

Conservation *ex situ* : collections statiques et valorisation dynamique

Le premier objectif de cet article est de présenter les méthodes et le bilan des actions de conservation *ex situ* conduites par la CRGF depuis 20 ans. Il vise aussi à expliciter la complémentarité entre conservation dynamique *in situ* et conservation en collections, vergers conservatoires et plantations *ex situ*. En conclusion, nous verrons que cette complémentarité présente un intérêt renouvelé dans le contexte du changement climatique.

Des exemples illustreront les voies de passage entre collections statiques et valorisation dynamique et démentiront l'idée reçue selon laquelle la conservation *ex situ* serait une démarche de précaution purement statique et déconnectée de toute forme d'utilisation pratique.

Une alternative à l'*in situ* pour les cas difficiles

Dès sa création, la CRGF a résolument opté pour la conservation dynamique de populations *in situ* tout en reconnaissant qu'il serait nécessaire de recourir à l'*ex situ* dans le cas de ressources menacées *in situ* ou difficiles à conserver sous forme de grandes populations. De la même façon qu'elle avait choisi le sapin pectiné et le hêtre comme « espèces pilotes » pour mettre au point les méthodes de conservation *in situ*, la CRGF a choisi l'orme champêtre, le peuplier noir et le merisier pour définir les méthodes et protocoles de conservation *ex situ*. Ces trois espèces sont en effet menacées pour diverses raisons :

- par une pandémie (orme champêtre / graphiose) ;
- par la destruction de leur habitat (peuplier noir / disparition des ripisylves et de la dynamique fluviale) ;
- par les changements de pratiques sylvicoles/agricoles (merisier / conversion

des taillis-sous-futaie en futaies régulières ; noyer / coupe d'arbres champêtres et réduction du nombre de variétés greffées) ;

- par l'introduction de matériel allochtone, source d'introggression voire de « pollution génétique » : (peuplier noir / plantations de peuplier d'Italie et de cultivars hybrides ; merisier / plantations allochtones ; noyer / noyeraie cultivée). De plus, contrairement au sapin et au hêtre, ces espèces sont disséminées et / ou difficiles à régénérer sur place. C'est notamment le cas du peuplier noir, qui peut être localement abondant mais ne se régénère que lorsque la dynamique fluviale permet le dépôt de sédiments frais juste avant celui des graines portées par le courant.

Plus récemment, le pin de Salzmann a rejoint le groupe des espèces en cours de conservation *ex situ* car menacées *in situ* (risques d'incendie et d'introggression par d'autres pins noirs).

Garantir la conservation durable de collections anciennes

Le choix des trois premières « espèces pilotes » en matière d'*ex situ* s'explique aussi par l'intérêt de renforcer et d'étendre des collections de clones déjà constituées par l'INRA ou Irstea. Pour ces trois espèces et pour deux autres dans des situations similaires (collection de clones de noyer commun et de cormier respectivement constituées par l'IDF et l'INRA), il était nécessaire de faciliter la conservation durable du matériel végétal existant et sa valorisation éventuelle. Dans ce double but, il a été décidé en 1995, avec l'accord des instituts propriétaires des collections concernées, de verser tout ou partie des clones existants dans cinq « Collections

nationales » gérées par la CRGF et de remultiplier ce matériel végétal pour le rassembler dans un lieu de conservation commun, en l'occurrence la pépinière conservatoire de Guéméné-Penfao (44). Bien que créé pour la conservation de variétés végétales d'intérêt fruitier, horticole ou ornemental, le statut de « Collection nationale » s'est révélé facilement applicable aux ressources génétiques forestières et avantageux à divers titres (reconnaissance du caractère patrimonial des collections, regroupement d'information et de matériel végétal).

Les collections anciennes ont été constituées à partir de boutures (photo 1) ou de greffes prélevées sur plusieurs centaines d'arbres adultes échantillonnés dans diverses régions françaises. Leur remultiplication est nettement plus aisée car boutures et greffes peuvent être prélevées sur de jeunes arbres regroupés sur le domaine d'un institut de recherche, à l'exception du noyer dispersé sur plusieurs collections gérées par l'IDF en partenariat avec des propriétaires privés.



