



Rapport d'avancement de projet (2015-2017)

Histoire et adaptation de la flore de haute montagne dans un contexte de changement climatique: le cas du Massif des Ecrins

Partenaires scientifiques du projet

Laboratoire d'Ecologie Alpine (LECA)
CNRS - Université Grenoble Alpes
Sébastien Lavergne



Parc National des Ecrins (PNE)
Domaine de Charance, Gap
Cédric Dentant



Résumé du projet et de son avancement :

La haute montagne est un milieu naturel singulier où la rudesse des conditions climatiques rend la vie particulièrement difficile: températures extrêmes, forte pente, milieux rocheux aux sols peu profonds et importante sécheresse estivale. De ce fait, un nombre très restreint d'espèces végétales possède les aptitudes physiologiques pour s'adapter et survivre dans de telles conditions. Malgré le caractère patrimonial de certaines de ces espèces, les connaissances sur les espèces et communautés végétales de haute montagne sont extrêmement limitées, principalement en raison de la difficulté physique et logistique à les étudier. L'analyse de la distribution des espèces végétales, en particulier à la lumière de données génétiques, serait particulièrement intéressante pour comprendre les mécanismes écologiques et historiques qui structurent les communautés végétales de ces écosystèmes en *îles continentales* que constituent les hauts sommets alpins. En dehors d'objectifs de recherche fondamentaux, ces connaissances sont intéressantes pour faire progresser notre connaissance sur le patrimoine végétal de haute montagne, peu étudié et très exposé au changement climatique. Ceci fait l'objet du programme 'écologie verticale' depuis sa mise en place en 2009 par le LECA et le PNE.

Ce projet avait pour but d'initier des travaux de biogéographie des plantes de haute montagne, en s'intéressant tout particulièrement à la flore des hauts sommets ('skyline') du Parc National des Ecrins. Voici les principaux objectifs du projet ainsi que leur état d'avancement :

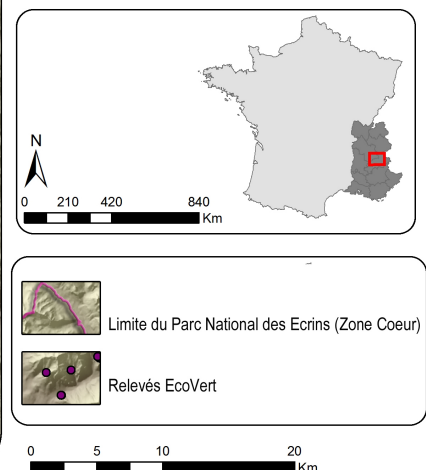
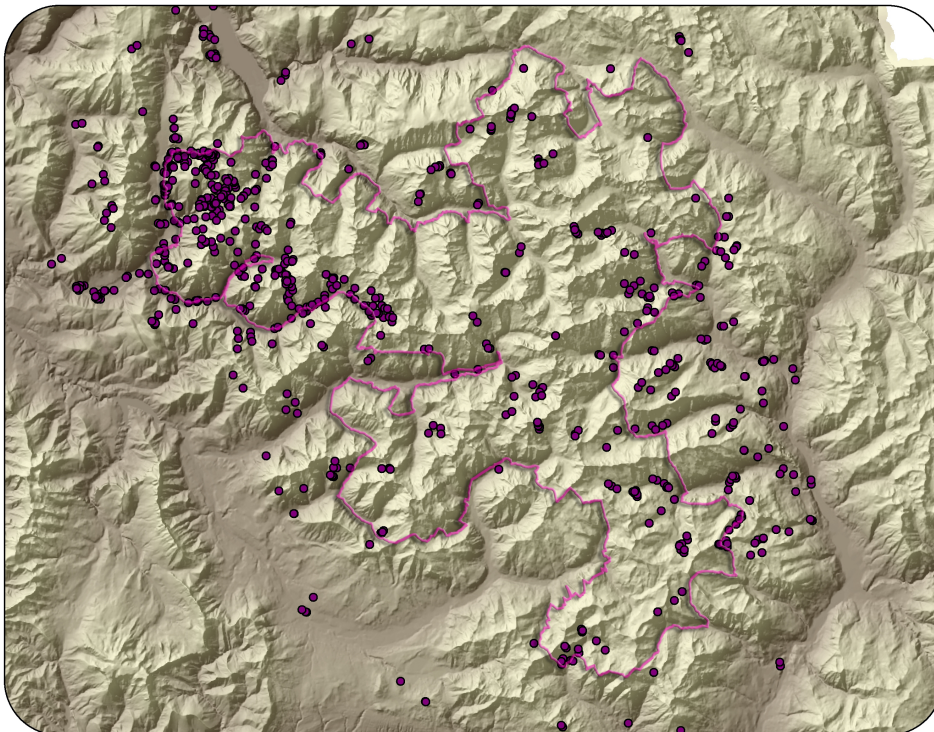
- à partir des données récoltées depuis le début du programme (2009), établir un état des lieux botanique des hauts sommets des Ecrins. Les analyses de données montrent que la flore alticole des Ecrins est désormais très bien connue, et des patrons de diversité des différents sommets fournissent des données intéressantes pour les enjeux de conservation de cette flore.
- réaliser une analyse génétique de cette flore, en analysant la structure génétique de populations de certaines espèces modèles, et en analysant la structure phylogénétique (la structure entre différentes lignées évolutives) de la flore entière des différents sommets. De nouveaux marqueurs génétiques ont été développés, selon la technologie dite de ddRADseq, et pourront être utilisés bientôt pour analyser la structure des populations de plusieurs espèces modèles. L'analyse de la structure phylogénétique des flores sommitales est terminée, et fait déjà l'objet d'une publication soumise à un journal international.

