

ASSOCIATION DES AMIS DE LA MASSANE

**RESERVE NATURELLE DE LA MASSANE**

**TRAVAUX**

**94**

**STRUCTURE GENETIQUE  
DES POPULATIONS DE HÊTRE (*Fagus sylvatica*)  
DE CATALOGNE NORD ET SUD**

PAR

**G. de LAFONTAINE, S. LEFEVRE, A. DUCOUSSO,  
R. PETIT & E. MAGNANOU**

**2012**

Laboratoire Arago, 66650-BANYULS-SUR-MER



Structure génétique des populations de hêtre  
(*Fagus sylvatica*)  
de Catalogne Nord et Sud

Guillaume de Lafontaine<sup>1</sup>, Sophie Lefèvre<sup>1</sup>,  
Alexis Ducouso<sup>1</sup>, Rémy Petit<sup>1</sup> et Élodie Magnanou<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>INRA UMR 1202 BioGeCo, 69 route d'Arcachon, Cestas 33612

<sup>2</sup>Université Pierre et Marie Curie-Paris6, Laboratoire ARAGO, Avenue Fontaulé, 66650 Banyuls-sur-Mer, France

<sup>3</sup>CNRS, UMR7232, Biologie Intégrative des Organismes Marins, Avenue Fontaulé, 66650 Banyuls-sur-Mer, France,

## INTRODUCTION

Le hêtre européen (*Fagus sylvatica* L.) est une des espèces d'arbres les plus répandues en Europe. Elle couvre environ 12 millions d'hectares (Muhs & von Wuehlisch 1993) et s'étend de la Scandinavie à la Sicile et de l'Espagne à la Crimée (Figure 1; von Wuehlisch 2008). Dans la partie nord de son aire de répartition, le hêtre occupe une distribution continue puisque les conditions climatiques fraîches lui permettent d'assurer sa dominance à basse altitude. À l'inverse dans la partie méridionale de son aire il domine les étages montagnards (c. 800 à 1800 m) plus frais et humides entre les sapinières et pinèdes subalpines (c. 1800 à 2200 m) et au-dessus des chênaies de l'étage collinéen en basse altitude ( $\leq 800$  m). Les conditions édaphiques les plus favorables au hêtre sont des sols humides sur roches calcaires ou volcaniques. Les sites xériques ou trop hydriques ne permettent pas une bonne croissance de l'espèce.

Durant les derniers 2.4 millions d'années, l'alternance des périodes glaciaires et interglaciaires a profondément influencé la distribution, l'abondance et la diversité des organismes. Les espèces européennes subissent ainsi de nombreuses contractions et expansions de leur aire de distribution. Lors des maxima glaciaires, la majorité des organismes adaptés aux climats tempérés fut repoussée vers les péninsules du sud. Leur aire de distribution fut ainsi globalement déplacée de 10 à 20° en latitude et sur des dénivellations altitudinales de 600 à 1500 mètres. En analysant conjointement des données paléoécologiques et génétiques du hêtre à l'échelle européenne, Magri *et al.* (2006) ont proposé l'existence d'un refuge glaciaire dans la région des Pyrénées orientales. Les mêmes auteurs ont proposé que l'essentiel du hêtre en Europe centrale et Europe du nord proviendrait d'une colonisation postglaciaire à partir des refuges situés dans les Alpes orientales – Slovénie – Istrie et possiblement en sud Bohême – sud Moravie. Les lignées ayant peuplé le refuge glaciaire de Pyrénées orientales – Catalogne n'auraient donc pas été la source d'une vaste expansion postglaciaire du hêtre à l'Holocène. Elles auraient plutôt persisté à proximité du refuge glaciaire et auraient été limitées à une expansion holocène locale ou régionale (Magri *et al.* 2006).

L'objectif de l'étude est de décrire la structure de la diversité génétique des hêtraies de Catalogne Nord et Sud et de proposer un scénario démographique qui pourrait expliquer la structure de cette métapopulation. Nous posons l'hypothèse que l'échantillonnage à une échelle fine, centré sur cette région correspondant à un refuge glaciaire du hêtre et l'utilisation de marqueurs génétiques hypervariables (microsatellites) permettra de définir

