

PROJET DE RECHERCHE-ACTION

PROGRAMME HETRAIE DU CIRON

Agence de l'Eau Adour-Garonne

INRA – Université de Bordeaux

Syndicat Mixte d'Aménagement du Bassin Versant du Ciron



Référence INRA 22000961

Dossier coordonné par Alexis DUCOUSSO

Référence AEAG 310 33 0128

INTRODUCTION

Le bassin versant du Ciron se situe à 70 km au sud-est de Bordeaux. Le Ciron est une petite rivière de 100 km de long avec de nombreux enjeux de développement durable :

- Fournir de l'eau à la Communauté Urbaine de Bordeaux
- Production du vin de Sauternes
- Massif forestier très importants dont un complexe de ripisylve remarquables par leurs états de conservation, leurs continuités et leurs diversités
- Hot-spot de la biodiversité au niveau des écosystèmes, des espèces et des ressources génétiques

La biodiversité exceptionnelle hébergée dans la vallée du Ciron est due à son histoire, à sa complexité géologique et à son fonctionnement hydrologique.

Dans ce projet, nous nous focaliserons sur les peuplements de hêtre et aussi à un degré moindre sur les essences associées. Plusieurs disciplines sont mobilisées dans ce projet :

- La biologie des populations pour appréhender les possibilités de régénération naturelle du hêtre
- L'étude des invasions biologiques qui menacent cet écosystème. Dans cette étude, nous avons pris le cas du robinier
- Le microclimat afin de mieux comprendre la persistance du hêtre dans une situation de plaine aussi au sud
- La génétique pour analyser la répartition spatiale de la diversité génétique du hêtre et du tilleul et le régime de la reproduction du hêtre
- La dendrochronologie du hêtre afin de comprendre les exigences climatiques et estimer les chances de survie du hêtre face aux changements climatiques

Etudes	Unités impliquées	Responsables
Agence de l'eau Etude 1-7 : Régénération précoce et interactions biotiques	BIOGECO	Corcket Emmanuel
Agence de l'eau Etude 3 : Espèce invasive : robinier	BIOGECO	Mariette Stéphanie et Porté Annabel
Agence de l'eau Etude 4 : Etude du microclimat	BIOGECO et ISPA	Brunet Yves et Corcket Emmanuel
Agence de l'eau Etude 5 : Les flux de gènes durant la régénération naturelle	BIOGECO	Hampe Arndt et Ducouso Alexis
Agence de l'eau Etude 5-6 : dendrochronologie	BIOGECO	Bert Didier
Agence de l'eau Etude 6 : Structuration de la diversité génétique	BIOGECO	Petit Rémy, Hampe Arndt et Ducouso Alexis

Tableau 1 : études, unités impliquées et responsables du présent contrat.

Pour construire un programme de recherches et d'actions cohérentes, nous avons mis en place un groupe de travail de plus de 40 personnes issues des organismes suivants :

- INRA
- Université de Bordeaux
- Syndicat Mixte d'Aménagement du Bassin Versant du Ciron
- Conservatoire National Botanique Sud-Aquitaine
- IRSTEA

Ce groupe se réunit au moins deux fois par an pour faire le point sur les recherches, les travaux et réfléchir sur le montage de projet. LA réunion de printemps a lieu dans la vallée du Ciron et celle d'automne sur le site de l'INRA de Cestas.

Le présent travail se continue à travers les projets :

- Hydrobeech : qui étudie l'origine de l'eau utilisée par les hêtres
- Micromic : qui inventorie la biodiversité en particulier au niveau de la phyllosphère
- SEEFORST qui analyse les différents profils de propriétaire et la biodiversité dans leur propriété

Agence de l'eau Etude 1-7 :

Régénération précoce

et

interactions biotiques

Emmanuel Corcket, Marion Walbott et Yves Brunet



1. Recherches

1.1. Objectifs

Il s'agissait dans cette action de mieux comprendre la dynamique de régénération du hêtre dans la vallée du Ciron, en tenant compte du microenvironnement physique (température, microclimat) mais aussi des interactions biotiques structurées par la végétation environnante. Les interactions végétales testées ont été l'influence de la canopée forestière (peuplements de pin maritime, peuplements de feuillus, peuplements mixtes) et l'influence des interactions de la communauté végétale par allélopathie (interactions chimiques).

Ces recherches seront résumées en trois points :

- l'influence de l'allélopathie par les espèces forestières potentiellement abondantes ;
- l'influence de la canopée forestière ;
- la dynamique de germination en fonction du microclimat.

1.2. Matériels et méthodes

Interactions allélopathiques

Ce mécanisme d'interaction chimique entre les plantes a été testé en conditions contrôlées, au laboratoire de Biogeco à l'Université de Bordeaux. Des extraits foliaires de lierre, fragon petit houx, hêtre, chêne pédonculé et pin maritime ont été réalisés (voir figure 1) et appliqués à des faînes de hêtre pour évaluer leur effet sur la germination et la croissance de jeunes plants de hêtre. Cette expérimentation teste ainsi l'effet des pluviollessivats que l'on trouve naturellement dans les sous-bois sur la dynamique de régénération du hêtre.



Figure 1 : extraits foliaires de lierre (*Hedera helix*), chêne pédonculé (*Quercus robur*), hêtre (*Fagus sylvatica*), fragon petit houx (*Ruscus aculeatus*), pin maritime (*Pinus pinaster*). Walbott 2018, thèse.

Influence de la canopée forestière

Cette partie a nécessité un développement méthodologique particulier (en cours de publication dans les Cahiers Techniques de l'INRA). Il s'agissait de construire des mésocosmes édaphiques, écosystèmes

reconstitués permettant de standardiser les types de sols pour y implanter du matériel végétal (voir figure 2).



Figure 2 : différentes étapes de confection des mésocosmes édaphiques. Disposition des bacs à l'Unité Expérimentale de Pierroton, première couche de billes d'argile, deuxième couche de sable blanc, prélèvement de sol forestier du Ciron, mélange sol forestier – sable blanc – matière organique, disposition de la dernière couche organo-minérale. Walbott 2018, thèse.

Au sein de chaque mésocosme, des semis de faîne et des plantations de jeunes hêtres ont été effectués sous quatre types de canopées (pin, feuillus, mixte, aucune canopée = milieu ouvert) le long de la vallée du Ciron. Le succès de germination de faînes, la croissance des germinations et des plants, ainsi que les caractéristiques foliaires des plants (« traits fonctionnels ») ont été suivis et mesurés.

Dynamique de germination en fonction du microclimat

Cette phase cruciale dans la régénération du hêtre a été abordée à la fois en laboratoire (Biogeco, Université de Bordeaux) et sur le terrain, de manière croisée avec respectivement les expérimentations d'allélopathie et de mésocosmes.

En conditions contrôlées, les faînes ont été disposées soit dans une armoire climatique de type « tempérées » (température réglée pour mimer une température moyenne printanière similaire à celle du cœur de l'aire de distribution du hêtre), soit dans une armoire climatique de type « chaude » (température réglée pour mimer une température moyenne printanière similaire à celle de la marge de l'aire de distribution du hêtre, avec un pic de chaleur).

Sur le terrain, l'installation de certains mésocosmes a été couplée avec des mesures microclimatiques d'interception de lumière, température, déficit en vapeur saturante pour mieux expliquer les variations attendues de germination.

1.3. Résultats scientifiques

Interactions allélopathiques

Les extraits foliaires de lierre montrent d'importants impacts allélopathiques sur la régénération du hêtre, surtout en conditions tempérées. En effet, l'extrait de lierre réduit le taux de germination du hêtre de moitié. Le taux de germination du hêtre est significativement plus élevé avec l'extrait de chêne pédonculé qu'avec les extraits de lierre et de pin maritime (Walbott *et al.* 2018).

La disponibilité en eau accroît significativement la croissance des germinations. Sans addition d'extrait foliaire, l'augmentation de la température n'a pas d'effet sur la croissance. En conditions chaudes, l'effet positif de l'exposition à l'extrait de pin maritime n'est pas significatif à cause de la très forte variabilité de la réponse. En chambre tempérée, le taux de croissance relatif des plantules de hêtre est significativement supérieur pour un arrosage double et un extrait de lierre par rapport à un arrosage simple et un extrait de chêne pédonculé (Walbott *et al.* 2018).

En chambre chaude, le taux de croissance relatif des plantules de hêtre pour un arrosage simple et un extrait de chêne pédonculé est toujours significativement inférieur à un arrosage double avec extrait de pin maritime. On retrouve le même résultat pour une conjugaison d'un arrosage simple et d'un extrait de fragon petit houx par rapport à un arrosage double et l'extrait de pin maritime. Les taux de croissances relatifs des plantules de hêtre arrosées par des extraits de lierre, quel que soit le niveau d'arrosage, restent particulièrement faibles (Walbott *et al.* 2018).

Influence de la canopée forestière sur la régénération du hêtre

Les types de canopées structurent des conditions micro-environnementales relativement différentes, notamment en ce qui concerne la disponibilité en lumière. De manière évidente, les différences d'ouvertures majeures se révèlent entre milieux ouverts et couverts forestiers. La différence entre les trois types de couverts forestier est assez ténue, mais significative. En été, les peuplements de feuillus et les peuplements mixtes sont plus fermés que les peuplements de pins. En hiver, aucune différence significative d'ouverture n'est visible entre ces peuplements (figure 3). Les températures minimales sont significativement plus basses dans les milieux ouverts que dans les peuplements mixtes et feuillus. Les températures maximales sont significativement plus hautes dans les milieux ouverts que dans les peuplements feuillus (Walbott 2018).

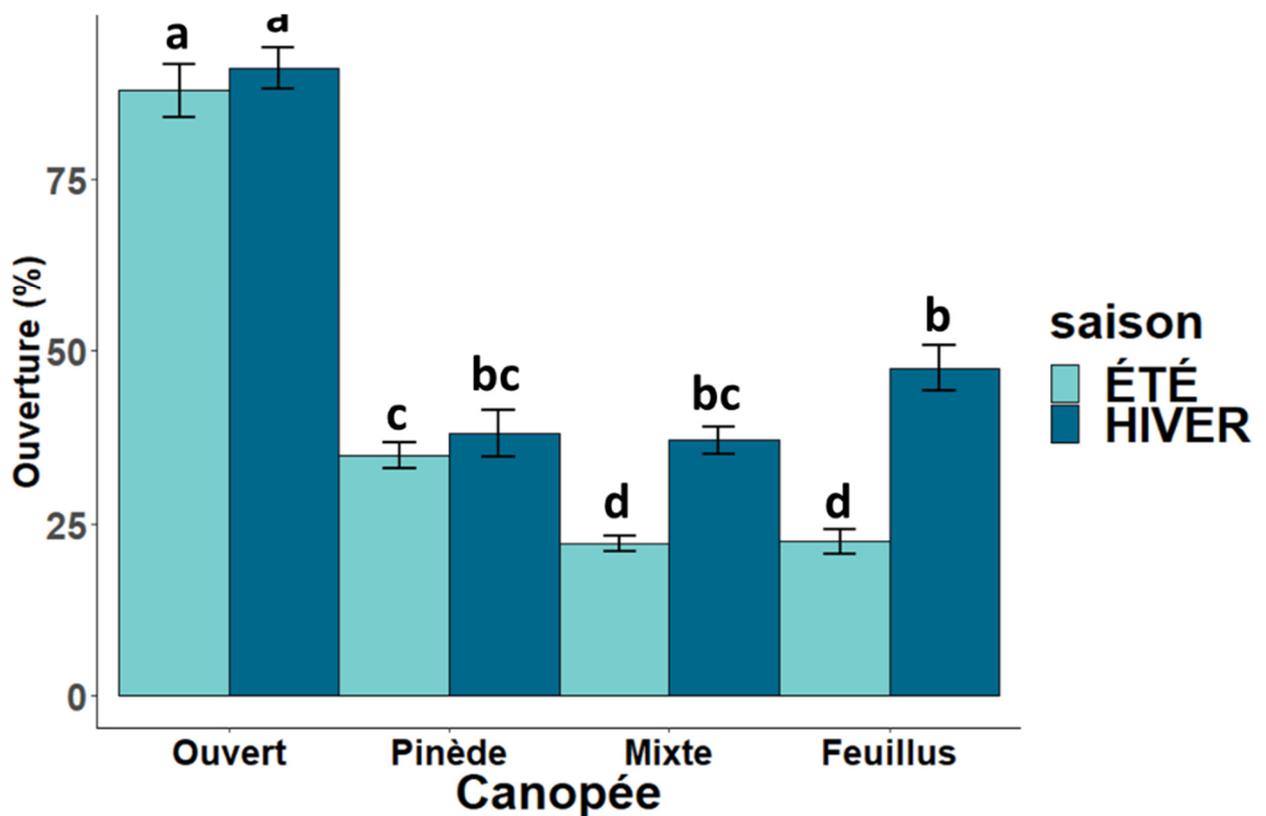


Figure 3 : pourcentages d'ouvertures des différents types de milieux, mesurés par photographies hémisphériques, en été et en hiver.

L'ouverture du peuplement forestier, c'est-à-dire la quantité de lumière au sol, a un effet négatif sur la survie des plantules de hêtre (moins marqué lorsque les plants sont plus âgés), et a moindre mesure sur la croissance. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que plus la canopée est ouverte, plus l'humidité du sol est faible.

Concernant les jeunes plantules issues de la germination en mésocosme, des températures minimales élevées permettent une meilleure croissance alors que des températures maximales élevées la diminuent, tout comme le VPD maximal. Ceci suggère une sensibilité des jeunes plantules de hêtre à la sécheresse de l'air.

Dynamique de germination en fonction du microclimat et des types de canopées

Approche en armoires climatiques -

La mortalité des germinations de faînes augmente significativement avec la température. On observe en outre une action négative conjointe de la chaleur et de la sécheresse : le taux de survie des germinations est largement supérieure en chambre tempérée avec un arrosage double (82,0 %) comparé à la chambre chaude en situation de stress hydrique (29,0 %). En proportions totales, 38,3 % (arrosage double) et 36,2 % (arrosage simple) des faînes survivent en conditions tempérées contre 16,1 % (arrosage double) et 9,4 % (arrosage simple) en conditions chaudes (Walbott et al. 2018).

La cinétique de germination des faînes montre que des températures relativement chaudes favorisent la germination, mais que des pics de chaleurs (27°C dans notre cas) inhibe de manière réversible la dynamique de germination (figure 4) .

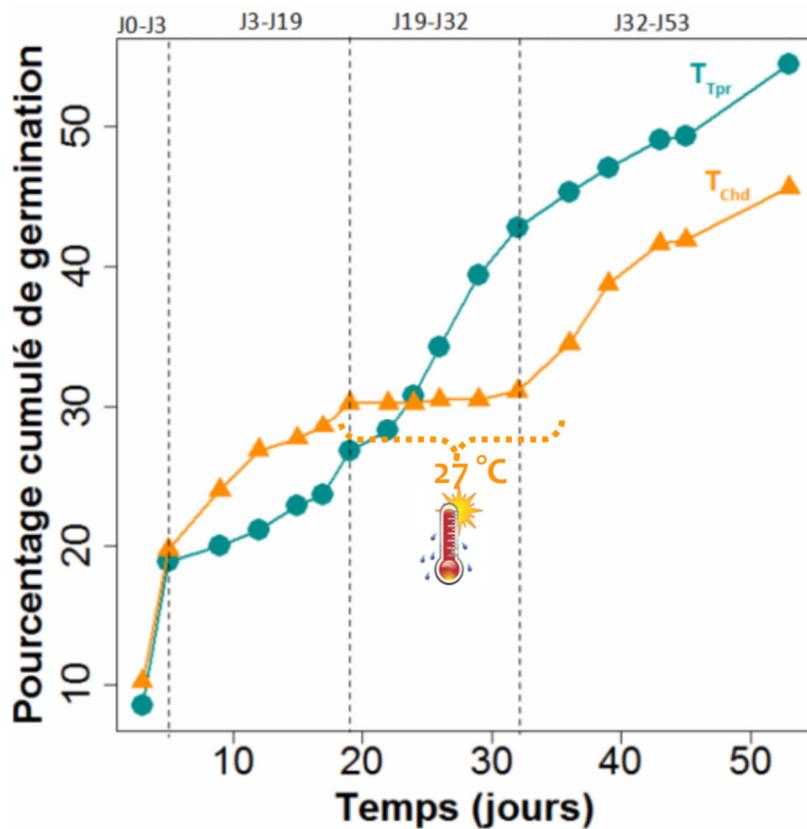


Figure 4 : Cinétique de germination du hêtre en conditions tempérées (T_{pr}) et chaudes (Chd ; Walbott 2018).

Approche par mésocosmes -

Le taux de prédation des faînes, vraisemblablement par les oiseaux, est élevé et significativement plus important dans les peuplements de pin (environ 75%) que dans les milieux ouverts (environ 50% ; Walbott 2018).

Pour les faînes restantes, le pourcentage de germination ne dépend pas du type de milieu et est très bon puisqu'il atteint les 80 % (Walbott, 2018).

1.4. Publications

Walbott M. 2018. **Rôles des facteurs locaux dans la distribution et la persistance des communautés à hêtre (*Fagus sylvatica*) en marge d'aire de répartition.** Thèse de 3ème cycle, Université de Bordeaux.

Walbott M., Gallet Ch. et Corcket E. 2018. **Germination et croissance des plantules de hêtre (*Fagus sylvatica*) sous contraintes climatiques et allélopathiques.** *Comptes-Rendus Biologies*, 341 : 444-453.

2. Perspectives

La dynamique de régénération du hêtre doit maintenant être appréhendée à l'échelle de l'aire de distribution nationale du hêtre, pour mieux cerner la spécificité de réponse dans la vallée du Ciron. Une expérimentation nationale de mésocosme a ainsi été mise en œuvre en 2019 dans un réseau regroupant la Normandie, la Lorraine, la Drôme et le Gironde dans le cadre de la thèse de L. Lacombe (2018-2021).

Agence de l'eau Etude 3 :

Invasion biologique :
Etude du Robinier faux-acacia

Annabel Porté et Stéphanie Mariette



1. De l'origine du robinier

Afin de déterminer l'origine du robinier européen, une étude portant sur 29 populations américaines et 34 populations européennes a été réalisée (Figure 1). Nous avons utilisé des marqueurs moléculaires SNP développés précédemment pour le robinier (Verdu et al. 2016). Nous avons pu mettre en évidence que le robinier a été introduit en Europe depuis un nombre limité de populations américaines situées dans les Appalaches. En effet, quand nous avons utilisé la méthode implémentée dans le logiciel Structure, **les individus européens appartenaient au même groupe génétique que des individus provenant d'un nombre limité de populations américaines : 4 populations (groupe « orange » sur la carte), situées dans la partie nord du plateau des Appalaches (Kentucky, Ohio, Pennsylvanie et Virginie).**

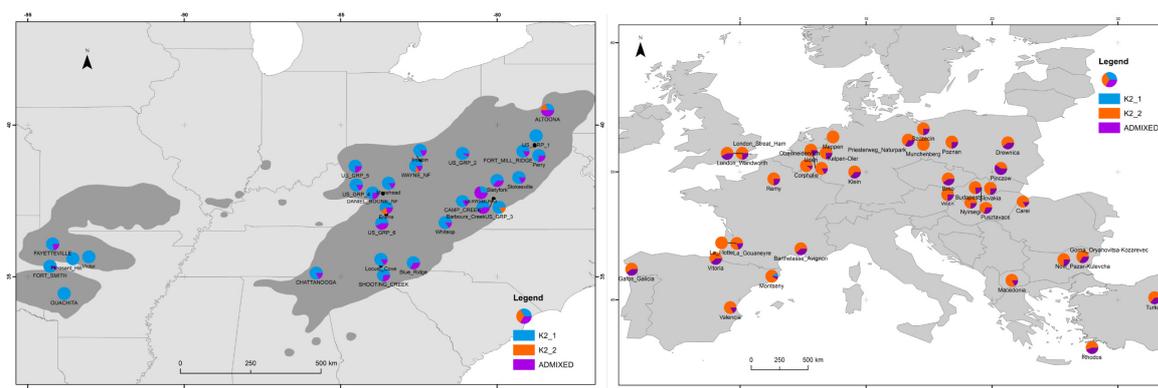


Fig 1 Diagrammes circulaires représentant la proportion d'individus assignés dans chaque population à chacun des groupes génétiques identifiés (K2_1 en bleu ou K2_2 en orange) ou encore *admixed* en violet (c'est à dire non assigné significativement à un groupe) avec A) dans l'aire native aux Etats-Unis et B) dans l'aire d'introduction européenne. Seules quatre populations dans le nord du plateau des Appalaches qui contiennent des individus assignés au cluster K2_2, qui est le groupe génétique majoritaire en Europe.

Ainsi les données moléculaires concordent avec la revue historiographique que nous avons effectuée : John Tradescant, un pionnier anglais de la fin du XVI^{ème} siècle, aurait probablement rapporté les tous premiers robiniers introduits depuis la Virginie. La Pennsylvanie aurait été ensuite une source secondaire importante d'approvisionnement du robinier. Michaux notait déjà l'usage important du bois de robinier qui y était fait en citant la ville de Harrisburgh comme un haut lieu de l'exploitation de cet arbre dans ces termes « Ainsi, dans les environs de Lancaster, et à Harrisburgh, petite ville située sur la Susquehannah, où il se fait un commerce considérable des bois qui descendent par cette rivière » (Michaux, 1813). William Cobbett reconnaîtra ensuite la région de Harrisburg comme la source des graines qu'il importa « par millions » en Europe (Cobbett, 1825). **Un scénario vraisemblable est donc qu'une fois le robinier introduit en Europe à partir d'un pool restreint de l'aire d'origine, il y ait été acclimaté puis dispersé à partir de graines ou boutures obtenues dans cette nouvelle aire, expliquant la forte similitude génétique en Europe.**

2. Des caractéristiques phénotypiques du robinier européen

Le robinier pratique à la fois la reproduction sexuée et asexuée par drageonnage (Cierjacks et al., 2013). Lors de notre étude visant à reconstruire l'histoire de l'introduction en Europe, nous voulions éviter d'échantillonner des clones car leur présence dans les populations génotypées pourrait biaiser l'estimation de la diversité génétique. Le protocole d'échantillonnage a donc été conçu afin de minimiser le risque de prélever des clones en laissant un minimum de 25 mètres entre chaque individu sélectionné. Pourtant, des génotypes identiques ont été identifiés avec notre jeu de marqueurs SNPs, et que nous avons interprétés comme des clones. Parmi les individus prélevés dans des conditions naturelles, c'est-à-dire ne provenant pas d'un jardin commun, nous avons génotypés 280 individus européens et 356 américains. Parmi eux, 98 clones ont été détectés, 30 dans l'aire américaine et 68 dans l'aire européenne. La différence est statistiquement significative ($\chi^2=29.04$, $df = 1$, $p = 7.1 \cdot 10^{-8}$). **Nous avons ainsi mis en évidence que le taux de clonalité était plus fort dans les populations européennes que dans les populations américaines : le robinier se reproduit davantage de façon asexuée dans l'aire d'introduction.**

Par ailleurs, nous avons démontré que le taux de germination est différent entre populations américaines et européennes et que cette différence a une base génétique. Pour cela nous avons semé et analysé 20 populations de robinier (3000 individus provenant de 11 populations américaines, et 9 européennes). Les semis ont été cultivés dans 3 enceintes climatiques caractérisées par 3 températures différentes (18°, 22°C et 31°C). **Le taux de germination est significativement supérieur parmi les populations dans l'aire invasive par rapport à l'aire native (88% versus 60%, en moyenne).** La figure 2 représente les normes de réaction à la température pour le taux de germination de chacune des populations étudiées des deux aires (EU : Europe, US : Amérique). Les populations européennes ont toujours un fort taux de germination, quelle que soit la température, alors que le taux de germination des populations américaines s'accroît fortement entre 18 et 22°C puis atteint un plateau. La population américaine qui a le meilleur taux de germination (76%/84%/80% respectivement à 18°C/22°C/31°C) ainsi que le plus constant au changement de température est Altoona : il s'agit d'une population située en Pennsylvanie, état américain depuis lequel de nombreuses graines ont été importées en Europe (voir partie précédente).

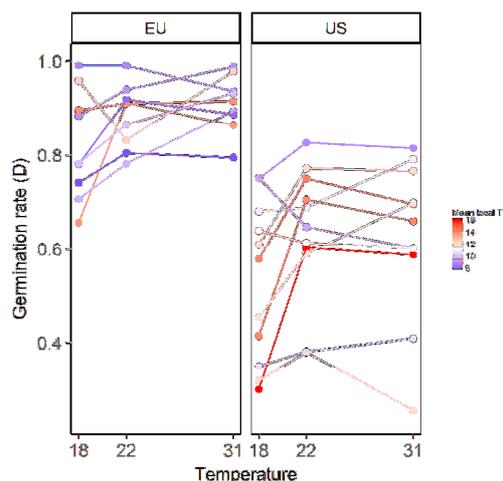


Fig 2 Normes de réaction pour le taux de germination de chacune des populations étudiées originaires des deux aires (EU : Europe, US : Amérique) en fonction de la température de l'air dans l'environnement de croissance (18°C, 22°C, 31°C).

De façon générale, l'augmentation de la température est bénéfique au développement du robinier, car tous les traits mesurés (croissance en hauteur ou diamètre, phénologie de développement) augmentent avec la température, même dans le cas d'une canicule (31°C au moment de la germination qui normalement a lieu en mai). Par conséquent, **tant que la ressource en eau est non limitante** car nous avons toujours apporté aux plants l'eau nécessaire à leur croissance, le développement du robinier pourrait être favorisé par les augmentations liées au changement climatique en Europe. Cependant, il faudrait évaluer sa résistance à la sécheresse et sa survie en environnement sec afin d'appréhender les effets du changement climatique de façon complète sur la dynamique d'invasion de l'espèce.

3. De sa dynamique en milieu naturel

Un point important à garder à l'esprit est que nous avons mesuré la germination potentielle, c'est-à-dire la faculté de germer qu'a la graine une fois sa dormance levée, car nous avons levé la dormance des graines avant de les semer et mis en culture en conditions trophiques (lumière, eau, nutriments) non limitants. En effet, les graines de robinier ont une dormance physique en raison de leurs téguments durs et imperméables, et sans traitement préalable le taux de germination est très faible, inférieur à 10% (Cierjacks et al., 2013).

Lors de nos échanges auprès des différents acteurs autour du robinier, nous avons fréquemment entendu que le robinier ne se multiplie pas par graines dans son milieu naturel en Europe mais uniquement par reproduction asexuée. D'une part, nos travaux en génétique des populations suggèrent que la reproduction sexuée participe à la régénération des populations de robinier, compte tenu de la diversité génétique observée. De plus, notre expérience en conditions contrôlées démontre que le potentiel germinatif des graines est supérieur en Europe par rapport aux Etats-Unis. Considérer que les graines ne germent jamais dans la nature revient à supposer que la levée de dormance ne se produit pas en conditions naturelles. Cela serait surprenant car d'une part le robinier produit un nombre élevé de graines et d'autre part l'abrasion des téguments est un événement plausible dans la nature, où les graines transportées par le vent ou l'eau (Cierjacks et al., 2013) sont potentiellement abrasées par frottements lors du transport.

Pour explorer cette question autour de la germination du robinier en conditions naturelles, une étude a été menée sur le terrain en vallée du Ciron : nous avons extrait du sol de jeunes robiniers (DBH ~ 1cm) au sein de placettes forestières dominées par du Pin maritime ou du Chêne pédonculé, afin d'analyser leur système racinaire et déterminer s'ils provenaient de drageons ou de graines (Fig 3).

