



HAL
open science

Variabilité génétique des Chênes sessile et pédonculé estimée à l'aide de marqueurs morphologiques et moléculaires

Jean-Luc Dupouey, V. Fougère, Antoine Kremer

► **To cite this version:**

Jean-Luc Dupouey, V. Fougère, Antoine Kremer. Variabilité génétique des Chênes sessile et pédonculé estimée à l'aide de marqueurs morphologiques et moléculaires. *Revue forestière française*, 1990, 42 (2), pp.198-204. 10.4267/2042/26062 . hal-03425037

HAL Id: hal-03425037

<https://hal.science/hal-03425037>

Submitted on 10 Nov 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

VARIABILITÉ GÉNÉTIQUE DES CHÊNES SESSILE ET PÉDONCULÉ ESTIMÉE À L'AIDE DE MARQUEURS MORPHOLOGIQUES ET MOLÉCULAIRES

J.-L. DUPOUEY - V. FOUGÈRE - A. KREMER

POURQUOI ÉTUDIER LA VARIABILITÉ GÉNÉTIQUE DES CHÊNES ?

Il n'existe à l'heure actuelle que de rares informations sur la variabilité génétique des deux essences les plus importantes de France, le Chêne pédonculé et le Chêne sessile. Les connaissances relatives à cette variabilité font cruellement défaut à plusieurs égards :

— L'accroissement constant des régénérations artificielles, surtout en Chêne sessile, au détriment des régénérations naturelles aboutit à un besoin de plus en plus important de plants au niveau des pépinières. Compte tenu des irrégularités de fructification, on observe des transferts de glands sans que l'on soit en mesure d'apporter un contrôle génétique sur de tels transferts.

— Les dépérissements récents ont montré l'importance de la prise en compte de la variabilité génétique, en l'occurrence inter-spécifique, dans l'analyse de leurs causes (Becker, 1984 ; Becker et Lévy, 1983). À l'heure où la conservation des ressources génétiques est une préoccupation importante, la connaissance de la variabilité devrait permettre d'orienter le choix des peuplements à conserver. D'autant plus que les deux espèces sont présentes sur une vaste aire géographique, dans une large gamme de milieux et souvent en mélange.

— Les opérations de régénération naturelle peuvent introduire de la consanguinité à l'intérieur des régénérations, par autofécondation ou croisement entre apparentés. Son ampleur reste inconnue, et seule une étude de la variabilité génétique intra-peuplement peut permettre de la mesurer.

La présente contribution est un résumé des connaissances partielles sur la variabilité génétique à l'intérieur du complexe Chêne sessile-Chêne pédonculé, acquises à partir de marqueurs morphologiques et moléculaires.

LES MARQUEURS EMPLOYÉS

Marqueurs morphologiques

Les analyses morphologiques sont basées sur la mesure d'un grand nombre de caractères quantitatifs et qualitatifs des feuilles et infrutescences. Différents protocoles de mesure sont proposés par les auteurs (Olsson, 1975a ; Kissling, 1980 ; Dupouey, 1983, Rushton, 1983 ; Grandjean et Sigaud, 1987). Il faut distinguer deux types d'observations : celles faites sur des jeunes plants élevés en plantations comparatives et qui donnent directement une information génétique, et celles effectuées *in situ* sur des échantillons prélevés en forêt et qui sont donc aussi dépendantes de l'environnement.

Marqueurs enzymatiques

Les marqueurs utilisés sont les isozymes. Les isozymes sont des formes multiples d'enzymes ayant entre elles des différences déterminées génétiquement dans leur structure primaire et présentant la même spécificité enzymatique. On les identifie par leurs vitesses de migration différentes sous l'effet d'un champ électrique dans un gel d'amidon (technique d'électrophorèse).

Les distances de migration ne permettent de révéler que des différences de charge et non pas des différences dans la structure primaire de l'enzyme. On estime généralement que l'électrophorèse ne permet de révéler qu'un tiers environ de la variabilité existante au niveau de la structure primaire de l'enzyme. Dans le genre *Quercus*, plusieurs études ont été faites récemment sur le polymorphisme enzymatique (Yacine et Lumaret, 1988 ; Olsson, 1975b ; Manos et Fairbrothers, 1987 ; Guttman et Weigt, 1989). Douze systèmes enzymatiques, soit treize loci sont actuellement analysés en routine (Fougère, 1988 ; Zanetto, 1989).

