

Conserver les ressources génétiques du pin sylvestre en France : pourquoi, comment ?

L'article précédent a exposé les enjeux et la « philosophie » de la conservation *in situ* des ressources génétiques forestières. Voyons maintenant comment on les décline dans le cas d'une essence donnée, en l'occurrence le pin sylvestre, pour concevoir puis installer un réseau pertinent.

Une essence résineuse majeure du paysage forestier national

Le pin sylvestre couvre près de 1 310 000 ha, soit 8 % de la surface forestière française de production (figure 1). Il représente 6 % du volume de bois sur pied disponible en France et 15,9 % du volume sur pied de conifères (IFN 2006). Sur 73 500 ha (6,4 %), ces peuplements proviennent de reboisements réalisés massivement depuis le milieu du 19^e siècle, principalement sur les sols pauvres ou à tendance hydromorphe des régions de plaine du nord de la France. Dans la moitié sud, le pin sylvestre constitue souvent l'essence prédominante des forêts d'altitude et de versants secs du Massif Central et des Alpes et occupe une aire appréciable en région bioclimatique méditerranéenne, toujours dans l'étage montagnard. L'importante progression des surfaces couvertes, depuis le début du 20^e siècle, s'expliquerait simultanément par une recolonisation naturelle liée à la déprise agricole et pastorale et par les efforts de reboisements préconisés au début du siècle dernier (Barbero *et al.* 1990).

Une situation marginale au sein de l'aire naturelle de distribution

L'aire naturelle du pin sylvestre (figure 2) est la plus importante au sein du genre *Pinus* : 148° de

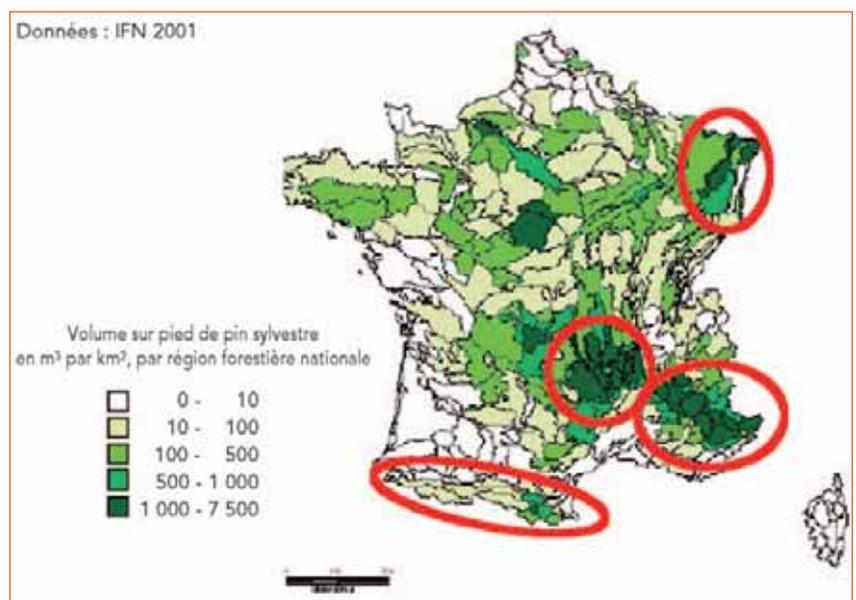


Fig. 1 : répartition et importance (en volume) du pin sylvestre en France. Sont entourées en rouge les régions comportant des populations autochtones de pin sylvestre.

longitude, du Portugal à la mer d'Okhotsh, 33° de latitude de la Sierra Nevada au Cap Nord. A l'échelle de la France, seules les populations naturelles du quart Nord-Est telles que Haguenau, Bitche ou Wangenbourg peuvent être rattachées à la partie continue de l'aire naturelle. Dans la partie sud de l'aire naturelle française, les autres populations (Massif Central, Sud des Alpes et Pyrénées) présentent un important morcellement qui peut s'expliquer par une action humaine ancienne beaucoup plus marquée

qu'au nord et par des contraintes édaphiques et hygrométriques fortes. Ces dernières se traduisent par une grande variété de conditions écologiques comme l'illustre la diversité des habitats naturels à pin sylvestre recensés dans la moitié sud du pays (figure 3). Les populations naturelles de pin sylvestre de ces régions pourraient ainsi avoir développé des spécificités adaptatives d'intérêt, en particulier à des conditions thermiques et hydriques sévères.

