

Le chardon bleu *Eryngium alpinum* en Valais: diversité génétique et conservation

Yamama Naciri¹ & Catherine Lambelet-Haueter²

Bull. Murithienne 128/2010: 65-71 (2011)

Le chardon bleu, *Eryngium alpinum* L., est une ombellifère emblématique de l'Arc Alpin et des massifs avoisinants. Aussi connue sous le nom de panicaut des Alpes, cette plante aux belles inflorescences bleues à violettes est en forte régression en Suisse et en Europe où elle est partout protégée. Diverses hypothèses peuvent expliquer la régression du panicaut des Alpes, qui font appel à des raisons soit endogènes (baisse de valeur sélective des individus, consanguinité) ou exogènes (cueillette excessive, changement d'usage de la montagne). Pour apporter un premier élément de réponse, les Conservatoire et Jardin botaniques de Genève ont développé depuis 2002 un projet consistant à évaluer la variabilité génétique présente dans les populations suisses, à l'aide de marqueurs neutres polymorphes. Les résultats présentés ici concernent le Valais et reprennent les données historiques associées aux populations d'*Eryngium alpinum* dans le canton, ainsi que les données génétiques obtenues. En l'absence de toute trace de consanguinité relevée dans les populations étudiées, la piste d'une régression due à une forte pression anthropogénique est favorisée pour expliquer le déclin de l'espèce en Valais et en Suisse.

Der Alpenmanstreu *Eryngium alpinum* im Wallis: genetische Variabilität und Erhaltung. – Der Alpenmannstreu *Eryngium alpinum* ist ein symbolträchtiges Doldengewächs, das in den Alpen und in den nahen Gebirgen vorkommt. Diese schöne Pflanze mit blauen bis violetten Blütenständen ist in der Schweiz und in Europa im starken Rückgang und ist deshalb in ihrem ganzen Areal geschützt. Dieser Rückgang kann durch verschiedene Hypothesen erklärt werden, die entweder endogener (Fitnessverringering, Inzucht) oder exogener (übermäßige Ernte, Nutzungsänderung) Natur sind. Um diese Frage abzuklären, haben Conservatoire et Jardin botaniques in Genf seit 2002 ein Projekt entwickelt, das zum Ziel hat, die genetische Vielfalt der Schweizer Populationen dieser Art mittels neutraler polymorpher Marker zu schätzen. Hier sind die Resultate betreffend Wallis dargestellt. Sie greifen auf die historischen Angaben über die Verteilung von *Eryngium alpinum* sowie auf die gesammelten genetischen Angaben wieder. Es wurde keine Spur von Inzucht festgestellt, so ist die Vermutung, dass ein hoher anthropogener Druck für den Niedergang der Art in Wallis und in der Schweiz verantwortlich ist, als wahrscheinlich betrachtet.

³ Valeur sélective ou fitness : mesure de la capacité d'un organisme à se reproduire et à transmettre ses gènes à la génération suivante. Pour une plante à fleurs, cette mesure est fonction du nombre de graines produites, de leur viabilité, de leur pouvoir germinatif, etc.

Notes 4 à 14 voir page 71

Mots clés

Eryngium alpinum, marqueurs moléculaires, consanguinité, conservation, microsatellites, séquences chloroplastiques

Schlüsselwörter

Eryngium alpinum, neutrale polymorphen Marker, Inzucht, Erhaltung, Mikrosatelliten, Chloroplasten-DNA

Keywords

Eryngium alpinum, molecular markers, inbreeding, conservation, microsatellites, chloroplast sequences

1 Unité de Phylogénie et de Génétique Moléculaires, Laboratoire de Systématique Végétale et Biodiversité. Conservatoire et Jardin botaniques. Chemin de l'Impératrice, 1. CP 60, 1292 Chambésy. Tél. +41 22 418 5165; Fax. +41 22 418 5101; Yamama.Naciri@ville-ge.ch

