

# Rapport sur le projet : analyse génétique de la provenance des sapins de Douglas échantillonnés en Suisse

Dr. Mathieu Lévesque<sup>1</sup>, Justine Charlet de Sauvage<sup>1</sup>

## 1. Contexte

Le sapin de Douglas, originaire d'Amérique du Nord, a été introduit en Europe centrale au milieu du 19<sup>ème</sup> siècle. En Suisse, les plantations de sapins de Douglas sont très probablement originaires de la variété « côtière » (*Pseudotsuga menziesii* var. *menziesii* (Mirb.) Franco) du fait de ses exigences écologiques adaptées au climat suisse, mais l'on ne connaît pas l'origine exacte des peuplements.

L'analyse présentée dans ce rapport s'inscrit dans le projet de doctorat de Justine Charlet de Sauvage s'intéressant à la sensibilité climatique du sapin blanc, du mélèze et du sapin de Douglas, débuté en septembre 2019. Grâce au financement alloué par l'OFEV en 2021, des analyses complémentaires sont en cours et vont permettre d'identifier la provenance génétique des sapins de Douglas échantillonnés à travers la Suisse. Les échantillons ont été prélevés et les analyses génétiques sont en cours au laboratoire du BOKU à Vienne auprès de Dr. Charalambos Neophytou<sup>2</sup>. Les résultats finaux sont attendus pour début décembre 2021 et seront communiqués à l'OFEV par la suite.

Plusieurs études se sont déjà intéressées à l'analyse de la diversité génétique des sapins de Douglas dans leur zone géographique d'origine, ainsi que dans leur zone d'introduction en Europe (par exemple Hintsteiner et al., 2018; Slavov et al., 2004; van Loo et al., 2015). La présente étude est comparable à celle récemment publiée par Neophytou et al. (2020). Cependant, on peut voir dans leur étude qu'aucune population de sapins de Douglas introduite en Suisse n'a été analysée. Notre analyse sur huit populations de sapins de Douglas à travers la Suisse contribuera donc également à compléter les connaissances sur la provenance génétique des sapins de Douglas plantés en Europe centrale.

## 2. Travail de terrain

Les 161 sapins de Douglas échantillonnés entre juin 2020 et juin 2021 pour des analyses dendrochronologiques et physiologiques ont été rééchantillonnés individuellement fin août 2021, avec l'accord préalable des forestiers concernés.

Pour chaque arbre, deux disques de cambium d'un diamètre de 2 cm ont été prélevés à l'aide d'un emporte-pièce (Technocraft, 20 mm) au pied de l'arbre (voir Figure 1a et b).

---

<sup>1</sup> Gruppe Waldbau, Dept. Umweltsystemwissenschaften, ETH Zürich.

<sup>2</sup> Institut für Waldbau, Dept. für Wald- und Bodenwissenschaften, Universität für Bodenkultur (BOKU), Wien, Österreich.



**Figure 1.** Illustrations de l'échantillonnage des disques de cambium sur les sapins de Douglas. (a) Prélèvement d'un échantillon de cambium à l'aide d'un emporte-pièce et d'un marteau. (b) Echantillon prélevé contenant le cambium. (c) Echantillon individuellement emballé dans un sachet de thé. (d) Stockage des échantillons dans du gel de silice. Photos : JCDs.