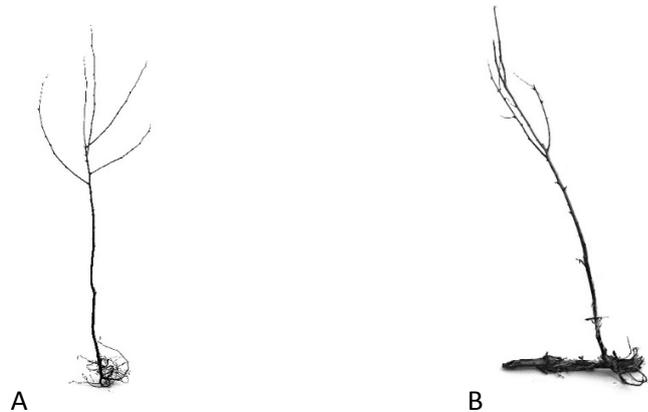


Fig 3 Jeunes robiniers issus A) d'une graine et B) d'un drageon. Notez la différence du système racinaire ou la racine traçante horizontale s'observe distinctement dans le cas du drageon (Photo XP Bouteiller)

Dans chaque placette, entre 15 et 30 robiniers étaient sélectionnés aléatoirement en respectant une distance minimale de 5m entre eux. **En moyenne, nous observons que la proportion de semis parmi la régénération observée en forêt est de 35%, confirmant ainsi l'existence de la reproduction sexuée chez le robinier, et son rôle dans la dynamique d'expansion à distance des adultes.** Les résultats ont montré une grande variabilité entre sites, avec des proportions de semis variant entre 0% et 70% (Fig 4). Dans cet échantillon, la proportion de semis est plus faible sous les pins (~20%) et plus forte sous les chênes (50%) (test significatif, chi square 12.097, $p = 0.002$). La production de drageons et donc l'augmentation du taux de reproduction asexuée a pu être augmentée en pinède du fait de la gestion forestière plus intensive (labour, coupe du sous-bois, coupe des arbres).

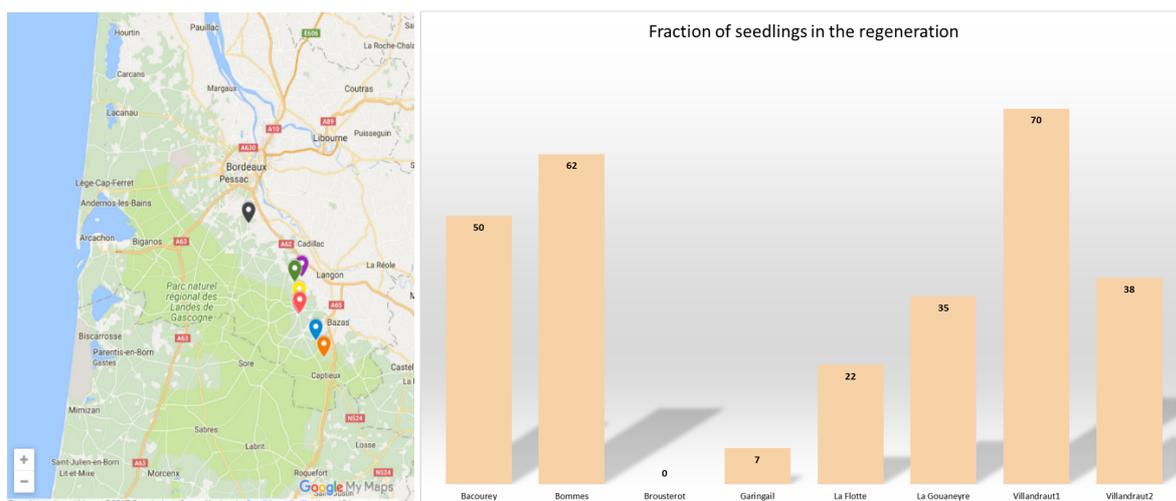


Fig 4 Carte des sites échantillonnés pour évaluer l'origine de la régénération du robinier, semis ou drageon. L'histogramme présente le taux de semis notés dans chaque site. En moyenne, 35% des individus sont issus de la reproduction sexuée par graine.

4. Publications liées à cette action

Publications scientifiques

- 1) Bouteiller XP, Moret F, Ségura R, Corréard M, Klisz M, Martinik A, Monty A, Pino J, Schneck V, van Loo M, Wodja T, Porté AJ and Mariette S. The seeds of invasion: Enhanced germination among invasive European populations of black locust compared to native American populations. (submitted to Biological Invasions)
- 2) Bouteiller XP, Verdu CF, Aikio E, Bloese P, Dianou K, Delcamp A, de Their O, Guichoux E, Mengal C, Monty A, Pucheu M, van Loo M, Porté AJ, Lassois L and Mariette S. 2019. A few north Appalachian populations are the source of European black locust. *Ecology and Evolution* (in press, DOI 10.1002/ece3.4776)
- 3) Bouteiller XP, Barraquand A, Raimbault R, Segura P, Garnier-Géré L, Lassois A, Monty C, Verdu S, Mariette S and Porté AJ. 2018. No evidence for genetic differentiation in juvenile traits between Belgian and French populations of the invasive tree *Robinia pseudoacacia*. *Plant Ecology and Evolution*, 151(1), 5-17
- 4) Bouteiller XP, Porté AJ, Mariette S and Monty A. 2017. Using automated sanding to homogeneously break seed dormancy in black locust (*Robinia pseudoacacia* L., Fabaceae). *Seed Sci. Res.* 1-8

Rapports

- 5) Bouteiller XP. 2018. Une histoire écologique et évolutive du robinier faux-acacia (*Robinia pseudoacacia* L.) depuis son introduction en Europe. Doctorat de l'Université de Bordeaux
- 6) Bússolo M. 2018. Testing for dependancy of *Robinia pseudoacacia* distribution to rivers in European forests. Ingénieur Bordeaux Science Agro, 2ème année
- 7) Brian J. 2017. Dynamique d'expansion du robinier dans son aire d'invasion : rôle de la reproduction sexuée. Master Sciences Technologies Santé 1ère année. Université de Bordeaux.
- 8) Moret F. 2017. Variabilité phénotypique du développement juvénile de *Robinia pseudoacacia* en fonction de l'aire d'origine et de la température. Master Sciences - Technologie – Santé. Université de Picardie.
- 9) Bouteiller X. 2015. Plasticité phénotypique et différenciation génétique entre populations européennes de *Robinia pseudoacacia*. Master Environnement, Sols, Eaux et Biodiversité 2ème année. Université de Rouen
- 10) Raimbault A. 2015. Robinier faux acacia et Faux vernis du Japon : diversité et moyens de lutte. Master 1ère année BEC, Université de Bordeaux.

Communications orales

- 11) Bouteiller XP, Moret F, Aikio E, Bloese P, Bradburd G, Born D, Burlett R, Cheval N, Corréard M, Dianou K, De Thier O, Delcamp A, Galanos C, Goikoetxea P, Gonzalez Martinez S, Guichoux E, Irola S, Klisz M, Laguna E, Lassois L, Léger P, Longaner R, Martinik A, Mengal C, Monty A, Orazio C, Pastuszka P, Pino J, Pucheu M, Quenu A, Raimbault A, Schneck V, Segura R, van Loo M, Verdu C, Wodja T, Zas R, Porté AJ and Mariette S. 2018. Reduced genetic diversity and enhanced germination potential characterize European black locust (*Robinia pseudoacacia* L.). In : COST

Action FP 1403 NNEXT Non-native tree species for European Forests, conference held in Vienna, Austria, 12-14 September. Conférencier invité

- 12) Porté AJ, Bússolo M, Brian J, Segura R, Talarczyk A, Quenu A, Bouteiller XP and Mariette S. 2018. Assessing the dynamics of Black locust in European forests. In : COST Action FP 1403 NNEXT Non-native tree species for European Forests, conference held in Vienna, Austria, 12-14 September. Poster
- 13) Bouteiller XP, Moret F, Born D, Delcamp A, Goicoechea PG, Klisz M, Lassois L, Longaner R, Martinik A, Mengal C, Monty A, Pino J, Pucheu M, Schneck V, Segura R, Van Loo M, Verdu C, Wodja T, Mariette S and Porté AJ. 2017. Getting better: which germination and juvenile traits are important for invasion in *Robinia pseudoacacia*? In: 23rd European Meeting of PhD Students in Evolutionary Biology, Krasiczyn, Poland, 10-15 September. Communication
- 14) Bouteiller XP, Aikio E, Raimbault A, Segura R, Lassois L, Monty A, Verdu C, Mariette S and Porté AJ. 2017. Born in the USA : a quantitative genetic study of the invasive tree *Robinia pseudoacacia* in Europe. In: 4th Young Natural History scientists' Meeting, Paris, 7-11 February. Communication (Awarded best oral presentation in Evolutionary Ecology)
- 15) Bouteiller XP, Aikio E, Raimbault A, Segura R, Lassois L, Monty A, Verdu C, Mariette S and Porté AJ. 2016. No evidence for genetic differentiation between French and Belgian populations of the exotic tree *Robinia pseudoacacia*. In: IUFRO Genomics and Forest Tree Genetics, conference held in Arcachon, France, May30-June3. Poster.
- 16) Porté AJ, C Verdu, XP Bouteiller, E Aikio, K Daïnou, A Delcamp, O de Thier, F Gévaudant, E Guichoux, Y Laizet, P Lejeune, C Mengal, S Quevauvillers, A Raimbault, R Ségura, L Lassois, A Monty and S Mariette. 2016. A multidisciplinary insight in *Robinia pseudoacacia* diversity analysis: molecular marker development, population genetics, phenotypic comparison using common gardens. Neobiota, 9th International Conference on Biological Invasions: Interactions with Environmental Change. 14-16 September 2016, Vianden, Luxembourg. Communication

Agence de l'eau Etude 4 :

Le microclimat de la vallée du Ciron

Yves Brunet, Marion Walbott, Emmanuel Corcket



1. Objectifs de l'étude

Les hêtres ne sont pas présents partout dans la vallée du Ciron : on les trouve principalement restreints dans les gorges calcaires et en bord de rivière, associés à une ripisylve relativement dense et continue. Dans ce genre de configuration, on peut s'attendre à ce qu'ils soient exposés à un microclimat particulier, pouvant présenter des différences sensibles avec le climat régional. C'est bien là une des principales hypothèses mises en avant pour expliquer la présence du hêtre dans la vallée : l'existence d'un microclimat particulier pourrait favoriser localement sa persistance et donc sa régénération.

Dans le cadre de la thèse de Marion Walbott, nous avons donc mené une étude du microclimat de la vallée du Ciron, visant en premier lieu à caractériser ce dernier et analyser dans quelle mesure il se différencie du climat régional.

Le microclimat d'un site résulte d'une combinaison de variables : rayonnement, température, humidité de l'air, précipitations et vitesse du vent en sont les principales ; elles dépendent à la fois des conditions générales (forçage météorologique) et des particularités stationnelles (relief, sol, canopée, etc.).

Il convient donc dans une telle étude de considérer les différents facteurs pouvant agir sur ce microclimat. Il s'agit principalement de la topographie (plusieurs situations sont à considérer : fond de vallée, pentes, exposition, plateau), du type de sol, de la distance à la rivière et de la couverture végétale – cette dernière mettant en jeu à la fois le type de végétation (feuillus, résineux, forêts mixtes, prairies) et la densité de végétation. Une fois ce microclimat caractérisé, il est important de chercher à savoir dans quelle mesure il peut être corrélé à la localisation des hêtres.

2. Matériel et méthodes

2.1. Dispositif expérimental

Afin de mettre en évidence la présence d'un microclimat particulier, un ensemble de 39 sondes climatiques mesurant température et humidité de l'air (HOBO® U23 Pro v2) ont ainsi été installées entre 2013 et 2017 dans la vallée du Ciron, entre Sauméjan (Lot-et-Garonne) en amont et Preignac à l'aval (figure 1).

Ces sondes ont été installées de manière à couvrir différents facteurs écologiques : contexte géomorphologique (secteurs « graves », « gorges » et « plateau landais »), topographie (relief et exposition) et nature du couvert forestier (ouvert, pinède, mixte, feuillus) – voir figure 2. Au sein de chaque secteur géomorphologique, nous retrouvons au moins une répétition de chaque type de canopée forestière (du milieu ouvert aux forêts denses de feuillus), mais c'est uniquement dans la partie intermédiaire où se situent les gorges calcaires que les facteurs « relief » et « exposition » sont répétés. On peut voir ici qu'il y a 9 sondes dans la partie aval, 24 dans la partie gorges et 6 dans la partie amont. Ce déséquilibre s'explique par le nombre plus important de facteurs étudiés dans la partie gorges, mais aussi par le fait que c'est là que le hêtre est présent : un échantillonnage plus important était donc nécessaire. Les caractéristiques écologiques de chaque sonde sont présentées dans le tableau 1.

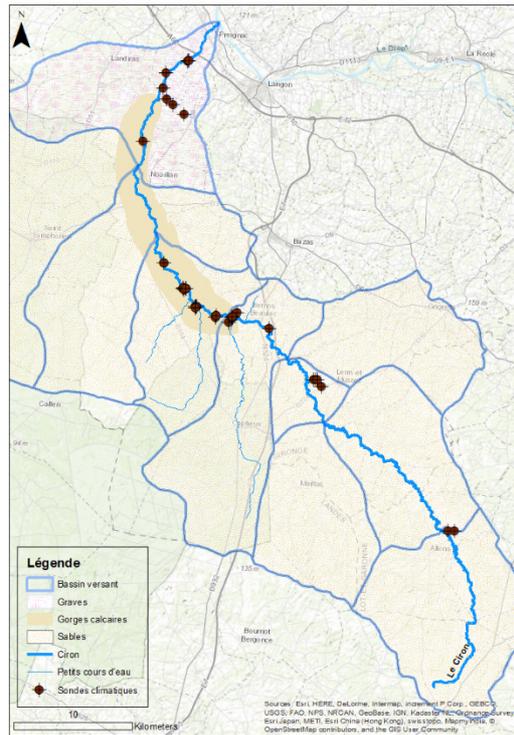


Figure 1 : Localisation des sondes Hobo dans la vallée du Ciron.

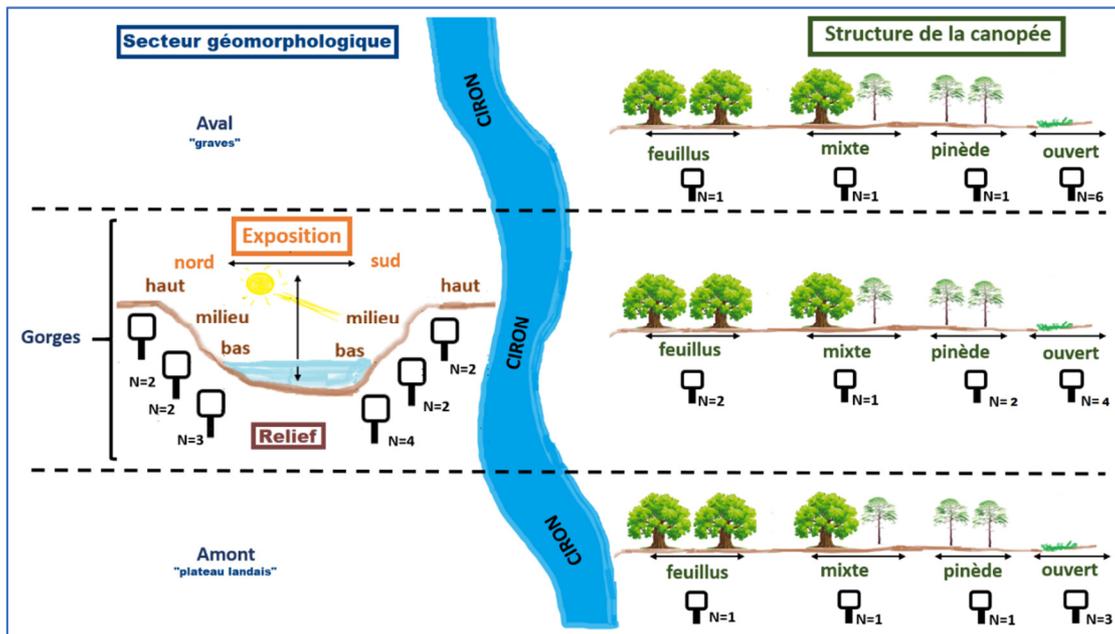


Figure 2 : Schéma du dispositif expérimental microclimatique.

Afin d'étudier les effets « relief » et « exposition », un transect de 6 sondes a en outre été installé, comprenant 3 sondes de chaque côté de la rive (haut de versant, mi-pente et bas de versant, selon une exposition N-S). Deux autres demi-transects avec des expositions intermédiaires NO-SE ont été installés pour répéter ces deux facteurs. Les sondes sont installées sous couvert de feuillus, à l'exception d'une seule en situation de haut de versant (H32), qui se trouve sous une canopée de pin maritime.

Secteur	Relief	Exposition	Canopée	Hobos
gorges	bas de versant	adret	feuillus	H06
gorges	bas de versant	adret	feuillus	H12
gorges	bas de versant	ubac	feuillus	H18
gorges	bas de versant	ubac	pinède	H34
gorges	bas de versant		feuillus	H21
gorges	bas de versant		feuillus	H23
gorges	bas de versant		feuillus	H26
gorges	haut de versant	adret	feuillus	H08
gorges	haut de versant	adret	feuillus	H14
gorges	haut de versant	ubac	feuillus	H16
gorges	haut de versant	ubac	pinède	H32
gorges	milieu de versant	adret	feuillus	H07
gorges	milieu de versant	adret	feuillus	H13
gorges	milieu de versant	ubac	feuillus	H17
gorges	milieu de versant	ubac	feuillus	H33
gorges	plateau		feuillus	H27
gorges	plateau		feuillus	H36
gorges	plateau		mixte	H35
gorges	plateau		ouvert	H22
gorges	plateau		ouvert	H24
gorges	plateau		ouvert	H25
gorges	plateau		ouvert	H31
gorges	plateau		pinède	H19
gorges	plateau		pinède	H20
graves	plateau		feuillus	H38
graves	plateau		mixte	H39
graves	plateau		ouvert	H01
graves	plateau		ouvert	H02
graves	plateau		ouvert	H03
graves	plateau		ouvert	H04
graves	plateau		ouvert	H05
graves	plateau		ouvert	H11
graves	plateau		pinède	H37
plateau landais	plateau		feuillus	H30
plateau landais	plateau		mixte	H29
plateau landais	plateau		ouvert	H09
plateau landais	plateau		ouvert	H10
plateau landais	plateau		ouvert	H15
plateau landais	plateau		pinède	H28

Tableau 1 : Caractéristiques écologiques des sites des sondes climatiques.

2.2. Réalisation des mesures

Mesures microclimatiques. Les 39 Hobo enregistrent une mesure de température (°C) et d'humidité relative de l'air (%) toutes les 30 min et les données sont relevées toutes les 8 semaines et envoyées sur un ordinateur à l'aide d'une base optique. Les sondes à une hauteur de 1,50 m sont protégées des rayons du soleil et de la pluie par un abri qui permet d'obtenir des mesures plus précises grâce à l'augmentation du flux d'air autour des capteurs, et de bénéficier d'un temps de réponse 2,5 fois plus rapide aux conditions changeantes.

Mesures édaphiques. Afin d'étudier également la composante édaphique, l'humidité du sol a été mesurée du 15 au 17 mai 2017, grâce à une campagne de prélèvement effectué par un trentaine de carottage à une profondeur de 10 cm. Le pourcentage massique d'humidité du sol est évalué après mise à l'étuve des échantillons pendant 72 h à 100 °C. Seuls les 27 sites pour lesquels une analyse floristique a été effectuée ont été ainsi caractérisés.

Mesures de l'ouverture de la canopée. L'ouverture de la canopée a été estimée par photographies hémisphériques du couvert (figure 3). Une image par site a été acquise à l'aide d'un appareil photo (Nikon D7200) équipé d'un objectif grand-angle (4,5mm/1:2,8) orienté vers le zénith à une hauteur de ± 1 m du sol, à niveau et orienté vers le nord géographique. Les photographies ont été prises sous conditions de ciel nuageux et de couvert uniforme pour éviter la surexposition des feuilles et donc la surestimation du pourcentage d'ouverture. Deux campagnes de mesures ont été réalisées : la première en été (juillet 2017) après le débourrement des différentes canopées, la seconde en hiver (janvier 2018) hors saison de végétation. Sur chaque photographie, le pourcentage d'ouverture de la canopée est calculé à l'aide du logiciel CAN_EYE version V6.91.



Figure 3 : Quelques exemples de photos hémisphériques acquises pendant l'étude.

Relevés floristiques. Afin de relier directement la végétation et le microclimat, des relevés phytosociologiques (inventaires floristiques permettant de mettre en évidence des groupements végétaux) ont été effectués autour des sondes. La première campagne de relevés floristiques a été réalisée en juin-juillet 2016 sur 17 des 27 sondes installées à cette époque (hors vignoble), et la fin de l'échantillonnage a été réalisée en juin 2018 sur les 12 sondes installées en février 2017.

2.3. Traitement des données microclimatiques

Afin d'éviter tout biais dans l'analyse des données microclimatiques, nous avons procédé à une intercalibration des 39 sondes Hobo en février 2017 au laboratoire. Les essais ont été effectués (a) dans une enceinte à température constante (2 cas : 28 °C et 23 °C avec un air assez sec) et en chambre froide (3 cas : 16, 12 et 6 °C pour un air plus humide). Grâce à la présence de 4 sondes différentes pour la température et une pour l'humidité relative, nous avons pu constater qu'un grand nombre de Hobos

ont un comportement très similaire. Concernant la température, une droite de régression avec notre meilleure référence donne $y=1.0092x$ et un R^2 de 0,9924. Les données d'humidité relative sont plus dispersées, mais la droite de régression globale donne $y=1.0342x$ et $R^2=0,9856$. Globalement, pour une précision donnée dans la notice à $\pm 0,21$ °C et à ± 3 % d'HR, les résultats sont bons et nous avons décidé de ne pas appliquer de correction individuelle aux sondes afin d'éviter d'introduire des biais. Nous avons ainsi considéré qu'une exploitation des données brutes était satisfaisante et que la comparaison des sites était justifiée et exploitable.

L'analyse des données a été réalisée sur une période d'un an contenant les 39 sondes, de mars 2017 à mars 2018. L'étude a porté sur l'année, sur chacune des 4 saisons, puis sur des fenêtres climatiques contrastées de 7 jours correspondant à des saisons climatiques et des périodes importantes dans la biologie du hêtre (très chaud : 22-28/08/2017 et très froid : 22-28/02/2018). Nous avons également sélectionné des périodes de 3 jours correspondant à des événements extrêmes : gels tardifs (27-29/04/2017), canicule (19-21/06/2017) et grand froid (26-28/02/2018). À noter que les données d'humidité relative sont converties en « déficit de pression de vapeur » ou VPD (kPa), variable exprimant le degré de sécheresse de l'air et dont l'interprétation est plus aisée.

Les comparaisons ont été réalisées de sorte à identifier l'effet de chaque facteur séparément : pour le facteur « contexte géomorphologique » nous avons comparé les sondes en milieu ouvert en situation de plateau ; pour les facteurs « relief » et « exposition », nous avons sélectionné les sondes sous les canopées de feuillus dans le secteur « gorges » ; pour le facteur « canopée », nous avons uniquement sélectionné les sondes situées en plateau dans le secteur « gorges », notamment pour des questions de répétition de situations. Sur les périodes très contrastées de trois jours, nous avons réalisé des analyses de variances et établi des modèles linéaires afin d'identifier l'effet de chaque facteur écologique (canopée, relief, exposition, secteur géomorphologique) et stationnel (POE, POH, altitude, distance à la rivière et humidité du sol) sur les différentes variables (pH, humidité, températures, VPD et amplitude thermique).

Enfin, de manière à comparer différentes situations microclimatiques de la vallée du Ciron dans le contexte régional, nous avons sélectionné sur la même période d'un an 4 stations météo dans la région, grâce au portail Agroclim de l'INRA : stations Météo France de Dax (40) et Estillac (Agen 47), stations INRA de Toulence (33) et Villenave-d'Ornon (33). Ont été téléchargées les températures minimales, maximales, moyennes et l'amplitude thermique.

3. Résultats scientifiques

3.1. Le microclimat du Ciron à l'échelle annuelle et saisonnière

L'ensemble des résultats microclimatiques est reporté dans les tableaux 2 et 3. De manière à condenser l'information, les résultats y sont décrits sous la forme de différences entre modalités. Si l'on prend pour exemple le premier cas du tableau 2 : « plateau landais vs graves », on voit une différence annuelle des Tmin de -1,62 °C qui signifie que la moyenne annuelle des températures minimales du secteur « plateau landais » est plus basse de -1,62 °C par rapport à celle recensée en aval. Les minimums sont donc plus hauts dans le secteur « graves ». Une valeur positive pour les Tmax signifie que les Tmax sont plus hauts dans le « plateau landais » que dans les « graves » (plateau landais - graves).

	Tmin (°C)					Tmax (°C)					Tmean (°C)				
	ANNUEL	P	E	A	H	ANNUEL	P	E	A	H	ANNUEL	P	E	A	H
SECTEUR GEOMORPHOLOGIQUE (milieux ouverts)															
Plateau landais vs graves	-1,62	-2,34	-1,56	-1,44	-1,23	0,11	0,45	0,4	-0,1	-0,21	-0,77	-0,87	-0,5	-0,95	-0,75
Plateau landais vs gorges	-0,62	-0,89	-0,3	-0,58	-0,32	-0,46	-0,46	-0,41	-0,69	-0,5	-0,33	-0,48	-0,25	-0,48	-0,34
Gorges vs graves	-1,09	-1,36	-1,14	-0,89	-1	0,7	0,64	0,8	0,62	0,3	-0,31	-0,37	-0,24	-0,46	-0,4
RELIEF (secteur gorges - canopée de feuillus)															
Plateau vs Bas de versant	-0,2	-0,23	-0,17	-0,09	-0,09	1,28	1,56	1,85	1	0,5	0,35	0,44	0,6	0,27	0,08
Haut vs Bas de versant	0	0	-0,079	0,08	0	0,45	0,47	0,54	0,5	0,3	0,16	0,14	0,16	0,2	0,08
EXPOSITION (secteur gorges - canopée de feuillus)															
Adret vs Ubac	-0,06	-0,049	-0,075	-0,046	-0,05	0,625	0,77	0,57	0,61	0,51	0,22	0,08	0,088	0,11	0,14
CANOPEE (secteur gorges)															
Ouvert vs Feuillus	-0,3	-0,13	-0,57	-0,4	-0,09	0,47	-0,08	0,78	1,13	0,2	0,3	0,2	0,27	0,32	0,14
Ouvert vs Mixte	-0,64	-0,49	-0,89	-0,72	-0,39	1	0,7	1,06	1,43	0,72	0,2	0,27	0,16	0,19	0,16
Ouvert vs Pinède	-0,34	-0,16	-0,5	-0,52	-0,11	0,72	0,3	0,82	1,16	0,53	0,27	0,27	0,29	0,26	0,2
Pinède vs Feuillus	0,05	0,05	-0,05	0,11	0,02	-0,23	-0,38	-0,07	-0,03	-0,38	-0,04	-0,06	-0,3	0,06	-0,06
Pinède vs Mixte	-0,3	-0,37	-0,41	-0,23	-0,28	0,27	0,4	0,32	0,26	0,19	-0,067	0,022	-0,14	-0,08	-0,03
Mixte vs Feuillus	0,29	0,36	0,37	0,33	0,3	-0,5	-0,75	-0,39	-0,29	-0,58	0,044	-0,075	0,11	0,13	-0,09
	VPDmin (kPa)					VPDmax (kPa)					VPDmean (kPa)				
	ANNUEL	P	E	A	H	ANNUEL	P	E	A	H	ANNUEL	P	E	A	H
SECTEUR GEOMORPHOLOGIQUE (milieux ouverts)															
Plateau landais vs graves	-0,01	-0,02	-0,01	-0,01	0,00	0,09	0,12	0,19	0,05	0,00	0,02	0,01	0,05	-0,02	-0,02
Plateau landais vs gorges	-0,01	-0,02	-0,01	-0,01	-0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03	0,00	0,00
Gorges vs graves	0,00	-0,01	-0,01	0,00	0,00	0,10	0,15	0,17	0,04	-0,01	0,08	0,01	0,02	-0,01	-0,01
RELIEF (secteur gorges - canopée de feuillus)															
Plateau vs Bas de versant	0,01	0,01	0,01	0,00	0,00	0,28	0,36	0,45	0,16	0,07	0,09	0,14	0,17	0,04	0,02
Haut vs Bas de versant	0,02	0,02	0,03	0,00	0,01	0,10	0,11	0,15	0,09	0,06	0,05	0,05	0,07	0,04	0,02
EXPOSITION (secteur gorges - stations feuillus)															
Adret vs Ubac	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,07	0,09	0,08	0,04	0,05	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01
CANOPEE (secteur gorges)															
Ouvert vs Feuillus	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01	0,10	0,00	0,20	0,20	0,02	0,05	0,04	0,10	0,06	0,02
Ouvert vs Mixte	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01	0,11	0,05	0,16	0,15	0,03	0,04	0,04	0,05	0,05	0,02
Ouvert vs Pinède	0,01	0,02	0,02	0,01	0,01	0,11	0,02	0,19	0,16	0,06	0,05	0,05	0,10	0,06	0,03
Pinède vs Feuillus	0,00	0,00	-0,01	0,00	0,00	0,00	-0,02	0,01	0,04	-0,04	0,00	0,00	-0,01	0,01	-0,01
Pinède vs Mixte	0,00	0,00	-0,01	0,00	0,00	0,00	0,03	-0,04	-0,02	-0,02	0,02	0,00	-0,05	-0,01	0,00
Mixte vs Feuillus	-0,01	-0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	-0,05	0,05	0,05	-0,01	0,01	0,00	0,04	0,02	0,00

Tableau 2 : Différences microclimatiques annuelles (ANNUEL) et saisonnières (P : printemps ; E : été ; A : automne, H : hiver) entre les différentes modalités de chacun des 4 facteurs écologiques pris en compte. Les différences sont colorées en fonction de leur importance : couleur foncée pour les différences > 2 °C ou 0,2 kPa, moyenne si > 1 °C ou 0,1 kPa, faible si > 0,5 °C ou 0,05 kPa.