2 Conservation et Systèmes d'Information. Conservatoire et Jardin botaniques. Chemin de l'Impératrice, 1. CP 60, 1292 Chambésy. Tél. +41 22 418 5160; Fax. +41 22 418 5101; Catherine.Lambelet@ville-ge.ch

INTRODUCTION

Le panicaut des Alpes *Eryngium alpinum*, est une ombellifère pérenne hémicryptophyte⁴, poussant sur sol calcaire aux étages subalpin et alpin dans les Alpes européennes entre 1200 et 2100 m d'altitude. Elle affectionne particulièrement les prairies ou les corridors d'avalanche, les milieux fermés lui étant défavorables. Sa distribution géographique recouvre une aire allant du sud-est de la France à la Croatie et à la Bosnie, en passant par la Suisse, l'Italie, l'Autriche et la Slovénie (AESCHIMANN, LAUBER, MOSER & THEURILLAT 2004). Plusieurs études menées en France ont montré qu'*E. alpinum* est préférentiellement allogame bien que de l'autofécondation puisse advenir pour des plantes isolées (GAUDEUL & TILL-BOTTRAUD 2003; GAUDEUL, TILL-BOTTRAUD, BARJON & MANEL 2004). La pollinisation est principalement assurée par des bourdons, mais les fleurs sont aussi visitées par un grand nombre d'autres insectes (fig. 2). Les graines se disséminent peu, bien qu'elles puissent être occasionnellement transportées par des animaux, oiseaux ou gros mammifères (GAUDEUL, TABERLET & TILL-BOTTRAUD 2000; GAUDEUL & TILL-BOTTRAUD, 2003). Toutes ces caractéristiques se traduisent par une structure génétique⁵ forte entre populations (GAUDEUL, TABERLET & TILL-BOTTRAUD 2000; GAUDEUL, TILL-BOTTRAUD, BARJON & MANEL 2004), structure associée à des autocorrélations spatiales⁶ à l'échelle de la dizaine de mètres, du fait de la dispersion limitée des graines (GAUDEUL & TILL-BOTTRAUD 2008). *Eryngium alpinum* est considéré comme étant en danger en France (GILLOT & DE GARAUD 1995) et en Suisse (MOSER, GYGAX, BÄUMLER, WYLER & PALESE 2002), de même que dans les autres pays européens concernés (WYSE JACKSON & ACKEROYD 1994) bien que l'espèce ne fasse plus partie de la Liste Rouge de l'Union Internationale pour la Conservation de la Nature (UICN 2010), du fait de la présence d'un certain nombre de grandes populations sur l'ensemble des Alpes. Diverses mesures de sauvegarde ont néanmoins été entreprises dans certains pays où la situation est plus critique. En Suisse, la Commission pour la Conservation des Plantes Sauvages (CPS) a établi un plan d'action pour la conservation de cette espèce attractive dans les cantons du Valais, des Grisons, d'Uri et d'Obwald (KÄSERMANN 2000). Des études sont actuellement menées dans le canton de Fribourg sous l'égide de son Université et de Pro Natura.

Cet article fait le point sur la situation des populations valaisannes et sur leur diversité génétique. Quelques hypothèses sont avancées quant au déclin des populations d'*Eryngium alpinum* dans le canton et en Suisse.

SITUATION DES POPULATIONS D'ERYNGIUM ALPINUM EN VALAIS

La situation des populations valaisannes est résumée dans le **Tableau 1**. Les premiers recensements répertoriés datent de la seconde moitié du 19^e siècle, mais aucune indication sur l'abondance n'est en général donnée.

