



HAL
open science

Méthodes de caractérisation génétique des populations végétales - Aide à la construction d'un protocole de renforcement

Juliette Ducrettet, Sandrine Maurice, Laurence Meslin, Eric Imbert

► To cite this version:

Juliette Ducrettet, Sandrine Maurice, Laurence Meslin, Eric Imbert. Méthodes de caractérisation génétique des populations végétales - Aide à la construction d'un protocole de renforcement. [Rapport de recherche] Université de Montpellier (UM), FRA; Institut des Sciences de l'Evolution de Montpellier. 2022. hal-03722321

HAL Id: hal-03722321

<https://hal.science/hal-03722321>

Submitted on 29 Jul 2022

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.

Méthodes de caractérisation génétique des populations végétales

Aide à la construction d'un protocole
de renforcement sans biologie moléculaire

INTRODUCTION

2.

DÉPRESSION D'ALLOFECONDATION

COMMENT LA DÉTECTER ?

- Contexte
- Fiche pratique 2.1
- Fiche pratique 2.2

CONCLUSION & PERSPECTIVES

1.

DÉPRESSION DE CONSANGUINITÉ

COMMENT LA DÉTECTER ?

- Contexte
- Fiche pratique 1.1
- Fiche pratique 1.2
- Fiche pratique 1.3

3.

ADAPTATION LOCALE

COMMENT LA DÉTECTER ?

- Contexte
- Fiche pratique 3.1
- Fiche pratique 3.2

POUR ALLER PLUS LOIN & GLOSSAIRE

GUIDE

Conserver
les populations végétales
sauvages in situ

Contexte bref et fiches actions

Introduction

Les enjeux

Face aux risques démographiques et génétiques associés aux populations isolées et de petites tailles, le renforcement des populations, défini comme l'ajout d'individus au sein d'une population existante, peut être proposé comme action de gestion conservatoire. Lors d'un renforcement, les attendus sont un sauvetage démographique sur le court terme et génétique sur le moyen terme. En augmentant la taille de la population et sa densité, le renforcement freine les effets densité-dépendant (effet Allee), par exemple le manque d'accès aux partenaires sexuels. L'ajout d'individus réduit aussi le temps pendant lequel la population a une taille critique qui la rend vulnérable à l'extinction due à la stochasticité démographique. Enfin, en augmentant le nombre d'individus, on diminue l'importance de la dérive et ses conséquences sur l'érosion génétique et la dépression de consanguinité. En augmentant de plus la diversité génétique, on peut obtenir des effets immédiats (diminution de l'apparentement dans la population) et des effets

sur le moyen terme (augmentation de la capacité d'adaptation). Étant donné le contexte de changements environnementaux rapides, le potentiel adaptatif des populations devient crucial pour garantir leur persistance. Toutefois, les effets du renforcement varient en fonction du protocole, notamment le choix des populations sources. S'il existe d'autres populations que la population focale, il faut choisir si on utilise uniquement des individus de la population focale pour son renforcement ou si des individus d'autres populations sont ajoutés. La première solution réduit les risques démographiques, c'est-à-dire les effets Allee et le risque d'extinction lié à la stochasticité démographique. Cette solution de renforcement limite également l'importance de la dérive génétique dans la trajectoire évolutive de la population. En revanche, cela ne contribue pas à résoudre les effets passés de la dérive. Sans apport extérieur, la faible diversité génétique résultant d'érosion passée et ses conséquences négatives sur la valeur sélective (dépression consanguinité) et sur le potentiel d'adaptation vont se maintenir.

Un sauvetage démographique et génétique des populations | Un protocole de renforcement



Si on veut maximiser la diversité de la population renforcée, on prélève *a priori* des individus dans une population présentant de la diversité génétique ou étant différente de la population focale. Classiquement, l'évaluation de la diversité génétique comme celle de la distance génétique entre deux populations se fait à l'aide de marqueurs moléculaires. Néanmoins, certaines caractéristiques des populations peuvent servir d'indicateurs pour ces deux quantités. La taille démographique des populations est généralement corrélée à sa diversité génétique, mais cet indicateur est imprécis car la dérive est en fait liée à la taille efficace et non pas à la taille démographique. La taille efficace est le nombre d'individus qui vont contribuer à la prochaine génération, pondéré par l'importance de leur participation. Elle est déterminée par la fluctuation de la taille démographique des populations, la variance du nombre de descendants par individu, le sex-ratio et la présence de générations chevauchantes. En pratique, évaluer la taille efficace est complexe. Cependant, on connaît des traits d'histoire de vie qui favorisent un faible ratio taille efficace / taille démographique, par exemple un âge à la reproduction élevé. De fait, les traits d'histoire de vie impactent la démographie mais aussi la diversité génétique et sa structuration.

Synthèse de méthodologies permettant de caractériser la génétique des populations dans le contexte d'un renforcement sans utiliser d'outils de biologie moléculaire.

Contexte bref et fiches actions

GUIDE
Conserver
les populations végétales
sauvages in situ

Déterminer des risques

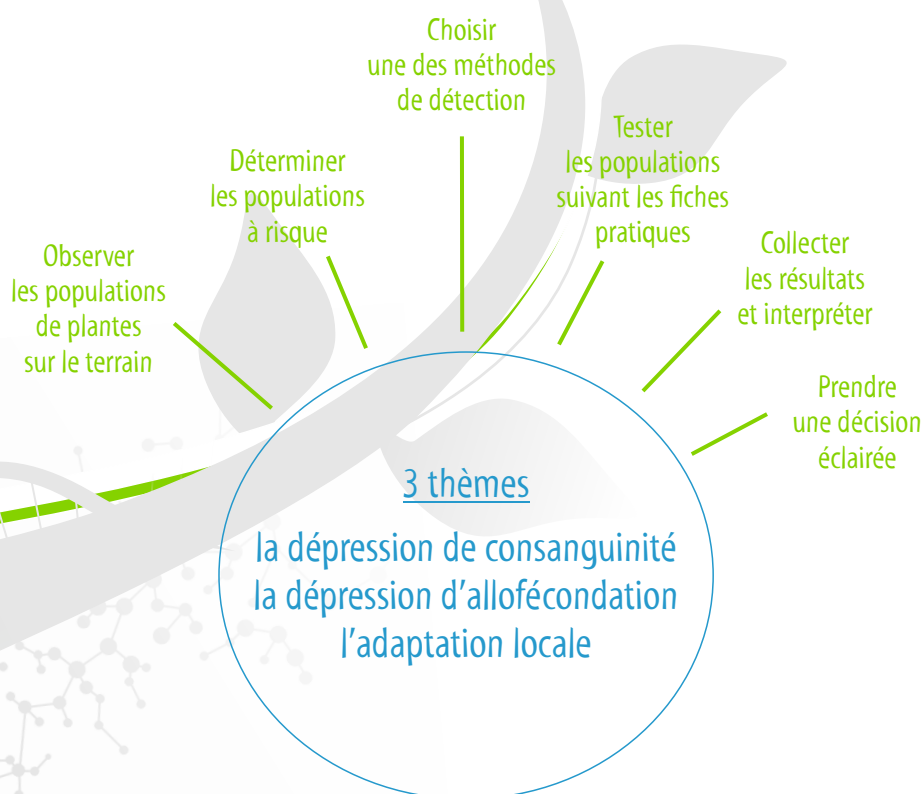
Formellement, le degré d'isolement d'une population est quantifié par des flux de gènes, donc son évaluation nécessite des méthodes reposant sur des marqueurs moléculaires neutres. Toutefois, des indices classiques de connectivité composés des distances géographiques, de la taille des populations (nombre d'individus), de la surface des habitats favorables et des éléments du paysage peuvent être utilisés pour qualifier l'isolement. L'isolement entre la population focale et la population source potentielle influence leur distance génétique. Choisir une population source très différente de la population focale favorise une forte augmentation de la diversité dans la population renforcée. Toutefois, des risques sont liés au mélange d'individus provenant de différentes populations, comme le risque d'intégrer des individus non adaptés (adaptation locale), ou le risque de mauvaise performance des individus issus d'un croisement d'individus venant de deux localités différentes (dépression d'alofécondation).