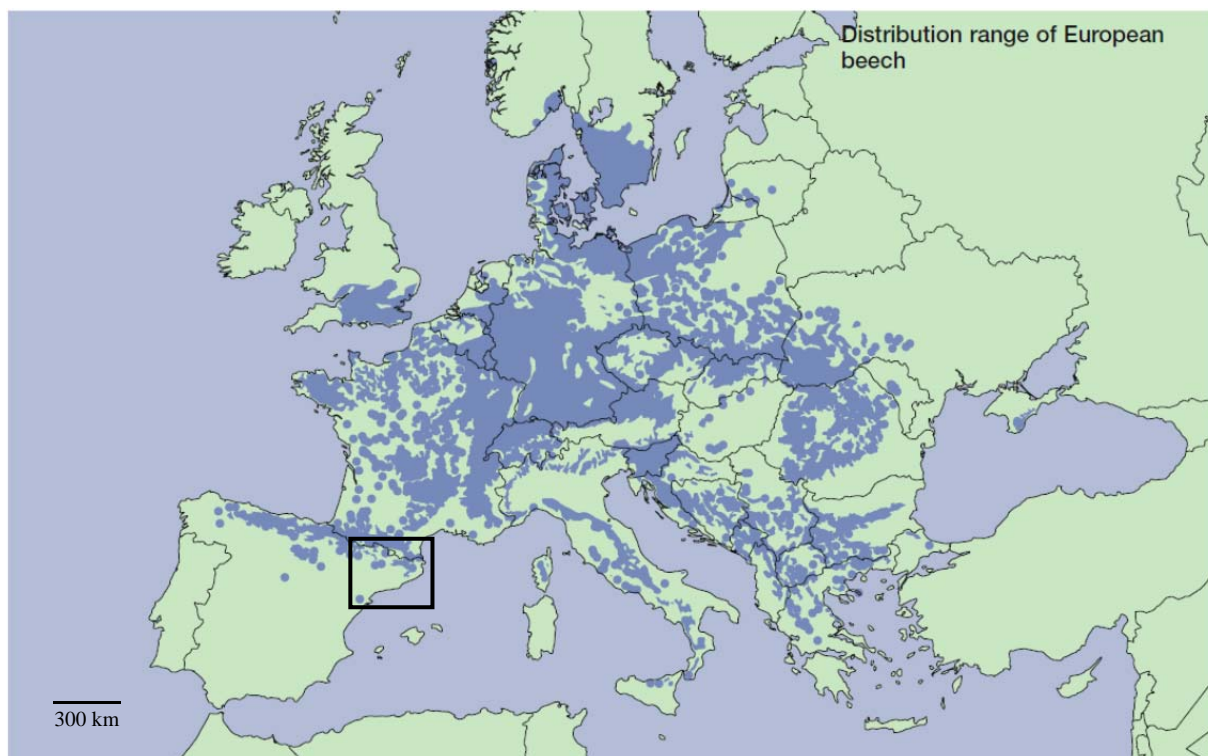
une structure génétique suffisamment fine pour inférer (i) la localisation de micro-refuges glaciaires et (ii) certains événements démographiques postglaciaires. Une attention particulière sera portée à la hêtraie de la Massane : de par sa position atypique à basse altitude, celle-ci aurait pu constituer un micro-refuge glaciaire. Elle est par ailleurs séparée des autres hêtraies de la région par une épaisse ceinture de végétation méditerranéenne et la question se pose de son degré d'isolement génétique.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les sept populations retenues sont majoritairement originaires de zones protégées (tableau 1, figure 2) et les prélèvements ont été effectués en coordination avec les conservateurs des réserves naturelles en question. ELS constitue la population la plus méridionale d'Espagne, isolée de c. 250 km par rapport aux autres populations impliquées dans ce travail (Figures 1 et 2). Si l'on compare avec l'isolement géographique marqué de la population ELS, les populations MAS, OLO et LAS semblent en continuité avec les autres populations du massif pyrénéen (figure 1 et 2). On notera toutefois que ces populations se trouvent en fait à une altitude relativement basse ( $\leq 950$  m ; étages collinéen supérieur / montagnard inférieur) par rapport aux autres populations étudiées, qui se trouvent dans l'étage montagnard supérieur du massif ( $\geq 1250$  m; Tableau 1).

<b>Populations</b>	<b>Abr.</b>	<b>Lat. (°N)</b>	<b>Long. (°E)</b>	<b>Alt. (m)</b>
Els-Port	ELS	40.865	0.082	1000
Las Illes	LAS	42.439	2.803	650
Massane	MAS	42.481	3.028	950
Nohèdes	NOH	42.631	2.258	1250
Olot	OLO	42.198	2.475	650
Prats de Mollo	PRA	42.408	2.385	1550
Py-Mantet	PYM	42.459	2.359	1750

**Tableau 1.** Coordonnées géographiques (degrés décimaux) des sept populations de hêtre échantillonnées dans les Pyrénées orientales et Catalogne  
Abr.: abréviations; Lat.: latitude; Long.: longitude; Alt.: altitude



**Figure 1.** Aire de répartition du hêtre européen (*Fagus sylvatica* L.). L'encadré délimite la zone d'étude dans les Pyrénées orientales et la Catalogne. [Carte compilée par les membres du réseau EUFORGEN, suivant Pott (2000)].

Pour chaque site retenu, les individus ont été choisis sur différentes placettes afin d'augmenter la diversité potentiellement rencontrée au sein de chacune des populations. Deux feuilles saines ont été prélevées sur chaque hêtre et immédiatement stockées dans un sachet de thé, lui-même placé dans un sachet plastique scellé contenant des billes de silice (N° catalogue Z163589, Sigma Aldrich) assurant la déshydratation totale du matériel végétal et la préservation de l'ADN.