Certaines populations ont disparu, soit celles de Bellwald, de Bourg-Saint-Pierre et de Finhaut; d'autres, de faible taille cependant, ont été répertoriées très récemment. C'est le cas pour les communes de Collombey-Muraz (2003), de Fully (2003), d'Orsières (2005), de Zermatt (2007), ou de Conthey à Derborence (2009). Certaines populations ont vu leurs effectifs se réduire, comme la population du Sanetsch, qui comptait en 1994 entre 26 et 50 individus (C. Rey, catégorie d'abondance 3), alors qu'elle comptait moins de 11 individus en 2000 (C. Rey 2000, catégorie d'abondance 1, confirmé par B. Bäumlér et C. Latour en 2003). *Eryngium alpinum* n'est présent en abondance qu'autour du lac de Tanay, dans la commune de Vouvry, sous la forme de plusieurs populations de tailles variables selon les années et les relevés. Mis à part cette localité, les sites où la présence du chardon bleu a été confirmée après l'an 2000 sont au nombre de 10. De plus, les populations qui y sont recensées sont en général de petite taille, en majorité inférieures à 11 individus (tab. 1). De tels résultats peuvent évidemment être biaisés, toutes les montagnes du Valais n'étant pas parcourues de la même façon. Cette explication ne semble cependant pas être la bonne. En effet, plusieurs campagnes d'échantillonnage du chardon bleu ont été effectuées depuis le début du millénaire pour répertorier les populations d'*Eryngium alpinum* en Suisse, avec un relatif insuccès, par l'Université de Lausanne, les Conservatoire et Jardin botaniques de Genève ou des botanistes indépendants. Il semble donc que l'espèce soit bien en régression et menacée en Valais, du fait que les populations sont peu nombreuses et de petite taille (tab. 1).

Analyse génétique des populations valaisannes

Cinq populations d'*Eryngium alpinum* ont été étudiées en Valais. Trois sont issues de la grande population

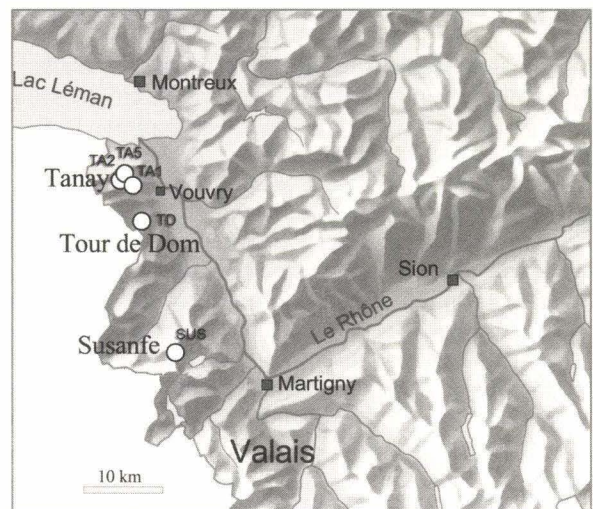


FIGURE 1 – Localisation des cinq populations valaisannes analysées.



FIGURE 2 – Butinage intensif d’inflorescences d’*Eryngium alpinum*. – PHOTO DR I. TILL-BOTTRAUD

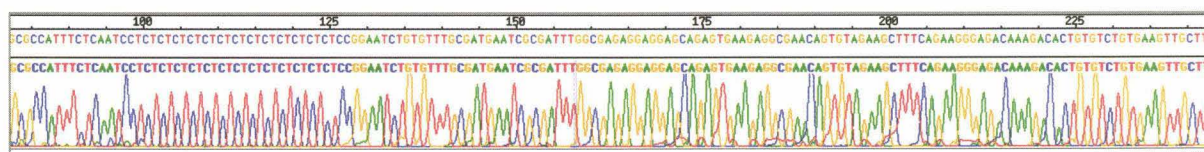


FIGURE 3 – Exemple de motif de type microsatellite: sur la gauche de cette séquence d’ADN nucléaire se trouve un marqueur microsatellite de motif (CT) répété 14 fois pour l’individu analysé.

de la commune de Vouvry autour du lac de Tanay (TA1, TA2, TA5); la quatrième provient de la commune d’Eviornaz à Susanfe (SUS); la cinquième de Collombey-Muraz à la Tour de Dom (TD) (fig. 1). Nous avons utilisé deux marqueurs⁷ issus de l’ADN⁸ du chloroplaste⁹ et huit marqueurs issus de l’ADN du noyau cellulaire, de façon à évaluer la diversité génétique des populations d’*E. alpinum* et d’identifier celles qui méritent une attention particulière du fait de leur composition ou de leur spécificité génétiques.