Une caractérisation génétique
des populations

Un choix des populations sources



Ce guide vise à synthétiser des méthodologies qui permettent de caractériser la génétique des populations dans le contexte interdisciplinaire d'un renforcement. Il se divise en trois thèmes : la dépression de consanguinité, la dépression d'alofécondation et l'adaptation locale. Chaque thème est abordé de la manière suivante : un contexte bref et des fiches actions. Ces méthodes ont été sélectionnées dans la littérature scientifique. Parmi les méthodes disponibles, elles ont été choisies car elles ne nécessitent pas l'utilisation de biologie moléculaire qui est perçue comme coûteuse et complexe à mettre en œuvre. La facilité de détection et d'interprétation des résultats est le critère déterminant pour choisir la méthode à mettre en place (voir figure page suivante).



Contexte bref et fiches actions

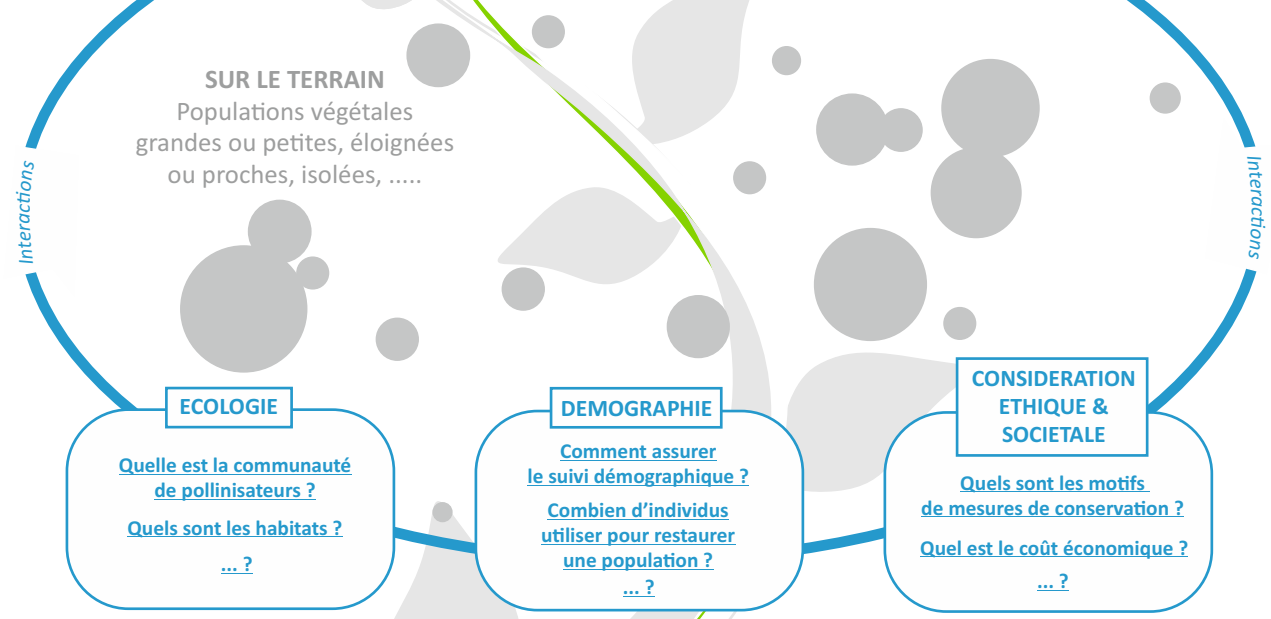
GUIDE

Conserv
les populations végétales
sauvages in situ

CONSTRUCTION D'UN PROTOCOLE DE RENFORCEMENT INTERDISCIPLINAIRE - Les apports de la caractérisation génétique des populations -

GENETIQUE DES POPULATIONS							
Que cherche t-on ?	Sur quels critères pré-déterminer les populations susceptibles d'être à risque ?	Comment tester les populations à risque ?	Estimation des méthodes			Bénéfices globaux	
			Fiabilité	Simplicité	Facilité de détection et d'interprétation des résultats	Coût	
1. Détecter LA DEPRESSION DE CONSANGUINITE	Taille des populations	Fiches pratiques	1.1	***	*	***	€€€
	Isolement		1.2	**	**	**	€€
			1.3	*	***	*	€
2. Détecter LA DEPRESSION D'ALLOFECONDATION	Différences de milieu	2.1	***	*	***	€€€	
	Séparation des populations depuis longtemps	2.2	**	*	**	€€	
3. Détecter L'ADAPTATION LOCALE	Différences de milieu	3.1	***	***	***	€€€	
	Taille des populations	3.2	*	**	**	€€	
	Flux de gènes entre populations						

Aide à la prise de décision éclairée
Méthodes fiables
Faible investissement économique
Tests simples pouvant être réalisés par du personnel non spécialisé
Ne nécessite pas d'équipements de biologie moléculaire



Contexte bref et fiches actions

GUIDE

Conserv
les populations végétales sauvages in situ

DEPRESSION DE CONSANGUINITÉ

Contexte

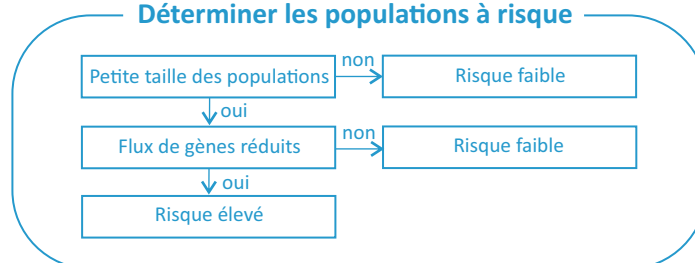


La dépression de consanguinité désigne la baisse de valeur sélective des descendants issus d'un croisement d'individus proches génétiquement par rapport aux descendants issus d'un croisement entre individus plus éloignés génétiquement. Une population ayant subi une dérive forte, que ce soit par des goulots d'étranglements successifs ou une taille réduite depuis plusieurs générations, aura potentiellement un polymorphisme génétique réduit. Ceci est accentué par l'isolement de la population, c'est-à-dire l'absence de flux de gènes avec d'autres populations. La dérive génétique conduit à la fixation d'allèles et parmi les allèles fixés, certains seront des allèles délétères car la force de la dérive dans les petites populations limite l'efficacité de la sélection. La fixation de ces allèles conduit à une diminution de la valeur sélective des individus, nommée dépression de consanguinité lorsqu'elle résulte de l'expression à l'état homozygote d'allèles délétères au moins partiellement récessifs, ce qui est le cas le plus fréquent. Cependant, cette dépression ne sera pas révélée par la comparaison de croisements au hasard et de croisements consanguins (au sens classique, par exemple avec des croisements en autofécondation ou entre individus issus des mêmes parents) réalisés en intra-population puisque les allèles sont fixés dans la population donc partagés par l'ensemble des individus indépendamment de leur apparentement. Sa mise en évidence nécessite de comparer plusieurs populations.

Comment détecter la dépression de consanguinité ?

1.

Déterminer les populations à risque



Si des marqueurs moléculaires sont disponibles, ils peuvent être utilisés pour estimer la diversité génétique (H_e) et l'isolement d'une population (F_{st}). Une population ayant subi une forte dérive (H_e faible, F_{st} fort) doit montrer une consanguinité plus importante et par conséquent, une dépression de consanguinité plus forte. On peut aussi utiliser des paramètres de connectivité combinant taille et distance géographique entre populations pour estimer la force de la dérive. En l'absence de marqueurs, la dépression de consanguinité peut être mise en évidence par une corrélation positive entre performance des individus et taille ou connectivité de la population (fiches pratiques 1.2 et 1.3).