	DT (°C)				
	ANNUEL	P	E	A	H
CONTEXTE GEO (stations ouvertes)					
Plateau landais vs graves	1,84	2,53	1,97	1,44	1,08
Plateau landais vs gorges	0,025	0,56	-0,1	-0,14	-0,22
Gorges vs graves	1,73	1,97	2,04	1,55	1,31
RELIEF (secteur gorges - stations feuillus)					
Plateau vs Bas de versant	1,42	1,8	2,03	1,11	0,59
Haut vs Bas de versant	0,47	0,49	0,63	0,44	0,3
EXPOSITION (secteur gorges - stations feuillus)					
Adret vs Ubac	0,66	0,82	0,74	0,68	0,57
CANOPEE (secteur gorges)					
Ouvert vs Feuillus	0,77	0,03	1,32	1,52	0,24
Ouvert vs Mixte	1,75	1,18	2,08	2,18	1,13
Ouvert vs Pinède	1,11	0,46	1,34	1,68	0,66
Pinède vs Feuillus	-0,26	-0,42	-0,01	-0,16	-0,4
Pinède vs Mixte	0,57	0,73	0,74	0,49	0,46
Mixte vs Feuillus	-0,83	-1,16	-0,76	-0,64	-0,875

Tableau 3 : Différences d'amplitude thermique annuelle et saisonnière (voir tableau 2 pour les symboles) entre les différentes modalités des 4 facteurs écologiques considérés. Les différences DT sont colorées en fonction de leur importance : couleur foncée pour DT > 2 °C, moyenne pour DT > 1 °C, faible pour DT > 0,5 °C.

Géomorphologie. Comme le montre le tableau 2, c'est entre les différents secteurs ou contextes géomorphologiques que nous avons les plus grandes différences climatiques, particulièrement pour les températures minimales du printemps allant jusqu'à -2,34 °C plus froids en moyenne en amont sur le plateau landais qu'en aval. Des différences encore plus importantes pouvant dépasser les -4 °C sont visibles ponctuellement. C'est aussi pour ces deux comparaisons que nous obtenons la plus grande différence d'amplitude thermique (tableau 3) : au printemps, on observe en moyenne une différence de 2,53 °C, pouvant atteindre par moment plus de 6 °C. Pour ce même facteur écologique, on observe également des différences importantes entre les secteurs « gorges » et « graves » de l'ordre de -1 °C annuellement et pour chaque saison, avec une différence maximale au printemps (-1,36 °C). Enfin, avec des différences moins importantes de l'ordre de -0,62 °C, un écart est également observé entre le « plateau landais » et les « gorges » pour une différence maximale de -0,89 °C au printemps. Pour l'amplitude thermique, très peu de différences sont observées entre le « plateau landais » et les « gorges » alors que des différences plus importantes (jusqu'à +2,04 °C en été) ont été enregistrées entre les « gorges » et les « graves ». En ce qui concerne les températures maximales, c'est au niveau du relief (tableau 2) que nous observons les plus grandes différences, de l'ordre de +1,28 °C à l'année et +1,85 °C en moyenne en été (pouvant aller jusqu'à +3 °C) entre le plateau et le bas de versant ainsi qu'une différence d'amplitude thermique de +2 °C (tableau 3).

Relief. Au niveau des transects, sur une distance très limitée (quelques mètres) on peut noter des différences de l'ordre de 0,5 °C entre le haut de versant et le bas de versant. C'est également entre le plateau et le bas de versant que nous observons les plus grands écarts moyens pour le VPD maximal, particulièrement en été avec une différence de +0,45 kPa, pouvant dépasser 1kPa.

Exposition. Pour le facteur « exposition », très peu de différences sont observées pour les températures minimales. Il fait en moyenne à l'année 0,22 °C de plus en exposition sud, avec des températures maximales plus importantes de +0,625 °C, un maximum en été de +0,77 °C et un DT de +0,82 °C. Pour le déficit de pression de vapeur, pas de différence entre le VPD minimal et moyen et un VPD maximum un peu plus élevé en adret qu'en ubac, cependant inférieur à 0,1 kPa.

Canopée. Enfin, pour les différences liées à la structure de la canopée, on observe au niveau des températures les plus grosses différences pour les températures maximales : en premier lieu entre les milieux ouverts et les milieux mixtes, puis entre les milieux ouverts et les pinèdes, enfin entre les milieux ouverts et les feuillus. Dans les trois cas, c'est en automne que les différences sont les plus importantes. Avec une différence plus faible, mais supérieure à 0,5 °C, on voit ici que les milieux mixtes ont des Tmax plus faibles que les feuillus. Aucune différence supérieure à 0,5 °C n'est observée pour les Tmean, mais on trouve des températures minimales plus élevées sous couvert forestier qu'en prairie. C'est au niveau des amplitudes thermiques, ainsi qu'au niveau des VPD max, que les différences sont les plus importantes entre les différentes modalités de canopée. La plus grande amplitude thermique est observée entre les milieux ouverts et les milieux mixtes (> 1 °C sur l'année et les quatre saisons). Le maximum est observé en été et en automne (> 2 °C). Entre les pinèdes et les milieux mixtes, on observe des différences comprises entre +0,5 °C et +1 °C.

En résumé. Les différences microclimatiques annuelles et saisonnières les plus importantes sont observées pour les Tmin et l'amplitude thermique pour le facteur « secteur géomorphologique », particulièrement au printemps. Les températures minimales augmentent depuis l'amont vers l'aval alors que l'amplitude thermique diminue. Ensuite, concernant le relief, les situations de plateau sont plus chaudes (Tmax) et plus sèches (VPDmax) qu'en bas de versant, notamment au printemps et en été. Enfin, l'effet « canopée » est relativement important entre les milieux ouverts qui sont plus chauds (Tmax) et plus secs (VPDmax) que les autres milieux forestiers en été et en automne.

3.2. Le microclimat du Ciron sur des fenêtres climatiques particulières

Période de forte chaleur. Au niveau du relief, on ne voit pas de différence entre une situation de plateau et de bas de versant pour les températures minimales ou le VPD minimal. Par contre, des écarts moyens de +3 °C sont observés pour les maximums de température, de 1 kPa pour le VPDmax et de +3 °C de différence d'amplitude thermique. Dans ces périodes, chaque facteur écologique a un effet significatif sur les températures maximales mais aucun n'a d'effet sur les températures minimales. Sous canopée de feuillus, c'est en situation de plateau que les températures maximales sont les plus hautes ; elles diminuent progressivement du haut au bas du versant. En ce qui concerne le secteur géomorphologique, c'est au niveau du « plateau landais » que les plus fortes températures ont été enregistrées par rapport au secteur des « gorges calcaires ». Enfin, la structure de la canopée a un effet sur les températures maximales et l'amplitude thermique en période de canicule. Avec des différences similaires, ces variables sont en effet les plus importantes en milieu ouvert et sous canopées de pins, intermédiaires sous les mélanges et significativement plus basses sous couvert de feuillus.

Période de grand froid. Les températures minimales sont en moyenne de -2,7 °C plus basses en aval du Ciron et des écarts de plus de -4 °C peuvent avoir lieu. On ne voit pas de réelles différences pour les températures maximales alors qu'en moyenne il fait -1,2 °C de plus en aval, avec une différence

d'amplitude thermique de +2,8 °C. Comme pour les températures maximales, il n'y a pas d'effet sur le VDP minimal, maximal et moyen. Concernant le relief, nous observons de plus faibles différences, de -0,2 °C, 0,5 °C et -0,09 °C pour les Tmin, Tmax et Tmoyen respectivement, et des différences très proches de 0 pour les VPD. Pour le facteur canopée, la seule comparaison satisfaisante à réaliser, pour des raisons de phénologie, est entre les canopées ouvertes et les pinèdes. Si aucune différence n'est observée pour le déficit de pression de vapeur, il existe des différences de l'ordre de -0,67 °C, 0,58 °C et 0,08 °C pour les températures minimales, maximales et moyennes. On observe un effet du type de canopée sur les températures maximales, qui sont significativement plus fortes en milieux ouverts que sous canopées de pins. Les milieux mixtes et feuillus non entièrement développés à cette période présentent des valeurs intermédiaires, qui ne diffèrent d'aucune autre modalité. Le secteur « graves » a des températures minimales significativement moins basses que les secteurs « gorges » et « plateau landais ». De plus, l'amplitude thermique est significativement plus basse dans le secteur « graves » que dans les deux autres secteurs.

Période de gels tardifs. Les gelées tardives sont atténuées en aval du Ciron où la moyenne est de -1,30 °C, contre -3,65 °C en amont. Une valeur intermédiaire de -3,18 °C dans les gorges se rapproche de la moyenne enregistrée sur le plateau landais. Les différentes positions dans le canyon n'impliquent pas de différence de température minimale (< 0,2 °C). Enfin, concernant les canopées, c'est en milieu ouvert que les minimums les plus bas (-3,18 °C) sont retrouvés, contre -2,24 °C sous canopée mixte. En période de gels tardifs, le secteur géomorphologique a un effet sur les températures minimales et l'amplitude thermique : les températures minimales sont significativement plus hautes et l'amplitude thermique plus basse au niveau du secteur « graves » que dans les secteurs des « gorges » et « plateau landais ». La topographie et le secteur géomorphologique ont un effet similaire sur les températures maximales et le VPD maximal, ces variables apparaissant plus élevées en plateau qu'en bas de versant et plus élevés également dans les « gorges » que dans le secteur « graves ».

En résumé. Lorsqu'on étudie les différences microclimatiques sur des fenêtres climatiques courtes, les différences observées sont encore plus importantes. L'effet du contexte géomorphologique est surtout visible en hiver sur les températures minimales et l'effet du relief en été sur les températures maximales et le déficit de pression de vapeur maximal. Sur l'ensemble des sondes climatiques, on peut observer des différences de températures minimales allant jusqu'à 3 °C lors de gels tardifs ou de 6 °C en plein hiver, ainsi que de 6 °C ou de 2 kPa pour les températures maximales et VPD maximal en période estivale.

3.3. Effet des variables stationnelles

En ce qui concerne les variables stationnelles (sol, altitude, pourcentage d'ouverture et distance au Ciron), beaucoup d'effets significatifs ressortent des analyses. Si l'altitude n'a aucun effet sur l'ensemble des variables étudiées, le pourcentage d'ouverture a, lui, un effet sur la quasi-totalité des variables climatiques hors températures minimales et amplitude thermique en période de grands froids. Le pourcentage d'ouverture a également un effet sur le VPD minimum lors de grands froids, et sur le VPD maximal pour les périodes de canicule et de grands froids. La distance au Ciron a un effet sur les températures minimales et l'amplitude thermique des trois périodes, mais n'a d'effet sur les températures maximales que pour la période des gels tardifs. Cette distance n'a pas d'effet sur le VPD maximal, mais affecte le VPD minimal pour les périodes de canicule et de grands froids. Les plus forts coefficients de régression sont obtenus pour les relations entre la température maximale et le

pourcentage d'ouverture et le VPD minimal et la distance au Ciron lors de fortes chaleurs ($R^2 = 0,41$). Plus le pourcentage d'ouverture augmente, plus les températures maximales sont importantes. Plus la distance au Ciron est grande, plus le VPD minimal est élevé. Enfin, plus l'ouverture de la canopée est grande, plus l'amplitude thermique et le VPD maximal sont grands pour cette même période ($R^2 = 0,31$ et $R^2 = 0,36$). Pour les autres périodes, seules les relations entre le VPD minimal et la distance au Ciron et l'ouverture de la canopée sont importantes lors de grands froids ($R^2 = 0,31$). Plus la distance au Ciron et l'ouverture du milieu est grande, plus le VPD minimal est grand.

En résumé. Les variables stationnelles comme le pourcentage d'ouverture de la canopée et la distance à la rivière semblent aussi jouer un rôle important dans le microclimat, en particulier en été sur les températures minimales et maximales. Plus la canopée est ouverte, plus les températures maximales et l'amplitude thermique augmentent, de même que le VPD maximal. Aussi, plus la distance au Ciron augmente, plus le VPD minimal augmente.

3.4. Communautés végétales du sous-bois et microclimat

Différents types de cortèges floristiques sont retrouvés autour des sondes climatiques. Ils sont principalement corrélés à la position topographique et donc à des conditions plus fraîches et plus humides en bas de versant, ainsi qu'aux différents types de milieux échantillonnés (ouvert, pinède, mixte et feuillus) correspondant à un gradient d'ouverture relativement bien structurant. On distingue un groupe « neutrocalcicoles de gorges », un groupe de « forêts acidiclinales peu perturbées », un groupe de « pinèdes acidiphiles xérohéliophiles » et un groupe de « prairies ».

4. Discussion et conclusions

4.1. Le Ciron à l'échelle de l'Aquitaine

C'est dans la vallée du Ciron que les températures minimales les plus froides sont enregistrées par rapport aux sondes de références INRA et Météo France de Agen, Dax, Toulonne et Villenave-d'Ornon. Favorable à la vernalisation des faînes, ce paramètre peut permettre d'expliquer la présence du hêtre dans la région. Néanmoins, c'est également dans la vallée que sont enregistrées les températures maximales les plus hautes, qui n'apparaissent donc pas comme un facteur limitant la présence du hêtre dans la région. S'il n'est pas possible ici de conclure sur l'originalité climatique de la vallée du Ciron dans son ensemble, il paraît clairement que les situations écologiques contrastées que l'on y rencontre génèrent des microclimats particuliers. Aussi, étant donné le fort impact de la topographie sur le microclimat des gorges, il n'est pas absurde de mettre en avant un « topoclimat » particulier pouvant être responsable de la présence et de la persistance du hêtre depuis des millénaires en bordure du Ciron. Pour des études à venir, il serait intéressant de pouvoir comparer les différences d'humidité relative ou de VPD des différentes sondes, comparaison qui pourrait permettre de tester l'hypothèse selon laquelle ce sont les situations microclimatiques de forêts de feuillus de pente qui sont des refuges particuliers pour l'essence, dans un contexte régional défavorable.

4.2. Le microclimat de la vallée du Ciron

L'analyse du suivi microclimatique de la vallée du Ciron met en évidence l'importance du secteur géomorphologique, en particulier sur les températures minimales et l'amplitude thermique, quelle que soit la période climatique. Le relief influence également les températures maximales et le VPD maximal ainsi que, de façon moins importante, la structure de la canopée. L'exposition n'affecte que très peu les variables climatiques étudiées ici.

Concernant le secteur géomorphologique, on observe un gradient thermique assez fort entre l'aval et l'amont du Ciron, non dépendant du rayonnement solaire, car ce gradient est ressenti au niveau des températures minimales, alors que très peu de différences sont observées pour les températures maximales et moyennes ($< 1\text{ °C}$). Les températures minimales du secteur « graves » sont nettement plus élevées que dans les secteurs « gorges » ou « plateau landais ». Le secteur « graves » est également le plus tamponné, avec une amplitude thermique moins importante. Plusieurs hypothèses peuvent expliquer ce gradient thermique :

- (1) Présence de la Garonne. L'eau du Ciron est alimentée par les nappes phréatiques à une température constante de l'ordre de 13 °C toute l'année, alors que celle de la Garonne évolue entre 7 °C et 25 °C selon la saison. Quand le Ciron vient se jeter dans la Garonne, ces différences de températures peuvent être à l'origine de la création de nappes de brouillards ou de brume qui limitent les abaissements de température nocturne. En outre, la simple présence de cette masse d'eau peut entraîner une inertie thermique susceptible de limiter les températures minimales dans ce secteur. Ce même phénomène d'inertie peut avoir lieu avec le Ciron, ce qui pourrait expliquer dans une moindre mesure, les différences observées entre les secteurs « gorges » et « plateau landais ». Si l'on peut penser que le pouvoir tampon de ce secteur pourrait être un frein à la vernalisation des graines et donc au succès de régénération du hêtre par des températures minimales hivernales relativement hautes, en revanche – si la vernalisation n'est pas affectée – la plus faible présence de gels tardifs du secteur « graves » pourrait être favorable à la croissance des jeunes plantules et aux développements des subadultes et semenciers.
- (2) Fragmentation du paysage. Une caractérisation de la fraction de zone boisée autour des sondes climatiques situées en milieux ouverts permet de mettre en avant des différences entre les secteurs (Cornette, 2018). Le secteur « graves » présente une fraction boisée très inférieure (20 %) aux secteurs « plateau landais » (70 %) et « gorges » (90 %) sur un rayon de 500 m autour des sondes. Sur ce même rayon (500 m), la fraction boisée ne semble pas affecter les températures maximales alors qu'on note bien un effet sur les températures minimales (figure 4) au printemps (avril 2017). En effet, plus la fraction boisée est faible, en particulier dans le secteur « graves », et plus les températures minimales sont hautes, ce qui confirme l'effet potentiel de la fragmentation du milieu sur l'effet tampon de ce secteur.

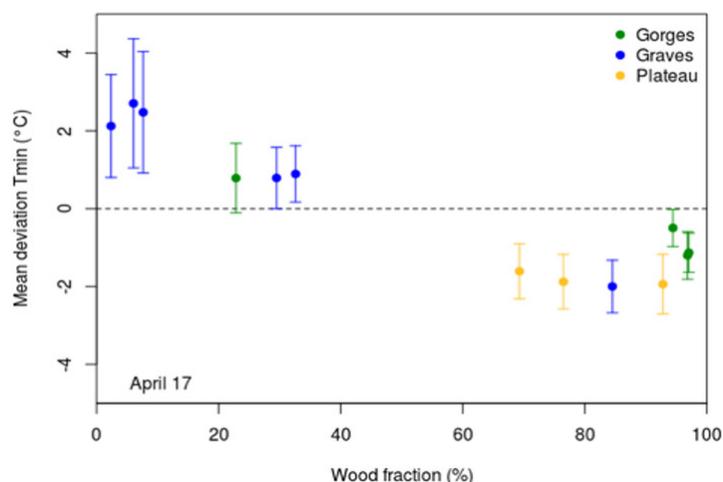


Figure 4 : Effet de la fraction boisée sur le microclimat (cercles de 500 m autour du capteur). D’après Cornette (2018).

Le relief lui aussi semble avoir un fort impact sur les températures et VPD maximaux : la présence du cours d’eau et de la couronne de végétation associée tamponne fortement les situations extrêmes retrouvées sur le plateau, même sous canopées de feuillus. Ce pouvoir tampon est d’autant plus important au printemps et en été. Le bas de versant est ainsi plus frais, plus humide et plus tamponné, situation fortement favorable au développement du hêtre et pouvant constituer un « refuge hydrologique » dans un environnement plus sec. Outre la présence même du cours d’eau, l’encaissement de la rivière dans les gorges calcaires crée un relief important, pouvant provoquer un phénomène d’inversion des températures où les masses d’air froid viennent s’accumuler en fond de vallon, et pouvant également amoindrir l’apport d’énergie solaire. En outre, la pente du site peut un ruissellement et une accumulation des précipitations, entretenant une humidité relative élevée en bas de pente. En marge de répartition, on sait que ce genre de micro-environnement refuge lié à la présence d’un cours d’eau et à des variations topographiques peut permettre la persistance des espèces. Aussi, alors que nous n’avons pas mis en avant d’effet de la distance au Ciron sur les températures maximales et VDP maximal en période de fortes chaleurs sur l’ensemble du jeu de données, une réduction de l’échelle d’observation à 150 m permet de voir, à échelle plus fine, un effet de cette distance sur ces deux variables clés, toutes canopées confondues (figure 5).

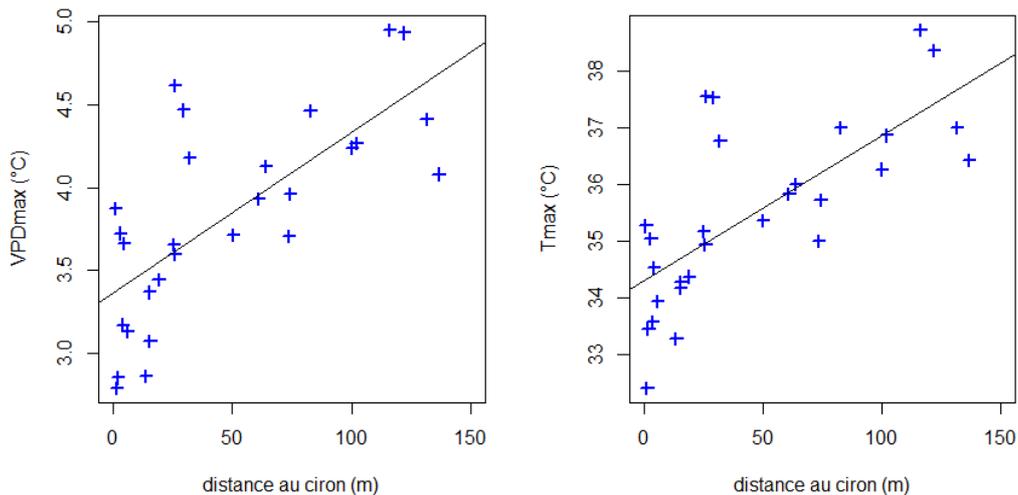


Figure 5 : Relations entre le VPD maximal, les températures maximales et la distance au Ciron entre avril et octobre 2017.

Avec un coefficient de régression linéaire de 0,52 et 0,51, on peut voir un fort gradient de température et de VPD sur 150 m. Plus on s'éloigne du Ciron, plus les températures et le VPD maximal sont élevés. En 150 m, on diminue de 7 °C les températures maximales et de 3 kPa le VPD maximal, ce qui est considérable.

Enfin, on remarque dans notre étude le rôle de la structure de la canopée, notamment par son ouverture sur les températures et VPD. En effet, le développement de la végétation entraîne une modification microclimatique dont l'importance s'accroît avec la densité et la complexité structurale du peuplement. On voit ici que les températures et les VPD sous milieux ouverts sont très différents des autres couverts forestiers, surtout en été et en automne. Pour notre période climatique estivale extrême, on observe un fort gradient du milieu ouvert jusqu'aux forêts de feuillus. Il est intéressant de noter que les milieux ouverts et les pinèdes se distinguent significativement en période hivernale mais pas en période estivale. En formant un écran, la couverture végétale entraîne la diminution de l'amplitude thermique, car elle régule les flux d'énergie diurnes et nocturnes. À une échelle temporelle plus grande, notamment saisonnière, on remarque que c'est entre les peuplements mixtes et les milieux ouverts que les différences sont les plus importantes. Ce résultat est probablement lié à la nature du peuplement et plus particulièrement au caractère pluristratifié des peuplements mixtes. Dans notre échantillonnage, même si le degré d'ouverture entre les peuplements mixtes et les feuillus ne sont pas différents, la structure de ces peuplements diffère : les canopées mixtes présentent, en plus de la strate supérieure de feuillus, une strate arborescente plus haute de pin maritime. Cette structure pluristratifiée confine davantage le site, limite les échanges avec l'atmosphère extérieure et joue ainsi sur le microclimat. À ouverture équivalente, le phytoclimat sous une canopée donnée dépend ainsi de la densité, du degré de recouvrement de chaque strate et de la nature des espèces dominantes. En hiver, la perte des feuillus des espèces caduques augmente le degré d'ouverture et donc diminue les différences observées entre les modalités de canopées. Ceci peut expliquer que pour la période de grands froids, les différences de températures maximales sont uniquement observées entre les milieux ouverts et les pinèdes. Les analyses statistiques montrent ainsi que plus une canopée est fermée, plus le VPD maximal est bas et donc moins la plante est stressée hydriquement. Il semblerait ici que c'est davantage l'ouverture et la structure de la canopée qui jouent sur le phytoclimat, plus que la nature de l'essence dominante. Le hêtre étant une essence tolérante à

l'ombre, les situations de canopées très fermées limitant les conditions extrêmes sont favorables à sa présence.

En conclusion, nous mettons en avant ici le fort impact de la mosaïque de situations écologiques sur les conditions microclimatiques retrouvées au sein de la vallée du Ciron. Alors que le secteur géomorphologique joue très fortement sur les températures minimales (pouvant aller jusqu'à +7 °C), c'est la topographie et son action sur les conditions climatiques locales qui pourraient expliquer la persistance du hêtre. Dans les gorges calcaires, la forte topographie couplée à la présence d'une canopée dense, fermée et continue diminuent d'autant plus le VPD maximal et offrent ainsi des conditions propices à la présence et à la persistance du hêtre dans la vallée.

Néanmoins, des hypothèses anthropiques peuvent être avancées pour expliquer la persistance des peuplements à feuillus dans les pentes à proximité de Ciron, notamment dans le secteur « gorges » dans lesquelles le relief est particulièrement abrupt. Ces conditions de pente, en créant des contextes d'exploitation des peuplements difficiles, forment des refuges topographiques dans lesquels les forêts matures sont à même de se développer. D'autres hypothèses anthropiques peuvent aussi expliquer la faible présence du hêtre dans le secteur « graves », en raison de la gestion forestière et viticole, défavorisant son développement dans ce secteur.

Références

Cornette N., 2018. Modelling microclimate in the Ciron gorges to study the regeneration dynamics of beech populations. Mémoire de Master 2, Université de Tours, 32 p.

Walbott M., 2018. Rôles des facteurs locaux dans la distribution et la persistance des communautés à hêtre (*Fagus sylvatica*) en marge d'aire de répartition. *Thèse de doctorat*, Université de Bordeaux, 198 p.

Agence de l'eau Etude 5 :

Les flux de gènes durant la régénération naturelle

Arndt Hampe et Alexis DUCOUSSO (BIOGECO)



1. Objectifs

Les hêtres du Ciron possèdent une diversité génétique originale, élevée et fortement structurée, et ils représentent donc une ressource génétique de très grande valeur patrimoniale. L'étude du flux de gènes par pollen durant le processus de reproduction permet de mieux comprendre les déterminants du succès reproducteur des arbres et l'échelle spatiale des croisements entre eux. Et elle peut aussi offrir des clés pour élucider les processus biologiques qui ont généré la composition génétique singulière de la population actuelle. Enfin, caractériser la composition et la diversité génétique des faînes sur les arbres reproducteurs aide à identifier des arbres cibles pour les récoltes de faînes dédiées aux programmes de conservation des ressources génétiques et de renforcement populationnel (voir action ...). Cette étude permet donc d'apporter des informations précieuses pour la conservation de la hêtraie existante ainsi que pour sa restauration ou nécessaire.

2. Matériels et méthodes

- Cartographie et échantillonnage de matériel.

Nous avons profité de la fainée 2013 pour récolter de faînes sur un total de 44 arbres mère distribués le long de la vallée du Ciron. Les faînes étaient ramassées soit à la main soit avec l'aide de filets tendus sous les arbres. Le travail de récolte était réalisé en collaboration par BIOGECO et par le SMABVC. Les faînes récoltées étaient soit séchées soit gardées dans le congélateur à -20°C pour conserver leur ADN jusqu'à l'extraction d'ADN dans le laboratoire. Dû à des problèmes techniques, nous pouvions finalement utiliser seulement les faînes d'un total de 30 arbres mère, indiqués sur la Figure 4.