I. Echantillonnage et état de lieux de la flore de haute montagne des Ecrins

Protocole et avancement de l'échantillonnage : L'échantillonnage s'est concentré sur les sommets proéminents et parois orientées au sud, où se situe la plus grande partie des flores alticoles. Différents sommets ont été prospectés depuis le début de ce programme de recherche en 2009. **Pendant la durée du présent projet (2015-2016), l'échantillonnage a été complété par l'étude de sommets du Parc National des Ecrins se situant sur les frontières du département Isère.** Ceux-ci sont les crêtes et arêtes de la réserve du Lauvitel, et le secteur de la Grande Ruine (sommets de la Tour Choisy et de la pointe Brevoort). Il est à noter que l'échantillonnage a été complété grâce à une action de science participative avec les alpinistes professionnels Lionel Daudet et Mathieu Cortial, lors de leur projet '[Le Soleil des Ecrins](#)', qui ont réalisé des relevés photographiques le long d'autres voies d'alpinisme que celles empruntées par les partenaires du projet. Ceci a été un complément précieux pour la base de données floristique des hauts sommets utilisée par la suite dans ce projet.

L'échantillonnage a été mené à la fois sur les parties basses des sommets — immergées sous les glaces pendant les glaciations — et sur les parties hautes, a priori émergées des glaces pendant les glaciations. Le caractère immergé ou émergé des zones prospectées est estimé grâce à l'analyse géomorphologique et isotopique des roches, réalisée au laboratoire ISTERRE (Université Grenoble Alpes). L'échantillonnage a été réalisé en parcourant des voies d'alpinisme classiques, sur une fourchette altitudinale couvrant les étages alpin et nival, généralement à partir de 2200m d'altitude et jusqu'aux sommets même considérés (donc 4102m pour la Barre des Ecrins). L'ensemble des relevés réalisés pendant la durée totale du programme (2009-2016) est représenté en Figure 1.

Localisation des relevés



Réalisation: Julien Renaud - LECA / Source des données: Parc des Ecrins

Figure 1 : Localisation de tous les relevés de haute montagne réalisés dans le cadre du programme 'écologie verticale' depuis son début en 2009.