Toutefois, la taille et la connectivité actuelles ne reflètent pas nécessairement l'histoire démographique d'une population donnée. Ainsi, une stratégie plus complète pour détecter la dépression de consanguinité due à la fixation d'allèles délétères récessifs consiste à comparer la performance de descendants issus de croisements à l'intérieur de cette population à la valeur sélective de descendants issus de croisements entre cette population et d'autres populations. En effet les autres populations souffriront peut-être aussi de dépression de consanguinité mais les locus ayant fixé des allèles délétères ne seront pas les mêmes selon les populations, et les croisements inter-populations permettront donc de masquer une partie des allèles délétères récessifs ou partiellement récessifs. Si la population focale souffre de dépression de consanguinité, on s'attend à une meilleure performance des descendants issus de croisements inter-populations (fiche pratique 1.1).

DEPRESSION DE CONSANGUINITÉ

Stratégie



Comparer les descendants issus de croisements intra et inter-populations *ex situ*

Collecter les graines dans la population à risque pour obtenir des plantes-mères et réaliser des croisements avec des pollens de différentes provenances



- pollens intra-pop. (population à risque)
- pollens inter-pop. proches
- pollens inter-pop. distantes

(Voir méthode détaillée page suivante)

EX SITU

Collecter les graines issues des croisements

Temps 1

Mesurer

Nombre de fruits
et nombre de graines
produits
Poids des graines

Temps 2

Faire germer les graines
et mesurer les plantes

Taux de germination
Croissance des individus
Survie à l'état végétatif
Succès de reproduction

Comparer les descendants 1^{ère} génération à différentes étapes de vie



Traçabilité continue des individus issus de croisements

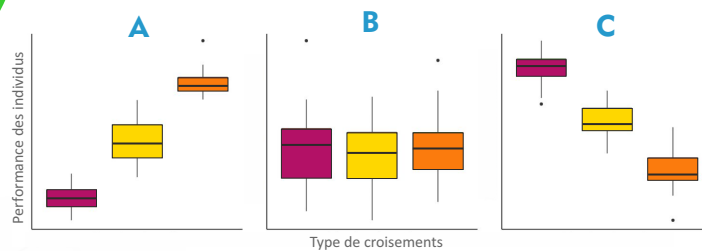
Analyses statistiques possibles

Test-t de Student / Modèles linéaires (ANOVA) ou généralisés (GLM)

Cas général : on peut comparer les valeurs sélectives des descendants issus de croisements intra ou inter-populations par test-t sur des échantillons appariés. On peut effectuer une ANOVA avec un effet famille grand-maternelle et un effet croisement (intra/inter).

Cas de nombreuses populations donneuses (n>5) : on peut réaliser une corrélation entre performance des croisements et distance géographique entre la population mère et les populations donneuses de pollens.

Résultats attendus



(A) Dépression de consanguinité : Une meilleure valeur sélective des descendants issus de croisements inter-populations indique que la population focale souffre de dépression de consanguinité.

(B et C) Absence de conclusion : **(B)** Une valeur sélective équivalente des descendants issus des différents croisements irait dans le sens d'une absence de dépression de consanguinité dans la population focale mais elle peut être due à une compensation avec de la dépression d'allofécondation (voir thème 2). **(C)** Une valeur sélective plus faible des descendants issus de croisements inter-populations indique une dépression d'allofécondation entre les populations concernées. Un tel résultat ne permet pas de conclure quant à l'absence ou la présence de dépression de consanguinité dans la population focale.

Temporalité Expérience à réaliser une seule fois.

Limites

La mise en évidence d'une différence entre traitements (type de croisements) dépend des conditions de culture : dans un environnement très favorable, il est possible que l'on ne détecte pas les différences entre individus. Par ailleurs, dépression de consanguinité et dépression d'allofécondation (voir fiche pratique 2.1) peuvent se compenser.

- Affre L and Thompson JD. 1999. Variation in self-fertility, inbreeding depression and levels of inbreeding in four *Cyclamen* species. *J Evol Biol.* 12:113–122.
- Ferdy J et al. 2001. Inbreeding depression in a rare deceptive orchid. *Canadian Journal of Botany.* 79: 1181–1188.
- Oakley CG and Winn AA. 2012. Effects of population size and isolation heterosis, mean fitness, and inbreeding depression in a perennial plant. *New phytologist.* 196: 261–270.
- Schurr L et al. 2019. Pollination insights for the conservation of a rare threatened plant species, *Astragalus tragacantha* (Fabaceae). *Biodiversity Conservation.* 28:1389–1409



Vigilance !

Le choix des individus participant à l'expérimentation doit être aléatoire dans chaque population, évitant de favoriser les plantes les plus robustes.

DEPRESSION DE CONSANGUINITÉ



Comment obtenir des plantes-mères de la population à risque ?

- Choisir au hasard 20 à 30 plantes dans la population à risque
- Collecter des graines sur chaque plante, chaque plante que l'on prélève sera la "grand-mère", on a donc 20 à 30 familles grand-maternelles.
- Semer les graines dans l'objectif d'obtenir 1 à 5 individus par famille grand-maternelle. Ce seront les plantes utilisées pour les croisements. Par famille, le nombre de plantes-mères dépendra du nombre de fleurs disponibles sur un même individu.
- Ne pas mélanger les graines issues des différentes plantes.
- Conserver la traçabilité des familles, c'est à dire l'ascendance grand-maternelle et maternelle.

Comment réaliser des croisements en *ex situ* ?

- Castrer, si possible, les individus qui seront utilisés comme receveur de pollens (nommé individu-mère). L'expérience est réalisable en l'absence d'un système d'autoincompatibilité et sans émasculature mais on perd de la puissance.
- Poser des filets sur les fleurs/individus mères pour éviter la pollinisation naturelle.
- Réaliser différents croisements pour chaque individu :
 - * Allofécondation intra-population : mélange de pollens issus de plusieurs individus de sa propre population.
 - * Allofécondation inter-population : mélange de pollens issus de plusieurs individus d'une autre population.

Essayer de faire un plan complet du point de vue des populations donneuses de pollens (par exemple population proche et population distante) mais les donneurs de pollens peuvent être pris au hasard dans chaque population. Une solution simple est de faire des mélanges de pollens par population et d'utiliser ces mélanges pour les pollinisations.

NB. Cette stratégie peut être adaptée avec des étapes en *in situ* et *ex situ* ou bien totalement en *in situ*.

Comment détecter la dépression de consanguinité ?

1.

Vigilance !

Les plantes doivent être choisies au hasard, évitant de favoriser les plus robustes, les plus accessibles etc.

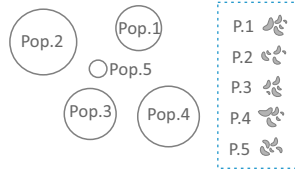
Ne pas compenser un faible nombre de familles en augmentant le nombre d'individus par famille car forte variation de la dépression de consanguinité entre familles.

DEPRESSION DE CONSANGUINITÉ



Corréler la taille des populations avec la performance des individus mesurés *ex situ*

Choisir au moins
5 populations de tailles
différentes en nbr. d'individus et
récolter, par population, au moins 30 graines
sur des individus différents



IN SITU

Semer les graines
et cultiver les plantes

Temps 1 (optionnel)	Temps 2
Mesurer	Faire germer les graines et mesurer les plantes
Nombre de fruits et nombre de graines produits Poids des graines	Taux de germination Croissance des individus Survie à l'état végétatif Succès de reproduction Floraison

EX SITU

Corréler la taille
des populations
avec la performance
des individus

Traçabilité continue par individu et par population

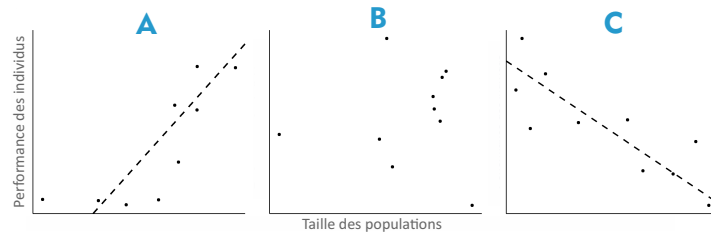
Comment détecter la dépression de consanguinité ?