Des histoires postglaciaires

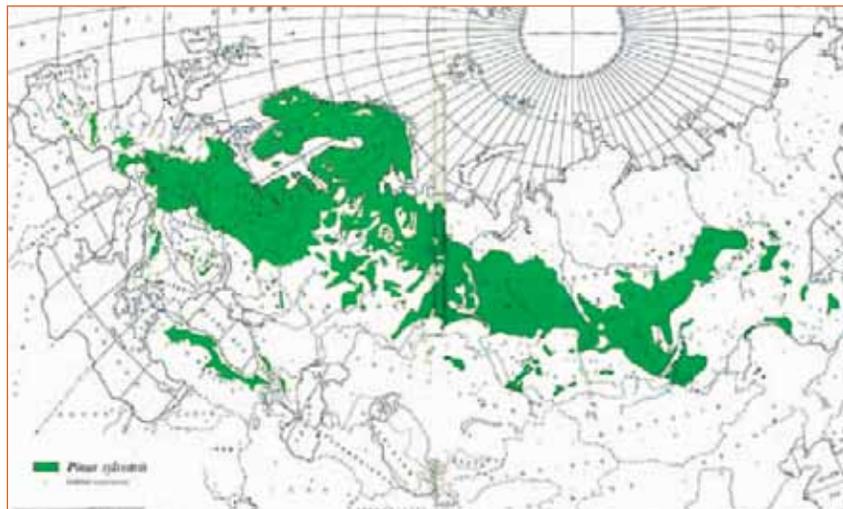


Fig. 2 : aire naturelle de distribution du pin sylvestre (d'après Critchfield et Little, 1966)

Les populations naturelles françaises se situent aux marges sud-ouest de cette aire.

42.5 Forêts de pin sylvestre

- 42.52 Forêts de pin sylvestre médio-européennes
 - 42.521 Forêts subcontinentales
 - 42.5212 Forêts de pin sylvestre des plaines occidentales
 - 42.522 Forêts hercyniennes
 - 42.5223 Forêts de pin sylvestre des Vosges
- 42.53 Forêts steppiques intra alpines à *Ononis*
- 42.54 Forêts de pin sylvestre à *Erica herbacea*
- 42.55 Forêts steppiques intra alpines à *Minuartia*
- 42.56 Forêts mésophiles Pyrénéennes de pin sylvestre
 - 42.561 Forêts mésophiles calcicoles pyrénéennes de pin sylvestre
 - 42.562 Forêts mésophiles acidiphiles pyrénéennes de pin sylvestre
- 42.57 Forêts de pin sylvestre du Massif Central
- 42.58 Forêts mésophiles de pin sylvestre des Alpes sud occidentales
- 42.59 Forêts supra méditerranéennes de pin sylvestre
 - 42.591 Forêts pré-alpines à buis
 - 42.592 Forêts pré-pyrénéennes à buis
- 42.5B Forêts ibériques silicicoles de pin sylvestre
- 42.5E Reboisements de pin sylvestre

44 A2 Bois tourbeux de pin sylvestre

Fig. 3 : habitats naturels à pin sylvestre recensés en France selon la typologie Corine Biotope

En brun les habitats du Nord-Est, en vert les habitats méridionaux, en bleu les boisements artificiels

différentes au nord et au sud

Les populations naturelles du quart Nord-Est, comme Haguenau, Bitche ou Wangenbourg, sont considérées comme des populations quaternaires ayant évolué depuis environ 100 générations après avoir atteint leur limite ouest

de recolonisation postglaciaire à partir de foyers d'Europe centrale (figure 4). Par contre, toutes les populations autochtones du Massif Central, du sud des Alpes et des Pyrénées peuvent être considérées comme des reliques d'âge tertiaire qui se sont réfugiées et maintenues à des altitudes supérieures à

1 000 m durant les périodes interglaciaires puis qui ont recolonisé le territoire plus récemment et ce de manière limitée (Lange et Weibman 1988 ; Cheddadi et al. 2006).