**Figure2.** Répartition des sept populations de hêtre (*Fagus sylvatica*) échantillonnées dans les Pyrénées orientales et Catalogne. [Fond de carte : Google Earth]

L'ADN de l'ensemble des échantillons ( $n = 304$  individus, moyenne de 43.4 individus par population) a été extrait à l'aide du kit d'extraction *Invisorb DNA plant HTS 96* (Invitek, Allemagne). L'amplification de l'ADN de chaque individu à 16 locus microsatellites a été effectuée par deux PCR en multiplex (Lefèvre *et al.* 2011). La lecture des génotypes a été effectuée à l'aide du logiciel STRand ([www.vgl.ucdavis.edu/STRand](http://www.vgl.ucdavis.edu/STRand)) et les allèles ont été déterminés avec AUTOBIN ([www.bordeaux-aquitaine.inra.fr/biogeco/Ressources/Logiciels/Autobin](http://www.bordeaux-aquitaine.inra.fr/biogeco/Ressources/Logiciels/Autobin)). Toutes les méthodes employées en laboratoire et les informations sur les marqueurs microsatellites sont décrites plus en détail dans Lefèvre *et al.* (2011).

Pour évaluer la diversité génétique des sept populations, la richesse allélique ( $A$ ), le nombre d'allèles privés ( $A_p$ ), l'hétérozygotie observée ( $H_o$ ), l'hétérozygotie attendue ( $H_e$ ), le coefficient de consanguinité ( $F_{IS}$ ) ont été calculés pour chaque population avec GENALEX 6.4 (Peakall & Smouse 2006). Le coefficient de différenciation ( $F_{ST}$ ) pour

l'ensemble du jeu de données a été calculé avec ARLEQUIN 3.5 (Excoffier & Lischer 2010).

La structure génétique a été déterminée en employant cinq approches complémentaires. L'algorithme Bayésien implémenté dans BAPS 5.2 (Corander *et al.* 2008a, b) a été utilisé pour générer les groupements optimaux de populations génétiquement homogènes. Cette première analyse a été effectuée en considérant la distance géographique entre les populations (analyse spatiale, Corander *et al.* 2008a) et sans la considérer (Corander *et al.* 2008b) avec des résultats équivalents (seuls les résultats de l'analyse spatialisée sont présentés). L'algorithme de différenciation maximale de Monmonier implémenté dans BARRIER 2.2 (Manni *et al.* 2004) a été employé pour détecter les zones de discontinuité génétique maximale ( $F_{ST}$ ) au sein d'un réseau de populations défini dans l'espace géographique. L'analyse de la variance moléculaire (AMOVA, Excoffier *et al.* 1992) a été utilisée pour corroborer les patrons de la différenciation génétique définis par les analyses précédentes. Les mesures d'isolement génétique par la distance géographique (*isolation by distance, IBD*) ont été calculées avec un test de Mantel en comparant la matrice des  $F_{ST}$  avec la matrice des distances géographiques à l'aide du service IBDWS 3.2 (Jensen *et al.* 2005). Enfin, une nouvelle approche permettant d'évaluer la structure génétique fine est présentement en développement par notre équipe de recherche (appellation temporaire: *graphe dirigé des affectations de paires de populations*). Cette approche permet de mesurer la distance génétique entre deux populations (paramètre  $D_d$ , équivalent du *pairwise*  $F_{ST}$ ), mais aussi d'identifier les populations 'sources' (potentiellement les refuges glaciaires) et les populations 'puits' (ayant dérivés génétiquement) au sein d'une métapopulation. L'approche se base sur le calcul des probabilités d'affectation des individus à la population dans laquelle ils ont été échantillonnés et des probabilités d'affectations à d'autres populations de la même métapopulation. En comparant ainsi deux à deux toutes les paires de populations, on construit un réseau des comparaisons de probabilités d'affectation permettant de visualiser le sens des flux de gènes historiques et d'en inférer des processus démographiques. Cette approche est employée ici de manière encore exploratoire mais elle permettra de pousser plus loin l'analyse de la structure de la diversité génétique au sein de la métapopulation des Pyrénées orientales et Catalogne sud. Les calculs des probabilités d'affectations ont été effectués avec GENALEX 6.4 (Peakall & Smouse 2006) suivant la méthode de Paetkau *et al.* (1995). Les calculs des asymétries d'affectations et

les valeurs des paramètres  $Dd$  ont été calculées avec ASYMATRIX *beta-test* (de Lafontaine *in prep*). Le graph dirigé a été construit dans R 2.14 (R development Core Team 2011) avec le package STATNET 2.6 (Handcock *et al.* 2007).

## RÉSULTATS ET DISCUSSION

### *Paramètres de la diversité génétique*

Le tableau 2 présente les estimateurs classiques de la diversité génétique des sept populations. Comps *et al.* (2001) ont étudié la diversité génétique de 12 marqueurs isozymes du hêtre dans un échantillonnage couvrant la totalité de l'aire de répartition de l'espèce. Ils ont trouvé une richesse allélique ( $A$ ) de 2.3, soit presque trois fois moins que celle observée avec les 16 marqueurs microsatellites employés dans la présente étude (6.2). De même, l'hétérozygotie observée ( $H_o$ ) mesurée par Comps *et al.* (2001) est moindre (0.28) que celle mesurée ici (0.68). A contrario, les coefficients de consanguinité ( $F_{IS}$ ), qui dépendent moins de la diversité, sont proches de zéro, autant dans leur étude que pour nos résultats (0.02 et -0.001, respectivement). Le coefficient de différenciation ( $F_{ST}$ ) de Comps *et al.* (2001) indique une plus grande différence génétique entre les populations (0.07) par rapport à ce qui est observé ici (0.03). Ces différences entre les deux études reflètent à la fois les propriétés propres aux marqueurs génétiques employés (isozymes / microsatellites) et les contrastes des échelles géographiques échantillonnées (transcontinentale / régionale).

