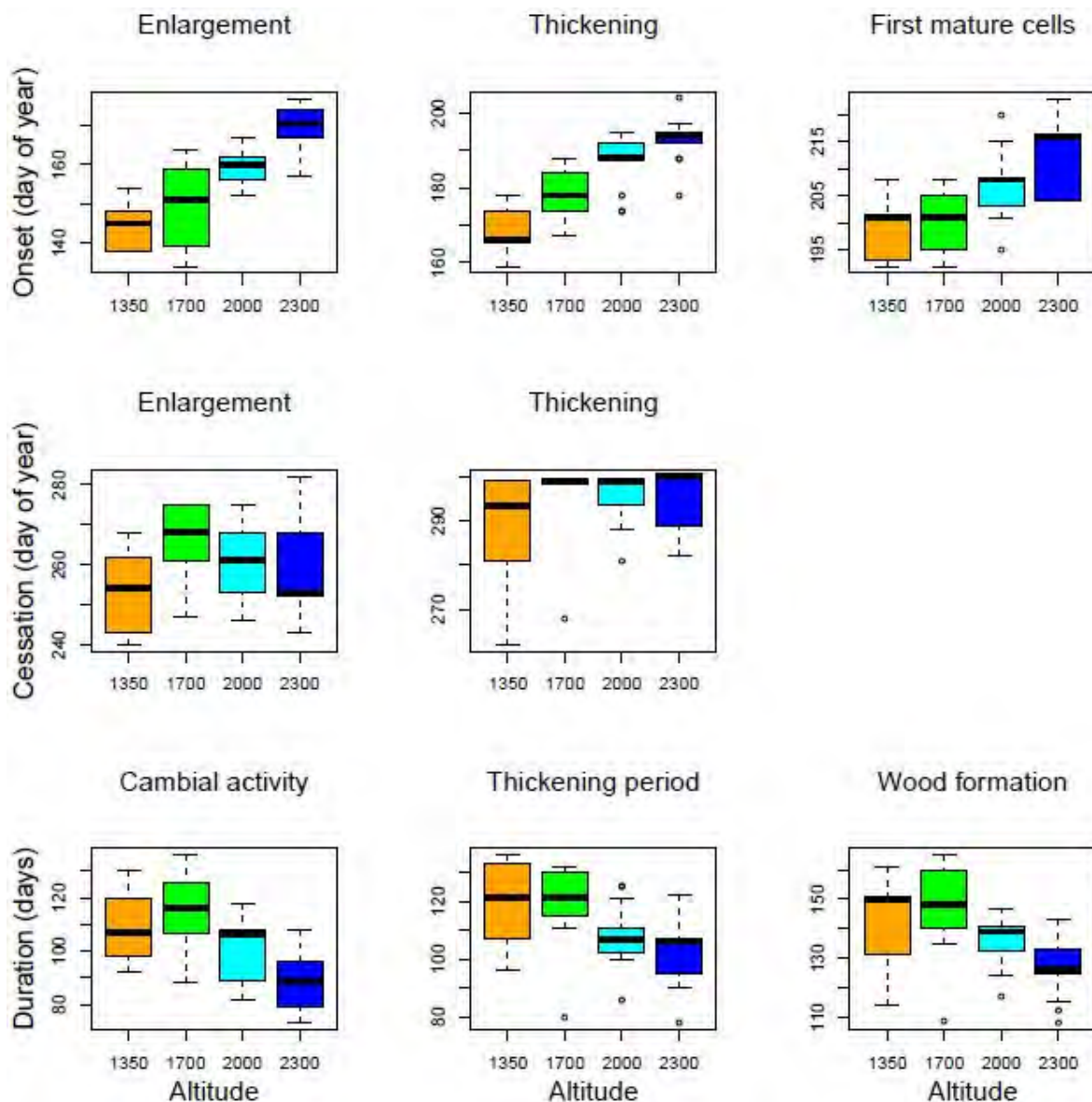


Figure 8 : Répartition des dates critiques (début, fin et durée des différentes périodes clé de la formation du bois) en fonction de l'altitude.

L'analyse des dates critiques pour les quatre niveaux altitudinaux (Table 1, Figure 8) est riche d'enseignements. Comme attendu le démarrage de la formation du bois, quel que soit l'indicateur observé (bE, bT, bM), est plus précoce sur le bas du gradient que sur le haut, le décalage pouvant atteindre presque un mois pour le début de l'activité cambiale, entre fin mai pour la placette la plus basse et mi-juin pour la placette la plus haute. Ce retard au démarrage varie de façon linéaire avec l'altitude, on peut ainsi l'estimer à trois jours par 100 m pour le départ de l'activité cambiale et deux jours / 100 m pour le démarrage de l'épaississement et un jour / 100 m pour l'apparition de la première cellule mature. Cette variation linéaire de retard au démarrage peut également être mise en parallèle avec la variation linéaire de baisse des températures avec l'altitude ($0,6^{\circ}\text{C} / 100 \text{ m}$), ce qui permet d'estimer que les différences observées correspondent également à une variation de cinq jours par $^{\circ}\text{C}$ pour le début de l'activité cambiale.

En ce qui concerne la fin de la formation du bois, au contraire, on n'observe pas de variation linéaire le long du gradient. La fin de l'activité cambiale et même de la lignification est bien plus précoce sur la placette du bas que sur les autres placettes. On retrouve ensuite une tendance linéaire sur les trois placettes du haut, les arbres de la placette la plus haute finissant bien sûr en premier de pousser.

Les tendances décrites pour le début et la fin des périodes se retrouvent bien évidemment dans les durées avec une période de croissance bien plus longue pour la placette de 1700 m que pour les autres : on peut parler d'un optimum de croissance du mélèze situé au niveau de cette parcelle. Au total, la période d'activité cambiale dure de trois à quatre mois selon la placette et la période de formation du bois de quatre à cinq mois selon la placette.

Nous avons déjà vu que, très classiquement, au-dessus de la parcelle 1700 m, ce sont très probablement les températures qui contraignent les dates de début et de fin de saison de végétation. Pour la parcelle du bas, le démarrage précoce de la formation du bois indique que ce démarrage est bien sous déterminisme thermique. La fin précoce de la formation du bois, en revanche, indique que les processus de formation du bois sont plutôt sous contrainte hydrique pour la placette du bas en fin de saison de végétation. Ceci fait écho à ce que nous avons pu constater à l'aide des dendromètres.

Les dendromètres en effet (Figure 9) montrent que sur ce site, et ce même à l'altitude la plus élevée, les variations de circonférence du tronc sont dues en grande partie au statut hydrique de l'arbre, indiquant une contrainte hydrique importante pour la croissance des arbres de ce site, et ce, nous le répétons car c'est vraiment surprenant, même à 2300 m à la limite supérieure de la forêt !