Par suite de leur isolement géographique dû au relief, les populations naturelles de pin sylvestre de ces régions méridionales accidentées peuvent avoir connu des évolutions très différentes sur des distances parfois faibles, au sein d'un même massif montagneux.

Une structuration mal connue de la diversité génétique

Différents outils pour des réponses complémentaires

Pour décrire l'organisation et l'ampleur de la diversité et de la variabilité génétiques d'une espèce, deux grands types d'outils sont disponibles : les marqueurs moléculaires et les marqueurs phénotypiques.

Les premiers renseignent sur la diversité dite neutre, en particulier sur l'histoire passée mais aussi sur l'impact des forces évolutives (dérive, migration), les flux de gènes et le régime de reproduction. En revanche, ils n'informent pas sur la variabilité adaptative et la plasticité des populations.

Les marqueurs phénotypiques sont utilisés pour mesurer l'impact de la sélection naturelle et anthropique sur les populations évaluées dans les tests de provenances multisites (ONF, 2004). Phénologie du débourrement, de la floraison ou de l'aoûttement, vigueur (reprise, croissance en diamètre et en hauteur), architecture ou qualité du bois constituent les marqueurs les plus souvent employés.

A l'échelle de l'aire naturelle, l'organisation de la diversité génétique neutre du pin sylvestre commence à être mieux cernée grâce à plusieurs travaux récents (Cheddadi et al. 2006) mais les populations françaises méridio-

nales y sont malheureusement peu ou pas représentées. A l'échelle du territoire national, si les populations de plaine ont fait l'objet de nombreuses études comparatives (tests de provenances multisites INRA, marqueurs moléculaires variés), aucune caractérisation précise des ressources génétiques présentes dans la partie sud de l'aire naturelle française n'a été entreprise jusqu'ici. Seules des analyses de composés secondaires des aiguilles (terpènes, phénols) soulignent l'originalité des peuplements naturels du Massif Central (Lebreton et al. 1990). Réparties dans des massifs montagneux isolés les uns des autres et soumises à des conditions pédoclimatiques très variées (figure 3), ces populations pourraient avoir acquis des caractéristiques génétiques originales. Les mesures de la variabilité génétique au sein des populations actuelles et de leur degré de différenciation génétique s'avèrent donc indispensables pour raisonner leur gestion (conservation, règles de transfert d'autres matériels forestiers de reproduction (MFR)) et les valoriser (zones optimales d'utilisation comme MFR).

Des menaces nombreuses et pressantes

Plusieurs facteurs viennent menacer aujourd'hui l'organisation et la dynamique de la diversité génétique des populations naturelles de pin sylvestre en France :

depuis plusieurs siècles, des transferts importants de graines ont été effectués à travers l'Europe, induisant des brassages importants entre populations allochtones et autochtones. L'intensité de ces échanges et les lacunes des archives forestières rendent délicate l'identification de peuplements véritablement autochtones. A ces risques d'hy-

bridation intraspécifique, liés à l'action humaine, s'ajoutent en région de montagne les phénomènes naturels d'hybridation interspécifique avec le pin à crochets *P. uncinata* ; il ne s'agit pas d'une menace *sensu stricto* mais d'une cause de modification possible du patrimoine génétique de certaines populations de pin sylvestre ;

plusieurs événements climatiques violents, et en particulier la tempête de 1999, ont conduit à la destruction physique de nombreux peuplements adultes, réduisant parfois drastiquement le nombre d'arbres assurant la régénération naturelle dans les peuplements autochtones. La ressource autochtone « Haguenau » a ainsi été fortement affectée et il ne subsiste plus, parmi les parcelles autochtones les plus âgées, que des reliquats de peuplements à faible densité ;

les régions méditerranéennes souffrent régulièrement d'incendies de forêt importants réduisant drastiquement les surfaces boisées. Le pin sylvestre est touché, comme les autres essences.

depuis 1990 des dépérissements observés dans le Sud-Est de la France ont pu être associés à une chute significative de la productivité des peuplements de pin sylvestre (Vennetier et al., soumis). Il est d'ailleurs important de noter que les zones d'autochtonie du pin sylvestre (montagnes, zone méditerranéenne) seront particulièrement affectées par les changements climatiques à venir. On peut également ajouter dans plusieurs régions (Massif Central, Pyrénées) l'existence de peuplements âgés de pin sylvestre dominant une régénération naturelle abondante et vigoureuse de sapin pectiné qui laisse très peu de possibilité d'un renouvellement en pin sylvestre sans intervention sylvicole lourde.