1.

Analyses statistiques possibles

Corrélation entre performance et taille des populations / Modèles linéaires (ANOVA) ou généralisés (GLM)

Résultats attendus



(A) **Dépression de consanguinité** : Une corrélation positive entre la performance des individus et la taille des populations indique que les petites populations souffrent probablement de dépression de consanguinité.

(B et C) **Absence de conclusion** : L'absence de corrélation (B) ou une corrélation négative (C) entre la performance des individus et la taille des populations n'indique pas une présence de dépression de consanguinité.

Temporalité Expérience à réaliser une seule fois.

Limites

La dépression de consanguinité est variable selon l'environnement, il est possible qu'elle ne soit pas détectable dans un environnement donné. De plus, la baisse de performance des individus peut être issue d'effets maternels confondus avec la taille des populations. Par exemple, une population dans une station peu favorable à l'espèce sera de petite taille et produira des graines de faible qualité, indépendamment de la qualité génétique des individus.

Vigilance !

Les plantes échantillonnées doivent être choisies aléatoirement, évitant les plantes les plus robustes, les plus accessibles etc. Ne pas compenser un faible nombre de familles (c'est à dire ascendance maternelle) en augmentant le nombre d'individus par famille car forte variation de la dépression de consanguinité entre familles. Nécessite au moins 30 individus par population dans plusieurs populations (n>5) de taille différente. Conserver la traçabilité des lignées maternelles. Récolter des graines dans des petites et des grandes populations.



- Bottin L et al. 2007. Re-establishment trials in endangered plants: A review and the example of *Arenaria grandiflora*, a species on the brink of extinction in the Parisian region (France). *Écoscience*. 14: 410-419.

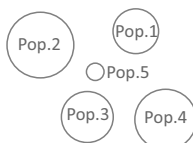
DEPRESSION DE CONSANGUINITÉ



Corréler la taille des populations avec la performance des individus mesurés *in situ*

Sélectionner au moins 5 populations différentes en nbr. d'individus

Retourner sur le terrain à des périodes différentes suivant la maturité des plantes et des populations et mesurer des caractéristiques



% des plantes en fleur à l'échelle de la population
Nombre de fruits et nombre de graines produits
Survie des plantules
Survie des individus à l'état végétatif

Corréler la taille des populations avec la performance des individus

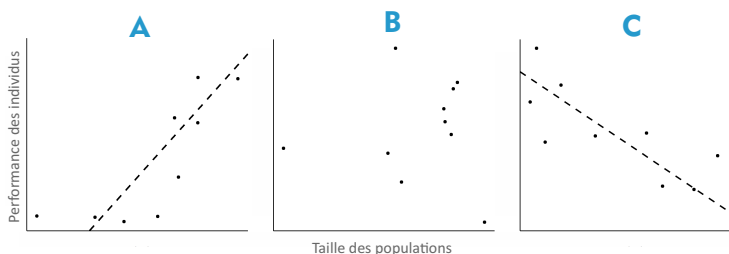
IN SITU

Traçabilité continue par individu et par population

Analyses statistiques possibles

Corrélation entre performance et taille des populations / Modèles linéaires (ANOVA) ou généralisés (GLM)

Résultats attendus



(A) **Dépression de consanguinité** : Une corrélation positive entre la performance des individus et la taille des populations indique que les petites populations souffrent probablement de dépression de consanguinité.

(B et C) **Absence de conclusion** : L'absence de corrélation (B) ou une corrélation négative (C) entre la performance des individus et la taille des populations n'indique pas une présence de dépression de consanguinité.

Temporalité Expérience à réaliser une seule fois.

Limites

Un faible taux de reproduction dans une population donnée peut aussi résulter d'un déficit de pollinisation soit par manque de pollinisateurs, soit par un manque d'attractivité de la population/de l'espèce étudiée (effet Allee). La corrélation peut être également liée à la qualité du milieu. Il est nécessaire de réaliser cette expérimentation au cours d'une année standard.

Comment détecter la dépression de consanguinité ?

1.



Diadema K. 2006. Apport de la phylogéographie, de la dynamique et de la structure des populations pour la conservation de végétaux endémiques méditerranéens. thèse de doctorat, Université de Aix Marseille, 215p.

Vigilance !

Les plantes échantillonnées doivent être choisies aléatoirement, en évitant les plus robustes, les plus accessibles etc. Choisir au hasard 30 individus par population dans plusieurs populations (n>5) de taille différente.

DEPRESSION D'ALLOFECONDATION

Contexte



La dépression d'allofécondation désigne le fait que plus des populations sont divergentes génétiquement, moins les descendants issus de croisements entre ces populations sont performants, et par extension, que des individus issus de croisements inter-populations sont moins performants que des individus issus de croisements intra-populations.

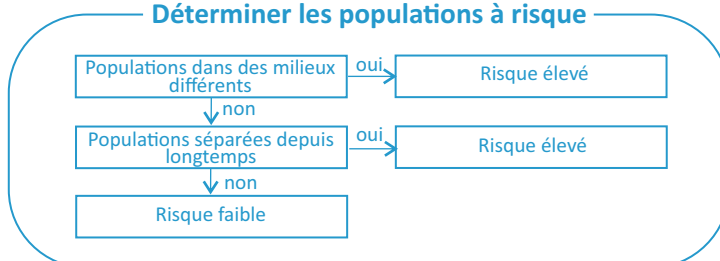
Un tel rapport de performance peut être observé lors d'expériences *in situ*, si les populations sont localement adaptées. En effet les individus issus de croisements inter-populations seront moins bien adaptés que les individus locaux (voir fiche pratique 2.1). On pense généralement à l'adaptation au milieu abiotique, mais c'est aussi vrai pour l'adaptation au milieu biotique (par exemple aux parasites). Il n'y a pas de prédictions générales pour les expériences en *ex situ* puisque les individus se retrouvent alors dans un troisième milieu (en culture).

Une autre cause possible de la dépression d'allofécondation est que des phénotypes intermédiaires obtenus par les croisements inter-populations peuvent être désavantagés même si les deux parents sont également adaptés au milieu de transplantation. Par exemple, les parents produisent des formes de fleurs différentes mais reconnues par les pollinisateurs alors que les descendants hybrides ont des fleurs non reconnues par les pollinisateurs.

Comment détecter la dépression d'allofécondation ?

2.

Déterminer les populations à risque



La dépression d'allofécondation peut aussi avoir des causes purement génétiques, indépendamment du milieu. Au fil des générations dans une population, la sélection a pu favoriser des combinaisons de gènes à différents locus fonctionnant bien ensemble, on dit alors que ces gènes sont co-adaptés. Les croisements entre individus éloignés peuvent briser ces associations. Cet effet peut apparaître à la première ou seulement à la deuxième génération, c'est-à-dire après recombinaison.

Comme pour la dépression de consanguinité, la détection de la dépression d'allofécondation nécessite la réalisation de croisements et la comparaison de la performance des descendants. Les phénomènes de dépression de consanguinité et de dépression d'allofécondation ne sont pas exclusifs.