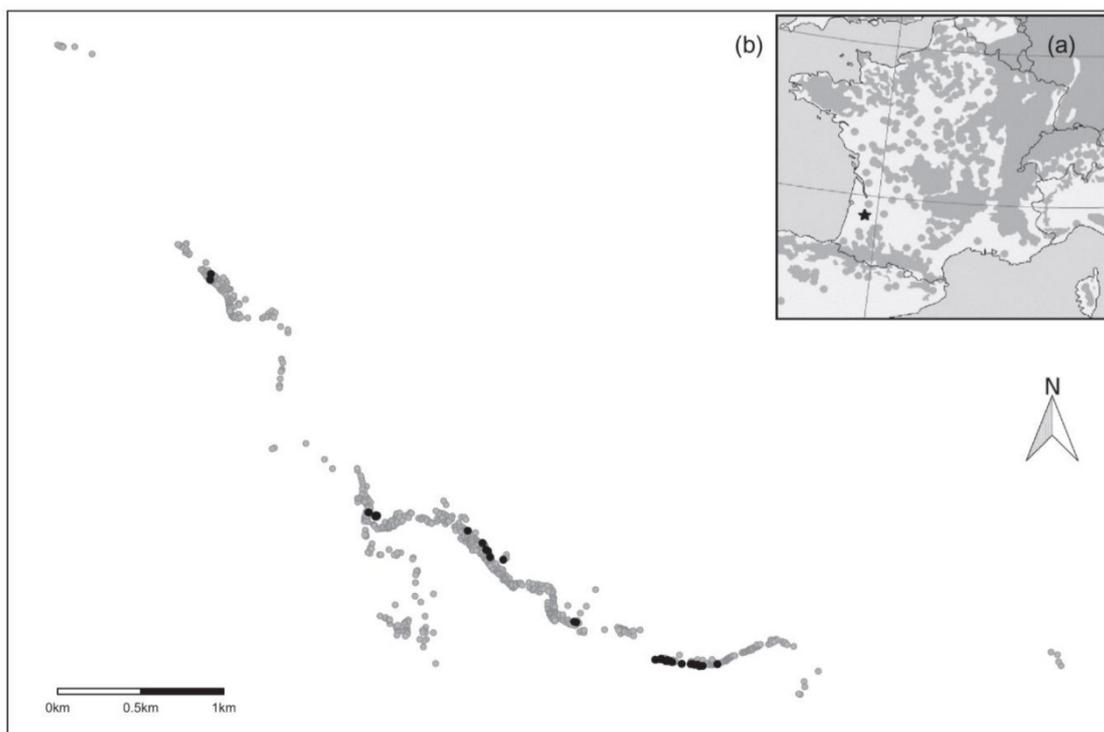


Figure 4. (a) Aire de répartition du hêtre en France avec la hêtraie du Ciron indiquée par une étoile ; (b) distribution spatiale des arbres mère échantillonnés pour l'étude de flux de gènes par pollen (cercles noirs) au sein de la population adulte de hêtre de la vallée du Ciron (source : Ouayjan et Hampe 2018).

- *Génotypage* :

Les faînes étaient soumises au même traitement moléculaire générale que le matériel végétal des arbres adultes. Après un traitement de lyophilisation pour enlever toute leur humidité, nous avons extrait leur ADN génomique à l'aide d'un kit commercial. Ensuite, nous avons réalisé le génotypage avec les mêmes jeux de marqueurs moléculaires SNP utilisés aussi pour les arbres adultes et nous retenons les même 112 marqueurs de haute qualité pour construire les génotypes individuels. Une étude pilote sur 7 arbres montrait qu'un total de 15 faînes génotypées par arbre suffisait pour caractériser de manière très fiable la composition et diversité de sa descendance, aussi nommé son « nuage de pollen » (Figure 5). Nous avons génotypé donc 15 faînes de chacun des 23 arbres restants.

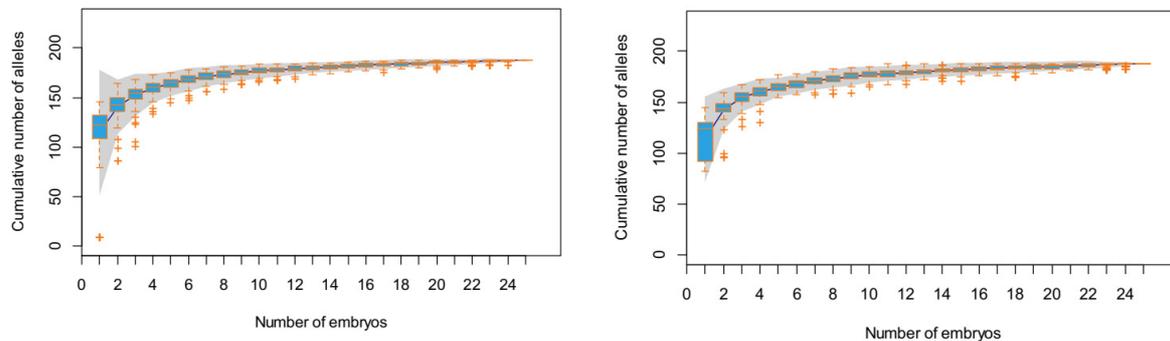


Figure 5. Résultats d'une analyse de raréfaction réalisée pour déterminer le nombre de faînes nécessaire pour caractériser de manière fiable la diversité de leur descendance. Pour deux arbres exemplaire, les graphiques montrent comment le nombre d'allèles détectés (axe Y) augmente avec le nombre de faînes génotypés (axe X). Nous pouvons voir que la courbe atteint un plateau et l'intervalle de confiance statistique (indiqué en gris) correspondent devient très faible autour d'un nombre de 10 faînes. Le génotypage de 15 faînes par arbre est donc pleinement satisfaisant pour caractériser de manière fiable la composition du « nuage de pollen » de chaque arbre mère (Ouayjan et Hampe 2018).

- *Analyses numériques.* Nous réalisons trois types d'analyse pour identifier les arbres pères des faînes analysées, caractériser la diversité du nuage de pollen des arbres mères et pour examiner ses déterminants écologiques:

(i) une analyse de paternité (logiciel CERVUS; Kalinowski *et al.* 2007) sert à identifier les arbres père des faînes analysées et les distances de mouvement du pollen; cette analyse se base sur un total de 450 faînes provenant de 30 arbres mères, ainsi que sur le total de 932 arbres génotypés comme potentiellement reproducteurs de la population.

(ii) plusieurs paramètres génétiques étaient calculés (logiciels POLDISP et FSTAT ; Robledo-Arnuncio *et al.* 2007, Goudet 2001) pour caractériser la composition génétique du nuage de pollen de chaque arbre mère ;

(iii) des modèles linéaires généraux (logiciel R ; R Development Core Team 2013) étaient construits pour établir une relation entre la composition du nuage de pollen et des variables environnementales pour chaque arbre mère et ainsi connaître des déterminants écologiques de patrons de croisements et la diversité des faînes.

3. Résultats scientifiques

- Analyse de paternité.

Nous sommes capables d'identifier les parents de toutes les 450 faînes analysées durant cette étude - une réussite exceptionnelle d'après la littérature ce qui confirme la qualité très élevée de notre jeu de données. Nous vérifions premièrement si toutes les faînes récoltées sous nos arbres cibles étaient vraiment ses descendants. Cette vérification montre qu'une certaine proportion des faînes (récupérées au sol ou sur des filets tendus sous l'arbre) avait en fait été assignée à un arbre qui n'était en réalité pas leur mère. Nous enlevons toutes les faînes douteuses et limitons nos analyses suivantes aux 395 faînes restantes.

L'analyse de paternité définitive produit les résultats suivants :

(i) Nous observons zéro événements d'autofécondation, alors que notre détection d'un père unique situé à l'intérieur de la population pour toutes les faînes analysées implique également l'absence d'immigration de pollen depuis l'extérieur de la population.

(ii) L'analyse révélait que les pères de nos faînes étaient majoritairement situés à proximité des arbres mère. La figure 6 indique la distribution de distances de mouvement de pollen entre père et mère à l'échelle de toute la population. Elle illustre que la grande majorité des croisements se déroule entre individus à moins de 100 mètres de distance. Par conséquent, les arbres mère dépendent d'une fraction très mineure de l'ensemble globale des arbres qui existent dans la population et pourraient servir comme donneurs de pollen. La figure 7 montre la distribution de distances de croisement à une échelle plus fine et confirme qu'une large part des croisements se réalise entre arbres voisins (i.e., ceux qui se trouvent dans la première classe de distances d'entre 0 et 20 mètres).

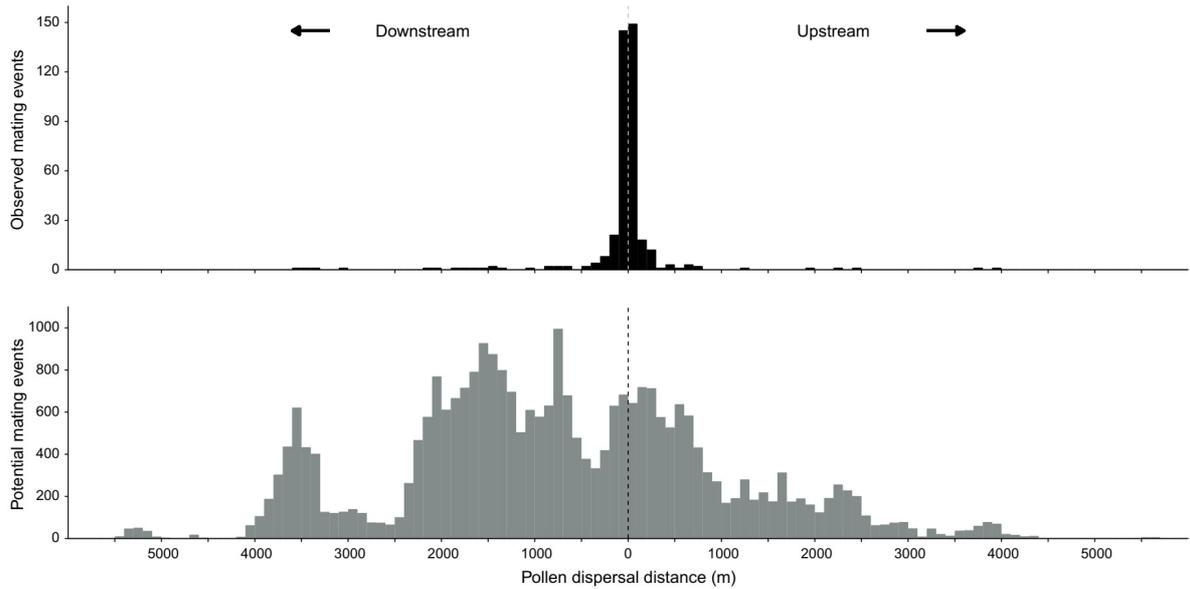


Figure 6. Histogrammes des distances de mouvement du pollen entre arbres père et mère le long de la population de hêtre. Le point zéro sur l'axe X correspond à la position de l'arbre mère et les distances indiquées sur cet axe à la distance du père d'une faîne donnée soit en direction aval (à gauche) ou amont (à droite). L'histogramme supérieur indique la distribution d'évènements de croisement observés alors que l'histogramme inférieur indique la distribution des distances de tous les arbres pères dans la population par rapport aux arbres mère échantillonnés (dont les « pères potentiels ») (Quayjan et Hampe 2018).

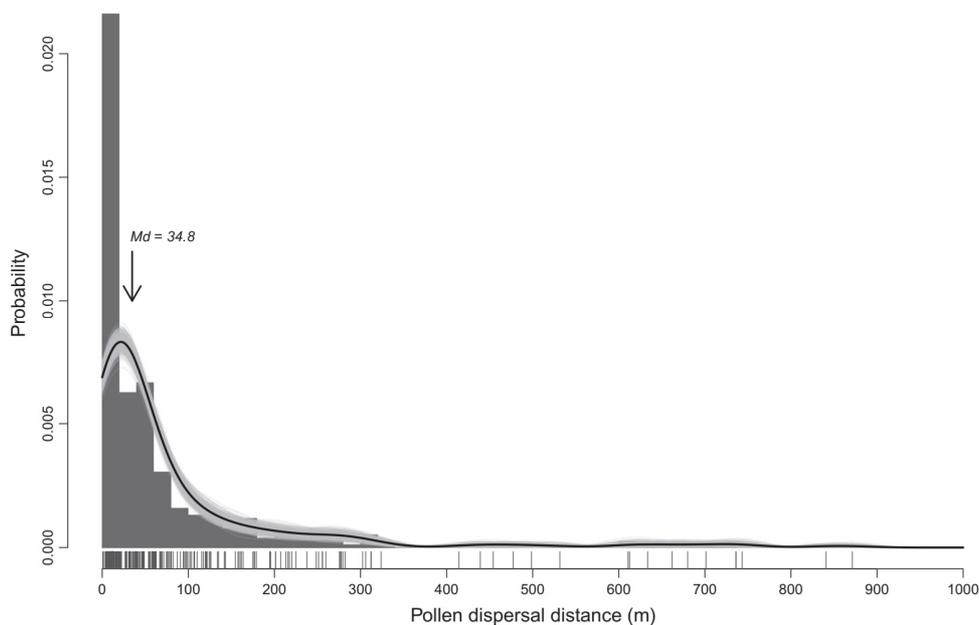


Figure 7. Histogramme des distances de mouvement du pollen observés. Le point zéro sur l'axe X correspond à la position de l'arbre mère et la distance indiquée sur cet axe à la distance du père d'une faîne donnée. Les traits verticaux sur l'axe X indiquent les distances mesurées des événements individuels sur lesquelles se base l'histogramme. L'axe Y indique la probabilité de dispersion pour la

fonction de dispersion théorique indiquée par la ligne et son intervalle de confiance. Md : distance médiane des croisements observés. (Ouayjan et Hampe 2018)

Cette étude montre que :

- L'analyse de la structure génétique spatiale des arbres adultes montrait que les arbres voisins sont fortement apparentés (des demi-frères en moyenne.)
- L'analyse de paternité montre que beaucoup de croisements se font entre les arbres voisins.
- ⇒ Cela implique que les hêtres de la vallée du Ciron ont des croisements fréquents entre proches parents. Une recherche dans la littérature scientifique montre que ce comportement est quasiment unique pour les populations des arbres forestiers.

Ces populations disposent typiquement de divers mécanismes biologiques efficaces pour réduire la consanguinité (Petit et Hampe 2006). Le comportement des hêtres de la vallée du Ciron suggère donc que cette population a subi un processus micro-évolutif très singulier qui a entraîné la disparition des mécanismes d'incompatibilité entre proches parents (tandis que le taux zéro d'autofécondation indique que les mécanismes d'auto-incompatibilité sont toujours actifs).

Cette conclusion renforce clairement le statut de la population de hêtre de la vallée du Ciron comme étant une ressource génétique de haute valeur patrimoniale et priorité de conservation.

- *Composition des nuages de pollen et leur déterminants écologiques.* Le Tableau 1 montre les paramètres génétiques calculées pour les nuages de pollen de chacun des arbres mères étudiés.

Nos analyses détaillées de la composition et diversité des familles de fânes sur leur arbres mères (Tableau 1) complète l'analyse de paternité. La courte distance moyenne de dispersion du pollen explique donc le fait que nous observions un nombre effectif très faible de pères ($N_{ep} = 7,9$; Tableau 1) et une fécondité mâle qui était fortement déterminée par la distance aux arbres mères (Tableau 2). Nous observons aussi que des arbres mère entourés par une haute densité de voisins reçoivent leur pollen d'un nombre de pères réduit (Tableau 3), ce qui indique que les voisins semblent agir comme barrières qui bloquent l'arrivée de pollen sur plus grandes distances. De façon plus globale l'observation suggère que les arbres pères dans la population expérimentent une compétition forte pour les stigmas des arbres mères. Enfin, nous observons que les arbres mère proche du centre de la population tendent à produire des familles de fânes plus diverses (en termes d'hétérozygotie attendue) que celles qui se trouvent plus proches des extrêmes (Tableau 3).

Arbre	Taille	Densité	Centralité	r_{pwf}	r_{paf}	N_{ep}	H_E	F_{IS}
1	212	5	1158.99	0.0073	-0.0008	137.6	0.188	-0.154
2	200	5	1162.04	0.3019	-0.0104	3.3	0.198	-0.139
3	225	5	1163.28	0.1550	-0.0025	6.5	0.237	-0.213
4	223	1	1032.86	0.0926	-0.0047	10.8	0.226	-0.222
5	198	6	1018.89	0.1301	-0.0040	7.7	0.229	-0.084
6	148	6	1017.38	0.0990	-0.0048	10.1	0.195	-0.067
7	119	6	1016.28	0.1229	-0.0050	8.1	0.240	-0.101
8	268	8	1017.01	0.0947	-0.0031	10.6	0.196	-0.167
9	223	2	1023.79	0.0615	-0.0019	16.3	0.209	-0.143
10	135	8	1237.59	0.1802	-0.0052	5.6	0.206	-0.164
11	139	11	1244.16	0.0729	-0.0036	13.7	0.205	-0.184
12	135	6	1185.32	0.0080	0.0006	125.3	0.247	-0.045
13	144	1	1572.25	0.0077	0.0017	129.5	0.238	-0.109
14	198	6	1589.18	0.3694	-0.0089	2.7	0.220	-0.162
15	178	5	1591.39	0.5194	-0.0119	1.9	0.207	-0.244
16	220	10	1617.35	0.2183	-0.0073	4.6	0.258	-0.229
17	199	11	1613.69	0.0718	0.0025	13.9	0.247	-0.090
18	213	8	1610.49	0.1528	0.0010	6.5	0.237	-0.169
19	162	10	1624.28	0.5062	-0.0069	2.0	0.254	-0.329
20	119	9	1636.61	0.0759	0.0011	13.2	0.248	-0.141
21	197	0	1676.67	0.0011	0.0011	925.9	0.248	-0.078
22	107	5	1711.42	0.1522	-0.0064	6.6	0.236	-0.238
23	210	9	1720.14	0.1278	-0.0045	7.8	0.256	-0.221
24	190	9	1727.42	0.3242	-0.0122	3.1	0.235	-0.261
25	253	10	1738.77	0.1252	-0.0029	8.0	0.230	-0.192
26	214	9	1750.98	0.0276	-0.0005	36.2	0.209	-0.084
27	126	11	1763.34	0.0306	0.0002	32.7	0.217	-0.128
28	173	6	1823.49	0.2133	-0.0069	4.7	0.222	-0.212
29	125	2	2209.36	0.1353	-0.0002	7.4	0.239	0.006
30	94	8	2189.79	0.2273	-0.0043	4.4	0.240	-0.074
Mean	178.2	6.6	1481.47	0.1537	-0.0037	52.2	0.227	-0.155

Tableau 1. Caractéristiques des 30 arbres mère étudiés et leurs nuages de pollen. Taille: circonférence à 1,30 m ; densité: nombre de hêtres adultes dans un rayon de 20 m autour l'arbre cible, centralité: position de l'arbre par rapport au centre géographique de la population (estimée à travers sa distance moyenne de tous les autres arbres de la population); r_{pwf} : paternité corrélée intra-famille, r_{paf} : paternité corrélée inter-famille, N_{ep} : nombre effectif de pères, H_E : hétérozygotie attendue, and F_{IS} : coefficient de consanguinité (Ouayjan et Hampe 2018).

	Estimate	SE	P
Intercept	1.415e+00	1.426e-01	***
Distance	-3.414e-04	8.309e-05	***

Tableau 2. Relation statistique entre la fécondité des arbres père identifiés (estimée à travers le nombre total de fâines fécondées par eux) et leur distance spatiale aux arbres mère (Ouayjan et Hampe 2018).

	N_{ep}			r_{paf}			H_E			F_{IS}		
	Estimate	SE	<i>P</i>	Estimate	SE	<i>P</i>	Estimate	SE	<i>P</i>	Estimate	SE	<i>P</i>
Intercept	5.0658	1.8959	*	-3.30e-03	5.50e-03	ns	1.94e-01	2.46e-02	***	-2.26e-02	9.38e-02	ns
Tree size	-0.0019	0.0061	ns	-3.26e-06	1.79e-05	ns	-2.56e-05	8.00e-05	ns	-4.76e-04	3.05e-04	ns
Density	-0.2883	0.0873	**	-1.19e-04	2.53e-04	ns	-5.40e-05	1.13e-03	ns	-6.43e-03	4.32e-03	ns
Centrality	0.0003	0.0008	ns	6.60e-07	2.41e-06	ns	2.56e-05	1.08e-05	*	-3.13e-06	4.11e-05	ns

Tableau 3. Effets des caractéristiques de l'arbre mère sur son nuage de pollen. N_{ep} : nombre effectif de pères, r_{paf} : paternité corrélée inter-familles, H_E : hétérozygotie attendu, F_{IS} : coefficient de consanguinité. *: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, ***: $P < 0.001$, ns: $P > 0.05$ (Ouayjan et Hampe 2018).

En résumé, notre étude du flux de gènes par le pollen nous a permis d'acquérir les connaissances suivantes :

(i) les patrons de reproduction et de croisements entre arbres dépendent quasiment dans leur totalité de déterminants à l'intérieur de la population car l'immigration de pollen depuis l'extérieur est négligeable ;

(ii) la grande majorité du flux de gènes par pollen se déroule sur des distances courtes ;

(iii) des croisements entre proches parents sont fréquentes ;

(iv) Le patrons de croisements et le caractère des nuages de pollen des arbres individuels peuvent en partie être expliqués par leur situation spécifique au sein de la population (densité, centralité).

Globalement, l'ensemble de résultats de nos études génétiques de la population de hêtre de la vallée du Ciron souligne fortement sa nature très singulière et justifie sa considération comme une ressource génétique forestière à très haute valeur patrimoniale.

Les connaissances obtenues peuvent guider des futures initiatives de conservation et de restauration de la hêtraie étudiée.

Agence de l'eau Etude 5-6 :

Dendrochronologie :

Passé, présent et futur des hêtres du Ciron

Didier Bert



1. Introduction et objectifs

La croissance radiale enregistrée dans le bois est le résultat de tous les facteurs qui influencent la vie d'un arbre à différentes échelles de temps : la journée, la saison de croissance, l'année, le siècle. L'analyse rétrospective de la croissance radiale d'arbres en peuplements permet donc d'évaluer l'évolution de leur vigueur au cours du temps et d'identifier les facteurs les plus importants pour leur croissance et leur survie. En particulier, la compréhension des influences du climat passé sur la croissance peut aussi permettre d'estimer l'avenir de la population dans les futures conditions climatiques. Dans le cadre de la hêtraie du Ciron, la composition des peuplements offrait la possibilité de comparer les résultats obtenus pour le Hêtre avec ceux obtenus avec les mêmes méthodes pour le Chêne pédonculé.

En bref, les principaux objectifs de cette étude dendroécologique étaient les suivants :

- ✕ caractériser la structure d'âge des populations de hêtre et chêne
- ✕ évaluer la vigueur passée et actuelle des peuplements
- ✕ comparer l'évolution à long terme de la croissance et de l'efficacité d'utilisation de l'eau
- ✕ analyser les relations entre la structuration génétique de la population et la croissance
- ✕ analyser l'impact des conditions de milieu et du climat sur la croissance annuelle
- ✕ anticiper l'avenir probable des peuplements dans un futur climat

* Matériels et méthodes

Avant le début de notre étude, la population de hêtres avait été caractérisée par les inventaires réalisés par le SMBVC et lors des échantillonnages en vue des analyses génétiques. Nous nous sommes donc inspirés de ces connaissances pour échantillonner un sous-ensemble de hêtres ayant été génotypés et nous l'avons complété pour inclure des jeunes hêtres, pour un total de 317 individus. La sélection a inclus principalement les arbres dominants, avec un seul tronc de préférence, et situés en des lieux permettant le carottage. Pour comparer les résultats de cet ensemble, nous avons également échantillonné 79 chênes pédonculés répartis entre les hêtres.

L'étude de la croissance a été faite sur des carottes de 5 mm de diamètre, prélevées à 1,10 m de haut (le trou de prélèvement a été rebouché avec du mastic de greffage) en été/automne 2015 (photo ci-dessous : R Ségura au confluent Bagéran/Ciron). Ces échantillons de bois ont été préparés au laboratoire de dendrochronologie de Biogeco : planage de la surface, numérisation au scanner optique, mesure des largeurs de cernes avec le logiciel dédié « Windendro », et interdatation pour garantir la datation de chaque cerne. Les largeurs de cernes ont été transformées en surface de cerne (nommée BAI pour Basal Area Increment) afin de mieux représenter la quantité de bois produit en une année. Les méthodes classiques de dendrochronologie ont été appliquées pour convertir les BAI en GI (Growth Index) qui ne dépend pas de l'âge du cerne lors de son élaboration. Les méthodes spécifiques aux différents objectifs seront mentionnées avant les résultats ci-dessous. La plupart des travaux

résumés ici sont inclus dans la thèse de Adib Ouayjan qui a été présentée en décembre 2017 et a fait l'objet d'un mémoire de 169 pages en anglais (didier.bert@inra.fr). Les principaux opérateurs de terrain ont été D Bert, A Ducouso, Y Mellerin, A Ouayjan, P Reynet, R Ségura (INRA Biogeco).



2. Résultats scientifiques

Structure d'âge des populations de hêtre et chêne

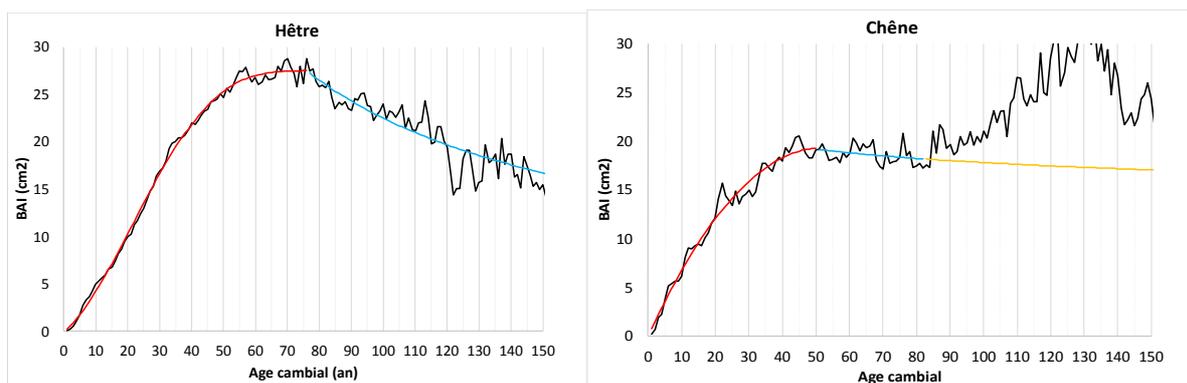
Nous avons couvert une gamme d'arbres âgés de 32 à 205 ans pour les hêtres, et de 47 à 245 ans pour les chênes. Classiquement, l'effectif est maximal dans les jeunes âges puis il décroît jusqu'à devenir nul à l'âge le plus élevé. La décroissance est globalement régulière et indique que la mortalité est naturelle et touche tous les âges puisque cette forêt n'est pas soumise à la sylviculture. Les deux espèces montrent la même structure d'âge, qui confirme que l'Homme n'intervient pas dans la gestion d'une espèce ou de l'autre. L'autopsie de quelques hêtres morts répartis dans cette population a confirmé ces observations : les arbres morts étaient âgés de 125 à 205 ans et leur croissance au cours de leur vie avait été plutôt inférieure à celle des arbres encore vivants lors du carottage. L'âge maximal des hêtres du Ciron est donc d'environ 200 ans d'après nos mesures. Cela est cohérent avec le fait que cette population est en limite écologique car on peut rencontrer des hêtres nettement plus âgés en montagne ou plus au nord (jusqu'à 450 ans dans les Alpes italiennes, par exemple). Enfin, la relation entre l'âge d'un hêtre et son diamètre n'est pas stricte : par exemple, pour un même diamètre de 65 cm, le hêtre peut avoir entre 60 et 180 ans ! Les chênes montrent une variabilité similaire. Le niveau de croissance est donc très variable d'un arbre à l'autre dans cette petite vallée.

Vigueur passée et actuelle des peuplements

La transformation des surfaces de cernes (BAI) en indices de croissance (GI) requiert de calculer la croissance moyenne en fonction de l'âge de l'arbre. Les graphes ci-dessous montrent en noir l'évolution moyenne de la surface de cerne BAI au cours du vieillissement d'un arbre, sur laquelle nous

avons ajusté des équations (courbes colorées) pour la lisser. Pour chacun des cernes mesurés dans notre échantillon, nous avons ensuite calculé le rapport GI (en %) = $100 * BAI/BAI_{ajusté}$. L'évolution de GI au cours du temps permet de comparer ou de moyenner la croissance d'arbres d'âges différents.