Des actions de conservation déjà engagées

Les mesures effectives de conservation des ressources génétiques du pin sylvestre en France se limitent actuellement aux seules populations naturelles de plaine du quart Nord-Est. Concrètement, elles se présentent ainsi :

une plantation conservatoire *in situ* de 13 hectares de la ressource « Haguenau », située en FD de Haguenau a été installée par l'INRA entre 1987 et 1989 à partir de graines récoltées sur 407 arbres choisis dans 19 parcelles autochtones de ce massif. Le renouvellement systématique, en origine « Haguenau autochtone », des parcelles de pin riveraines de cette plantation conservatoire assurerait sa protection contre des apports de graines et pollen d'autres origines. Cette plantation pourrait alors, à maturité sexuelle, devenir une source supplémentaire de graines autochtones.

Plusieurs collections *ex situ* de populations naturelles du Nord-Est (Haguenau, Bitche) gérées par l'INRA. Deux de ces collections constituent la base génétique de programmes d'amélioration à long terme et de création variétale. Elles sont constituées respectivement de 225 clones (Haguenau) et 240 clones (Bitche), copies végétatives d'arbres sélectionnés phénotypiquement dans ces massifs et installées chacune sur deux sites (pour Haguenau : Orléans et Cadouin ; pour Bitche : Cendrieux et Peyrat le Château) à raison de 3 copies greffées par clone et par site.

Le verger à graines de pin sylvestre « Haguenau-Vayrière » installé sur 4,5 hectares dans le Lot entre 1988 et 1993, peut être considéré comme représentatif de la population autochtone du massif de Haguenau : il est constitué à partir de 191 clones sélectionnés dans 30 parcelles

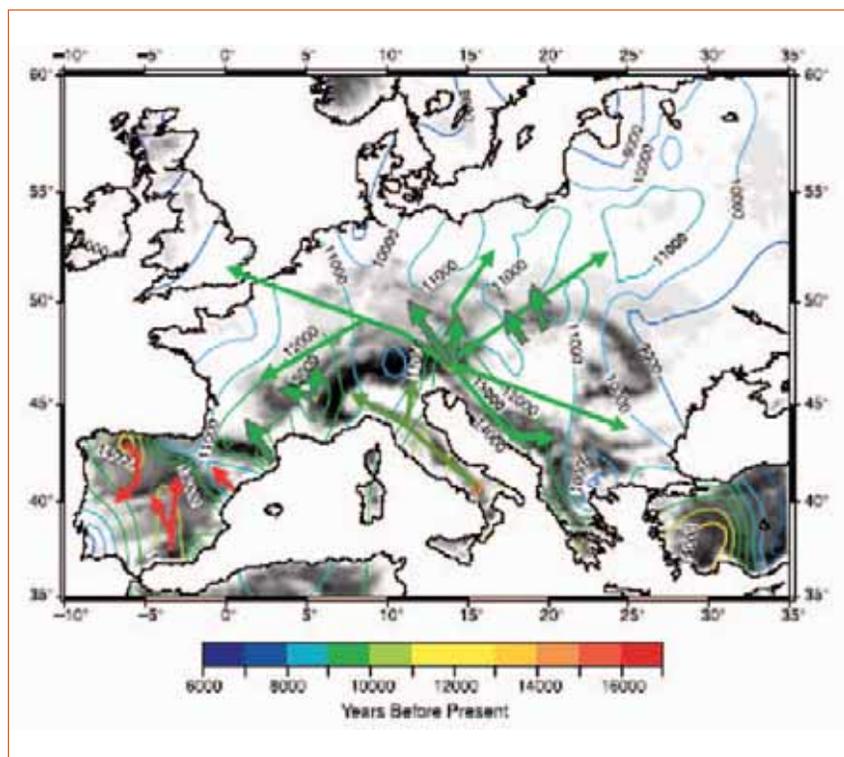


Fig. 4 : principaux refuges glaciaires et routes de recolonisation postglaciaires du pin sylvestre en Europe

