

Appel d'offre interne 2011

Titre du projet

Le rôle des terrils du bassin minier de Provence dans les transitions évolutives de la flore du sud de la France : comparaison avec quelques facteurs biogéographiques majeurs (montagnes, fleuves et substrats)

IMEP, UMR CNRS 6116, Institut Méditerranéen d'Ecologie et Paléoécologie,
Bat. Villemain, Europôle de l'Arbois, BP 80, F 13545 Aix-en-Provence cedex 04

INRA, URFM Ecologie des Forêts Méditerranéennes, UR 629, Domaine St Paul,
Agroparc, 84914 Avignon Cedex 9

1- Contexte de la recherche

Le bassin méditerranéen est particulièrement riche en espèces animales et végétales (Quézel & Médail 2003). Cette biodiversité remarquable est aussi menacée, ce qui confère à la Méditerranée le statut de hot spot de biodiversité (Myers et al. 2000). La flore méditerranéenne française est elle aussi particulièrement riche, et notamment en espèces endémiques. Alors que cette flore française est bien connue d'un point de vue taxonomique et que sa distribution commence elle aussi à être précisément connue du fait de l'important travail de géoréférencement et repérage effectué par les conservatoires botaniques nationaux (voir la base de données SILENE, <http://flore.silene.eu/index.php?cont=accueil>), sa caractérisation moléculaire et évolutive reste à faire. L'application des méthodes de code barre ADN consiste à trouver les gènes permettant d'identifier sans ambiguïté les espèces. Ces méthodes peuvent être améliorées pour augmenter la résolution d'analyse et identifier les principales lignées généalogiques présentes au sein des espèces. Le premier objectif relève de la systématique alors que le deuxième objectif fait le lien entre la biologie de la conservation et la biogéographie. En effet connaître la distribution géographique des lignées généalogiques (la phylogéographie) à l'échelle d'un territoire comme la région méditerranéenne française, permet de cerner les aires de plus haute diversité génétique ou encore de détecter les structures de paysage associées à des processus de connectivité biologique ou au contraire de barrière géographique. Les applications sont nombreuses, comme l'identification et la labellisation de variétés locales ou encore l'aide à la décision auprès des gestionnaires d'espaces naturels pour définir de nouvelles priorités de conservation

pour une protection de la biodiversité tenant compte de son évolution. Le problème soulevé depuis maintenant une décennie (Moritz 2002), est que la diversité spécifique qui oriente souvent le choix des priorités de conservation ne protège pas les processus qui ont produit cette diversité, tels que la sélection naturelle et l'évolution.

Dans ce contexte, comprendre comment les transitions ou barrières paysagères majeures structurent la biodiversité à des niveaux autres que spécifiques est à la fois un enjeu et une frontière scientifique (Fady & Conord 2010). A partir de quel moment la limitation des flux de gènes engendre-t-elle l'apparition de lignées évolutives distinctes ? A quelle échelle temporelle (rapidité du phénomène) ? Ainsi, si des événements majeurs comme la surrection des montagnes ou les transitions de substrats sont bien connus pour créer de la diversité (spéciation allopatrique classique), il n'en est pas de même des processus abiotiques opérant à l'échelle du paysage et de la petite région.

C'est dans cette perspective de description fine, à plusieurs échelles d'organisation (moléculaire, individuelle, spécifique), dans le cadre de la conservation de la biodiversité méditerranéenne, que se situe ce projet.