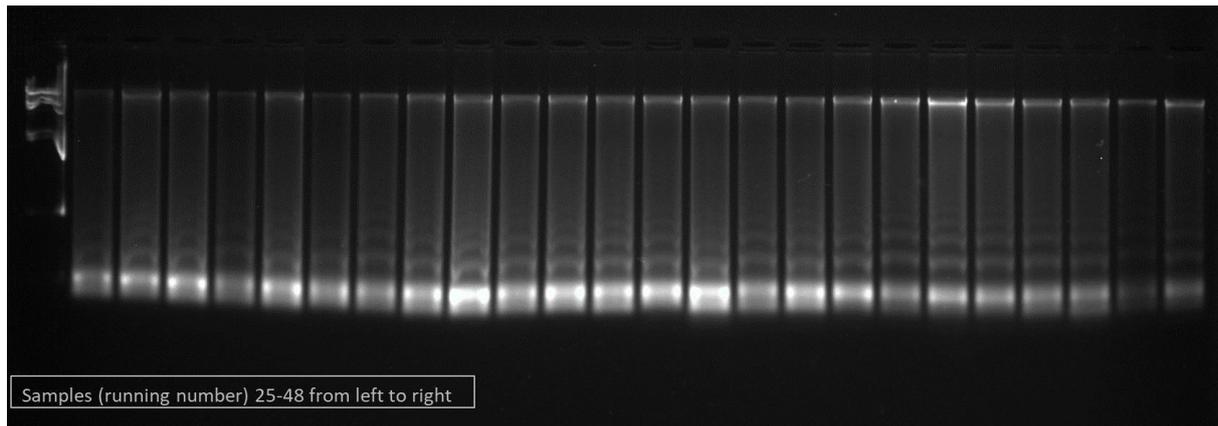
Les deux échantillons d'un même arbre ont ensuite été emballés dans un sachet de thé étiqueté permettant la circulation de l'air (Figure 1c). Ces sachets ont finalement été stockés dans du gel de silice (perles de 3-6 mm, avec indicateur de couleur, Roth) pour absorber l'humidité des échantillons (Figure 1d).

L'ensemble des échantillons a été envoyé au laboratoire de génétique moléculaire de l'institut pour la sylviculture du BOKU (Vienne) pour analyses.

### 3. Analyses génétiques

Le cambium a été séparé du bois et de l'écorce pour chaque échantillon et l'ADN a pu en être extrait grâce à un kit commercial (Qiagen DNEasy plant mini kit). La réussite de l'isolement de l'ADN a été examinée sur une électrophorèse sur gel d'agarose à 1% (Figure 2) et la quantité et la qualité de l'ADN ont été mesurées via un spectrophotomètre (NanoPhotometer®) ; d'après les informations transmises par Dr. Charalambos Neophytou dans un rapport préliminaire en date du 12 novembre 2021.

La suite des analyses génétiques est en cours et sera détaillée dans le rapport final.



**Figure 2.** Illustration d’une partie des électrophorèses sur gel d’agarose réalisées pour contrôler la réussite de l’extraction de l’ADN dans les échantillons. 24 échantillons parmi les 161 sont montrés ici. Photo : Charalambos Neophytou.