Etat des lieux floristique des hauts sommets des Ecrins : L'accumulation de ces données sans précédent pour un parc national alpin a permis de quantifier la diversité de cette flore alticole. **Dans l'ensemble des sommets visités, presque 300 espèces végétales vasculaires (298 très exactement) ont été répertoriées sur les hauts sommets des Ecrins.** En comparant aux 1288 espèces présentes dans les relevés botaniques effectués sur l'ensemble du Parc National (c'est à dire à toute altitude), cela signifie qu'**un quart de la flore du PNE peut se trouver à haute altitude. Ceci contraste avec la vision communément répandue que la haute montagne est un désert biotique.**

Pour déterminer si les données récoltées tendent vers l'exhaustivité, nous avons réalisé une **analyse dite de « raréfaction »**. Le principe de cette analyse consiste à découper aléatoirement le jeu de données pour des nombres de relevés croissants, et de quantifier le nombre d'espèces décrites dans ce sous-échantillon de relevés – cette procédure est répétée pour obtenir des intervalles de confiance statistiques. Cette analyse permet de déterminer à quelle vitesse le nombre d'espèces répertoriées croît avec le nombre de relevés, et de déterminer si ce nombre d'espèces atteint une saturation (cesse de croître), ce qui indiquerait un échantillonnage quasi-exhaustif. La Figure 2 montre les résultats de cette analyse de raréfaction. On y voit que le nombre d'espèces décrites dans les relevés atteint bien une saturation, non seulement pour l'ensemble de la flore du Parc (Figure 2A), mais surtout pour l'ensemble des relevés du programme « écologie verticale » (Figure 2B). Ceci démontre que la flore des hauts sommets des Ecrins a atteint un bon niveau de connaissance à la suite de ce programme.