Populations	N	A	Ap	Ho	He	F <sub>IS</sub>	F <sub>ST</sub>
Els-Port	30	5.1	0	0.61	0.61	0.004	-
Las Illes	45	6.1	5	0.68	0.67	-0.022	-
Massane	49	6.6	1	0.70	0.71	0.012	-
Nohèdes	45	6.6	1	0.70	0.67	-0.048	-
Olot	45	6.6	5	0.68	0.69	0.021	-
Prats de Mollo	45	6.3	2	0.70	0.71	0.010	-
Py-Mantet	45	6.1	1	0.69	0.70	0.014	-
Pyrénées orientales et Catalogne	43	6.2	2.7	0.68	0.68	-0.001	0.03

**Tableau 2.** Paramètres de diversité génétique (16 SSRs) de sept populations de hêtre des Pyrénées Orientales et Catalogne

N: taille de l'échantillon; A: richesse allélique; Ap: nombre d'allèles privés; Ho: hétérozygotie observée; He: hétérozygotie attendue; F<sub>IS</sub>: coefficient de consanguinité; F<sub>ST</sub>: coefficient de différenciation

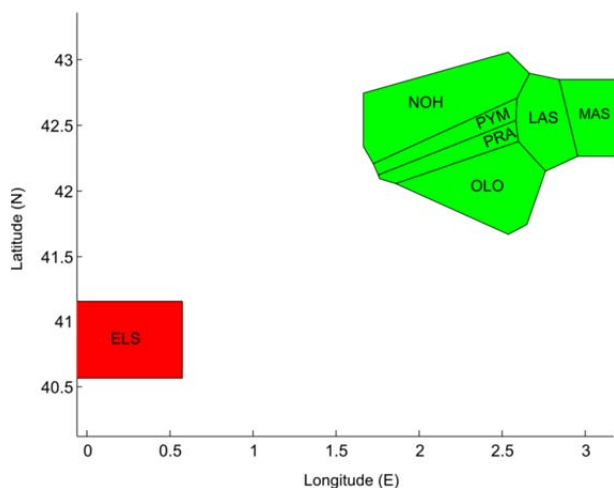


Jump & Peñuelas (2006) ont étudié la diversité génétique de six marqueurs microsatellites du hêtre à l'échelle locale (distance entre les deux sous-populations les plus éloignées = 8 km) en Catalogne (Parc Naturel Montseny, situé c. 30 km au sud de la population OLO). Cette étude permet une meilleure comparaison puisqu'elle emploie le même type de marqueurs génétiques (à ceci près que ce ne soient pas les mêmes locus), une échelle spatiale davantage similaire (quoique leur étude soit à l'échelle locale et nous travaillons ici à une échelle plutôt régionale), au sein d'une même région biogéographique (leur site d'étude fait partie de la même métapopulation et aurait pu être inclus dans l'échantillonnage de la présente étude). La richesse allélique calculée par Jump & Peñuelas (2006) est légèrement supérieure à ce que nous observons (8.8 et 6.2, respectivement). Leur hétérozygotie observée est légèrement inférieure (quoique comparable) à ce que nous avons obtenus (0.63 et 0.68, respectivement). Le coefficient de consanguinité est supérieur à ce que nous avons calculé à l'échelle régionale (0.09 et -0.001, respectivement, cette différence pouvant être expliquée par la présence d'allèles nuls dans leur étude). Enfin, leur coefficient de différenciation ( $F_{ST}$ ) est légèrement inférieur (0.02 et 0.03, respectivement).

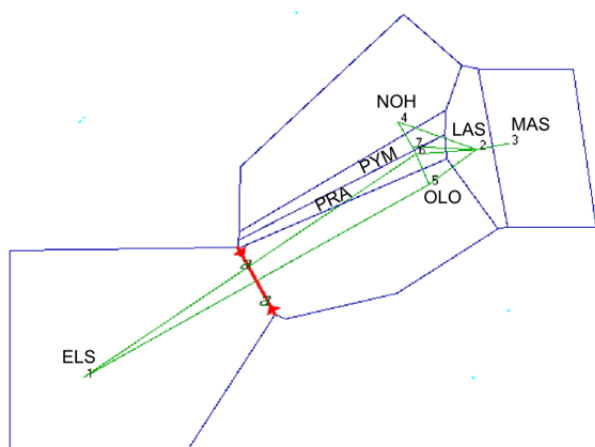
### ***Analyses de la structure génétique***

L'analyse Bayésienne de la structure génétique a défini un groupement optimal des sept populations en distinguant deux groupes (logml: -14 410.5; figure 3). Le premier groupe n'inclut que la population ELS. Rappelons-nous qu'il s'agit de la population plus méridionale d'Espagne isolée de c. 250 km par rapport aux autres populations de hêtre. Le second groupe inclut l'ensemble des six autres populations échantillonnées.

La zone de discontinuité génétique maximale identifiée par l'algorithme de Monmonier corrobore la structure génétique définie par l'analyse Bayésienne et trouve une différenciation génétique maximale en isolant la population ELS de l'ensemble des six autres populations échantillonnées (Figure 4).