Ces deux types de marqueurs sont complémentaires à plusieurs égards :

- *Mesures et prélèvements*

Les analyses électrophorétiques nécessitent des techniques d'étude plus élaborées que la simple mesure de caractères morphologiques. Mais les bandes observées correspondent à l'expression des gènes et ne sont pas entachées d'effet du milieu. Ainsi, des prélèvements peuvent être faits directement en forêt et analysés. En toute rigueur, les caractères morphologiques, qui dépendent du milieu, doivent être mesurés en dispositif expérimental.

- *Contrôle génétique*

Les caractères morphologiques sont contrôlés par un grand nombre de gènes alors que les isozymes ne dépendent que de quelques loci, voire d'un seul, et obéissent à un déterminisme de type mendélien.

- *Origine de la variabilité révélée*

Les caractères morphologiques sont *a priori* plus sensibles à l'effet de la sélection du milieu. Les marqueurs isoenzymatiques sont, dans la plupart des cas étudiés, neutres vis-à-vis de la sélection et témoignent des facteurs dispersifs de l'évolution (dérive génétique, etc...).

RÉSULTATS ACQUIS AU NIVEAU INTER-SPÉCIFIQUE IDENTIFICATION DES ESPÈCES

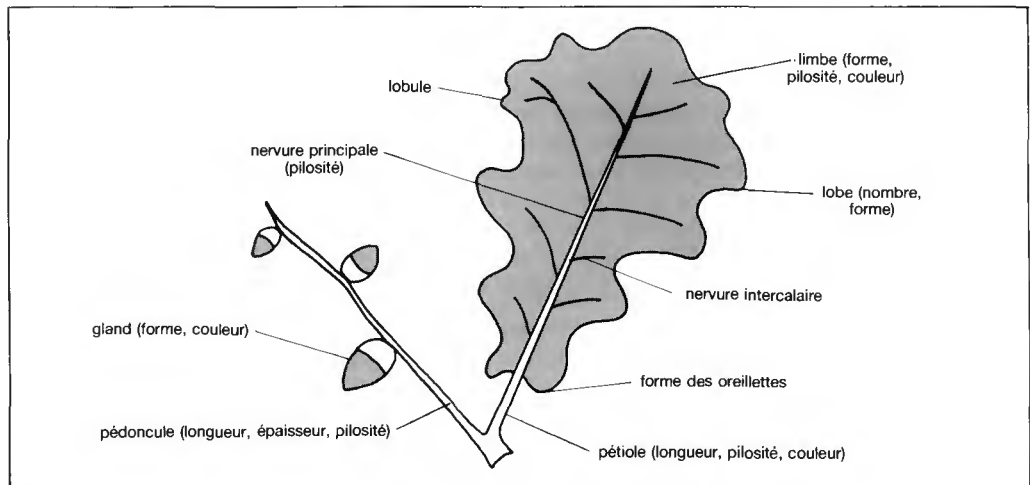
Marqueurs morphologiques

De nombreux caractères morphologiques permettent de séparer nettement Chênes pédonculés et sessiles au niveau de l'individu. Les analyses menées *in situ* dans différentes régions de France montrent que les meilleurs caractères sont, dans l'ordre : la longueur totale du pédoncule de l'infrutescence, le degré de développement des oreillettes situées à la base du limbe, la pilosité de la nervure principale et du limbe foliaire (le Chêne pédonculé étant toujours glabre), la longueur du pétiole des feuilles (figure 1, ci-dessous). Mais de nombreux caractères, souvent peu connus des praticiens, peuvent compléter les précédents : présence de nervures secondaires intercalaires (irriguant le creux des lobes et non leur apex) chez le Chêne pédonculé... À titre d'exemple, on peut citer les travaux de Kissling (1977, 1980), Dupouey (1983), Ruhston (1983).

On sait maintenant bien distinguer les espèces dès l'âge de un an (Fougère, 1988). Les analyses morphologiques de glands ont aussi montré la possibilité d'une identification fiable des lots de semences (Dupouey et Le Bouler, 1989).

Figure 1

PRINCIPAUX CARACTÈRES MORPHOLOGIQUES DISCRIMINANTS DES CHÊNES SESSILE ET PÉDONCULÉ



Marqueurs enzymatiques

Au plan qualitatif, les isozymes ne permettent pas de séparer les deux espèces. Les allèles présents chez l'une sont également présents chez l'autre sur les systèmes enzymatiques analysés à ce jour dans les deux espèces.

Cependant, au plan quantitatif, des différences de fréquences apparaissent. Pour certaines enzymes, les phosphatases acides par exemple, ces différences sont constantes quelles que soient les forêts considérées.