Melezin Altitudinal Gradient

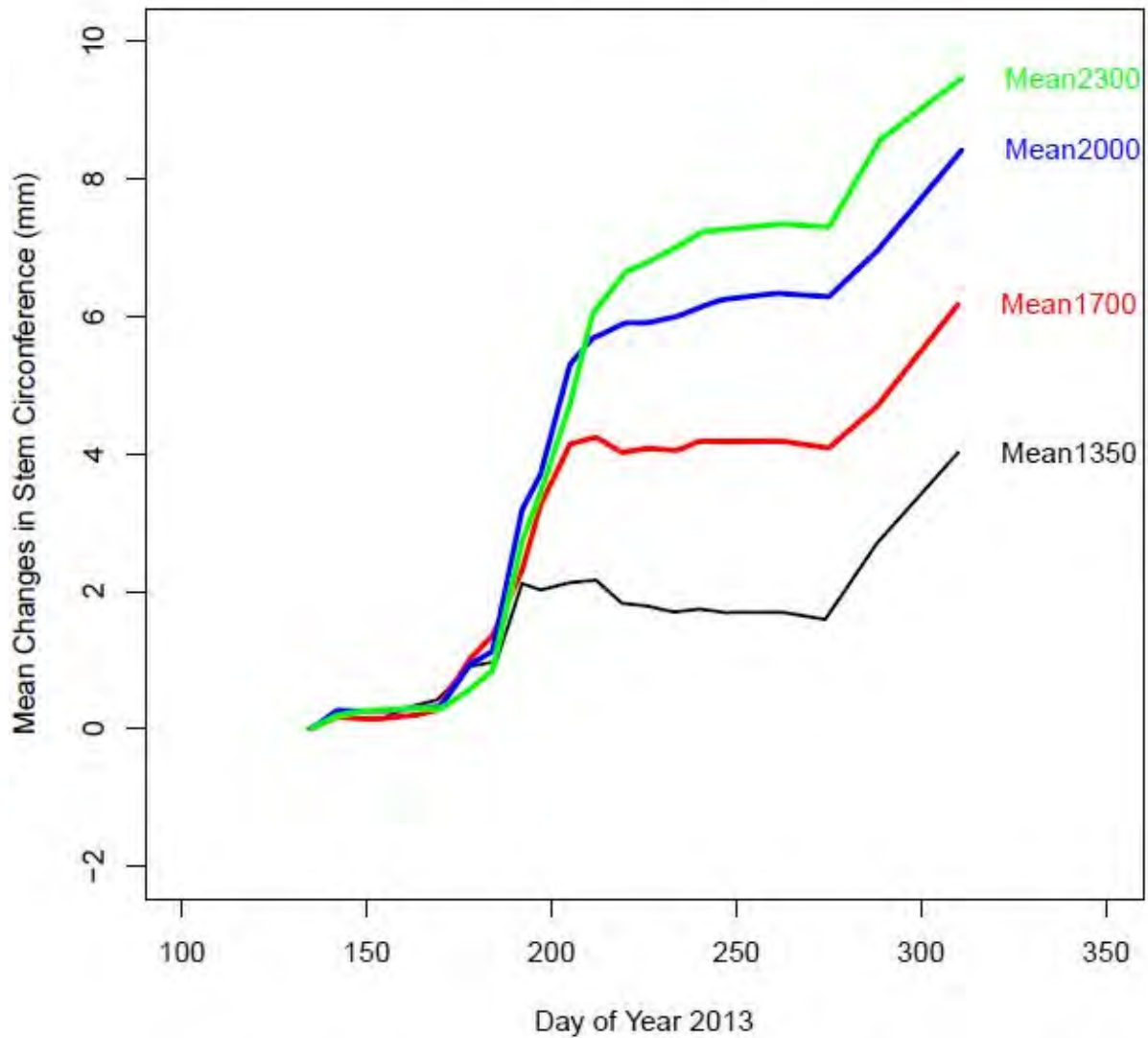


Figure 9 : croissance radiale aux quatre niveaux altitudinaux, mesurée en 2013 à l'aide de dendromètres à bande permanents.

Les données à notre disposition ne permettent pas de déterminer si c'est plutôt la température ou la photopériode qui déterminent la fin des processus de formation du bois pour les arbres des placettes qui ne sont pas sous stress hydrique : le débat reste ouvert. Il est difficile de conclure avec les seules données recueillies en 2013 sur ce gradient, mais ces données intégrées dans des méta-analyses en cours à l'échelle globale contribueront à répondre à cette question.

Table 1 : dates de début (b), de fin (c) et durée (d) des périodes d'élargissement (E), d'épaississement (T) et durée totale de la formation du bois (dW). Les valeurs fournies sont les moyennes et l'erreur standard associée.

Site	bE	bT	bM	cE	cT	dE	dT	dW
MLZ-1350	144 ± 1	169 ± 2	198 ± 1	253 ± 3	288 ± 4	109 ± 3	119 ± 4	142 ± 4
MLZ-1700	149 ± 3	178 ± 2	201 ± 1	265 ± 3	296 ± 3	115 ± 4	118 ± 5	146 ± 6
MLZ-2000	159 ± 1	188 ± 1	207 ± 1	260 ± 2	296 ± 2	100 ± 3	108 ± 3	136 ± 2
MLZ-2300	170 ± 1	193 ± 2	213 ± 2	259 ± 3	296 ± 2	89 ± 3	103 ± 3	126 ± 2

Les analyses de la dynamique de formation du bois se poursuivent dans le cadre de la thèse de Masoumeh Sadari, doctorante AgroParisTech, ED RP2E, soutenance prévue pour 2016 ou 2017, encadrée par C. Rathgeber (UMR LERFOB INRA AgroParisTech Nancy)

2.2 Mesure de la réponse à l'échelle de la vie des arbres : approche microdensitométrique

22.1 Gradient altitudinal mélèze

Afin d'observer l'effet de la variation climatique le long du gradient sur la variabilité phénotypique inter-placettes, les variables phénotypiques étudiées ont été ajustées de l'effet de plusieurs facteurs non climatiques : l'âge des arbres, les attaques d'insectes ainsi que la compétition interspécifique. Après ces ajustements, nous avons mis en évidence de la variabilité phénotypique significative le long du gradient pour sept des huit caractères étudiés (Table 2).

Table 2 : résultats des analyses de variance des variables phénotypiques en fonction de l'altitude (F, effet altitude, P, probabilité associée). Signification de la probabilité associée au F: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, NS non significatif.

Variables	F		P	
Circonférence à hauteur d'homme	15.9		6.76E-10	***
Hauteur	62.4	<	2.20E-16	***
Pourcentage d'aubier	29.4	<	2.20E-16	***
Largeur de cerne	1.9		1.23E-01	NS
Surface du cerne	4.0		7.46E-03	**
Densité du bois initial	47.3	<	2.20E-16	***
Densité du bois final	6.6		2.12E-04	***
Largeur du bois final	5.1		1.76E-03	**

Six caractères présentent un profil inter-altitude avec un maximum aux altitudes intermédiaires : hauteur, circonférence, surface de cerne, largeur de bois final, densité du bois initial et densité du bois final. Le pourcentage d'aubier est le seul caractère possédant une relation positive avec l'altitude. L'effet des deux sources de variations altitude et année diffère selon les variables microdensitométriques. L'effet année est nettement plus fort que l'effet altitude pour la largeur de cerne, la surface de cerne et la largeur du bois final. Au contraire, l'effet altitude est nettement plus fort que l'effet année pour la densité du bois initial. Pour la densité du bois final, année et altitude contribuent de façon similaire à la variance totale. L'interaction altitude × année est significative pour ces cinq caractères ; elle est forte pour tous excepté pour la densité du bois initial. Pour tous les caractères, ce sont les deux placettes extrêmes (1350 m et 2300 m) qui participent le plus à cette interaction. Excepté pour la densité du bois initial, une grande variabilité de forme de profils est observée entre groupes de profils annuels, avec un nombre de groupes variant entre trois et cinq selon les caractères. Des différences significatives sont mises en évidence entre groupes d'années climatiques correspondant aux groupes de profils annuels des caractères largeur de cerne, surface de cerne, largeur du bois final et densité du bois final pour plusieurs variables climatiques, alors qu'aucune différence significative n'est observée entre les deux groupes d'années correspondant aux deux groupes de profils inter-altitudes de la densité du bois initial. Pour les caractères largeur de cerne, surface de cerne, largeur du bois final et densité du bois final, des analyses en composantes principales mettent en évidence des combinaisons linéaires de variables climatiques séparant

efficacement les groupes d'années correspondant aux groupes annuels de profils inter-altitudes. En plus de la variation de température liée à l'altitude, nous détectons une forte variation altitudinale pour la fertilité du sol (fertilité du sol : $Cv = 0,55$ contre $Cv = 0,39$ pour la température moyenne annuelle). Cette variation élevée suggère que ce facteur peut contribuer à expliquer la variation phénotypique.

La variation phénotypique de la densité du bois en fonction de l'altitude été peu étudiée dans le passé. Le gradient altitudinal mélèze nous a permis d'observer une densité du bois initial significativement moins élevée à basse altitude ainsi qu'une densité du bois final maximum à une altitude intermédiaire.