**Figure 3.** L'analyse Bayésienne de structure génétique définit deux groupes distincts illustrés par différentes couleurs.



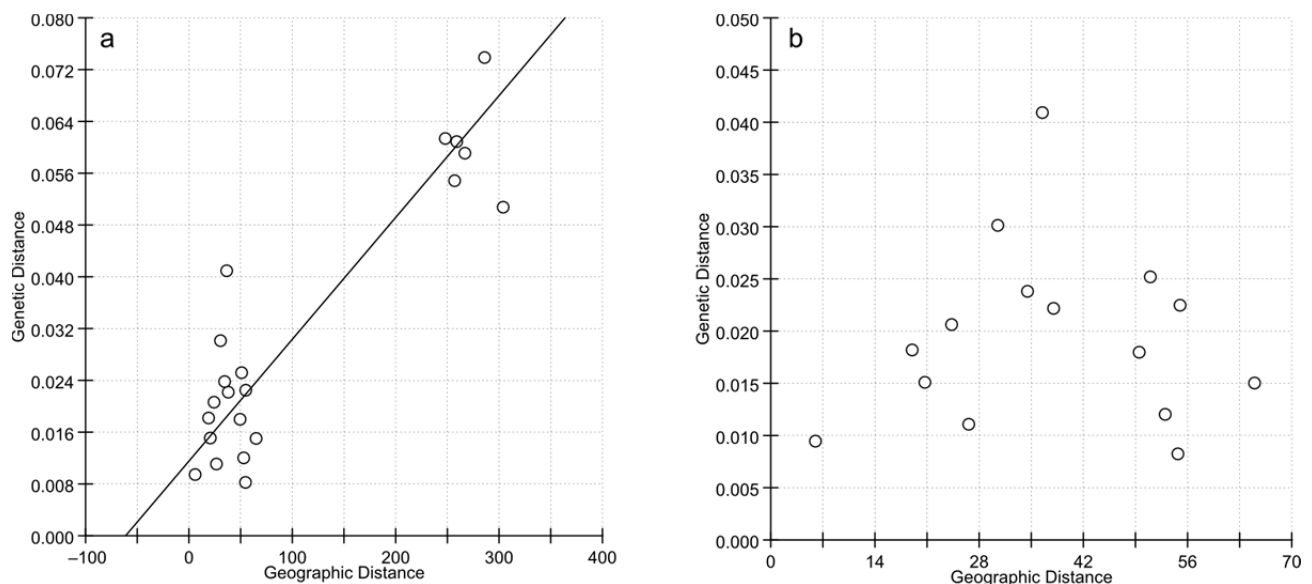
**Figure 4.** Zone de discontinuité génétique maximale définie par l'algorithme de Monmonier. La tessellation de Voronoï (réseau bleu) représente un voisinage de polygones au centre desquels chacune des sept populations est un centroïde connecté aux populations voisines par la triangulation de Delaunay (réseau vert). La discontinuité maximale est représentée par une ligne rouge superposée à un segment de la tessellation de Voronoï.

L'analyse de la variance moléculaire (AMOVA) corrobore le signal de structure génétique défini par l'algorithme de Monmonier (Tableau 3). Plus de 4% de la variance génétique totale (4.2%,  $P < 0.001$ ) s'explique par les différences entre les deux groupes de populations (ELS / ensemble des six autres populations). La proportion de la variance génétique totale affectée à la différence entre les populations au sein de ces groupes demeure toutefois significative même si elle est réduite à *c.* 2% ( $P < 0.001$ ).

Source de variation	dl	% var	Indice de fixation	Valeur <i>P</i>
<b>Toutes les populations échantillonnées en Catalogne nord et sud (n = 7)</b>				
- Entre toutes les populations	6	2.9	0.029	<0.001
- Intra-populations	281	97.1		
<b>Groupes de populations (ELS vs six autres populations)</b>				
- Entre les groupes	1	4.2	0.042	<0.001
- Entre les populations au sein des groupes	5	1.9	0.020	<0.001
- Intra-populations	281	93.9	0.061	<0.001
<b>Total</b>	<b>287</b>			

**Tableau 3.** Table des analyses de la variance moléculaire (AMOVA) des sept populations de hêtre échantillonnées dans les Pyrénées orientales et Catalogne. dl: degrés de liberté; %var: Pourcentage de variation