Reconstitués en combinant des résultats d'analyses de pollen, de macrorestes fossiles et de marqueurs moléculaires (Cheddadi et al. 2006).

autochtones sur des critères phénotypiques de vigueur, de forme et de densité du bois. Il est désormais entré en production (première récolte commerciale en 2006) et représente aujourd'hui la seule source de graines « Haguenau autochtone » authentifiée et de qualité, grâce à son isolement de toute pollution pollinique et à sa diversité génétique. Dans ce cas original, la conservation des ressources génétiques est aussi assurée par l'emploi d'une variété forestière améliorée !

Un choix localement raisonné des sources de semences, combinant conservation et reforestation, assure aussi au quotidien une gestion optimale de la diversité génétique. La démarche entreprise depuis 2005 par les agences

ONF des Pyrénées-Atlantiques et Hautes-Pyrénées¹, en partenariat avec le Conservatoire Botanique Pyrénéen et le CGAF, illustre ce souci de conservation des ressources génétiques locales dans le cadre particulier de boisements d'altitude. Ont ainsi été réalisés le repérage de peuplements autochtones fructifères de pin sylvestre, l'identification d'îlots récoltables, la rédaction d'un cahier des charges pour la production de plants et l'information et la sensibilisation des acteurs locaux (administrations, collectivités, stations de ski). Les premières récoltes de semences et la mise en culture de provenances locales ont vu le jour en 2005-2006, afin d'approvisionner, en semences locales, les chantiers de reboisement RTM et de réhabilitation

paysagère en stations de ski dès 2008.

Un plan d'action au niveau national

Face aux différentes menaces sur les ressources naturelles de pin sylvestre et au caractère partiel des mesures de conservation existantes, l'INRA Orléans et le CGAF ont élaboré un projet d'inventaire et de caractérisation des populations naturelles existantes en vue de la constitution d'un réseau national d'unités conservatoires *in situ* (voir dans ce même numéro l'article sur les réseaux de conservation *in situ*). Ce programme a été officiellement approuvé fin 2006 par la Commission des Ressources Génétiques Forestières (CRGF). Sa réalisation en plusieurs étapes s'étalera sur 3 ans (2007-2009).

Recherche de peuplements autochtones de référence

Cette première étape sera conduite dans les 3 zones méridionales d'autochtonie : chaîne pyrénéenne, Alpes du sud, et Massif Central. Ces massifs seront subdivisés en grands bassins orographiques afin de tenir compte d'une éventuelle structuration géographique de la diversité génétique consécutive à un isolement dû au relief (Robledo-Arnuncio et al. 2005). Dans chaque bassin-versant, seront recherchés des peuplements pour lesquels l'origine génétique naturelle locale peut être garantie sur plus de deux générations. Les bassins versants comportant une dénivellée importante seront échantillonnés à haute et à basse altitude. Dans les zones de contact entre *Pinus sylvestris* et *Pinus uncinata*, la prospection sera réalisée selon un gradient *P. sylvestris* - *P. uncinata* incluant les zones hybrides potentielles. Enfin, une attention particulière sera apportée aux zones marginales au

¹ Ce projet, intitulé « Pour une valorisation des provenances locales de Pins à crochets et sylvestre et de Peuplier noir dans les Pyrénées occidentales », est soutenu techniquement et financièrement par le Comité de Massif Pyrénées, les Départements des Pyrénées-Atlantiques et des Hautes-Pyrénées, l'Agence de l'Eau Adour Garonne, le MAP et le FEDD-ONF.