DEPRESSION D'ALLOFECONDATION

Stratégie



Comparer les descendants issus de croisements intra et inter-populations *ex situ*

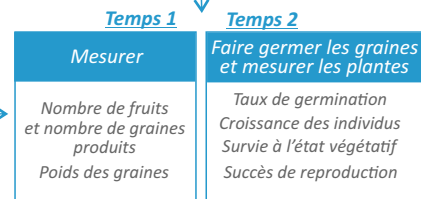
Collecter les graines dans la population
à risque pour obtenir des plantes mères et réaliser
des croisements avec des pollens
de différentes provenances



- pollens intra-pop. (population à risque)
- pollens inter-pop. proches
- pollens inter-pop. distantes

EX SITU

Collecter les graines issues
des croisements



Comparer les descendants
1^{ère} génération à différentes
étapes de vie



Traçabilité continue des individus issus de croisements

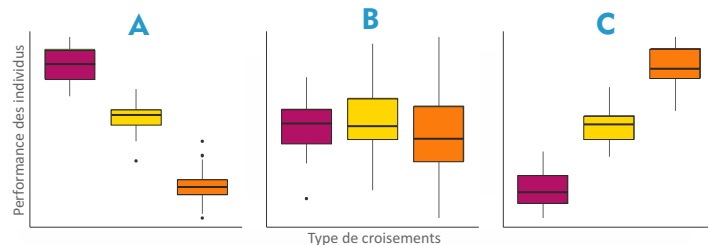
Analyses statistiques possibles

Test-t de Student / Modèles linéaires (ANOVA) ou généralisés (GLM)

Cas général : on peut comparer des valeurs sélectives des descendants issus de croisements intra ou inter-population par test-t sur des échantillons appariés. On peut effectuer une ANOVA avec un effet famille grand-maternelle et un effet croisement (intra/inter).

Cas de nombreuses populations donneuses (n>5) : on peut réaliser une corrélation entre performance des croisements et distance géographique entre la population mère et les populations donneuses de pollens.

Résultats attendus



(A) Dépression d'allofécondation : Une meilleure valeur sélective des descendants issus de croisements intra-populations indique la présence de dépression d'allofécondation entre les populations concernées.

(B et C) Absence de conclusion : **(B)** Une valeur sélective équivalente des descendants issus des différents croisements est en faveur de l'absence de dépression d'allofécondation. Toutefois, elle peut être aussi due à une compensation avec la dépression de consanguinité (voir thème 1). **(C)** Une valeur sélective plus faible des descendants issus de croisements intra-populations indique une dépression de consanguinité pour la population concernée. Un tel résultat ne permet pas de conclure quand à l'absence ou la présence de dépression d'allofécondation entre les populations concernées.

Temporalité Expérience à réaliser une seule fois.

Limites

La dépression d'allofécondation est variable selon l'environnement, il est possible qu'elle ne soit pas détectable dans un environnement donné. Dans certains cas, la dépression d'allofécondation ne se voit que sur la deuxième génération, une fois que les génomes "hybrides" ont été recombinaés et les associations cassées. Il faut alors prolonger l'expérience en laissant les individus de première génération se reproduire et en mesurant les traits sur les individus de deuxième génération.

Comment détecter la dépression d'allofécondation ?

2.



- Courquin B. 2012. Prise en compte de l'adaptation locale et de la dépression hybride en biologie de la conservation: exemple de *Biscutella neustriaca*, endémique de Haute Normandie. Thèse de doctorat, Université de Lille, 209p.
- Schurr L et al. 2019. Pollination insights for the conservation of a rare threatened plant species, *Astragalus tragacantha* (Fabaceae). *Biodiversity Conservation*. 28(6): 1389–1409.

Vigilance !

Le choix des individus participant à l'expérimentation doit être aléatoire dans chaque population, évitant de favoriser les plantes les plus robustes.

DEPRESSION D'ALLOFECONDATION

Stratégie



Comparer les succès des croisements intra et inter-populations *in situ*

Croiser des plantes-mères avec des pollens
de différentes provenances



- pollens intra-pop. (population à risque)
- pollens inter-pop. proches
- pollens inter-pop. distantes

Mesurer sur chaque
plante-mère

↓
Nombre de fruits
et nombre de graines
produits
Poids des graines

IN SITU

Traçabilité continue des individus issus de croisements

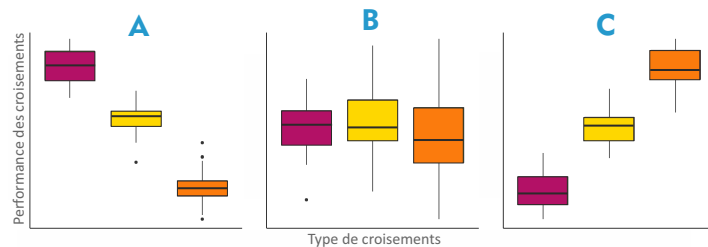
Analyses statistiques possibles

Test-t de Student / Modèles linéaires (ANOVA) ou généralisés (GLM)

Cas général : on peut comparer les succès de croisements intra ou inter-population par test-t sur des échantillons appariés. On peut effectuer une ANOVA avec un effet plante-mère et un effet croisement (intra/inter).

Cas de nombreuses populations donneuses (n>5) : on peut réaliser une corrélation entre performance des croisements et distance géographique entre la population mère et les populations donneuses de pollens.

Résultats attendus



(A) Dépression d'allofécondation : (A) Un succès de croisement intra-population plus important que le succès de croisement inter-population indique la présence de dépression d'allofécondation entre les populations concernées.

(B et C) Absence de conclusion : (B) Un succès de croisement équivalent entre les différents croisements est en faveur de l'absence de dépression d'allofécondation. Toutefois, elle peut-être aussi due à une compensation avec la dépression de consanguinité (Voir thème 1). (C) Un succès de croisement intra-population plus faible que le succès de croisement inter-population indique une dépression de consanguinité pour la population concernée. Un tel résultat ne permet pas de conclure quand à l'absence ou la présence de dépression d'allofécondation entre les populations concernées.

Temporalité Expérience à réaliser une seule fois.

Limites

La dépression d'allofécondation est variable selon l'environnement, il est possible qu'elle ne soit pas détectable dans un environnement donné. Dans certains cas, la dépression d'allofécondation ne se voit que sur la deuxième génération, une fois que les génomes "hybrides" ont été recombinés et les associations cassées. Il faut alors prolonger l'expérience en laissant les individus de première génération se reproduire et en mesurant les traits sur les individus de deuxième génération.



- Courquin B. 2012. Prise en compte de l'adaptation locale et de la dépression hybride en biologie de la conservation: exemple de *Biscutella neustriaca*, endémique de Haute Normandie. Thèse de doctorat, Université de Lille, 209p.
- Schurr L et al. 2019. Pollination insights for the conservation of a rare threatened plant species, *Astragalus tragacantha* (Fabaceae). Biodiversity Conservation. 28: 1389–1409.

Vigilance !

Le choix des individus participant à l'expérimentation doit être aléatoire dans chaque population, évitant de favoriser les plantes les plus robustes.

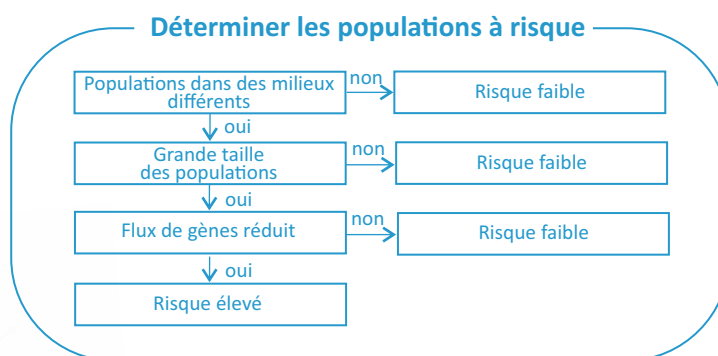
ADAPTATION LOCALE



L'adaptation locale caractérise une meilleure performance des individus dans la localité dont ils sont originaires par rapport à celle des individus issus d'une autre localité. L'échelle spatiale associée est souvent celle qui délimite les populations. Par extrapolation, l'adaptation locale illustre aussi une meilleure performance des individus dans leur localité d'origine par rapport à leur performance dans une autre localité. S'il existe une importante variation environnementale entre des populations, la sélection est divergente : les traits optimaux dans chacune des conditions diffèrent. Lorsque les tailles des populations sont grandes, la sélection est plus importante que la dérive. Si les flux de gènes entre populations sont réduits, des traits peuvent alors se fixer dans chacune des populations indépendamment des conséquences sur la valeur sélective que confèrent ces traits dans d'autres localités. Cela peut entraîner une valeur sélective moyenne plus importante pour les génotypes locaux par rapport aux génotypes issus d'autres localités. Ce patron observé et le processus associé se nomment adaptation locale. En pratique, l'intensité de la sélection est difficile à estimer, mais cela n'empêche pas la mise en évidence de l'adaptation locale puisque la sélection naturelle est mise en évidence par ses effets : la différence de valeur sélective des individus selon le milieu. La mise en place d'un patron d'adaptation locale dépend de l'importance relative des différentes composantes influençant sa mise en place : intensité de la sélection divergente, taille des populations et flux de gènes. Par exemple, plus la migration est importante plus l'intensité de la sélection doit être importante.