2- Objectifs de la demande incluant la description de la suite prévue pour le projet

- Comprendre quels sont les déterminants majeurs des structures de biodiversité dans le sud de la France, à diverses échelles spatiales et temporelles (géographique, écologique et historique) en utilisant les transitions de paysage majeures de la région (versants, massifs montagneux et produits de l'activité humaine comme les terrils de la région de Gardanne).
- Contribuer à la production de ressources génétiques (gènes code barre) dans le cadre du consortium international sur le code barre ADN (iBol). Les gènes à utiliser pour caractériser les plantes sont maintenant connus et acceptés au niveau international, mais peu de ressources sont disponibles dans les bases de données internationales. Faire cette évaluation au sein de la FR Eccorev permettra de renforcer son positionnement dans le domaine de la biodiversité et de l'évaluation des risques qui pèsent sur elle.
- Renforcer les liens entre l'INRA URFM et l'IMEP sur les enjeux de biodiversité et des risques qui lui sont associés à diverses échelles spatiales au sein de la FR Eccorev.
- Donner les moyens à ces deux équipes de construire un projet ambitieux sur les variables de forçage de l'organisation de la biodiversité en région méditerranéenne, pour sa conservation. Et ceci en se focalisant notamment sur une zone atelier d'importance pour la FR Eccorev, le bassin minier de Provence dans la région de Gardanne.

Pour ce faire, ce projet a pour ambition de caractériser la diversité moléculaire d'espèces clefs, représentatives de la flore méditerranéenne française à l'échelle de la région PACA. Les espèces seront choisies en fonction de leurs attributs vitaux (notamment au regard de la dispersion) et de leur distribution géographique selon trois transitions majeures à l'échelle du paysage, ayant pu conduire à des points de rupture dans leur évolution, mesurables par marqueurs moléculaires.

Le premier point de rupture testé est géographique. Les barrières géographiques que constituent les Alpes et le Rhône sont en place depuis des millions d'années. Si elles ont constituées des barrières à la migration des espèces, ce que semble attester la présence d'ensembles biogéographiques de part et d'autre de ces barrières, elles ont aussi dû impacter les espèces largement distribuées au-delà de ces barrières en réduisant les flux de gènes, ce qui typiquement se traduit par l'apparition de signatures génétiques identifiables

Le deuxième point de rupture testé est d'ordre écologique. Les massifs siliceux et calcaires de la région abritent des flores très différentes, ayant des niches écologiques différentes. Elles abritent aussi des espèces plus ubiquistes, et l'on peut se demander si la rupture écologique majeure que constituent les substrats siliceux et calcaires a pu imprimer sa marque au cours du temps. C'est en effet ce qui a été démontré dans les Alpes (Alvarez et al. 2009). Les outils de l'écologie moléculaire offrent la possibilité de révéler, au niveau intra-spécifique, une diversité génétique cryptique et adaptative qui conditionne la persistance des populations.

Le troisième et dernier point de rupture testé est d'ordre historique, lié aux activités humaines de la région. Les activités humaines dans le bassin de Gardanne ont générés de nouveaux milieux, les terrils, inconnus auparavant, qui contiennent une flore issue du pool régional. Si elle est commune à la région (S. Gachet et D. Pavon, IMEP, comm. pers.), cette flore n'en possède pas moins des caractéristiques originales, de croissance par exemple (cas des pins d'Alep, F. Guibal, IMEP, comm. pers.), et ce pouvant conduire à un isolement reproducteur ayant imprimé sa marque au niveau génétique. De plus, à proximité de Gardanne, le massif de l'étoile abrite deux substrats calcaires différents, calcite et dolomie, hébergeant des assemblages floristiques distincts (Thèse de Sami Youssef en cours, IMEP). Il est donc possible d'étudier les effets structurant du substrat à l'échelle du paysage concerné par l'OHM de Gardanne (terrils, calcaire « urgonien » et calcaire dolomitique).

3- Réalisations prévues, plan financier succinct, description courte du mode d'interaction prévu entre les équipes.

La première partie du travail consistera à sélectionner les taxons significatifs, à la fois par leur intérêt patrimonial dans le cadre de la Méditerranée et par leur présence dans les milieux concernés: Cette sélection se fera en fonction de la bibliographie existante et des connaissances existantes à l'IMEP et dans la FR Eccorev suite aux programmes de l'Observatoire Hommes-Milieus (OHM) Bassin minier de Provence. A priori, les familles ligneuses comme les cupressacées et les pinacées, de même que

les annuelles et pérennes de la famille des caryophyllacées seront choisies préférentiellement.