1 - Bouture racinée d'orme sous serre

J. Serouigne, Irstea



D. Cambon, ONF

2 - Récolte de greffons sur des pins de Salzmann âgés de plus de 140 ans



M. Rondouin, pép. Guéméné Penfao

3 - Parc à pieds-mères d'ormes maintenu à Guéméné Penfao (44)



S. Girard, IDF

4 - Plantation conservatoire de noyer (Viville, 16)



L. harvengt, FCBA

5 - Bourgeons dormants d'ormes cryoconservés dans l'azote liquide

Une « troisième voie » : la conservation *ex situ* dynamique

Recourir à la conservation *ex situ* ne signifie pas obligatoirement conserver statiquement des génotypes sous forme de lots de graines en chambre froide, de bourgeons congelés ou de haies conservatoires en pépinière. Certes, les cinq Collections nationales précitées sont statiques puisqu'elles ne génèrent pas de diversité nouvelle par reproduction sexuée mais il est facile de réinjecter leurs ressources en forêt ou dans les haies bocagères où elles seront de nouveau en situation de se reproduire en condition de sélection naturelle. On peut par exemple réintroduire dans le milieu naturel un assemblage de clones d'ormes ou de peuplier noir originaires de la région de plantation ; cette population synthétique à base génétique suffisamment large évoluera ensuite comme une population naturelle soumise dynamiquement aux forces évolutives, dont principalement la sélection naturelle et les échanges de gènes (par graines et pollen) avec les populations avoisinantes. On peut aussi créer des vergers à graines conservatoires pour produire des plants qui seront réintroduits dans le milieu naturel. Dans un cas comme dans l'autre, le recours à la conservation *ex situ* dynamique permet non seulement le sauvetage de ressources incapables de se maintenir naturellement *in situ* mais aussi

Conservation *ex situ*

Ce mode de conservation consiste à préserver durablement des ressources génétiques en dehors du site où elles ont été collectées. En matière forestière, on procède par récolte de graines, greffes, boutures ou même tissus pour la culture *in vitro*. Cette préservation est dite « statique » s'il s'agit de collections maintenues dans les chambres froides ou les pépinières des centres de recherche. Elle est dite « dynamique » dans le cas de plantations conservatoires ou de vergers à graines donnant naissance à de nouvelles populations forestières par reproduction sexuée.

la création de bonnes conditions pour l'évolution de ces ressources sous l'effet de la sélection naturelle (= conservation dynamique « pseudo-*in situ* »).

Il est également possible de parvenir directement à la conservation dynamique « pseudo-*in situ* » sans passer par la constitution de collections clonales : le plus simple est de procéder par récoltes de graines sur un grand nombre d'arbres représentatifs de la population à conserver, sauf si cette population est menacée d'introgession par du pollen d'espèces ou de provenances introduites.

Réalisations de la CRGF

Plus d'un millier de clones de quatre Collections nationales sont actuellement conservés à la pépinière de Guéméné-Penfao et cet effectif va très rapidement s'accroître de plusieurs centaines de clones nouveaux, principalement de peuplier noir, déjà bouturés pour des études génétiques ou pathologiques. La Collection nationale de cormier implantée dans un domaine de l'INRA dans le Gard (Bariteau *et al.*, 2006) n'a pas encore été dupliquée dans un autre site conservatoire mais le sera prochainement. Celle de pin de Salzmann est en cours de constitution par prélèvement de greffons sur des pins âgés de plus de 140 ans, antérieurs aux plantations de pins noirs non autochtones (Fady *et al.*, 2010) (photo 2).

Le matériel végétal issu de boutures est maintenu « au champ » sous forme de pieds-mères recepés annuellement (peuplier noir) ou de plants taillés annuellement en haie basses (ormes) (photo 3) ; ce rabattage périodique permet non seulement d'optimiser l'utilisation de l'espace mais aussi, dans le cas des ormes, de réduire les risques de contamination par la graphiose car les insectes vecteurs du champignon pathogène sont moins attirés par ces formes basses. Le matériel végétal issu de greffes (noyer, merisier, cormier) est maintenu dans des haies basses ou des vergers (photo 4) à densité plus ou moins forte selon qu'on vise seulement la conservation statique ou également la production de semences. Les plants greffés de pin de Salzmann, actuellement encore en pots, seront plantés sur le site de Cadarache (04) où seront transférées, à partir de 2013, l'équipe et l'infrastructure de la pépinière expérimentale d'Aix-en-Provence. La cryobanque du FCBA maintient également des bourgeons d'une soixantaine de clones d'ormes dans l'azote liquide (photo 5) ; des cellules de bourgeons décongelés peuvent être multipliées *in vitro* pour reconstituer des plantes entières (cf. article de L. Harvengt dans ce dossier).