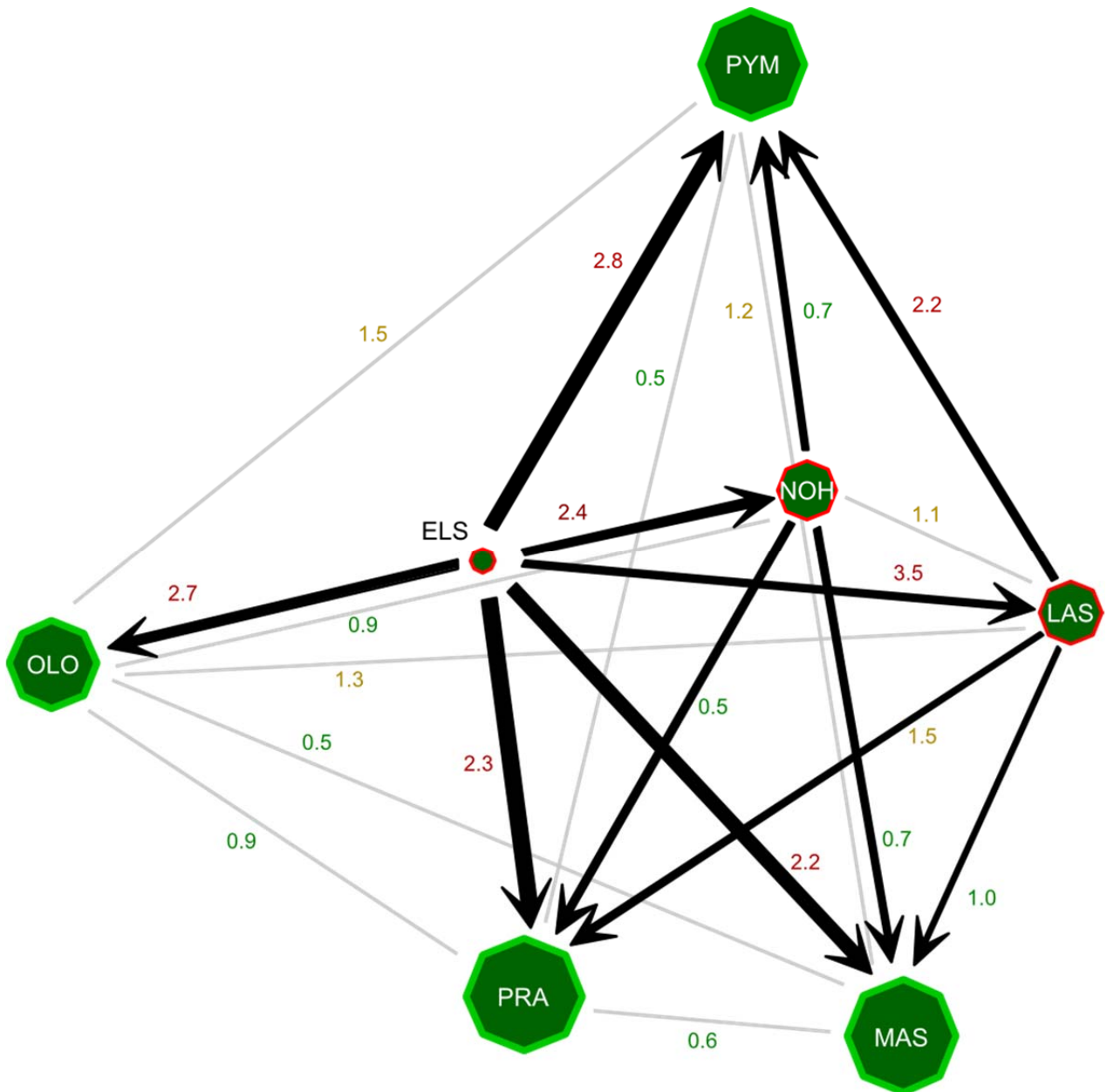
Le test de Mantel a montré une corrélation significative entre les distances génétiques et géographiques révélateur d'un isolement par la distance significatif ( $Z = 1.33$ ,  $r = 0.84$ ,  $P = 0.04$ ; Figure 5a). En excluant de cette analyse la seule population ELS (*i.e.* la plus éloignée géographiquement et différenciée génétiquement), il ne reste aucune corrélation entre les distances génétiques et géographiques des six populations résiduelles ( $Z = 0.45$ ,  $r = 0.20$ ,  $P = 0.26$ ; Figure 5b). Le patron d'isolement par la distance est donc causé par une seule population en marge méridionale de la métapopulation.



**Figure 5.** Test de Mantel pour toutes les populations échantillonnées montrant (a) un isolement génétique par la distance géographique et (b) l'absence d'isolement par la distance en excluant la population ELS.

Plusieurs informations peuvent être déduites du graphe dirigé des affectations de paires de populations (Figure 6). Le paramètre  $D_d$  (estimateur de la différence génétique entre deux populations) est significativement de zéro pour toutes les paires de populations comparées. Par ailleurs, les  $D_d$  reliant la population ELS aux autres populations sont c. 3 fois plus élevées qu'entre les autres populations (moyennes de 2.7 et 1.0, respectivement;  $P_{\text{test unilatéral}} < 0.001$ ). Ceci indique que la population ELS est significativement différente génétiquement de la plupart des autres populations échantillonnées. Ce signal était attendu puisque conforme à ce que toutes les autres analyses effectuées précédemment ont indiqué (Bayésienne, Monmonier, AMOVA, IBD). L'analyse permet toutefois d'aller plus loin dans les inférences quant à la structure génétique de la métapopulation étudiée.

La taille des cercles sur la figure 6 représente la probabilité que les individus soient correctement affectés à la population dans laquelle ils ont été échantillonnés. Cette probabilité est inversement proportionnelle à la diversité génétique. En d'autres termes, moins une population est diversifiée génétiquement, plus les individus qui la composent ont de chance d'y être bien affectés. La figure 6 montre que les populations ELS, NOH et LAS ont une diversité génétique inférieure à la moyenne.