Comment détecter l'adaptation locale ?

3.



En présence d'adaptation locale, la performance des individus dans une localité donnée est donc liée à leur provenance. Une transplantation réciproque peut être effectuée pour mesurer la valeur sélective des individus selon leur localité d'origine (voir fiche pratique 3.1). Une divergence phénotypique entre individus de localités différentes peut résulter d'un processus d'adaptation ou d'une réponse plastique. Si la divergence phénotypique est d'origine génétique, elle sera conservée en jardin commun (voir fiche pratique 3.2).

ADAPTATION LOCALE

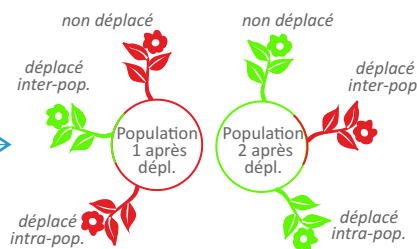
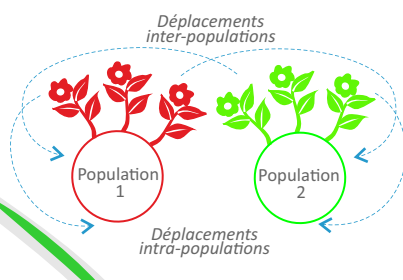


Comparer la performance des individus déplacés après transplantations réciproques *in situ*

Réaliser 2 types de déplacement en même temps, d'au moins 30 plantes par population

Mesurer la performance des individus déplacés à différentes étapes de vie et en fonction de la biologie de chaque espèce

Comparer la performance des individus déplacés



- Taux de germination
- Survie des plantules
- Survie à l'état végétatif
- Croissance des individus
- Succès de reproduction

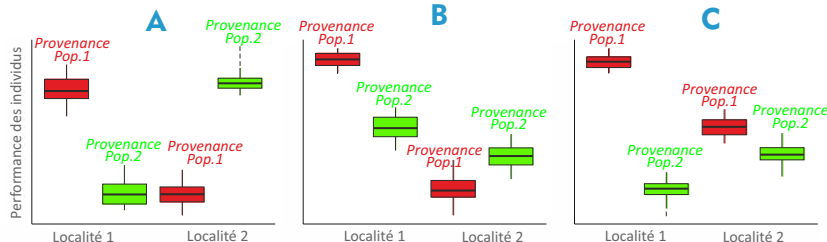
IN SITU NB. La population focale est la population 1.

Traçabilité continue par individu déplacé

Analyses statistiques possibles

Test-t de Student / Modèles linéaires (ANOVA) ou généralisés (GLM)

Résultats attendus



(A et B) Adaptation locale : Les individus de la population focale ont une meilleure performance dans leur localité que les individus issus de l'autre localité et les individus de la population focale ont une performance plus faible que les autres individus dans l'autre localité. On peut conclure à de l'adaptation locale dans la population focale.

(C) Absence de conclusion : Ce résultat peut être dû à de l'adaptation locale dans la population focale ou au fait que la population focale a des génotypes globalement plus performants que les génotypes de l'autre localité. Quel que soit le processus, des risques seront pris en introduisant des nouveaux génotypes.

D'autres résultats sont possibles et la conclusion concernant l'adaptation locale n'est pas claire comme pour le graphique C. Lorsque les individus issus de la population focale ont une meilleure performance dans leur propre population que les individus issus d'autres localités, on peut conclure à un risque de baisse de performance de la population focale due à l'ajout d'individus issus d'autres localités.

Limites

La sélection peut être plus importante au moment de la germination plutôt que sur des individus adultes. En fonction du matériel choisi pour la transplantation, l'adaptation locale peut donc ne pas être détectable. De plus, la sélection peut se manifester selon les conditions environnementales et parfois uniquement lors d'épisodes périodiques de conditions environnementales extrêmes. La valeur sélective d'un génotype peut parfois changer selon sa fréquence par exemple due à des mécanismes de sélection sexuelle, prédation, les maladies ou de la compétition. Des individus issus d'une autre population auront alors des performances plus faibles que les individus issus de la population focale due à la rareté de leurs génotypes sans que la baisse de performance soit liée à l'adaptation locale.

Temporalité Expérience à réaliser une seule fois.

Vigilance !

Le choix des individus participant à l'expérimentation doit être aléatoire dans chaque population évitant de favoriser les plantes les plus robustes etc. Les individus doivent subir le même traitement donc les individus locaux sont à transplanter dans leur propre population.

Comment détecter l'adaptation locale ?

3.

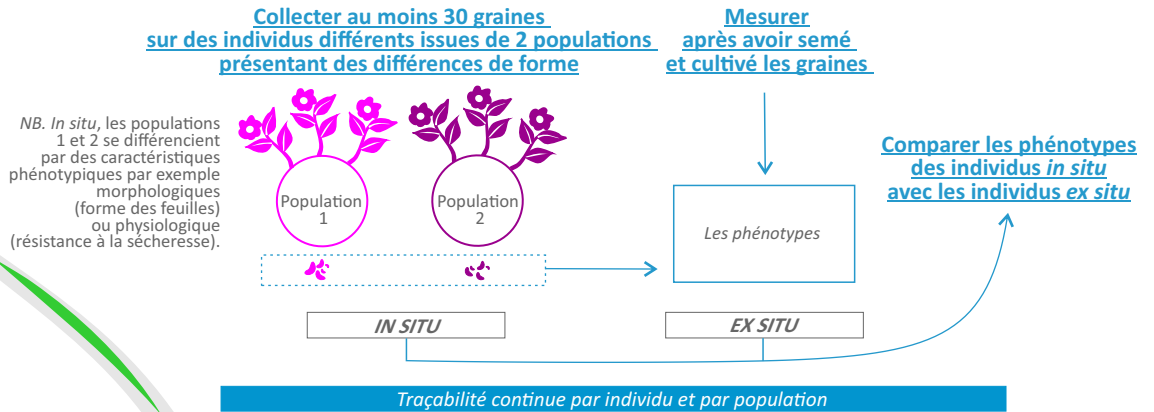


- Courquin B. 2012. Prise en compte de l'adaptation locale et de la dépression hybride en biologie de la conservation: exemple de *Biscutella neustriaca*, endémique de Haute Normandie. Thèse de doctorat, Université de Lille, 209p.
- Raabova J et al. 2007. Ecological rather than geographic or genetic distance affects local adaptation of the rare perennial herb, *Aster amellus*. *Biological Conservation*. 139: 348-357.

ADAPTATION LOCALE



Suivre les divergences phénotypiques *in situ* et *ex situ*



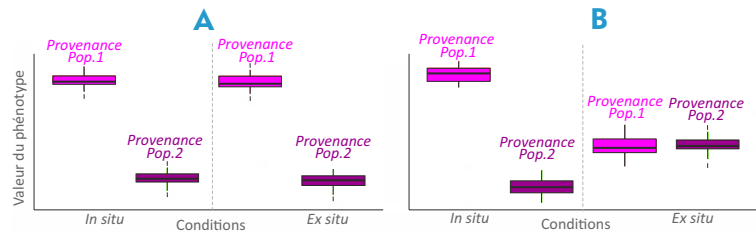
Comment détecter l'adaptation locale ?