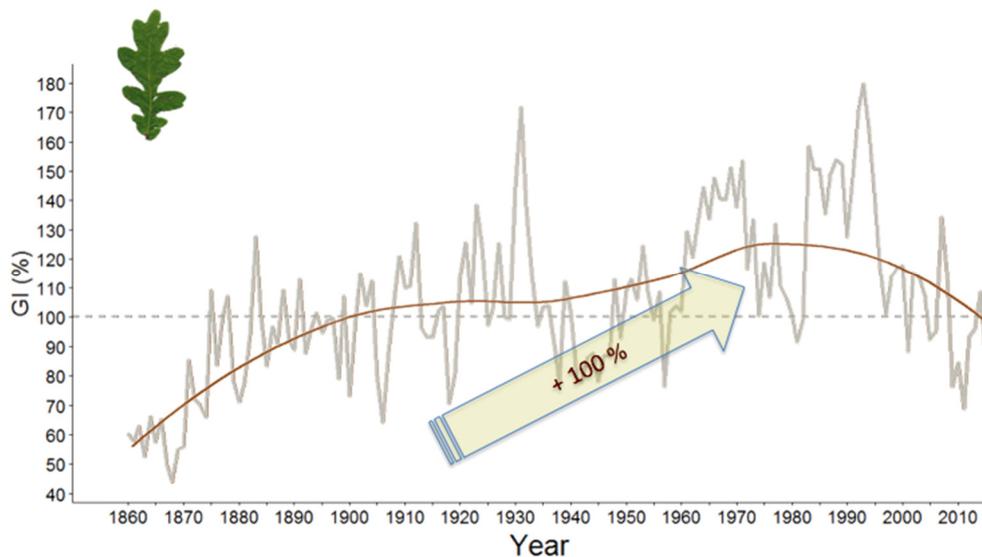
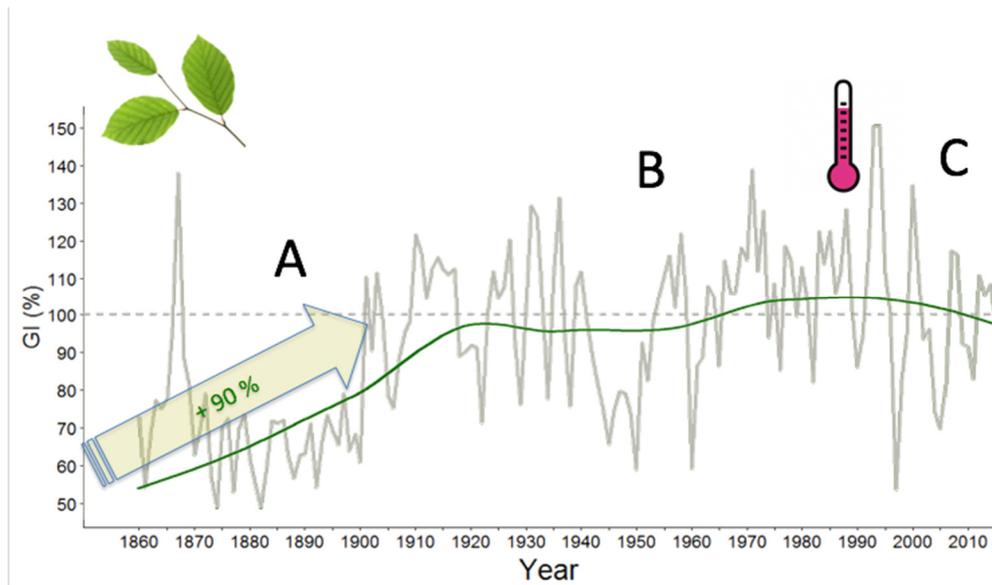
Les graphes ci-dessous montrent l'évolution du niveau de croissance moyen au cours de la vie d'un arbre. Classiquement, la croissance ne fait qu'augmenter durant les premières décennies puis elle plafonne et diminue lentement avec le vieillissement de l'arbre. Dans la vallée du Ciron, on constate que le hêtre atteint $27 \text{ cm}^2/\text{an}$, ce qui est similaire au hêtre de Lorraine (thèse V Badeau, 1995). En revanche, le maximum est atteint vers 80 ans au Ciron alors qu'il faut 120 ans en Lorraine, puis la décroissance est rapide au Ciron et très lente en Lorraine. Il semble donc que la dynamique du hêtre du Ciron soit un concentré temporel de ce qui peut se passer plus à l'intérieur de l'aire de répartition : croissance qui augmente rapidement et diminue également rapidement lors du vieillissement, ce qui serait compatible avec une longévité moindre comme nous l'avons vu ci-dessus. La comparaison entre espèces du Ciron montre que le Hêtre a une croissance maximale plus grande que le Chêne pédonculé : $27 \text{ cm}^2/\text{an}$ au lieu de 19 pour le Chêne, ce qui n'était pas évident a priori dans ces conditions de limite d'aire de répartition.



Figures « effet âge » ci-dessus : le nombre de cernes est très grand dans les jeunes âges et diminue au fil du temps car on ne trouve pas beaucoup de vieux arbres en forêt. Cela provoque des variations de plus en plus aléatoires des courbes noires dans les âges élevés, c'est pourquoi les ajustements bleus et jaunes ont été utilisés pour nos calculs.

Quelle a été la dynamique de la croissance depuis deux siècles ?

Pour répondre à cette question, la moyenne des GI par date a été calculée et tracée. Comme dans le cas des courbes ci-dessus, le faible effectif des vieux arbres en forêt limite la possibilité de remonter dans le temps. Nous présentons ici les données depuis 1860, mais l'effectif d'au moins 30 cernes commence en 1884 pour le hêtre et 1913 pour le chêne. Les graphes ci-dessous montrent en gris la courbe de croissance moyenne année par année, et en couleur verte ou marron la tendance lissée pour mieux analyser l'évolution à l'échelle du siècle.



Les variations interannuelles du hêtre sont particulièrement marquées (courbe du haut) : la croissance est très réactive car une année favorable suivant une année défavorable permet aux arbres de retrouver une bonne croissance très rapidement. Si le peuplement était dépérissant, les variations seraient plus réduites. A long terme, il est possible de décrire 3 périodes (notées A, B et C) visibles sur la courbe lissée : la période A va de 1860 à 1920 environ et montre une grande augmentation du potentiel de croissance (+90% !); la période B montre une sorte de plateau jusque vers les années 1980s durant lesquelles le climat s'est nettement réchauffé dans le sud-ouest ; et la période C dans un climat plus chaud après les années 1980s qui montre une très faible diminution de la croissance.

Pour le chêne, l'allure générale est assez similaire avec une forte augmentation de la croissance (+100%) depuis 1860 jusque vers les années 1980s, puis une période de réduction de la croissance un peu plus marquée que celle du hêtre.

La tendance à long terme fortement croissante a été montrée à diverses reprises lors d'études dendroécologiques antérieures (résumées dans Badeau et al., 1996). Elle peut être liée aux changements globaux, notamment le réchauffement atmosphérique et l'augmentation du taux de CO₂

(nous reviendrons sur cette question plus bas). La tendance décroissante observée depuis les années 1980s est nettement plus faible que ce qui était redouté au départ de notre étude. En effet, les études publiées dans la littérature (Allen et al., 2010) laissaient penser que les populations en limite chaude d'aire de répartition vont connaître une perte de vigueur importante. Le hêtre est en particulier sensible au réchauffement climatique si la pluviométrie n'augmente pas à basse altitude (Jump et al., 2006). Il est donc possible que le climat de la vallée du Ciron ait compensé partiellement le réchauffement constaté dans le sud-ouest.

L'évolution à long terme de la croissance est-elle liée à une meilleure efficacité d'utilisation de l'eau ?

Globalement, l'efficacité d'utilisation de l'eau exprime le rapport entre la quantité de CO₂ fixé par une plante et l'eau qu'elle a consommé durant la photosynthèse. Ce rapport est difficile à mesurer expérimentalement mais on peut l'estimer à partir de la composition du bois. En effet, l'air atmosphérique contient 2 types de molécules de CO₂ : la majorité comporte du carbone 12 et une minorité comporte l'isotope stable carbone 13 (noté ¹³C). Lors de la photosynthèse, la proportion entre ces deux isotopes est modifiée par la discrimination de l'isotope ¹³C et cette proportion se retrouve enregistrée dans le bois, à quelque chose près. Par l'analyse de la composition isotopique du bois des cernes, il est donc possible de retrouver des indications sur l'efficacité de l'eau moyenne durant le temps de la formation du bois et de remonter le temps.

Comme pour la croissance radiale (voir les courbes « effet âge »), il faut tenir compte de l'effet du vieillissement des arbres sur leur fonctionnement photosynthétique si on veut étudier une évolution au cours des siècles. Sur le sapin du Jura, nous avons montré qu'il existe un effet très significatif de l'âge de l'arbre sur la composition isotopique des cernes (Bert et al, 1997). Cet effet peut s'expliquer par l'évolution des conditions de croissance d'une plantule devenant progressivement un arbre dominant : le microclimat, la lumière, la quantité de CO₂ respiré par le sol, le déficit de pression de vapeur... évoluent et modifient la discrimination isotopique. Pour le hêtre du Ciron, nous avons donc établi un échantillonnage de certains cernes âgés de 15 à 150 ans élaborés à des dates réparties entre 1840 et 2015. Le résultat obtenu montre qu'il n'existe pas d'effet de l'âge de l'arbre sur la composition isotopique des cernes. Il est donc probable que cette forêt linéaire, de peu de largeur et étagée sur des pentes fortes constitue un milieu peu structuré : le vent pénètre facilement dans le sous-bois et diluerait le CO₂ respiré, la lumière pénètre également plus aisément que dans un peuplement étendu et fermé d'une hêtraie classique, les conditions d'humidité seraient homogénéisées etc. Les jeunes hêtres et les adultes pousseraient donc dans des conditions similaires en moyenne. Quoiqu'il en soit, l'absence de cet effet dans le Ciron a offert l'avantage de permettre de sélectionner des cernes d'âges variés et d'obtenir des résultats plus solides pour l'étude de l'effet de la date à long terme (voir la figure ci-dessous).

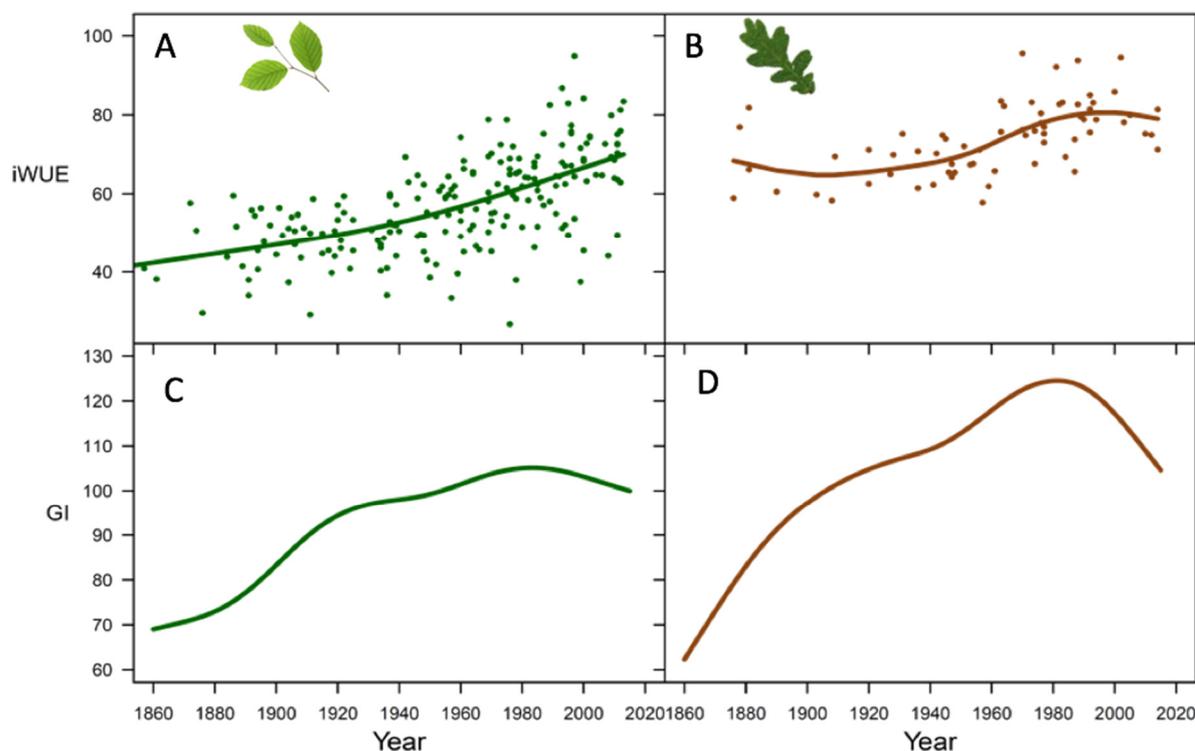


Figure « date iWUE » : cadres A et B = iWUE = intrinsic Water Use Efficiency = efficacité de l'eau en fonction de la date entre 1860 et 2015, pour le hêtre et pour le chêne pédonculé. Chaque point est une mesure de la composition isotopique de la cellulose purifiée dans le bois de 5 cernes, et la courbe donne l'évolution moyenne au fil des ans. Cadres C et D = GI = Growth Index en % = croissance lissée pour montrer l'évolution à long terme (c'est le rappel des courbes présentées sur les graphiques du paragraphe ci-dessus).

Chez le hêtre du Ciron, l'efficacité de l'eau a augmenté considérablement sur la période étudiée (+67%), ce qui indique que davantage de CO₂ est fixé pour une même quantité d'eau transpirée. La tendance s'est accentuée vers les années 1950s, ce qui coïnciderait avec la forte augmentation du CO₂ atmosphérique. Le chêne ne montre pas la même évolution : l'efficacité de l'eau n'a pas augmenté significativement entre 1872 et 1950, puis une augmentation significative d'environ 10% se constate entre 1950 et 2000, enfin une stabilisation semble se dessiner après 2000. Les diverses espèces d'arbres ne répondent pas toutes identiquement aux modifications de l'environnement (Brienen et al., 2017). Il semble donc que le hêtre du Ciron réponde davantage à l'évolution du CO₂ atmosphérique que le chêne. Ainsi, le hêtre a une efficacité de l'eau plus élevée au fil du temps alors que le chêne régule davantage sa photosynthèse. Il serait possible que cette différence de comportement se retrouve dans l'évolution de la croissance des dernières décennies : le hêtre montre une plus faible perte de croissance que le chêne durant la période de réchauffement climatique.

La structuration génétique de la population joue-t-elle sur la croissance ?

L'étude de 932 hêtres adultes a révélé une structuration qui pourrait être schématisée comme un gradient entre deux pôles génétiques (voir étude A Hampe, A Ouayjan). Chaque hêtre aurait ainsi

une probabilité d'appartenir à un pôle. Cette structure génétique se double d'une structuration géographique, avec un pôle plutôt central (proche du lieu dit « La Flotte ») et un autre pôle occupant les extrémités aval et amont de la zone d'étude. Nous avons donc étudié la croissance des arbres selon leur position dans le gradient génétique et leur position topographique. En bref, il semblerait que les hêtres du pôle central montrent une meilleure croissance en situation de plateau ou de rebord de la vallée, tandis que les hêtres des extrémités montrent une meilleure croissance en fond de vallée. L'efficacité d'utilisation de l'eau semble suivre la même tendance : la croissance plus forte correspondrait à des valeurs élevées d'efficacité de l'eau. Ces premiers résultats restent à confirmer, tant en ce qui concerne la structure génétique qu'en ce qui concerne ses relations avec la croissance et l'efficacité de l'eau. Ce sont les perspectives que nous envisageons en priorité.

Rôle du climat sur la croissance annuelle

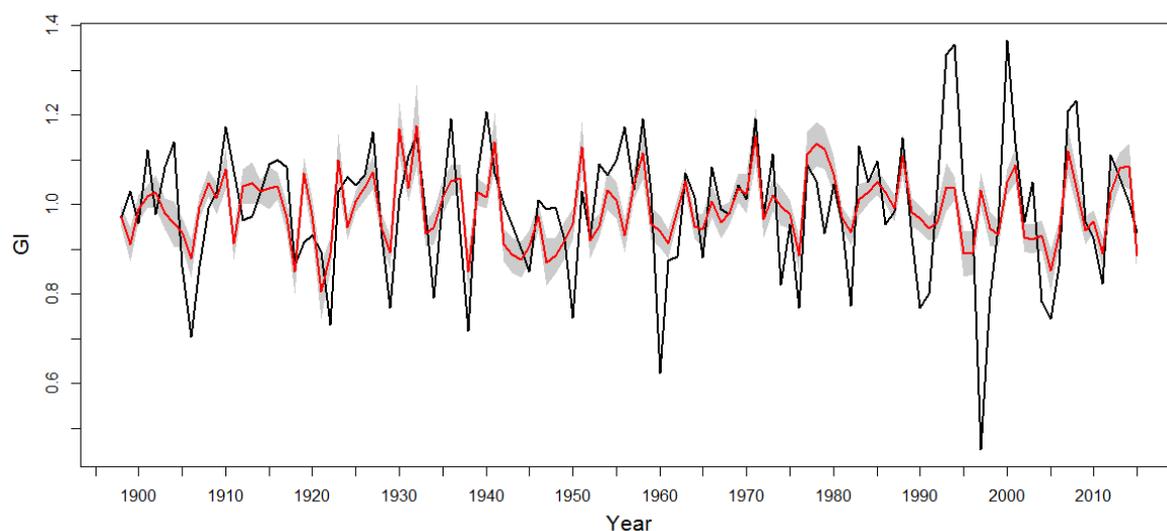
Pour identifier les variables climatiques et les périodes qui conditionnent le plus la croissance des arbres du Ciron, nous avons réalisé des modélisations selon la méthode des Bootstrap Correlation Coefficient. Il s'agissait principalement de calculer la corrélation entre la croissance annuelle et de nombreuses combinaisons de variables climatiques mensuelles ou regroupées en périodes de 2 mois, ou 3 mois etc. Les données climatiques d'un site situé à Sauternes depuis 1897 ont été extraites de la base de données Climatik (INRA-Météo France). Finalement les modèles les plus explicatifs de la croissance (Growth Index = GI) sont :

--- pour le hêtre : $GI = 0.0008 * BH_{\text{Mars-Juillet}} + 0.0006 * P_{\text{Février}} + 1.029$

--- pour le chêne : $GI = 0.0007 * BH_{\text{Avril-Août}} + 1.11$

Avec BH = Bilan Hydrique = Pluie – Evapotranspiration Thornthwaite, Mars-Juillet = période de mars à juillet inclus, $P_{\text{Février}}$ = précipitations du mois de février

Le graphique ci-dessous montre en noir la courbe de croissance du hêtre (sur laquelle les tendances ont été retirées), en rouge le calcul de la croissance à partir des données climatiques et de l'équation ci-dessus, et en gris l'intervalle de confiance du modèle à 95%.



Les variations interannuelles sont bien reconstruites, sauf dans quelques cas extrêmes, comme en 1960 et 1997. Une étude basée sur la phénologie (non exposée dans ce bref rapport) nous a permis de comprendre que les jeunes feuilles des hêtres les plus précoces avaient été détruites par des gels tardifs fin avril 1960 et 1997. Ceux-ci ont alors produit un cerne très fin durant ces années et la courbe moyenne présente donc un creux, qui ne peut être modélisé par des variables de bilan hydrique d'été.

Il ressort de ces modélisations que la croissance des hêtres, et des chênes, du Ciron est principalement conditionnée par le bilan hydrique de la saison de croissance. Cela n'était pas évident a priori puisque ces arbres sont situés dans une vallée de petites dimensions, avec une rivière permanente à proximité des racines des arbres. Les variables de température ne sont pas apparues comme les plus corrélées.

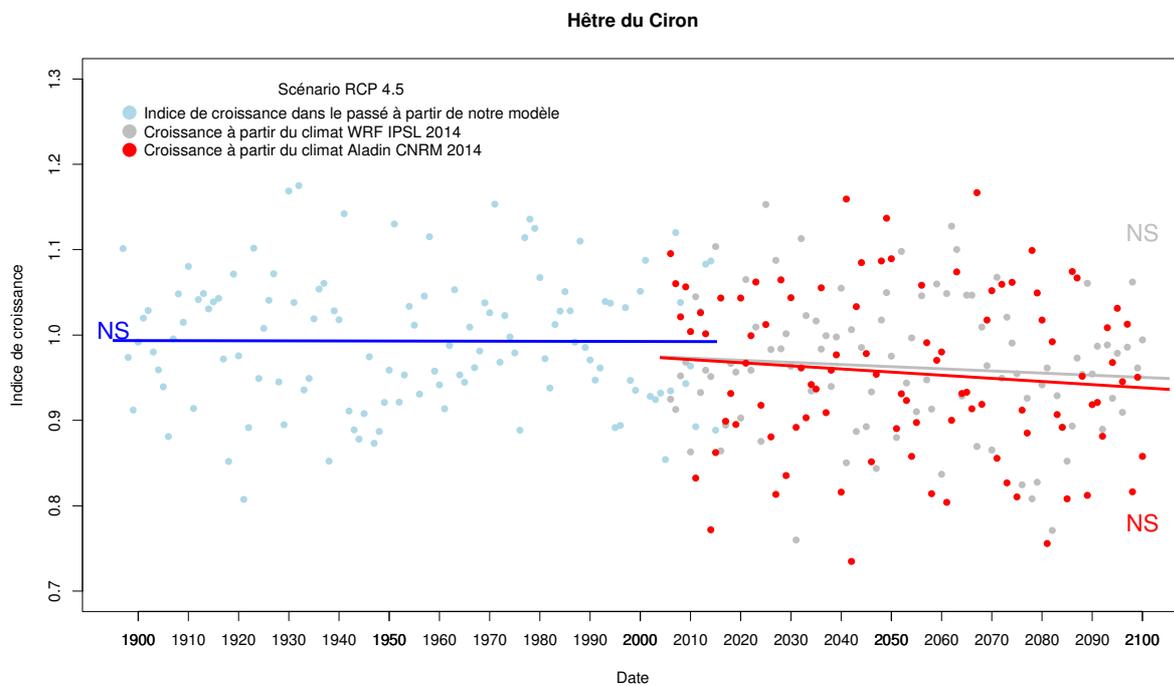
Anticiper l'avenir probable des peuplements dans un futur climat ?

Les modèles précédents ont donc permis de reconstruire la croissance passée et présente à partir du climat. Il était également possible d'étudier l'évolution de la croissance dans l'avenir sous l'hypothèse que le climat évoluera selon certains scénarios. Nous nous sommes basés sur des scénarios climatiques actuels nommés RCP4.5 et RCP8.5. Le scénario RCP4.5 suppose une stabilisation du forçage radiatif vers 4.5 W/M^2 vers 2100 (réchauffement de $+1.8^\circ\text{C}$) et le scénario RCP8.5 est plus pessimiste avec un réchauffement de $+5^\circ\text{C}$ vers 2100. Le site DRIAS permet de collecter les données prédites par les modèles climatiques selon les deux scénarios RCP. La prédiction du climat futur est complexe puisque les modèles climatiques globaux donnent des indications à grande échelle et que d'autres modèles climatiques permettent de passer à une échelle locale. Dans cette seconde catégorie, il existe pour la France deux modèles reconnus : WRF et Aladin-Climat. Ils donnent des projections climatiques pour des points distants de quelques kilomètres. Nous avons donc obtenu les projections de ces deux modèles pour la vallée du Ciron et nous présentons les résultats pour 4 possibilités : 2 scénarios RCP x 2 modèles climatiques. En général, le modèle Aladin abouti à des évolutions climatiques plus fortes que le modèle WRF. Avec ces données climatiques simulées, nous avons calculé les variables climatiques de nos modèles « hêtre » et « chêne ». Ces variables peuvent présenter une tendance à

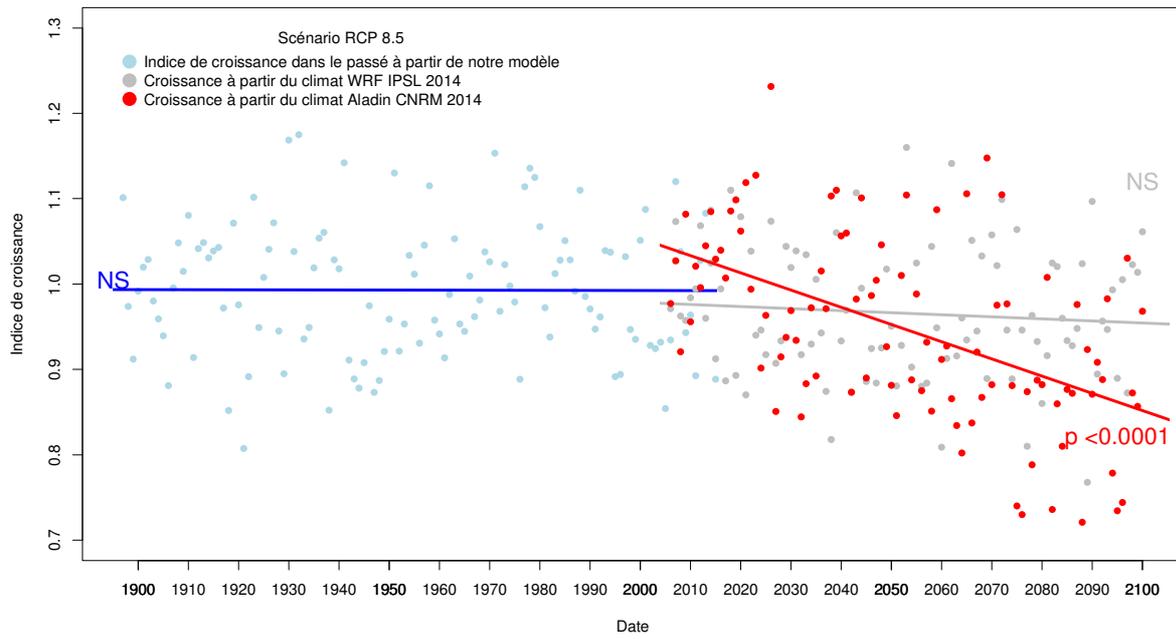
long terme et nous avons estimé son influence sur la croissance en les injectant dans les équations ci-dessus. Les résultats sont exprimés par les graphiques suivants qui montrent

- en bleu : la croissance passée recalculée par le modèle hêtre ou le modèle chêne, avec les données réelles de Sauternes
- en gris la croissance prédite par le modèle hêtre ou chêne et les données climatiques issues du modèle WRF de l'Institut Pierre-Simon Laplace,
- en rouge : la croissance prédite avec les données climatiques issues du modèle Aladin-Climat du Centre National de Recherches Météorologiques.
- Les indications NS signalent que la tendance à long terme n'est pas significative au seuil de 5%. Si la tendance est significative, la probabilité est indiquée dans la couleur qui se rapporte à la droite de régression.

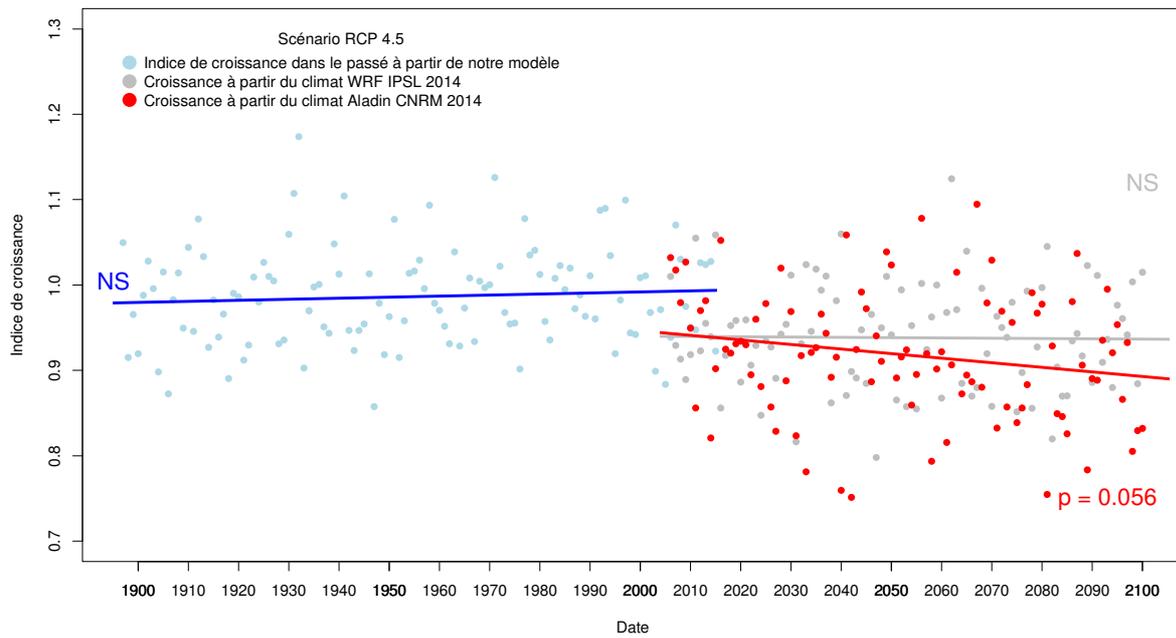
Note : Les variations interannuelles des prédictions sont réalistes mais ne sont pas datées précisément alors que la tendance à long terme peut être analysée valablement.