**Figure 6.** Graphe dirigé des affectations de paires de populations. Les flèches représentent la différence entre les probabilités d'affectations des individus d'une population à la population à laquelle ils sont comparés. Le sens de la flèche indique le sens de l'affectation dominante significative ( $\alpha = 0.05$ ) des individus d'une population 'puits' à chacune de ses populations 'sources'. Les segments en gris illustrent qu'il n'y a pas de différence de probabilité d'affectation des individus entre les deux populations comparées. L'épaisseur des traits est proportionnelle à la différence d'affectation entre les deux populations comparées. La taille des cercles est inversement proportionnelle à la probabilité que les individus soient correctement affectés à la population dans laquelle ils ont été échantillonnés. Les populations identifiées par de grands cercles aux contours verts possédant une diversité génétique supérieure à la moyenne; celles correspondant aux petits cercles aux contours rouges ont une diversité génétique inférieure. Les nombres indiquent la différenciation génétique entre les deux populations comparées (indice  $D_d$ ) ; vert:  $D_d \leq 1$ , marron:  $1 < D_d \leq 2$ , rouge:  $D_d > 2$ .

Toujours sur la figure 6, les flèches représentent la différence entre les probabilités d'affectations des individus d'une population à la population à laquelle ils sont comparés. À titre d'exemple la flèche allant de LAS vers MAS indique que la probabilité que les individus de la population LAS soient affectés à la population MAS est plus grande que la probabilité réciproque (à savoir que les individus de la population MAS soient affectés à la population LAS). Cette analyse permet d'indiquer quelles sont les populations 'sources' (celles vers lesquelles pointent davantage de flèches) et les populations 'puits' (celles à partir desquelles proviennent les flèches). Les refuges glaciaires s'apparenteront aux populations 'sources'. Celles-ci sont plus diversifiées, faiblement différenciées de la plupart des autres populations et les individus qui les composent sont mal affectés aux autres populations voisines issues du même refuge. À l'inverse, les populations provenant du refuge mais ayant subi de la dérive génétique (soit par fragmentation et isolement démographique, soit par effet de fondation), s'apparenteront plutôt aux populations 'puits'. Celles-ci seront appauvries génétiquement, plus différenciées par rapport aux autres populations et les individus qui la composent (quoique bien affectés à la population dans laquelle ils ont été échantillonnés) ont de fortes probabilités d'être affectés aux populations 'sources' (refuges). La figure 6 montre que ELS et, dans une moindre mesure, LAS et NOH constituent les populations 'puits' de la métapopulation Catalogne. En termes évolutifs, ce patron pourrait être causé par un processus démographique tel que la dérive génétique de ces populations. Le cas de ELS est particulièrement marqué. Cette population a été identifiée par toutes les analyses de structure génétique comme étant génétiquement différente. Par ailleurs, les populations LAS et NOH n'ont pas été identifiées comme étant génétiquement différenciées par rapport à la plupart des autres populations. Toutefois, leurs fortes probabilités d'affectations aux populations 'sources' (3 flèches dans les deux cas) indiquent que ces populations sont effectivement des 'puits' dans cette métapopulation et ont dû subir, par le passé, des événements démographiques impliquant un isolement génétique et une réduction de l'effectif (toutefois moins marqué que pour ELS). Les populations MAS, PYM et PRA constituent les populations 'sources' dans les Pyrénées Orientales - Catalogne sud. Ces populations pourraient indiquer la présence locale de micro-refuges au Maximum Glaciaire. Une expansion régionale holocène à partir de celles-ci constituerait la source de la métapopulation actuelle. La présence de signaux de dérive génétique pour les populations 'puits' NOH, LAS et ELS pourrait suggérer une fragmentation de la métapopulation survenue après la recolonisation postglaciaire (par exemple sous l'action de l'homme et des conditions climatiques chaudes et sèches). Dans le cas de ELS, la

richesse allélique plus faible que celle des autres populations ( $P_{\text{test unilatéral}} = 0.02$ ) tout en conservant une hétérozygotie comparable à celle des autres populations pourrait indiquer un autre processus démographique entraînant la dérive génétique: un effet de fondation lors de la colonisation postglaciaire issu de dissémination à longue distance.

## CONCLUSION

L'objectif de cette étude était la description par des marqueurs microsatellites de la structure et de la diversité génétique des hêtraies de Catalogne Nord et Sud. Nous avons par ailleurs tenté de proposer un scénario démographique pouvant expliquer le patron de diversité observé. Ce scénario prend plus particulièrement en considération l'impact des glaciations du quaternaires ainsi que des événements démographiques postérieurs sur la distribution des espèces tempérées et leur diversité. Nous posons l'hypothèse que la forêt de la Massane, de par sa position géographique aurait pu constituer un micro refuge pour le hêtre durant les phases glaciaires. La présence d'une diversité biologique unique sur le site (certains coléoptères comme *Anthaxia midas ssp oberthüri*) est un indice en faveur de ce scénario. Nous nous sommes également interrogés sur leur degré d'isolement par rapport aux forêts environnantes.