La deuxième partie du travail consistera en le choix des sites de récolte et la récolte des échantillons proprement dite: Il sera constitué des paires de points d'échantillonnage, répétés en intra taxon et entre taxons. Ces paires seront constituées autour des transitions de paysage suivantes :

- (1) Provence et Languedoc (pour tester l'effet de la transition géographique imprimée par le Rhône,
- (2) Provence vs Ligurie (pour tester l'effet de la transition géographique alpine)
- (3) Maures vs Provence calcaire (pour tester l'effet de la transition écologique imprimée par les substrats siliceux par opposition aux calcaires)
- (4) Collines calcaires (dolomie et urgonien) de la région du bassin minier de Provence autour de Gardanne vs terrils (pour tester l'effet récent de la transition historique imposée par l'activité humaine autour des mines de charbon).

La troisième partie du travail sera l'analyse des échantillons. Les marqueurs moléculaires employés seront de deux types : code barre ADN et microsatellites. Ces deux types de marqueurs ne répondent pas de la même manière aux grandes transitions imposées par l'environnement. Les marqueurs code barre sont de bons indicateurs d'évènements anciens ou majeurs, alors que les microsatellites, plus polymorphes, vont pouvoir rendre compte d'évènements plus récents ou témoigner d'isolement en devenir. Nous nous attendons donc à observer des variations dans les ADN code barre pour les transitions anciennes comme les surrections de montagnes, l'irruption de substrats sédimentaires, la mise en place de cours d'eau, alors que nous n'en attendons pas de l'émergence d'évènements nouveaux. Par contre, la mise en place d'isollements suite à la construction de terrils devrait avoir des répercussions sur les marqueurs microsatellites. Chaque paire d'échantillons sera séquencée au niveau de 3 gènes considérés comme code barre ADN chez les plantes (trnH, psbH et matK). Par ailleurs, les microsatellites nucléaires et/ou chloroplastiques disponibles dans la littérature, seront génotypés. Au total ce sont 320 échantillons provenant de 20 espèces différentes qui seront récoltés, dont l'ADN sera extrait, amplifié et séquencé et génotypé (microsatellites) en utilisant le plateau technique de biologie moléculaire de l'INRA Avignon, à l'équipement duquel la FR ECCOREV a récemment contribué par le cofinancement d'un séquenceur automatique.

Plan financier succinct

- Budget analyse génétiques : 4 transitions x 2 échantillons x 2 répétitions = 16 échantillons par espèce. Au total 20 espèces seront analysées. Coût du séquençage tout compris : 15 euros x 320 échantillons, soit 4800 euros

- Analyses de sol : 400 euros

- Budget déplacements : (400 euros de repas et découchés) x 3 semaines x 2 personnes = 2400 euros.

Total du financement demandé : 7600 euros.

Mode d'interaction prévu entre les équipes

Les deux équipes du projet, INRA-URFM et IMEP sont membres de la FR Eccorev. Leur interaction se fera par des réunions sur le site de l'Arbois, pour sélectionner les taxons à analyser et les lieux précis à récolter, définir le calendrier des analyses génétiques, rédiger en commun une publication scientifique avec les résultats obtenus et préparer une réponse à l'appel d'offres blanc ANR (annuel), à l'un des appels d'offres de la FRB (annuel), à l'appel d'offre BioDivMex du CNRS en préparation. La réponse à ces appels d'offre se fera sur le thème de l'étude des déterminants écologiques de la biodiversité en région méditerranéenne, à différentes échelles d'espace et de temps, pour proposer une gestion intégrée de cette biodiversité menacée. Si les deux équipes ECCOREV seront motrices pour répondre à ces appels d'offre, il va sans dire que les équipes de recherches impliquées dans le domaine de la biodiversité méditerranéenne seront sollicités (notamment via le consortium BioDivMex). L'enjeu est de déterminer s'il existe une bonne congruence entre moyens de protection mis en place et la structuration de la biodiversité et de répondre à la question : protégeons nous les bons endroits et cela sera-t-il encore le cas dans le futur avec le changement climatique ?