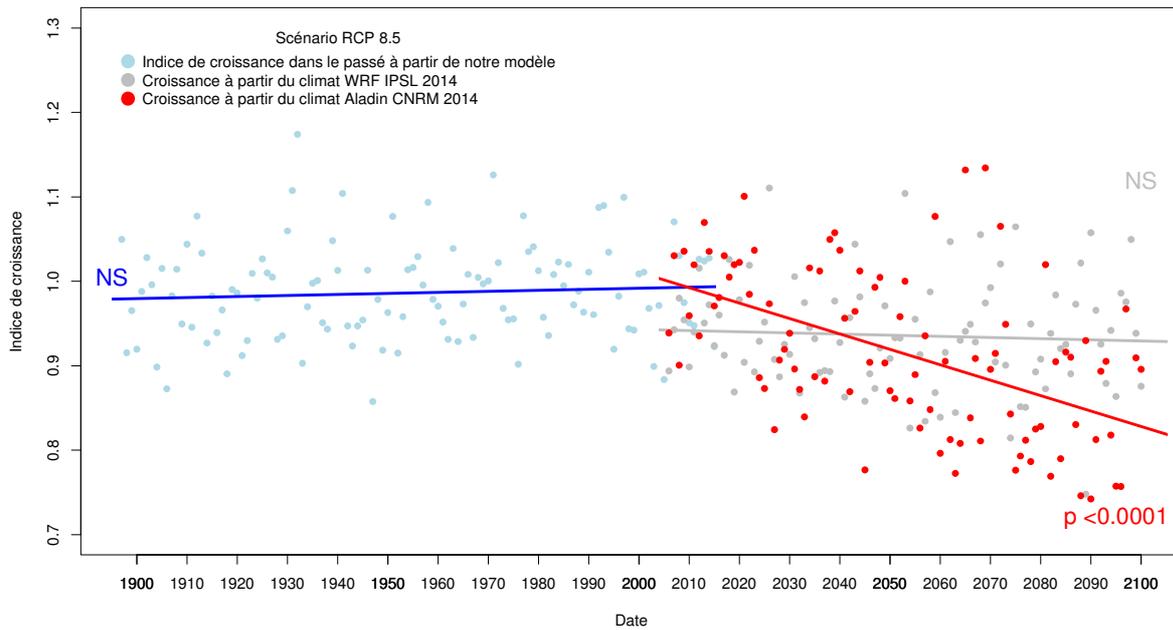
Hêtre du Ciron



Chêne du Ciron



Chêne du Ciron



Avec le modèle WRF, les deux scénarios RCP4.5 et RCP8.5 montrent le même type de résultats pour les deux espèces : la croissance future serait un peu plus faible que celle du passé. La réduction serait cependant très limitée et les tendances ne sont pas significatives.

Le modèle Aladin-Climat abouti à des pertes de croissance significatives, sauf dans le cas du Hêtre sous le scénario RCP4.5.

La vigueur des deux espèces semble donc devoir baisser dans l'avenir plus ou moins intensément. Actuellement, nous ne savons pas dans quel scénario climatique la région du Ciron se situera, et l'incertitude porte également sur le modèle climatique qui aura fourni des projections les plus proches de celles qui seront mesurées à l'avenir.

3. Conclusions

Cette hêtraie comporte des arbres qui présentent souvent une conformation tortueuse : arbres de faible hauteur, inclinés, tordus, ramifiés à la base... Cependant, leur croissance radiale est comparable à celle des hêtraies dans des sites plus classiques pour le Hêtre. Leur longévité atteint 200 ans, ce qui est honorable mais ne représente que la moitié de ce qui serait possible en montagne, par exemple. La vigueur des hêtres et des chênes du Ciron a nettement augmenté depuis la fin du 19^{ème} siècle, ce qui est similaire à ce qui a été mesuré dans d'autres écosystèmes forestiers en France, en Europe ou Amérique du Nord. Depuis les années 1980s, une légère perte de vigueur se constate chez les hêtres du Ciron et cela a aussi été constaté dans d'autres forêts en France. Bien que la vallée du Ciron semble constituer un milieu qui tamponne les excès climatiques, le climat fait varier fortement la croissance d'une année à l'autre. Finalement, l'alimentation en eau semble un facteur très important pour ces hêtres bien qu'ils soient situés près d'une rivière. Au vu de nos modélisations, l'évolution de cette alimentation durant le prochain siècle ne paraît pas trop défavorable pour la survie à long terme de la hêtraie. Toutefois, le scénario RCP 8.5 (quand on ne maîtrise pas les émissions de gaz à effet de

serre) peut aboutir à des conditions climatiques qui vont faire baisser la vigueur des arbres, notamment des chênes. De plus, il existe une grande variabilité entre les arbres du point de vue de la croissance, de leur efficacité d'utilisation de l'eau et de leurs caractéristiques génétiques. Il reste donc encore des connaissances à acquérir pour dresser un tableau plus complet.

Agence de l'eau Etude 6 :

**Structuration géographique
de la diversité génétique
des hêtres et des espèces associées**

Arnd Hampe, Alexis Ducousso et Rémy Petit



Structuration géographique de la diversité génétique des hêtres

1. Objectifs

Une première étude sur les hêtraies planicières du Sud-Ouest ainsi que d'autres régions françaises (de Lafontaine et al. 2013) avait montré la singularité génétique de la hêtraie de la vallée du Ciron et indiquée la possible existence de deux à trois groupes génétiques distincts au sein de cette population. L'étude antérieure s'était cependant basée sur un échantillonnage réduit et limité à trois points le long de la rivière. Le but de l'étude présente était de réaliser un génotypage exhaustif de toute la population adulte et une cartographie détaillée des génotypes observés afin de mieux comprendre les mécanismes biologiques et les dynamiques historiques ayant conduit à cette différenciation. Le génotypage exhaustif des arbres reproducteurs était aussi indispensable pour l'étude du flux de gènes dans la population (voir étude E5) et donc pour mieux comprendre les processus biologiques impliqués dans sa régénération naturelle. Enfin, la présente étude permettra également d'identifier et sélectionner des arbres cible pour la récolte de faines (voir action ...) pour les actions de renforcement, ainsi que d'informer les stratégies à adopter pour les activités de replantation (voir action ...).

Tous les travaux de recherche sur le hêtre dans le cadre des études E5 et E6 se sont déroulés dans le cadre de la thèse doctorale d'Adib Ouayjan intitulée « Dendroécologie et génétique d'une population de hêtre (*Fagus sylvatica*) en marge chaude de l'aire de répartition de l'espèce ». Les détails des travaux emmenés et leur résultats sont décrits dans le document de thèse ainsi que dans un article scientifique publié par Ouayjan et Hampe (2018).

2. Matériels et méthodes

- Cartographie et échantillonnage de matériel.

Au printemps et à l'été 2015 nous avons cartographié et échantillonné tous les hêtres considérés comme potentiellement reproducteurs ($n = 932$) le long de la vallée du Ciron. Sur la base d'observations de terrain, un individu était considéré comme potentiellement reproducteur car son tronc avait une circonférence de 70 cm à hauteur de la poitrine ou si l'arbre avait produit de faines les années antérieures (reste de cupule dans les branches ou au sol). Nous prenions les coordonnées géographiques de chaque arbre avec un GPS de haute précision et nous récoltions une petite quantité de matériel végétal - des bourgeons, des feuilles ou du cambium - qui était séchée immédiatement dans gel de silice pour faciliter l'extraction de l'ADN au laboratoire. Nous marquons les arbres échantillonnés de manière discrète pour faciliter une identification postérieure.

- Génotypage.

Une fois arrivé au laboratoire de génétique moléculaire de BIOGECO, le matériel végétal de chaque individu était soumis à l'extraction de l'ADN génomique utilisant un kit commercial. Ensuite, nous génotypions chaque individu par moyen d'un total de 120 marqueurs génétiques du type Single Nucleotide Polymorphism (SNP), assemblés dans trois jeux multiplex. Ces jeux de marqueurs avaient été développés spécifiquement pour le présent projet à la Plateforme Génome-Transcriptome de BIOGECO (<http://www.pgtb.u-bordeaux2.fr/>), laboratoire qui réalisait aussi le génotypage. Un total de 112 SNP de haute qualité pouvait finalement être récupéré du séquençage et utilisé pour générer les génotypes multilocus des individus qui formaient la base des analyses numériques postérieures.

- Analyses des données.

Les données génotypiques étaient soumis à trois types d'analyses numériques pour obtenir des informations complémentaires :

(i) une analyse de structure spatiale de la variation génétique (logiciel SpaGeDi ; Hardy *et al.* 2002) pour estimer le niveau de flux de gènes historique au sein de la population ;

(ii) une analyse d'affectation génétique (logiciel STRUCTURE ; Pritchard *et al.* 2000, Evanno *et al.* 2005) pour identifier d'éventuelles groupements génétiques à l'intérieur de la population et leur distribution spatiale à fine échelle ;

(iii) une analyse de diversité de l'ensemble de la population ainsi que des différents groupes identifiés (logiciel FSTAT, Goudet 2001).

3. Résultats scientifiques

- Structure spatiale de la variation génétique.

La population de hêtre du Ciron montre une structuration spatiale exceptionnellement forte. La figure 1 illustre la relation génétique moyenne entre deux individus (indiquée par l'index de parenté génétique F_{ij} sur l'axe Y) en fonction de leur distance spatiale (indiquée en mètres sur l'axe X).

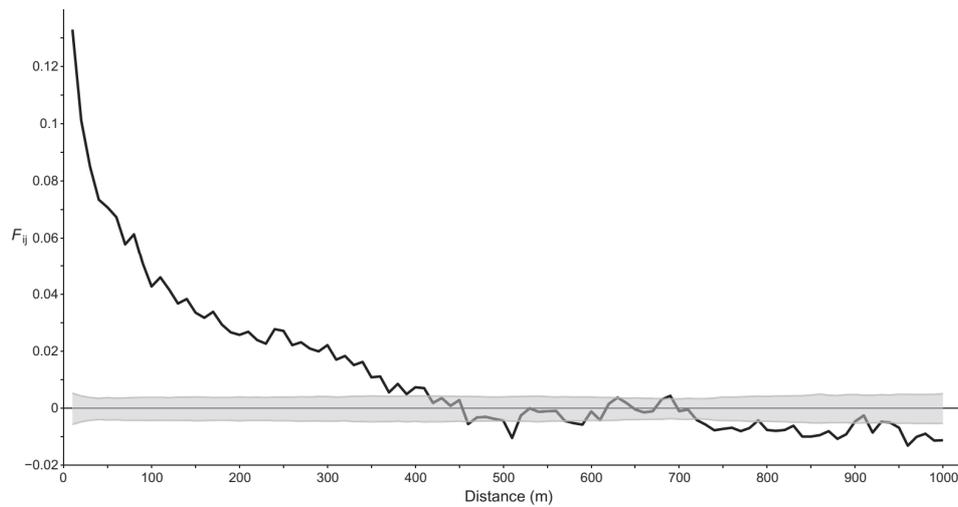


Figure 1 : Parenté génétique moyenne (F_{ij}) entre deux hêtres adultes en fonction de leur distance spatiale. La zone grise indique des valeurs de parenté moyenne qu'on pourrait attendre par hasard. Des valeurs en-dessous indiquent que les arbres sont plus apparentés qu'attendu selon leur distance spatiale et des valeurs en-dessous indiquent qu'ils sont moins apparentés qu'attendu (Ouayjan et Hampe, 2018).

Le graphique montre deux résultats particulièrement intéressants :

(i) Les arbres voisins (= extrême gauche de la courbe) montrent un niveau de parenté de $> 0,13$. Cette valeur indique qu'ils partagent en moyenne un peu plus d'un quart de leur génome (un quart exact correspondrait à une valeur de F_{IS} de 0,125). Cela implique que les arbres voisins sont en moyenne des demi-frères.

(ii) Tous les arbres qui poussent à une distance inférieure à 400 m montrent un niveau de parenté plus élevé qu'attendu par hasard.

La comparaison de ces résultats avec la littérature scientifique montre que les deux tendances décrites représentent une caractéristique unique de la hêtraie du Ciron, car d'autres hêtraies étudiées ailleurs montrent toujours de structures spatiales génétiques beaucoup plus faibles et moins étendues.

- Groupements génétiques au sein de la population.

Notre analyse indique que les différents génotypes individuels peuvent être ordonnés le long d'un gradient entre deux 'clusters génétiques' (i.e., groupements définis par une fréquence allélique théorique) qui sont indiqués par les couleurs bleu et orange dans la Figure 2. Chacune des petites barres verticales dans le graphique 2c correspond au génotype d'un individu et montre sa probabilité d'appartenir au cluster orange ou le cluster bleu. La couleur des cercles sur la carte b indique également cette probabilité.

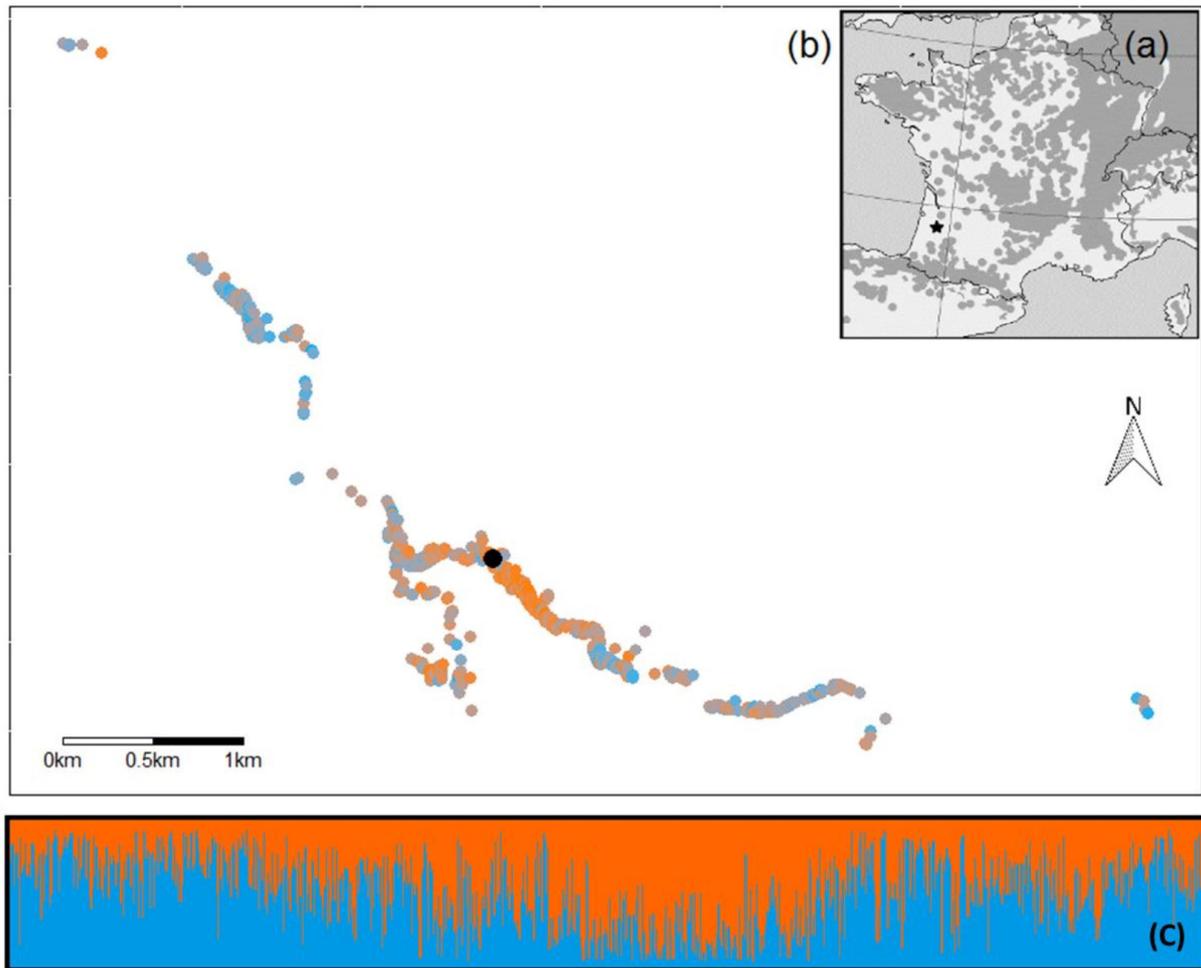


Figure 2. Résultats de l'analyse d'affectation génétique des hêtres adultes. (a) Aire de répartition géographique de l'espèce et position de la vallée du Ciron. (b) Carte indiquant la position géographique des individus avec leur probabilité d'appartenir au cluster génétique orange ou bleu. Le point noir au centre de la population indique le lieu où de Lafontaine et al. (2014) avaient découvert du charbon bois fossile de hêtre âgé 42 000 et 32 000 ans (i.e., de la dernière période glaciaire). (c) Graphique en barres montrant la probabilité de chaque arbre individuel d'appartenir au cluster orange ou bleu. L'ordre des arbres dans le graphique c correspond à leur position géographique sur la carte b (du NW au SE). (thèse de doctorat A. Ouayjan 2017)

Les Figures 2 b et c illustrent que la population de hêtre de la vallée du Ciron contient une zone centrale où la plupart des arbres est génétiquement dominé par le cluster orange et des zones sur les extrêmes où les arbres sont majoritairement dominés par le cluster bleu. Les différentes zones sont connectées par des gradients d'individus génétiquement intermédiaires. Ce résultat confirme globalement les suggestions antérieures sur l'existence d'un groupement de génotypes similaires au sein de la population, bien qu'on ne peut pas vraiment parler de groupes clairement distincts (comme de Lafontaine et al. 2013 avaient conclu sur la base de leur échantillonnage d'individus à trois points éloignés).

La découverte de ce groupement génétique sur une distance relativement courte est surprenante car le hêtre est caractérisé par une grande capacité de flux de gènes (pollinisation par le vent, dispersion de graines par des animaux). Elle est cependant en accord avec la forte structuration génétique observée, qui signale que cette capacité peut être réduite dans la hêtraie de la vallée du Ciron.

Bien que l'origine et le maintien de ces deux groupes génétiques est inhabituel et même exceptionnel. L'explication sur la nature des deux clusters n'est pas facile. En effet, la zone dominée par le cluster orange correspond à celle où (i) l'étude de de Lafontaine *et al.* (2013) identifiait les hêtres les plus singuliers à l'échelle régionale; et (ii) de Lafontaine *et al.* (2014) détectaient des charbons bois fossiles daté à 42 000 et 32 000 ans avant le présent donc durant la dernière période glaciaire. La combinaison de ces deux informations nous fait penser que les individus avec un génotype dominé par le cluster orange pourraient représenter la « relique génétique » de la population du refuge glaciaire de hêtre. Au contraire, les zones dominées par le cluster bleu (i) ne montrent pas une composition génétique singulière par rapport à d'autres populations de hêtre de la région (de Lafontaine *et al.* 2013) et (ii) les fossiles de charbon bois sont relativement jeunes (3500 et 1000 ans avant le temps présent ; de Lafontaine *et al.* 2014). Nous pensons donc que le cluster bleu pourrait provenir de génotypes immigrants provenant d'autres populations de hêtre dans la région qui se sont mélangés avec la population ancienne du refuge. Le fait que ces génotypes se concentrent sur les extrêmes de la population actuelle pourrait donc être expliqué par le fait que leur établissement serait moins limité par la compétition avec des hêtres préexistants sur le site que dans la zone centrale de la vallée.

Même si leur interprétation historique requiert certaine précaution, nos résultats indiquent que la population de hêtre de la vallée du Ciron a un caractère génétique très singulier et représente par conséquent une ressource génétique de grande valeur patrimoniale.

- Niveaux de diversité génétique :

Nous observons les valeurs suivantes pour les trois indices de diversité génétiques les plus utilisés dans la littérature : richesse allélique (R) = 1,984 ; hétérozygotie attendue (H_E) = 0,292 ; coefficient de consanguinité (F_{IS}) = 0,070. La valeur de F_{IS} n'était pas significativement différente de zéro, indiquant l'absence de consanguinité dans notre jeu de données.

Même si le choix de nos marqueurs moléculaires (mis au point spécifiquement pour cette étude) rend la comparaison avec d'autres populations de l'espèce difficile, notre analyse indique que la population adulte de hêtres de la vallée du Ciron se caractérise par un niveau élevé de diversité génétique.

Une analyse plus spécifique qui distingue les deux clusters donne le résultat qui est montré dans la Figure 3. Pour cette analyse nous assignons tous les arbres à une de huit groupes (G1-G8) selon la dominance du cluster orange ou bleu dans leur génotype.

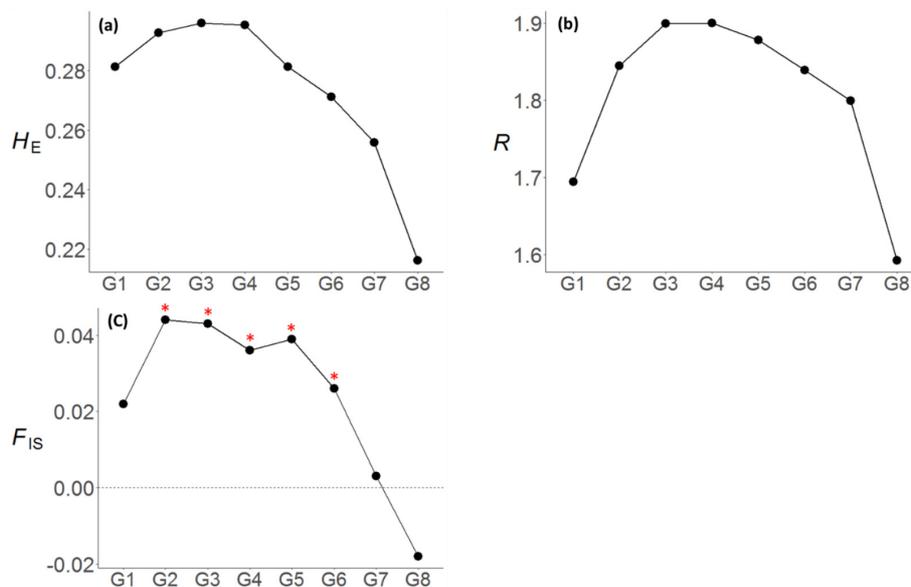


Figure 3. Valeurs de l'hétérozygotie attendue (H_E), richesse allélique (R) et le coefficient de consanguinité (F_{IS}) pour chacun de huit groupes d'arbres définis par leur probabilité d'appartenir au cluster orange ou bleu. Les groupes suivent un gradient de la dominance plus forte du cluster bleu (groupe 1) à celle du cluster orange (groupe 8). (thèse de doctorat A. Ouayjan 2017)

La figure 3 montre deux résultats principaux :

(i) Les valeurs de diversité sont plus élevées dans les arbres intermédiaires (groupes 3-6) entre les deux clusters, un effet probable de leur caractère « hybride » entre les deux extrêmes génétiques représentés par les clusters (qui, pour rappel, sont des groupes théoriques).

(ii) Les arbres le plus dominés par le cluster orange (groupe 8) montrent des valeurs de diversité réduits en comparaison avec ceux dominés par le cluster bleu (groupe 1). Une possible explication de cette différence est que la population à l'origine du cluster orange soit passé par un goulet d'étranglement génétique qui a causé une perte de sa diversité. Un tel goulet d'étranglement serait en accord avec notre hypothèse émise en-dessus. Le cluster orange résulte de la population relique du refuge glaciaire.

Structuration géographique de la diversité génétique des espèces associées

Rémy Petit, Clément Larue, Lucie Durand et Alexis Ducousso



1. Introduction

Les tilleuls font partis de la famille des Malvaceae, ce sont des arbres sauvages ou ornementaux atteignant 30 à 40 de haut, et pouvant vivre un millénaire (Eaton et al., 2016 ; Prentice et al., 1991). Ces espèces poussent dans les régions tempérées de l'hémisphère Nord : en Europe, en Amérique du Nord et en Asie. Elles se situent dans les étages collinéen et montagnard (Gonin et al., 2013), et poussent principalement dans les zones boisées. Ce sont des espèces caduques, tolérantes à l'ombre, poussant sur des sols assez profonds et dans les pentes qui forment souvent des peuplements mélangés. Les insectes assurent la pollinisation des fleurs tandis que les graines sont dispersées par le vent (Rameau, 1989). Les tilleuls possèdent des capacités de multiplication végétative importantes par rejets de souches et par drageons.

Deux espèces de tilleul celui à petites feuilles *Tilia cordata* et celui à grandes feuilles *Tilia platyphyllos* sont présents naturellement en France. Le tilleul à petites feuilles est l'espèce la plus abondante. Elle est commune dans le nord et l'est, rare dans le sud-ouest et la méditerranée. Sur les marges de son aire de répartition, les populations ont des effectifs limités. Sa croissance est rapide jusque vers l'âge de 70 ans. Elle peut pousser sur une grande gamme de sols allant des sols bruns acides aux rendzines. Elle préfère les textures argileuses et limoneuses (argiles, limons, sables) (Pigott, 1991). C'est une espèce indicatrice de forêt ancienne. *Tilia cordata* est une espèce dominante dans les forêts anciennes et peu perturbées par l'homme. Cette espèce s'hybride naturellement avec le tilleul à grandes feuilles donnant le tilleul hybride, nommé *Tilia vulgaris* ou *Tilia x europaea* (Wicksell et Christensen, 1999). Il possède des caractéristiques morphologiques intermédiaires aux deux parents (Logan, 2015 ; Pigott, 2012). Ces espèces et l'hybride se distinguent par des caractères foliaires, de bourgeons, de fleur, de fruits, de branchaison, de forme de houppier, etc... (Phekvilai et Wolff, 2013) L'identification hivernale n'est pas aisée car les meilleurs caractères de discrimination des espèces sont les feuilles et les fleurs. Lors des récoltes hivernales, nous avons utilisé principalement la pilosité des rameaux.

Nous voulions travailler aussi sur le charme mais nous nous sommes heurtés à différents problèmes. Les SNP ont été sélectionnés à partir du fichier ddRAD-Seq obtenus grâce au séquençage de 4 charmes provenant de la vallée du Ciron. Les marqueurs sélectionnés devaient avoir une forte diversité génétique. A partir des 215 locus candidats, 3 plex de 40 SNP co-amplifiables ont été constitués. Sur les 120 SNP amplifiés, seuls deux étaient exploitables. Le développement de marqueurs chez les espèces polyploïdes est compliqué, et le logiciel stacks n'est pas compatible avec les espèces autoploïdes (Dufresne, 2014). L'étude de cette espèce a été reportée en attendant de trouver des marqueurs exploitables et de nouvelles méthodes d'analyse de la diversité génétique.

2. Matériels et méthodes

Plans d'échantillonnage :

- Plan d'échantillonnage pour l'ensemble de la vallée du Ciron

Les récoltes ont été faites sur 50 transects de 200 m répartis sur la totalité de la zone occupée par le tilleul à petites feuilles. Pour chaque transect, nous avons échantillonné au minimum 12 individus avec comme objectif 15 d'avoir au minimum 12. Les recherches ont été parfois élargies jusqu'à 600 m pour arriver aux effectifs ciblés. Au total, 786 arbres ont été échantillonnés: 759 tilleuls à petites feuilles, 25 tilleuls à grandes feuilles. Plus précisément concernant le tilleul à petites feuilles, 649 individus ont été échantillonnés dans la vallée du Ciron, 80 dans la vallée de la Douze, et 30 à proximité du ruisseau de Sauviac.