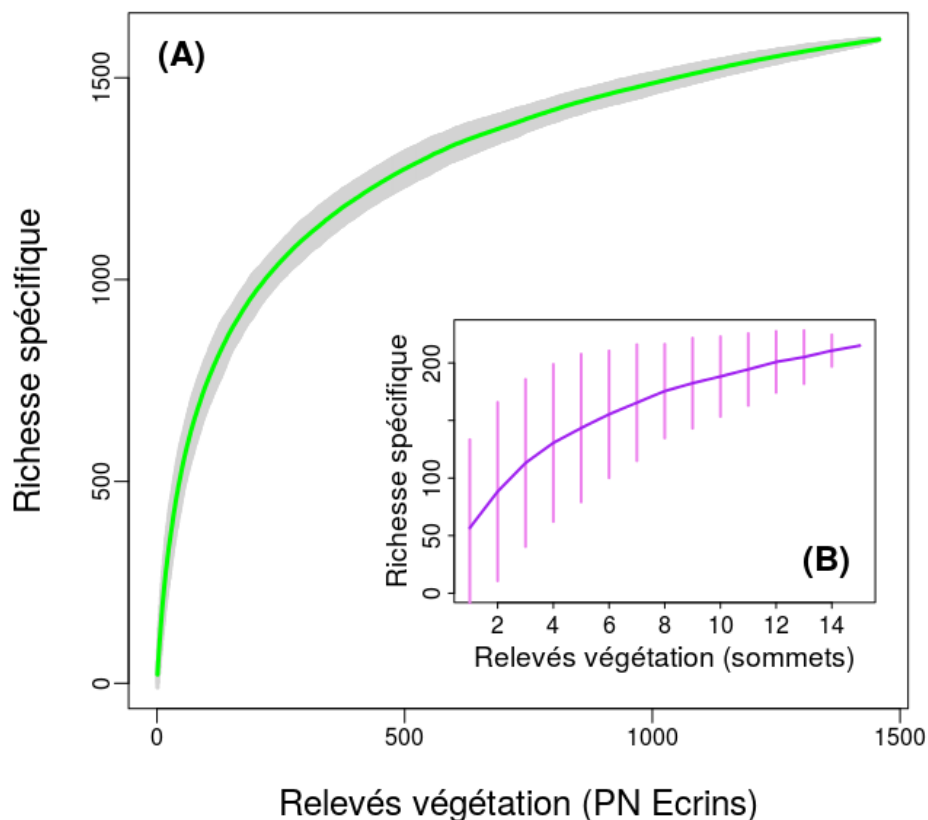


Figure 2 : Résultats de l'analyse de raréfaction pour : (A) l'ensemble des relevés botaniques réalisés dans le Parc National des Ecrins (courbe verte), avec l'intervalle de confiance à 95 % (enveloppe grise) ; (B) pour les relevés réalisés sur les hauts sommets du Parc (courbe violette), avec intervalle de confiance à 95 % (barres verticales).

II. Développement d'analyses génétiques sur espèces cibles

Rappel du contexte scientifique : La région alpine a été fortement modelée par les oscillations climatiques qui ont eu lieu depuis le début de l'ère quaternaire (-2,6 Ma bp), en particulier la présence de glaciers gigantesques qui ont particulièrement impacté les paysages et la distribution des espèces. Les températures basses et les importantes surfaces occupées par les glaces ont obligé nombre de taxons montagnards à migrer et trouver refuge à basse altitude ou dans des systèmes montagneux plus méridionaux. Cependant, il semble maintenant que certaines espèces alpines ont passé les périodes glaciaires sur des parois rocheuses restées immergées au milieu des glaciers (refuges dits en "nunataks"). Outre la localisation potentielle des refuges en nunataks, on ne sait pas non plus combien d'espèces ces refuges glaciaires ont-ils abrité. L'analyse conjointe de données génétiques et de distribution permettent de reconstruire la distribution passée et l'histoire de recolonisation des espèces. L'objectif de ce volet était de choisir deux espèces végétales de ce projet, *Androsace vandellii* (Turra) Chiov. et *Eritrichium nanum* (L.) Schrad. ex Gaudin afin de tester l'hypothèse dite des 'nunataks' (refuges glaciaires intra-alpins). Cet objectif a légèrement changé, puisque ce volet du projet est maintenant étendu à toutes les 6 espèces échantillonnées dans le programme (citées dans le texte du projet), et un nouveau taxon, l'*Androsace innominata* (Androsace sans nom), décrite comme une nouvelle espèce potentielle d'Androsace en 2015 (Jordan & Jacquemoud).

Développement de marqueurs génétiques de nouvelle génération : Les méthodes de génotypage par séquençage d'un grand nombre d'individus partagent toutes le fait d'utiliser des enzymes de restriction pour cibler un sous-ensemble de loci génétiques à séquencer. Une enzyme de restriction est une protéine qui peut couper un fragment d'ADN au niveau d'une séquence de nucléotides caractéristique appelée site de restriction (chaque enzyme reconnaissant un motif d'ADN différent). L'utilisation de ces enzymes permet de découvrir de nouveaux marqueurs de polymorphisme et de génotyper dans le même temps un ensemble d'individus pour ces marqueurs.

Le ddRADSeq est une technique de génotypage par séquençage particulièrement utilisée lors de l'étude d'espèces ne possédant pas de génome de référence. Elle cible à travers tout le génome une courte séquence reconnue par une enzyme de restriction choisie, pour ensuite séquencer les courtes régions adjacentes à ces sites, le but étant ensuite d'y détecter des polymorphismes génétiques – différences de séquences entre individus, populations ou espèces. L'émergence des technologies de séquençage nouvelle génération (NGS), et notamment du séquençage massivement parallèle (technologie Illumina) facilitent le développement de protocole du RADSeq et son application à des échantillons récoltés en nature, et ce sur plusieurs espèces.