Les effectifs et caractéristiques des Collections nationales sont présentés dans le tableau 1. Deux plantations conservatoires « pseudo-*in situ* » de merisier (Bretagne, Midi-Pyrénées) ont également été réalisées (Collin *et al.*, 1998).

Valorisation scientifique des Collections

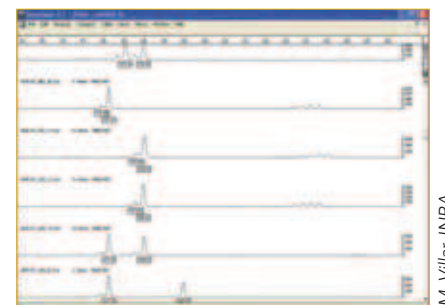
Les collections *ex situ* constituent un formidable vivier pour la recherche sur la diversité entre espèces et à l'intérieur des espèces. Elles peuvent aussi contribuer à clarifier la systématique d'un genre ou mieux comprendre les mécanismes génétiques de caractères adaptatifs majeurs (phénologie, résistance à des maladies...).

Deux types de données sont classiquement recueillis dans les collections : **la caractérisation** porte sur des caractères morphologiques ou phénologiques directement accessibles sur le terrain (ex : forme des feuilles, date de débourrement) ainsi que sur des caractères de l'ADN révélés par des marqueurs moléculaires ; **l'évaluation** porte sur des caractères intéressant l'utilisateur ou le sélectionneur et nécessitant la réalisation de tests comparatifs (ex : test de résistance à une maladie).

Caractérisation

Les données de caractérisation les plus complètes portent sur le peuplier noir, espèce majeure pour les programmes d'amélioration et pour laquelle on dispose de très nombreux marqueurs moléculaires (photo 6). Elles sont partielles pour les ormes et le merisier et encore très fragmentaires pour le cormier et le noyer. Pour le pin de Salzmann, les études ADN sont conduites en même temps que le prélèvement des greffons (Fady *et al.*, 2010).

Le cas des ormes montre comment la caractérisation de collections conservatoires (Collin, 2007) peut être valorisée scientifiquement. Dans le cadre d'un projet européen, la caractérisation partielle de plusieurs collections d'orme européennes a pu être réalisée conjointement. Ceci a notamment permis de clarifier la taxonomie des ormes champêtres, d'identifier les hybrides avec des espèces asiatiques introduites et de révéler les sources et voies de recolonisation post-glaciaires. Les marqueurs moléculaires ont montré que la diversité génétique des ormes champêtres était très grande à l'intérieur de chaque pays et peu différenciée d'un pays à l'autre. Le suivi des stades de débourrement végétatif de clones d'origines diverses a permis de comprendre les facteurs climatiques (seuil et cumuls de température) déterminant le débourrement. Sur le noyer, l'IDF a réalisé le suivi du débourrement végétatif des clones de la Collection nationale pour évaluer leur adaptation au climat local



M. Villar, INRA

6 - Caractérisation de clones de peuplier noir à l'aide de marqueurs moléculaires

Espèce	Collection ancienne	Origine ; Conservation	Collection nationale
Peuplier noir	INRA Orléans + FCBA	Aire naturelle française Pieds-mères issus de boutures	260 clones + sélection à faire parmi 1500 nouveaux
Ormes champêtre, lisse, de montagne	Irstea Nogent/V. + CREPAN (Caen)	Diverses régions sauf sud-est Haies basses issues de boutures	417 clones + sélection à faire parmi 50 nouveaux
Merisier	INRA Orléans (> 300 clones)	Aire naturelle française Haies basses issues de greffes	251 clones ; pas d'extension prévue
Noyer	IDF Lyon (> 150 clones)	Dauphiné, Auvergne + divers Vergers issus de greffes	58 clones + 115 en cours d'installation
Cormier	INRA Avignon (> 150 clones)	PACA, Languedoc-R., Poitou-Ch., Bourgogne Vergers issus de greffes	46 clones + 14 à remultiplier
Pin de Salzmann	néant	Languedoc-R., Conflent, Ardèche Vergers issus de greffes	en cours

Tab. 1 : composition et origine des Collections nationales de conservation de clones d'arbres forestiers