Les marqueurs issus du chloroplaste correspondent à deux séquences d’ADN non codantes: les intergènes

trnH-psbA et *trnS-trnG*. Le chloroplaste étant transmis d’une génération à l’autre par les graines chez la plupart des angiospermes, et chez *Eryngium* en particulier, l’analyse de la diversité des séquences chloroplastiques permet de retracer la façon dont les graines ont colonisé une région géographique (NACIRI & GAUDEUL 2007). Les séquences ont été obtenues par amplification in vitro des fragments d’ADN (technique de la PCR¹⁰) puis par séquençage des fragments amplifiés sur séquenceur automatique ABI377 selon les méthodes décrites dans NACIRI & GAUDEUL (2007).

Les marqueurs issus du noyau correspondent à des fragments particuliers de l’ADN chromosomique, appelés microsatellites. Les microsatellites se caractérisent par une composition et un agencement particuliers des bases de l’ADN. Ils sont en effet constitués de répétitions de motifs donnés (CTCTCT ou AGAGAGAG par exemple, fig. 3).

populations du canton de Vaud qui possèdent également le même haplotype A3B3 (NACIRI & GAUDEUL 2007). Une explication alternative est que les éventuels nouveaux haplotypes ont des fréquences si faibles qu'ils n'ont pas pu être recensés dans l'échantillonnage effectué. Les cantons du Valais et de Vaud se démarquent ainsi des autres cantons suisses.

La différenciation génétique entre populations est significative pour les marqueurs microsatellites. Avec sept marqueurs microsatellites, GAUDEUL, TILL-BOTTRAUD, BARJON & MANEL (2004) trouvent une différenciation de $\theta = 0.23$ (contre $\theta = 0.14$ dans cette étude) sur un ensemble de 12 populations françaises réparties du Mercantour au Jura, soit sur une zone géographique bien plus étendue que celle étudiée ici. Cela reflète, dans un cas comme dans l'autre, un faible échange de pollen à moyenne ou longue distance. Cette caractéristique est directement liée au mode de pollinisation de la plante, qui implique des insectes dont l'aire de butinage est restreinte.

Il n'y a pas de corrélations significatives entre les différents indices de diversité et la taille des populations. Cette absence de corrélation peut provenir d'une mauvaise estimation des tailles de population. En effet, *Eryngium alpinum* se caractérise par de fortes variations inter-annuelles du taux de floraison, vraisemblablement en lien avec les conditions climatiques du printemps (Dr. G. Kozłowski, comm. pers.). Or les estimations de taille ont été faites sur la base du nombre de plantes fleuries une année donnée. Il n'en reste pas moins qu'il n'y a pas non plus de signes significatifs de consanguinité dans les populations étudiées, et ceci quelle que soit leur taille respective.