Résultats du développement de protocole RADseq et perspectives :

-*Eritrichium nanum*: cette espèce est la seule à donner des résultats négatifs. Aucun des individus testés n'a donné un bon rendement en terme d'ADN. Ce résultat est à rapprocher de notre expérience passée (dans le cadre du programme PhyloAlps) sur d'autres espèces de cette famille (Borraginacées), pour lesquelles il a été très difficile d'obtenir de l'ADN de qualité, peut être à cause de la présence d'inhibiteurs dans les cellules de ces espèces.

-genre *Saxifraga*: les espèces de ce genre constitue un cas idéal où le développement de protocole a été particulièrement fructueux. Il est possible d'obtenir environ 6,000 fragments d'ADN, dans lesquels environ 1,000 sont polymorphiques entre individus. Ceci signifie que le programme peut être poursuivi sur ces espèces, et que l'analyse par marqueurs ddRAD-seq va être désormais possible, à moindre coût, sur un grand nombre d'individus.

- genre *Androsace*: les résultats obtenus sur ce groupe sont plus variables. Certains individus donne un rendement d'ADN très faible ; le protocole devrait peut être amélioré par une étape de

purification afin d'augmenter le rendement minimum et la répétabilité des résultats. Parmi les individus pour lesquels le protocole a marché convenablement, il a été obtenu environ 20,000 fragments d'ADN dont 1,000 se sont révélés polymorphiques. Le protocole pourrait donc être amélioré en utilisant une autre enzyme de restriction afin de réduire le nombre de fragments obtenus, et ainsi limiter le coût d'analyse sans réduire la quantité d'information obtenues dans les données.

- **Perspectives** : Le développement de nouveaux marqueurs sur les espèces végétales du programme « écologie verticale » est particulièrement concluant. Les prochaines analyses porteront sur l'ensemble des échantillons récoltés pour les échantillons de toutes les espèces de *Saxifraga* et *Androsace* récoltés lors du programme (développement courant 2017).

III. Analyse de la diversité phylogénétique végétale des hauts sommets

Rappel du contexte scientifique : L'analyse de la distribution des espèces végétales, en particulier à la lumière de données phylogénétiques¹ est particulièrement intéressante pour comprendre les mécanismes écologiques et historiques qui structurent les communautés végétales le long de gradients environnementaux. Les hauts sommets alpins se présentent comme des écosystèmes en îles continentales, ce qui permet d'aborder leur étude dans le cadre de la Théorie de Biogéographie Insulaire (MacArthur & Wilson 1967), qui est un des grands fondements de la biologie évolutive moderne. Ce volet du projet avait pour but d'appliquer et de tester certains de ces principes théoriques, en étudiant comment les différentes lignées évolutives (représentées par la phylogénie des espèces, voir ci-dessous) se structurent au sein et entre les différents hauts sommets des Ecrins. **Ce volet a été réalisé dans le cadre de la thèse de Hannah Marx (co-direction Université de Grenoble Alpes et Université d'Idaho, US).**

Principaux résultats : Dans un premier temps, la phylogénie de toutes les espèces végétales présentes dans le PNE a été inférée, grâce au pipeline d'analyse bioinformatique et phylogénomique PHLAWD, et sur la base des données génomiques publiques de la plateforme GenBank. Cette phylogénie couvre 84 % de toutes les espèces présentes dans le jeu de données (1288 au total, Figure 3).