Le travail prévu dans ce projet se fera en concertation avec les opérations actuelles menées en France sur le code barre ADN et le référencement systématique, auxquelles participent l'IMEP et l'INRA-URFM. Le dépôt des échantillons (spécimens) sera fait dans des bases de données de référence au niveau français (réseau R-Syst, herbier de muséum). Le dépôt des séquences ADN sera aussi fait dans des bases de données de référence au niveau français et international (réseau R-Syst, GenBank, iBoL).

4- Description du consortium : liste des participants (avec leur statut et le pourcentage d'implication), court CV du porteur de chaque équipe incluant la liste de trois publications les plus pertinentes pour le projet.

Liste des participants

Nom et prénom	Statut et discipline	Unité de recherche	Temps consacré
Baumel Alex	MCF, génétique des populations, responsable scientifique	IMEP	30%
Fady Bruno	DR, écologie évolutive, co-responsable scientifique	INRA URFM	15%
Médail Frédéric	PR, biogéographie	IMEP	5%
Pavon Daniel	IE, botanique	IMEP	5%
Juin Marianick	TR, biologie moléculaire	IMEP	20%
XX YY	M2 ou doctorant, écologie évolutive	IMEP	20%
Roig Anne	IE, biologie moléculaire	INRA URFM	10%
Lingrand Matthieu	TR, biologie moléculaire	INRA URFM	10%

Nos équipes ont acquis une reconnaissance incontestable dans le domaine de l'écologie et de la conservation des plantes méditerranéennes, notamment les ligneux. Nous nous associerons avec des porteurs d'enjeux clef dans le domaine de la description et du référencement des plantes, notamment le Conservatoire botanique national méditerranéen de Porquerolles et le réseau régional des aires protégées, qui ont des relations étroites avec l'IMEP.

Ce projet utilisera un équipement acquis par la FR Eccorev et installé à l'INRA Avignon, l'analyseur génétique ABI 3730 pour le séquençage.

Curriculum Vitae de A. Baumel

Maître de conférences à l'Institut Méditerranéen d'écologie et de Paléoécologie

Cursus

- 2002 : Maître de Conférence de l'Université Paul Cézanne, Aix Marseille III
- 2001 : Thèse de l'Université Rennes I, mention Biologie : « Contexte phylogénétique et conséquences génomiques de l'hybridation et de la polyploïdie : Les enseignements d'une jeune espèce, *Spartina anglica* C.E. Hubbard (Poacées) ». Doctorat effectué au sein du laboratoire Ecobio UMR 6153, sous la direction de M. Ainouche.

Thématiques de recherche

Mes recherches se développent autour de deux axes, la structuration spatiale et temporelle de la diversité génétique des plantes (phylogénies, phylogéographies, génétiques géographique et du paysage) et la distribution spatiale et écologique des populations végétales en milieu hétérogène. Ces deux axes se lient aux problématiques appliquées de biologie de la conservation et de vulnérabilité écologique : les changements environnementaux s'accompagnent d'une destruction des habitats et aussi d'une rupture de processus écologiques tels que le recrutement démographique et la migration qui sont eux eux mêmes des éléments clés de l'évolution. Ainsi ces études visent à comprendre la persistance des plantes dans des milieux hétérogènes, fragmentés et changeant, et la réponse évolutive y participant.