L'absence de différences qualitatives (présence spécifique d'un allèle à fréquence élevée au sein d'une espèce) a également été observée dans la section *Erythrobalanus* du genre *Quercus* (Manos et Fairbrothers, 1987 ; Guttman et Weigt, 1989).

IMPORTANCE DE L'HYBRIDATION

Ni la morphologie ni les études enzymatiques ne permettent encore de donner une réponse définitive à cette question : la morphologie n'est pas l'expression directe des gènes et on n'a pas encore trouvé d'allèle spécifique de l'une ou l'autre espèce. Mais toutes deux apportent des éléments de réponse indirects.

Toutes les études morphologiques réalisées montrent la **faible fréquence des individus intermédiaires entre les deux espèces (moins de 5 %)**. Mais **l'appartenance à l'une ou l'autre espèce des individus ne peut être déterminée qu'à partir de l'observation de plusieurs variables et à l'aide d'analyses statistiques rigoureuses** (Dupouey, 1983 ; Grandjean et Sigaud, 1987). On peut attribuer en partie au non respect de ces deux conditions certaines observations de populations entièrement « hybrides ».

Deux résultats issus de l'étude enzymatique vont dans le même sens (Fougère, 1988) :

— les distances génétiques entre populations d'une même espèce sont plus faibles que celles entre populations appartenant à des espèces différentes (comparaison des tableaux 1.1 et 1.2. avec 1.3, page 202) ;

— les distances génétiques entre populations pédonculée et sessile d'une même région sont relativement constantes quelle que soit la région considérée (éléments diagonaux du tableau 1.3). Tout se passe comme si l'hybridation n'avait joué qu'un rôle mineur dans l'évolution des deux espèces.

L'échantillon réduit de populations (cinq de chaque espèce) et le nombre limité de loci (trois) sur lesquels sont basés ces résultats ne permettent pas de tirer des conclusions générales sur la variabilité génétique existant dans le complexe Chêne sessile-Chêne pédonculé.

Ces observations sont enfin corroborées par les résultats des croisements contrôlés effectués entre les deux espèces (Dengler, 1941 ; Rushton, 1977).

AU NIVEAU INTRA-SPÉCIFIQUE

Marqueurs morphologiques

Les données relatives à la variabilité intra-spécifique sont extrêmement rares, de par l'absence de dispositif de comparaison de provenances. Les résultats présentés ici proviennent de l'étude d'une collection récente de provenances faite à l'initiative de l'Office national des Forêts et de l'Institut national de la Recherche agronomique.

Cette étude, menée sur le Chêne rouvre en plantation comparative, montre une très forte différenciation de la morphologie foliaire pour différentes origines géographiques européennes. On trouve comme principaux caractères discriminants : le degré d'indentation de la feuille, son élongation et sa taille générale. Il est à noter que les mêmes caractères ont été observés pour le Chêne rouge (Jung-Muller, 1987) et le Chêne vert (Afzal-Rafii, 1988). Mais ces différences génétiques entre populations ne sont pas liées à leur situation géographique. Cependant, l'étude ne portait que sur un échantillon partiel de douze populations issues principalement de l'Ouest de la France (Dupouey, données non publiées).

Par contre, de nombreuses études faites *in situ* indiquent l'existence d'une **liaison nette entre morphologie des arbres et type de station dans lequel ils se trouvent** : Grandjean et Sigaud (1987), Kissling (1983)... Ainsi, les caractères morphologiques d'un Chêne pédonculé (longueur du pédoncule, développement des oreillettes...) sont d'autant plus typiques de l'espèce que l'arbre pousse dans un milieu caractéristique de cette espèce (richesse minérale élevée, alimen-

Tableau I

**Distances génétiques (*) entre populations
de Chêne pédonculé et sessile**

1. Distances entre populations de Chêne sessile L.

	A	B	C	D	E
A	0				
B	.11	0			
C	.08	.11	0		
D	.17	.18	.10	0	
E	.09	.15	.13	.17	0

2. Distances entre populations de Chêne pédonculé

	A	B	C	D	E
A	0				
B	.05	0			
C	.10	.13	0		
D	.05	.06	.15	0	
E	.06	.11	.07	.10	0

3. Distances entre populations des deux espèces. P : Chêne pédonculé, S : Chêne sessile

P \ S	A	B	C	D	E
	A	.23	.24	.25	.27
B	.26	.27	.28	.29	.22
C	.19	.15	.22	.27	.20
D	.28	.28	.29	.30	.24
E	.20	.19	.23	.25	.18

(*) Les différences génétiques entre populations mises en évidence par l'électrophorèse peuvent être évaluées par le calcul de distances génétiques. On utilise ici la distance de Grégorius (Lefort-Buson et de Vienne, 1985), basée sur les différences de fréquences alléliques entre les deux populations.