La décroissance des populations d'*Eryngium alpinum* en Valais ne semble pas être due à des facteurs endogènes (consanguinité par exemple). Il faut donc plutôt invoquer l'influence humaine : cueillette et changement d'usage de la montagne. Selon les lieux, ce changement entraîne la fermeture du milieu alpin et l'avancée des forêts (FRELÉCHOUX, MEISSER & GILLET 2007) ou au contraire une pâture plus intensive, notamment par les ovins (CHATELAIN & TROXLER 2005, MEISSER 2010). Le résultat est dans tous les cas la réduction du nombre de sites favorables à *Eryngium alpinum*. Cette espèce est en effet très sensible au surpâturage qui peut abîmer les racines et compromettre la survie des plantes et donc des populations (KÄSERMAN & MOSER 1999, Dr. G. Kozłowski, comm. pers.). La variabilité des populations valaisannes est significative. Elle est en adéquation avec celle trouvée sur les populations françaises pourtant plus nombreuses et généralement plus importantes en taille : (diversité génique h variant de 0.244 à 0.484; GAUDEUL, TILL-BOTTRAUD, BARJON & MANEL 2004). Le maintien d'une telle variabilité dans les petites populations suisses peut s'expliquer par le fait qu'*Eryngium alpinum* est une espèce d'une grande longévité. Certains pensent même que cette plante pourrait atteindre l'âge respectable de 100 ans (Dr I. Till-Bottraud, comm. pers.). Si tel était le cas, la variabilité génétique observée actuellement pourrait être le reflet de populations s'étant installées il y a longtemps, alors qu'elles bénéficiaient de conditions plus favorables. Etant donné

que l'usage de la montagne a considérablement changé depuis les années cinquante, il est donc possible que la variabilité actuelle soit l'image d'un fonctionnement de population datant de plusieurs décennies, lorsque les plantes, échantillonnées ces dernières années sous forme de morceaux de feuilles, se sont effectivement établies. Pour pouvoir tester cette hypothèse, il faudrait travailler sur des graines qui, produites chaque année, sont susceptibles de donner des informations sur le fonctionnement actuel des populations.

Bien que les populations analysées dans la présente étude ne montrent pas de signe de consanguinité ou de chute de variabilité dans les plus petites populations, la menace reste néanmoins forte sur les populations suisses, principalement du fait de la taille réduite des populations relictées. Le statut de menace (vulnérable) sur la Liste Rouge suisse semble donc sous-évalué par rapport à la situation actuelle en Suisse. En outre, *Eryngium alpinum* est loin d'occuper tous les sites potentiels que l'espèce serait en mesure de coloniser (ENGLER, GUISSAN & RECHSTEINER 2004; GUISSAN, BROENNIMANN, ENGLER, VUST, YOCOZZO, LEHMANN & ZIMMERMANN 2006). Cela découle sans doute d'une faible capacité de colonisation de l'espèce, en lien avec la dispersion réduite des graines. Il faut donc rapidement mettre en place une politique de gestion des sites menacés existants plus favorable pour *Eryngium alpinum*, et renforcer les mesures de conservation *ex situ* de l'espèce (banque de graines, par exemple). La clôture des petites populations permettrait de limiter les risques d'extinction dus à l'intensification des pratiques pastorales. Des renforcements des populations les plus précieuses, comme celle de Susanfe qui se caractérise par une variabilité élevée, ou celle de la Tour du Dom, qui risque de disparaître du fait de sa faible taille, doivent également être envisagés.

REMERCIEMENTS

Nos chaleureux remerciements vont aux collaborateurs du CRSF pour les données sur les populations, à Carmen Grela, Mathias Vust et Olivier Broennimann pour les échantillonnages, à Régine Niba pour l'aide au laboratoire et à Cyrille Chatelain pour la carte.

BIBLIOGRAPHIE

- AESCHIMANN, D., K. LAUBER, D.M. MOSER, J.-P. THEURILLAT 2004. *Flora Alpina*. Vol I. Belin, Paris.
- CHATELAIN, C., J. TROXLER 2005. Gardiennage permanent des moutons à haute altitude. Analyse de cinq alpages et recommandations de gestion. *Revue Suisse Agric.* 37: 151-160.
- ENGLER, R., A. GUISSAN, L. RECHSTEINER 2004. An improved approach for predicting the distribution of rare and endangered species from occurrence and pseudo-absence data. *Journal of Applied Ecology* 41: 263-274.
- FRELÉCHOUX, F., M. MEISSER & F. GILLET 2007. Succession secondaire et perte de diversité végétale après réduction du broutage dans un pâturage boisé des Alpes centrales suisses. *Bot. Helv.* 117: 37-56.