- Plan d'échantillonnage pour une parcelle

La parcelle étudiée se trouve à une cinquantaine de kilomètres au S-SE de Bordeaux sur la commune de Préchac, au niveau du confluent du Ciron, un affluent de la Garonne, et du ruisseau du Bagéran. En traversant le calcaire du Bazadais, le Ciron a creusé des gorges. La zone d'étude se trouve au début de ces gorges calcaires. Tout au long de la rivière, une forêt galerie est présente. La forêt située le long du Ciron possède une biodiversité remarquable. Elle est composée de nombreuses espèces de feuillus comme le noisetier, le hêtre, le chêne pédonculé, le frêne, l'aulne glutineux, le houx, l'aubépine monogyne, le saule, le bouleau pubescent, l'érable champêtre, l'érable sycomore, l'alisier torminal, le charme et le tilleul à petites feuilles. Lorsque la forêt est dégradée, le robinier faux acacia domine, jusqu'à devenir une plantation pure (Nord Est de la zone d'étude). La parcelle étudiée est limitée à l'Ouest par une pinède composée de pin maritime. Les arbres ont été cartographiés à l'aide d'un GPS Trimble Geo7X associé à une antenne externe Zéphyr 2 afin d'améliorer la réception du GPS qui pouvait être perturbée par les branches des arbres et par la déclivité du terrain. Pour rendre la saisie des données plus rapide, un dictionnaire a été créé à l'aide de Pathfinder Office. Pour chaque arbre, différentes informations ont été notées : son port, sa position dans la pente, son diamètre à 1,3m, etc... Les arbres identifiés ont été classés en quatre catégories : *T. cordata*, *T. platyphyllos*, *T. vulgaris*, et indéterminés. Toutes les cartes ont été réalisées avec le logiciel QGIS, avec comme système de géoréférencement le RGF93 (EPSN:2154) et comme projection le Lambert 93.

Relevés de terrain :

Nous avons réalisé nos récoltes durant la période de repos végétatif des arbres donc nous avons prélevé une vingtaine de bourgeons par individus en privilégiant les gros bourgeons afin d'avoir assez de matériel et de les décortiquer facilement. Lorsqu'aucune branche n'était accessible à portée de main, une branche était coupée à l'aide d'un échenilloir. Nous avons complété notre échantillon par les tilleuls à grandes feuilles présent en tant que témoins. Des informations pour chaque échantillon ou lot d'échantillon ont été collectées sur une fiche de relevé : lieu, date, cours d'eau, rive, numéro

d'individu du lot, numéro GPS, espèce et diamètre à 1,30 m. Après récolte, les bourgeons ont été stockés dans des sachets de thé, de manière individuelle et séchés par ajout de silica gel.

Pour l'étude à l'échelle du bassin versant, les arbres ont été géolocalisés à l'aide d'un GPS Garmin 62st. Les points de géolocalisation ont été effectués au plus près du tronc ou du plus gros tronc s'il s'agissait d'une cèpée.

Pour l'étude à l'échelle d'une parcelle forestière, les arbres ont été cartographiés à l'aide d'un GPS Trimble Geo7X associé à une antenne externe Zéphyr 2 afin d'améliorer la réception du GPS qui pouvait être perturbée par les branches des arbres et par la déclivité du terrain. Pour rendre la saisie des données plus rapide, un dictionnaire a été créé à l'aide de Pathfinder Office. Pour chaque arbre, différentes informations ont été notées : son port, sa position dans la pente, son diamètre à 1,3m, etc... Les arbres identifiés ont été classés en quatre catégories : *T. cordata*, *T. platyphyllos*, *T. vulgaris*, et indéterminés.

Toutes les cartes ont été réalisées avec le logiciel QGIS, avec comme système de géoréférencement le RGF93 (ESPN:2154) et comme projection le Lambert 93.

Extraction et dosage d'ADN :

L'ADN a été extrait en utilisant un protocole à base de cetylmethylammonium bromide, noté CTAB (Doyle et Doyle, 1987). Ce protocole est adapté à l'extraction d'ADN d'échantillons riches en polysaccharides ou en phénols (Sharma et al., 2012). Il a été mis au point lors d'une précédente étude sur les tilleuls à petites feuilles et à grandes feuilles. Ce protocole a été d'abord testé au format plaque 96 échantillons sur seulement quelques barrettes de 8 échantillons pour vérifier l'efficacité du protocole, puis appliqués à la totalité des plaques, permettant un débit plus important. Afin d'améliorer la qualité de l'ADN extrait, les bourgeons ont été épluchés pour enlever les écailles riches en polysaccharides. Dans le même but, les échantillons ont été conservés à +4°C jusqu'à extraction. Après extraction, les échantillons ont été passés au Nanodrop 8000 afin de mesurer leurs concentrations d'ADN. Cette méthode optique permet de mesurer l'absorbance de huit échantillons à la fois. Elle donne la concentration en acides nucléiques et d'évaluer leur pureté. En effet, le Nanodrop fournit les absorbances de l'ADN à 260 nm ; plus l'absorbance est importante, plus la concentration en ADN est élevée. Le Nanodrop fournit également les ratios A260/A280 et A260/A230, qui renseignent sur la pureté de l'ADN obtenu (présence de protéines et de phénols), et sur la présence de polysaccharides ou d'autres contaminants, respectivement. Une modalité a été ajoutée au protocole d'extraction : le traitement à la RNase (Allen et al., 2006). Celui-ci permet d'éliminer l'ARN présent et ainsi d'avoir une estimation plus précise de la concentration en ADN double brin obtenue avec le Nanodrop 8000. Pour tester l'efficacité du traitement à la RNase, des échantillons non soumis et soumis à la RNase ont été passés au Nanodrop 8000, puis au Qubit. C'est une méthode de mesure par fluorescence au format tube, qui utilise un intercalant venant se fixer sur la double hélice ADN. Ainsi, cet intercalant n'émet une lumière que lorsqu'il est fixé à l'ADN. Les mesures sont donc plus précises que celles faites avec le Nanodrop 8000.

Sélection des SNP :

Une partie des SNP utilisés sont issus d'une étude précédente, qui a permis d'identifier 62 SNP polymorphes chez *T.cordata* et diagnostics des deux espèces. Avec la même méthode que l'étude précédente que je ne développerais pas ici, deux multiplexs contenant 40 et 32 SNP chacun ont été désigné, sachant qu'il est possible d'amplifier 40 SNP maximum simultanément avec une PCR multiplex. Une première plaque test de 96 échantillons a été génotypée avec ces 2 multiplexs. Parmi ces SNP, j'ai sélectionné (voir partie génotypage ci-dessous) une liste de SNP candidats qui étaient polymorphes chez *T.cordata* afin de pouvoir étudier sa structure génétique spatiale, et diagnostics afin de pouvoir différencier *T.cordata*, *T.platyphyllos* ainsi que leurs hybrides. L'ensemble de ces SNP candidats n'est pas utilisable. En effet, il est impossible de simplement ajouter des SNP à d'autres dans un plex. Il faut que les amorces choisies soient de tailles différentes et que leurs températures d'hybridation soient proches. Grâce au logiciel Agena SpectroTyper 4, la liste de SNP candidats a été combinée aux 62 SNP déjà disponibles, donnant deux multiplexs de 40 SNP chacun, un multiplex de 20 SNP et un de 9. Seulement les deux multiplexs de 40 SNP ont été retenu.

Génotypage :

Les échantillons ont été génotypés à l'aide de la méthode Sequenom MassARRAY (Oeth & al., 2012 ; modifiée et adaptée par la PGTB). Cette méthode utilise des microplaques de 384 échantillons. La première étape de cette méthode est une réaction de PCR multiplex. Puis les amplicons sont traités à la SAP (*Shrimp Alkaline Phosphatase*). Cette phosphatase permet de dégrader les dNTPs qui n'auraient pas été consommés pendant la PCR et qui pourraient perturber l'élongation. Durant cette étape d'élongation, une amorce *forward* vient se fixer sur le brin d'ADN, et permet l'incorporation d'un didésoxyribonucléotide au niveau du SNP. Puis, les produits d'élongation sont nettoyés à l'aide d'une résine, afin d'éliminer les sels contaminants. Enfin, ils sont analysés au spectromètre de masse MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization - Time of Flight). Ce spectromètre détermine la masse des allèles de chaque SNP. En effet, plus la masse est importante, plus le temps de vol jusqu'au capteur du spectromètre de masse est long. Ainsi, en connaissant le poids des didésoxyribonucléotides et celui de l'amorce d'extension, il est possible de déduire le génotype au SNP étudié.

Les résultats obtenus ont été analysés à l'aide du logiciel TYPER4. Pour chaque SNP, on obtient sous forme de graphique un nuage de points, où chaque point représente un individu. Grâce à la fonction *Autocluster*, le logiciel forme des groupes à partir du génotype de chaque individu. Lorsque le marqueur est polymorphe, on obtient trois clusters : les homozygotes sont représentés aux deux extrémités du graphique, et les hétérozygotes se trouvent au milieu (figure 1a). Pour certains marqueurs, on obtient un nuage de point où il est impossible de faire la différence entre les différents génotypes (figure 1b). Le SNP n'est pas exploitable, il n'est donc pas conservé. Dans le cas où la PCR a mal fonctionné, l'amplicon est présent en faible quantité, et l'intensité de détection est faible. Lorsque cette intensité est inférieure

à un certain seuil prédéfini, le logiciel n'attribue pas de génotype. Il faut alors vérifier manuellement ces points, et leurs attribuer un génotype lorsque le ou les pic(s) représentant les allèles sont présents et qu'il n'y a aucun doute possible. A la fin de cette analyse, les résultats sont générés dans un tableau excel, avec le génotype de chaque individu pour tous les marqueurs.

3. Résultats

1.1. Cartographie des tilleuls

Cartographie des arbres :

- Echelle du bassin versant du Ciron

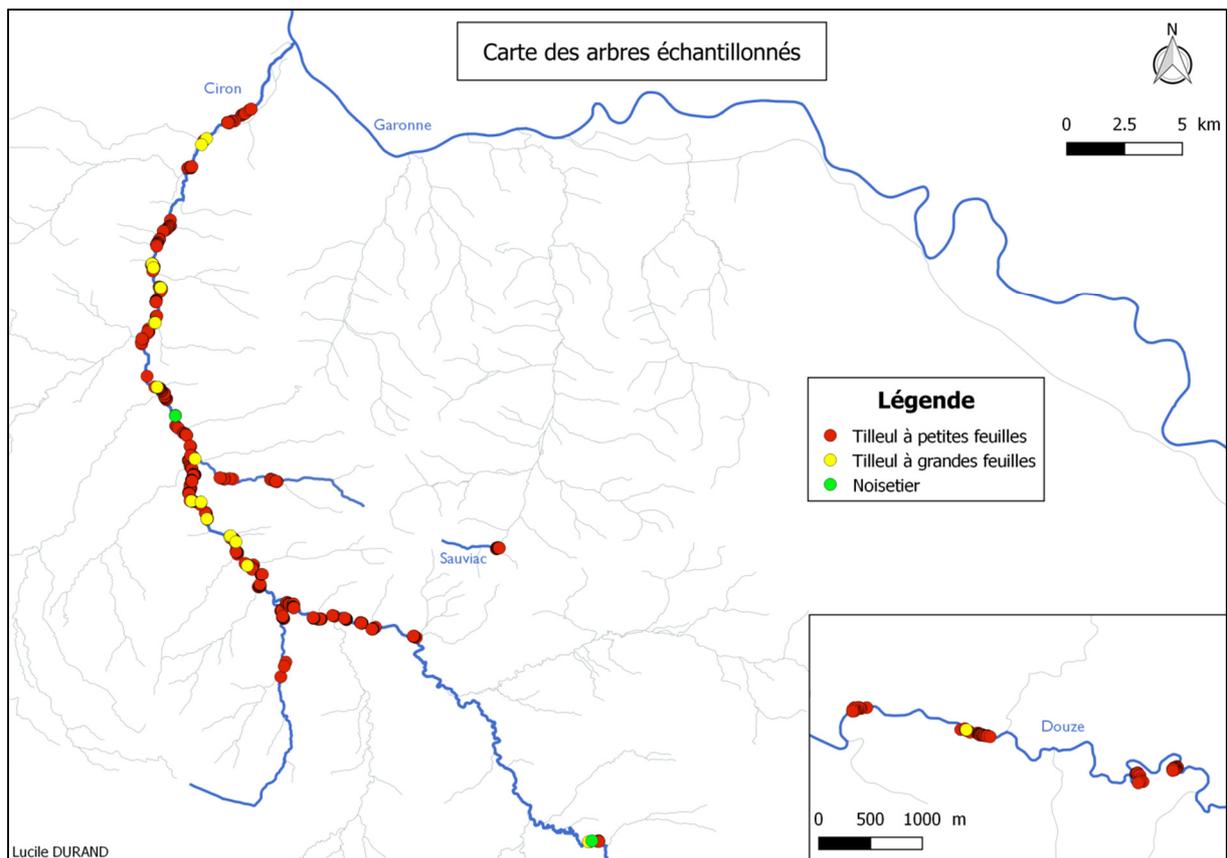


Figure 1 : carte d'échantillonnage des tilleuls dans la vallée du Ciron et de la Douze.

La distribution des tilleuls dans la zone d'étude est de façon générale assez limitée (Figure 1). Le bilan des prospections indique que les tilleuls s'établissent préférentiellement le long des cours d'eau. L'absence de tilleul dans la moitié (32/64) des transects étudiés nous montre qu'il s'établit seulement le long de quelques cours d'eau, comme le Ciron ainsi que quelques-uns de ses affluents, mais uniquement à proximité du Ciron (<2km), ainsi que sur un segment des rives de la Douze, et de façon

très localisée près du ruisseau de Sauviac. En aval de la vallée du Ciron, les tilleuls sont répartis de façon continue: ils sont présents depuis l'embouchure jusqu'à environ 4,2 km en amont. A Roquefort, les tilleuls sont présents sur environ quatre km seulement, à l'endroit où se trouvent des gorges calcaires très similaires à celles existant le long du Ciron de Préchac à Villandraut, sur environ 10 km. D'après les prospections basées sur nos connaissances de l'écologie des tilleuls et sur les absences confirmées sur le terrain, deux populations sont isolées: Sauviac, et Castelnau. Les populations sont néanmoins interrompues au voisinage des villages et dans les secteurs dont l'environnement est fortement dégradé. Des zones a priori favorables comme le Mas d'Agenais et le château de Benaugé sont dépourvues de tilleuls.

- Echelle de la parcelle :

La surface échantillonnée est d'environ 6 hectares (figure 2). Au total, 539 arbres ont été échantillonnés : 148 charmes, 347 *T. cordata*, 23 *T. platyphyllos*, et 21 tilleuls de bord de routes non déterminés (voir figure 2).

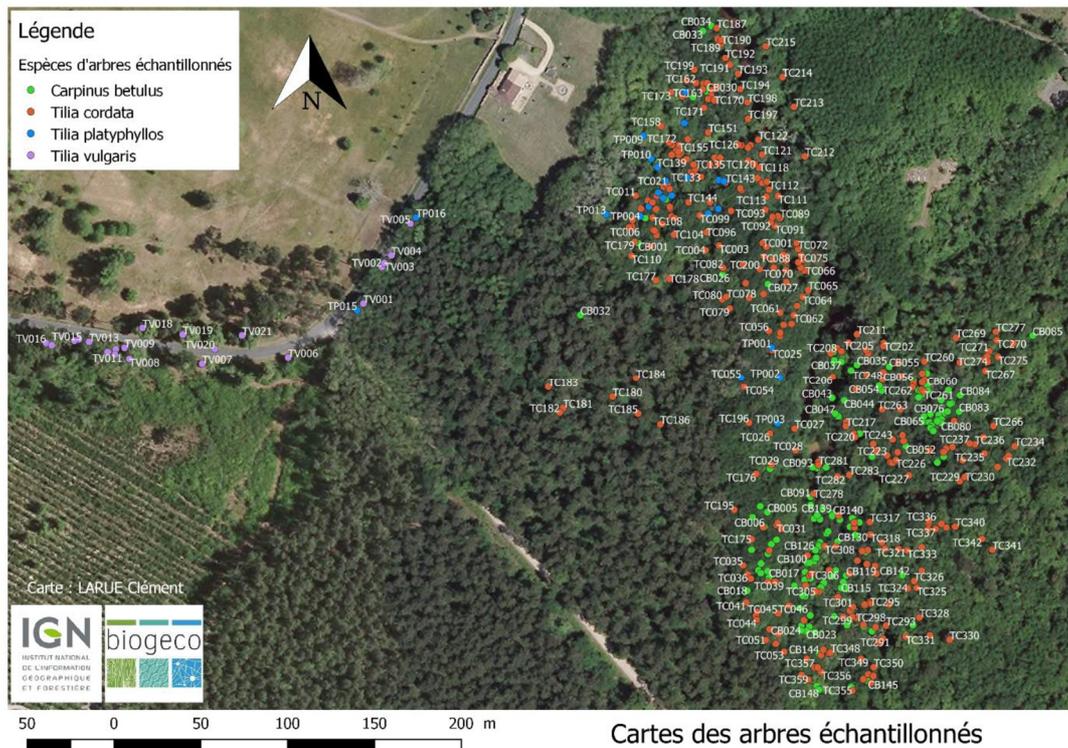


Figure 2 : Carte des arbres échantillonnés dans la parcelle d'étude de la vallée du Ciron. (point orange : *Tilia cordata* ; Point bleu : *T. platyphyllos* ; Point vert : *Carpinus betulus*)

Tous les *T. platyphyllos* cartographiés se trouvent dans le nord-ouest de la zone d'étude, sur la rive gauche du Ciron, à proximité du jardin d'une maison. Les tilleuls du bord de route se trouvent soit dans le parc du château de Cazeneuve, soit le long de la route D9, qui passe à proximité de la parcelle étudiée. Au nord-est de la zone d'étude, l'habitat est très dégradé et seuls des robiniers faux-acacias poussent.

1.2. Différenciation entre tilleul à petites feuilles et à grandes feuilles

Les marqueurs ont été sélectionnés à partir du fichier ddRAD-Seq des 15 tilleuls provenant du sud-ouest de la France. Les marqueurs retenus sont des SNP variables au sein des cinq *T. cordata*. Sur les 174 locus répondant à ce critère, il a été possible d'obtenir trois plex de 40, 38 et 34 SNP, soit un total de 112 marqueurs. Ces trois multiplex de SNP ont été testés sur un échantillon de 45 tilleuls composé des 15 individus séquencés et de 30 individus du Ciron nouvellement extraits. Sur les 112 marqueurs, le génotype de 46 marqueurs n'a pu être utilisé : 6 SNP n'ont pas pu être amplifiés et 35 étaient monomorphes. Sur les 66 marqueurs exploitables, 15 ont nécessité une intervention manuelle. Avec ces trois multiplex, il n'est donc pas possible de faire la différence entre *T. platyphyllos* et les hybrides. Suite à ces résultats deux nouveaux multiplex de 40 SNP ont été réalisés. Les 55 marqueurs polymorphes dans les multiplex précédents ont été conservés et sept nouveaux marqueurs polymorphes ont été ajoutés. En outre, 19 marqueurs diagnostics ont été choisis pour compléter ces deux multiplex : sur la base des données rad-seq, neuf marqueurs devaient permettre d'identifier les *T. platyphyllos*, sept marqueurs les *T. cordata* et trois marqueurs les *T. vulgaris*.

Au total, 380 tilleuls ont été génotypés à l'aide 80 marqueurs. Sur l'ACP (figure 3) réalisée avec ces SNP, on observe deux groupes : les *T. platyphyllos* sont à droite de l'axe 1 et les *T. cordata* sont à gauche. Les trois *T. vulgaris*, dont le statut a été confirmé pendant l'étude des données ddRAD-Seq, se trouvent regroupés entre ces deux nuages de points. Les tilleuls du bord de route, qui n'avaient pas été identifiés, se trouvent soit avec les *T. cordata* soit avec les *T. platyphyllos*, mais aucun n'est présent à proximité des trois hybrides de référence. Deux erreurs d'identification ont été identifiées. Un arbre identifié sur le terrain comme *T. cordata* à l'aide des caractères morphologiques des bourgeons (observation hivernale) était regroupé avec les *T. platyphyllos* grâce à l'étude génétique ; de même, un arbre identifié comme *T. platyphyllos* était regroupé avec les *T. cordata*.

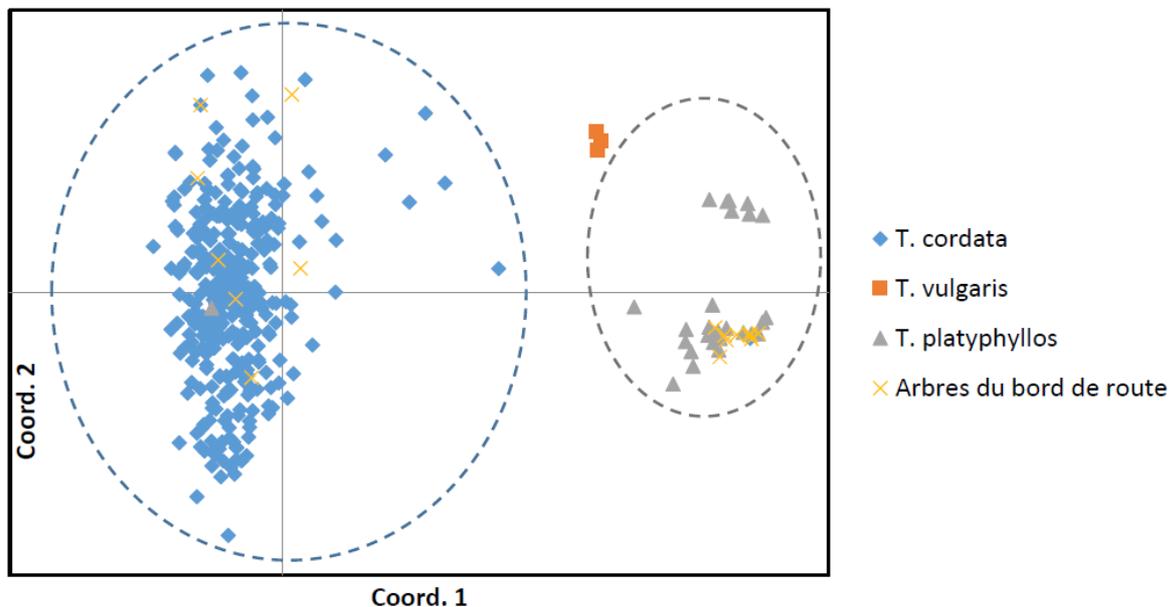


Figure 3 : ACP réalisée avec le génotype de 381 tilleuls pour 52 SNP.

1.3. Structuration de la diversité génétique

Nous avons analysé la structure génétique à deux échelle : le bassin versant et la parcelle.

1.1.1. Structuration à l'échelle du bassin versant

Les résultats de l'analyse du logiciel STRUCTURE montre que le nombre de populations K le plus probable est K=4. La plupart des individus du Ciron ont affectés à un même cluster, ceux de Roquefort à deux clusters, et ceux de Sauviac à un quatrième cluster (Figure 4).

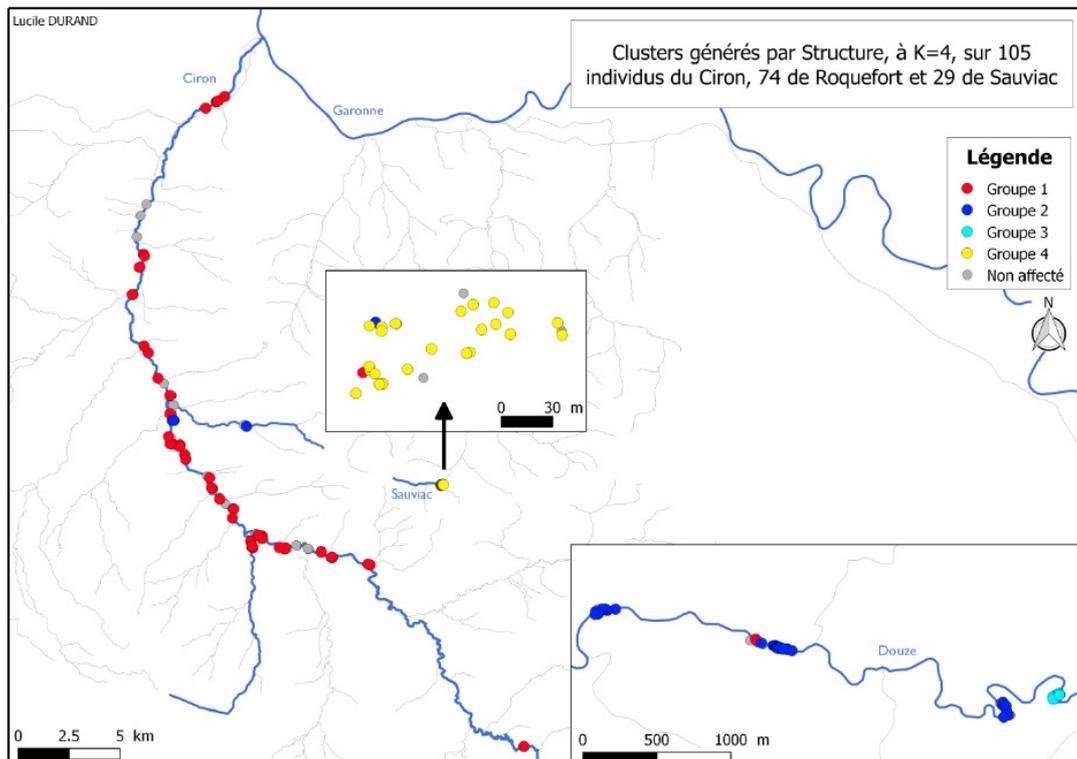


Figure 4: Clusters générés par le logiciel Structure, à K=4 (seuil d'affectation: 87,5%)

Les résultats des analyses faites avec le logiciel SPAGeDi montrent une structure génétique spatiale (SGS) à toutes les échelles (Figure 5 a, c, g). Pour la population de Sauviac la SGS est significative sur environ 25m, pour la population de Roquefort sur environ 230 m, et pour la population du Ciron sur environ 1100m. La statistique S_p est égale à 0,017 pour Sauviac, 0,021 pour Roquefort et seulement 0,005 pour la population du Ciron dans son ensemble. Afin de pouvoir comparer ces diverses SGS à des échelles équivalentes, des sous-échantillons de la population du Ciron ont été analysés : à La Flotte pour une comparaison de la SGS avec celle de Sauviac (Figure 5b) ainsi que les zones autour du moulin de Caussariou, du château Cazeneuve, et du château d'Illon pour des comparaisons avec Roquefort (Figure 5 d, e, f). A La Flotte, la SGS est significative sur environ 50 m et la statistique S_p est de 0,038. Pour les zones comparables à Roquefort leur SGS s'étend entre 85 m et 240m et leur statistique S_p entre 0,008 et 0,016.

Les SGS et statistiques S_p à Sauviac et à La Flotte peuvent être comparées avec une troisième zone située sur le Ciron, analysée par Larue (2017). Cette parcelle d'environ 300m de long présente une SGS significative jusqu'à 75m et une statistique S_p de 0,03. Ces valeurs sont similaires à celles trouvées à Sauviac et à La Flotte.

J'ai aussi pu comparer mes résultats avec ceux obtenus sur le hêtre dans la même zone d'étude (Ouayjan, 2017). Chez cette espèce, sur une zone d'environ 1 km, la SGS était significative sur 410 m (à comparer à 85m, 230 m et 240 m chez le tilleul à petites feuilles pour des zones d'étendue comparable) et la statistique S_p a été estimée à 0,018(contre 0,008, 0,016et 0,021).

