

# Le peuplier noir est l'arbre de l'année

**Un coup d'oeil dans le laboratoire de génétique: est-il authentique ou pas?**

L'arbre de l'année 2006 est caractéristique des paysages alluviaux.

Suite à la disparition de cet habitat, il faut bien constater que le peuplier noir s'est raréfié.

De plus, la possibilité de croisement des peupliers hybrides plantés menace nos peupliers noirs.

Afin de déterminer la pureté souhaitée de cette espèce,

des chercheurs de l'Institut de recherches WSL à Birmensdorf ont, dans le cadre d'une collaboration avec le projet SEBA de l'EPFZ, étudié plus de mille échantillons de peupliers à l'aide d'une méthode génétique.



Par Daniela Csencsics, Sonia Angelone et Rolf Holderegger\*

**U**n grand nombre de mesures sont prises en Suisse en vue de la protection des dernières zones alluviales et de la revitalisation des sections de rivières canalisées. Entre autres exemples, citons le projet Rhône-Thur<sup>1</sup> ou le parc alluvial<sup>2</sup> dans le canton d'Argovie. L'objectif consiste à retrouver un paysage alluvial vivant et authentique. C'est pourquoi, en tant que véritable essence de caractère des paysages alluviaux, le peuplier noir indigène (**Fig. 1**) doit être encouragé de façon ciblée. Mais les responsables de la pratique se heurtent à un problème: nous savons que nos peupliers noirs ne peuvent pas toujours, de par leur apparence, être distingués de façon évidente des peupliers hybrides issus de plantation. Pour préparer du matériel végétal adapté lors des revitalisations des rivières, mais aussi afin de protéger les peupliers noirs qui demeurent encore, il est indispensable de pouvoir établir sans l'ombre d'un doute à quelle espèce un peuplier appartient.

L'Institut fédéral de recherches WSL utilise une méthode génétique grâce à laquelle il est possible, en l'espace de quelques jours et avec quelques milligrammes de bois, de déterminer avec certitude s'il s'agit d'un peuplier noir pur ou pas<sup>3</sup>. Comment cette méthode fonctionne-t-elle?

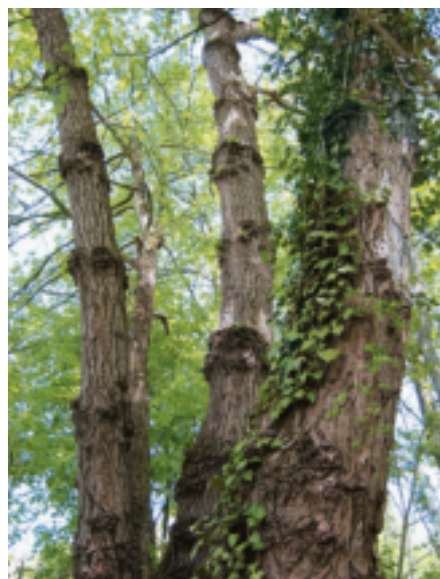
## Détermination de l'espèce à l'aide de la génétique moléculaire

### Obtention puis multiplication de la substance héréditaire

Une fois que l'équipe sur le terrain de SEBA a rassemblé des échantillons de bois, nous isolons la substance héréditaire (ADN) dans le laboratoire, matière qui servira de base au test d'identité des arbres à étudier. Sans être pour autant identiques, les patrimoines génétiques du peuplier noir

et du peuplier hybride sont certes très similaires. Les domaines où des différences surviennent nous permettent de distinguer les espèces. Etant donné que, en vue de déterminer l'espèce, nous n'avons besoin que de ces extraits spécifiques de la substance héréditaire, nous établissons des millions de copies de ces domaines sélectionnés grâce à une réaction biochimique (réaction de polymérisation en chaîne, PCR; **voir l'encadré en page...**). Par la suite, puisque nous n'avons plus à observer le patrimoine génétique dans sa totalité, nous nous concentrons sur de petits segments connus.

**Figure 1:** Un peuplier noir (*Populus nigra*) avec des veinures typiques que les arbres ne présentent toutefois pas systématiquement.



### Prochaine étape: découpage

Nous conférons ensuite une molécule à nos segments d'ADN, qui reconnaît une séquence spécifique du code génétique de l'ADN et le coupe à cet emplacement. Comme cette séquence est présente chez le peuplier hybride, l'ADN se scinde en deux. Cette séquence est en revanche absente chez le peuplier noir pur, et la molécule ne peut couper l'ADN en deux. Il reste donc intact. Pour sa part, l'oeil humain ne peut pas reconnaître cette différence. Les deux échantillons nous semblent parfaitement identiques, ils ont l'aspect de liquides clairs.