Au contraire, la quasi-totalité des études traitant des caractères de croissance montre une convergence vers deux types de profils de variation inter-altitudes : un type montrant une diminution de la croissance avec l'altitude et un type présentant un maximum de croissance aux altitudes intermédiaires. Dans notre étude, quatre des cinq caractères de croissances étudiés présentent le second type de forme de profil : un maximum de croissance aux altitudes intermédiaires (seule la largeur de cerne ne présente pas de variation phénotypique significative avec l'altitude) (Figure 10).

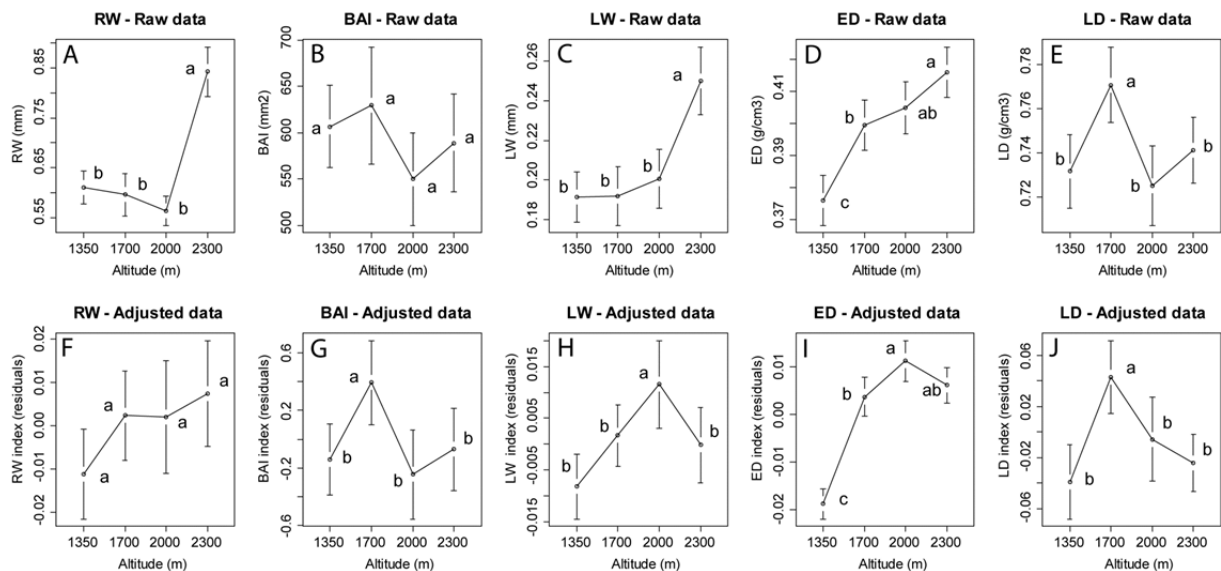


Figure 10 : Profils moyens de la variation phénotypique entre niveaux altitudinaux avant (A, B, C, D and E) et après ajustement (F, G, H, I and J) pour les variables largeur de cerne, surface de cerne, largeur du bois final, densité du bois initial et densité du bois final pendant la période 1967-2007 : moyennes par placette et intervalles de confiance à 95%. Les ordonnées des graphiques F, G, H, I et J sont sans dimension car ce sont des valeurs résiduelles. Notons que la procédure d'ajustement change radicalement la forme de certains profils de variation inter-altitudes.

Les caractères de croissance sont généralement utilisés comme des marqueurs de la qualité environnementale : des conditions environnementales favorables conduisent à une croissance plus rapide. Cette hypothèse est raisonnable, même si la croissance seule demeure un proxy imparfait de la fitness et devrait être associée à des estimations de survie et/ou de reproduction pour une meilleure approximation de la fitness réelle (Savolainen, Pyhäjärvi, et Knürr 2007).

Toutefois, la construction des profils de variabilité phénotypique inter-altitudes sur 41 années successives (1967-2007) pour chaque variable de cerne permet de mettre en lumière une situation plus complexe que ne le suggèrent ces profils moyens. En effet, il existe une grande variabilité de formes de profils annuels pour les variables de largeur de cerne, surface de cerne, largeur du bois final et densité du bois final ; avec notamment des amplitudes entre années plus fortes aux deux

altitudes extrêmes (Figure 10). Les variations de la forme des profils inter-altitudes sont déterminées par les années les plus favorables et défavorables sur les placettes extrêmes.

La température moyenne annuelle a significativement augmenté dans les Alpes durant la période 1967-2007, passant de 7,42°C sur la période 1967-1986 à 8,52°C sur la période 1987-2007 ($t = -7,3976$, $p\text{-value} = 6,143e-09$). Les variables surface de cerne et densité du bois final des années correspondant aux groupes de profils inter-altitudes sont principalement rassemblées en quatre périodes successives assez bien délimitées au sein des 41 années étudiées.

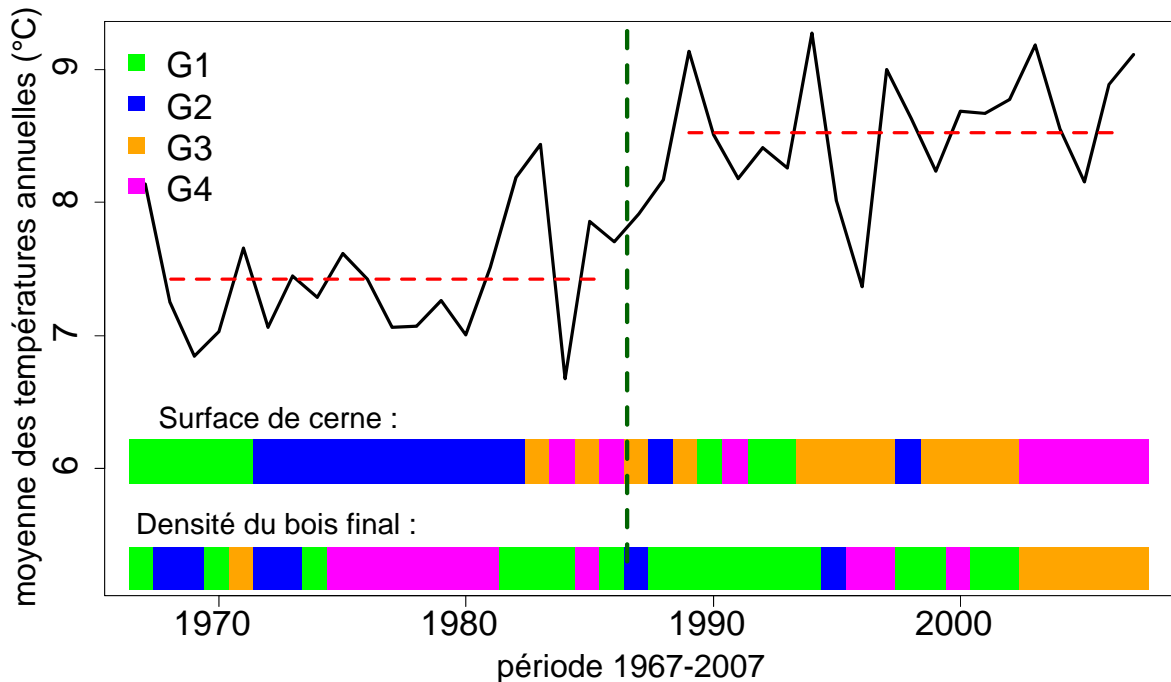


Figure 11 : la courbe noire représente l'évolution de la température moyenne annuelle pour la période 1967-2007 à Briançon. La ligne verticale verte pointillée sépare deux périodes contrastées climatiques : une période relativement froide s'étalant de 1967 à 1986 et une période relativement chaude allant de 1987 à 2007. Les lignes rouges pointillées représentent les températures moyennes de ces deux périodes. L'assignation de chaque année à un groupe de profils annuels est représentée par le code couleur représenté en bas du graphique et cela pour deux variables de cernes, la surface de cerne et la densité du bois final. G1, G2, G3 et G4 sont les groupes de profils annuels de variations inter-altitudes, classés à l'aide d'analyses multivariées.