Trois Publications sur le thème :

- Migliore J, Baumel A, Juin M, Diadema K, Hugot L, Verlaque R, Médail F. Genetic diversity and structure of a Mediterranean endemic plant in Corsica (*Mercurialis corsica*, Euphorbiaceae). *Population Ecology*, in press
- Youssef S, Baumel A, Véla E, Juin M, Dumas E, Affre L, Tatoni T. Factors underlying the narrow distribution of the Mediterranean annual plant *Arenaria provincialis* (Caryophyllaceae). *Folia Geobotanica*, in press
- Campagne P, Baumel A, Affre L, Juin M., Duong N., Roche P., Tatoni T 2009. Genetic signs of connectivity in *Primula vulgaris* (Primulaceae) in a hedgerow network landscape. *CRAS* 332:652-661.

Curriculum Vitae de B. Fady

Bruno Fady est un généticien avec une solide formation en écologie et une expérience longue de 20 ans sur les écosystèmes forestiers méditerranéens. Après une licence en biologie cellulaire obtenue à l'Université Paris 6 Pierre et Marie Curie en 1982, il s'est dirigé vers des études d'écologie et a obtenu son doctorat en génétique et écologie de l'Université Paul Cézanne Aix-Marseille en 1990. Depuis, il a travaillé dans de nombreux domaines de la génétique et de l'écologie forestières, allant de l'amélioration génétique à la conservation des espèces rares et menacées. Ces recherches se sont concrétisées par plus de 50 articles dans des revues internationales. Ses activités actuelles concernent l'étude de la biodiversité à l'échelle des gènes et du système de reproduction des arbres forestiers méditerranéens et/ou en situation de marge écologique. Plus particulièrement, il s'intéresse à comment la diversité génétique et phénotypique se structure à différentes échelles biogéographiques et sous l'effet de contraintes naturelles ou d'origine humaine.

Bruno Fady est actuellement Directeur de Recherche au laboratoire d'Ecologie des Forêts Méditerranéennes (INRA-URFM) à Avignon, France, responsable du groupe « Biologie des Populations et Evolution » de ce laboratoire (16 personnes, chercheurs, ingénieurs et techniciens).

Bruno Fady développe aussi des activités de partenariat, à l'interface entre science, société et gestion. Outre une implication dans des conférences grand public et en direction des gestionnaires d'espaces naturels dans le domaine de la conservation de la biodiversité forestière, il est membre du programme français de conservation des ressources génétiques forestières (CRGF). Il a été responsable (2005-2009) d'un réseau thématique du programme européen de conservation des ressources génétiques forestières (EUFORGEN), dans le cadre de l'initiative interministérielle sur la protection des forêts en Europe (FOREST EUROPE).

Trois publications sur le thème :

- Sagnard F., Oddou-Muratorio S., Pichot C., Vendramin G.G., Fady B., 2010. Effect of seed dispersal, adult tree and seedling density on the spatial genetic structure of regeneration at fine temporal and spatial scales. *Tree Genetics and Genomes* 7, 37-48.
- Fady B., Conord C., 2010. Macroecological patterns of species and genetic diversity in vascular plants of the Mediterranean Basin. *Diversity & Distributions*, 16(1), 53-64.
- Cheddadi R., Fady B., François L., Hajar L., Suc J.P., Huang K., Demarteau M., Vendramin G.G., 2009. Putative glacial refugia of *Cedrus atlantica* from Quaternary pollen records and modern genetic diversity. *Journal of Biogeography*, 36, 1361–1371.

Références citées

Alvarez N, Thiel-Egenter C, Tribsch A, et al., 2009. History or ecology? Substrate type as a major driver of patial genetic structure in Alpine plants. *Ecology Letters*, 12(7), 632-640.

Fady B., Conord C., 2010. Macroecological patterns of species and genetic diversity in vascular plants of the Mediterranean Basin. *Diversity & Distributions*, 16(1), 53-64.

Moritz C., 2002. Strategies to protect biological diversity and the evolutionary processes that sustain it. *Systematic Biology*, 51(2), 238-254.

Myers N, Mittermeier RA, Mittermeier CG, et al., 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, 403(6772), 853-858.

Quézel P., Médail F., 2003. *Ecologie et biogéographie des forêts du bassin méditerranéen*. Elsevier, Paris.