Les distances ont été calculées entre dix populations (cinq pédonculés et cinq sessiles), échantillonnées dans cinq régions géographiques :

- A : Vallée de la Saône
- B : Champagne humide
- C : Plateau de Langres
- D : Piémont pyrénéen
- E : Basse-Saxe (Allemagne)

A l'intérieur de chaque région, deux peuplements classés ont été retenus, chaque peuplement représentant l'une des deux espèces. Les distances génétiques ont été calculées en considérant les deux espèces séparément (1 et 2) et en considérant les deux espèces ensemble (3).

tation en eau constante). Les rares individus morphologiquement intermédiaires ne se rencontrent que dans les milieux neutres et mésophiles, là où les deux espèces cohabitent. Il semble donc exister une forte différenciation des populations en fonction du milieu.

Marqueurs enzymatiques

La variabilité d'origine génétique observée à partir des isozymes est beaucoup plus faible entre les différentes origines géographiques qu'entre les deux espèces : la différenciation géographique semble donc ne représenter que peu de chose vis-à-vis de la spéciation (Fougère, 1988). On observe aussi que **les distances entre populations de Chêne sessile sont en moyenne plus élevées que celles entre populations de Chêne pédonculé** (comparaison des tableaux 1.1 et 1.2).

Au niveau intra-peuplement, il faut noter que **la grande majorité de la variabilité génétique (plus de 80 %) se situe à l'intérieur des populations**. De plus, la conformité de la répartition des différents génotypes observés dans les populations à l'équilibre de Hardy-Weinberg permet d'affirmer qu'à l'intérieur des peuplements, les croisements se font au hasard.

La faible variabilité géographique des isozymes a été observée chez d'autres espèces de Fagacées [Châtaignier (Bonnetoi, 1984) et Hêtre (Comps et al., 1987)]. Elle n'est pas contradictoire avec la variabilité importante des marqueurs morphologiques. Ces résultats traduisent le fait que les deux types de marqueurs révèlent des facteurs différents de l'évolution des populations (sélection naturelle pour les caractères morphologiques, dérive génétique pour les isozymes). Les flux géniques importants (dispersion du pollen et des graines) permettent de maintenir une faible variabilité géographique pour les marqueurs peu sensibles à la sélection naturelle.

PERSPECTIVES ET DÉVELOPPEMENTS

Les recherches se poursuivent activement dans différentes directions :

— Mettre en œuvre d'autres marqueurs biochimiques (ADN chloroplastiques, polyphénols...) dans l'étude de la variabilité intra- et inter-spécifique.

— Préciser les structures génétiques intra-populations. En particulier par l'étude des flux géniques entre arbres (taux d'autofécondation, distance de dispersion du pollen...) lors des régénérations naturelles.

— Étendre l'étude de la variabilité intra-spécifique du Chêne sessile à un plus vaste échantillon de populations européennes, à l'aide des marqueurs morphologiques et enzymatiques. On recherchera en particulier les variations géographiques clinales.

— Confirmer par des plantations comparatives le rôle du milieu dans la différenciation intra-spécifique observée *in situ*.

J.-L. DUPOUEY
Laboratoire de Phytoécologie forestière
CENTRE DE RECHERCHES FORESTIÈRES (INRA)
CHAMPENOUX 54280 SEICHAMPS

A. KREMER, V. FOUGÈRE
Laboratoire d'Amélioration des Arbres forestiers
INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE
PIERROTON 33610 CESTAS