NB : les Collections nationales n'incluent pas les clones d'origine étrangère (ex : collection d'ormes européens, Irstea Nogent)

Évaluation

L'évaluation des clones en collection a essentiellement porté sur résistance à des maladies d'importance majeure : rouille du peuplier et graphiose de l'orme. Les données recueillies sur la rouille sont précieuses pour les travaux scientifiques conduits par l'INRA d'Orléans. Celles concernant la graphiose montrent qu'aucun clone d'orme champêtre, même issu de boutures d'un vieil arbre survivant à l'épidémie, n'offre de grande résistance à l'agent pathogène inoculé artificiellement (photo 7).

Valorisation forestière des Collections

La vocation première des Collections nationales est la conservation statique de génotypes représentant la diversité d'une espèce sur un territoire donné. Elles constituent également des sources de matériel végétal (graines, boutures) pour la conservation dynamique des ressources génétiques et divers usages forestiers ou agroforestiers (Le Bouler et Collin, 2009).

Trois variétés de peuplier noir (assemblages de 20 clones par variété) ont déjà été mises sur le marché pour les besoins du génie écologique dans les forêts en bords de Loire, de Garonne et du Rhin (Villar et Forestier, 2009). Dix clones d'orme champêtre sont proposés pour la reconstitution bocagère et d'autres le seront à leur tour (diversification clonale). Des projets de vergers à graines à large base génétique existent ou sont envisagés pour le cormier, le noyer commun et l'orme champêtre. Dans le cas du noyer, les collections associées peuvent servir à récolter de la semence pour la reconstitution du paysage agro-forestier régional.

Regard critique sur 20 ans d'action de la CRGF

La stratégie consistant à combiner pragmatiquement approches *in situ* pour les espèces sociales et *ex situ* pour les espèces disséminées ou menacées a globalement prouvé sa robustesse mais également montré ses limites. Actuellement la CRGF n'établit plus de distinguo aussi



J. Serouigne, Irstea

7 - Inoculation artificielle d'ormes pour évaluer leur sensibilité à la graphiose

tranché entre espèces relevant de tel ou tel mode de conservation. Certaines populations d'espèces présumées menacées (orme lisse, peuplier noir) peuvent en fait être conservées *in situ* alors que des populations marginales de grandes espèces sociales (ex : sapin pectiné) sont menacées par le changement climatique et devront probablement être conservées dynamiquement *ex situ*. La conservation *in situ* de fruitiers disséminés (ex : alisier) pourrait également être favorisée à l'échelle de grands massifs forestiers en accord avec les gestionnaires. Pour toutes sortes d'espèces, on s'achemine donc vers la combinaison souple de méthodes *in situ* et *ex situ*.

Les priorités en termes d'espèces à conserver ont parfois nécessité quelques ajustements, comme l'ajout des ormes lisses et de montagne, en fait plus menacés que l'orme champêtre qui se régénère bien par rejets et drageons, même en cas de mortalité spectaculaire de sa partie aérienne.

Dupliquer et caractériser les collections

La mise en place des Collections nationales a permis la duplication partielle ou totale de quatre collections anciennes mais pas encore de celle de cormier. Par malchance, cette dernière a récemment subi la perte de plusieurs clones lors d'un

incendie. Elle devrait être dupliquée sur le site de Cadarache à partir de 2013. Le cas du noyer offre un intéressant modèle avec une collection centrale (à Guéméné-Penfao) et des collections associées (régionales). Ce modèle pourrait avantageusement être étendu à d'autres espèces pour faciliter la valorisation et la conservation dynamiques en vergers à graines conservatoires, notamment pour des usages agroforestiers (ex : haies bocagères). Plusieurs collections anciennes (saules, aulne glutineux) ou en projet (pommier sauvage) gagneraient à bénéficier du statut de Collection nationale.

L'harmonisation et la mise à jour des bases de données ont progressé mais marquent actuellement le pas, dans l'attente d'un système de base de données en ligne. La caractérisation des collections a été conduite en fonctions d'opportunités (ex : projets et financements européens) mais pourrait reprendre de manière plus systématique suite aux progrès et à la baisse des coûts des techniques de caractérisation moléculaire de l'ADN.