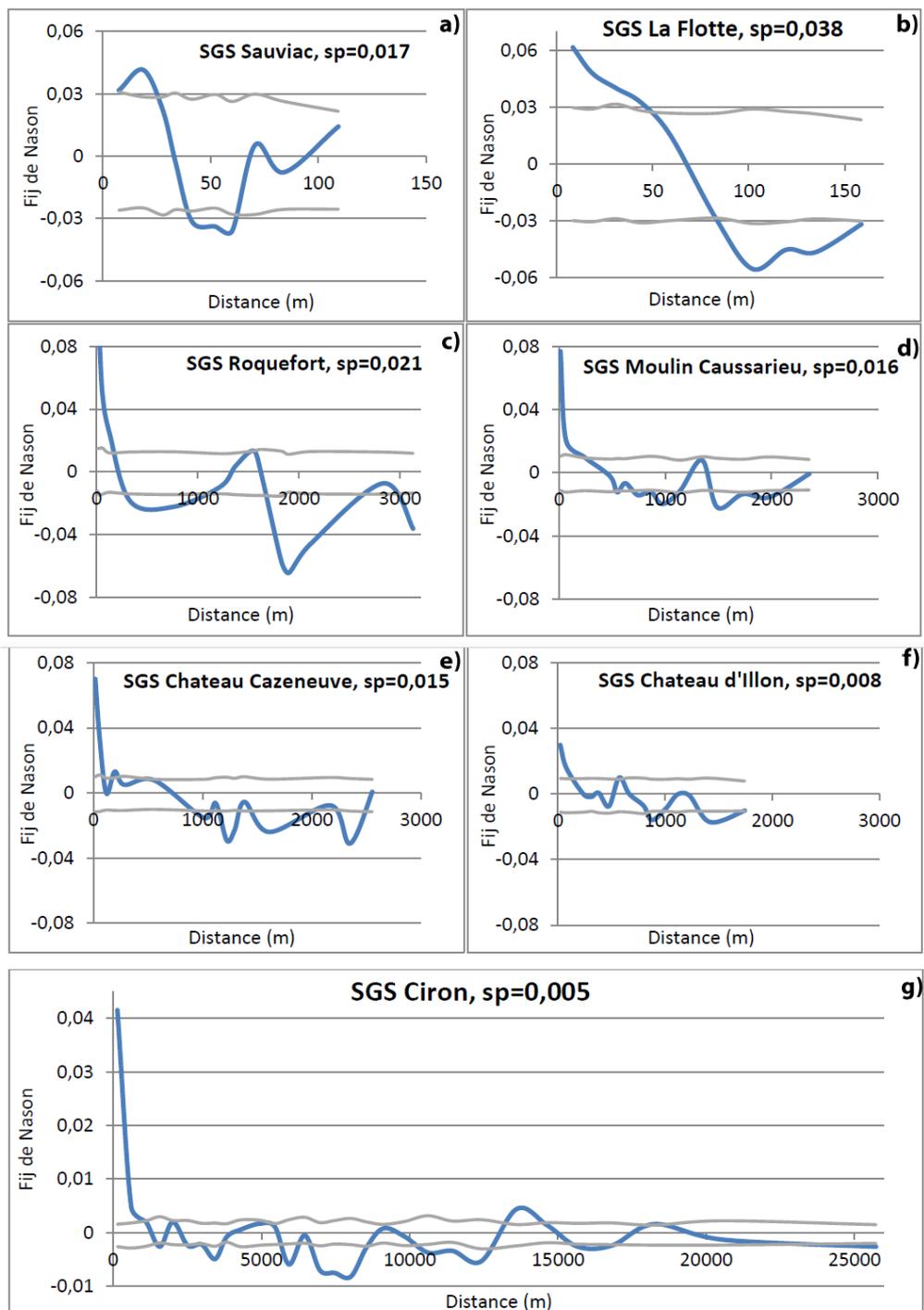


Figure 5: Structuration génétique spatiale du tilleul à petites feuilles à différentes échelles dans la zone d'étude

1.1.2. Structuration à l'échelle de la parcelle

L'étude de la structure génétique a été réalisée sur 321 *T. cordata* : tous les *T. platyphyllos* et les *T. cordata* échantillonnés en bord de route ont été éliminés. De plus, seule la plus grande des deux copies clonales a été conservée. Pour cette étude, 14 locus supplémentaires ont été supprimés : deux marqueurs pour lesquels il manquait plus de 30 génotypes chez les 321 *T. cordata*, trois marqueurs devenus monomorphes une fois les individus de *T. platyphyllos* enlevés, et neuf marqueurs très peu variables (fréquence de l'allèle le plus rare < 0,003). Au total, j'ai pu utiliser 48 SNP pour l'étude de la SGS chez *T. cordata*. Les résultats indiquent que la population de tilleul est fortement structurée dans les classes de distances les plus faibles (figure 6), cette structuration diminue ensuite rapidement mais reste significative jusqu'à une distance de 75 m, et finit par chuter après 225 m. La structure génétique spatiale diminue linéairement avec le logarithme de la distance ($r^2 = 0,89$). La statistique S_p est de 0.030.

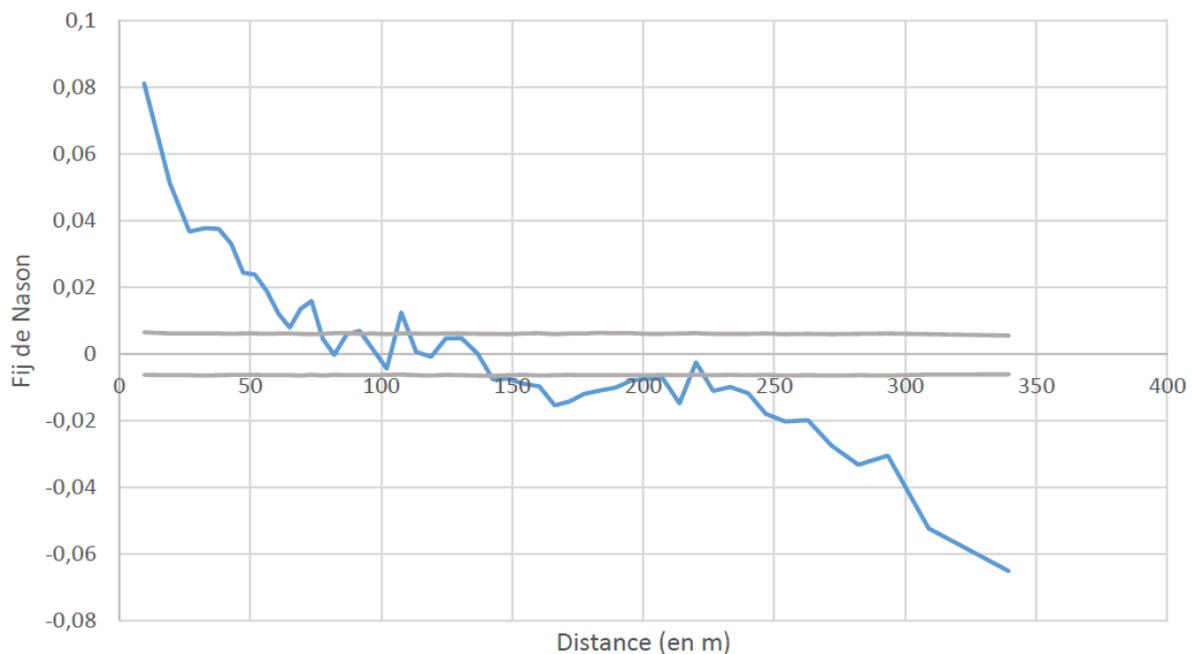


Figure 6 : Structuration génétique des *T. cordata* de la parcelle d'étude.

Il faut noter la découverte de 18 clones (=genets) parmi les *T. cordata*, chacun représenté par deux copies (ramets). Les ramets appartenant à un même clone sont espacés d'une distance comprise entre 0,7 m et 309 m. La majorité de ces ramets (10 sur 18) sont séparés d'une distance inférieure à 5 m. A contrario, cinq paires de ramets appartenant à un même clone sont séparés plus de 100 m. A noter aussi que, sur les 26 cépées séparées de moins d'un mètre, seul deux appartiennent à un même clone.

4. Conclusion

La distribution des tilleuls dans la zone d'étude est assez localisée, conformément à ce que l'on attend en marge chaude d'une aire de distribution (Hampe & Petit, 2005). Pour établir la distribution des tilleuls, face aux incertitudes sur les facteurs écologiques déterminant sa présence, les prospections ont été élargies à des sites a priori moins favorables ou pour lesquels il était difficile de définir le statut de forêt ancienne avec les cartes disponibles. De fait, les tilleuls n'ont été trouvés que dans seulement la moitié des transects visités. Un autre paramètre à considérer pour rechercher les tilleuls pourrait être la présence des autres espèces d'arbres. En effet, la distribution du tilleul à petites feuilles semble proche de celle du hêtre, espèce présente également en marge de son aire de répartition, aux exigences écologiques assez précises (Ouayjan, 2017). Le hêtre est présent à Roquefort, le long du Ciron (quoique sur une zone plus réduite d'une dizaine de kilomètres) et à Sauviac.

Dans la zone d'étude, le tilleul à petites feuilles présente généralement une répartition plus continue et une abondance plus élevée que le tilleul à grandes feuilles. A certains endroits, le tilleul à grandes feuilles semble remplacer le tilleul à petites feuilles (Bagéran et queue de distribution aval). Ces zones sont caractérisées par une forêt plus dégradée.

L'identification de ces espèces de tilleuls, à partir de leurs caractères morphologiques, n'est pas toujours aisée. La plasticité des tilleuls est très importante (Pigott, 1991) : des arbres poussant à la lumière ou à l'ombre peuvent avoir des caractères très différents. Par exemple, les *T. cordata* du bord de route possédaient des bourgeons rouges de très grosses tailles, très différents des bourgeons des tilleuls qui poussaient dans la parcelle d'étude, à l'ombre des autres arbres. Toutefois, la pilosité des rameaux, caractéristique morphologique des *T. platyphyllos* (Rameau, 1989), est un caractère important pour l'identification de cette espèce en hiver : grâce à la présence/absence de ces poils il a été possible de distinguer les deux espèces de tilleuls en ne faisant que très peu d'erreurs.

Les trois *T. vulgaris* séquencés pour le ddRAD-Seq n'étaient pas des clones, puisqu'ils possédaient des génotypes multilocus différents. Bien que l'hybridation du *T. cordata* et de *T. platyphyllos* se produise dans la nature (Pigott, 1991 ; Wicksell & Christensen, 1999), aucun *T. vulgaris* n'a été détecté dans la population du Ciron. Plus généralement, l'autochtonie du *T. platyphyllos* y est incertaine : d'une part, peu d'individus sont présents, localisés dans une petite zone restreinte, et ils sont souvent de petite taille. Le gros *T. platyphyllos* sont souvent proche d'un jardin, et ils sont entourés de tilleuls plus jeune faisant penser à une même famille dans le cas de l'étude dans une parcelle.

L'hybridation et la polyploïdisation sont souvent associées à des phénomènes de ségrégation non mendélienne des gènes (Liu & Wendel, 2002). Ces phénomènes ont déjà été étudiés chez de nombreuses espèces de plantes (moutarde, blé, coton, tabac, riz...), et restent encore mal compris. Ils conduisent à la non-additivité des génomes parentaux dans les hybrides. Ainsi, les hybrides au lieu d'être hétérozygotes comme attendu sous l'hypothèse d'une ségrégation disomique, possèdent tantôt le génome d'un parent, tantôt celui de l'autre parent. Selon Liu & Wendel (2002), ces processus sont aléatoires et conduisent à des profils génétiques différents, rendant la prédiction des génomes des hybrides impossibles. Dans notre cas, ces phénomènes non mendéliens ne semblent pas aléatoires mais dirigés. Pour les marqueurs diagnostics, les trois hybrides ont le même génotype dans 96% des cas (Pour 457 marqueurs sur 477), mais ils ont le génotype d'un parent ou dans l'autre : les *T. vulgaris* ont dans 57% des cas le même génotype que *T. platyphyllos*, et dans 43% des cas le même que *T. cordata*.

Nous pensons que les tilleuls à grandes feuilles sont vraisemblablement introduits (propagation à partir d'arbres plantés en bord de route ou en limite de propriétés et recolonisant la forêt). Une explication possible est que le tilleul à grandes feuilles présente des exigences écologiques moins restreintes que le tilleul à petites feuilles, et qu'en présence d'un environnement plus dégradé, il est

favorisé. Une autre, non exclusive, est que le tilleul à grandes feuilles ait été plus fréquemment planté par l'homme et qu'il colonise plus vite les zones favorables après perturbation.

L'origine exotique possible du tilleul à grandes feuilles dans le secteur et sa répartition diffuse le long du Ciron soulève en tout cas une question pour le gestionnaire. Doit-il être considéré comme une espèce invasive? Et si oui, faut-il lutter contre lui pour favoriser les espèces autochtones, comme le tilleul à petites feuilles? Actuellement, le syndicat mixte d'aménagement des berges du Ciron lutte contre l'envahissement des rives par l'érable *negundo* ou le robinier faux-acacia, deux espèces d'origine nord-américaines présentes le long des rives du Ciron.

Les tilleuls possèdent des capacités de multiplication végétative, c'est-à-dire par reproduction asexuée. En conséquence, une recherche de clones a été effectuée. Dans 23 cas, les deux individus étaient séparés d'une faible distance (<13m). L'interprétation privilégiée est qu'ils dérivent par reproduction asexuée naturelle (sans intervention humaine directe). Dans un cas, les deux clones étaient distants de plus de 200 m au sein de la même population. Dans un tel cas, nous pensons qu'une intervention humaine est probable. Les individus échantillonnés dans le site en question sont localisés en lisière de forêt, et des habitations sont présentes à quelques centaines de mètres, rendant plausible cette hypothèse. Enfin, les deux individus possédant les deux homozygotes alternatifs ont été considérés comme ayant des génotypes proches mais issus d'événement sexués séparés. En effet, l'hypothèse alternative d'une contamination possible lors de la manipulation des échantillons en amont de l'extraction assortie d'une erreur de génotypage ou d'une double mutation des deux allèles au même locus semblant trop peu parcimonieuse. A la vue de l'ensemble de ces résultats, il apparaît utile, même dans le cas d'un échantillonnage non exhaustif avec une distance suffisante entre individus échantillonnés, de vérifier systématiquement l'existence de clones.

Deux populations ont pu être distinguées au sein de la zone d'étude: celle du Ciron et celle de Roquefort. On ne peut donc pas rejeter l'hypothèse que la vallée du Ciron est un ancien refuge glaciaire, mais on ne peut pas la confirmer non plus sur ces seuls éléments. Il faudrait pour cela d'autres informations, acquises soit par l'étude de charbons fossiles, soit en analysant un plus grand nombre de populations de cette espèce dans la région ou en France. Les deux populations isolées Castelnau et Sauviac sont les plus divergentes. Cela peut être expliqué par leur taille très réduite (effectifs de 15 et 30 individus, dont certains encore jeunes), qui aurait pu engendrer une dérive génétique marquée. La population de Castelnau se rapproche légèrement plus de la population du reste du Ciron que de Roquefort: son statut autochtone ne doit donc pas nécessairement être remis en cause pour expliquer cette forte divergence: un isolement même peu ancien aurait pu suffire pour une aussi petite population.

Une structuration génétique spatiale significative du tilleul à petites feuilles a été trouvée à toutes les échelles dans la zone étudiée. Cela tend à indiquer une origine naturelle de cette espèce et est compatible avec l'hypothèse de l'autochtonie de l'espèce. Néanmoins, pour la population de Sauviac il n'est pas certain que la population soit d'origine naturelle. En effet, cette population de petite taille et particulièrement isolée se trouve à proximité de ruines d'habitation et d'un ancien château laissant suggérer un jardin ornemental. De plus, des espèces sûrement plantées par l'homme sont présentes (dont le tilleul à grandes feuilles, qui est beaucoup plus abondant, le cerisier à grappes, etc.).

En comparant différentes zones à la même échelle, on retrouve des niveaux de structuration génétique similaire, avec toutefois une certaine variabilité, notamment pour la comparaison des sites de Sauviac et de La Flotte avec la parcelle étudiée par Larue (2017). Par contre, quand on compare des zones de taille différente, les valeurs de SGS et de la statistique S_p semble varier en fonction de l'échelle étudiée. La structuration reste significative sur des distances plus faibles pour des échantillonnages sur de petites superficies, ce qui paraît assez logique. A contrario, on trouve sur de petites surfaces des valeurs de S_p plus grandes. En théorie, la statistique S_p est définie comme étant une mesure

standardisée de la SGS, or on voit qu'elle est en fait différente selon l'échelle considérée. Il semblerait que quand elle est mesurée sur de petites distances, les valeurs soient surévaluées.

En ce qui concerne les comparaisons entre espèces, les valeurs de SGS et de statistique S_p mesurées sur le hêtre (Ouayjan, 2017) et sur le tilleul à petites feuilles dans des zones équivalentes se révèlent finalement peu comparables. En effet, l'étude sur le hêtre avait révélé la présence de deux clusters (identifiés à l'aide du logiciel STRUCTURE), impliquant une relation linéaire entre la SGS et l'apparement. Chez les tilleuls à petites feuilles du Ciron, une telle sous-structuration est absente, si l'on fait abstraction de la population de Castelnau très petite et très divergente. Un seul cluster implique une relation de nature logarithmique entre la SGS et l'apparement (Born *et al.*, 2008). Les processus expliquant la SGS chez ces deux espèces sont donc différents: pour le hêtre, le processus pourrait être surtout l'histoire de la population, avec une subdivision marquée et vraisemblablement ancienne de la population, alors que chez le tilleul à petites feuilles la SGS pourrait plutôt être expliquée par la dispersion limitée des gènes, via la dispersion du pollen et des graines, au sein d'une unique population. Ces hypothèses restent à tester, par exemple en remesurant la SGS du hêtre intra-cluster.

La structure génétique spatiale des tilleuls à l'intérieur de la population est assez importante. La statistique S_p est de 0,030 et est très proches de l'estimation trouvée chez le hêtre ($S_p = 0,028$) par Ouayjan (2014) dans le même site, mais la SGS est significative jusqu'à 180 m pour le hêtre contre seulement 75 m pour le tilleul. Cette forte SGS suggère une distance de dispersion limitée des gènes (Lafontaine & al, 2013 ; Hampe & al, 2010 ; Hardy & al, 2006). La distance de dispersion des gènes dépend de la distance de dispersion des graines et du pollen (Hampe & al, 2010 ; Hardy & al, 2006). Les graines de tilleuls sont assez lourdes et dispersées par le vent, leur distance de dispersion est donc *a priori* plutôt faible. La forte diminution de la SGS dans les premières classes de distances serait due à cette distance de dispersion limitée des graines, tandis que la diminution, plus faible et linéaire, sur les plus grandes distances serait due au pollen. Cette forte SGS est caractéristique des forêts naturelles et se retrouve chez de nombreuses espèces (Lafontaine, 2013 ; Hardy & al, 2006).

Certaines espèces, comme les tilleuls (Pigott, 1991) ou les chênes blancs (Bakker & al, 2001 ; Valbuena-Carabaña & al, 2008), lorsqu'elles sont exploitées en taillis, produisent des rejets de souches et forment des cépées qui peuvent atteindre de très grandes tailles. Les approches classiques en foresterie pour décrire un peuplement d'arbres poussant en cépées sont limitées. Les statistiques classiquement utilisées pour les décrire sont la surface terrière et le nombre de tiges par cépée. L'indice de diversité que nous proposons offre une alternative intéressante pour la caractérisation des cépées, car il n'est pas impacté par la surface terrière des arbres, et permet de comparer la structure de cépées de tailles variables. Avec le temps, les rejets peuvent se développer à une certaine distance de la souche d'origine, et il devient difficile d'estimer la taille et le nombre de clones. Dans la population du Ciron, aucun génotype de *T. cordata* n'a été détecté plus de deux fois. Ces clones étaient espacés d'une distance comprise entre 0,7 m et 309 m. La multiplication végétative par drageons ou par rejet de souches permet d'expliquer la majorité de ces clones, qui sont séparés d'une distance inférieure à 5 m. Mais cinq paires d'arbres ayant le même génotype multilocus étaient séparées de plus de 100 m. L'action de l'homme semble expliquer ce patron particulier. En effet, pour chaque clone, l'arbre le plus petit (et donc *a priori* le plus jeune) pousse à proximité d'une maison, tandis que le clone les plus gros poussent dans des zones facile d'accès, soit au bord de la route, soit le long du chemin bordant le Ciron. L'hypothèse privilégiée est donc une origine artificielle, avec récolte de plants de tilleuls facilement accessibles et transplantation côte à côte à des fins de reboisement.

Les résultats acquis fournissent de précieuses informations pour comprendre la dynamique des forêts. Sur le site d'étude du Ciron, les deux espèces de tilleuls ont été identifiées morphologiquement et génétiquement mais aucun n'hybride n'a été détecté. Les hybrides identifiés sur d'autres sites soulignent toutefois que la prédiction des génotypes des hybrides sur la base des génotypes des espèces parentales est loin d'être évidente et mérite des travaux plus poussés. La forte SGS du *T. cordata* confirme son origine naturelle, tandis que l'autochtonie du *T. platyphyllos* reste incertaine. Pour l'étudier, il sera nécessaire de développer des marqueurs polymorphes chez cette dernière espèce. Plusieurs clones, possédant le même génotype multilocus, ont été identifiés chez *T. cordata*, allant simple rejets de souches séparés de quelques mètres jusqu'à des cas de clones répartis sur plusieurs centaines de mètres. En transplantant certains arbres, l'homme a modifié la structuration génétique de *T. cordata* et introduit dans la population étudiée des génotypes « étrangers » modifiant le *pool* de gènes des arbres locaux. Ces observations concrètes, portant sur la présence ou absence des espèces et de leurs hybrides, leur statut autochone ou non, le caractère naturel ou artificiel des individus au sein de la population (issus de dispersion de graine ou propagation clonale), illustrent les avancées concrètes dans les connaissances qu'apportent ces approches génétiques mises au service de la conservation

Synthèse des applications de ces recherches

Le climat de la vallée du Ciron est :

- Différent avec les petites régions autour (Bordeaux, Agen, Mont de Marsan et Bayonne)
- La vallée connaît deux microclimats un en amont et un autre dans le secteur du vignoble du Sauternais
- Le climat à l'intérieur de la vallée est extrêmement hétérogène avec des gradients brutaux pour la température et l'humidité à l'échelle de centaines de mètres

La rivière et la structure du paysage (forêt feuillu, forêt conifère, milieu ouvert) influent le microclimat. Nous n'avons pas encore réussi à modéliser ce microclimat. Cette structuration à courte échelle demande la plus grande prudence dans les aménagements de la vallée tant que nous ne l'aurons pas modélisée ni comprise.

La dynamique de régénération du hêtre en vallée du Ciron ne semble pas limitée par le stade de germination, les pourcentages de germination de hêtre étant élevés quels que soient les conditions de canopées. Des pics importants de températures peuvent cependant altérer la dynamique de germination. Par contre, une sensibilité importante apparaît par rapport à la survie des plantules et à leur croissance, qui diminue avec les extrêmes de températures. Les événements climatiques extrêmes (gels tardifs, canicules, sécheresses...) sont donc susceptibles d'altérer les stades précoces de régénération du hêtre.

Le succès de régénération dépend du type de communauté dans laquelle le hêtre va s'implanter. Des communautés dominées par le lierre devraient être moins favorables à la régénération du hêtre du fait d'interactions allélopathiques négatives entre les pluviolévissivats de lierre et la germination du hêtre.

En ce qui concerne le type de canopée, la régénération du hêtre est avant tout facilitée par la canopée forestière, sans grande différence entre les différents types de forêts (pins, feuillus, mixtes). Ceci suggère que même dans un peuplement dégradé (pinède ou peuplement mixte), les potentialités de régénération du hêtre restent élevées, ce qui semble favorable à la restauration écologique des peuplements de hêtres détruits ces dernières décennies.

Les études génétiques confirment la très grande originalité des hêtres de la vallée du Ciron pour de nombreux points :

- Structuration géographique très forte dans la population
- Présence de deux groupes génétiques dont la répartition se structure
- Isolement génétique des hêtres du Ciron par rapport aux autres populations
- Flux de gènes faible, la distance de dispersion du pollen est très faible
- Croisement entre individus proches apparentés

Du fait de l'unicité au niveau européen de cette ressource et d'une fonction unique, nous avons un patrimoine exceptionnel.

Chaque reproducteur est géotypé et géolocalisé donc nous pouvons connaître les ressources génétiques récoltées pour des opérations de renforcement ou de transfert de la population. Il faut en

priorité récolter les faines dans le cœur de la hêtraie. A partir des résultats sur la régénération naturelle et en génétique, il faut renforcer la population à partir des extrémités.

La ressource génétique du robinier en Europe est relativement homogène. Elle se différencie par une clonalité plus forte en Europe. Toutefois, il a une bonne aptitude à se disperser par graines contrairement à ce qui est souvent énoncé. L'étude montre que le risque de dispersion du robinier est forte et même plus forte qu'attendu du fait de la dispersion par les graines.

Réflexion sur les perspectives des recherches sur le bassin versant du Ciron

Ce premier projet a permis d'initier un site atelier avec de nombreuses recherches multidisciplinaires. Les différents domaines de l'écologie produisent de nombreuses connaissances mais la société se les approprient lentement et difficilement. Il est donc nécessaire de développer les sciences économiques, humaines et sociales afin de développer un développement durable à l'échelle de ce territoire.

1. Sciences sociales:

De nombreuses questions sont adressées aux sciences humaines et sociales et humaines.

Ce territoire a été couvert par la forêt même au XVIII^{ème} siècle une grande forêt de pin avec de nombreux feuillus couvrait les deux tiers du bassin versant du Ciron contrairement aux régions environnantes qui étaient totalement déboisées. Une étude historique fine permettrait de comprendre les raisons qui ont permis le maintien d'un couvert forestier.

L'histoire récente de la vallée a montré de très forte opposition aux différents programmes de conservation et de restauration des écosystèmes et de la biodiversité. Ces freins pourraient être mieux compris avec des études en sciences politiques, en sociologie et en psychologie. Une des menaces est l'introduction des espèces exotiques. Cette menace n'est pas identifiée par la population locale donc il faut entreprendre un travail de compréhension du problème dans différents groupes sociaux : les forestiers, les jardiniers amateurs et les collectivités locales.

Aujourd'hui, le revenu des forestiers vient essentiellement du bois alors que la forêt rend de nombreux services écosystémiques. Une approche économique des différents socio-écosystèmes permettrait de mieux les rémunérer les gestionnaires.

2. Biodiversité

Aujourd'hui, la vallée du Ciron est un hot-spot de la biodiversité mais son inventaire est encore très incomplet. Il est nécessaire de continuer cet effort. Il doit porter sur l'inventaire des écosystèmes, des espèces et des ressources génétiques mais aussi sur les processus écologiques (sylvigénèse, continuité écologique, ...), les facteurs évolutifs (dispersions des gènes, dérive génétique, sélection naturelle), la dynamique de la biodiversité au cours du temps (évolution de la flore, dynamique de l'extension des hêtres...).

Il faut noter l'enjeu poisson qui est très important dans la vallée du Ciron et qui mériterait un travail important car nous avons de nombreux migrateur amphihalins, des espèces rares et des espèces endémiques.

3. Fonctionnement écophysologique de la feuille à la plante

Pour comprendre la situation très particulière du Ciron, il va falloir approfondir nos connaissances dans le fonctionnement écophysologiques des espèces donc acquérir plus de connaissances sur le milieu physique et biologique. Le travail doit viser le hêtre mais aussi toutes les espèces associées (végétaux, champignons, animaux, etc...).

4. Climat

Le climat de la vallée du Ciron est différent des régions naturelles l'entourant et il est très variable. Il faut maintenant pouvoir le modéliser et proposer des hypothèses pour comprendre cette variabilité et pouvoir agir pour préserver le socio-écosystèmes comme le vignoble du Sauternais ou des écosystèmes à très forte valeur patrimonial comme les peuplements de hêtre. Ce point est excessivement important pour pouvoir trouver des stratégies d'aménagement de la vallée respectueuse du climat.

5. Géologie et pédologie

Le fonctionnement hydrogéologique du bassin versant du Ciron semble original et pourrait expliquer en partie le microclimat local. De nombreuses modifications du fonctionnement de cet hydro-système sont intervenues ces dernières décennies : drainage, pompage agricole, fermeture des ouvrages hydroliques, etc... Elles ont certainement modifié le fonctionnement donc il est important de comprendre leurs impacts. Face aux changements climatiques et à une augmentation de la demande en eau, il va falloir mieux gérer cette ressource. Il y a un chantier de recherches à ouvrir.

La forêt de la vallée du Ciron est très ancienne, les processus de pédogénèse le sont aussi donc nous avons au beau modèle pour explorer le fonctionnement des sols forestiers.