BIBLIOGRAPHIE

- AFZAL-RAFII (Z.). — Caractéristiques taxonomique, morphologique et isoenzymatique du complexe « Chêne vert ». — *Bulletin de la Société botanique de France*, vol. 135, n° 4/5, 1988, pp. 343-352.
- BECKER (M.). — À propos du dépérissement du Chêne : réflexion sur la place actuelle de cette espèce dans la forêt française. — *Revue géographique des Pyrénées et du Sud-Ouest*, vol. 55, n° 2, 1984, pp. 173-180.
- BECKER (M.), LÉVY (G.). — Le Dépérissement du Chêne. Les causes écologiques (exemple de la forêt de Tronçais) et premières conclusions. — *Revue forestière française*, vol. XXXV, n° 5, 1983, pp. 341-356.
- BONNEFOI (C.). — Étude du polymorphisme enzymatique des populations forestières de Châtaignier (*Castanea sativa* Miller). — Thèse de l'Université des Sciences et Techniques du Languedoc, Montpellier, 1984.
- COMPS (B.), BARRIÈRE (G.), MERZEAU (D.), LETOUZEY (J.). — La Variabilité alloenzymatique des hêtraies dans les sous-domaines médio- et eu-atlantique d'Europe. — *Canadian Journal of Forest Research*, vol. 17, 1987, pp. 1043-1049.
- DEGLER (A.). — Bericht über Kreuzungsversuche zwischen Trauben- und Stieleiche und zwischen europäischer und japanischer Lärche. — *Mitteilungen H.-Görling Akad. dt. Forstwiss.*, n° 1, 1941, pp. 87-109.
- DUPOUEY (J.-L.). — Analyse multivariable de quelques caractères morphologiques de populations de Chênes (*Quercus robur* L. et *Quercus petraea* (Matt.) Liebl.) du Hurepoix. — *Annales des Sciences forestières*, vol. 40, n° 3, 1983, pp. 265-282.
- DUPOUEY (J.-L.), LE BOULER (H.). — Discrimination morphologique des glands de Chênes sessile (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.) et pédonculé (*Quercus robur* L.). — *Annales des Sciences forestières*, vol. 46, 1989, pp. 187-194.
- FOUGÈRE (V.). — Variabilité électrophorétique et morphologique du Chêne sessile (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.) et du Chêne pédonculé (*Quercus robur* L.). — Université de Pau, INRA, 1988. — 53 p. + annexes (Mémoire de DEA).
- GRANDJEAN (G.), SIGAUD (P.). — Contribution à la taxonomie des chênes du Berry. — *Annales des Sciences forestières*, vol. 44, n° 1, 1987, pp. 35-66.
- GUTTMAN (S.I.), WEIGT (L.A.). — Electrophoretic evidence of relationships among *Quercus* (oaks) of eastern north America. — *Canadian Journal of Botany*, 67, 1989, pp. 339-351.
- JUNG-MULLER (B.). — Variabilité morphologique et électrophorétique des peuplements introduits de Chêne rouge (*Quercus rubra* L.). — INRA, 1987. — 87 p. + annexes (Mémoire ENITEF).
- KISSLING (P.). — Les chênaies du Jura central suisse. — *Mémoires de l'Institut fédéral de Recherches forestières*, vol. 59, n° 3, 1983, 437 p.
- KISSLING (P.). — Clef de détermination des chênes médioeuropéens (*Quercus* L.). — *Ber. Schweiz. Bot. Ges.*, vol. 90, n° 1/2, 1980, pp. 29-44.
- KISSLING (P.). — Les Poils des quatre espèces de Chênes du Jura (*Quercus pubescens*, *Quercus petraea*, *Quercus robur* et *Quercus cerris*). — *Ber. Schweiz. Bot. Ges.*, vol. 87, n° 1/2, 1977, pp. 1-18.
- LEFORT-BUSON (M.), VIENNE (D. de). — Les Distances génétiques. Estimations et applications. — Paris : Ed. INRA, 1985. — 184 p.
- MANOS (P.S.), FAIRBROTHERS (D.E.). — Allozyme variation in populations of six northeastern american red oaks (*Fagaceae* : *Quercus* subg. *Erythrobalanus*). — *Syst. Bot.*, 12, 1987, pp. 365-373.
- OLSSON (U.). — A morphological analysis of phenotypes in populations of *Quercus* (*Fagaceae* in Sweden). — *Bot. Not.*, 128, 1975 a, pp. 53-68.
- OLSSON (U.). — Peroxydase isozymes in *Quercus petraea* et *Quercus robur*. — *Bot. Not.*, 128, 1975 b, pp. 408-411.
- RUSHTON (B.S.). — Artificial hybridization between *Quercus robur* L. and *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. — *Watsonia*, 11, 1977, pp. 229-236.
- RUSHTON (B.S.). — An analysis of variation of leaf characters in *Quercus robur* L. and *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. populations samples from northern Ireland. — *Irish forestry*, vol. 40, n° 2, 1983, pp. 52-77.
- YACINE (A.), LUMARET (R.). — Distribution spatiale des génotypes dans une population de Chêne vert (*Quercus ilex* L.), flux génique et reproduction. — *Génét. Sév. Evol.*, 20, 1988, pp. 181-198.
- ZANETTO (A.). — Polymorphisme enzymatique du Chêne sessile en France. — Université de Pau ; INRA, 1989 (Mémoire de DEA).