Pour la surface de cerne, les groupes de profils annuels G1 et G2 sont observés surtout durant la période plus fraîche (1967-1987) et les groupes G3 et G4 sont observés durant la période plus chaude (1988-2007) (Figure 11).

Pour la densité du bois final, les groupes de profils annuels G2 et G4 sont observés surtout durant la période plus fraîche (1967-1987) alors que les groupes G1 et G3 sont observés durant la période plus chaude (1988-2007).

Donc pour ces deux variables la forme des profils inter-altitudinaux change significativement depuis les groupes d'années plus fraîches, plutôt situées dans la période 1967-1987, vers les groupes d'années plus chaudes de la période 1988-2007. La figure 11 met en évidence une augmentation des surfaces de cernes sur les deux placettes les plus hautes (2300 m et 2000 m) parallèlement à l'augmentation de la température ; cette augmentation est encore plus marquée sur la placette située à 2300 m. Lorsque la température augmente, la densité du bois final augmente sur les deux placettes les plus hautes alors qu'elle diminue sur la placette la plus basse (1350 m).

Ces résultats sont confirmés par une analyse des réponses plastiques moyennes des arbres situés aux quatre niveaux altitudinaux, mesurées à l'aide du coefficient de corrélation, présentée dans la table 3 :

Table 3 : coefficient de corrélation et probabilité associée (NS, non significatif) entre la température moyenne de la saison de végétation et les variables microdensitométriques des cernes annuels sur la période 1967-2007 aux quatre niveaux du gradient altitudinal mélèze.

Corrélation température-variables des cernes annuels	Largeur de cerne	Largeur du bois initial	Largeur du bois final	Densité du bois initial	Densité du bois final
1350 m	NS	NS	NS	r=-0,327 p=0,0370	r=-0,376 p=0,0153
1700 m	NS	NS	r=-0,353 0.0237	NS	NS
2000 m	r=0,605 p<0.0000	r=0,510 p=0.0007	r=0,710 p<0.0000	NS	r=0,741 p<0,0000
2300 m	r=0,662 p<0.0000	r=0,619 p<0.0000	r=0,594 p<0.0000	NS	r=0,807 p<0,0000

A 2000 et 2300 m, l'augmentation de la température tend à la fois à nettement augmenter la croissance radiale (largeur de cerne, aussi bien côté bois initial que bois final) et surtout la densité du bois final, mais n'a pas d'effet sur la densité du bois initial. A 1700 m, les variations de température n'affectent ni la croissance radiale (sauf une légère tendance à diminuer la largeur du bois final) ni la densité du bois, que ce soit celle du bois initial ou du bois final. A 1350 m, les variations de température n'affectent pas la croissance radiale. En revanche, quand la température augmente, la densité du bois à une légère tendance à diminuer, aussi bien dans le bois initial que dans le bois final.

22.2 Gradients altitudinaux sapin

La croissance retrospective des sapins adultes suivis sur les massifs du Mont Ventoux, de l'Issole et de la Vésubie est en cours d'analyse dans le cadre de la thèse d'Anne Latreille (2013-2016). Les conditions climatiques font l'objet d'enregistrements grâce à des stations automatiques Hobo (Figure 12).

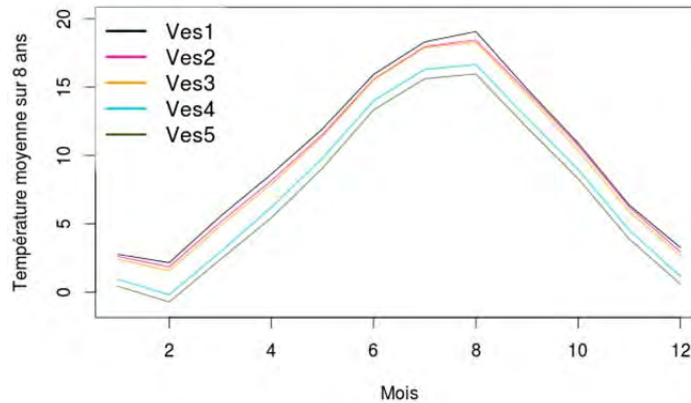


Figure 12 : températures enregistrées entre 2007 et 2014 sur les placettes d'étude du sapin pectiné en forêt de Vésubie. Températures moyennes mensuelles sur 8 ans (2007 à 2014).

Des variations significatives entre niveaux altitudinaux sont observées pour l'ensemble des traits étudiés (table 4).

Table 4 : Résultats des analyses de variance des variables phénotypiques en fonction de l'altitude (F, effet altitude, P, probabilité associée). Signification de la probabilité associée au F: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, NS non significatif.

Variabes	F	P
Largeur de cerne	172.92	<2.2e-16 ***
Largeur du bois initial	171.85	<2.2e-16 ***
Largeur du bois final	125.56	<2.2e-16 ***
Densité du bois initial	166.54	<2.2e-16 ***
Densité du bois final	73.564	<2.2e-16 ***

Cette analyse bénéficie de précédents travaux effectués sur ces mêmes massifs (Cailleret, 2011). Certains arbres ont été carottés à deux reprises. Dans un premier temps les carottes ont été interdatées et les âges cambiaux mesurés ou estimés. Dans un second temps et afin de tenir compte de l'effet de cet âge cambial sur la croissance, les accroissements individuels et annuels ont été comparés à l'accroissement moyen du niveau altitudinal considéré, accroissement modélisé selon une courbe de Gompertz (Figure 13).

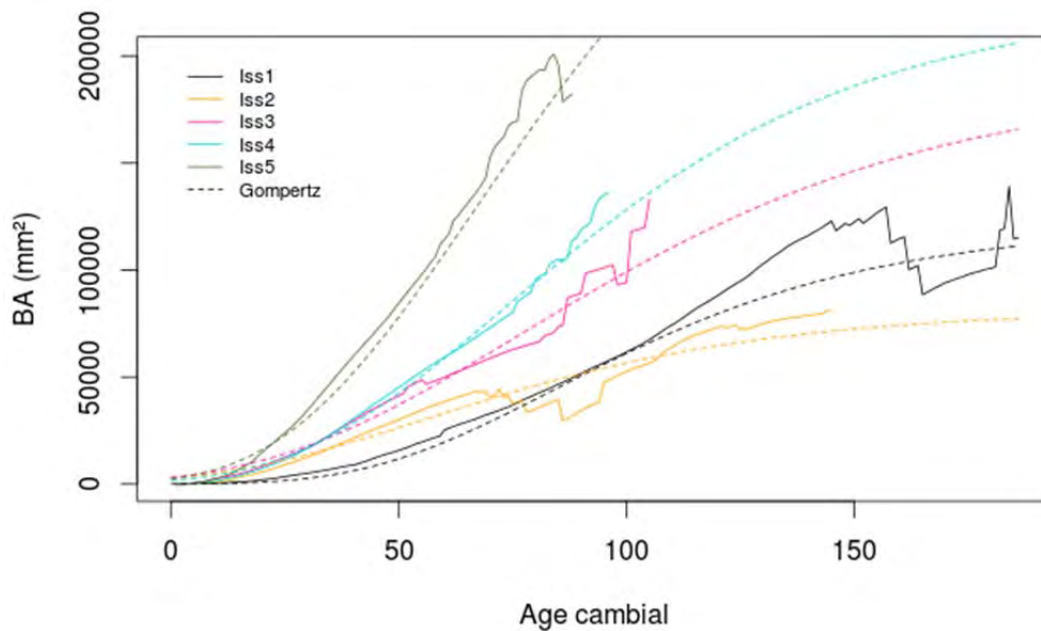


Figure 13 : accroissement moyen en surface terrière sur chaque niveau altitudinal (courbes pleines) et accroissements modélisés selon une courbe de Gompertz (courbes pointillées) sur le site Issole.

Le ratio de la croissance réalisée sur la croissance moyenne constitue l'indice de croissance relative pour lequel sont évalués les effets de l'environnement via le modèle suivant :

avec $GI = \text{Indicedecompetition} + \text{Individu} + \text{Indicedesécheresse} + \text{Année} + \text{erreur}$

Indicedecompetition

$$= \frac{1}{\text{diamètredel'arbrecarotté}} \times \lambda_{\text{espèce}} \times \sum \left(\frac{\text{diamètreducompétiteur}^\alpha}{(\text{distance}(\text{arbrecarotté} - \text{arbrecompétiteur})^\beta)} \right)$$

La compétition explique à elle seule le tiers de la variabilité observée.