Poursuivre leur valorisation

La valorisation scientifique des collections n'est pas seulement une production de l'activité conservatoire mais aussi une de ses conditions. Sans connaissance

sur la structuration de la diversité des espèces, on risque de cibler imparfaitement les ressources à conserver. Inversement, une collection *ex situ* constitue une précieuse source de matériel végétal (mais non la seule !) pour des études de diversité. De ce fait, par effet de feed-back, l'étude des collections contribue à indiquer des voies pour combler certaines lacunes et permet aussi d'éliminer certaines redondances. La mise sur le marché des variétés « patrimoniales » de peuplier noir destinées à la restauration écologique des forêts alluviales a nécessité, en accord avec le Comité Technique Permanent de la Sélection (CTPS), une intéressante évolution des critères d'homologation. Contrairement aux variétés forestières améliorées, la diversité génétique et phénotypique (date d'ouverture des bourgeons, architecture de l'arbre) a été privilégiée et non les performances en termes de production agronomique.

Perspectives : pourquoi et comment utiliser l'*ex situ* dans le contexte du changement climatique ?

Cette question relève de discussions de table ronde abordées par ailleurs (cf. article de F. Lefèvre dans ce dossier). Notons cependant que le recours à la conservation *ex situ* sera nécessaire à la fois dans le cas de ressources menacées en France (ex : populations méridionales de sapin pectiné, hêtre...) et dans celui de ressources étrangères potentiellement utiles en France (ex : populations circum-méditerranéennes de chênes, hêtre...). Dans les deux cas, la question de l'échantillonnage sera cruciale (peuplements, voire individus « résistants » dans des peuplements déperissants) mais la stratégie de mise en place le sera également. Plutôt que de réaliser seulement une ou deux plantations « pseudo-*in situ* »

dynamiques, il serait adroit d'en réaliser davantage, dans des contextes pédo-climatiques contrastés. Chacune de ces plantations suivrait ainsi une trajectoire évolutive qui lui serait propre, élargissant ainsi le spectre des adaptations dont nous pourrions avoir besoin à moyen terme. Bien évidemment, chaque plantation devrait être assez grande pour s'auto-protéger partiellement des flux de pollen éventuels en provenance de peuplements environnants.

Éric COLLIN

Irstea Nogent/V.
UR Écosystèmes Forestiers

Hervé LE BOULER
Olivier FORESTIER

Jean-Pierre HUVELIN
Michel RONDOUIN
Pépinière conservatoire
de Guéméné-Penfao

Patrice BRAHIC

Pépinière conservatoire
d'Aix-en-Provence

Michel BARITEAU

Bruno FADY

Sylvie ODDOU-MURATORIO

Jean THÉVENET

INRA Avignon
Écologie des Forêts Méditerranéennes

Jean DUFOUR

Marc VILLAR

INRA Orléans
UR Amélioration, Génétique
et Physiologie Forestières

Sabine GIRARD

IDF Lyon

Luc HARVENGT

FCBA Bordeaux (Cestas)
Pôle Biotechnologie et
Sylviculture Avancée

Remerciements

Les auteurs remercient chaleureusement tous les agents ONF et toutes les personnes qui ont assuré la prospection ou le signalement des arbres à multiplier et/ou qui les ont aidés à prélever les boutures ou les greffes.

Bibliographie

Bariteau M., Brahic P., Thévenet J., 2006. Comment domestiquer le Cormier (*Sorbus domestica*) ? Bilan des recherches sur la multiplication sexuée et végétative. Forêt méditerranéenne, vol. XXVII, n° 1, pp. 17-30

Collin E., 2007. La conservation des ressources génétiques des ormes. Forêt Entreprise, n° 175, pp. 29-32

Collin E., Bilger I., Héois B., 1998. Conservation des ressources génétiques du merisier. Forêt Entreprise, n° 120, pp. 59-64

Fady B., Brahic P., Cambon D., Gilg O., Rei F., Roig A., Royer J., Thévenet J., Turion N., 2010. Valoriser et conserver le pin de Salzman en France. Forêt méditerranéenne, vol. XXXI, n° 1, pp. 3-14

Le Boulter H., Collin E., 2009. La valorisation des ressources génétiques des arbres forestiers conservés dans les Collections nationales françaises. Revue Forestière Française, vol. 61, n° 5, pp. 447-455

Villar M., Forestier O., 2009. Le peuplier noir en France : pourquoi conserver ses ressources génétiques et comment les valoriser ? Revue Forestière Française, vol. 61, n° 5, pp. 457-466