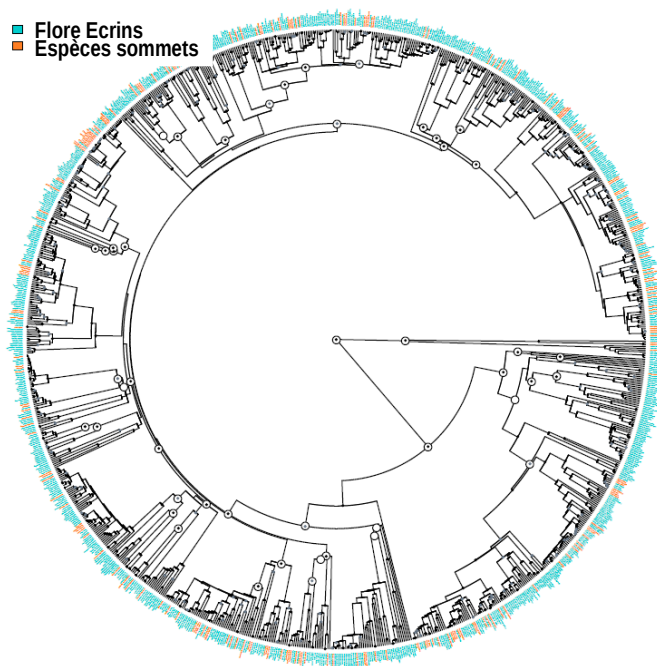


Figure 3 : Arbre phylogénétique reliant toutes les espèces végétales du PNE présentes dans le jeu de données analysé – environ 1288 espèces. *Marx et al. (article soumis)*

¹ La phylogénie correspond à l'étude des liens existant entre espèces apparentées. Plus précisément, un arbre phylogénétique résume l'apparentement (les relations généalogiques en quelque sorte) de toutes les espèces étudiées.

Dans un premier temps, il a été possible de réaliser une analyse de partition de la diversité taxonomique (en espèces), entre ses deux composantes alpha (diversité intra-sommets) et diversité bêta (diversité inter-sommets). Cette deuxième composante donne des résultats intéressants : le changement d'espèces entre sommets révèle que plus deux sommets sont éloignés, plus la liste d'espèces présentes sur ces deux sommets sera dissimilaire (voir Figure 4) ; on parle alors d'isolement par la distance. Ce résultat signifie que les flores des différents sommets sont fortement structurées par des événements de migration entre sommets et d'extinction locale d'espèces (disparition aléatoire d'une espèce sur un sommet due à un événement stochastique). Ceci est une première prédiction classique de la Théorie de Biogéographie Insulaire, et constitue un résultat très original, à notre connaissance jamais démontré sur un système d'îles continentales.

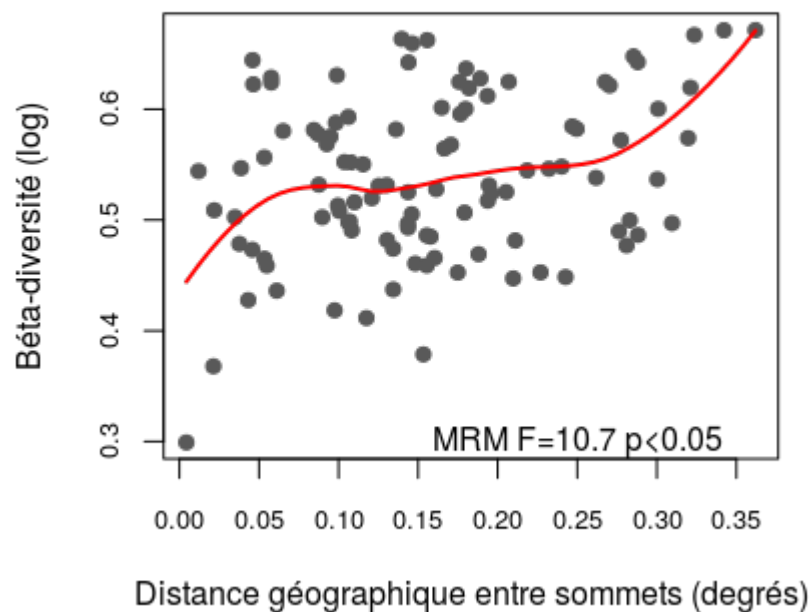


Figure 4 : Analyse du turnover d'espèces (beta-diversité) entre les différents sommets des Ecrins. Les points représentent les estimations de beta-diversité (dissimilarité en composition d'espèces) entre toutes les paires de sommets du PNE, et ce en fonction de leur distance géographique. Un test de relation de matrice indique que cette relation statistiquement significative (rejet de l'hypothèse d'indépendance entre les deux axes).