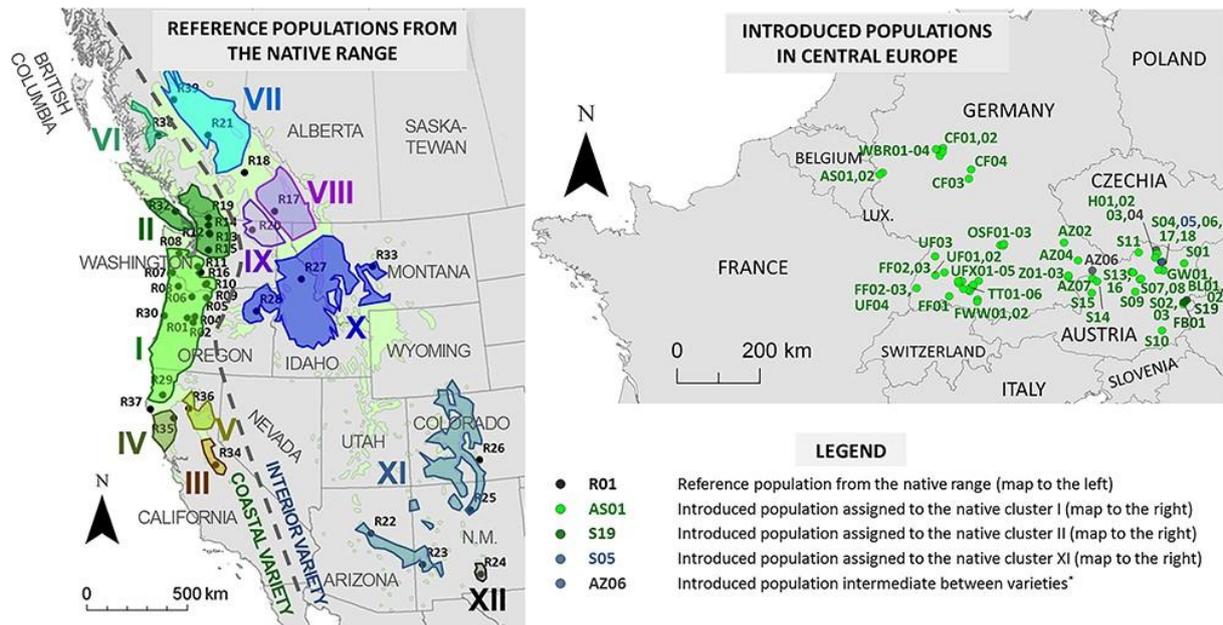
#### 4. Résultats préliminaires

D’après le rapport préliminaire en date du 12 novembre 2021, l’extraction de l’ADN a été réalisée avec succès sur les 161 échantillons de cambium, tant du point de vue de la qualité que de la quantité de l’ADN. Les résultats fournis comprennent le poids de tissu de cambium utilisé, la concentration d’ADN extrait ( $\text{ng}/\mu\text{L}$ ) ainsi que le ratio 260/280 (c’est-à-dire le ratio d’absorbance pour une longueur d’onde de 260 nm divisée par l’absorbance à 280 nm ; indicateur de la pureté de l’ADN extrait).

Ces échantillons d’ADN sont jugés convenables pour la suite des analyses, c’est-à-dire réaliser des PCR (de l’anglais *polymerase chain reaction*) sur chaque échantillon.

#### 5. Échéance du projet

Les résultats finaux sont attendus pour début décembre 2021. Une fois que les PCR seront réalisées sur chaque extrait d’ADN, les fragments d’ADN amplifiés seront analysés selon la méthode décrite dans (Neophytou et al., 2020). Finalement, on s’attend à identifier la population d’origine des sapins de Douglas plantés en Suisse par rapport aux populations référence en Amérique du Nord, mais à une échelle relativement large. En effet, plus l’on cherche à identifier la population d’origine à une échelle géographique précise, plus les chances d’erreur sont grandes (Hintsteiner et al., 2018). Pour les huit populations de sapins de Douglas échantillonnées en Suisse et analysées dans notre étude, il est probable que les populations d’origine correspondent au cluster I ou II (Washington) sur la carte de gauche présentée en Figure 3.



**Figure 3.** Localisation des populations étudiées dans leur aire d’origine ainsi que des populations introduites en Europe Centrale. La distribution géographique des différents groupes génétiques I–XII telle que décrite dans Hintsteiner et al. (2018) est présentée sur la carte des populations d’origine (gauche). Les origines génétiques des populations d’origine attribuées aux populations introduites sont présentées par différentes couleurs (droite). Traduit depuis (Neophytou et al., 2020).

## Références

- Hintsteiner, W. J., van Loo, M., Neophytou, C., Schueler, S., & Hasenauer, H. (2018). The geographic origin of old Douglas-fir stands growing in Central Europe. *European Journal of Forest Research*, 137(4), 447–461. <https://doi.org/10.1007/s10342-018-1115-2>
- Neophytou, C., van Loo, M., & Hasenauer, H. (2020). Genetic diversity in introduced Douglas-fir and its natural regeneration in Central Europe. *Forestry: An International Journal of Forest Research*, 93(4), 535–544. <https://doi.org/10.1093/forestry/cpz055>
- Slavov, G. T., Howe, G. T., Yakovlev, I., Edwards, K. J., Krutovskii, K. V., Tuskan, G. A., Carlson, J. E., Strauss, S. H., & Adams, W. T. (2004). Highly variable SSR markers in Douglas-fir: Mendelian inheritance and map locations. *Theoretical and Applied Genetics*, 108(5), 873–880. <https://doi.org/10.1007/s00122-003-1490-y>
- van Loo, M., Hintsteiner, W., Pötzelsberger, E., Schüler, S., & Hasenauer, H. (2015). Intervarietal and intravarietal genetic structure in Douglas-fir: Nuclear SSRs bring novel insights into past population demographic processes, phylogeography, and intervariatal hybridization. *Ecology and Evolution*, 5(9), 1802–1817. <https://doi.org/10.1002/ece3.1435>