Les sept populations échantillonnées en Catalogne nord et sud présentent une structure génétique laissant supposer qu'il existe en leur sein des micro refuges où le hêtre a pu se maintenir même au cours des glaciations du quaternaires. Ces sites auraient par la suite constitué la source de l'expansion régionale du hêtre à l'Holocène. La Massane, d'une part et l'ensemble constitué par les populations voisines Prats de Mollo et Py-Mantet d'autre part sont identifiées comme tels et présentent les diversités génétiques les plus élevées. La Massane ne présente pas d'isolement génétique marqué par rapport aux autres populations des Pyrénées Orientales contrairement à ce que sa position géographique pouvait laisser présager. Même si nos données confirment donc en partie l'hypothèse de départ, elles ne permettent pas de trancher quant à la localisation précise de ce dernier refuge et des analyses portant sur un plus grand nombre d'individus pour ces sites s'avèreraient pertinentes.

A l'inverse, Els-Port, Las Illes et Nohèdes présentent un profil davantage apparenté à des populations ayant subi une dérive génétique plus ou moins prononcée. Cette dérive pourrait être le résultat d'événements de dissémination à longues distances lors de la colonisation postglaciaire : Els Ports, la plus éloignée et isolée des autres hêtraies, pourrait

être concernée par cet effet fondateur. Plus généralement, cette dérive génétique pourrait trouver son origine dans une fragmentation survenue après la dernière glaciation, sous l'action de l'homme et / ou des conditions climatiques défavorables au hêtre.

Le site de Réserve Naturelle de La Massane fait face à des contraintes du milieu singulières comparativement aux autres populations d'altitude, et est d'autant plus soumise aux changements globaux actuels (dont ceux relatifs à la température et l'hygrométrie). Elle méritera ainsi une attention particulière. Des investigations de démogénétique plus poussée sont en cours. Elles visent à affiner le diagnostic de la dynamique de cette population d'une part, et à identifier la nature des hêtres contributeurs à sa régénération d'autre part.

## REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier le personnel des Réserves Naturelles de Py; Nohèdes; Prats-de-Mollo-La-Preste, et des Parques Naturales dels Ports et la Garrotxa pour leur aide lors des échantillonnages, ainsi que la Direction Régionale de l'environnement, de l'Aménagement et du Logement ; le Conseil Général Pyrénées-Orientales et la Région Languedoc-Roussillon pour leur soutien financier.

## RÉFÉRENCES

- Comps B, Gömöry D, Letouzy J *et al.* (2001) Diverging trends between heterozygosity and allelic richness during postglacial colonization in the European beech. *Genetics*, **157**, 389-397.
- Corander J, Sirén J, Arjas E (2008a) Bayesian spatial modelling of genetic population structure. *Computational Statistics*, **23**, 111-129.
- Corander J, Marttinen P, Sirén J, Tang J (2008b) Enhanced Bayesian modelling in BAPS software for learning genetic structures of populations. *BMC Bioinformatics*, **9**, 539.
- Excoffier L, Smouse L, Quattro JM (1992) Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, **131**, 479-491.
- Excoffier L, Lischer HEL (2010) Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, **10**, 564-567.



- Jensen JL, Bohonak AJ, Kelley ST (2005) Isolation by distance, web service. *BMC Genetics*, **6**, 13.
- Jump AS, Peñuelas J (2006) Genetic effects of chronic habitat fragmentation in a wind-pollinated tree. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, **103**, 8096-8100.
- Handcock MS, Hunter DR, Butts CT, Goodreau SM, PN, Morris M (2007) Statnet: Software tools for the Statistical Modeling of Network Data. R Package. R Foundation for Statistical Computing, Vienna.
- Lefèvre S, Wagner S, Petit RJ, de Lafontaine G (2011) Multiplexed microsatellite markers for genetic studies of beech. *Molecular Ecology Resources* 12(3):484-491
- Magri D, Vendramin GG, Comps B *et al.* (2006) A new scenario for the Quaternary history of European beech populations: palaeobotanical evidence and genetic consequences. *New Phytologist*, **171**, 199-221.
- Manni F, Guérard E, Heyer E (2004). Geographic patterns of (genetic, morphologic, linguistic) variation: how barriers can be detected by “Monmonier’s algorithm”. *Human Biology*, **76**, 173-190.
- Muhs HJ, von Wuehlisch G eds (1993) *The scientific basis for the evaluation of the genetic resources of beech*. Proceedings of a scientific workshop under the Community research program on agriculture and agro-industry, including fisheries (“AIR”) held in Ahrensburg, Germany, 01–02 July, 1993. Working Document of the EC, DG VI, Brussels.
- Paetkau D, Calvert W, Stirling I, Strobeck C (1995) Microsatellite analysis of population structure in Canadian polar bears. *Molecular Ecology*, **4**, 347-354.
- Peakall R, Smouse PE (2006) Genalex 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, **6**, 288–295.
- Pott R (2000) Palaeoclimate and vegetation - long-term vegetation dynamics in central Europe with particular reference to beech. *Phytocoenologia*, **30**, 285-333.
- R Development Core Team (2011). R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna.
- von Wuehlisch G (2008) *EUFORGEN Technical Guidelines for genetic conservation and use for European beech (Fagus sylvatica)*. Bioversity International, Rome, Italy.