3.

Analyses statistiques possibles

Test-t de Student / Modèles linéaires (ANOVA) ou généralisés (GLM)

Résultats attendus



(A) Différenciation génétique : La divergence phénotypique pour le caractère focal entre localités est maintenue en *ex situ*, on peut conclure que la divergence phénotypique est due à un déterminisme génétique. Cette différence n'est pas forcément due à l'adaptation locale mais dans le doute le renforcement est risqué.

(B) Plasticité phénotypique : La divergence phénotypique entre localités n'est pas maintenue en *ex situ*, on peut conclure que la divergence phénotypique est due à de la plasticité phénotypique pour ce caractère.

Temporalité Expérience à réaliser une seule fois.

Limites

Cette expérience permet de montrer si une différence phénotypique *in situ* est due à de la plasticité ou à une différence génétique. Un caractère pouvant différer entre populations par hasard, il faut d'autres indices pour conclure à de l'adaptation locale. Par ailleurs, cela ne renseigne pas sur l'existence d'adaptation locale pour d'autres caractères.



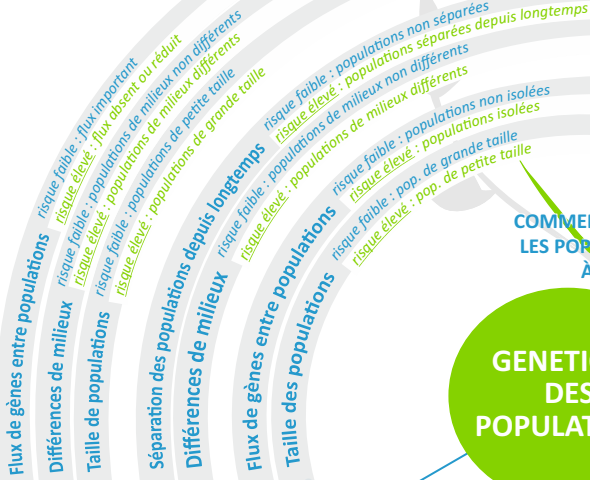
- Courquin B. 2012. Prise en compte de l'adaptation locale et de la dépression hybride en biologie de la conservation: exemple de *Biscutella neustriaca*, endémique de Haute Normandie. Thèse de doctorat, Université de Lille, 209p.
- Riba M et al. 2005. Variation in Dispersal Traits in a Narrow-endemic Plant Species, *Centaurea corymbosa* Pourret. (Asteraceae). Ecology and Evolution. 19: 241–254.

Vigilance !

Le choix des individus participant à l'expérimentation doit être aléatoire dans chaque population, évitant de favoriser les plantes les plus robustes etc.

SYNTHESE DES METHODES DE CARACTERISATION GENETIQUE DES POPULATIONS DE PLANTES

Observer les différentes populations végétales sur le terrain



Sélectionner les populations les plus à risque

Tester suivant les méthodologies

Choisir une méthode par préférence d'utilisation

3	FICHES PRATIQUES 3.1, 3.2	Stratégie : réaliser des transplantations réciproques	1
		Stratégie : suivre les divergences phénotypiques supposées en jardin commun	2
2	FICHES PRATIQUES 2.1, 2.2	Stratégie : comparer les descendants issus de croisements intra-populations et inter-populations en ex situ	1
		Stratégie : comparer les descendants issus de croisements intra-populations et inter-populations en in situ	2
1	FICHES PRATIQUES 1.1, 1.2, 1.3	Stratégie : comparer les descendants issus de croisements intra-populations et inter-populations.	1
		Stratégie : corréler la taille des populations et la performance des individus mesurés ex-situ	2
		Stratégie : corréler la taille des populations et la performance des individus mesurés in-situ	3

COMMENT TESTER LES POPULATIONS À RISQUE ?

Collecter les résultats & Interpréter

CONSTRUIRE UN PROTOCOLE DE RENFORCEMENT ADAPTE à partir d'une analyse fiable, simple et économique

SUR QUELS CRITÈRES PRÉ-DÉTECTER LES POPULATIONS À RISQUE ?

QUE CHERCHE T-ON ?

1. Détecter LA DEPRESSION DE CONSANGUINITÉ

2. Détecter LA DEPRESSION D'ALLOFECONDATION

3. Détecter L'ADAPTATION LOCALE

Contexte bref et fiches actions

GUIDE

Conserv
 les populations végétales sauvages in situ

CONCLUSION & PERSPECTIVES

Le renforcement des populations est une mesure de gestion proposée pour diminuer le risque d'extinction des populations petites et isolées. Le renforcement doit être de plus en plus envisagé puisque les activités humaines augmentent le nombre de populations à risque. Présenté sous forme de fiches pratiques, ce guide vise à accompagner la construction d'un protocole de renforcement en contribuant à l'évaluation du coût-bénéfice de l'utilisation d'une population source plutôt qu'une autre. Cette méthodologie de caractérisation génétique des populations aide d'une part à déterminer les populations susceptibles de présenter de la dépression de consanguinité, de la dépression d'allofécondation et de l'adaptation locale et d'autre part, à les tester. À la fois fiables et simples, les procédures n'impliquent pas du personnel spécialisé et elles ne recourent pas à l'utilisation d'outils de biologie moléculaire.

Les gestionnaires peuvent choisir les stratégies en fonction de leurs possibilités. La facilité de détection et d'interprétation des résultats est néanmoins le critère à privilégier. Les protocoles sont à adapter en fonction des contraintes et de la biologie des espèces étudiées. En intégrant la génétique des populations dans la construction du protocole de renforcement des populations de plantes, la prise de décision des gestionnaires est éclairée par des données sûres et la réussite des futures actions est renforcée. En favorisant la prise en compte de la diversité génétique en conservation, ce guide contribue à intégrer l'évolution en conservation. C'est une étape par rapport au vaste objectif d'insérer l'évolution en conservation et de manière général, d'intégrer les résultats de recherche en conservation appliquée.

Synthèse de méthodologies permettant de caractériser la génétique des populations dans le contexte d'un renforcement

Contexte bref et fiches actions

GUIDE
Conserver
les populations végétales
sauvages in situ

Adaptation locale : caractérise une meilleure performance des individus dans la localité dont ils sont originaires par rapport à celle des individus issus d'une autre localité. L'échelle spatiale associée est souvent celle qui délimite les populations. Par extrapolation, l'adaptation locale illustre aussi une meilleure performance des individus dans leur localité d'origine par rapport à leur performance dans une autre localité.

Allèle : variant d'un gène.

Allèle récessif/ dominant/ partiellement récessif : un allèle dominant confère aux individus hétérozygotes le même phénotype que les individus homozygotes pour cet allèle. A l'inverse, l'allèle récessif n'affecte pas le phénotype des hétérozygotes et seuls les individus homozygotes récessifs portent le phénotype associé. Pour deux allèles notés A et a, avec A dominant sur a récessif, les génotypes (AA) et (Aa) donnent un phénotype noté [A] identique et les génotypes (aa) un phénotype [a] différent. Dans le cas d'un allèle a partiellement récessif, les génotypes (Aa) auront un phénotype intermédiaire mais plus proche de celui des homozygotes (AA).

Capacité d'adaptation : résilience des individus (plasticité) ou des populations (plasticité ou évolution) lors de changements environnementaux.

Érosion génétique : réduction de la diversité génétique.

Evolution : changement des fréquences alléliques dans une population au cours du temps.

Dépression d'allofécondation : baisse de valeur sélective des descendants issus d'un croisement d'individus différents génétiquement par rapport aux descendants issus d'un croisement entre individus plus proches génétiquement.