La table 5 fournit la répartition de cette variabilité selon l'ensemble des facteurs et covariables. L'indice de sécheresse s'avère également corrélé à la croissance mais ne prend en compte qu'une partie des effets années. L'indice de sécheresse est basé sur le calcul du bilan hydrique du sol et prend en compte notamment les caractéristiques du sol, la température, les précipitations, la fonte des neiges et l'évapotranspiration potentielle. Les autres composantes d'ordre climatique sont en cours d'identification. Afin d'évaluer l'adaptation locale, la sensibilité de la croissance aux variations climatiques sera ensuite évaluée entre les niveaux altitudinaux ainsi qu'entre les arbres intra niveau.

Table 5 : résultats de l'analyse de variance de l'indice de croissance en fonction de la compétition, des individus, de l'indice de sécheresse et de l'année

facteur/covariable	F	P-value	Part de la Variance expliquée (%)
Compétition	1838.655	<2.2e-16 ***	32
Individus	45.861	<2.2e-16 ***	28
Année	18.511	<2.2e-16 ***	11
Indice de sécheresse	263.470	<2.2e-16 ***	4

Part de la Variance non expliquée (%)	25
---------------------------------------	----

2.3 Mécanismes non sélectifs de la structuration génétique

Les mécanismes évolutifs neutres peuvent influencer la variation génétique de gènes codant pour des caractères potentiellement sous sélection. L'étude de la variation de la diversité neutre au sein des populations étudiées peut permettre de déterminer si certaines conditions nécessaires à l'adaptation locale sont réunies.

Les processus évolutifs neutres n'ont pas diminué la variance génétique

La capacité à répondre par le biais de l'adaptation génétique à des pressions de sélection dépend conjointement de deux paramètres : l'héritabilité et la variance génétique. La variance génétique peut être influencée par les processus évolutifs neutres. La diversité génétique observée pour la population de mélèze peut être considérée comme élevée ($H_e=0,76$). Cette valeur est très proche de ce qui est généralement observé chez les arbres forestiers (Hamrick 2004) et est en accord avec ce qui a déjà été observé chez la même espèce à l'aide du même type de marqueurs (Pluess 2011, King et al. 2013). Cette forte diversité génétique indique l'absence d'un goulot d'étranglement dans le passé récent et montre que la population peut être considérée de grande taille. Ce résultat suggère que les processus évolutifs neutres n'ont pas réduit la variance génétique disponible pour des caractères phénotypique dans le peuplement de mélèze distribué le long du gradient.

De fort flux de gènes maintiennent une grande diversité génétique à tous les niveaux du gradient

L'analyse de la diversité neutre met en évidence une très faible différenciation significative inter-niveaux altitudinaux ($F_{ST} = 0,0152$ $p < 0.001$). Cette très faible différenciation génétique indique que les flux de gènes entre les différents niveaux altitudinaux sont forts. Du point de vue de la diversité génétique neutre, ce peuplement forestier peut donc être considéré comme une seule et même population.

L'intensité des flux de gènes est un frein à l'adaptation locale. En effet, la différenciation génétique adaptative le long d'un gradient dépend de l'échelle géographique de l'hétérogénéité environnementale ainsi que de l'équilibre entre les flux de gènes et la sélection (Savolainen, Pyhäjärvi, et Knürr 2007). Chez les arbres forestiers, l'adaptation locale est un phénomène commun le long des gradients latitudinaux (De Frenne et al. 2013). Sur les gradients altitudinaux, les faibles distances géographiques favorisent les flux de gènes entre niveaux (Jump, Marchant, et Penuelas 2009) alors que les fortes différences climatiques entre niveaux peuvent modifier significativement la phénologie et plus généralement la reproduction sexuée et contrarier les échanges de gènes. La variabilité génétique est donc largement redistribuée à tous les niveaux altitudinaux, dans tous les environnements à chaque génération.

Toutefois, (Gonzalo-Turpin et Hazard 2009) ont récemment démontré que l'adaptation locale pouvait survenir le long d'un gradient altitudinal chez les plantes malgré l'existence de forts flux de gènes. De plus, deux études menées chez les arbres forestiers ont également conclu qu'une différenciation observée pour des caractères phénotypiques était le résultat de l'action d'une sélection divergente le long de gradients altitudinaux (Alberto et al. 2011, Kurt et al. 2012). Ces études démontrent que les forces de sélection peuvent être suffisamment élevées à chaque altitude pour façonner et maintenir une différenciation génétique adaptative malgré les forts flux de gènes et les courtes distances géographiques.

Très faible influence de la dérive génétique sur la variabilité génétique

La très faible intensité de la structure génétique spatiale (SGS) associée à la faible variation d'âge sur la placette à 1350 m indique d'éventuelles interventions humaines : il est possible que les arbres de cette placette proviennent d'une régénération naturelle dirigée par une intervention humaine (sous la forme d'une sélection de semenciers) ou même que certains arbres aient été plantés. Ces résultats sont confirmés par les pratiques sylvicoles locales (communications personnelles des gestionnaires forestiers locaux), mais les archives de l'ONF ne permettent pas de retrouver ce qui s'est précisément passé dans chaque placette. La placette située à 2300 m possède une dynamique génétique

différente (forte SGS, présence de déséquilibre de liaison) en plus d'un âge moyen plus jeune, ce qui pourrait indiquer qu'elle est le résultat d'une colonisation récente.

Cependant, la différenciation génétique avec l'altitude de cette population est très faible, et ce malgré ces événements historiques possibles ($F_{ST} = 0,0152$ $p < 0.001$). Ce résultat indique que la dérive génétique n'a que très faiblement influencé la diversité neutre au sein de cette population. Ainsi, le très faible impact de la dérive génétique sur la différenciation génétique le long de ce gradient invalide le fait que ce processus évolutif neutre ait pu modéliser significativement la variabilité phénotypique le long du gradient. Ces résultats suggèrent que la variation phénotypique observée peut résulter d'une adaptation locale.

2.4 Mécanismes sélectifs et adaptation locale

24.1 Approche in-situ

L'approche in-situ s'appuyant sur les PST et visant à estimer la différenciation génétique inter-altitudes permet de séparer les variables phénotypiques en deux groupes :

(1) La circonférence, la hauteur, le pourcentage d'aubier et la densité du bois initial sur la période 1967-2007 pour lesquels des valeurs de PST supérieures à la valeur du F_{ST} sont observées pour des valeurs d'héritabilité fixées moyennes et pour une proportion de la variance phénotypique inter-placettes due à des effets génétiques additifs (g) fixée inférieure à 0,3. Ces résultats indiquent que l'action de la sélection divergente a pu conduire à la différenciation de ces caractères phénotypiques. L'hypothèse de l'existence d'une adaptation locale peut être raisonnablement avancée pour ces caractères.

(2) Les caractères de largeur de cerne, surface de cerne et largeur du bois final sur la période 1967-2007 où, pour des valeurs d'héritabilité fixées moyennes et pour une proportion de la variance phénotypique inter-placettes due à des effets génétiques strictement supérieure à 0,9, le PST n'est jamais supérieur au F_{ST} . Ces résultats indiquent que l'action de la sélection divergente n'a pas contribué à différencier les groupes d'arbres situés aux différentes altitudes pour ces caractères phénotypiques. L'adaptation locale n'apparaît pas comme une hypothèse réaliste.