Introgression entre pin sylvestre et pin à crochets

L'existence même d'hybrides entre *P. sylvestris* et *P. uncinata* fait l'objet d'une abondante littérature mais l'estimation de l'importance de cette hybridation n'a pu à ce jour être quantifiée faute de critères fiables de caractérisation des individus hybrides. Elle peut cependant être abordée par différentes approches :

- vérifier la réalité biologique de l'hybridation entre ces deux pins en réalisant des croisements contrôlés réciproques entre essences et en mesurant le succès de ces croisements (nombre de graines pleines et viables obtenues) ;
- évaluer, en peuplements *in situ* et sur plusieurs années, la synchronie des floraisons mâles et femelles entre espèces, afin de déterminer d'une part un éventuel sens privilégié d'hybridation et d'autre part l'intensité de ces croisements possibles (nombre de reproducteurs compatibles, durée commune de réceptivité des fleurs mâles et femelles) ;
- mesurer, pour chaque espèce, les facteurs favorables à une hybridation spontanée, comme le potentiel reproducteur ou la capacité de dispersion ;
- rechercher et mettre au point d'éventuels marqueurs moléculaires discriminant les deux essences et leurs hybrides et les utiliser pour quantifier les évènements d'introgression.

Un projet sur ce thème, associant le conservatoire génétique des arbres forestiers (CGAF), le conservatoire botanique des Pyrénées et l'INRA Orléans, démarre en 2007 avec un financement FEDD de la DEDD-ONF.



P. Aspe, ONF-Inra

Mélange pied à pied de pin sylvestre et pin à crochets, vallon du Marcadau (65). C'est ici qu'a été décrite dans les années 30 l'une des multiples formes hybrides entre ces deux espèces, sous le nom de pin de Bouget.

plan écologique (tourbières par ex.) afin d'échantillonner correctement la diversité écologique des habitats naturels du pin sylvestre.

Le bassin-versant (ou population) constitue l'unité de base pour laquelle le régime de reproduction est supposé panmictique

(croisements équiprobables entre individus). Ce niveau « bassin-versant » servira à mesurer le degré de différenciation génétique entre populations. L'analyse d'au moins deux peuplements par bassin-versant permettra cependant d'évaluer l'hétérogénéité de la diversité génétique à cette

échelle géographique réduite, en particulier entre peuplements d'altitudes différentes.

Au total, le nombre de peuplements autochtones recherchés peut être estimé à 50, répartis dans une trentaine de bassins versants. Sont principalement concernées par cette prospection 2007 - 2008 les directions territoriales Auvergne - Limousin, Sud-Ouest et Méditerranée.

Caractérisation des peuplements autochtones retenus

Chaque peuplement sera d'abord rattaché à l'un au moins des 13 types d'habitats naturels du pin sylvestre (typologie Corine Biotope) recensés en France. Cette caractérisation des habitats, prévue en 2008, constitue une approche indirecte de la mesure de la variabilité génétique du pin sylvestre à l'échelle du territoire national (adaptation à la gamme des conditions pédoclimatiques décrites par le type d'habitat naturel). Elle sera complétée par des données stationnelles classiques (altitude, exposition, pente, substrat...).

La caractérisation des ressources génétiques se fera à l'aide de marqueurs moléculaires neutres : sont retenus les marqueurs moléculaires microsatellites les plus variables, nucléaires (3) et chloroplastiques (3). On analysera 30 individus adultes par population avec ces 6 marqueurs, en 2008 et 2009. La répartition de l'effort d'échantillonnage entre nombre de peuplements (50) et nombre d'arbres analysés par peuplement (30) permettra de révéler, si elles existent, des différences génétiques entre populations.

En combinant ces deux approches, c'est bien l'ensemble des facteurs expliquant l'organisation et la dynamique de la diversité naturelle des populations de pin sylvestre échantillonnées qui sera évaluée.

Les résultats attendus

La mesure de la diversité génétique neutre de chaque population étudiée et l'analyse du niveau de différenciation génétique entre les populations échantillonnées serviront à caractériser l'organisation spatiale de cette diversité au sein de l'aire naturelle du pin sylvestre en France. En découlera la sélection d'un échantillon représentatif de peuplements, contribution des populations méridionales de pin sylvestre au futur réseau national de conservation des ressources génétiques. Des règles de transfert du matériel végétal au sein d'un même bassin-versant, entre bassins versants et entre massifs montagneux, pourront en outre être définies pour limiter les risques de perturbation de l'organisation actuelle de la diversité génétique du pin sylvestre dans ces régions.