Dépression de consanguinité : baisse de valeur sélective des descendants issus d'un croisement d'individus proches génétiquement par rapport aux descendants issus d'un croisement entre individus plus éloignés génétiquement. La baisse de valeur sélective résulte de l'état homozygote d'allèles délétères récessifs ou partiellement récessif.

Dérive génétique : fluctuation des fréquences alléliques due à l'échantillonnage aléatoire des gamètes participant à la formation de la génération suivante. Une conséquence est que certains allèles sont perdus de manière aléatoire.

Effet Allee : se réfère aux effets densité-dépendant positifs, c'est-à-dire à un meilleur succès des individus quand ceux-ci sont assez nombreux, par exemple lorsque l'accès aux partenaires sexuels est limité par une faible densité de la population.

Famille : dans ce document, se réfère à l'ensemble des individus issus d'un même parent (souvent la plante-mère sur laquelle les graines ont été échantillonnées). Plus rarement, les protocoles de croisement permettent de connaître l'ascendance maternelle et paternelle (donneur de pollens).

Flux de gène : échange d'information génétique. Les flux de gènes peuvent être considérés à plusieurs échelles, par exemple, entre individus de la même population lors de la reproduction ou entre plusieurs populations etc. A noter que chez les plantes, les flux de gènes peuvent se faire par le pollen et les graines.

Fst/indice de différenciation génétique entre populations : Indicateur de la corrélation entre les gènes d'individus d'une même population par rapport à celle d'individus pris dans l'ensemble des populations. Autrement dit, part de la variance génétique totale due au partitionnement des individus en populations, elle varie de 0 (absence totale de différenciation entre populations) à 1 (différenciation totale).

Gène : une portion d'ADN qui entraîne la formation d'un ARN, éventuellement d'une protéine participant au métabolisme de l'individu ou régulant d'autres gènes.

Génotype : ensemble de l'information génétique d'un individu.

Hétérozygote : un individu est hétérozygote à un locus donné quand les allèles de cet individu sont différents à ce locus.

Hétérozygotie attendue (He) : indice de diversité génétique. L'hétérozygotie à n locus est estimée comme la moyenne des He par locus : He par locus = $1 - \sum pi^2$ où pi est la fréquence de chaque allèle. L'hétérozygotie attendue augmente à un locus lorsque le nombre d'allèle augmente à ce locus et lorsque les fréquences alléliques sont plus équilibrées. Cet indicateur peut être estimé à différentes échelles, par exemple, à l'échelle d'une population ou d'une espèce.

Homozygote : un individu est homozygote à un locus donné quand les allèles de cet individu à ce locus sont identiques.

Locus : position d'une portion d'ADN, cette portion d'ADN peut correspondre à un gène s'il y a expression (production d'ARNm) ou correspondre à une zone non exprimée (locus neutre, par exemple microsatellites).

Phénotype : caractéristique observable d'un individu, il résulte de l'interaction entre le génotype de l'individu et de son environnement.

Sélection : différence de survie ou de reproduction des individus selon leurs caractéristiques héréditaires. La sélection entraîne une variation des fréquences des génotypes et des fréquences alléliques selon les capacités des génotypes à survivre et à produire des individus viables. La capacité des génotypes à survivre et à produire des individus viables peut changer selon l'environnement.

Stochasticité démographique : variation aléatoire de la mortalité et de la reproduction des individus. Entraîne une fluctuation du taux de croissance des petites populations, par contre son effet sur le taux de croissance des grandes populations est généralement négligeable.

Taille efficace : nombre d'individus qui vont contribuer à la prochaine génération, pondérés par l'importance de leur participation. L'échantillonnage aléatoire des gamètes participant à la formation de la génération suivante s'applique sur la taille efficace. La taille efficace détermine la vitesse d'érosion génétique, qui est d'autant plus rapide que la taille efficace est réduite.

Valeur sélective : capacité d'un individu ou d'un génotype à survivre et à produire des individus viables.

POUR ALLER PLUS LOIN...

- Allendorf FW et al. 2013. Conservation and the genetics of populations. 2nd ed. Hoboken: John Wiley & Sons, 630p.
- Bottin L et al. 2007. Re-establishment trials in endangered plants: A review and the example of *Arenaria grandiflora*, a species on the brink of extinction in the Parisian region (France). *Écoscience*. 14: 410–419.
- Commander LE et al. 2018. Guidelines for the translocation of threatened plants in Australia. Third Edition. Australian Network for Plant Conservation, Canberra.
- Ellstrand NC and Elam DR. 1993. Population Genetic Consequences of Small Population Size: Implications for Plant Conservation. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 24: 217–242.
- Godefroid S et al. 2010. How successful are plant species reintroductions? *Biological Conservation*. 144:672–682.
- Godefroid S et al. 2016. Pre-translocation considerations in rare plant reintroductions: implications for designing protocols. *Plant Ecology*. 217: 169–182.
- IUCN/SSC. 2013. Guidelines for Reintroductions and Other Conservation Translocations. Version 1.0. Gland, Switzerland: IUCN Species Survival Commission, 57 p.
- Heywood V et al. 2018. BGCI and IABG'S Species Recovery Manual. Botanic Gardens Conservation International, 100p.
- Hoban S et al. 2020. Genetic diversity targets and indicators in the CBD post-2020 Global Biodiversity Framework must be improved. *Biological Conservation*. 248: 108654.
- Hoffmann AA et al. 2021. Genetic mixing for population management: From genetic rescue to provenancing. *Evolutionary Applications*. 14: 634–652.
- Maschinski J et al. 2012. Plant Reintroduction in a Changing Climate. *The Science and Practice of Ecological Restoration*. Island Press, 402p.
- Oostermeijer JGB et al. 2003. Integrating demographic and genetic approaches in plant conservation. *Biological Conservation*. 113: 389–398.
- Sarrazin F and Lecomte J. 2016. Evolution in the Anthropocene. *Science*. 351: 922–923.
- Thompson J. 2020. *Plant Evolution in the Mediterranean: Insights for conservation*. : Oxford University Press. 464p.
- <https://www.bgci.org/wp/wp-content/uploads/2019/04/BGCI-ERA-Brief-5-How-to-carry-out-population-reinforcement.pdf>
- https://www.bgci.org/wp/wp-content/uploads/2019/04/BGCI-ERA-Brief-3-How-to-collect-material-for-species-recovery_final.pdf
- <https://saveplants.org/wp-content/uploads/2020/12/CPC-Best-Practices-5.22.2019.pdf>

Contexte bref et fiches actions

GUIDE
Conserver
les populations végétales
sauvages in situ

Les auteurs du guide 2022 :



Responsables Projet - Auteurs scientifiques :

Juliette Ducrettet, doctorante à l'UM-ISEM
Sandrine Maurice, Enseignante-chercheuse à l'UM-ISEM
Eric Imbert, Enseignant-chercheur à l'UM-ISEM

Médiation éditoriale - Communication scientifique visuelle - Design du guide :

Laurence Meslin, Ingénieure au CNRS-ISEM

Les relecteurs :

Conservatoire Botanique National Méditerranéen :

Katia Diadema, James Molina, Olivier Argagnon, Frédéric Andrieu, Maëlle Leberre

Conservatoire Botanique National de la Corse :

Carole Piazza

Les partenaires :



Le financeur :



Pour citer le document :

Ducrettet J., Maurice S., Meslin L., Imbert E. 2022. Méthodes de caractérisation génétique des populations végétales - Aide à la construction d'un protocole de renforcement. RAPPORT INEDIT. INSTITUT DES SCIENCES DE L'EVOLUTION, UNIVERSITE DE MONTPELLIER RESEDA-FLORE. 21P



PRODUCTION

de l'Institut des Sciences de l'Evolution
de Montpellier
UMR 5554 CNRS/UM/IRD
<https://isem-evolution.fr>

Contexte bref et fiches actions

GUIDE

Conserver
les populations végétales
sauvages in situ