Chez les arbres forestiers, les caractères pour lesquels l'effet de la différenciation génétique ou l'action de la sélection divergente ont été les plus étudiés le long de gradients altitudinaux sont la hauteur et la circonférence. Nos résultats utilisant l'analyse PST montrant que l'hypothèse d'une adaptation locale pour ces deux caractères de croissance sont en accord avec les quelques études qui mettent en évidence une différenciation génétique potentiellement adaptative (Saenz-Romero, Guzman-Reyna, et Rehfeldt 2006; Vitasse et al. 2009) ou encore une différenciation génétique résultant de l'action d'une sélection divergente (Alberto et al. 2011; Kurt et al. 2012). Ces études ainsi que la nôtre mettent toutes en évidence une différenciation génétique induisant un potentiel de croissance plus faible pour les arbres situés aux hautes altitudes. Cette différenciation génétique adaptative s'explique par des compromis évolutifs entre productivité et caractères de résistance au froid (Howe et al. 2003) : aux hautes altitudes la résistance au froid serait sélectionnée au dépend de la vitesse de croissance. En revanche les individus possédant un fort potentiel de croissance pourraient être avantagés dans des environnements favorables où la compétition est généralement forte, comme les altitudes moyennes ou basses le long du gradient.

L'approche in-situ utilisant le PST permet d'identifier le caractère densité du bois initial comme étant celui pour lequel l'hypothèse d'une adaptation locale est la plus réaliste. Cette différence entre la densité du bois initial et les quatre autres variables de cerne pourrait s'expliquer par un déterminisme génétique plus fort, déjà observé chez d'autres espèces d'arbres forestiers comme le pin sylvestre (Fries et Ericsson 2009). Si l'héritabilité est élevée, alors les caractères favorables sont efficacement transmis aux descendants. Cependant, le seul résultat disponible pour *Larix decidua* indique une valeur d'héritabilité similaire pour la densité du bois initial et pour la densité du bois final (Klisz et Michalska 2011).

Pour les autres caractères, les résultats obtenus à l'aide des PST sur la période 1967-2007 suggèrent que la variabilité phénotypique inter-altitudes serait modelée principalement par l'environnement. Un résultat récent de (King et al. 2013) dans un peuplement naturel alpin de *Larix decidua* confirme que la largeur de cerne est de façon générale un caractère fortement déterminé par l'environnement et peu par la génétique.

Limitation des approches in-situ

Le parti-pris de cette partie du projet GRAAL a été de rechercher des traces d'adaptation locale le long d'un gradient à l'aide d'approches in-situ. La stratégie que nous avons employée nous a permis de repérer un certain nombre de limitations.

La covariation de facteurs climatiques et non climatiques le long d'un gradient introduit des confusions lors de l'étude des relations phénotype-climat. Seules de coûteuses répétitions permettent de séparer efficacement les effets confondus.

Héritabilité in situ

Le succès de la méthodologie de (Ritland 2000) pour d'estimer l'héritabilité in situ nécessite l'échantillonnage d'un grand nombre d'individus et d'un grand nombre de marqueurs. Cette méthode implique aussi que les populations possèdent certaines caractéristiques biologiques inconnues au moment de la construction de l'échantillon, comme une grande variance d'apparement. Plusieurs études ont mis en évidence qu'il était difficile d'estimer des valeurs d'héritabilités in situ significativement différentes de zéro chez les arbres (Klaper et al. 2001; Kumar et Richardson 2005; Bouvet et al. 2008). Dans notre étude, la plupart des estimations d'héritabilité sont non significativement différentes de zéro. Les très faibles covariances entre similarités phénotypiques et proximités génétiques suggèrent que l'environnement intra-placette est très hétérogène et rend difficile l'estimation précise de l'héritabilité. Ces variations micro-environnementales sont délicates à observer et à prendre en compte.

Approximation de la différenciation génétique inter-altitudes avec le PST

L'approximation de la différenciation génétique par le PST est par nature biaisée car les différences phénotypiques observées intègrent, en plus de la différenciation génétique, les réponses plastiques dues aux variations environnementales (Pujol et al. 2008) ; cette approche ne peut donc pas fournir de preuves irréfutables d'une différenciation génétique. De plus, un gradient altitudinal maximise la variation environnementale ce qui suggère que l'effet de l'environnement sur la variabilité phénotypique inter-altitude est très élevée.

Toutefois, le PST présente le gros avantage de pouvoir comparer quantitativement les différents caractères pour le degré de différenciation phénotypique entre populations et permet d'émettre des hypothèses sur le réalisme de l'adaptation locale.

24.2 Approche ex-situ : les dispositifs de transplantation croisée

Les dispositifs de transplantation croisée résolvent une grande partie des problèmes méthodologiques posés par l'étude directe des arbres en place le long des gradients altitudinaux.

Survie

La survie des plantules à cinq ans est élevée (82%) mais varie selon les sites et les altitudes de plantation, les taux les plus faibles étant observés en Vésubie et à basse altitude (50%).

Table 6 : taux de survie des semis de sapin en fonction du site et le l'altitude de plantation.

Niveau \ Site	Ventoux	Issole	Vésubie
Bas	0,90	0,70	0,49
Moyen	0,89	0,77	0,69
Haut	0,97	0,89	0,75

Les trois origines géographiques (Ventoux, Issole et Vésubie) montrent des taux de survie très proches (84 %, 81 % et 82 % respectivement). En revanche les niveaux altitudinaux d'où proviennent les semences ont un effet significatif sur le taux de survie, sans pour autant qu'une relation claire entre survie et altitude d'origine n'apparaisse. Cet effet de l'origine est relativement stable sur l'ensemble des neuf sites/niveaux de plantations.

Table 7 : effet de l'origine sur la survie (tous niveaux de plantations confondus)

	Ventoux	Issole	Vésubie
Niveau bas	0,87	0,79	0,86
Niveau bas/moyen	0,84	0,85	
Niveau moyen	0,84	0,76	0,76
Niveau moyen/haut	0,85	0,79	0,79
Niveau haut	0,75	0,82	0,82

Enfin, la variabilité du taux de survie s'exprime assez fortement entre les différentes descendance maternelles (de 61% à 92%)

Phénologie du débourrement

Comme attendu, la précocité du débourrement des semis de sapin est fortement corrélée à l'altitude de (trans)plantation. Les variations sont conformes aux variations thermiques le long de ces gradients. En revanche, ni l'origine géographique (en termes de massif) ni l'origine altitudinale n'affectent significativement cette précocité. D'autre part la variabilité entre familles de demi-frères, bien que significative, est très modérée. Ceci traduit un faible contrôle génétique du trait dont l'héritabilité est estimée à seulement 9 % (0.07-0.17). Ce résultat est quant à lui inattendu en raison du fort contrôle génétique généralement reconnu pour les traits phénologiques (Pliura et al. 2014). L'hypothèse avancée est la moindre importance adaptative de la date de débourrement foliaire chez une espèce à feuille persistantes, ici le sapin.

Croissance

En moyenne la croissance (évaluée sur l'accroissement depuis la plantation) des plantules diffère peu entre sites de plantation mais est variable selon l'altitude, particulièrement en Issole. Elle est toujours plus faible à moyenne altitude et plus forte à haute altitude sur les sites d'Issole et de Vésubie.