### Passionnant: les segments d'ADN sont mis en lumière

Au terme des travaux en laboratoire, le liquide transparent doit donner à voir une image limpide. A cet effet, le liquide est chargé dans un gel conducteur où il est

\* Daniela Csencsics, Sonia Angelone et Rolf Holderegger sont chercheurs au WSL (Ecologie génétique).

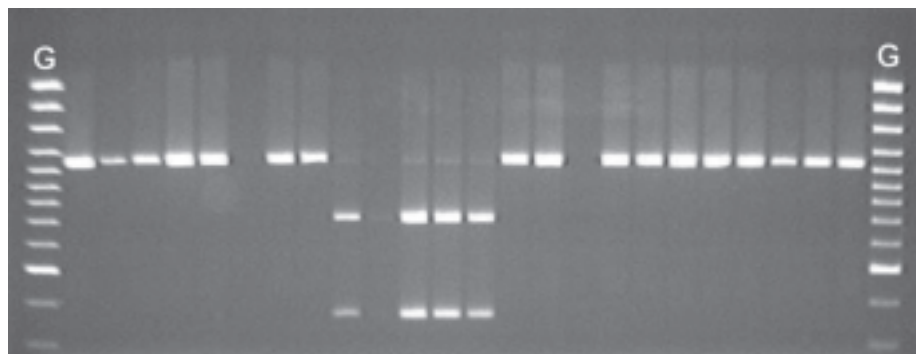
exposé à une tension électrique. Les gros segments avancent moins rapidement dans le gel, ce qui conduit à une séparation des morceaux d'ADN selon leur taille. C'est là tout l'intérêt! Un colorant spécial qui ne se lie qu'à l'ADN, fait apparaître la molécule sous la lumière ultraviolet.

### La solution de l'énigme: interprétation du modèle des bandes

La **figure 2** montre à quoi peut ressembler un gel coloré de ce type. Chaque colonne verticale correspond à un individu. La lecture s'effectue de haut en bas. Une bande plus en hauteur représente donc un segment d'ADN plus long qu'une bande plus vers le bas. Complètement à gauche et à droite, l'on peut voir une règle qui indique la taille du segment d'ADN. Les morceaux sectionnés (très précisément là où l'on aperçoit deux bandes dans une colonne) proviennent d'arbres qui ne sont pas des peupliers noirs. Quant aux gros morceaux, qui ne sont pas coupés, et ne présentent qu'une seule bande sur l'image, ils proviennent de véritables peupliers noirs.

### Signification et application dans la pratique

Avant que la méthode présentée ici ne soit utilisée à grande échelle, le WSL a effectué un test aveugle (*blind test*). Pour



**Figure 2:** Gel d'agarose avec des échantillons de peupliers noirs et de peupliers hybrides. Les colonnes avec une seule bande blanche (morceaux d'ADN non sectionnés) sont des peupliers noirs purs, ceux avec deux bandes (morceaux d'ADN sectionnés) sont des peupliers hybrides. G=règle de mesure.

ce faire, une personne externe a rassemblé des bourgeons hivernaux de 79 arbres de différentes espèces connues de peupliers et d'hybrides, et notre laboratoire génétique a examiné quels échantillons relevaient de peupliers noirs purs. Tous les arbres ont été classifiés de façon exacte et la méthode de génétique moléculaire a ainsi été confirmée comme procédé approprié pour l'identification des peupliers noirs.

Depuis, dans le cadre du projet partiel de SEBA sur le peuplier noir (SEBA-POP), à l'EPFZ, le WSL a testé plus de mille échantillons de peupliers pour en définir ou non