L'analyse statistique de la distribution des différentes espèces en fonction des reconstructions paléoglaciales montre que parmi les 288 espèces présentes sur les hauts sommets, 98 sont présentes exclusivement au dessus de la limite supérieure des glaciers au dernier maximum glaciaires (ca. -24,000 ans). Ceci est d'autant d'espèces candidates qui ont pu persister sur des refuges intra-alpins (nunataks), sans avoir eu la possibilité de recoloniser au delà depuis la fin des glaciations. Ceci n'est cependant pas une démonstration stricte ; d'autres espèces aujourd'hui présentes à plus basse altitude ont pu aussi persister dans ces refuges, recolonisant ensuite les basses altitudes. Cette analyse établit quand même une liste d'espèces ayant la plus forte probabilité d'avoir passé les époques glaciaires sur les nunataks intra-alpins.

Dans un deuxième temps, nous avons pu analyser non plus les patrons de diversité en espèces, mais en lignées évolutives grâce à la phylogénie reconstruite plus haut. Ce genre d'analyse dite de phylogénie des communautés est une approche maintenant largement utilisée pour mettre en lumière certains mécanismes qui structurent les communautés d'espèces. L'analyse de cette structure phylogénétique montre que seulement certaines lignées de plantes très restreintes sont capables de coloniser les milieux très contraignants de la haute montagne. Ceci est un résultat bien sur très attendu.

Un résultat moins attendu, par contre, est que la distribution de ces lignées de haute montagne paraît être aléatoire entre différents sommets. Des analyses par simulations stochastiques (modèle dit 'neutraliste') montrent la distribution de ces lignées entre sommets n'est pas dissociable de ce qui serait attendu si les espèces émergeaient principalement par spéciation allopatrique (séparation géographique), s'éteignaient aléatoirement dans les différents sommets (extinction locale) et dispersaient entre sommets proches (migration limitée), et que tous ces phénomènes étaient indépendents des caractères biologiques des espèces – c'est à dire, toutes ont la même probabilité de spéciation en une nouvelle lignée, de s'éteindre ou de migrer. On parle ici de structure neutraliste de la végétation, conformément à la Théorie Neutre de la Biodiversité (Hubbell 2001), qui découle de la Théorie de Biogéographie Insulaire. Ce résultat est particulièrement intéressant d'un point de vue fondamental car jusqu'à présent les seuls systèmes écologiques ayant confirmé cette prédiction théorique sont des forêts tropicales, donc dans un contexte historique et écologique radicalement différent. Il est très surprenant de mettre en évidence une telle structure neutre dans des environnements aussi contraignants que ceux de la haute montagne, où la sélection naturelle devrait plus influencer sur les patrons de biodiversité que des forces évolutives neutres.

Du point de vue des enjeux actuels de la gestion de la biodiversité, ces résultats dans leur ensemble indiquent que les communautés végétales de haute altitude sont construites à partir d'événements de spéciation géographique, et d'événements de dispersion entre sommets. Certaines espèces ont aléatoirement disparu de certains sommets, certainement sous l'effet des glaciations du Pleistocène. Seulement une très infime proportion d'espèces a éventuellement survécu cette ère glaciaire dans des sommets-refuges intra-alpins (nunataks). La recolonisation post-glaciaire des espèces semble s'être déroulée de proche en proche entre différents sommets, et ce, indépendamment des traits biologiques des espèces (« de manière neutre »). Ceci signifie que dans la tendance actuelle au réchauffement climatique, les événements de recolonisation de certains sommets par des espèces végétales peuvent procéder non pas seulement par une remontée en altitude, mais aussi par des événements de migration entre sommets. Nos résultats montrent aussi qu'il est difficile de prédire quelles espèces auront plus de succès lors de cette reconquête des milieux alpin et nival.