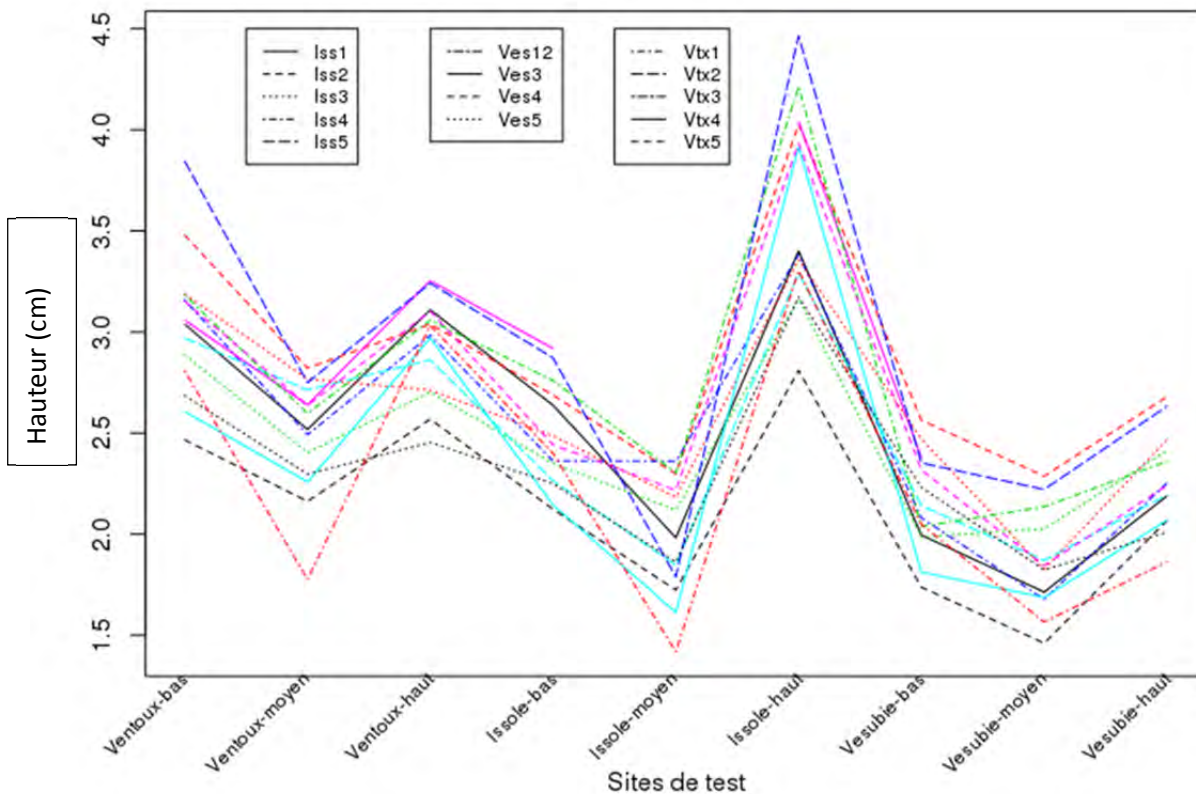


Figure 14 : hauteur moyenne des différentes origines (sites et altitudes) dans les différents sites de test.

Les trois origines géographiques (Ventoux, Issole et Vésubie) montrent des croissances en hauteur semblables. En revanche la croissance des plantules est très variable en fonction de l'altitude d'origine des graines. Comme pour la survie, la variabilité ne correspond pas à une relation directe avec l'altitude mais semble aléatoire. D'autre part, le comportement instable de certaines origines génétiques sur l'ensemble des neuf sites-niveaux de plantations pourrait traduire une adaptation spécifique à des conditions particulières de milieu.

La variabilité de la croissance en hauteur est également très importante entre descendances maternelles et varie du simple au double.

Sur l'ensemble des neuf sites de transplantation, l'héritabilité de la croissance est estimée à 23 % (0,12-0,35) lorsque l'on tient compte des niveaux altitudinaux d'origine et à 35 % (0,24-0,53) si l'ensemble des niveaux est considéré comme une seule population. Estimée pour chacun des neuf sites de transplantations (3 forêts x 3 niveaux), cette héritabilité varie entre 3 et 60 % (table 8). Sa variabilité entre sites est imputable à la variabilité de l'amplitude d'expression de la variabilité génétique entre familles. Le faible écart entre sa valeur moyenne sur ces neuf sites et l'héritabilité estimée sur l'ensemble des sites traduit la relativement faible interaction génotype x milieu (ici familles x sites de transplantations).

Table 8 : estimation de l'héritabilité de la croissance sur chacun des neuf sites de transplantation.

	Ventoux	Issole	Vésubie
Niveau bas	0,54 (0,32-0,88)	0,12 (0,00-0,39)	0,24 (0,08-0,50)
Niveau moyen	0,60 (0,36-1,11)	0,32 (0,01-0,65)	0,03 (0,00-0,25)
Niveau haut	0,24 (0,12-0,51)	0,41 (0,18-0,68)	0,23 (0,09-0,45)

Afin d'évaluer les éventuelles différences d'allocation de la biomasse en fonction des origines et/ou des conditions de transplantation, des semis ont été récoltés et pesés pour une partie du dispositif expérimental (2 blocs x 2 altitudes (haut et bas) x 2 massifs (Ventoux et Issole)). Ces travaux font l'objet d'un master II au printemps 2015 et sont donc postérieurs au projet GRAAL. Les premiers résultats de l'analyse des biomasses (racines, tiges et aiguilles) confirment l'absence de différenciation entre les massifs et altitudes d'origine. Ils confirment également la forte héritabilité de la croissance ici évaluée sur les trois compartiments (52 %). Les ratios montrent quant à eux des héritabilités variables, moyennes pour les aiguilles/racines (32 %) ou les tiges/racines (28 %) et faible pour les aiguilles/tiges (6 %). L'héritabilité du ratio partie aérienne sur partie souterraine atteint 38 % révélant des stratégies variées entre familles.

3. Conclusions

Les forts flux de gènes entre les différents niveaux altitudinaux du gradient mélèze redistribuent à chaque génération la variabilité génétique disponible. Confrontée à des conditions environnementales variables, cette diversité s'érode localement et différenciellement sous l'effet des pressions de sélection variables, peut-être dès les stades les plus précoces de la régénération naturelle. Les analyses des caractères phénotypiques liés à la croissance, à la formation du bois et aux fonctions associées, aussi bien au niveau intra annuel qu'au niveau inter annuel, montrent que les conditions les plus défavorables qui se rencontrent aux deux extrémités du gradient se fondent sur des pressions de sélection différentes : si le froid reste le facteur limitant au-dessus de 2000 m, une croissance récemment accélérée avec une densité du bois final plus élevée sont cohérents avec l'amélioration des conditions de croissance liée à l'augmentation de la température. En dessous de 1700 m, une croissance moins modifiée associée à une diminution de la densité du bois et aux mesures de durée de période d'activité cambiale et de formation du bois suggère que les pressions de sélection sont plutôt liées à des stress hydriques tardifs en saison de végétation. Cette hypothèse est également cohérente avec l'analyse de l'adaptation locale le long du gradient à l'aide de l'approche Pst : le caractère densité du bois initial, impliqué dans la circulation de la sève brute et donc dans la réponse aux contraintes hydriques, est celui pour lequel l'hypothèse de l'existence d'adaptations locales est la plus réaliste.

En ce qui concerne le sapin pectiné étudié sur les trois massifs du mont Ventoux, de l'Issole et de la Vésubie, le test de transplantations réciproques établi sur neuf sites (trois massifs, trois altitudes) révèlent, au stade semis, 1) une absence de différenciation sur les performances phénotypiques de survie, de phénologie et de croissance entre les massifs d'origine, 2) une absence d'adaptation locale le long des gradients altitudinaux 3) un assez fort contrôle génétique de la croissance. La phénologie du débourrement s'avère en revanche très peu héritable. Les analyses de croissance au stade adulte doivent être complétées afin d'identifier des facteurs environnementaux et notamment climatiques qui affectent le comportement des arbres.

La combinaison d'une variabilité génétique assez grande et une absence d'adaptation locale placerait les populations de sapin dans une situation aussi favorable que possible vis à vis de l'adaptation au changement climatique. En effet chacune de ces populations semble porter la majorité de potentiel évolutif présent sur l'ensemble des massifs et gradients. Néanmoins l'ampleur du changement climatique et surtout la vitesse à laquelle il opère ne permettront une survie effective des arbres et

peuplements que dans la partie la plus froide de son aire de répartition, à moyenne et haute altitudes en montagne.

Enfin, la faible capacité de dispersion des semences d'une part et la durée nécessaire à l'installation d'un peuplement d'autre part ne permettent pas d'espérer de migrations naturelles effectives sans une sylviculture très active. Dans l'hypothèse où l'absence ou la faible adaptation locale serait confirmée, le recours à la migration assistée pourrait s'avérer utile et pourrait être mis en œuvre à partir de semences récoltées dans un grand nombre de peuplements.