Complétés par les données déjà disponibles sur les populations de plaine du Nord-Est et couplés à la caractérisation des habitats naturels, ces résultats aboutiront fin 2009 à la sélection d'une trentaine de peuplements composant le réseau national d'unités conservatoires représentatives de la variabilité observée (via les habitats naturels) et de la diversité mesurée (via les marqueurs moléculaires neutres). En outre, les apports d'autres travaux en cours sur pin sylvestre (thèse INRA / ONF : mesures de flux de gènes intra et inter parcelles, incidences de la répartition spatiale de semenciers sur la qualité génétique des graines et semis) permettront de préciser les dispositions techniques de la future charte de gestion de ces unités conservatoires.

A cette stratégie de conservation *in situ*, pourront s'ajouter des propositions de sauvegarde *ex situ* de certains des peuplements

prospectés, selon le degré de menaces observé et leur originalité stationnelle et génétique. Ces mesures compléteront les actions de conservation *ex situ* déjà mises en place pour les populations du Nord-Est.

Catherine Bastien

INRA Orléans, Unité amélioration génétique et physiologie forestière
catherine.bastien@orleans.inra.fr

Alain Valadon

ONF, Conservatoire génétique des arbres forestiers
valadon@onf.fr

Bibliographie

BALSEMIN E., COLLIN E., 2004. Conservation *in situ* des ressources génétiques des arbres forestiers en France métropolitaine. Ingénierie 40 : pp. 51-60.

BARBERO M., BONIN G., LOISEL R., QUÉZEL P., 1990. Changes and disturbances of forest ecosystems caused by human activities in the western part of mediterranean basins. Vegetatio. 87, pp. 151-173

CHEDDADI R., VENDRAMIN GG., LITT T., FRANÇOIS L., KAGEYAMA M., LORENTZ S., LAURENT JM., DE BEAULIEU JL., SADORI L., JOST A., LUNT D., 2006. Imprints of glacial refugia in the modern genetic diversity of *Pinus sylvestris*. Global Ecol. Biogeogr. 15, pp. 271-282.

CRITCHFIELD WB., LITTLE EL., 1966. « Geographic distribution of the Pines of the World ». USDA Forest Service Misc. Publication 991.

FORREST GI, 1982. Relationship of some european Scots pine populations to native scottish woodlands based on monoterpane analysis. Forestry 55 (1), pp. 19-37

IFN, 2006. La forêt française. Les résultats de la campagne de levé 2005. 113 p.

LANGE W., WEIBMANN G, 1988. Die Zusammensetzung der Harzbalsame von *Pinus sylvestris* L. verschiedener Herkünfte. Hols als Roh- und Werkstoff 46, pp. 157-161.

LEBRETON P, LARACINE-PITTE C., BAYET C., LAURANSON J., 1990. Variabilité polyphénolique et systématique du pin sylvestre *Pinus sylvestris* L. Ann Sci For 47, pp. 117-130.

ONF, 2004. Diversité génétique des arbres forestiers : un enjeu de gestion ordinaire. Rendez-vous Techniques de l'ONF, hors-série n°1, 130 p.

ROBLEDO-ARNUNCIO JJ, COLLADA C, ALIA R, GIL L, 2005. Genetic structure of montane isolates of *Pinus sylvestris* L. in a Mediterranean refugial area. Journal of Biogeography 32, pp. 595-605

VENNETIER M., THAABET A., GADBIN-HENRY C., RIPERT C., PREVOSTO B., BORNIET L., VILA B., GUIBAL F., RAY R., BURON V., ZANETTI C. 2007 (sous presse). Conséquences de la canicule et de la sécheresse 2003 sur les pins méditerranéens. In Landman G. (ed.) "Sécheresse et canicule 2003. Contribution des dispositifs de suivi et d'observation des forêts à la quantification des effets immédiats et à court terme". ECOFOR.