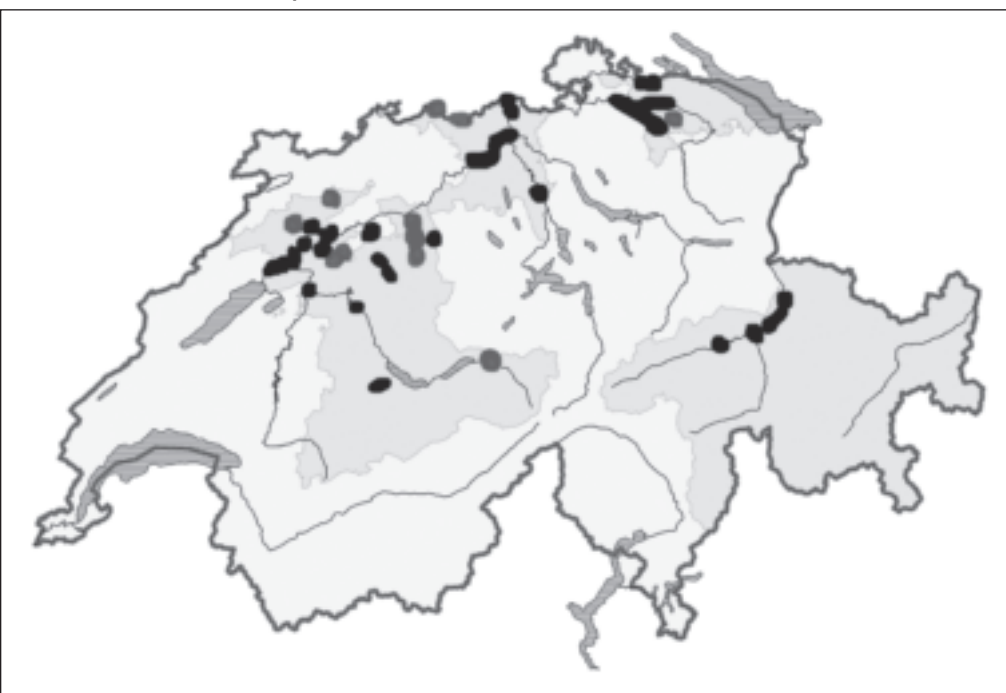
la pureté de l'espèce. Grâce à ce vaste échantillonnage, il est désormais possible de mieux estimer qu'auparavant le nombre de peupliers noirs présents en Suisse. Avec pour résultat un fait réjouissant: ces arbres de caractère des zones alluviales de la Suisse sont plus fréquents qu'on ne le pensait jusqu'alors<sup>4</sup>.

L'équipe SEBA a non seulement testé des peupliers noirs conformes à l'aspect typique de l'espèce et arborant des caractéristiques très évidentes comme les veinures, mais également d'autres dont l'aspect ressemblait fortement à celui des hybrides. Il s'est alors avéré que certains arbres que nous aurions, de par leur apparence, plutôt rattachés à la catégorie des hybrides, se révélaient, suite à un test scientifique, des peupliers noirs purs. Grâce à la comparaison entre les caractéristiques extérieures et l'identité génétique, l'équipe SEBA a pu dresser un catalogue des caractéristiques du peuplier noir qui facilite une claire détermination de ce peuplier sur le terrain.

Etant donné que les sites où l'on a trouvé des peupliers noirs purs déterminés génétiquement ont été numérisés (**Fig. 3**), un grand pool d'arbres connus est disponible pour l'obtention de boutures de bois aoûté. Pour la plantation de peupliers noirs lors des revitalisations des rivières, il importe précisément de profiter de cette large palette de choix. Si, dans le cas contraire, seules des boutures d'un nombre restreint de peupliers noirs étaient utilisées, cela pourrait entraîner un appauvrissement génétique car les boutures possèdent exactement le même patrimoine génétique que l'arbre dont elles proviennent.

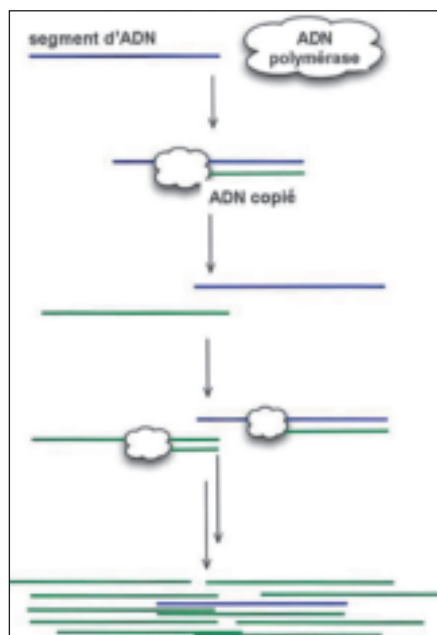
La méthode présentée dans cet article illustre clairement la façon dont la génétique moléculaire trouve son application dans la pratique – dans ce cas précis pour l'efficacité de la préservation et de la promotion du peuplier noir en Suisse.

**Figure 3:** Les peupliers étudiés au WSL proviennent des cantons d'Argovie, de Berne, des Grisons et de Thurgovie. Les endroits signalés montrent où des échantillons d'arbres ont été rassemblés, les peupliers prouvés comme relevant d'une espèce pure sont représentés en noir. **Données de répartition:** SEBA-POP (EPF Zurich, OFEFP)



## La réaction de polymérisation en chaîne

La réaction de polymérisation en chaîne (PCR) est désormais indissociable de la génétique moléculaire moderne. Les champs d'application possibles vont du décodage du code génétique de l'être humain en passant par la confirmation de maladies à l'identification de l'auteur d'un crime. A l'aide de la PCR, la substance héréditaire (ADN) peut être multipliée dans un tube à essais. Le principe est renversant de simplicité: une molécule chimique du nom d'ADN polymérase copie un morceau précis d'ADN. Les deux morceaux sont copiés une nouvelle fois si bien que l'on dispose alors de quatre morceaux. Ces quatre morceaux sont de nouveau copiés... Cette réaction peut être répétée jusqu'à ce que l'on obtienne des millions de copies (**voir la figure**).