Dans tous les cas, gradients et dispositifs de transplantation réciproques sont des outils uniques et précieux d'étude de l'adaptation des arbres forestiers au changement climatique : l'investissement considérable consenti pour installer ces dispositifs devra être valorisé scientifiquement dans les années qui viennent en suivant et en observant régulièrement et rigoureusement ces dispositifs : leur étude ne doit pas s'arrêter à la fin de GRAAL.

4. Références Bibliographiques

- Aitken, Sally N., Sam Yeaman, Jason A. Holliday, Tongli Wang, et Sierra Curtis-McLane. 2008. « Adaptation, Migration or Extirpation: Climate Change Outcomes for Tree Populations ». *Evolutionary Applications* 1 (1): 95-111. doi:10.1111/j.1752-4571.2007.00013.x.
- Alberto, F., L. Bouffier, J. M. Louvet, J. B. Lamy, S. Delzon, et A. Kremer. 2011. « Adaptive Responses for Seed and Leaf Phenology in Natural Populations of Sessile Oak along an Altitudinal Gradient. » *Journal of Evolutionary Biology* 24 (7). doi:10.1111/j.1420-9101.2011.02277.x.
- Bouvet, J. M, B. Kelly, H. Sanou, et F. Allal. 2008. « Comparison of marker- and pedigree-based methods for estimating heritability in an agroforestry population of *Vitellaria paradoxa* CF Gaertn. (shea tree) ». *Genetic Resources And Crop Evolution* 55 (8): 1291-1301.
- De Frenne, Pieter, Bente J. Graae, Francisco Rodríguez-Sánchez, Annette Kolb, Olivier Chabrierie, Guillaume Decocq, Hanne De Kort, et al. 2013. « Latitudinal Gradients as Natural Laboratories to Infer Species' Responses to Temperature ». *Journal of Ecology* 101 (3): 784-95. doi:10.1111/1365-2745.12074.
- Fries, Anders, et Tore Ericsson. 2009. « Genetic Parameters for Early Wood and Latewood Densities and Development with Increasing Age in Scots Pine ». *Annals of Forest Science* 66 (4): 404-404. doi:10.1051/forest/2009019.
- Gonzalo-Turpin, Héloïse, et Laurent Hazard. 2009. « Local Adaptation Occurs along Altitudinal Gradient despite the Existence of Gene Flow in the Alpine Plant Species *Festuca eskia* ». *Journal of Ecology* 97 (4): 742-51. doi:10.1111/j.1365-2745.2009.01509.x.
- Hamrick, J. L. 2004. « Response of forest trees to global environmental changes ». *Forest Ecology and Management, Dynamics and Conservation of Genetic Diversity in Forest Ecology.*, 197 (1-3): 323-35. doi:10.1016/j.foreco.2004.05.023.
- Howe, Glenn T, Sally N Aitken, David B Neale, Kathleen D Jermstad, Nicholas C Wheeler, et Tony HH Chen. 2003. « From genotype to phenotype: unraveling the complexities of cold adaptation in forest trees ». *Canadian Journal of Botany* 81 (12): 1247-66. doi:10.1139/b03-141.
- Jump, Alistair S., Rob Marchant, et Josep Penuelas. 2009. « Environmental Change and the Option Value of Genetic Diversity ». *Trends in Plant Science* 14 (1): 51-58. doi:10.1016/j.tplants.2008.10.002.
- Kawecki, Tadeusz J., et Dieter Ebert. 2004. « Conceptual Issues in Local Adaptation ». *Ecology Letters* 7 (12): 1225-41. doi:10.1111/j.1461-0248.2004.00684.x.
- King, Gregory M., Felix Gugerli, Patrick Fonti, et David C. Frank. 2013. « Tree Growth Response along an Elevational Gradient: Climate or Genetics? ». *Oecologia*, 1-14. Consulté le septembre 20. doi:10.1007/s00442-013-2696-6.
- Klaper, R., K. Ritland, T. A Mousseau, et M. D Hunter. 2001. « Heritability of phenolics in *Quercus laevis* inferred using molecular markers ». *Journal Of Heredity* 92 (5): 421-26.

- Klisz, M., et A. Michalska. 2011. « Genetic Parameters of Wood Density Components in European Larch. » *Annals of Warsaw University of Life Sciences - SGGW, Forestry and Wood Technology*, n° 74: 174-78.
- Kumar, S., et T. E. Richardson. 2005. « Inferring Relatedness and Heritability Using Molecular Markers in Radiata Pine ». *Molecular Breeding* 15 (1): 55-64. doi:10.1007/s11032-004-2059-4.
- Kurt, Y., S. C. Gonzalez-Martinez, R. Alia, et K. Isik. 2012. « Genetic Differentiation in Pinus Brutia Ten. Using Molecular Markers and Quantitative Traits: The Role of Altitude. » *Annals of Forest Science* 69 (3). doi:10.1007/s13595-011-0169-9.
- Lebourgeois, F., J. C Pierrat, V. Perez, C. Piedallu, S. Cecchini, et E. Ulrich. 2008. « Phenological timing in French temperate forests - a study on stands in the Renecofor network. » *Revue Forestiere Francaise* 60 (3): 323-43.
- Leinonen, Tuomas, R. J. Scott McCairns, Robert B. O'Hara, et Juha Merilä. 2013. « QST–FST Comparisons: Evolutionary and Ecological Insights from Genomic Heterogeneity ». *Nature Reviews Genetics* 14 (3): 179-90. doi:10.1038/nrg3395.
- Pliura, Alfas, Vytautas Suchockas, Dani Sarsekova, et Valda Gudynaitė. 2014. « Genotypic variation and heritability of growth and adaptive traits, and adaptation of young poplar hybrids at northern margins of natural distribution of Populus nigra in Europe ». *Biomass and Bioenergy* 70 (novembre): 513-29. doi:10.1016/j.biombioe.2014.09.011.
- Pluess, Andrea R. 2011. « Pursuing Glacier Retreat: Genetic Structure of a Rapidly Expanding Larix Decidua Population ». *Molecular Ecology* 20 (3): 473-85. doi:10.1111/j.1365-294X.2010.04972.x.
- Polge, H. 1978. « Fifteen years of wood radiation densitometry. » *Wood Science and Technology* 12 (3): 187-96.
- Pujol, B., A. J. Wilson, R. I. C. Ross, et J. R. Pannell. 2008. « Are QST–FST Comparisons for Natural Populations Meaningful? ». *Molecular Ecology* 17 (22): 4782-85. doi:10.1111/j.1365-294X.2008.03958.x.
- Rathgeber, Cyrille B. K., Fleur Longuetaud, Frédéric Mothe, Henri Cuny, et Gilles Le Moguédec. 2011. « Phenology of wood formation: Data processing, analysis and visualisation using R (package CAVIAR) ». *Dendrochronologia*, Special Issue on Monitoring Wood Formation, 29 (3): 139-49. doi:10.1016/j.dendro.2011.01.004.
- Ritland, K. 2000. « Marker-inferred relatedness as a tool for detecting heritability in nature ». *Molecular Ecology* 9 (9): 1195-1204.
- Saenz-Romero, C., R. R. Guzman-Reyna, et G. E. Rehfeldt. 2006. « Altitudinal genetic variation among Pinus oocarpa populations in Michoacan, Mexico: implications for seed zoning, conservation, tree breeding and global warming. » *Forest Ecology and Management* 229 (1/3): 340-50.
- Savolainen, Outi, Tanja Pyhäjärvi, et Timo Knürr. 2007. « Gene Flow and Local Adaptation in Trees ». *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 38 (1): 595-619. doi:10.1146/annurev.ecolsys.38.091206.095646.
- Vitasse, Y., S. Delzon, C. C. Bresson, R. Michalet, et A. Kremer. 2009. « Altitudinal differentiation in growth and phenology among populations of temperate-zone tree species growing in a common garden. » *Canadian Journal of Forest Research* 39 (7): 1259-69.
- Wagner, Stefanie, Sophie Gerber, et Rémy J. Petit. 2012. « Two Highly Informative Dinucleotide SSR Multiplexes for the Conifer Larix Decidua (European Larch) ». *Molecular Ecology Resources* 12 (4): 717-25. doi:10.1111/j.1755-0998.2012.03139.x.