- GAUDEUL, M. & I. TILL-BOTTRAUD 2003. Low selfing in a mass-flowering, endangered perennial, *Eryngium alpinum* L. (*Apiaceae*). *American Journal of Botany* 90: 716-723.
- GAUDEUL, M. & I. TILL-BOTTRAUD 2008. Local genetic structure of the endangered perennial plant *Eryngium alpinum* (*Apiaceae*) in an Alpine valley. *Biological Journal of the Linnean Society* 93: 667-677.
- GAUDEUL, M., Y. NACIRI-GRAVEN, P. GAUTHIER & F. POMPANON 2002. Isolation and characterization of microsatellite markers in a perennial *Apiaceae*, *Eryngium alpinum* L. *Molecular Ecology Notes* 2: 107-109.
- GAUDEUL, M., P. TABERLET & I. TILL-BOTTRAUD 2000. Genetic diversity in an endangered alpine plant, *Eryngium alpinum* L. (*Apiaceae*), inferred from amplified fragment length polymorphism markers. *Molecular Ecology* 9: 1625-1637.
- GAUDEUL, M., I. TILL-BOTTRAUD, F. BARJON & S. MANEL 2004. Genetic diversity and differentiation in *Eryngium alpinum* L. (*Apiaceae*): Comparison of AFLP and microsatellite markers. *Heredity* 92: 508-518.
- GILLOT, P. & L. DE GARAUD 1995. *Eryngium alpinum* (L.). In: Muséum National d'Histoire naturelle, Conservatoire Botanique National de Porquerolles (ed.) *Livre rouge de la Flore Menacée; Tome 1: Espèces Prioritaires*, 85, Ministère de l'Environnement, Paris.
- GOUDET, J. 2001. FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3). Available from <http://www.unil.ch/izea/software/fstat.html>. Updated from GOUDET (1995).
- GUISAN, A., O. BROENNIMANN, R. ENGLER, M. VUST, N.G. YOCOZO, A. LEHMANN & N.E. ZIMMERMANN 2006. Using niche-based models to improve the sampling of rare species. *Conservation Biology* 20: 501-511.
- KÄSERMANN, C. 2000. *Alpen-Mannstreu, Eryngium alpinum* L. Aktionsplan für die Erhaltung und Förderung dieser gefährdeten Art (ausserhalb des Hauptverbreitungsgebiets in den westlichen Voralpen). FloraConsult, Bern.
- KÄSERMANN, C. & D.M. MOSER 1999. *Fiches pratiques pour la Conservation. Plantes à fleurs et fougères*. OFEFP, Berne.
- MEISSER, M. 2010. Quel avenir pour les alpages? *Recherche agron. Suisse* 1: 215.
- MOSER, D.M., A. GYGAX, B. BAUMLER, N. WYLER & R. PALESE 2002. Liste Rouge des espèces menacées de Suisse. Fougères et plantes à fleurs. CRSF/ZDSF, CJBG, OFEFP.
- NACIRI, Y. & M. GAUDEUL 2007. Phylogeography of the endangered *Eryngium alpinum* L. (*Apiaceae*), in the European Alps. *Molecular Ecology* 16: 2721-2733.
- STÖCKLI, W.E., 1993. *Paléolithique et Mésolithique*, SPM n° 1, Bâle, 302 p.
- IUCN, 2010. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2010.4. www.iucnredlist.org. Site consulté le 21 décembre 2010.
- WYSE JACKSON, P.S. & J.R. ACKEROYD 1994. *Guidelines to Be Followed in the Design of Plant Conservation or Recovery Plans*. Council of Europe, Strasbourg, France.
- un facteur de l'isolation génétique des populations et, en conséquent, de leur structuration.
- 7 Un marqueur génétique correspond à une séquence (ou fragment) d'ADN définie. La comparaison de cette même séquence entre individus différents permet de calculer la distance génétique qui les sépare. De tels marqueurs sont aussi utilisés dans d'autres domaines, comme les tests de paternité par exemple.
 - 8 L'Acide Désoxyribo Nucléique (ou ADN) est la molécule support de l'hérédité. Il est constitué de quatre bases: adénine (A), thymine (T), cytosine (C) et guanine (G). De l'ADN non codant, c'est-à-dire n'ayant aucune fonction connue, sépare souvent les gènes.