## Bibliographie

- [1] [www.rhone-thur.eawag.ch](http://www.rhone-thur.eawag.ch)
- [2] Dietiker, F. und Jansen, E. (2003): Das Sachprogramm Auenschutzpark Aargau – eine Zwischenbilanz mit Beispielen realisierter Waldprojekte im Freiamt. Schweizerische Zeitschrift für das Forstwesen 154:274-280.
- [3] Holderegger, R., Angelone, S., Brodbeck, S., Csencsics, D., Gugerli, F., Hoebee, S.E., Finkeldey, R. (en cours d'impression): Application of genetic markers to the discrimination of European Black Poplar (*Populus nigra*) from American Black Poplar (*P. deltoides*) and Hybrid Poplars (*P. x canadensis*) in Switzerland. Trees.
- [4] Schwab, P. (2005): Im Zweifel für die Angeklagte. Wald und Holz 2:37-38.
- [5] Csencsics, D., Angelone, S., Paniga M., Rotach P., Rudow, A., Sabiotte, E., Schwab, P., Wohlhauser, P., Holderegger, R. (déposé): No evidence for genetic introgression through *Populus x euramericana* hybrids into *P. nigra*. Biological Conservation.

## Qu'est-ce que l'introgression génétique et comment peut-elle être prouvée?

L'introgression génétique, ou croisement, peut être considérée comme un cas spécifique d'hybridation. Lorsque deux espèces différentes, par exemple le peuplier noir européen et le peuplier noir américain, se fécondent l'une l'autre, leurs descendants sont ce que l'on appelle des «hybrides». Si le pollen d'un tel hybride féconde ensuite un peuplier noir européen, le patrimoine des descendants relèvera aux trois quarts du peuplier noir européen et à un quart du peuplier américain. De tels arbres peuvent à nouveau

se croiser avec un peuplier noir européen. Au fil du temps, de nombreux peupliers noirs européens auraient ainsi une certaine proportion de patrimoine génétique étranger. Ce processus, à savoir l'apport de gènes d'une espèce à une autre, s'appelle «l'introgression génétique».

Il est possible de prouver qu'il y a introgression génétique en étudiant les caractéristiques héritées de la mère seulement ou encore des deux parents. Considérons une nouvelle fois notre exemple du peuplier: la question consiste à savoir si les peupliers hybrides se croisent avec nos peupliers noirs purs ou pas. L'un des trois morceaux d'ADN utilisés dans notre test sur le peuplier n'est hérité que de la mère. Si la

mère de l'arbre X étudié est un peuplier noir, l'on retrouve un morceau d'ADN typique du peuplier noir dans l'arbre X. La descendance hérite des deux autres morceaux d'ADN de ses deux parents. Si, chez l'arbre X, au moins l'un de ces deux morceaux est atypique du peuplier noir, cela signifie que l'arbre X a dû hériter ce morceau d'un descendant de l'autre espèce de peuplier. Nous en déduisons qu'à un certain moment, une espèce étrangère de peuplier a dû polliniser un peuplier noir, en d'autres termes: il y a eu introgression génétique. Jusqu'à présent, aucun cas en Suisse ne nous a toutefois présenté ce scénario<sup>5</sup>.

## Forêt

*«J'ai marché longtemps dans la forêt de pins.  
Seul, avec un petit bruit de vent dans les aiguilles.  
Mon cœur s'affolait de trop de silence et de solitude;  
je l'entendais cogner sous ma chemise.  
Alors je courus jusqu'aux prés verts,  
aux chalets, aux hommes.*

*Nous accrochons nos fantasmes à chaque branche  
et des peurs s'embusquent derrière les touffes d'herbes.*

*Il nous faut suivre les sentiers balisés,  
chercher les marques rouges sur les pierres.*

*Aux hommes sauvages les chemins sauvages,  
à ceux qui se guident sur le ciel et la mousse des troncs,  
à ceux dont les mains sèches crochent à la pierre,  
aux hommes qui dorment la nuit sous un arbre  
dans leur capote de soldat,  
ceux-là ne savent pas marcher au pas, ni saluer bas,  
mais ils n'ont pas peur du silence.»*

FÉLIX CARRUZZO