 - 9 Les chloroplastes sont des structures situées dans le liquide intérieur de la cellule, qui contiennent de la chlorophylle et une molécule d'ADN circulaire.
 - 10 Polymerase Chain Reaction ou réaction de polymérisation en chaîne. Technique consistant à reproduire en grande quantité un fragment d'ADN donné. Ce processus s'effectue in vitro et fait intervenir une enzyme, appelé Taq polymérase, capable de reproduire une séquence d'ADN à l'identique à partir d'une trame existante.
 - 11 Une espèce diploïde possède dans son génome nucléaire deux jeux de chromosomes, chacun des jeux étant transmis par l'un des deux parents. *Eryngium alpinum* est diploïde et possède 16 chromosomes, 8 étant transmis indépendamment par chacun des parents. De ce fait, chaque gène ou intergène nucléaire est présent en deux copies nommées allèles, qui peuvent différer l'un de l'autre. Une espèce tétraploïde possèdera 4 jeux différents, et un maximum de 4 allèles différents pour un marqueur donné.
 - 12 Dans une population de taille N, la richesse allélique est calculée par tirage au hasard d'un certain nombre d'individus n ($n < N$, ici $n=6$) et par calcul du nombre d'allèles différents portés par ces n individus. En répétant plusieurs fois ce tirage, une estimation moyenne du nombre d'allèles attendus est obtenue, pour une taille de population n donnée. Une telle estimation permet de comparer la diversité génétique de populations de tailles différentes, en choisissant n inférieur ou égale à la taille de la plus petite population. La richesse allélique est toujours inférieure ou égale au nombre d'allèles Na (quand $n < N$ ou $n = N$, respectivement).
 - 13 Un haplotype est la forme que peut prendre une séquence donnée à un endroit donné du génome. Des haplotypes différents le seront par une ou des mutation(s) portée(s) par un haplotype et non l'autre.
 - 14 L'installation d'une population dans un nouveau lieu se fait souvent à partir d'un petit nombre d'individus (ici de graines) et donne lieu à un effet de fondation. L'effet de fondation se caractérise par une moindre diversité génétique (selon le nombre d'individus fondateurs), par une déviation à la panmixie (quand les individus colonisateurs sont apparentés par exemple) ou par du déséquilibre de liaison entre marqueurs. L'effet de fondation peut cependant être transitoire si une expansion démographique rapide a lieu après l'événement de fondation. Cette croissance de la population aura pour effet d'augmenter la variabilité et de réduire les déséquilibres.

Notes

- 4 Plante vivace dont la partie aérienne meurt complètement durant la période hivernale, la survie de la plante étant assurée par son système racinaire.
- 5 L'existence d'une structure génétique entre populations (ou structuration) traduit le fait que celles-ci sont génétiquement différentes les unes des autres et qu'elles n'échangent pas ou peu de gènes par le biais de graines ou de pollen. Une faible dissémination des graines ainsi qu'une pollinisation à courte distance sont autant de facteurs qui augmentent la structure génétique.
- 6 Il y a autocorrélation spatiale lorsque des individus voisins ont tendance à se ressembler génétiquement, par exemple du fait que les graines tombent et germent non loin de leur plante-mère ou encore lorsque la distance géographique est

